



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la
Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire
قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie moléculaire et santé

Intitulé:

Conception *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la monoamine oxydase B pour le traitement de la maladie de Parkinson

Présenté et soutenu par :

Le : 20/06/2017

- GHARDAOUI Meriem
- MERRAD Chadia

Jury d'évaluation :

Président du jury : BENSEGUENI A.

(Pr-UFM Constantine 1)

Rapporteur : MOKRANI E.H.

(MAA-UFM Constantine 1)

Examinatrice : TENIOU. S.

(MAA-UFM Constantine 1)

Année universitaire
2016 - 2017

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Allah qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Ce mémoire n'aurait pas été possible sans l'intervention d'un grand nombre de personnes. Nous souhaitons ici les en remercier.

Nous tenons tout d'abord à adresser nos profonds remerciements et gratitude à notre encadreur Mr MOKRANI E.H. Maitre assistant « A » à l'université des Frères Mentouri Constantine 1, pour sa disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour l'orientation, la confiance, la patience et le temps qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port.

Nos vifs remerciements vont également à Monsieur BENSEGUENI A. professeur à l'université Frères Mentouri Constantine 1, pour l'intérêt qu'il a porté à notre travail en acceptant de présider le jury de ce mémoire.

Nous tenons également à remercier Mme TENIOU S. Maitre assistante « A » à l'université Frères Mentouri Constantine 1, pour son aide, ses conseils et pour avoir accepté d'évaluer notre travail et l'enrichir par ses propositions.

Nous remercions enfin tous ceux ou celles qui, d'une manière ou d'une autre, ont contribué à la réussite de ce travail et qui n'ont pas pu être cités ici.

Dédicaces

Je dédie cet humble travail :

A mes chers et respectueux parents, vraiment aucune dédicace ne saurait exprimer mon attachement, mon amour et mon affection, je vous offre ce modeste travail en témoignage de tous les sacrifices et l'immense tendresse dont vous m'avez toujours su me combler.

A mon adorable frère Omar.

*Ainsi que mes deux soeurs Chaima et Amel sans oublier mes cousines
Chahra Zineb et Horiya.*

*A toute ma famille Pour leurs amours et leurs
encouragements.*

*A ma chère amie Chadia et mon binôme dans ce mémoire, je souhaite
que l'amitié que nous a réuni persiste pour toujours et que nous arrivons
à réaliser nos rêves.*

A mes fidèles amies Soumia, Amani, Nesrine et Chahinaz.

A tous mes amies qui ont m'accompagne tout au long de mes 5 ans.

Meriem

Dédicaces

Je dédie ce travail :

*A Mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse,
leur soutien et leurs prières tout au long de mes études, pour toute leur
assistance et leur présence dans ma vie.*

Merci d'être toujours là pour moi.

*A Mes frères et sœurs pour leurs encouragements permanents et leur soutien
moral.*

*A Ma chère amie, mon binôme Meriem qui j'ai trouvé l'entente dont j'avais
besoin.*

*A Tous mes amis de la promotion avec lesquels j'ai partagé mes moments de
joie et de bonheur.*

A Tous mes enseignants durant les années des études.

*A Que toute personne m'ayant aidé de près ou de loin, trouve ici
l'expression de ma reconnaissance.*

Chadia

Introduction générale.....1

Revue bibliographique

CHAPITRE 1 : La Maladie de Parkinson

1. Introduction.....2

2. Causes.....2

3. Symptôme.....3

4. Facteurs risques.....3

5. Epidémiologie.....3

6. Traitements médicamenteux.....4

CHAPITRE 2 : Les structures mises en jeu

1. Monoamines oxydases (MAO).....6

 1.1. La monoamine oxydase A (MAOA).....6

 1.2. La monoamine oxydase B (MAOB).....6

 1.2.1. Rôle physiologique de la MAOB.....7

 1.2.2. Structure.....8

 1.2.3. Structure du site actif.....9

2. Inhibiteurs de la MAOB.....10

 2.1. Les inhibiteurs réversibles.....11

 2.2. Les inhibiteurs irréversibles.....15

CHAPITRE 3 : Le docking moléculaire

1. Introduction.....	17
2. Les outils du docking moléculaire.....	18
2.1. Récepteur.....	18
2.2. Ligand.....	18
2.3. Programmes.....	19

Partie pratique

CHAPITRE 4 : Matériels et Méthodes

1. Matériels.....	20
1.1. Microordinateur.....	20
1.2. Programmes.....	20
1.3. Banques de données.....	20
1.3.1. Pubchem.....	20
1.3.2. PDB.....	21
1.4. Le serveur molinspiration.....	21
2. Méthodes.....	21
2.1. Préparation de la protéine.....	21
2.2. Préparation des ligands.....	22
2.3. Docking avec surflex.....	23
2.4. Règle de Lipinski.....	24

CHAPITRE 5 : Résultats et discussions

1. Test de fiabilité du programme surflex.....25

 1.1. Coefficient de corrélation.....25

 1.2. Conclusion.....27

2. Etude des interactions "Inhibiteurs-Enzyme".....27

 2.1. Le complexe MAOB-Composé 11.....30

 2.2. Le complexe MAOB-Composé 7.....32

 2.3. Le complexe MAOB-Composé 8.....33

 2.4. Le complexe MAOB-Composé 41.....35

 2.5. Le complexe MAOB-Composé 40.....36

 2.6. Le complexe MAOB-Composé 43.....38

3. Conception de nouveaux inhibiteurs de la MAOB.....39

 3.1. Criblage virtuel d'une collection des similaires du composé 41.....39

 3.1.1. Etude des interactions du meilleur similaire (CID-55411293) issu de
cette collection avec la MAOB.....41

 3.2. Criblage virtuel d'une collection des similaires du composé 7.....43

 3.2.1. Etude des interactions du meilleur similaire (CID-6507117) issu de
cette collection avec la MAOB.....44

Conclusion..... 46

Références bibliographiques

Annexes

Résumés

Liste des figures

<u>Figure N° 1</u> : Désamination oxydative des amines par les MAO.....	6
<u>Figure N° 2</u> : Désamination oxydative de la dopamine par la MAOB.....	7
<u>Figure N° 3</u> : Structure cristallographique de la MAOB humaine.....	8
<u>Figure N° 4</u> : Structure du site actif de la MAOB humaine avec l'inhibiteur Isatin (en vert).....	9
<u>Figure N° 5</u> : Un modèle pour la liaison du substrat au MAOB.....	10
<u>Figure N° 6</u> : Mécanisme de la neurotoxicité du peroxyde d'hydrogène.....	10
<u>Figure N° 7</u> : Structure du safinamide.....	11
<u>Figure N° 8</u> : Structures de base des dérivés de l'Indazole-5-carboxamides.....	12
<u>Figure N° 9</u> : Structure de N- (3,4-dichlorophényl) -1 - méthyl - 1H - indazole - 5 - carboxamide (composé18).....	12
<u>Figure N° 10</u> : La structure de l'isatin (a) et ses deux dérivés (b : (<i>E</i>)-5-styrylisatin, c : 5-(4-phenylbutyl) isatin).....	13
<u>Figure N° 11</u> : Structure de base des dérivés (4-substitués-thiazol-2-yl) hydrazine.....	14
<u>Figure N° 12</u> : Structures du : 1-(1-(Pyridin-4-yl) ethylidene)-2-(4-(4-fluorophenyl) thiazol-2-yl) hydrazine (a) et 1-(1-(Thiophen-2-yl) ethylidene)-2-(4-(2,4-difluorophenyl) thiazol-2-yl) hydrazine (b).....	14
<u>Figure N° 13</u> : Structure de rasageline.....	15
<u>Figure N° 14</u> : Structure de selegiline.....	15
<u>Figure N° 15</u> : Structure de l'iproniazid.....	16
<u>Figure N° 16</u> : Structure du pargyline.....	16

<u>Figure N° 17</u> : Le model en négatif du site actif représenté par le protomol (coloré en blanc).....	23
<u>Figure N° 18</u> : Courbe de corrélation entre l'activité biologique (Log IC50) de 43 inhibiteurs et leur affinité vis-à-vis de la MAOB.....	27
<u>Figure N° 19</u> : Structure de base des composés benzyloxy substituted.....	28
<u>Figure N° 20</u> : Structures des inhibiteurs benzyloxy substituted étudiés.....	28
<u>Figure N° 21</u> : Structure de base des 8-Substituted 1,3-dimethyltetrahydropyrazino [2,1-f]purinediones.....	29
<u>Figure N° 22</u> : Structures des inhibiteurs étudiés de la classe 8-Substituted 1,3-dimethyl tetrahydropyrazino [2,1-f] purinediones.....	29
<u>Figure N° 23</u> : Mode d'interaction du composé 11 dans le site actif de la MAOB..	31
<u>Figure N° 24</u> : Illustration du positionnement du composé 11 dans le site actif de la MAOB.....	31
<u>Figure N° 25</u> : Mode d'interaction du composé7 dans le site actif de la MAOB...	32
<u>Figure N° 26</u> : Illustration du positionnement du composé 7 dans le site actif de la MAOB.....	33
<u>Figure N° 27</u> : Mode d'interaction du composé8 dans le site actif de la MAOB...	34
<u>Figure N° 28</u> : Illustration du positionnement du composé 8 dans le site actif de la MAOB.....	34
<u>Figure N° 29</u> : Mode d'interaction du composé41 dans le site actif de la MAOB..	35
<u>Figure N° 30</u> : Illustration du positionnement du composé 41 dans le site actif de la MAOB.....	36
<u>Figure N° 31</u> : Mode d'interaction du composé40 dans le site actif de la MAOB..	37
<u>Figure N° 32</u> : Illustration du positionnement du composé 40 dans le site actif de la MAOB.....	37

Figure N° 33 : Mode d'interaction du composé 43 dans le site actif de la MAOB...38

Figure N° 34 : Illustration du positionnement du composé 43 dans le site actif de la MAOB.....39

Figure N° 35 : Mode d'interaction du similaire 1 dans le site actif de la MAOB....42

Figure N° 36 : Illustration du positionnement du similaire 1 dans le site actif de la MAOB.....42

Figure N° 37 : Mode d'interaction du similaire 16 dans le site actif de la MAOB...45

Figure N° 38 : Illustration du positionnement du similaire 16 dans le site actif de la MAOB.....46

Liste des tableaux

<u>Tableau N° 1 :</u> Les codes PDB des complexes "MAOB humaine - inhibiteur" avec leur résolution.....	21
<u>Tableau N° 2 :</u> Corrélation entre les affinités des 43 inhibiteurs de la MAOB et leurs Log IC ₅₀	25
<u>Tableau N° 3 :</u> Les 6 inhibiteurs étudiés et leur IC ₅₀ et scores.....	30
<u>Tableau N° 4 :</u> Numéro d'accèsion et score des meilleurs inhibiteurs obtenus suite au docking moléculaire de la collection des similaires du composé 41.....	40
<u>Tableau N° 5 :</u> Critères de la règle de Lipinski des composés obtenus suite au criblage de la collection des similaires du composé 41.....	40
<u>Tableau N° 6 :</u> Numéro d'accèsion et score des meilleurs inhibiteurs obtenus suite au docking moléculaire de la collection des similaires du composé 7.....	43
<u>Tableau N° 7 :</u> Critères de la règle de Lipinski des composés obtenus suite au criblage de la collection des similaires du composé 7.....	44

Listes des annexes

Annexe 1 : Structures des 43 inhibiteurs de la MAOB utilisés dans l'étude de la régression linéaire.

Annexe 2 : Structures des meilleurs similaires du composé 41.

Annexe 3 : Structures des meilleurs similaires du composé 7.

Annexe 4 : Noms chimiques des 43 inhibiteurs de la MAOB utilisés dans l'étude de la régression linéaire.

Annexe 5 : Noms chimiques des meilleurs similaires du composé 41.

Annexe 6 : Noms chimiques des meilleurs similaires du composé 7.

Liste des abréviations

2D : Deux dimensions.

3D : Trois dimensions.

μM : Micro molaire.

nM : Nano molaire.

Å : Angström.

Da: Dalton.

FAD: Flavine adenosine dinucléotide.

IC₅₀ : Inhibitory concentration 50.

ICOMT :Inhibiteurs de lacatéchol-O-méthyl-transférase.

IMAOB : Inhibiteurs de la monoamine oxydase B.

LogP : Coefficient de partition octanol / eau.

MA :Maladie d'Alzheimer.

MAO :Monoamine oxydase.

MAOA :Monoamine oxydase A.

MAOB:Monoamine oxydase B.

MP :Maladie de Parkinson.

MPTP : 1-méthyl-4-phényl-1, 2, 3,6-tétrahydropyridine.

OMS : Organisation mondiale de la santé.


PDB :Protein Data Bank (banque de donnée protéique).

PM : Poids moléculaire.

r : Coefficient de corrélation linéaire.

SNC : système nerveux central.

VMD : Visual Molecular Dynamics.

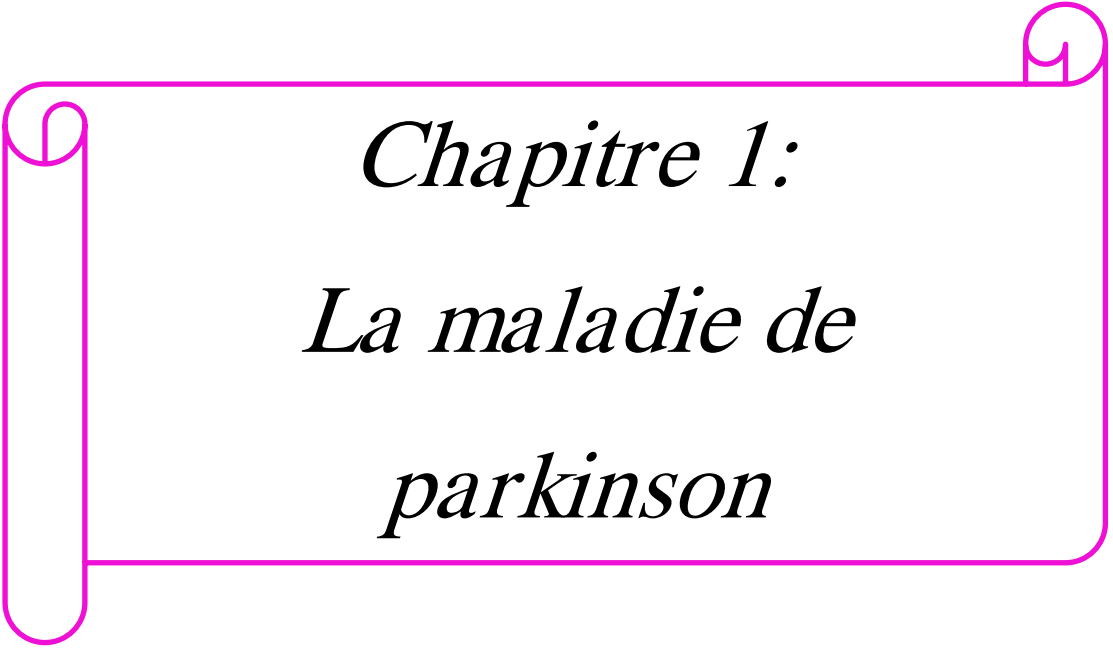


*Introduction
générale*

La mise en marché d'un nouveau médicament est un processus coûtant très cher à l'industrie pharmaceutique, aussi bien en temps qu'en argent. Les dépenses nécessaires peuvent arriver jusqu'au plus de 800 millions de dollars sur une période de 12 à 15 ans. C'est à ces deux problèmes que le développement de nouvelles approches était nécessaire. En effet, les compagnies pharmaceutiques font actuellement recours aux nouvelles approches par docking moléculaire *in silico* consistant à prédire la conformation (position et orientation relative) la plus favorable d'un très grand nombre de ligands au sein de leur récepteur. Ceci est plus facile à mettre en œuvre, plus rapide et moins cher que les anciennes méthodes expérimentales [1].

Dans notre travail de master, nous avons fait appel au docking moléculaire afin de proposer *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la MAOB ; cible thérapeutique réputée pour le traitement de la maladie de Parkinson (MP). Cette enzyme catalyse la dégradation d'un important neurotransmetteur (dopamine) tout en générant un puissant neurotoxine causant la MP : 1-méthylpyridinium. L'inhibition de cette enzyme contribue aussi bien à l'augmentation des taux de dopamine dans le système nerveux central qu'à la diminution des taux de neurotoxines causant la MP [2].

L'objectif du présent travail est dans un premier temps de tester la fiabilité du programme de docking "Surflex" utilisé en calculant le coefficient de corrélation linéaire entre les scores de docking des inhibiteurs de la MAOB et les valeurs expérimentales de leur IC₅₀. Dans un deuxième temps nous avons jugé d'étudier les mécanismes mis en jeu dans l'inhibition de la MAOB par différents inhibiteurs et ce dans la perspective de proposer *in silico* de nouveaux inhibiteurs plus puissants. Enfin, l'application de la règle de Lipinski nous permettra de se renseigner sur les propriétés ADME des composés proposés.



Chapitre 1:
La maladie de
parkinson

1. Introduction

La maladie de Parkinson (MP) est une maladie neuro-dégénérative du système nerveux centrale qui fut découverte en 1817 par Sir James Parkinson. De nos jours, c'est une pathologie assez fréquente qui constitue la seconde affection dégénérative après la maladie d'Alzheimer (MA) [3].

La MP est caractérisée par une perte des neurones dopaminergiques dans la substance noire. Au moment où les symptômes apparaissent, 60 à 80% des cellules ont déjà disparu. Ces cellules dopaminergiques sont responsables de la production d'un élément chimique appelé dopamine qui est un neurotransmetteur, c'est-à-dire un messenger chimique responsable de la transmission de signaux, entre la substance noire et le striatum. Ces signaux interviennent dans le contrôle des mouvements. La perte de ces neurones entraîne des altérations dans l'activité des circuits neuronaux au sein des noyaux de la base, lesquels régulent les mouvements [4].

Par ailleurs, il existe deux formes de la MP : la forme sporadique et la forme familiale. Dans la première, des facteurs non génétiques entrent principalement en compte, par exemple, des effets environnementaux comme la MPTP, une toxine qui attient les neurones dopaminergique [3]. La seconde, due à un héritage génétique, ne représente qu'une faible partie des malades [4].

2. Causes

Des gènes : les chercheurs ont identifié des mutations génétiques spécifiques qui peuvent causer la MP.

Déclencheurs environnementaux : l'exposition à certaines toxines ou facteurs environnementaux peut augmenter le risque de MP postérieure, mais le risque est relativement petit.

La présence de corps de Lewy : des groupes de substances spécifiques dans les cellules du cerveau sont des marqueurs microscopiques de la MP. Ceux-ci sont appelés corps de Lewy, et les chercheurs croient que ces corps tiennent un indice important à la cause de la MP.

3. Symptômes

Tremblement : un tremblement des mains quand ils sont au repos ainsi qu'un va et vient de frottement de pouce et de l'index sont très constatés chez les atteints de la MP.

Mouvement ralenti (bradykinésie) : au fil du temps, la MP peut réduire la capacité à bouger et ralentir les mouvements chez les atteints, ce qui rend leurs tâches simples très difficiles.

Les muscles rigides : la raideur musculaire peut se produire dans n'importe quelle partie du corps. Les muscles raides peuvent limiter l'amplitude de mouvement et causer de la douleur.

Perte de mouvements automatiques : la MP, peut réduire la capacité à effectuer des mouvements inconscients.

Modifications de la parole : à cause de la MP, les atteints peuvent avoir des troubles de la parole soit en parlant doucement ou rapidement, soit en hésitant avant de parler.

Difficultés d'écriture.

4. Facteurs de risques

Age : les jeunes adultes souffrent rarement de la MP et le risque augmente avec l'âge. Les gens développent habituellement la maladie autour de 60 ans ou plus.

Hérédité : avoir un parent proche avec la MP augmente les chances de développer cette maladie.

Sexe : les hommes sont plus susceptibles de développer la MP que les femmes.

Exposition aux toxines : l'exposition continue aux herbicides et aux pesticides peut aider au développement de la MP [5].

5. Epidémiologie

La MP est désormais en passe de devenir un véritable problème public qui touche de plus en plus la santé des adultes dans les quatre coins du monde. En effet,

l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime qu'environ 4 millions de personnes à travers le monde sont atteintes de la MP. Selon cette même organisation, ce nombre doublera d'ici 2040 si rien n'est fait pour lutter contre cette maladie. La MP touche légèrement plus les hommes que les femmes, et survient le plus souvent chez le sujet âgé, avec une apparition entre 50 et 70 ans [6]. Les dernières études épidémiologiques montrent que plus de quatre milles algériens souffrent de la MP [7].

6. Traitements médicamenteux

Dans l'état actuel des connaissances de la médecine, aucun traitement curatif ne permet de guérir de la MP, encore moins pour la prévenir. Cependant, certains médicaments ont la capacité de ralentir parfois la progression des symptômes de cette maladie. Ces traitements peuvent améliorer la qualité de vie durant plusieurs années. Leur efficacité est très variable d'une personne à l'autre et les effets secondaires peuvent également être importants. Trois types de médicaments sont principalement utilisés :

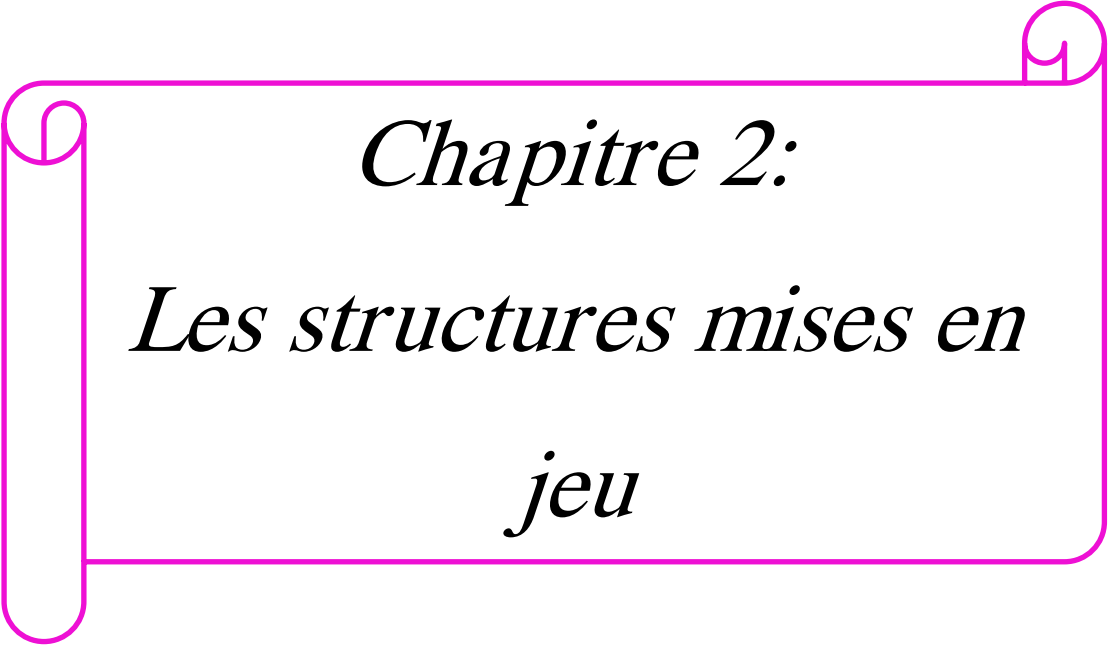
-La lévodopa (L-dopa) : Dopa est le nom donné à la 3,4-dihydroxyphenylalanine. C'est une substance intermédiaire dans la synthèse des catécholamines. Elle possède deux isomères: la L-dopa et la D-dopa. La L-dopa, ou lévodopa, est la forme qui est métabolisable par l'organisme. Sa décarboxylation par la dopa décarboxylase produit la dopamine. Elle est capable de franchir la barrière hémato-encéphalique. La L-dopa est donc une substance qui peut être utilisée dans le traitement de la maladie de Parkinson en augmentant le taux de dopamine [4].

-Les agonistes dopaminergiques : agissent en se liant directement aux récepteurs à la dopamine dans le système nerveux centrale (SNC). Les premiers agonistes dopaminergiques entrés sur le marché : bromocriptine, pergolide, ropirinole étaient des molécules dérivées de l'ergot de seigle [6].

Ces deux traitements ne ralentissent pas la progression de la maladie et peuvent être liés à des effets secondaires. En effet, la lévodopa peut provoquer des crampes douloureuses dans les jambes (dystonie) et leur efficacité diminue avec le temps [8]. De même, les agonistes dopaminergiques provoquent rapidement des effets gastro-intestinaux indésirables comme les vomissements [4]. Cela conduit les chercheurs à

développer des traitements alternatifs retardant réellement la progression de la maladie avec moins d'effets secondaires.

-Les inhibiteurs des enzymes du catabolisme : les inhibiteurs de la monoamine oxydase B (MAOB) et de la catéchol-O-méthyl-transférase (COMT), constituent la troisième classe de traitement de la MP. Il s'agit de petites molécules capables de diminuer la dégradation de la dopamine en soulageant des symptômes liés à la MP tels que : la bradykinésie (lenteur lors de l'exécution d'un mouvement), l'instabilité posturale (déséquilibre vers l'avant ou vers l'arrière) qui favorisera le risque de chutes, les tremblements, ou encore, la rigidité musculaire et ensuite le handicap du patient [3]. De même, ces composés peuvent réduire les risques d'apparition des complications observés en cas d'utilisation d'un des deux types de médicaments de la MP cités plus haut et ce avec des effets secondaires plus tolérables [8]. C'est raisons expliquent notre intérêt pour cette classe de traitement et en particulier les inhibiteurs de la MAOB.



Chapitre 2:
Les structures mises en
jeu

1. Monoamines oxydases (MAO)

MAO, EC (1.4.3.4) sont des enzymes ubiquitaires situées au niveau de la membrane mitochondriale externe et appartenant à la famille des flavines amines réductase (nommés flavoenzymes). Elles catalysent la désamination oxydative des amines primaires, secondaires et tertiaires [9] tels que : la sérotonine, la norépinephrine, la β -phényléthylamine et la dopamine (voir figure N° 1). La MAO est impliquée dans plusieurs processus physiologiques notamment dans le maintien de l'homéostasie de ces molécules en contrôlant leur concentration au niveau du SNC [10].

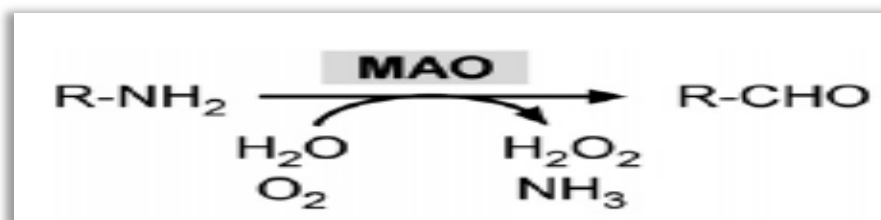


Figure N° 1 : Désamination oxydative des amines par les MAO [11].

Dans cette famille d'enzyme, on dénombre deux isoformes :

1.1. MAOA

Présente dans la muqueuse gastro-intestinale, elle joue un rôle dans le métabolisme de la sérotonine dans le cerveau [12].

1.2. MAOB

Enzyme majeur des plaquettes et des cellules gliales [13], joue un rôle important dans la dégradation de la dopamine [14].

Ces deux enzymes partagent une identité d'acide aminé à 70% [15] mais il existe une spécificité de substrat chez les deux enzymes, la MAOA métabolisant plutôt la sérotonine, la MAOB ayant comme substrat préférentiel la β -phényléthylamine. Certains substrats sont communs, comme la dopamine et la tyramine qui sont métabolisées avec la même efficacité par les deux enzymes [10]. Il est important de signaler que la MAOB génère également une neurotoxine appelée :

1-Méthyl-4-Phenylpyridinium qui est un agent causal de la MP [15]. L'inhibition de cette enzyme contribue aussi bien à l'augmentation des taux de dopamine dans le SNC que la diminution des taux de neurotoxines causant la MP. Ceci explique notre intérêt pour étudier *in silico* l'inhibition de cette enzyme dans le cadre de notre mémoire de master.

1.2.1. Rôle physiologique de la MAOB

La MAOB joue un rôle important dans le SNC [9] où elle est impliquée dans le métabolisme de la dopamine (neurotransmetteur) en catalysant la désamination oxydative de ce dernier [16].

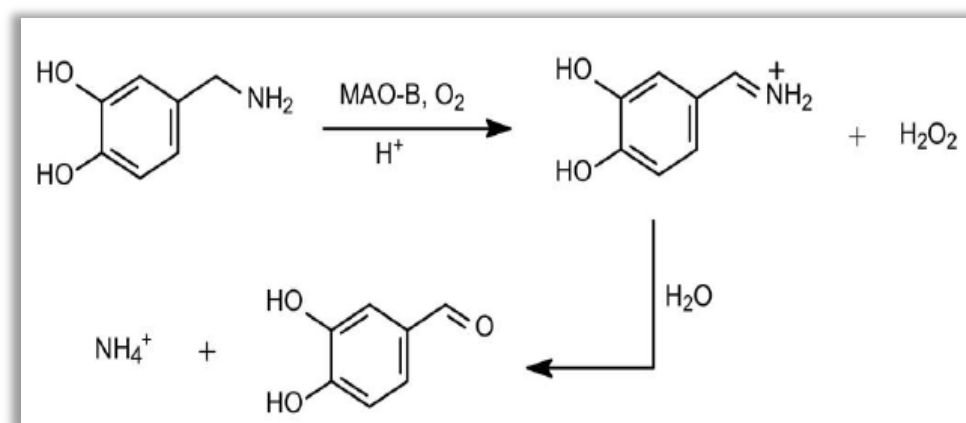


Figure N° 2 : Désamination oxydative de la dopamine par la MAOB [17].

L'activité anormale des MAOB est impliquée dans les maladies neurologiques comme MP et MA où elles se trouvent en grande quantité [18]. Ainsi, le 1-méthyl-4-phényl-1, 2, 3, 6-tétrahydropyridine ou MPTP, un puissant neurotoxine provenant de drogues synthétiques (mépéridine), est métabolisé par la MAOB en MPP⁺ ou 1-Méthyl-4-Phenylpyridinium, un métabolite capté spécifiquement par les neurones dopaminergiques et les détruisant [10], ce qui rend ces enzymes cliniquement des cibles thérapeutiques pertinentes pour le traitement de ces maladie neurodégénératives [12].

1.2.2. Structure

MAOB se trouve sous forme homodimère dont chaque sous unité contient 520 acides aminés avec un poids moléculaire de 59 000 Da [18,19]. Elle peut être subdivisée en trois domaines :

-Le premier est le domaine de liaison au FAD (cofacteur se liant par une liaison covalente à l'enzyme au niveau du résidu Cys 397) [18].

-Le deuxième est un domaine hydrophobe de liaison au substrat entouré par des résidus principalement aromatiques et aliphatiques (triade catalytique) [15].

-Le dernier est un domaine transmembranaire attaché à la membrane externe des mitochondries. Il est constitué de la séquence des résidus acides aminés de 489 jusqu'à 520 [20].

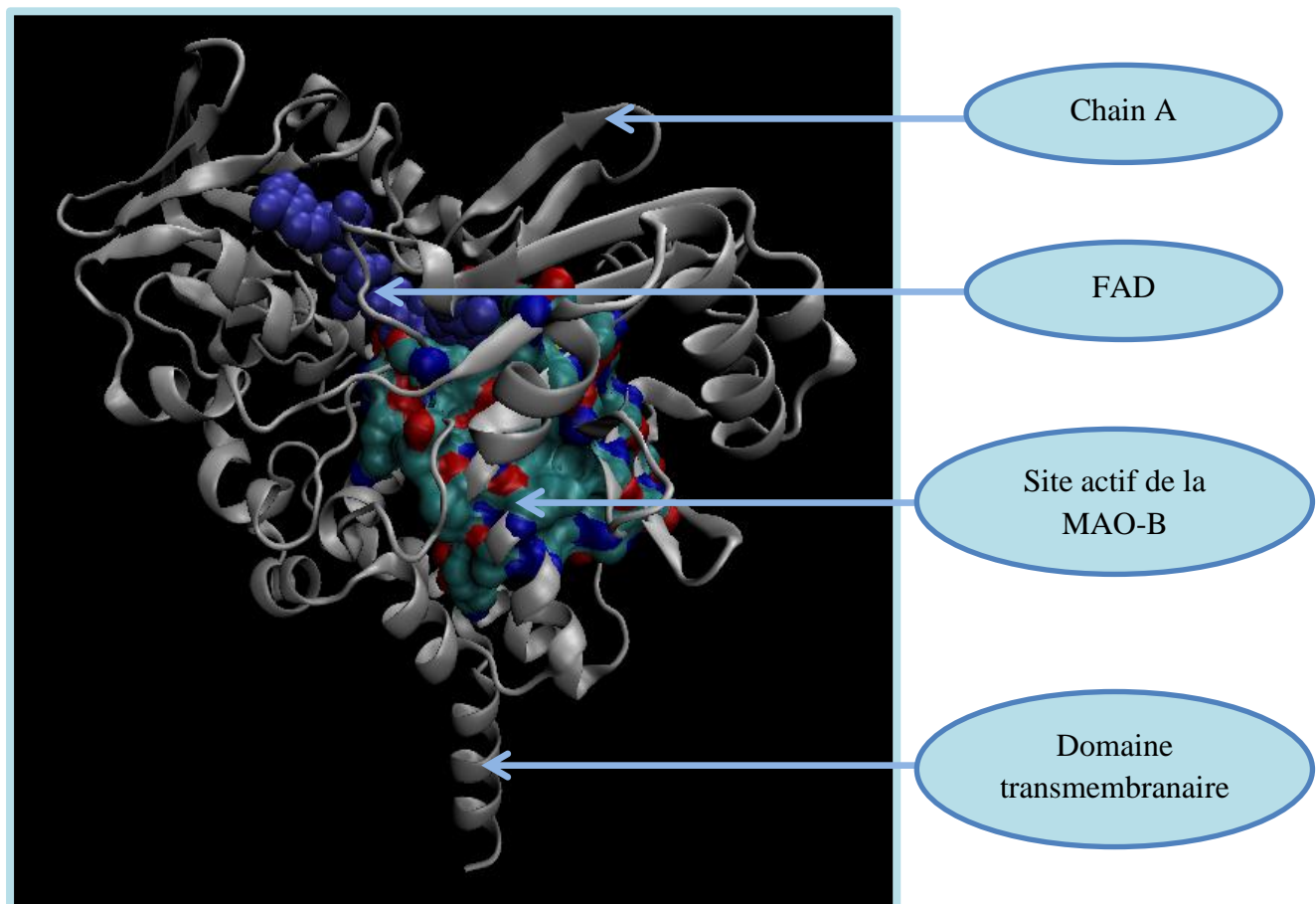


Figure N° 3 : Structure cristallographique de la MAOB humaine.

1.2.3. Structure du site actif

L'activité des enzymes est liée à la présence dans leur structure d'un site particulier appelé le site actif qui interagit avec le substrat. Dans le cas de la MAOB, le site actif est représenté par une cavité hydrophobique comprenant une région d'entrée et une région de liaison au substrat. Dans cette dernière, on retrouve la triade catalytique représentée par les résidus Tyr398, Tyr435 et Lys296 [15]. Ainsi, les résidus Tyr60, Tyr188, Tyr326, Ile198 et Ile199 entourant la triade catalytique jouent un rôle important dans la fixation du substrat dans le site actif de la MAOB. (voir figure N° 5)

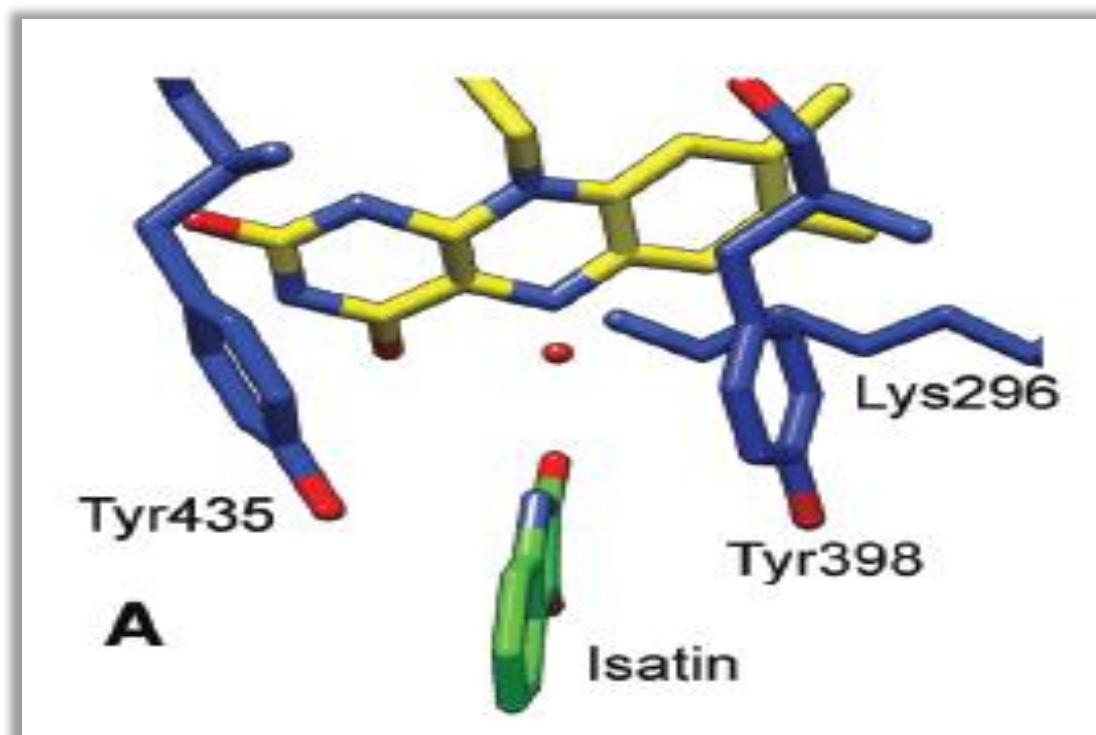


Figure N° 4: Structure du site actif de la MAOB humaine avec l'inhibiteur Isatin (en vert). [14]

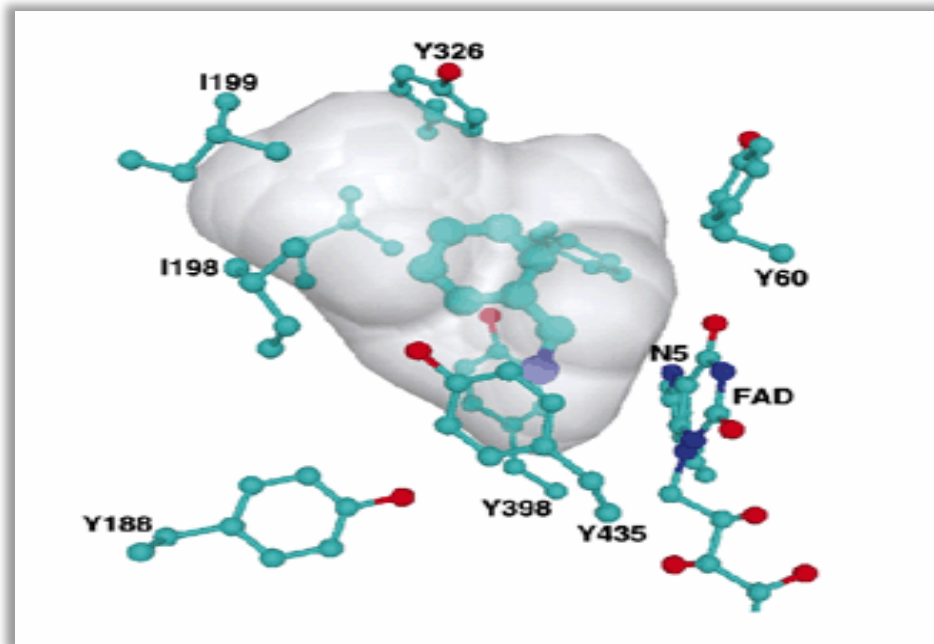


Figure N°5 : Un modèle pour la liaison du substrat au MAOB [21].

2. Inhibiteurs de la MAOB

La MAOB constitue une cible thérapeutique importante dans le traitement de la MP car elle catalyse la décomposition de la dopamine (neurotransmetteur) en générant plusieurs produits chimiques neuro-toxiques, telles que le peroxyde d'hydrogène, l'ammoniac et les aldéhydes. (voire figure N° 6) [22].

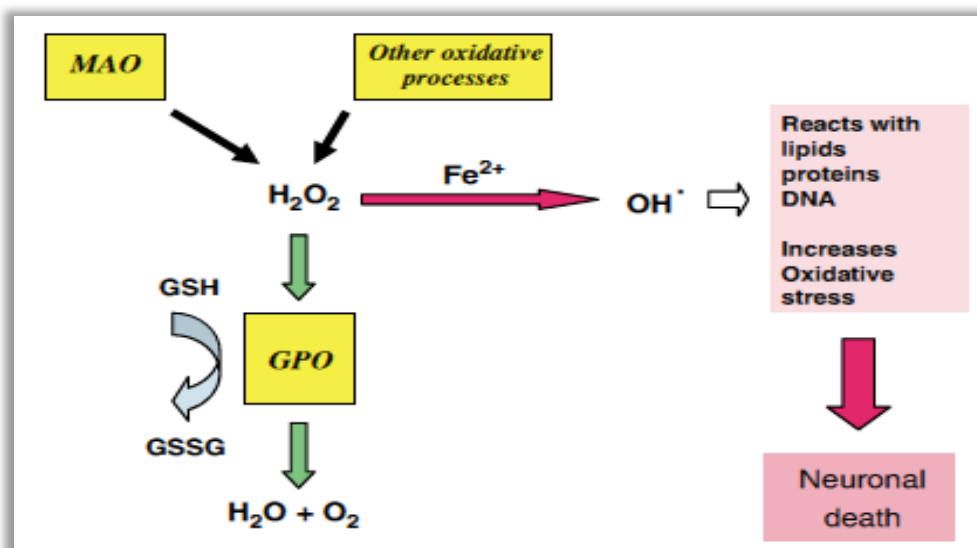


Figure N°6 : Mécanisme de la neurotoxicité du peroxyde d'hydrogène [23].

Les inhibiteurs de la MAOB sont de petites molécules très utilisées dans le traitement de la MP ayant pour effet d'augmenter la disponibilité de la dopamine dans le cerveau par la réduction de sa dégradation [22] et donc augmenter ses effets tout en diminuant la formation des produits toxiques.

Les inhibiteurs de la MAOB sont classés en deux types en fonction de leur mode d'action :

2.1. Les inhibiteurs réversibles

Ils inhibent l'enzyme en faisant intervenir des interactions faibles non covalente vis-à-vis du site actif [24]. Dans cette classe d'inhibiteurs nous pouvons citer :

Le safinamide : est un inhibiteur hautement sélectif et réversible de la monoamine oxydase B (MAO-B). Il bloque l'enzyme, ce qui contribue à rétablir les taux de dopamine dans le cerveau et améliore les symptômes des patients parkinsoniens avec IC_{50} égale à 5.18 nM [24.25].

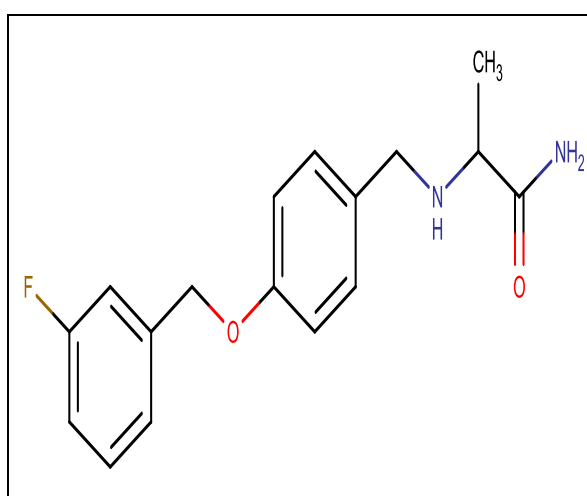


Figure N° 7: Structure du safinamide [26].

Les dérivés Indazole-5-carboxamides : ont été découverts comme des inhibiteurs de la MAOB très puissants, sélectifs et réversibles. Ces composés sont facilement accessibles par des procédures de synthèse dont les deux structures de base sont représentées dans la figure N° 8 [25].

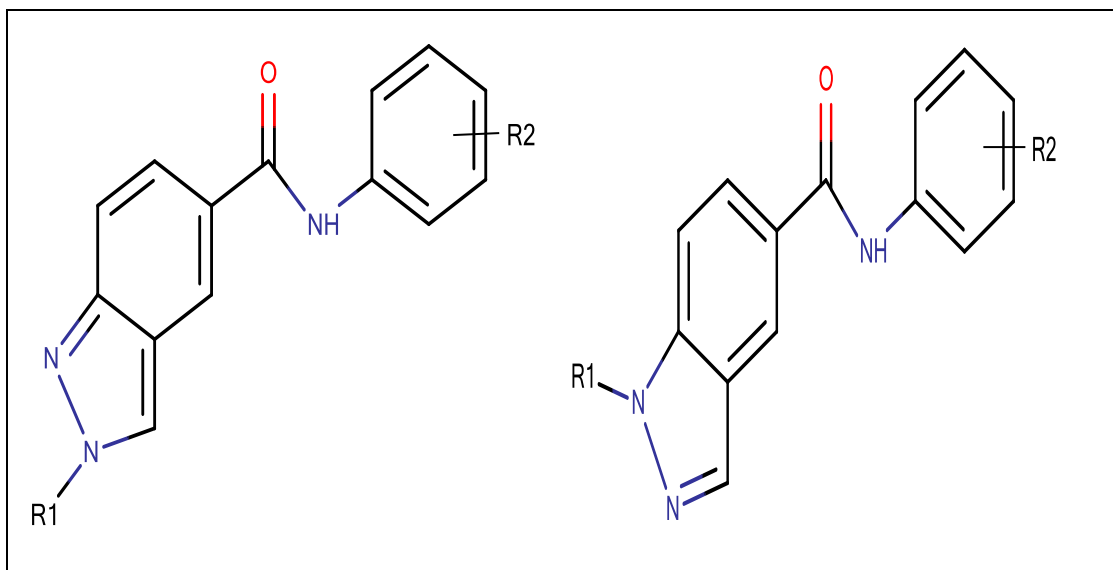


Figure N° 8 : Structures de base des dérivés de l'Indazole-5-carboxamides [26].

Ces deux squelettes ont servi comme structures de départ pour la conception de composés ayant une activité inhibitrice de la MAOB [26].

Le dérivé le plus puissant est le N- (3,4-dichlorophényl) -1-méthyl-1H-indazole-5-carboxamide (composé 18) avec un IC_{50} égale à 0,386 nM.

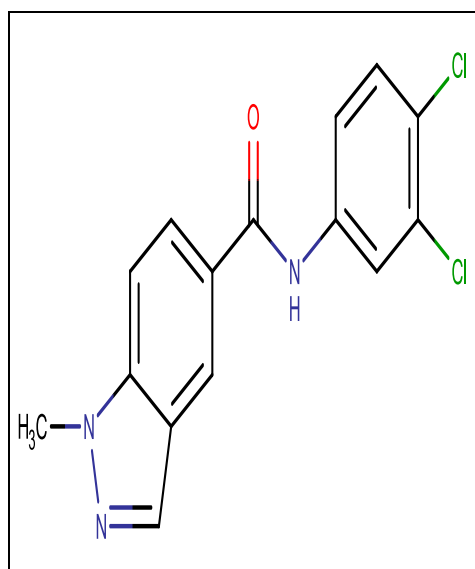


Figure N° 9: Structure de N- (3,4-dichlorophényl) -1-méthyl-1H-indazole-5-carboxamide (composé18) [26].

Isatin : une petite molécule qui a une faible activité inhibitrice vis-à-vis de la MAOB ($IC_{50} = 31.8 \mu\text{M}$), mais ses analogues substitués en C5 : (*E*)-5-styrylisatin et 5-(4-

phenylbutyl)isatin sont davantage plus puissants avec des IC_{50} égale à 9 nM et 0.66 nM respectivement. L'isatin peut améliorer les signaux moteurs dans la MP en augmentant les niveaux de dopamine dans le cerveau [25].

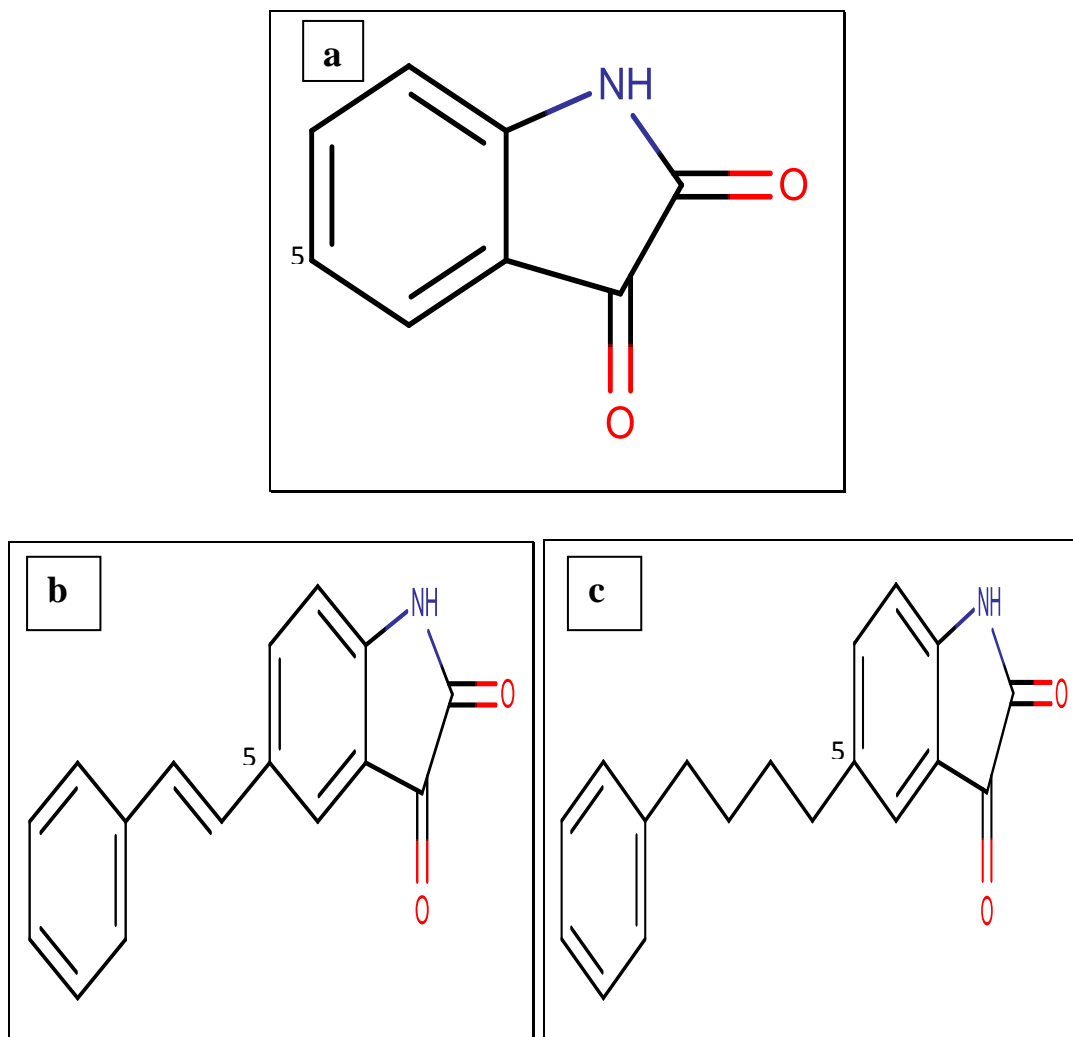


Figure N° 10 : Structure de l'isatin (a) et ses deux dérivés (b : (E)-5-styrylisatin, c : 5-(4-phenylbutyl) isatin) [25].

Les dérivés (4-substitués-thiazol-2-yl) hydrazine : une grande série de ces dérivés a été synthétisée avec un bon rendement dont la plupart montrent une activité inhibitrice sélective et réversible via la MAOB dans la gamme nanomolaire [27].

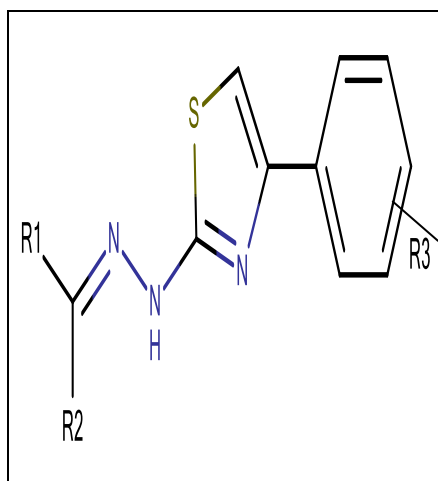


Figure N° 11 : Structure de base des dérivés (4-substitués-thiazol-2-yl) hydrazine [27].

Les dérivés les plus puissants sont : 1-(1-(Pyridin-4-yl) ethylidene)-2-(4-(4-fluorophenyl) thiazol-2-yl) hydrazine (compose 32) avec un IC_{50} égale à 2.54 nM et 1-(1-(Thiophen-2-yl) ethylidene)-2-(4-(2,4-difluorophenyl) thiazol-2-yl) hydrazine (compose 34) qui a un IC_{50} égale à 3.01 nM [27].

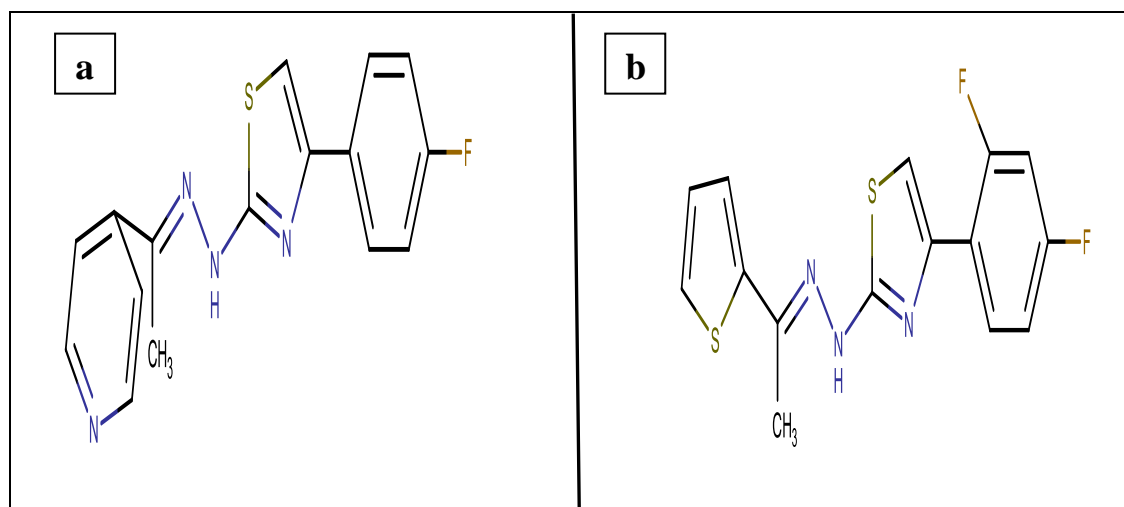


Figure N° 12 : Structures du : 1-(1-(Pyridin-4-yl) ethylidene)-2-(4-(4-fluorophenyl) thiazol-2-yl) hydrazine (a) et 1-(1-(Thiophen-2-yl) ethylidene)-2-(4-(2,4-difluorophenyl) thiazol-2-yl) hydrazine (b) [27].

2.2. Les inhibiteurs irréversibles

Dans cette classe, les inhibiteurs forment une liaison covalente avec l'enzyme et ne peuvent plus se dissocier du site de liaison. Dans ce cas, l'enzyme est bloqué jusqu'à nouvelle synthèse enzymatique [24]. Dans cette classe, nous citons :

Rasagiline : c'est un inhibiteur sélectif de la MAOB, commercialisé sous le nom AZILECT. Cet inhibiteur a une valeur d'IC₅₀ égale à 7.87 μM [24.28].

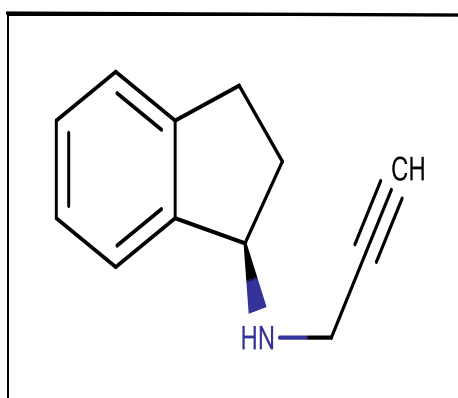


Figure N° 13 : Structure de rasagiline [19].

Selegiline : est le premier inhibiteur de la MAOB apparu sur le marché en juin 1989 [29] il permet la prévention contre la MPTP [30]. Selegiline est nommé aussi deprenyl et a une valeur d'IC₅₀ égale à 6.79 nM [24.25].

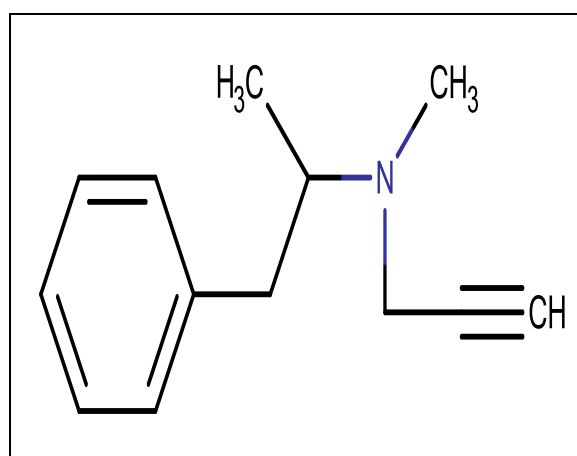


Figure N° 14 : Structure de selegiline [24].

Iproniazide : est un inhibiteur non spécifique et irréversible des MAO. Son mécanisme d'action n'est pas complètement connu. Il semble lié à une inhibition de la

dégradation des catécholamines (dopamine) [31]. Il est commercialisé sous le nom MARSILID [32].

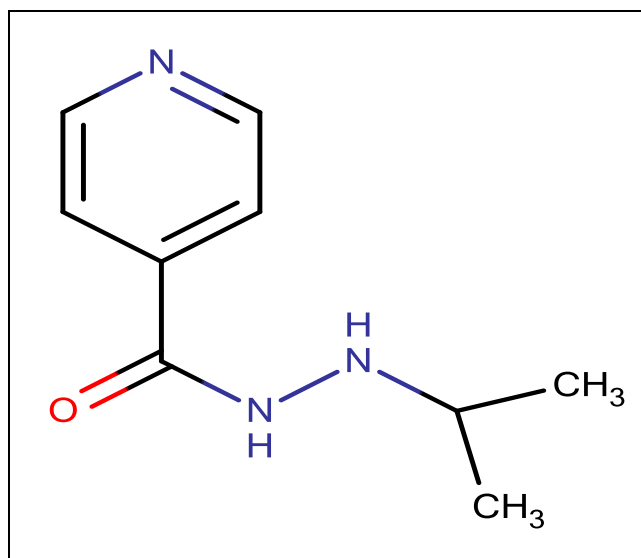


Figure N° 15 : Structure de l'iproniazid [33].

Pargyline : fonctionne en inhibant le métabolisme des catécholamines dans les nerveux terminaux présynaptiques [34].

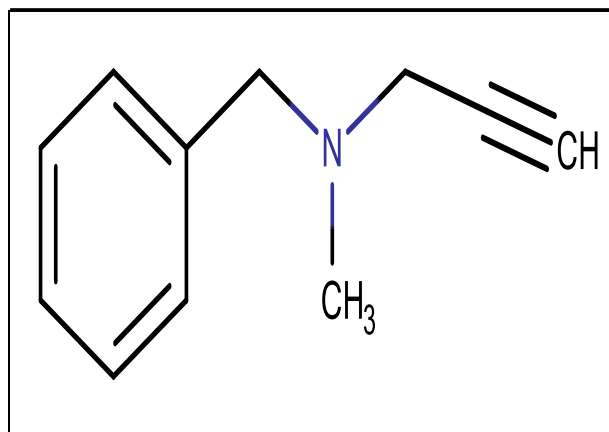
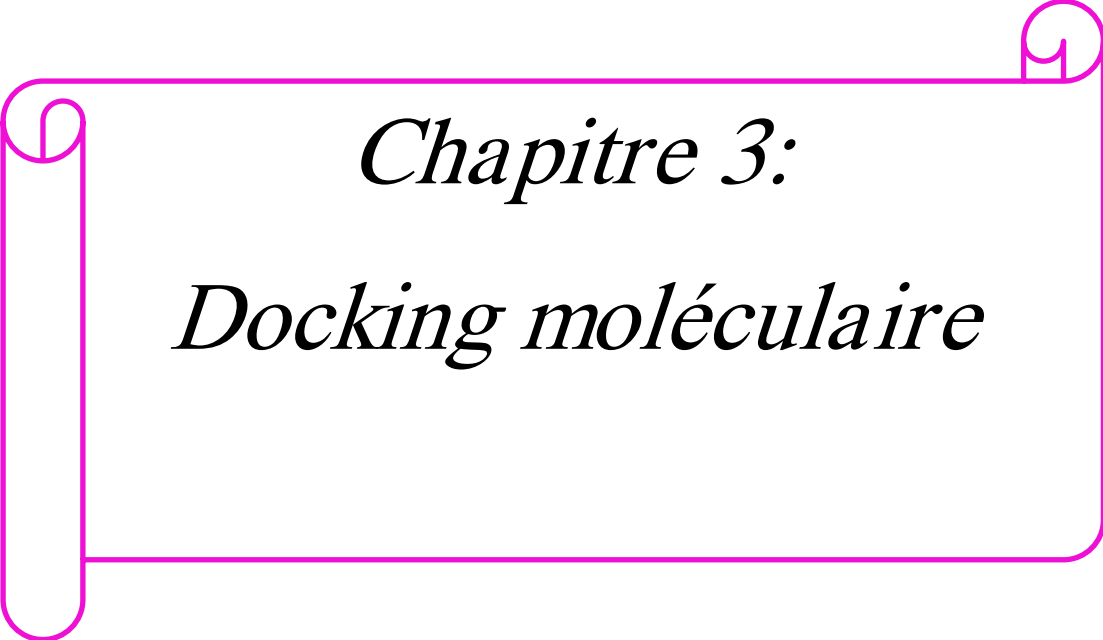


Figure N° 16 : Structure du pargyline [33].

*Ces inhibiteurs agissent en se liant au site actif de l'enzyme. Dans le cas du selegiline, rasagiline et pargyline, la liaison se produit avec N5 du FAD entraînant une inactivation irréversible de la MAOB [35].



Chapitre 3:
Docking moléculaire

1. Introduction

L'interaction entre une protéine et son substrat est la première étape de la plupart des réactions biologiques. Comprendre son mode de fonctionnement et définir quels sont les résidus mis en jeu, est donc primordial pour pouvoir expliquer les mécanismes qui influent sur l'affinité entre les molécules. De même, la découverte de nouvelles molécules activant ou inhibant l'activité biologique d'une protéine ne peut se faire qu'en prédisant leur affinité respective. C'est dans ce but que des techniques de modélisations moléculaires, regroupées sous le nom "docking", ont été développées [36].

Le docking moléculaire est une méthode qui prédit la conformation (position et orientation relatives) la plus favorable de deux molécules en interaction et formant un complexe stable. La connaissance de cette conformation préférentielle permet par la suite l'estimation de la force d'association (affinité de liaison) entre ces deux molécules.

Bien qu'il existe à l'heure actuelle plusieurs programmes de docking moléculaire, leur protocole s'accomplit en deux étapes complémentaires :

- La première (docking) : est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles.
- La deuxième (scoring): est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées [37].

Il y a au moins deux applications principales au programme de docking. La plus ancienne est la prédiction du mode d'interaction qui consiste à déterminer le positionnement correct du ligand par rapport à son récepteur [37]. L'autre utilisation consiste à cribler virtuellement un très grand nombre de ligands envers un site actif cible en vue de mettre en évidence de nouvelles molécules à usage thérapeutique [2].

Plusieurs études ont montré l'intérêt du docking en identifiant grâce à l'outil *in silico* de nouvelles molécules têtes de série.

-Par exemple, un criblage virtuel de 350000 molécules sur l'ADN gyrase, cible antibactérienne validée, a permis d'identifier parmi les 150 molécules validées expérimentalement sept nouveaux squelettes chimiques. L'optimisation du meilleur d'entre eux a produit un inhibiteur (7-[4-(4-tert-Butylbenzyloxy)-1H-indazol-3-ylmethylsulfanyl]-4-methylcoumarin) 10 fois plus affiné que la novobiocine, antibiotique ciblant l'ADN gyrase.

-De même, la recherche d'inhibiteurs de la caséine kinase 2, cible anti-tumorale, par criblage virtuel de 400000 composés sur un modèle structural par homologie, a permis l'identification d'un composé (5-oxo-5,6-dihydroindolo [1,2-a]-quinazolin-7-yl) acetic acid) ayant une IC_{50} de 80 nM [1].

-L'application des méthodes de docking a permis la mise en évidence du premier composé inhibiteur du TNF (c'est une protéine synthétisée par les cellules du système immunitaire jouant un rôle important dans le déclenchement d'une réaction inflammatoire) actif par voie orale. Ce composé pourrait constituer les bases de nouveaux traitements des maladies inflammatoires chroniques [39].

2. Les outils du docking moléculaire

2.1. Récepteur

La majorité des structures protéiques sont disponibles via la «*Protein Data Bank*» (www.rcsb.org/pdb/home/home.do). C'est une collection mondiale de données sur la structure tridimensionnelle de macromolécules biologiques : protéines, essentiellement, et acides nucléiques. Ces structures sont pour la quasi majorité résolues par cristallographie aux rayons X. En Mai 2017, la PDB compte 130 000 structures dont 120 000 sont des protéines.

Quand la méthode expérimentale n'est pas possible ou n'a pas été encore réalisée, la solution à envisager en premier est une approche par modélisation comparative [40].

2.2. Ligand

La structure des ligands est obtenue par deux moyens :

-Le premier : consiste à utiliser des ligands du pdb ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol, mol2....) grâce à des logiciels de construction moléculaires tels que Titan.

-Le deuxième : consiste à utiliser des collections de molécules (chimiothèques) virtuelles aussi bien commerciales que libres. Parmi les chimiothèques les plus utilisées, nous citons la PubChem. Il s'agit d'une base de données américaine contenant des structures chimiques de plusieurs millions de composés en mettant en ligne, gratuitement, pour chaque substance une grande quantité de données de divers ordres : chimique, biochimique, pharmacologique, production, toxicologie, environnemental, etc. [40].

2.3. Programmes

A l'heure actuelle, plus de 30 programmes de docking moléculaires (commerciaux ou non) sont disponibles citons à titre d'exemple : GOLD, FlexX, DOCK, AutoDock et Surfex [36]. Ce dernier a été utilisé dans le présent travail pour générer *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la MAOB. Le programme Surfex utilise une fonction de notation empirique basée sur le système d'ancrage *Hammerhead*. En effet, le docking moléculaire avec Surfex commence par la construction d'une pseudo-molécule (appelée *protomol*) servant comme cible sur laquelle doit aligner le ligand. Il s'agit de fragments de molécules placés dans le site actif de manière à l'occuper idéalement. La seconde étape du docking moléculaire consiste à aligner le ligand à simuler sur le *protomol* généré lors de la première étape, et ce afin de déterminer son positionnement correct par rapport au récepteur étudiée. Grâce à sa fonction de score, le programme Surfex termine le processus de docking en évaluant les poses obtenues lors de la deuxième étape [41].



Chapitre 4:
Matériels et Méthodes

1. Matériels

1.1. Microordinateur

Dans notre étude nous avons utilisé un micro-ordinateur ayant une mémoire vive de 2 Go. Tous les programmes utilisés sont installés sous le système d'exploitation Windows 7.

1.2. Programmes

Nous avons fait appel à plusieurs programmes pour réaliser le présent travail, à savoir :

1/Surflex (1.3) : est un algorithme de docking rapide capable d'arrimer les ligands dans un environnement constitué d'acides aminés avec une bonne précision [37].

2/VMD (1.9.1) : (visual molecular dynamics) pour la préparation de la cavité de l'enzyme ainsi que la visualisation moléculaire [42].

3/Titan (1.0.1) : pour la construction moléculaire en 3D (tridimensionnelle) des ligands issus de la littérature.

4/Open Babel (2.0.2) : pour convertir les données chimiques d'un format à un autre (pdb, mol, mol2, sdf.....etc.) [43].

5/MS Viewer (4.2) : pour la visualisation des interactions Enzyme-inhibiteur notamment les liaisons hydrogènes en permettant de mesurer les distances [44].

6/ Excel 2010 : Pour tracer la courbe de corrélation linéaire utilisé lors du test de fiabilité de Surflex.

1.3. Banques de données

1.3.1. Pubchem

C'est une banque de données de molécules chimiques gérée par le *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), branche de la Bibliothèque nationale de médecine des États-Unis sous l'autorité de la *National Institutes of Health* (NCI).

La chimiothèque *PubChem* répertorie plusieurs millions de composés en mettant en ligne, gratuitement, pour chaque substance une grande quantité de données de divers ordres : chimique, biochimique, pharmacologique, production, toxicologie, environnemental...etc. [45].

1.3.2. PDB (*Protein Data Bank*)

C'est la principale source de données de biologie structurale. Elle permet en particulier d'accéder gratuitement à des milliers de structures 3D de protéines d'intérêt pharmaceutique. Ces structures sont essentiellement déterminées par cristallographie aux rayons X [46].

1.4. Le serveur molinspiration

Offre une large gamme d'outils logiciels de chiminformatique qui supporte la manipulation et le traitement des molécules, y compris le calcul des diverses propriétés moléculaires [47].

2. Méthodes

2.1. Préparation de la protéine

La cible thérapeutique que nous avons étudiée dans notre travail de master est la MAOB dont la structure 3D est disponible dans la banque de donnée PDB. En effet, cette banque nous a proposé 11 structures cristallographiques de complexes (MAOB-inhibiteur) humaines avec une résolution inférieure à 2 Å. Les codes PDB de ces complexes ainsi que leur résolution sont représentés dans le tableau N° 1.

Tableau N° 1 : Les codes PDB des complexes "MAOB humaine -inhibiteur" avec leur résolution.

Code complexe	Code inhibiteur	Résolution (Å)
2XCG	XCG	1.9
4A79	P1B	1.89
2BK3	FOH	1.8

3PO7	ZON	1.8
4CRT	ASS	1.8
2V61	C18	1.7
4A7A	RGZ	1.7
1OJA	ISN	1.7
2XFP	ISN	1.66
1S3B	RMA	1.65
2V5Z	SAG	1.6

Parmi ces complexes nous avons choisi celui portant le code 2V5Z car il s'agit d'une structure correctement définie avec la meilleure résolution soit 1.6 Å. L'enzyme étant sous forme homodimère (chaîne A et B identiques), la chaîne B a été éliminée pour permettre une utilisation plus aisée de l'enzyme lors du docking moléculaire. Les molécules d'eau ainsi que l'inhibiteur de la chaîne A ont été également éliminés pour ne garder que la chaîne A de la MAOB sous le format mol2.

2.2. Préparation des ligands

Dans notre étude, nous avons tiré 43 inhibiteurs de la MAOB à partir de la littérature (voir annexe N° 1). Ces molécules ont été dessinées avec le programme de construction moléculaire « Titan », en tenant compte de l'état d'hybridation de chaque atome. Une étape de minimisation de l'énergie faisant suite à la construction moléculaire est indispensable pour optimiser la géométrie de chaque inhibiteur dessiné. Enfin, les ligands construits sont enregistrés sous format *pdb*.

Avant d'utiliser le programme Surflex, il est important de préparer un fichier *pdb* comportant la structure 3D de l'inhibiteur de référence **SAG** du complexe **2V5Z** utilisé. Ce ligand de référence nous servira pour la génération du *protomol* par Surflex.

2.3. Docking avec Surfex

Le docking a été réalisé au programme Surfex version 1.3 selon deux étapes complémentaires :

-La construction d'une pseudo-molécule appelé « *protomol* » en utilisant l'inhibiteur de référence SAG.pdb et la chaîne A de l'enzyme 2V5Z.mol2 préparés précédemment par VMD.

Le *protomol* est généré grâce à la commande suivante :

```
surfex-dock proto inhibiteur.pdb protéine.mol2 pl
```

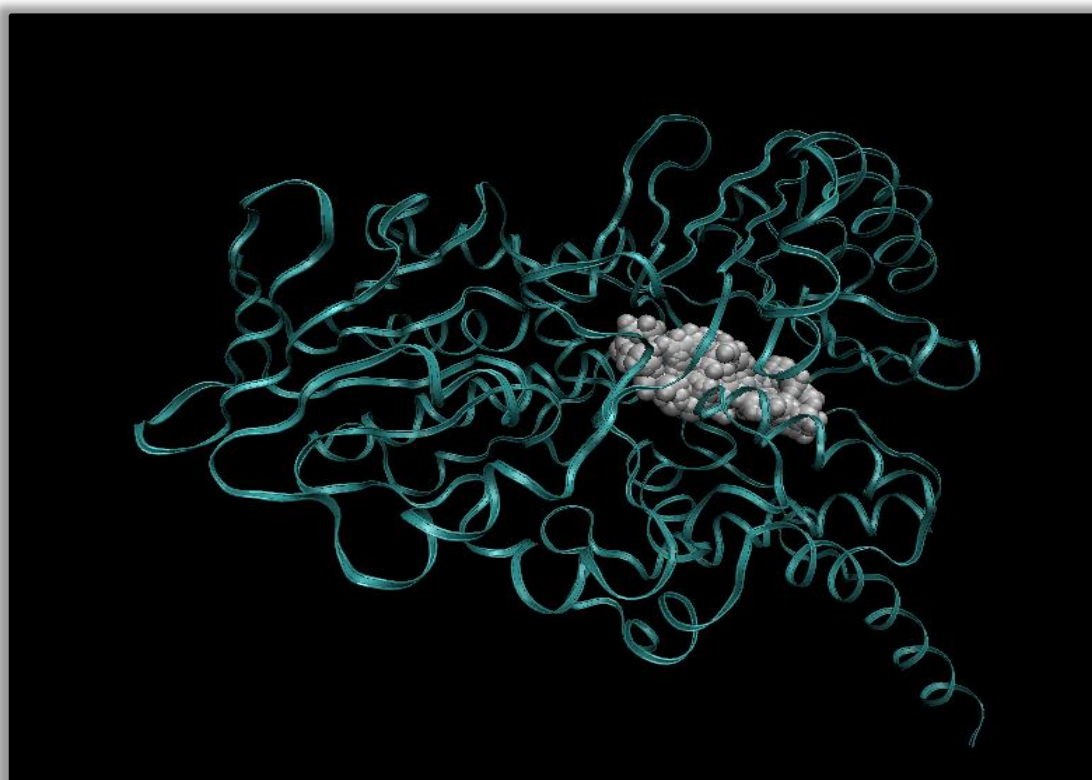


Figure N° 17 : Le model en négatif d'un site actif représenté par le *protomol* (coloré en blanc).

-Le docking avec Surfex nécessite des ligands sous format pdb ou mol2 tandis que la protéine et le *protomol* sont sous format mol2. Le docking moléculaire des différents ligands étudiés dans la cavité de la MAOB a été réalisé grâce à la commande suivante :

surflex-dock dock ligand.pdb pl-protomol.mol2 protéine.mol2
--

Suite au docking moléculaire, le programme Surflex génère les 10 meilleures positions de chaque ligand au niveau de la cavité catalytique de l'enzyme, classées selon leur score (de final-0.mol2 jusqu'à final-9.mol2). Dans notre cas, nous avons pris pour chaque inhibiteur étudié la meilleure conformation (final-0) avec son score.

2.4. Règle de Lipinski

Chaque médicament éventuel doit de se conformer à plusieurs critères de base, tels son faible coût de production, être soluble, stable, brevetable, mais doit aussi se conformer à des barèmes associés à ses propriétés pharmacologiques d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion (ADME) et si ce médicament susceptible d'être administré par voie orale chez l'humain. Cela est possible par l'application de la règle de Lipinski ou règle de cinq formulée par Christopher Lipinski. Selon cette règle, un composé actif sera mieux absorbé pour arriver facilement à son site d'action s'il remplit au moins trois de ces cinq critères :

- La masse moléculaire doit être inférieure à 500 Da.
- Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène (somme des groupements OH et NH) doit être inférieur ou égal à 5.
- Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène (somme des atomes O et N) doit être inférieur ou égal à 10.
- Le nombre de liaisons rotatives doit être inférieur ou égal à 15.
- Le logarithme décimal du coefficient de partage eau / octanol, noté LogP, doit être compris entre -2 et 5. Cette valeur permet de déterminer le caractère hydrophile ou hydrophobe (lipophile) d'une molécule. S'il est positif et très élevé, cela exprime le fait que la molécule considérée est bien plus soluble dans l'octanol que dans l'eau, ce qui reflète son caractère lipophile, et inversement [41].



Chapitre 5:
Résultats et Discussions

1. Test de fiabilité du programme Surflex

Avant d'aborder l'étude de l'inhibition de la MAOB par diverses molécules, nous avons tenté d'évaluer la fiabilité du programme Surflex utilisé dans cette étude en faisant appel au test par régression linéaire.

1.1. Coefficient de corrélation

La régression linéaire est une méthode mathématique permettant d'évaluer la relation qui pourrait exister entre deux variables quantitatives X et Y. Afin de tester la fiabilité du programme Surflex, nous avons jugé utile d'étudier la régression linéaire entre les scores obtenus après docking moléculaire de 43 inhibiteurs de la MAOB tirés de la littérature et les valeurs de leur Log IC₅₀ obtenues expérimentalement.

Les scores fournis par Surflex des inhibiteurs étudiés ainsi que les valeurs de leur IC₅₀ et Log IC₅₀ (expérimentales) sont représentés dans le tableau N° 2 (les structures 2D de chaque composé sont représentées dans l'annexe N° 1).

Tableau N° 2 : Corrélation entre les affinités des 43 inhibiteurs de la MAOB et leurs Log IC₅₀.

Composé	IC ₅₀ (μM)	LogIC ₅₀	SCORE	Référence
1	0.00817	-2.087778	3.13	[28]
2	0.00648	-2.188425	2.84	[28]
3	0.00425	-2.371611	3.28	[28]
4	0.00835	-2.078314	2.92	[28]
5	0.02842	-1.546376	3.07	[28]
6	0.01325	-1.877784	2.85	[28]
7	0.01234	-1.908685	3.52	[28]
8	0.01285	-1.891097	3.38	[28]
9	0.02531	-1.596708	3.29	[28]
10	0.01562	-1.806319	3.17	[28]
11	0.01427	-1.845576	3.54	[28]
12	0.05293	-1.276298	3.31	[28]
13	0.04205	-1.376234	3.2	[28]

14	0.04342	-1.36231	3.12	[28]
15	0.000662	-3.179142	2.74	[26]
16	0.00152	-2.818156	2.88	[26]
17	0.0384	-1.415669	3.25	[26]
18	0.000386	-3.413413	2.94	[26]
19	0.039	-1.408935	2.94	[48]
20	18.14	1.2586373	3.42	[49]
21	16.77	1.2245331	3.5	[49]
22	15.47	1.1894903	3.42	[49]
23	6.63	0.8215135	3.68	[50]
24	0.045	-1.346787	3.38	[50]
25	1.53	0.1846914	3.48	[11]
26	0.465	-0.332547	3.37	[11]
27	0.114	-0.943095	3.46	[11]
28	0.114	-0.943095	3.45	[11]
29	1.49	0.1731863	3.04	[27]
30	6.75	0.8293038	3.73	[27]
31	1.21	0.0827854	3.56	[27]
32	0.00254	-2.595166	3.28	[27]
33	1.08	0.0334238	3.47	[27]
34	0.00301	-2.521434	3.31	[27]
35	1.17	0.0681859	3.12	[27]
36	1.42	0.1522883	3.5	[27]
37	0.017	-1.769551	2.97	[51]
38	1.5	0.1760913	3.05	[52]
39	2.23	0.3483049	3.15	[52]
40	0.132	-0.879426	3.41	[52]
41	1.16	0.064458	3.6	[52]
42	2.45	0.3891661	3.07	[52]
43	0.425	-0.371611	3.24	[52]

Selon les travaux de BENSEGUENI A en (2007), un programme de docking moléculaire est performant quand la valeur absolue du coefficient de corrélation

linéaire dépasse 0,5, ce qui est en parfait accord avec les résultats obtenus. Comme le montre la figure N° 18, il existe une certaine corrélation entre les scores fournis par SurfleX et les valeurs de Log IC₅₀ des inhibiteurs étudiés, avec un coefficient de corrélation égal à 0,54. Nous pouvons conclure alors que le programme SurfleX est suffisamment fiable pour simuler les interactions MAOB-inhibiteur.

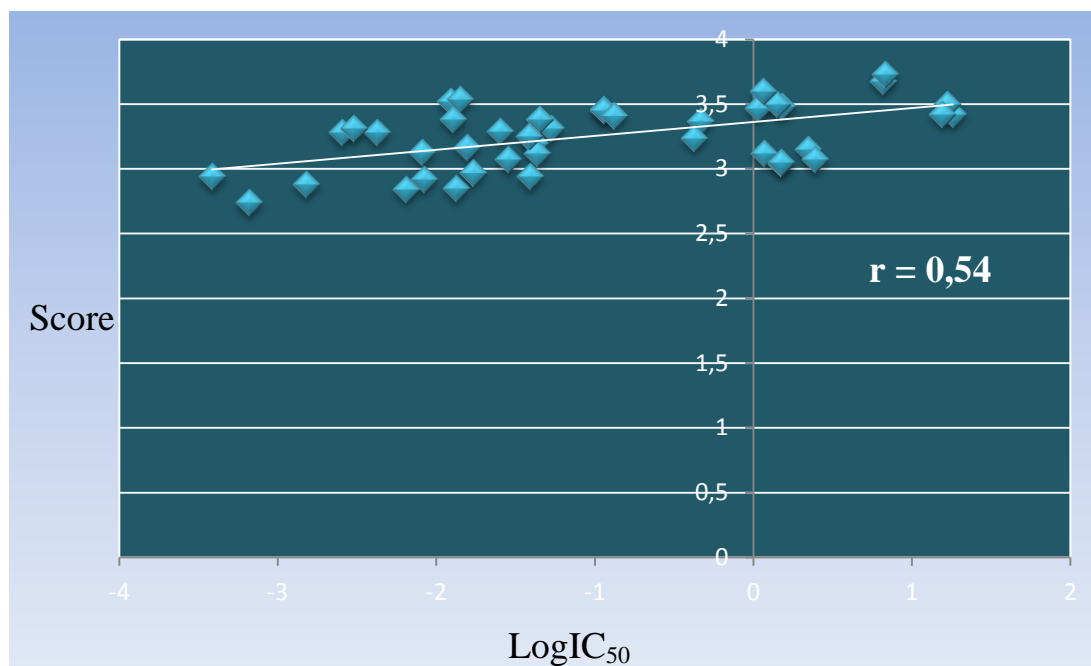


Figure N° 18 : Courbe de corrélation entre l'activité biologique (Log IC₅₀) de 43 inhibiteurs et leur affinité vis-à-vis de la MAOB.

1.2. Conclusion

A la lumière des résultats du test de corrélation linéaire, le programme SurfleX est bien adapté aux calculs des interactions entre la MAOB et les différents inhibiteurs testés. Donc nous pouvons l'utiliser sans trop risque d'erreurs pour étudier profondément les mécanismes d'inhibition de la MAOB par ces molécules.

2. Etude des interactions "Inhibiteurs-Enzyme"

A l'heure actuelle, il existe plusieurs familles de molécules chimiques inhibant sélectivement la MAOB. Les plus fréquemment citées dans la littérature sont les Benzyloxy substituted et les 1,3-dimethyltetrahydropyrazino [2.1-f] purinediones. En effet, 3 composés (les composés 7, 8 et 11 représentés dans la figure N° 20) appartenant à la famille des dérivés benzyloxyques sont reconnus pour leur puissant

effet inhibiteur envers la MAOB avec des valeurs faibles de leur IC_{50} allant à l'ordre de nanomolaire (voir tableau N° 3) [28].

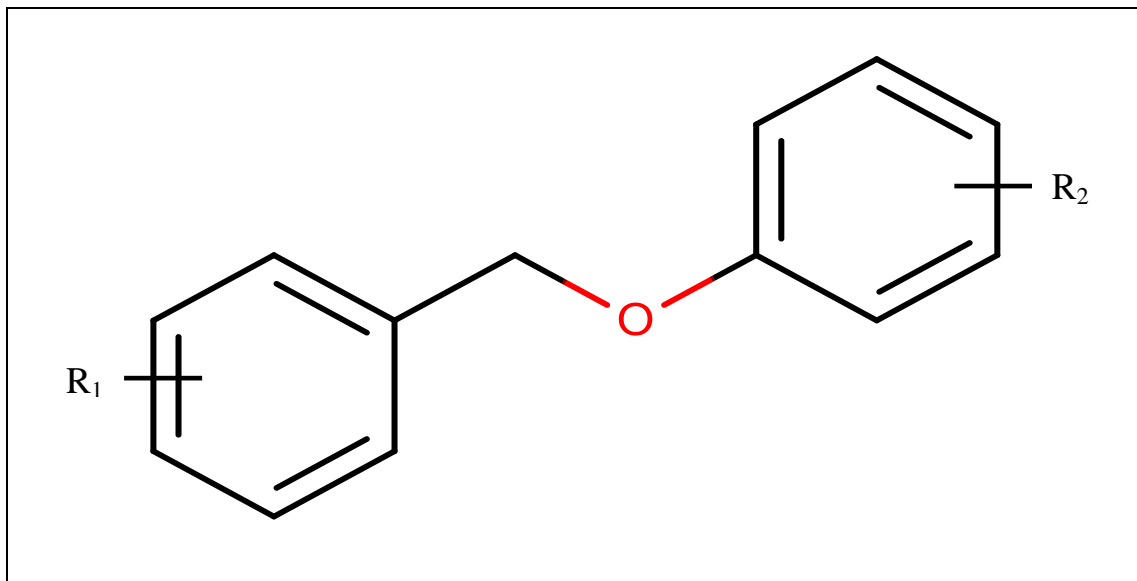


Figure N° 19 : Structure de base des composés benzyloxy substitués [28].

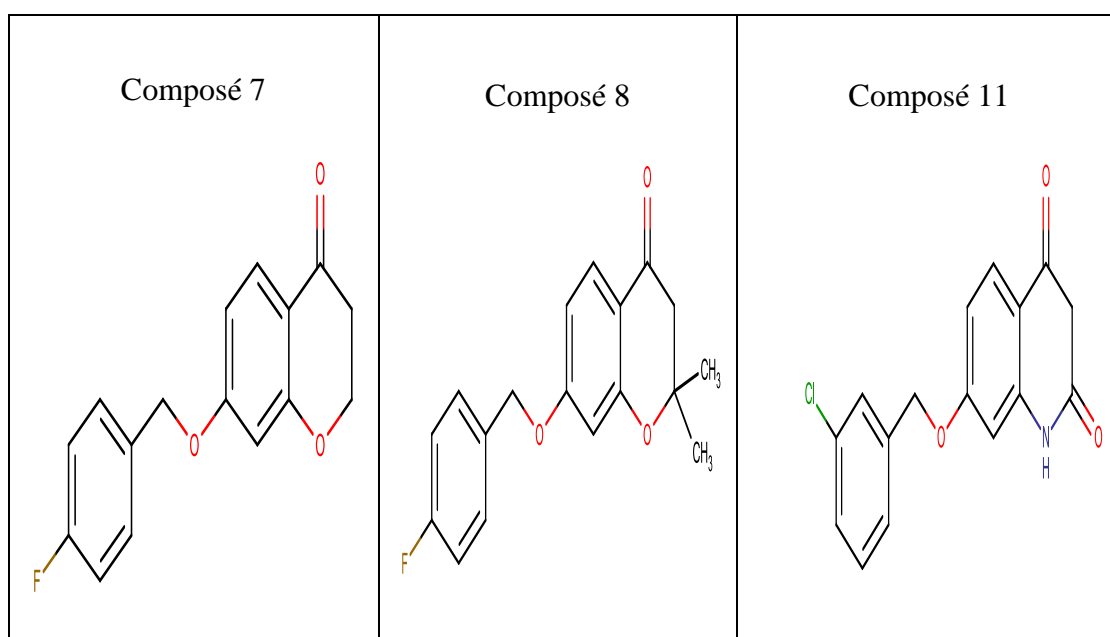


Figure N° 20 : Structures des inhibiteurs benzyloxy substitués étudiés [28].

De même, les inhibiteurs appartenant à la famille des dérivés de 1,3dimethyltetrahydropyrazino [2,1-f] purinediones se présentent parmi les meilleurs inhibiteurs de la MAOB avec de faibles valeurs de leur IC_{50} (voir tableau N°3). Ces composés sont des dérivés des xanthines tricycliques. Plusieurs composés ont montré

un fort effet inhibiteur vis-à-vis la MAOB citons à titre d'exemple les composés 40, 41 et 43 (voir figure N° 22). [52]

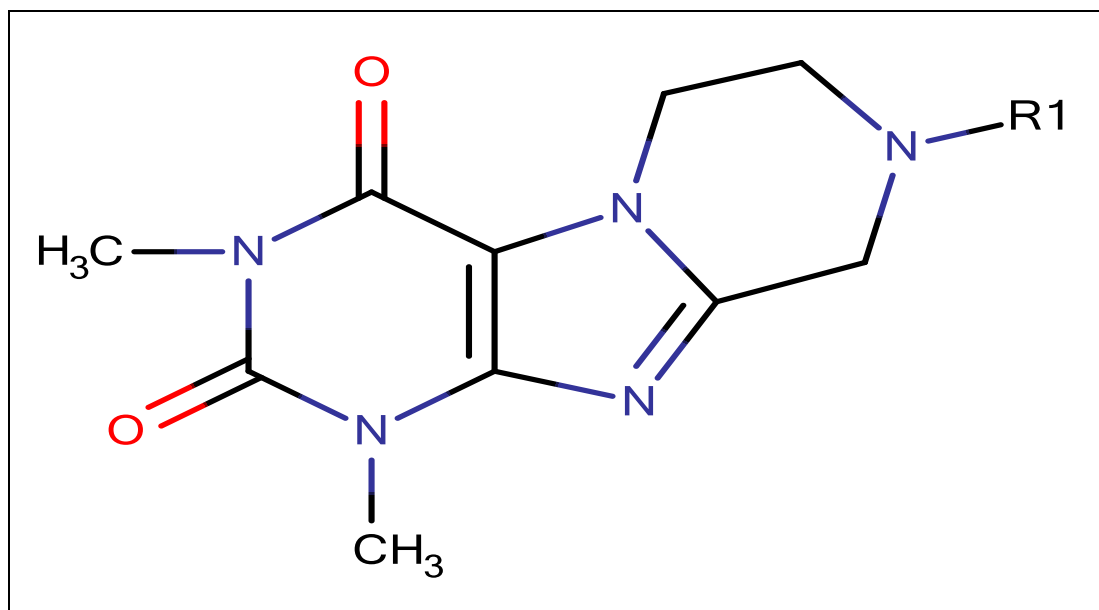


Figure N° 21: Structure de base des 8-Substituted 1,3-dimethyltetrahydropyrazino [2,1-f]purinediones [52].

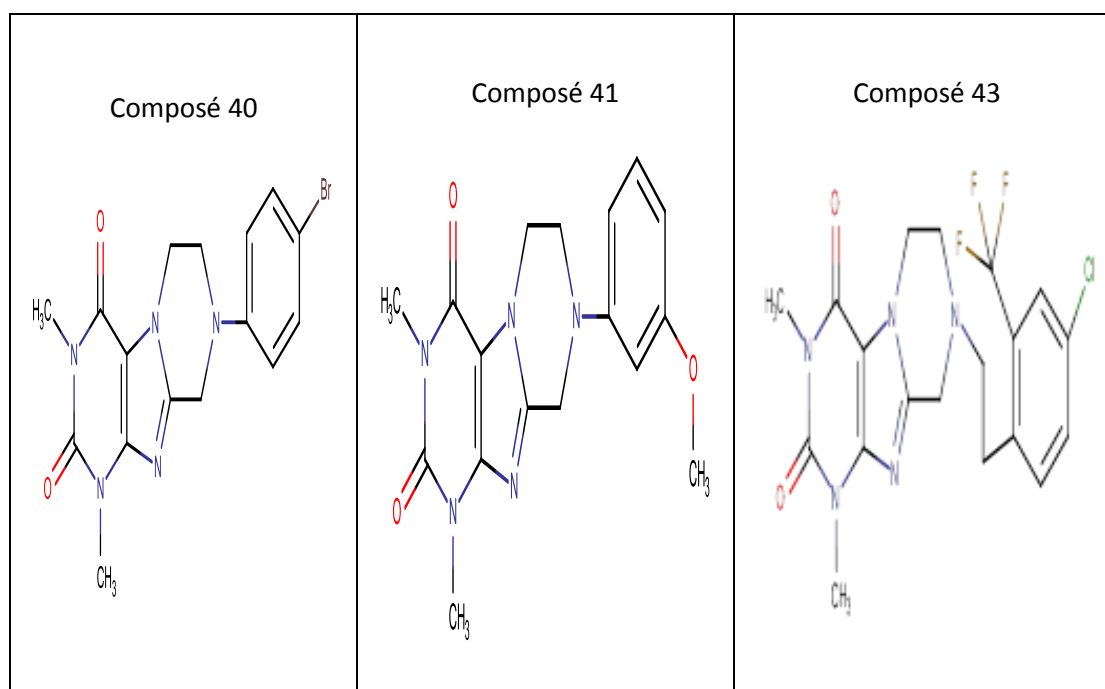


Figure N° 22: Structures des inhibiteurs étudiés de la classe 8-Substituted 1,3-dimethyltetrahydropyrazino [2,1-f] purinediones [52].

En regard des publications énoncées ci-dessus, aucune référence bibliographique ne fait état sur le mode d'interaction des composés cités plus haut avec le site actif de la MAOB. Il sera donc très intéressant d'envisager une étude *in silico* plus poussée et approfondie, portée sur les mécanismes d'inhibition mis en place par ces molécules afin de rationaliser au mieux la conception de nouveaux inhibiteurs encore plus affins envers la MAOB.

Grâce au programme Surfex, nous avons pu simuler le mode d'inhibition mis en place par ces molécules et évaluer leur affinité théorique. Le programme MS Viewer nous a aidé à visualiser le nombre et le type de liaisons mises en jeu lors de ces interactions.

Tableau N° 3: Les 6 inhibiteurs étudiés avec leur IC₅₀ et scores.

Famille	Inhibiteur	IC ₅₀ (µM)	Score
Benzyloxy substituted	Composé11	0.01427	3.54
	Composé7	0.01234	3.52
	Composé8	0.01285	3.38
8-Substituted1, 3-dimethyltetrahydropyrazino [2.1-f] purinediones	Composé41	1.16	3.60
	Composé40	0.132	3.41
	Composé43	0.425	3.24

2.1. Le complexe MAOB-Composé 11

Comme le montre le tableau N° 3 le composé11 se caractérise par une forte activité biologique (IC₅₀ = 0.01427 µM). De son côté, le programme Surfex donne un score de 3.54. Ce score se traduit par la formation de deux liaisons hydrogènes entre le composé 11 et le site actif de la MAOB. La première est formée entre l'azote 33 de l'inhibiteur et l'oxygène de la fonction carboxylique du résidu Cys172 avec une distance de 2.73 Å. La deuxième distante de 2.98 Å est formée entre le chlore 23 de l'inhibiteur et l'oxygène de la fonction carboxylique du résidu Ile199. Le composé 11 est également stabilisé par de nombreuses interactions hydrophobiques qu'il établit avec les résidus Lys296, Tyr326, Met341, Tyr60, Ile198, Tyr435, Tyr188, Gly434 et Leu328 de l'enzyme. (voir figure N° 23).

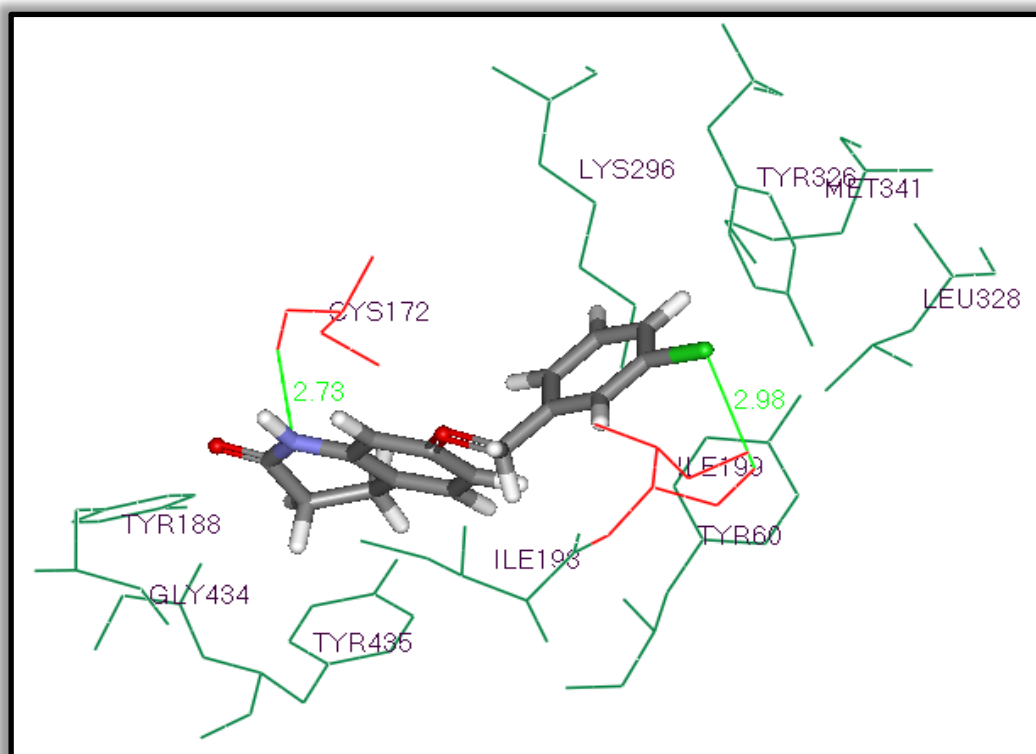


Figure N° 23 : Mode d'interaction du composé 11 dans le site actif de la MAOB.

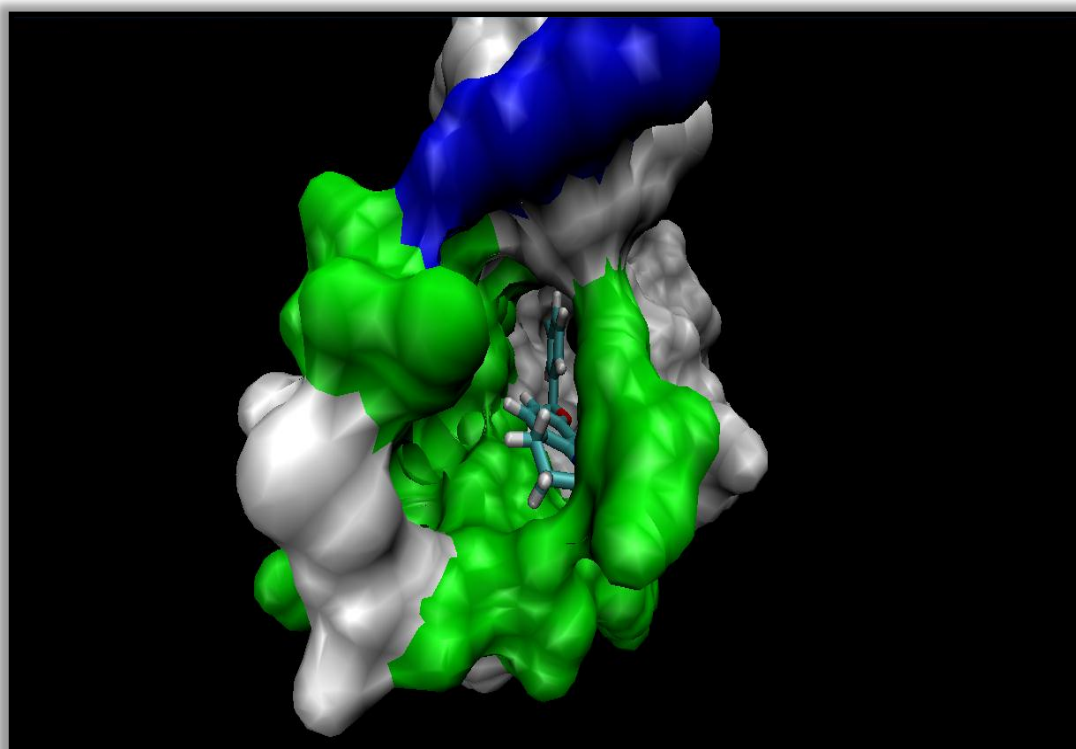


Figure N° 24 : Illustration du positionnement du composé 11 dans le site actif de la MAOB.

2.2. Le complexe MAOB-Composé 7

Avec une faible valeur de son IC_{50} (0.01234 μ M), le composé 7 est considéré comme le meilleur inhibiteur de la MAOB connus jusque-là. Le docking moléculaire avec Surfex de ce composé au sein du site actif de l'enzyme donne l'un des meilleurs scores soit 3.52. Néanmoins, ce composé ne forme aucune liaison hydrogène lors de son interaction avec le site actif de la MOAB. De nombreuses interactions hydrophobiques avec les résidus Tyr435, Phe343, Gly205, Gln206, Tyr326, Ile198, Ile199, Leu167 et Thr195 assurent la stabilité du complexe MAOB-composé 7.

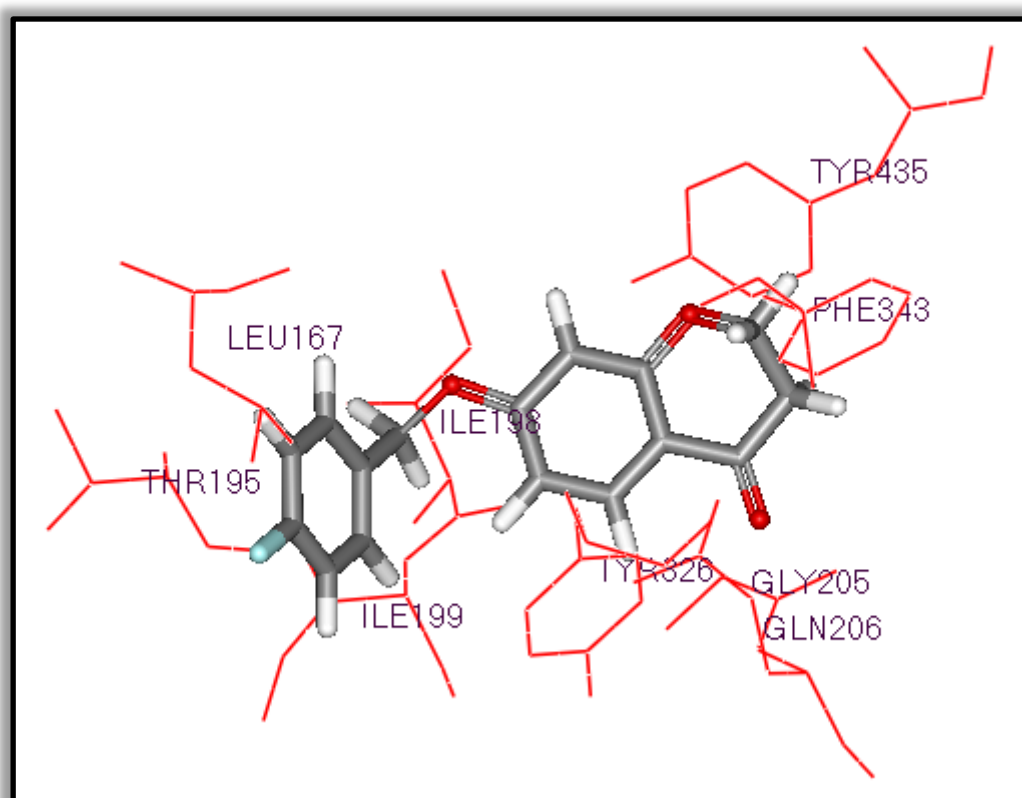


Figure N° 25 : Mode d'interaction du composé 7 dans le site actif de la MAOB.

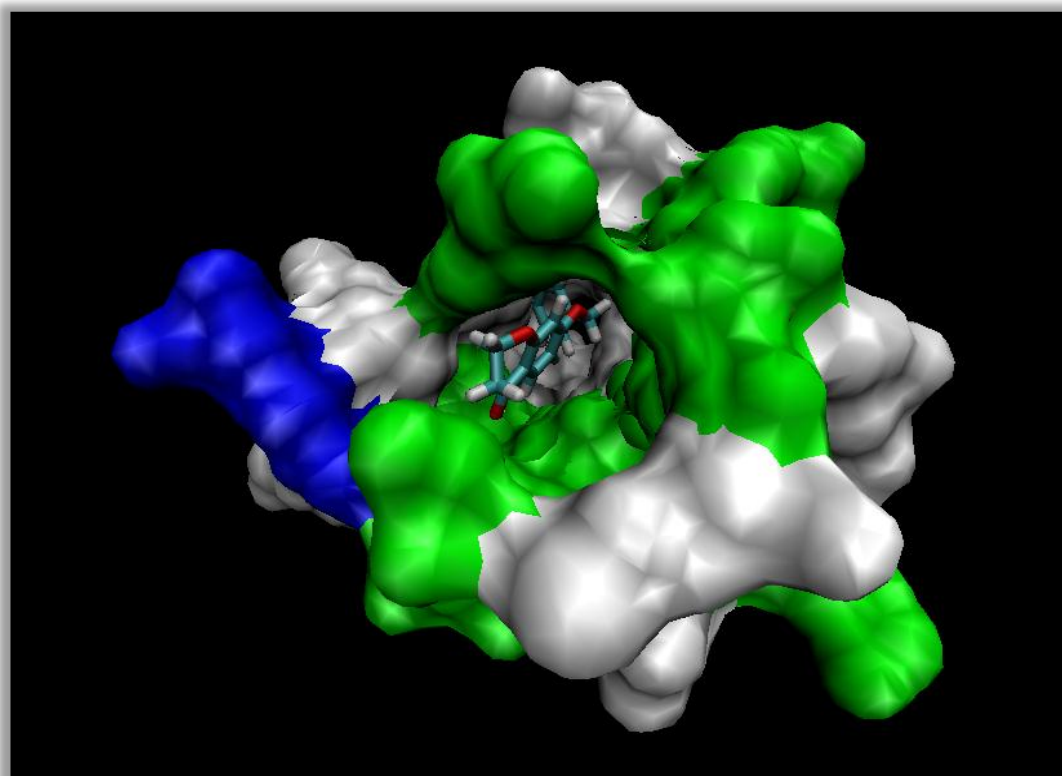


Figure N° 26 : Illustration du positionnement du composé 7 dans le site actif de la MAOB.

2.3. Le complexe MAOB-Composé8

Comme le montre le tableau N° 3, le composé 8 se caractérise par une forte activité inhibitrice envers la MOAB avec une IC_{50} égale à $0.01285 \mu\text{M}$. De son côté, le programme Surflex confirme ces données expérimentales en donnant un score égal à 3.38. La visualisation des résultats de docking (figure N° 27) montre que le composé 8 n'établit aucune liaison hydrogène avec le site actif de l'enzyme. Ainsi, nous observons que le complexe MAOB-composé 8 est stabilisé grâce aux interactions hydrophobiques formées entre l'inhibiteur et les résidus Tyr435, Gln206, Ile198, Ile199, Phe168, Leu171 et Cys172 de l'enzyme.

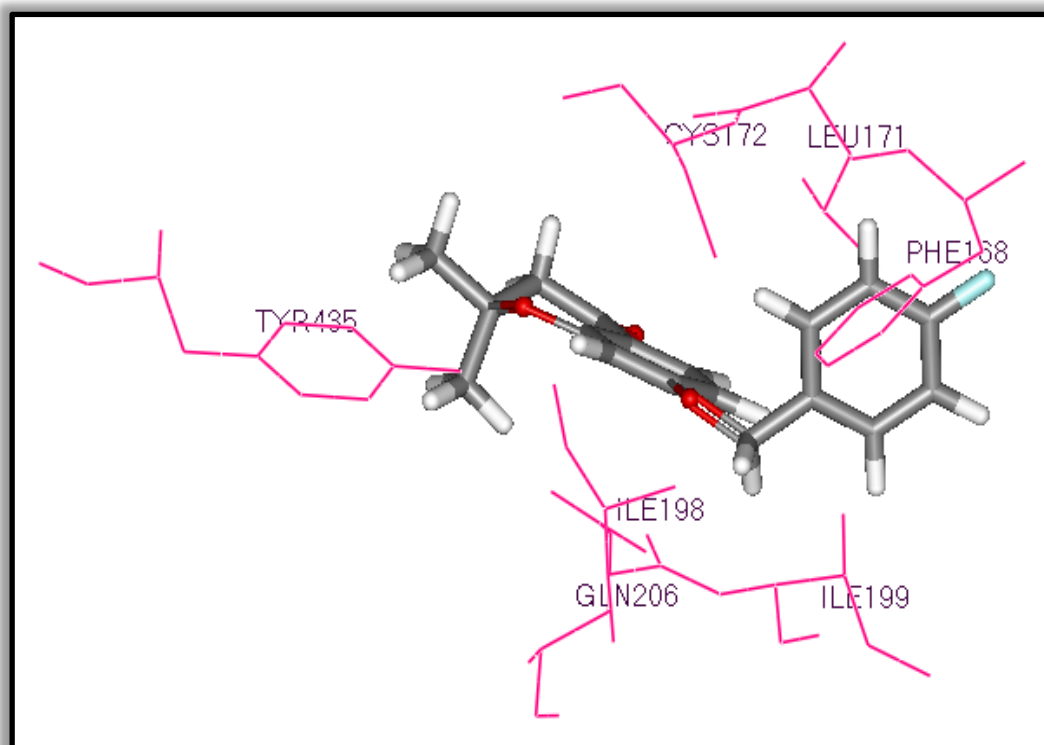


Figure N° 27 : Mode d'interaction du composé 8 dans le site actif de la MAOB.

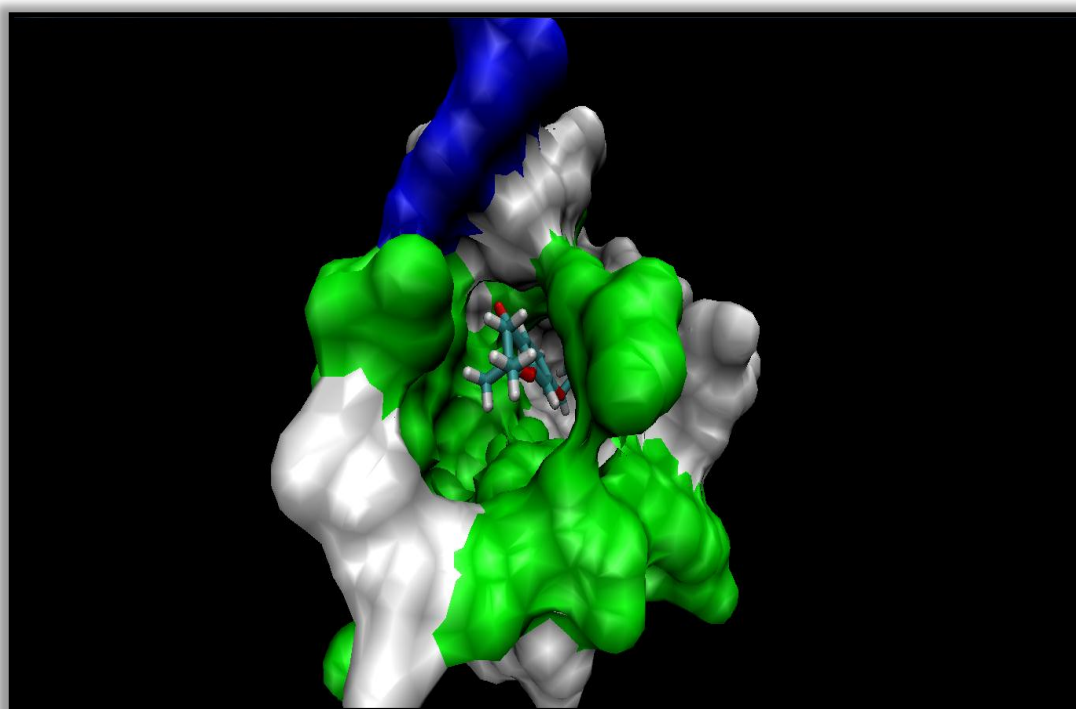


Figure N° 28 : Illustration du positionnement du composé 8 dans le site actif de la MAOB.

2.4. Le complexe MAOB-Composé 41

La simulation réalisée par Surflex nous a permis d'évaluer le score d'affinité entre le composé 41 et la MAOB. Ce score s'évaluant à 3.6 se traduit par la formation d'une liaison hydrogène entre l'azote numéro 3 de l'inhibiteur et l'oxygène de la fonction carboxylique du résidu Gln206 séparés par une distance de 3 Å. De nombreuses interactions de type hydrophobe assurent également la stabilité du complexe MAOB-Composé 41. Ces interactions sont formées entre l'inhibiteur et les résidus : Tyr435, Phe343, Leu171, Tyr326, Ile316, Trp119 et Ile199 du site actif de l'enzyme.

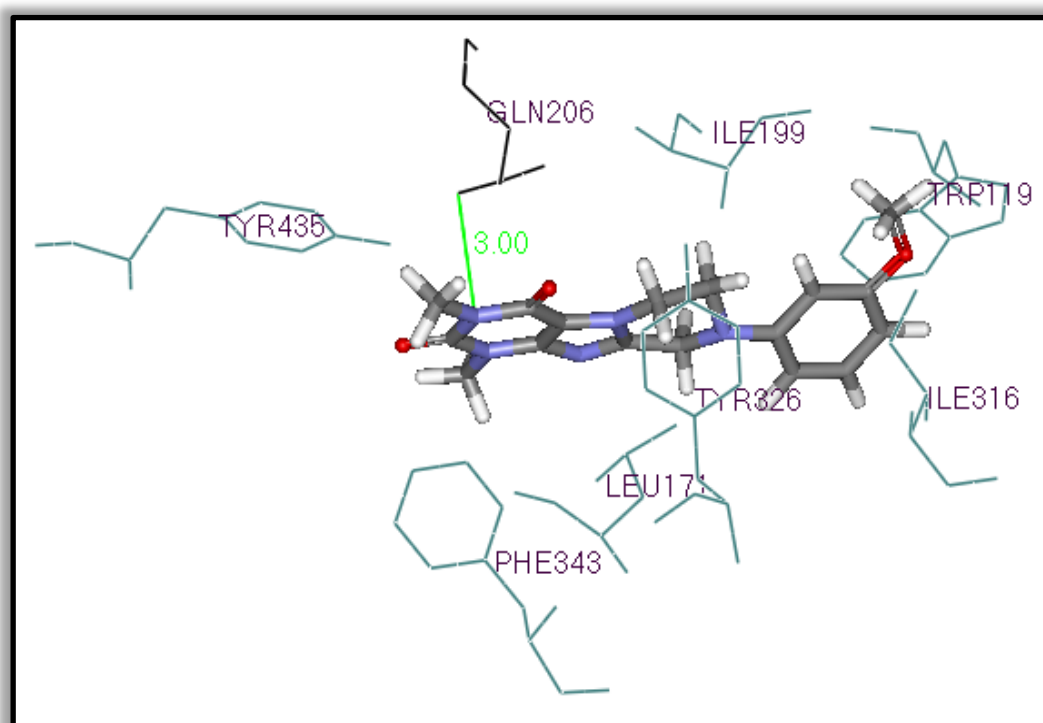


Figure N° 29 : Mode d'interaction du composé 41 dans le site actif de la MAOB.

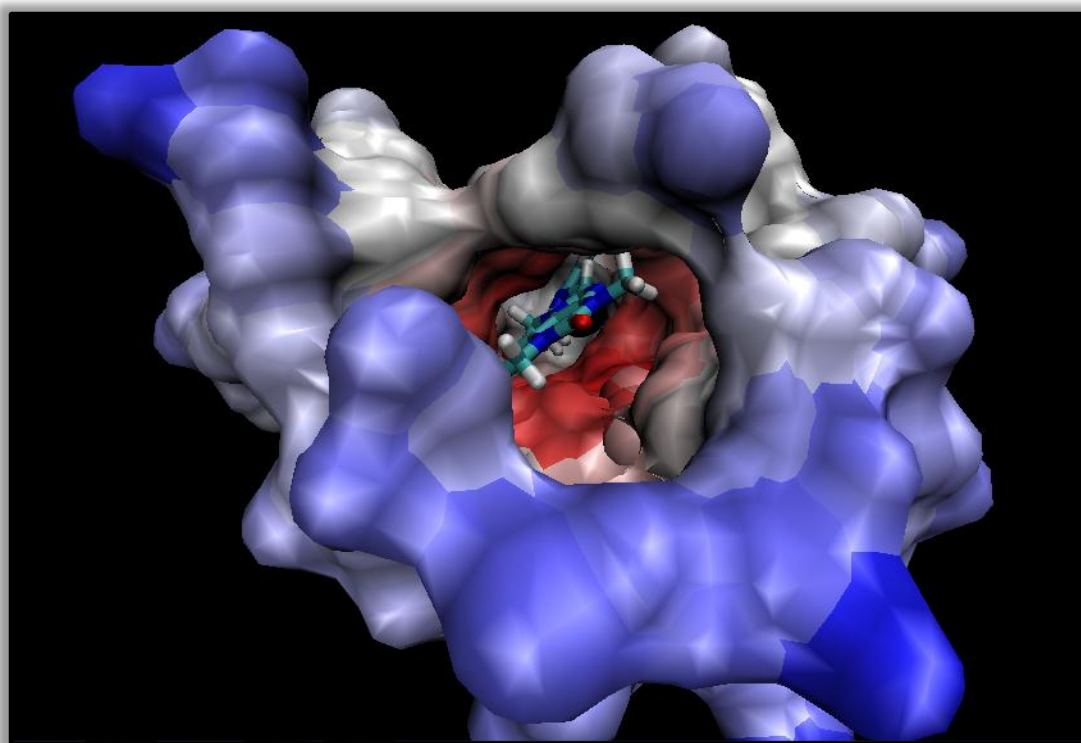


Figure N° 30 : Illustration du positionnement du composé 41 dans le site actif de la MAOB.

2.5. Le complexe MAOB-Composé 40

Le docking avec Surflex du composé 40 dans le site actif de la MAOB donne un score de 3.41. La visualisation des résultats du docking obtenus montre que ce composé inhibe la MAOB grâce à de nombreuses interactions hydrophobiques qu'ils forment avec les résidus Ile199, Gln206, Leu171, Gln65, Tyr435, Tyr398 et Ile198 du site actif de la MAOB.

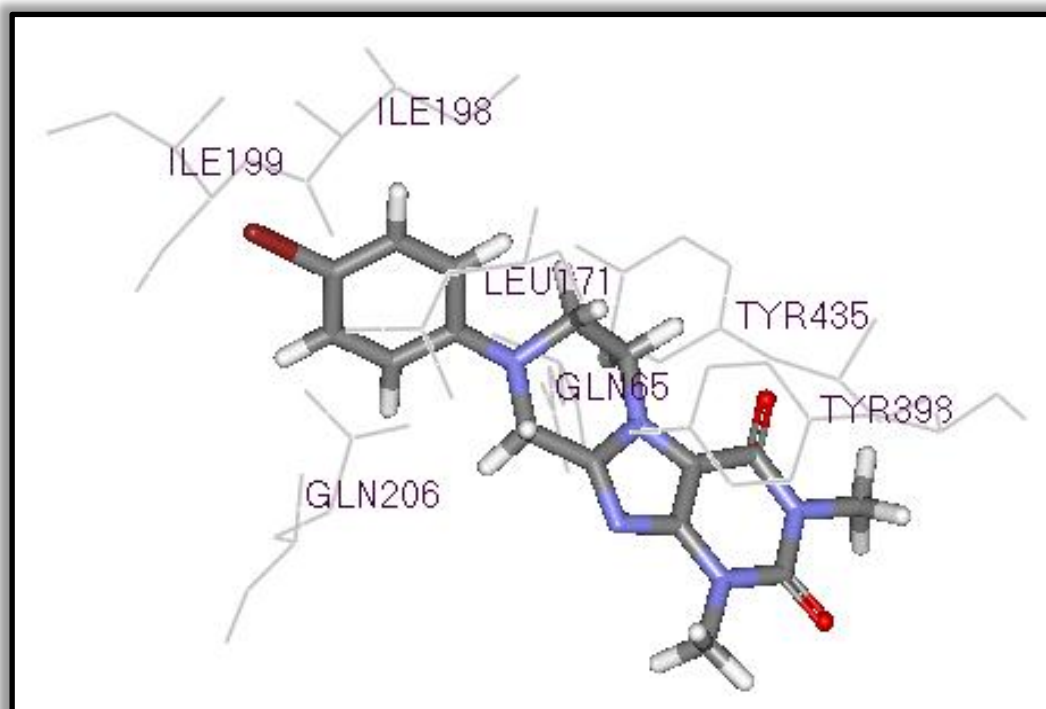


Figure N° 31 : Mode d'interaction du composé 40 dans le site actif de la MAOB.

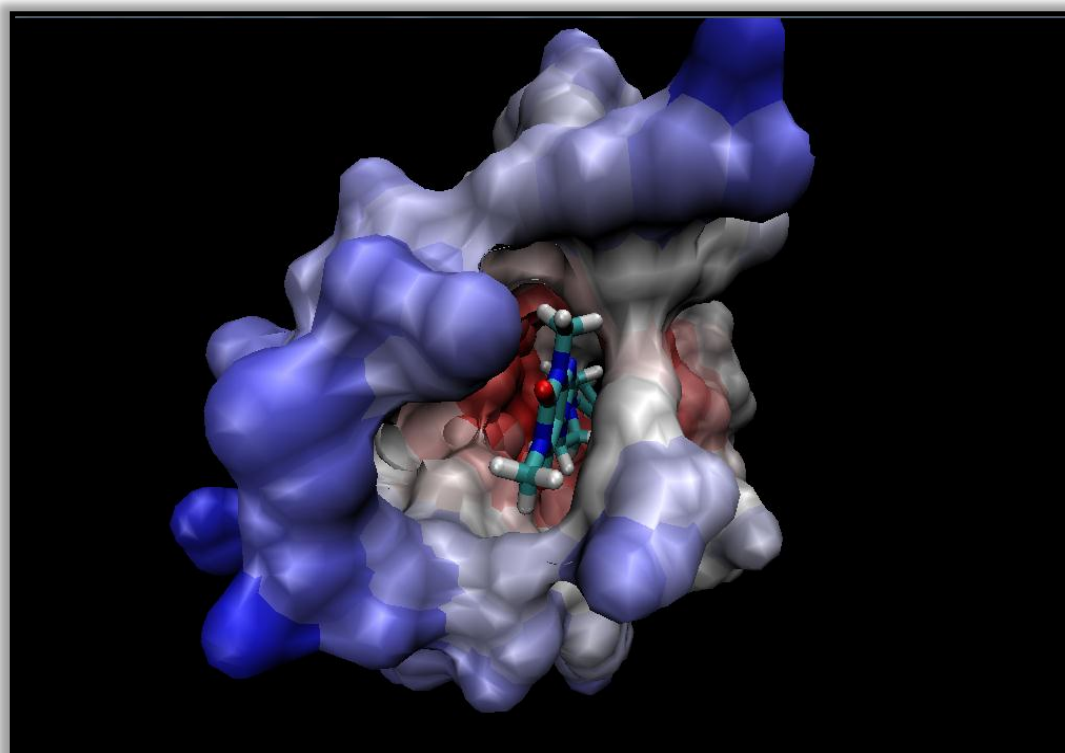


Figure N° 32 : Illustration du positionnement du composé 40 dans le site actif de la MAOB.

2.6. Le complexe MAOB-composé43

La reconstruction du complexe MAOB-composé 43 par docking moléculaire avec Surflex donne un score de 3.24. L'analyse visuelle avec le programme MS Viewer montre que le composé 43 forme deux liaisons hydrogènes avec le site actif de la MAOB. La première est formée entre l'azote 3 de l'inhibiteur et l'azote du radicale de Gln206 séparés par une distance de 2.86 Å. La deuxième liaison fait intervenir l'oxygène 6 de l'inhibiteur et l'oxygène de la fonction carboxylique du résidu Ile198 séparés par une distance de 2,5 Å. Il est à noter que ce complexe est stabilisé également par des interactions hydrophobiques formées entre l'inhibiteur et les résidus : Tyr60, Tyr326, Phe343 et Met436.

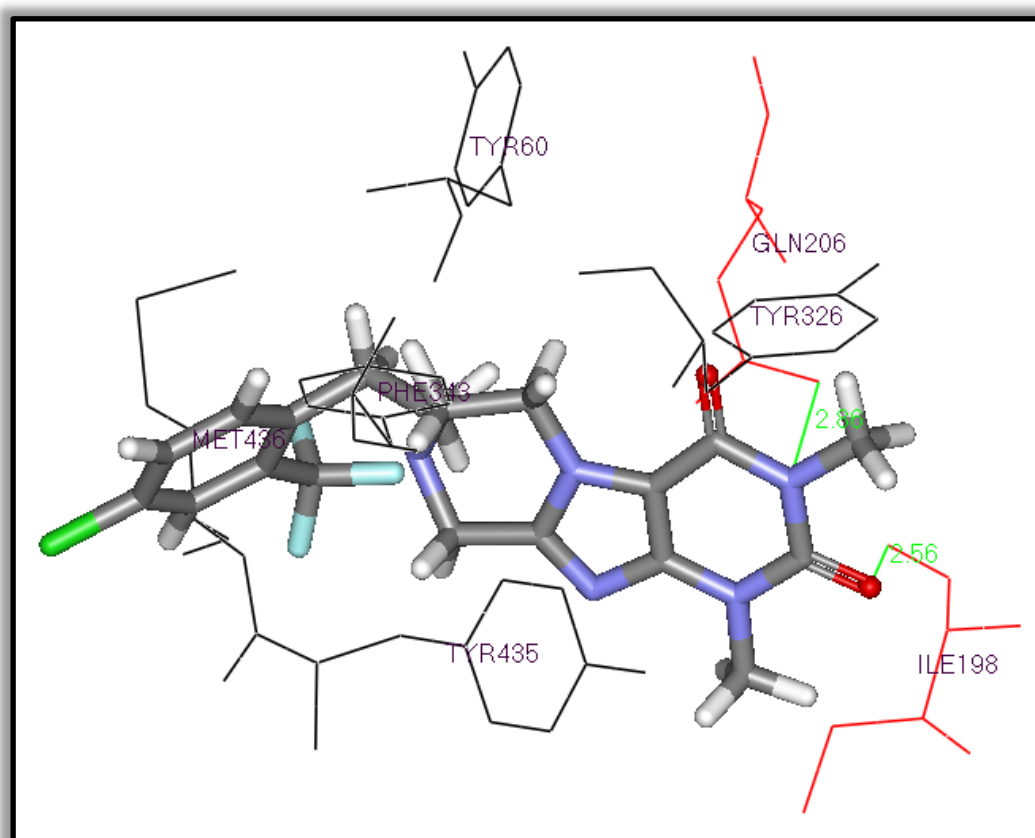


Figure N° 33: Mode d'interaction du composé 43 dans le site actif de la MAOB.

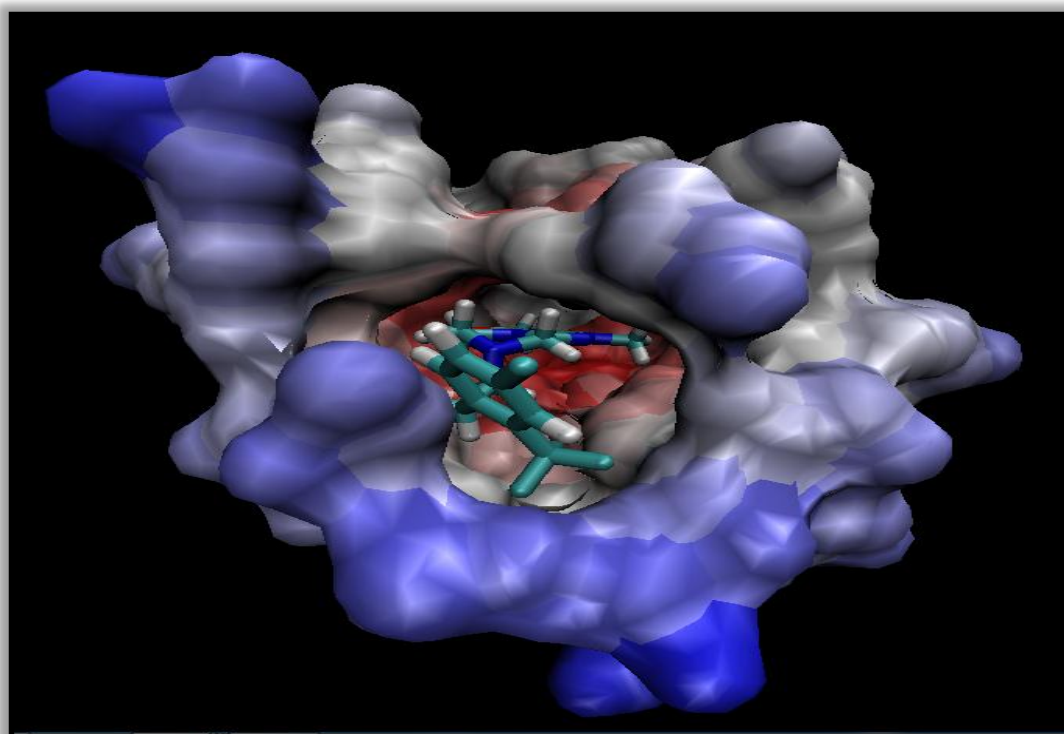


Figure N° 34 : Illustration du positionnement du composé 43 dans le site actif de la MAOB.

3. Conception de nouveaux inhibiteurs de la MAOB

Dans la perspective d'améliorer davantage l'affinité des inhibiteurs de la MAOB, nous avons tenté de tester *in silico* par Surflex l'activité inhibitrice de deux collections de similaires chimiques, en prenant comme structure de départ les composés 41 et composé 7.

Il est à signaler que les molécules des deux collections à tester ont été obtenues en consultant la banque *PubChem* (banque de données américaine de molécules chimiques gratuitement accessibles *via* Internet) (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)

3.1. Criblage virtuel d'une collection des similaires du composé 41

En prenant comme structure de départ le composé 41, la *PubChem* nous propose 95 similaires avec un taux de similarité allant jusqu'au 95%. Le docking moléculaire de ces composés envers le site actif de la MAOB fait ressortir 15 composés présentant un score supérieur à 3.6 ; score du composé de départ. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau N° 4.

Tableau N° 4: Numéro d'accèsion et score des meilleurs inhibiteurs obtenus suite au docking moléculaire de la collection de similaires du composé 41.

Composé	Numéro d'accèsion	Score
Similaire1	CID-55411293	6.88
Similaire2	CID-97951022	6.09
Similaire3	CID-13069632	5.00
Similaire4	CID-7011246	4.85
Similaire5	CID-4240666	4.66
Similaire6	CID-7011245	4.18
Similaire7	CID-55411332	4.08
Similaire8	CID-3804457	4.00
Similaire9	CID-16426970	3.97
Similaire10	CID-3927218	3.96
Similaire11	CID-3533637	3.93
Similaire12	CID-24236963	3.90
Similaire13	CID-3800164	3.86
Similaire14	CID-4554242	3.81
Similaire15	CID-51411170	3.63

Dans le but de vérifier la biodisponibilité par voie oral des 15 similaires sortis du criblage virtuel de cette première collection, nous avons fait appel à la règle de Lipinski. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau N° 5.

Tableau N° 5 : Critères de la règle de Lipinski des meilleurs composés obtenus suite au criblage de la collection des similaires du composé 41.

Similaire	PM	LogP	DH	AH	LF
1	442.5	1.98	2	10	10
2	439.56	5.78	0	8	8
3	426.52	2.25	0	9	7
4	398.42	1.55	2	10	4
5	425.53	5.27	0	8	7
6	398.42	1.55	2	10	4
7	456.55	2.35	2	10	11
8	453.59	6.31	0	8	10
9	424.50	3.02	0	9	5
10	385.42	2.33	0	9	5
11	399.41	2.21	0	10	5
12	438.53	3.29	0	9	5
13	411.51	4.80	0	8	7
14	384.40	1.08	2	10	4
15	425.53	5.27	0	8	7

PM = Poids Moléculaire, AH = Accepteur d'Hydrogène (O et N), DH = Donneur d'Hydrogène (OH et NH), LF = Liaison Flexible, LogP = coefficient de partage Eau/octanol.

Le tableau N° 5 montre que les 15 composés étudiés répondent parfaitement à la règle de Lipinski. Nous pouvons conclure que ces composés sont capables d'inhiber la MAOB sans poser des problèmes d'absorption par voie oral.

3.1.1. Etude des interactions du meilleur similaire (CID-55411293) issu de cette collection envers la MAOB

L'analyse visuelle (figures N° 35 et 36) montre que ce composé est bien placé dans la cavité catalytique de l'enzyme et indique aussi qu'il forme 3 ponts hydrogènes avec le site actif. Le premier est observé entre l'oxygène 1 du ligand et la fonction carboxylique du résidu Tyr60 avec une distance de 2.99 Å. Le deuxième pont hydrogène de distance 2.93 Å est constaté entre le N9 du composé et l'oxygène porté sur le radical de Gln206. La dernière liaison est formée entre le N10 de l'inhibiteur et la fonction carboxylique du résidu Gly434 séparées par une distance de 2.91 Å. Enfin Le complexe MAOB-similaire 1 est stabilisé également par de nombreuses interactions hydrophobiques formées précisément avec les résidus Phe343, Tyr398, Tyr435, Gln65 et Met436.

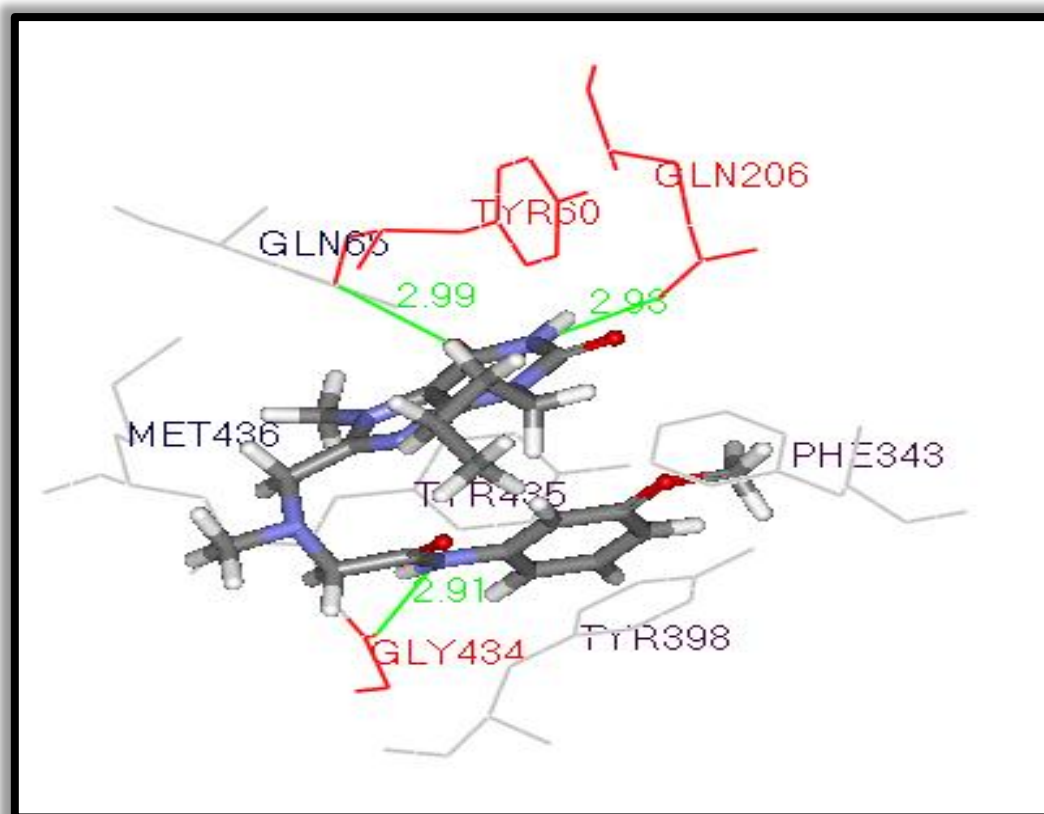


Figure N° 35 : Mode d'interaction du similaire 1 dans le site actif de la MAOB.

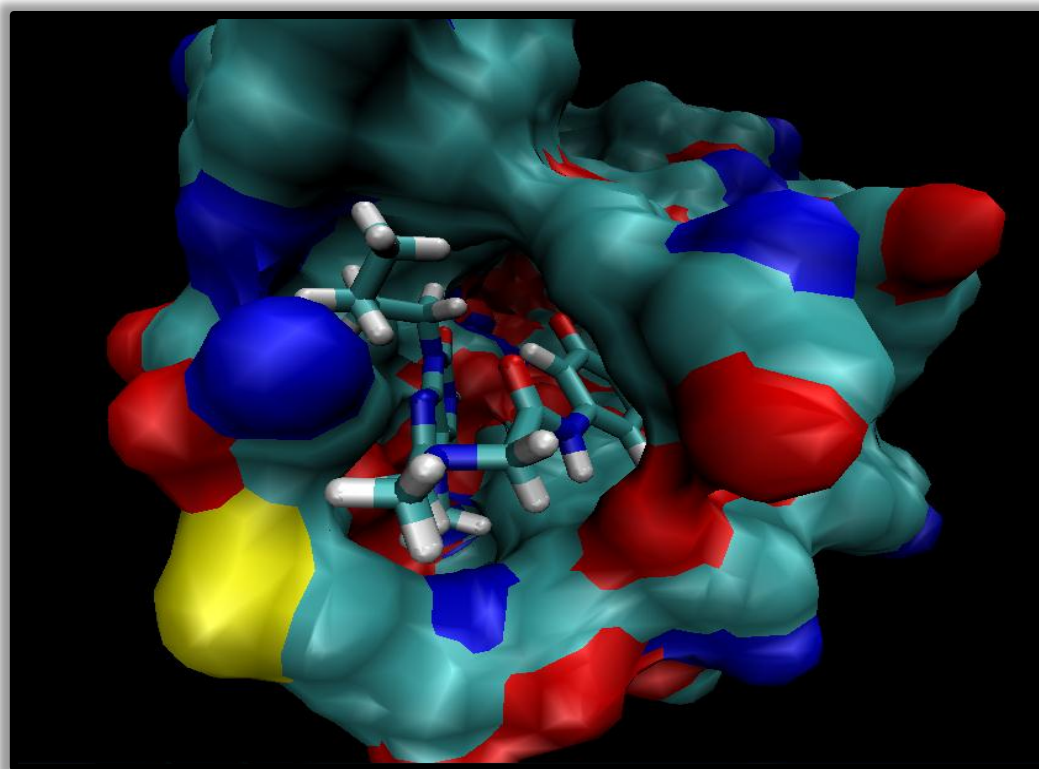


Figure N° 36 : Illustration du positionnement du similaire 1 dans le site actif de la MAOB.

3.2. Criblage virtuel d'une collection des similaires du composé 7

Le deuxième criblage virtuel que nous avons réalisé était porté sur une collection de similaires chimiques du composé 7 comprenant 94 molécules et présentant un taux de similarité allant jusqu'au 95%. Le docking moléculaire de ces molécules envers le site actif de la MAOB révèle 17 similaires ayant présenté un score supérieur à celui du composé de départ (3.52). Les numéros d'accèsion ainsi que les scores des meilleurs similaires sont représentés dans le tableau N°6.

Tableau N° 6 : Numéro d'accèsion et score des meilleurs inhibiteurs obtenus suite au docking moléculaire de la collection de similaires du composé 7.

Composé	Numéro d'accèsion	Score
Similaire16	CID-6507117	4.11
Similaire17	CID-24098910	4.11
Similaire18	CID-78915737	3.96
Similaire19	CID-2000030	3.94
Similaire20	CID-82639099	3.93
Similaire21	CID-101961357	3.85
Similaire22	CID-71481587	3.74
Similaire23	CID-14066367	3.73
Similaire24	CID-54753148	3.71
Similaire25	CID-740761	3.66
Similaire26	CID-2728599	3.63
Similaire27	CID-898288379	3.60
Similaire28	CID-39878548	3.59
Similaire29	CID-78915835	3.58
Similaire30	CID-16043694	3.56
Similaire 31	CID-20037258	3.54
Similaire 32	CID70702062	3.54

Comme dans le cas de la première collection, nous avons fait appel à la règle de Lipinski afin de nous renseigner sur les propriétés pharmacocinétiques (ADME) des 17 similaires obtenus suite au criblage virtuel de la deuxième collection les résultats obtenus sont représentés dans le tableau N°7.

Tableau N° 7 : Critères de la règle de Lipinski des meilleurs composés obtenus suite au criblage de la collection des similaires du composé 7.

Similaires	MP	LogP	DH	AH	LF
16	296.32	3.71	0	4	3
17	268.31	3.59	0	3	3
18	296.32	3.71	0	4	3
19	298.31	4.43	0	3	3
20	300.33	4.18	0	3	3
21	280.32	5.28	0	3	3
22	266.30	3.54	0	3	3
23	310.32	4.27	0	3	3
24	346.36	5.50	0	3	4
25	516.68	7.87	0	5	3
26	280.32	4.17	0	3	5
27	296.30	4.30	0	3	3
28	292.28	3.70	0	3	5
29	292.28	3.73	0	3	5
30	314.36	4.77	0	3	7
31	326.32	4.81	0	4	5
32	240.26	3.33	0	3	2

Le tableau N°7 montre que les 17 composés sortis de ce criblage peuvent être proposés comme nouveaux inhibiteurs de la MAOB sans poser de problèmes d'administration par voie orale.

3.2.1 Etude des interactions du meilleur similaire (CID 6507117) issu de cette collection envers la MAOB

Le similaire 16 est le meilleur similaire obtenu suite au criblage de la deuxième collection avec un score égal à 4.11. Ce score résulte de la mise en place d'une liaison hydrogène entre l'inhibiteur et le site actif de la MAOB. Cette liaison est constatée entre l'oxygène 2 de l'inhibiteur et la fonction carboxylique du résidu Leu171 de l'enzyme avec une distance de 3.17 Å. Plusieurs interactions hydrophobiques participent à la stabilité du complexe MAOB-similaire 16. Ces interactions sont formées entre l'inhibiteur et les résidus Gly434, Tyr398, Cys172, Tyr435, Leu198, Gln206, Tyr26 et Phe168 du site actif de l'enzyme.

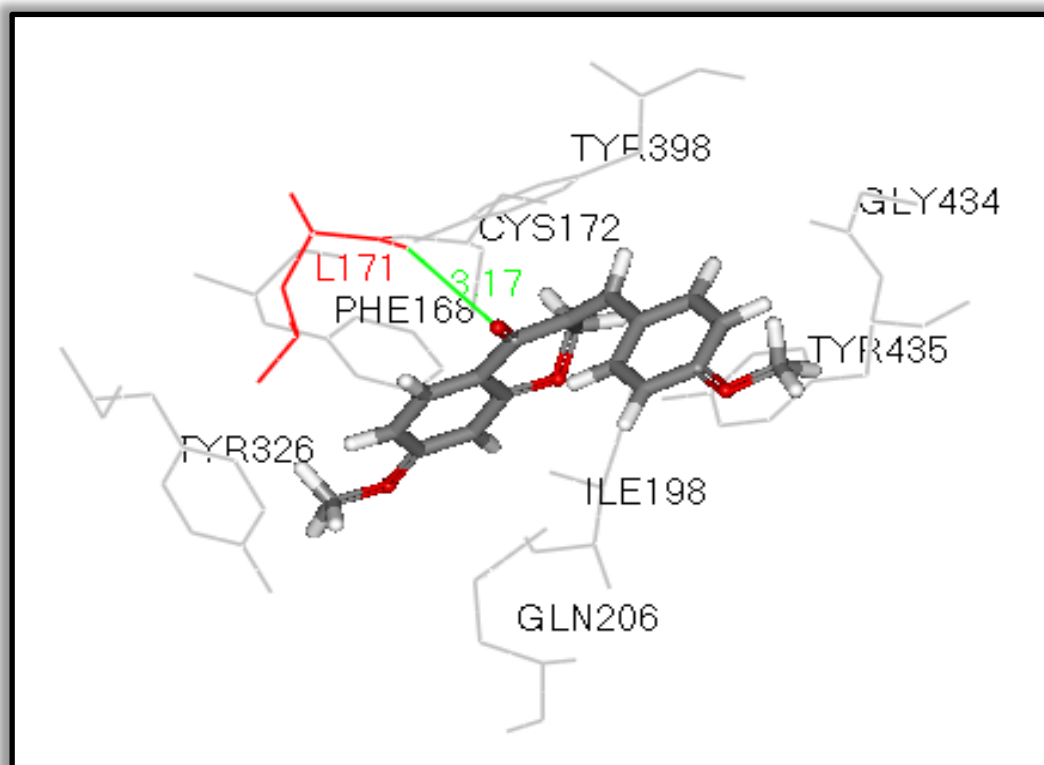


Figure N° 37: Mode d'interaction du similaire 16 dans le site actif de la MAOB.

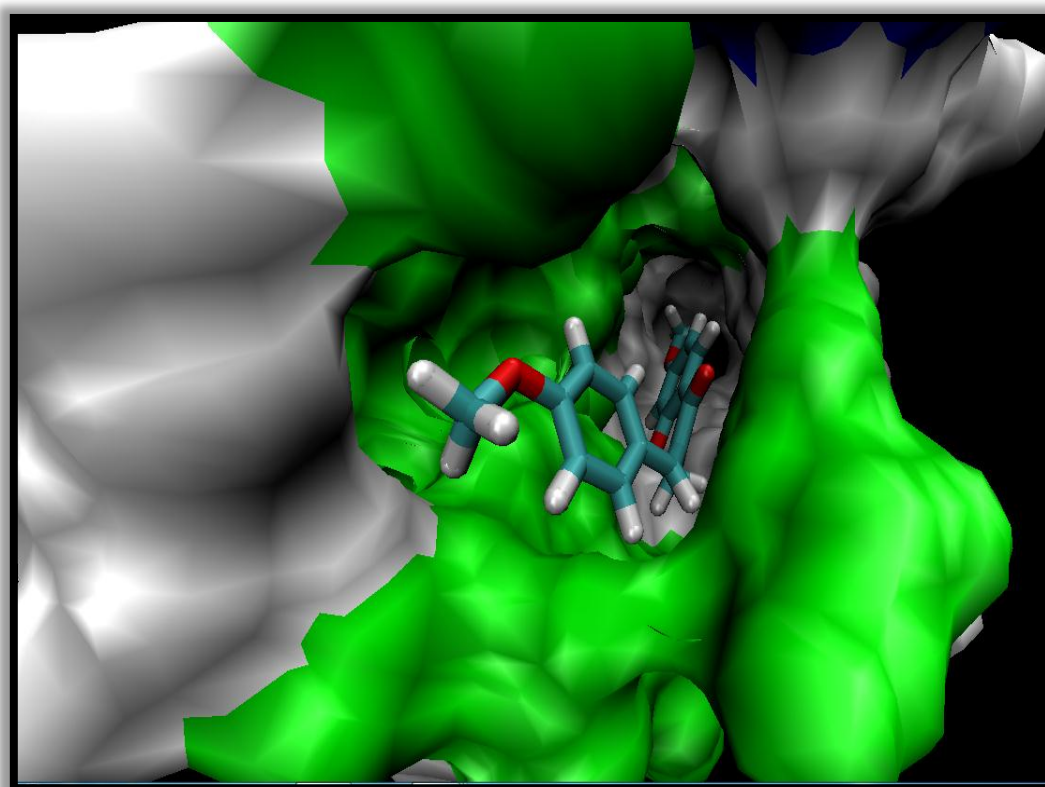


Figure N° 38: Illustration du positionnement du similaire 16 dans le site actif de la MAOB.



Conclusion

Notre travail de master axé sur le docking moléculaire avec Surflex, a pour but essentiel de développer *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la MAOB, cible enzymatique impliquée dans la MP.

Dans un premier temps, nous avons testé la performance du programme Surflex en faisant appel au test par corrélation linéaire entre les valeurs expérimentales de l'IC₅₀ de 43 inhibiteurs de la MAOB et leur score simulé par Surflex. Avec un coefficient de corrélation linéaire égale à 0.5, nous pouvons conclure que le programme Surflex est suffisamment fiable pour simuler les interactions MAOB-inhibiteurs.

Dans un deuxième temps, le docking moléculaire des 43 inhibiteurs étudiés envers le site actif de la MAOB a permis d'étudier les mécanismes d'inhibition mises en jeu tout en évaluant leur affinité. Suite à cette étude, il ressort que les composés 7 et 41 se présentent comme meilleurs inhibiteurs de la MAOB avec les scores respectives de 3.52 et 3.60, qui sont corrélés avec les valeurs expérimentales de leur IC₅₀ soient 0,01234 et 1,16 µM respectivement.

Dans un troisième temps, nous avons tenté de proposer de nouveaux inhibiteurs de la MAOB davantage plus puissants que les composés 7 et 41 et ce en faisant appel au criblage virtuel de deux collections de molécules issues de la PubChem. Ce criblage mené sur 189 molécules a révélé les composés CID-6507117 (similaire du composé 7) et CID-55411293 (similaire du composé 41) comme nouveaux inhibiteurs de la MAOB avec des scores respectives de 4.11 et 6.88. La visualisation des résultats du docking obtenus nous montre un bon positionnement de ces composés au sein de la cavité catalytique de l'enzyme étudiée.

Enfin, l'application de la règle de Lipinski nous renseigne de manière positive sur les propriétés ADME des composés CID-6507117 et CID-55411293 qui se présentent comme nouveaux inhibiteurs théoriquement plus affins et plus sélectifs envers la MAOB.

Ces résultats restent théoriques et initiales. Il convient dans les perspectives d'avenir de vérifier ces résultats en réalisant des études expérimentales complémentaires *in vitro et/ou in vivo*.



*Références
bibliographiques*

- [1] Hazan C. Recherche d'inhibiteurs de haute affinité de l'ADN polymérase beta par criblage virtuel et RMN. Thèse de doctorat d'université : Biologie structurale. Toulouse : l'Université Toulouse III - Paul Sabatier. France. 2008. 258 p.
- [2] Lalout W. Contribution à la modélisation des interactions dans les biomolécules: Cas de la Maladie de Parkinson. Thèse de doctorat en chimie-physique. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid. Algérie. 2016. 99 p.
- [3] La maladie de PARKINSON : Evaluation et pistes de prise en charge logopédique. [En ligne] <http://pontt.net/wp-content/uploads/2016/03/TFE-Maladie-de-Parkinson.pdf>. Consulté le : [03-02-2017].
- [4] Création d'une spin-off pour la valorisation des recherches sur un dispositif d'évaluation de la maladie de Parkinson par accéléromètres et gyroscopes. [En ligne] <https://www.uclouvain.be/cps/ucl/doc/commission-gbio/documents/PARK.pdf>. Consulté le : [03-02-2017].
- [5] Parkinson's disease. [En ligne] www.mayoclinic.org/parkinsondiseasesymptom. Consulté le : [04-02-2017].
- [6] La maladie de parkinson. [En ligne] http://www.medecine.unige.ch/enseignement/apprentissage/module4/immersion/archives/2008_2009/travaux/09_r_parkinson.pdf. Consulté le : [04-02-2017].
- [7] Maladie de parkinson : traitement par stimulation électrique. [En ligne] <http://www.elmoudjahid.com/fr/actualites/102175>. Consulté le : [03-02-2017].
- [8] inhibiteurs de MAOB. [En ligne] www.cochrane.org/.../inhibiteurs-de-la-monoamine-oxydase-b-dans-la-maladie-de-parkinson-precoce. Consulté le [05-02-2017].
- [9] Markošová K., Dolejš I., Stloukal R., Rios-Solis L., Rosenberg M., Micheletti M et al. Immobilization and kinetics of monoamine oxidase (MAO-N-D5) enzyme in polyvinyl alcohol gels. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. 2016; **129**: 69-74.

[10] Christelle C Monoamine oxydase et athérosclérose : signalisation mitogène et études in vivo. Thèse de doctorat d'université : innovation pharmacologique Toulouse : l'Université Toulouse III - Paul Sabatier . France. 2007. 147 p.

[11] Bortolato M., Chen K., Shih J.C. Monoamine oxidase inactivation: from pathophysiology to therapeutics. *Advanced drug delivery reviews*. 2008; **60**, 1527-1533.

[12] Nel M.S., Petzer A., Petzer, J. P., Legoabe, L. J. 2-Heteroarylidene-1-indanone derivatives as inhibitors of monoamine oxidase. *Bioorganic Chemistry*. 2016 ; **69**: 20-28.

[13] Nel M.S., Petzer A., Petzer, J.P., Legoabe L.J. 2-Heteroarylidene-1-indanone derivatives as inhibitors of monoamine oxidase. *Bioorganic Chemistry*. 2016 ; **69**: 20-28.

[14] Jenner P. Mitochondria, monoamine oxidase B and Parkinson's disease. *Basal ganglia*. 2012 ; **2**: S3-S7.

[15] Gaweska H., Fitzpatrick P. F. Structures and mechanism of the monoamine oxidase family. *Biomolecular concepts*. 2011 ; **2** : 365-377.

[16] Valley M. P., Zhou W., Hawkins E. M., Shultz J., Cali J. J., Worzella T et al. (2006). A bioluminescent assay for monoamine oxidase activity. *Analytical biochemistry*. 2006 ; **359**: 238-246.

[17] Petzer J. P., Castagnoli N., Schwarzschild M. A., Chen J. F., Van der Schyf C. J. Dual-Target-Directed Drugs that Block Monoamine Oxidase B and Adenosine A_{2A} Receptors for Parkinson's Disease. *Neurotherapeutics*. 2009 ; **6** : 141-151.

[18] Ramsay R. R. Molecular aspects of monoamine oxidase B. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2016 ; **69** : 81-89.

[19] Bolasco, A., Fioravanti, R., & Carradori, S. Recent development of monoamine oxidase inhibitors. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. 2005 ; **15** : 1763-1782.

[20] Monoamine oxidase b. [En ligne]. http://proteopedia.org/wiki/index.php/Monoamine_oxidase. Consulté le : [15-03-2017]

- [21] Binda C., Newton-Vinson P., Hubalek F., Edmodson D.E., Mattevi A. Structure of human monoamine oxidase B, a drug target for the treatment of neurological disorders. *Nature structural & molecular biology*. 2001 ; **9** : 22-26.
- [22] Riederer P., Muller T. Use of monoamine oxidase inhibitors in chronic neurodegeneration. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*. 2017.
- [23] Youdim M.B., Bakhle Y.S. Monoamine oxidase: isoforms and inhibitors in Parkinson's disease and depressive illness. *British Journal of Pharmacology*. 2006 ; **147** : 287-296.
- [24] Michael E., Anil K.R. Monoamine Oxidase Inhibitors-Revisiting a Therapeutic Principle. *Open Journal of Depression*. 2017 ; **6** : 31-68.
- [25] Nikolay T., Sonja H., Petra K., Marcus G., Christa E.M. Indazole- and Indole-5-carboxamides: Selective and Reversible Monoamine Oxidase B Inhibitors with Subnanomolar Potency. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2014 ; **57** : 6679-6703.
- [26] Nikolay T.T., Hans Georg.S., Beate N., Silvia H., Liudmil A., Marcus G. Crystal structures, binding interactions, and ADME evaluation of brain penetrant N-substituted indazole-5-carboxamides as subnanomolar, selective monoamine oxidase B and dual MAO-A/B inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2017 ; **127** : 470-492.
- [27] Daniela S., Adriana B., Simone C., Melissa D., Riccardo N., Matilde Y. Recent advances in the development of selective human MAO-B inhibitors: (Hetero)arylidene-(4-substituted-thiazol-2-yl)hydrazines. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2012 ; **58** : 405-417.
- [28] Zhimin W., Jiajia W., Xuelian Y., Pei C., Qiaohong L., Wang K.D et al. Neuroprotective effects of benzyloxy substituted small molecule monoamine oxidase B inhibitors in Parkinson's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2016 ; **24** : 5929-5940.

- [29] Fédération des medecins omnipraticiens du Qubec. La maladie de Parkinson – II la place de la rasagiline (Azilect). [En ligne] <https://fmoq-legacy.s3.amazonaws.com/fr/Le%20Medecin%20du%20Qubec/Archives/2000%20-%202009/087-089info-compimee1208.pdf>. Consulté le : [05-05-2017].
- [30] Paul V., Erich M., David G. Deprenyl in Parkinson's Disease: Mechanisms, Neuroprotective Effect, Indications and Adverse Effects. *The Canadian journal of neurological sciences*. 1992 ; **19** : 142-146.
- [31] VIDAL-Iproniazid. [En ligne] <https://www.vidal.fr/substances/4147/iproniazid/>. Consulté le : [20-05-2017].
- [32] Convertisseur de nom commercial de médicament. [En ligne] <http://d.c.i.free.fr/recherche-dci3.php?strdsi1=IPRONIAZIDE&strSensConv=2&strcond=1>. Consulté le : [20-05-2017].
- [33] Franco C., Adriana B., Daniela S., Paola C., Arianna G., Simone C et al. Investigations on the 2-thiazolyldihydrazone scaffold: Synthesis and molecular modeling of selective human monoamine oxidase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2010 ; **18** : 5715-5723.
- [34] Pargyline-DrugBank. [En ligne] <https://www.drugbank.ca/drugs/DB01626>. Consulté le : [02-06-2017].
- [35] John P.M., Finberg J.P. Pharmacology of Rasagiline, a New MAO-B Inhibitor Drug for the Treatment of Parkinson's Disease with Neuroprotective Potential. *Rambam Maimonides Medical Journal*. 2010 ; **1**.
- [36] Ismail D. Modélisation de l'interaction des ions de métaux lourds avec des colorants. Thèse de doctorat en chimie-physique. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid. Algérie. 2015. 126 p.
- [37] BOUCHERIT H. Etude théorique des interactions intervenant dans l'inhibition de la méthionine aminopeptidase de mycobacterium tuberculosis par diverses molécules. Thèse de magister en biochimie. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie. 2012. 71 p.

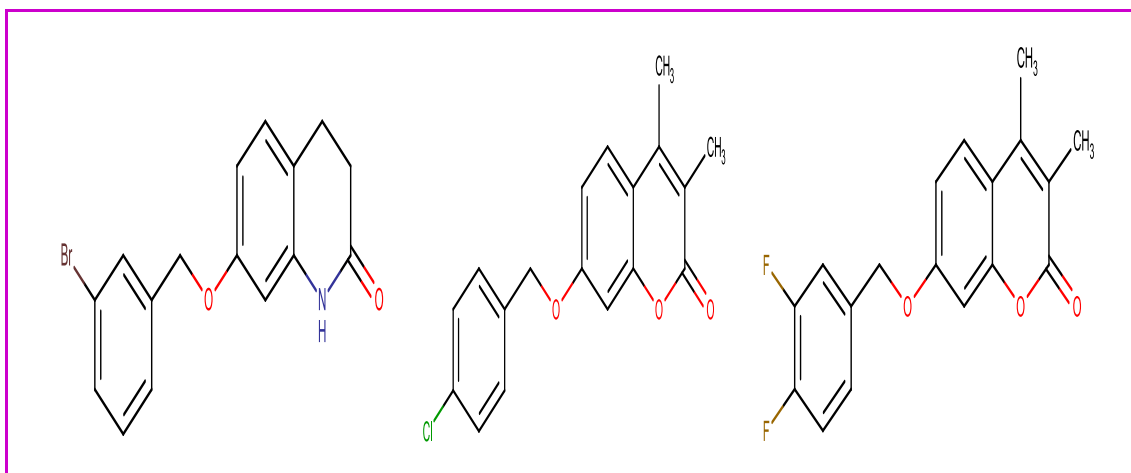
- [38] Bensegueni A. Etude théorique des métabolites secondaires des végétaux et des composés de synthèse sur le plan de l'activité biologique : simulation par docking (arrimage) moléculaire sur la lipoxigénase et la cyclooxygénase. Thèse de doctorat d'université : Biochimie appliquée. Constantine : Université Mentouri de Constantine. Algérie. 2007. 76p.
- [39] Hélène G. Evaluation et application de méthodes de criblage in silico. Thèse de doctorat du conservatoire national des arts et métiers. Paris : Ecole doctorale arts et métiers génomique, bioinformatique et applications. France. 2012. 134 p.
- [40] Mokrani E. H. Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation informatique. Thèse de magister d'université : Technologie des explorations biochimiques. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie. 2012. 75p.
- [41] Chikhi A. Calculs et modélisations des interactions peptide deformylase - substances antibactériennes à l'aide de techniques de "docking" (arrimage) moléculaire. Thèse de doctorat d'université : microbiologie. Constantine : Université Frères Mentouri. Algérie. 2007. 126 p.
- [42] Theoretical and computational biophysics group. VMD v 1.9.1. [En ligne] <http://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/vmd-1.9.1/>. Consulté le : [28-04-2017].
- [43] Open Babel 2.0.2. [En ligne] <http://openbabel.org>. Consulté le : [03-05-2017].
- [44] [En ligne] <http://viewerlite.software.informer.com/4.2/>. Consulté le : [08-05-2017].
- [45] Centre national de la recherche scientifique. PubChem. [En ligne] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Consulté le [05-04-2017].
- [46] Protein Data Bank (PDB). Biological Macromolecular Resource. [En ligne]. <http://www.pdb.org/pdb/home>. Consulté le: [20-03-2017].
- [47] Calculation of molecular properties. Molinspiration. [En ligne]. <http://www.Molinspiration.com>. Consulte le [04-05-2017].

- [48] Van der Walt M.M., Gisella T.B., Jacobus P.P., Anel P. Benzyloxynitrostyrene analogues - A novel class of selective and highly potent inhibitors of monoamine oxidase B. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2017 ; **125** : 1193-1199.
- [49] Maccioni E., Alcaro S., Orallo F., Cardia M.C., Distinto S., Costa G et al. Synthesis of new 3-aryl-4,5-dihydropyrazole-1-carbothioamide derivatives. An investigation on their ability to inhibit monoamine oxidase. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2010 ; **45** : 4490-4498.
- [50] Maria J.K., Santiago V., Gonzalez-Franco R.M., Eugenio U., Lourdes S., Carol F et al. Novel (coumarin-3-yl)carbamates as selective MAO-B inhibitors: Synthesis, in vitro and in vivo assays, theoretical evaluation of ADME properties and docking study. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2013 ; **63** : 151-161.
- [51] Zhanna V.C., Mariya V.K., Sergey I.F., Igor G.A., Anél P., Jacobus P. P et al. Inhibition of monoamine oxidase by indole-5,6-dicarbonitrile derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2015 ; **25** : 1206-1211.
- [52] Andreas B., Pierre K., Miriam S., Muhammad R., Hamid R., Petra K et al. 8-Substituted 1,3-dimethyltetrahydropyrazino[2,1-f]purinediones: Water-soluble adenosine receptor antagonists and monoamine oxidase B inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2016 ; **24.21** : 5462-5480.



Annexes

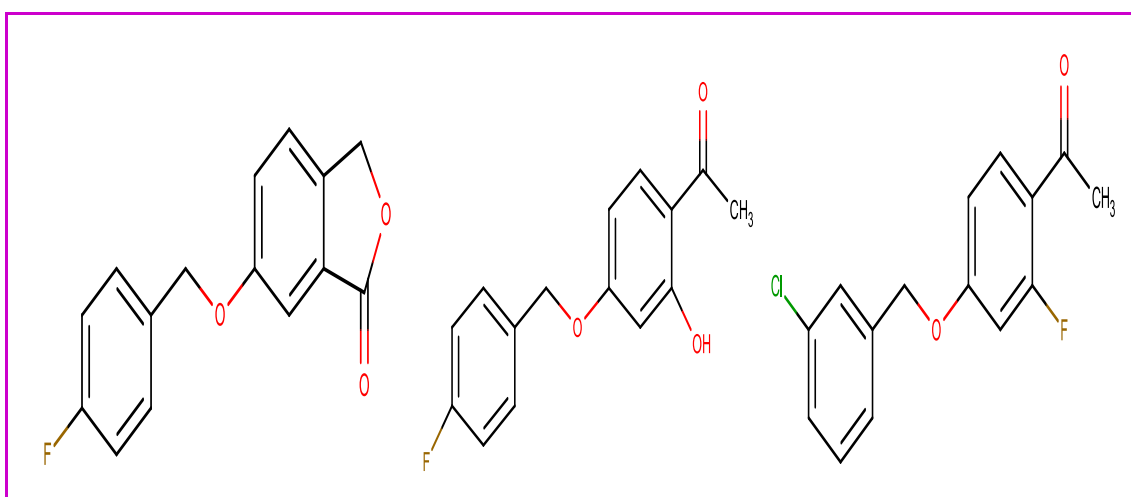
Annexe 1 : Structures des 43 inhibiteurs de la MAOB utilisés dans l'étude de la régression linéaire.



Composé 1

Composé 2

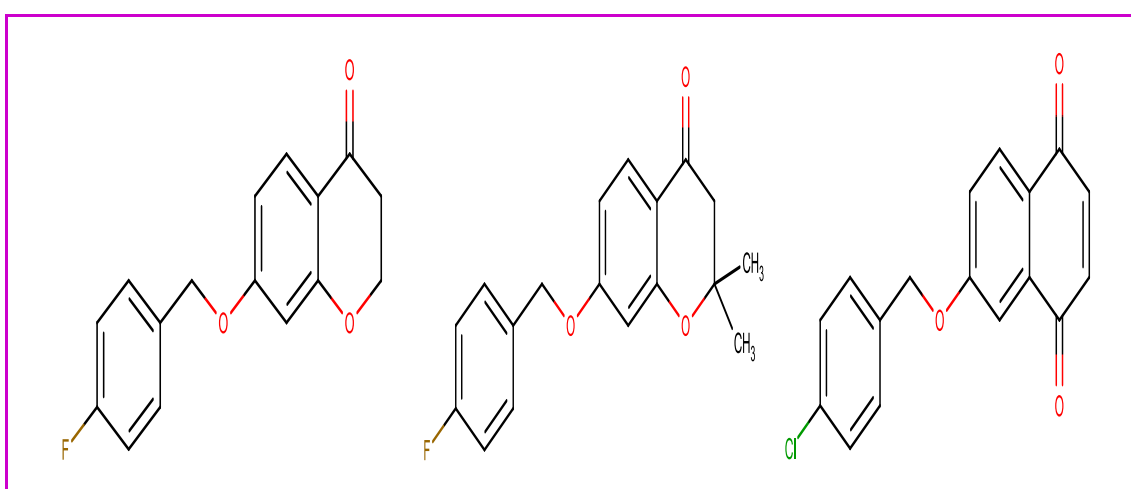
Composé 3



Composé 4

Composé 5

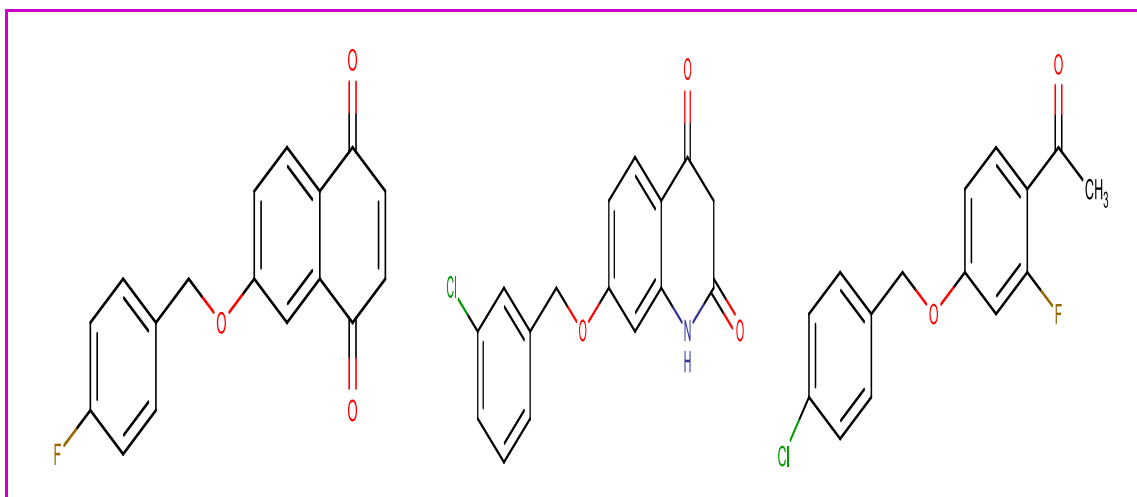
Composé 6



Composé 7

Composé 8

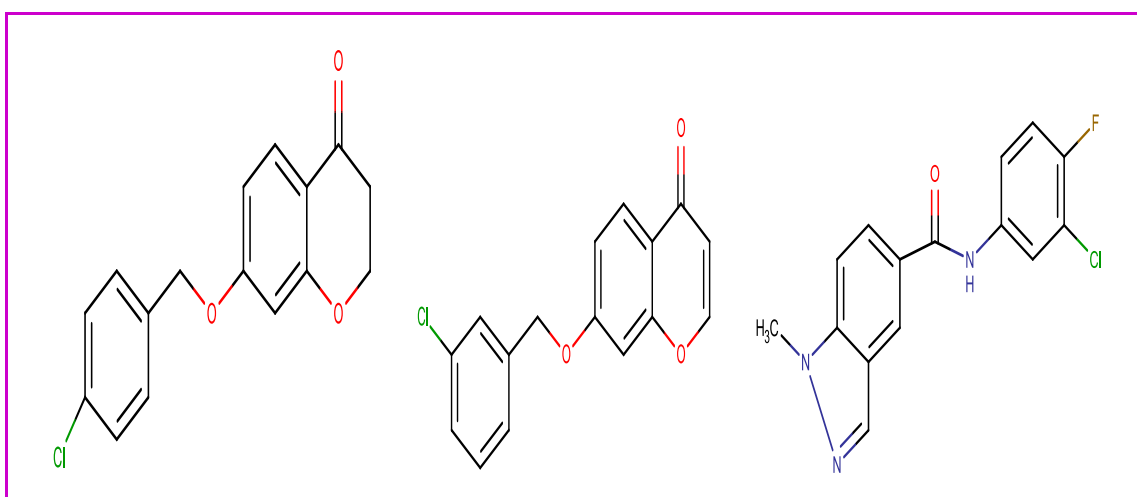
Composé 9



Composé 10

Composé 11

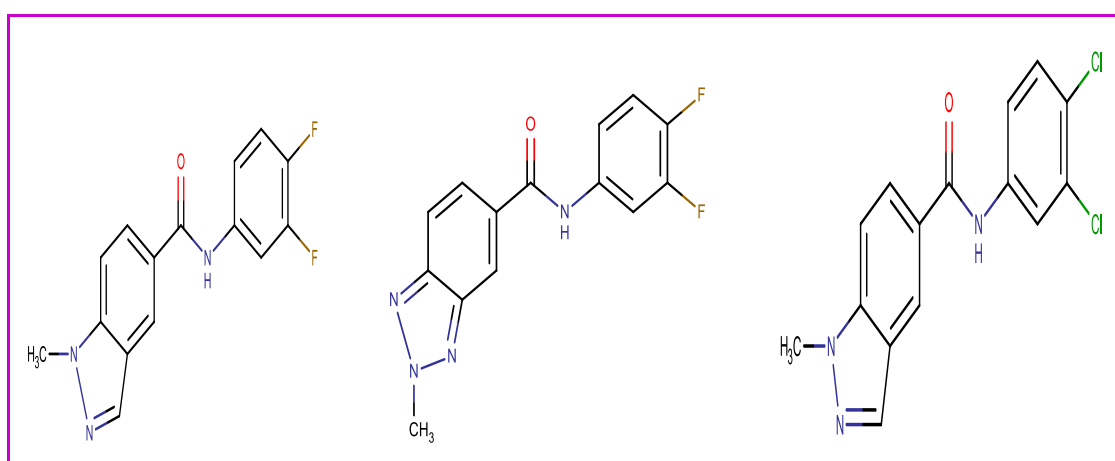
Composé 12



Composé 13

Composé 14

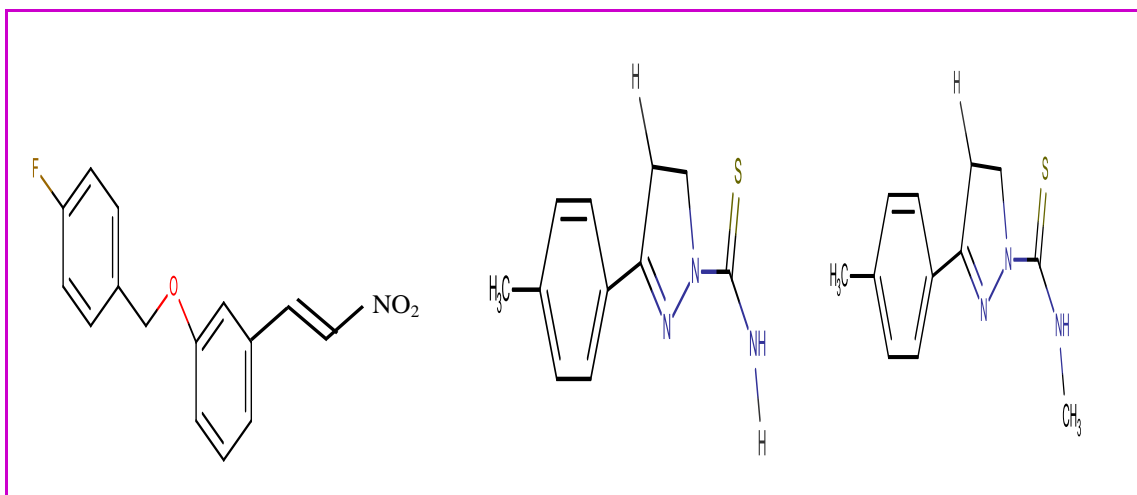
Composé 15



Composé 16

Composé 17

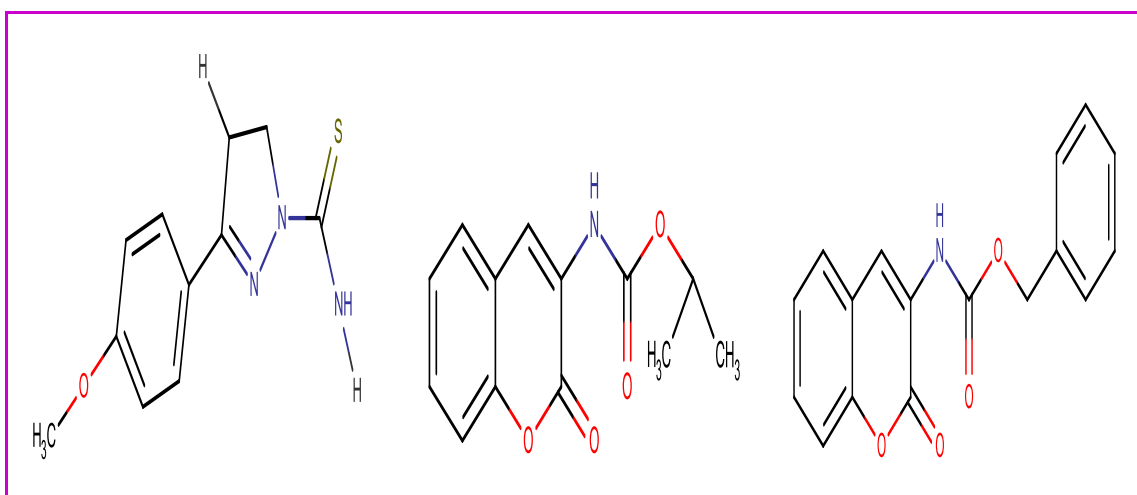
Composé 18



Composé 19

Composé 20

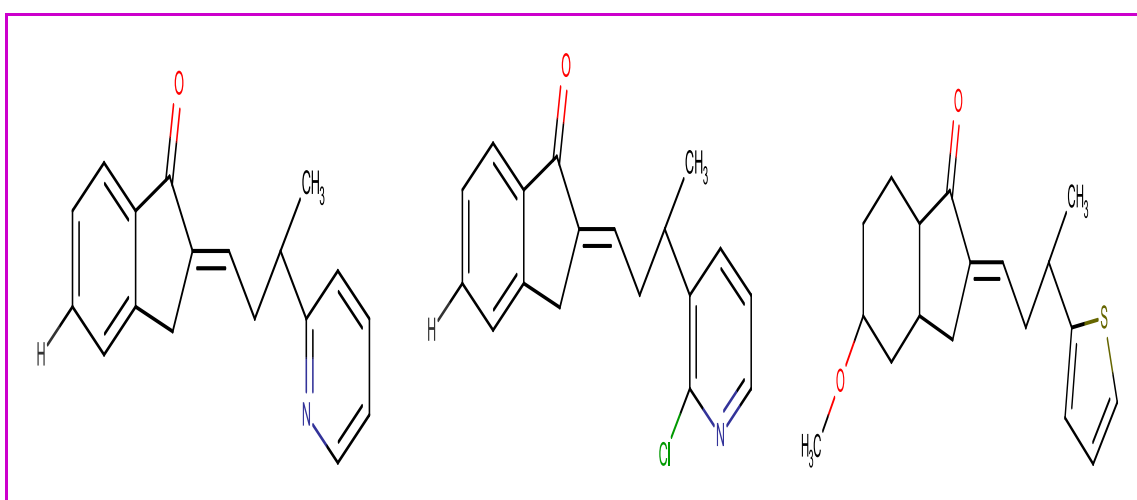
Composé 21



Composé 22

Composé 23

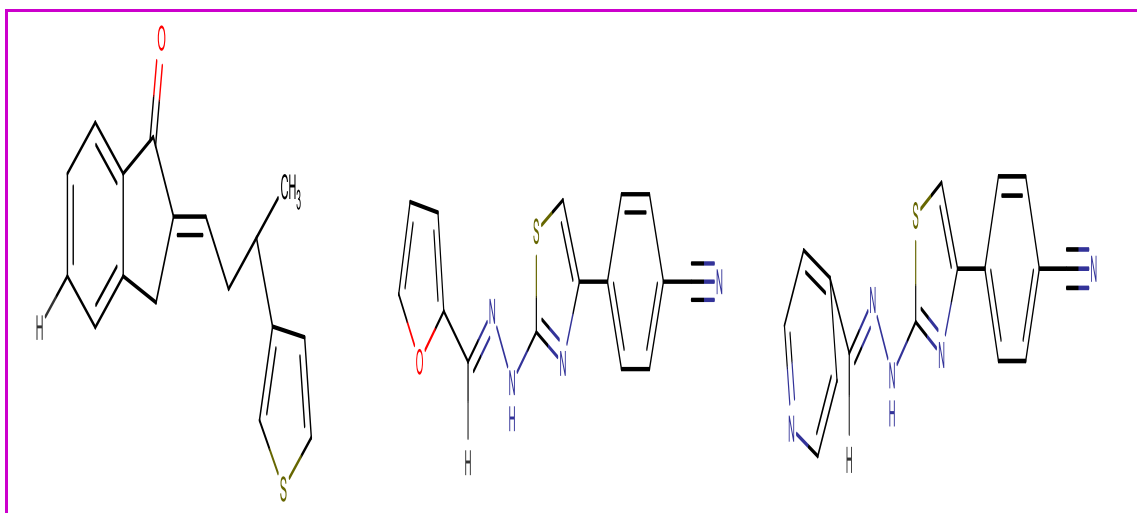
Composé 24



Composé 25

Composé 26

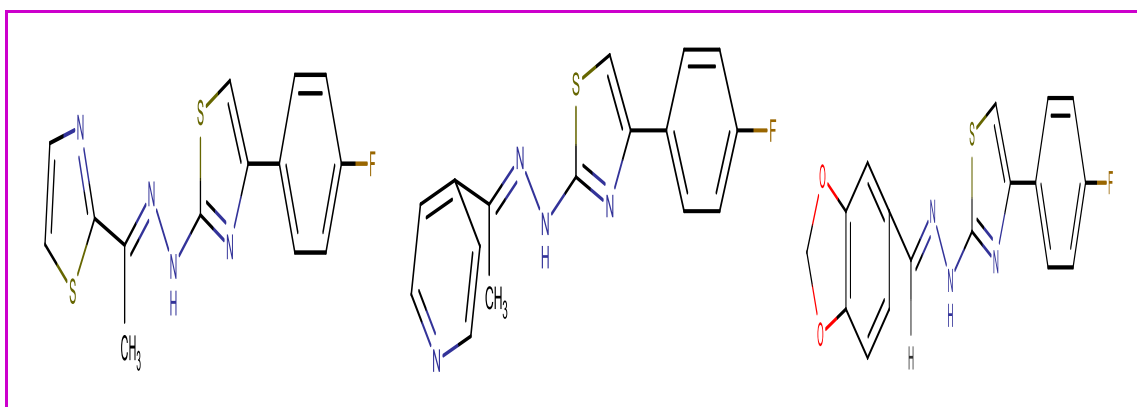
Composé 27



Composé 28

Composé 29

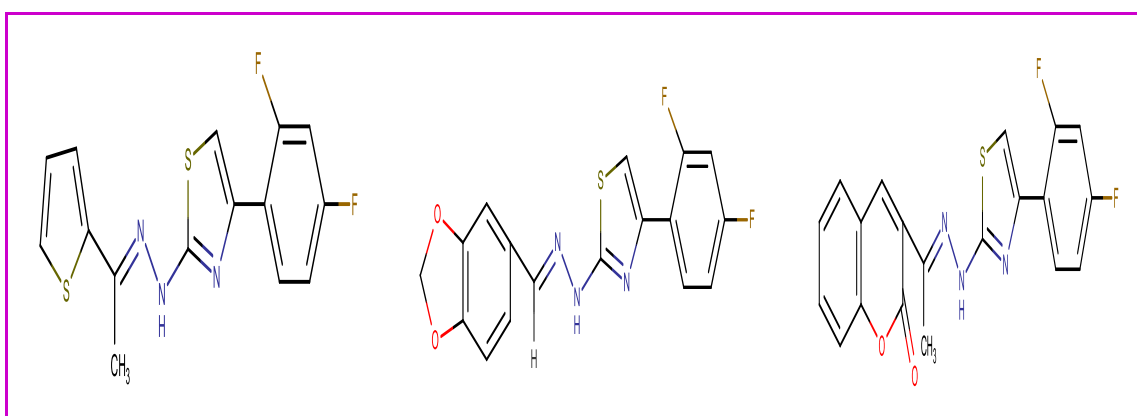
Composé 30



Composé 31

Composé 32

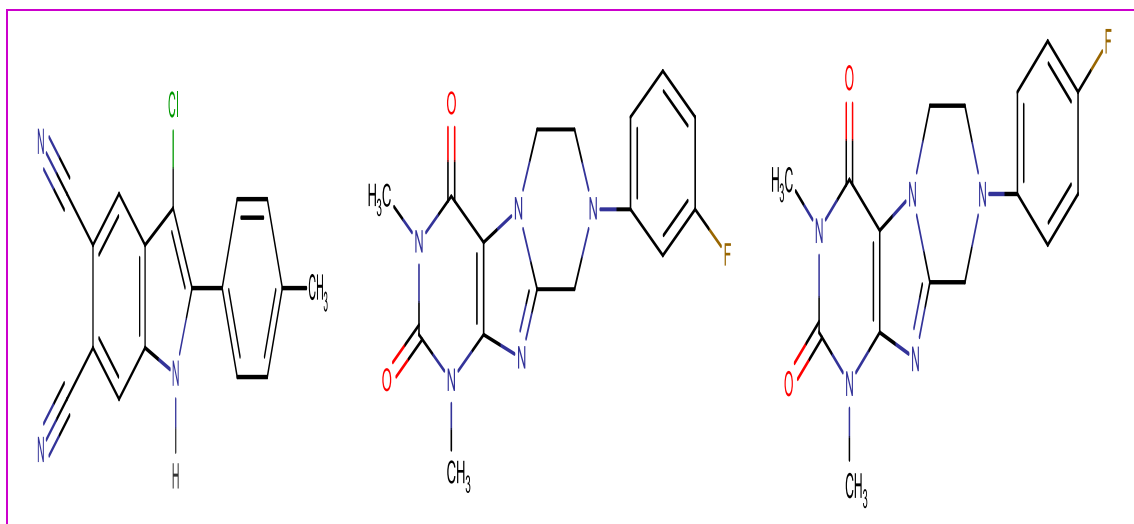
Composé 33



Composé 34

Composé 35

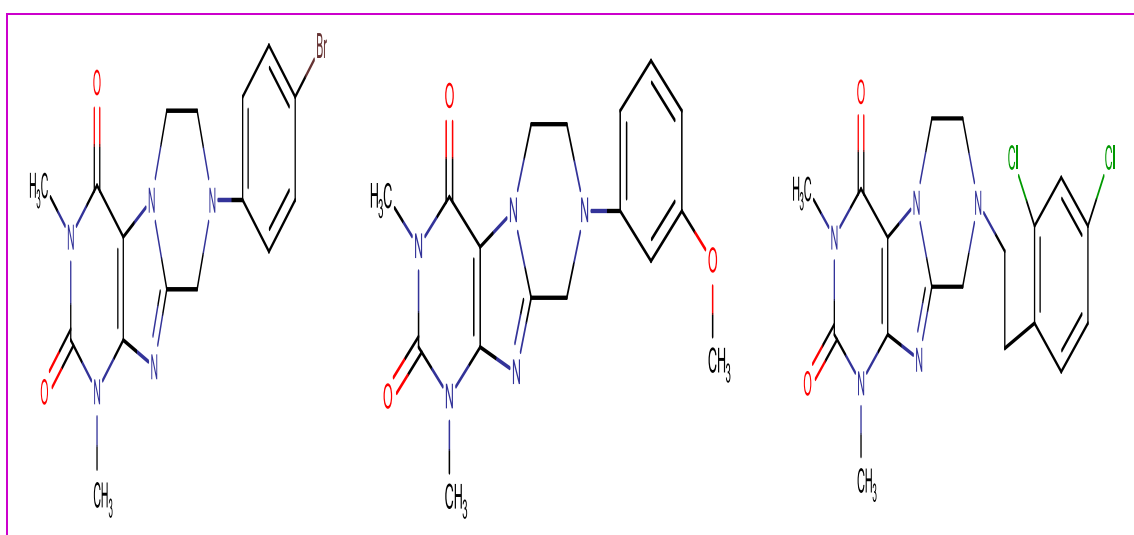
Composé 36



Composé 37

Composé 38

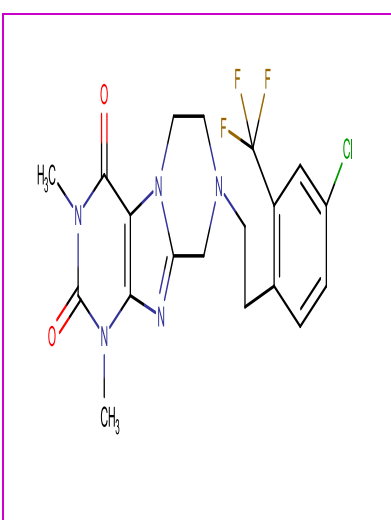
Composé 39



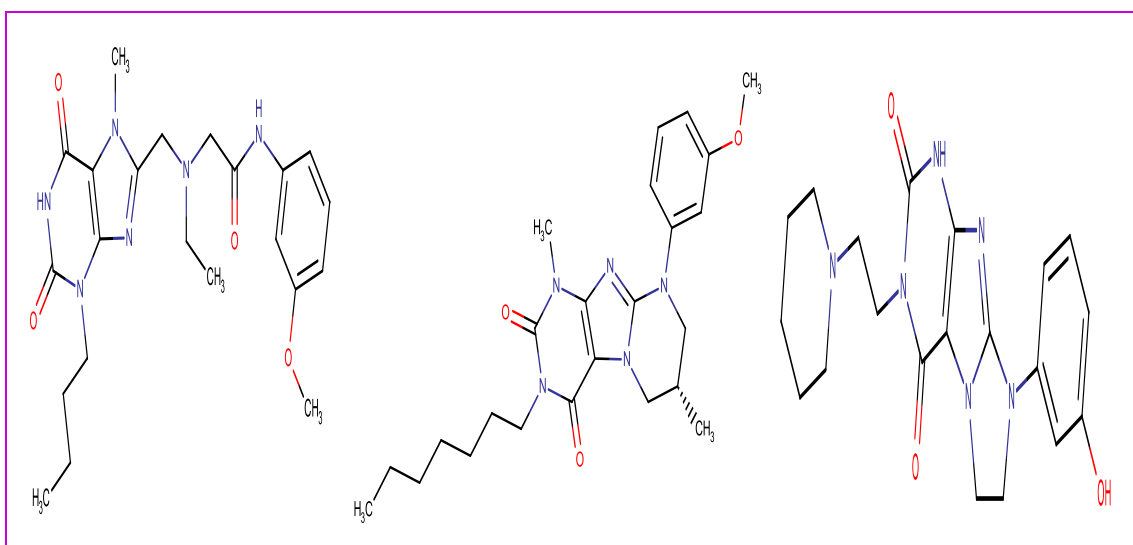
Composé 40

Composé 41

Composé 42



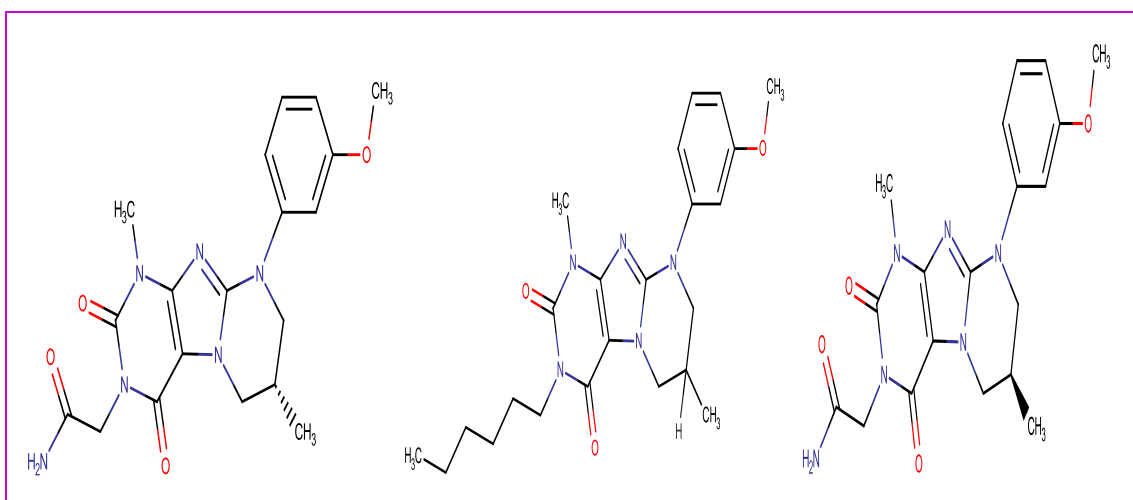
Composé 43

Annexe 2 : Structures des meilleurs similaires du composé 41.

Similaire 1

Similaire 2

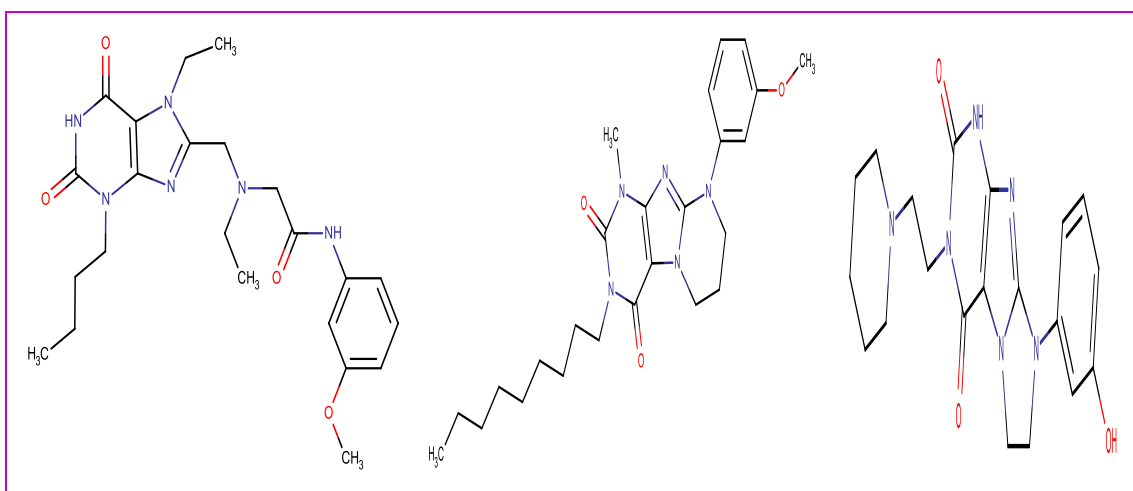
Similaire 3



Similaire 4

Similaire 5

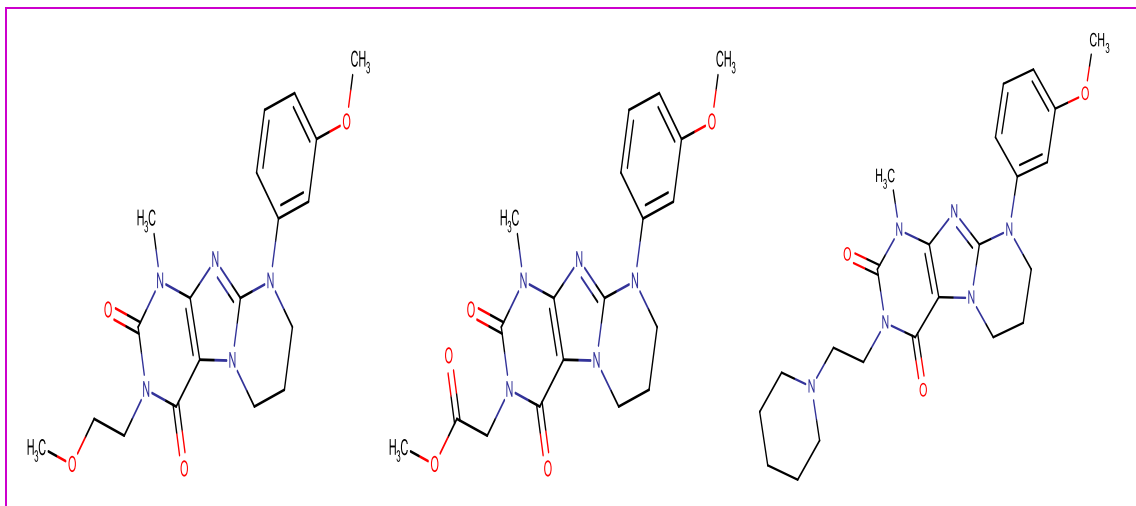
Similaire 6



Similaire 7

Similaire 8

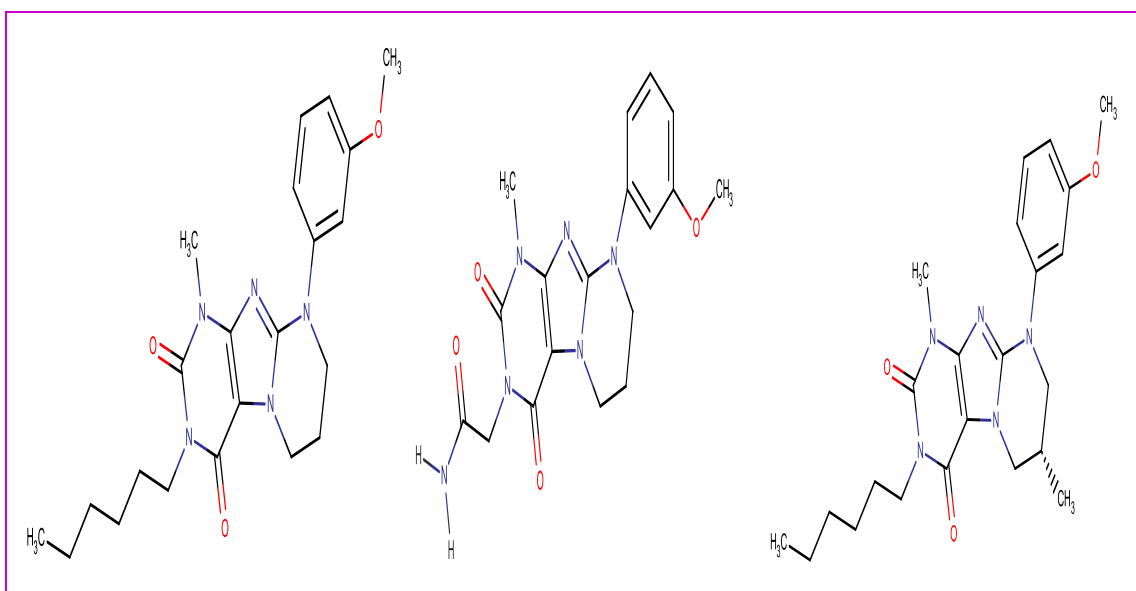
Similaire 9



Similaire 10

Similaire 11

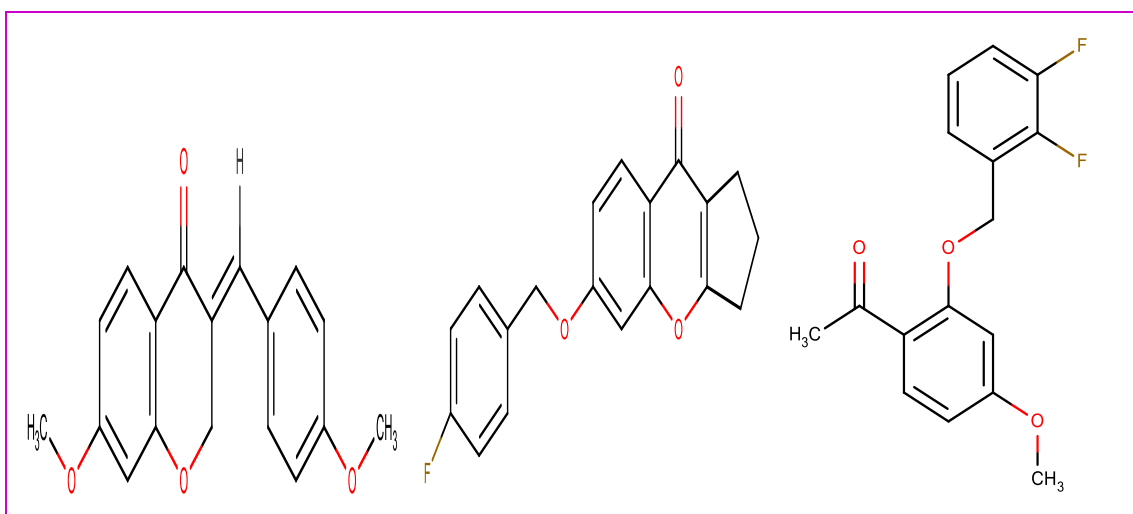
Similaire 12



Similaire 13

Similaire 14

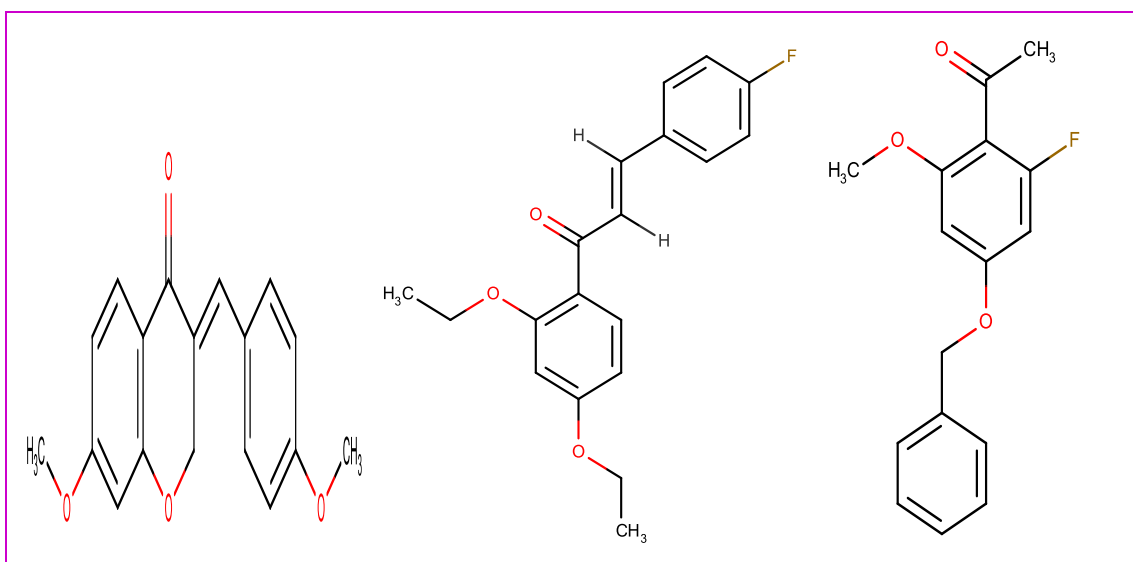
Similaire 15

Annexe 3 : Structures des meilleurs similaires du composé 7.

Similaire 16

Similaire 17

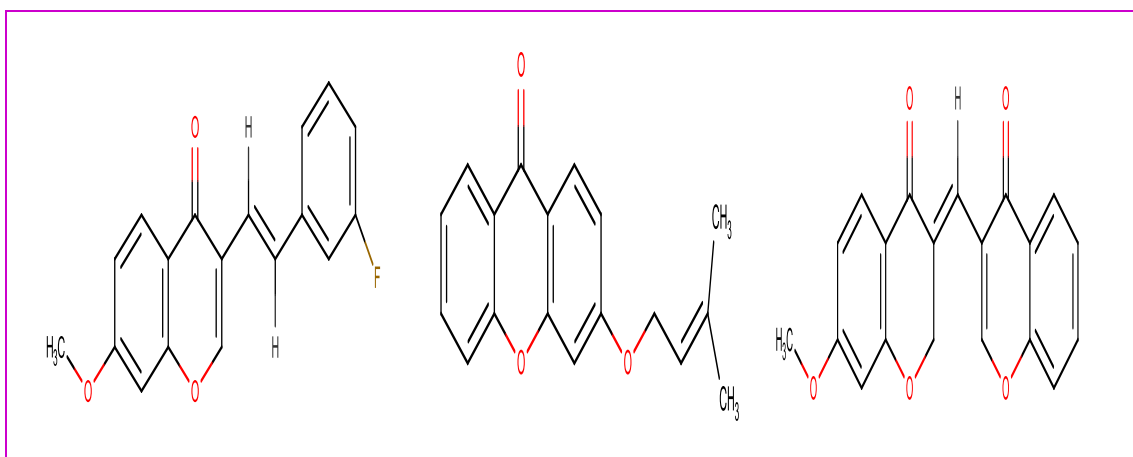
Similaire 18



Similaire 19

Similaire 20

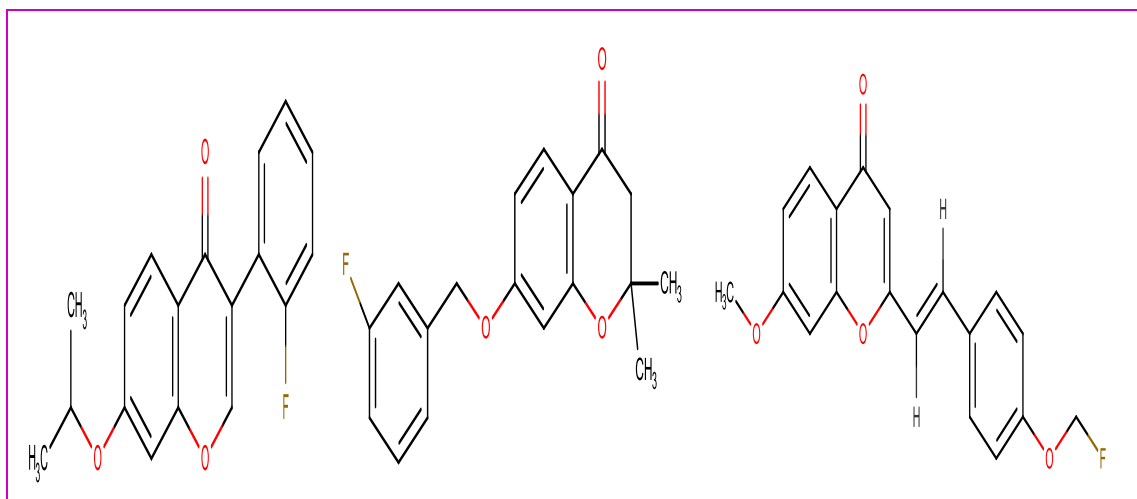
Similaire 21



Similaire 22

Similaire 23

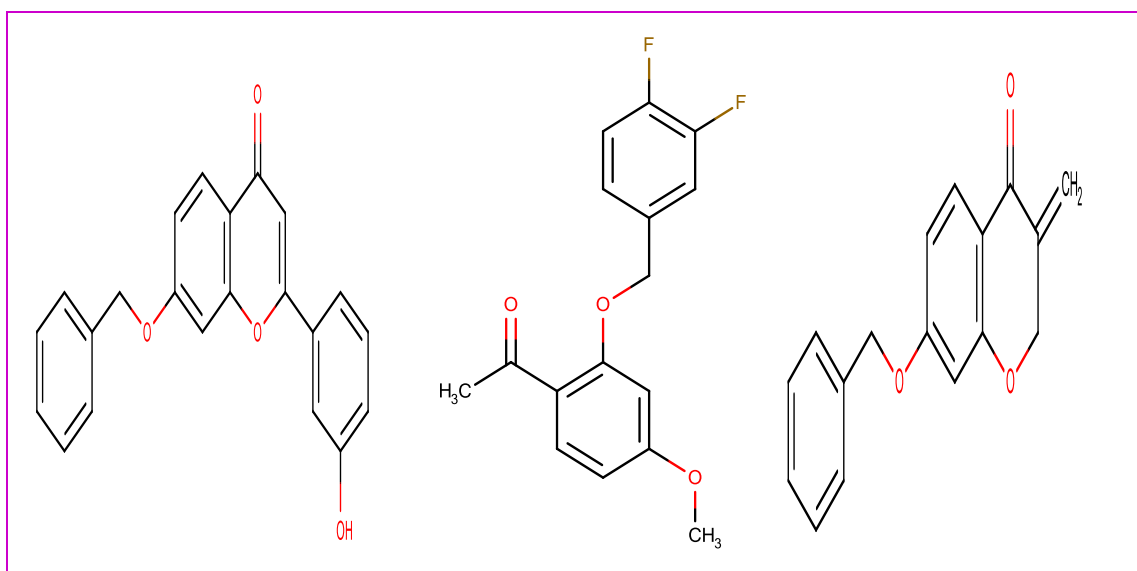
Similaire 24



Similaire 25

Similaire 26

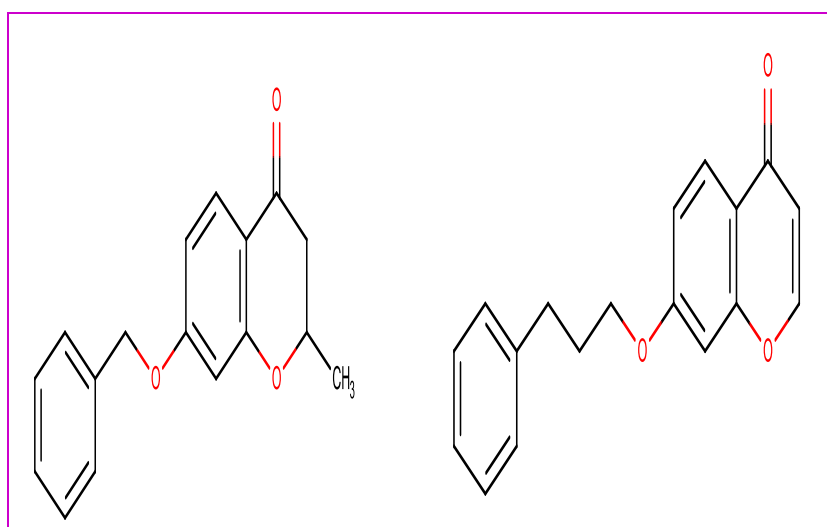
Similaire 27



Similaire 28

Similaire 29

Similaire 30



Similaire 31

Similaire 32

Annexe 4 : Noms chimiques des 43 inhibiteurs de la MAOB utilisés dans l'étude de la régression linéaire.

Composé	Nom chimique
1	7-((3-Bromobenzyl)oxy)-3,4-dihydroquinolin-2(1H)-one
2	7-((4-Chlorobezyl)oxy)-3,4-dimethyl-2H-chromen-2-one
3	7-((3,4-Difluorobezyl)oxy)-3,4-dimethyl-2H-chromen-2-one
4	5-((4-Fluorobenzyl)oxy)isobenzofuran-1(3H)-one
5	1-(4-((4-Fluorobenzyl)oxy)-2-hydroxyphenyl)ethanone
6	1-(2-Fluoro-4-((3-chlorobenzyl)oxy)phenyl)ethanone
7	7-((4-Fluorobenzyl)oxy)chroman-4-one
8	7-((4-Fluorobenzyl)oxy)-2,2-dimethylchroman-4-one
9	6-((4-Fluorobenzyl)oxy)-4H-chromen-4-one
10	6-((4-Chlorobenzyl)oxy)-4H-chromen-4-one
11	7-((3-Chlorobenzyl)oxy)-3,4-dihydroquinolin-2(1H)-one
12	1-(2-Fluoro-4-((4-chlorobenzyl)oxy)phenyl)ethanone
13	7-((4-Chlorobenzyl)oxy)chroman-4-one
14	7-((3-Chlorobenzyl)oxy)-4H-chromen-4-one
15	N-(3-chloro-4-fluorophenyl)-1-methyl-1H-indazole-5-carboxamide
16	N-(3,4-difluorophenyl)-1-methyl-1H-indazole-5-carboxamide
17	N-(3,4-difluorophenyl)-2-methyl-2H-indazole-5-carboxamide
18	N-(3,4-dichlorophenyl)-1-methyl-1H-indazole-5-carboxamide
19	1-[(4-fluorophenyl)methoxy]-3-[(E)-2-nitroethenyl]benzene
20	1-Thiocarbamoyl-3-(4-methylphenyl)-4,5-dihydropyrazole
21	1-(N-Methylthiocarbamoyl)-3-(4-methylphenyl)-4,5-dihydropyrazole
22	1-Thiocarbamoyl-3-(4-methoxyphenyl)-4,5-dihydropyrazole

23	Isopropyl (coumarin-3-yl)carbamate
24	Benzyl (coumarin-3-yl)carbamate
25	(2E)-2-(Pyridine -2-ylmethylidene)-2,3-dihydro-1H-inden-1-one
26	(2E)-2-[(2-Cholopyridin-3-yl)methylidene]-2,3-dihydro-1H-inden-1-one
27	(2E)-5-Methoxy-2-(Thiophen-2-ylmethylidene)-2,3-dihydro-1H-inden-1-one
28	(2E)-2-(Thiophen-3-ylmethylidene)-2,3-dihydro-1H-inden-1-one
29	1-(Furan-2-ylmethylene)-2-(4-(4-cyanophenyl)thiazol-2-yl)hydrazine
30	1-(Pyridin-4-ylmethylene)-2-(4-(4-cyanophenyl)thiazol-2-yl)hydrazine
31	1-(1-(Thiazol-2-yl)ethylidene)-2-(4-(4-fluorophenyl)thiazol-2-yl)hydrazine
32	1-(1-(Pyridin-4-yl)ethylidene)-2-(4-(4-fluorophenyl)thiazol-2-yl)hydrazine
33	1-(Benzodioxol-5-ylmethylene)-2-(4-(4-fluorophenyl) thiazol-2-yl) hydrazine
34	1-(1-(Thiophen-2-yl)ethylidene)-2-(4-(2,4-difluorophenyl)thiazol-2-yl)hydrazine
35	1-(Benzodioxol-5-ylmethylene)-2-(4-(2,4-difluorophenyl) thiazol-2-yl)hydrazine
36	1-(1-(2-Oxo-2H-chromen-3-yl)ethylidene)-2-(4-(2,4-difluorophenyl)thiazol-2-yl)hydrazine
37	3-Chloro-1H-indole-5,6 dicarbonitrile
38	8-(3-Fluorophenyl)-1,3-dimethyl-6,7,8,9-tetrahydropyrazino[2,1-f]purine-2,4-(1H,3H)-dione
39	8-(4-Fluorophenyl)-1,3-dimethyl-6,7,8,9-tetrahydropyrazino[2,1-f]purine-2,4-(1H,3H)-dione
40	8-(4-Bromophenyl)-1,3-dimethyl-6,7,8,9-tetrahydropyrazino[2,1-f]purine-2,4-(1H,3H)-dione
41	8-(3-Methoxyphenyl)-1,3-dimethyl-6,7,8,9-tetrahydropyrazino[2,1-f]purine-2,4-(1H,3H)-dione
42	8-(2,4-Dichlorophenethyl)-1,3-dimethyl-6,7,8,9-tetrahydropyrazino[2,1-f]purine-2,4-(1H,3H)-dione
43	8-(4-Chloro-2-(trifluoromethyl)phenethyl)-1,3-dimethyl-6,7,8,9-tetrahydropyrazino[2,1-f]purine-2,4(1H,3H)-dione

Annexe 5 : Noms chimiques des meilleurs similaires du composé 41.

Similaire	Nom chimique
1	2-[(3-butyl-7-méthyl-2,6-dioxopurin-8-yl) méthyl-éthylamino]-N-(3-méthoxyphényl)acétamide
2	(7S)-3-heptyl-9-(3-méthoxyphényl)-1,7-diméthyl-7,8-dihydro-6H-purino[7,8-a]pyrimidine-2,4-dione
3	7-[4-[4-(3-méthoxyphényl)piperazin-1-yl]butyl]-1,3-diméthylpurine-2,6-dione
4	2-[(7R)-9-(3-méthoxyphényl)-1,7-diméthyl-2,4-dioxo-7,8-dihydro-6H-purino[7,8-a]pyrimidin-3-yl]acétamide
5	3-hexyl-9-(3-méthoxyphényl)-1,7-diméthyl-7,8-dihydro-6H-purino [7,8-a]pyrimidine-2,4-dione)(9-(3-méthoxyphényl)-1-méthyl-3-nonyl-7,8-dihydro-6H-purino[7,8-a]pyrimidine-2,4-dione
6	2-[(7S)-9-(3-méthoxyphényl)-1,7-diméthyl-2,4-dioxo-7,8-dihydro-6H-purino[7,8-a]pyrimidin-3-yl]acétamide
7	2-[(3-butyl-7-éthyl-2,6-dioxopurin-8-yl) méthyl-éthylamino]-N-(3-méthoxyphényl) acétamide
8	9-(3-méthoxyphényl)-1-méthyl-3-nonyl-7,8-dihydro-6H-purino[7,8-a]pyrimidine-2,4-dione
9	8-(3-méthoxyphényl)-1-méthyl-3-(2-(piperidin-1-yl) éthyl)-7,8-dihydro-1H-imidazo [2,1-f] purine-2,4(3H, 6H)-dione ????
10	3-(2-méthoxyéthyl)-9-(3-méthoxyphényl)-1-méthyl-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[2,1-f]purine-2,4(1H,3H)-dione
11	Méthyl [9-(3-méthoxyphényl)-1-méthyl-2,4-dioxo-1, 4, 6, 7, 8,9-hexahydropyrimido [2,1-f] purin-3(2H)-yl]acétate
12	9-(3-méthoxyphényl)-1-méthyl-3-(2-piperidin-1-ylethyl)-6,7, 8,9-tetrahydropyrimido [2,1-f] purine-2,4(1H, 3H)-dione
13	3-hexyl-9-(3-méthoxyphényl)-1-méthyl-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[2,1-f]purine-2,4(1H,3H)-dione
14	2-[9-(3-méthoxyphényl)-1-méthyl-2,4-dioxo-1, 4, 6, 7, 8, 9-hexahydropyrimido [2,1-f] purin-3(2H)-yl]acétamide ????
15	(7S)-3-hexyl-9-(3-méthoxyphényl)-1,7-diméthyl-7,8-dihydro-6H-purino[7,8-a]pyrimidine-2,4-dione

Annexe 6 : Noms chimiques des meilleurs similaires du composé 7.

Similaire	Nom chimique
16	(3E)-7-methoxy-3-[(4-methoxyphenyl)methylidene]chromen-4-one
17	(3Z)-7-methoxy-3-[(2-methoxyphenyl)methylidene]chromen-4-one
18	1-[2-[(2,3-difluorophenyl)methoxy]-4-methoxyphenyl] ethanone
19	7-methoxy-3-[(4-methoxyphenyl)methylidene]chromen-4-one
20	(E)-1-(2,4-diethoxyphenyl)-3-(4-fluorophenyl)prop-2-en-1-one
21	1-(2-fluoro-6-methoxy-4-phenylmethoxyphenyl) ethanone
22	3-[(E)-2-(3-fluorophenyl)ethenyl]-7-methoxychromen-4-one
23	3-(3-methylbut-2-enoxy) xanthen-9-one
24	2-(3-fluorophenyl)-7-phenylmethoxychromen-4-one
25	3-(2-fluorophenyl)-7-propan-2-yloxychromen-4-one
26	7-[(3-fluorophenyl)methoxy]-2,2-dimethyl-3H-chromen-4-one
27	2-(4-fluorophenyl)-5,7-dimethoxychromen-4-one
28	2-(3-fluorophenyl)-7-phenylmethoxychromen-4-one
29	1-[2-[(3,4-difluorophenyl)methoxy]-4-methoxyphenyl] ethanone
30	3-methylidene-7-phenylmethoxychromen-4-one
31	2-methyl-7-phenylmethoxy-2,3-dihydrochromen-4-one
32	7-(3-phenylpropoxy) chromen-4-one



Résumés

Résumé

Le criblage virtuel *in silico* est une approche très employée dans la conception de nouveaux médicaments. Cette approche a été utilisée dans le présent travail afin de proposer théoriquement de nouveaux inhibiteurs de la MAOB ; cible thérapeutique validée pour le traitement de la maladie de Parkinson. Grâce au programme Surflex, nous avons criblé virtuellement 189 molécules issues de la PubChem envers le site actif de l'enzyme étudiée. À l'issue de ce criblage, les composés CID-6507117 et CID-55411293 se présentent comme nouveaux inhibiteurs de la MAOB avec des scores respectives de 4.11 et 6.88. Enfin, l'application de la règle de Lipinski nous renseigne de manière positive sur les propriétés ADME de ces nouveaux composés.

Mots clés : Criblage virtuel, MAOB, Parkinson, PubChem, Surflex.

Abstract

In silico virtual screening is a very used approach in the design of new drugs. This approach has been used in this work to theoretically propose new inhibitors of MAOB, validated therapeutic target for the treatment of Parkinson's disease. Because of the Surfex program, we have virtually screened 189 molecules from PubChem to the active site of the enzyme studied. At the end of this screening, the compounds CID-55411293 and CID-650711 appear as novel inhibitors of MAOB with respective scores of 6.88 and 4.11. Finally, the application of the Lipinski rule gives us positive information on the ADME properties of these new compounds.

Keywords: Virtual screening, MAOB, Parkinson, Pubchem, Surfex.

الملخص

الفحص الظاهري (Criblage virtuel) نهج متبع على نطاق واسع لاكتشاف أدوية جديدة. و قد استخدم هذا النهج في هذا العمل لاقتراح نماذج نظرية جديدة لمثبطات انزيم MAOB , الذي يلعب دور مهم في معالجة مرض الشلل الرعاشي. باستعمال برنامج Surflex قمنا بالفحص الظاهري لمجموعة متكونة من 189 جزئ التي تنتمي الى المكتبة الكيميائية Pubchem حيث اختبرت هذه الجزيئات في الموقع الفعال لإنزيم MAOB. هذا الاختبار سمح بإبراز المركبين CID-6507117 و CID-5541129 كمثبطات جديدة لإنزيم MAOB بنتائج 4.11 و 6.88. أخيرا تطبيقنا لقاعدة ليبينسكي مكننا و بطريقة ايجابية من الاطلاع على الخصائص الفيزيوكيماوية لهذه الجزيئات.

Conception *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la monoamine oxydase B pour le traitement de la maladie de parkinson

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie moléculaire et santé.

Résumé

Le criblage virtuel *in silico* est une approche très employée dans la conception de nouveaux médicaments. Cette approche a été utilisée dans le présent travail afin de proposer théoriquement de nouveaux inhibiteurs de la MAOB ; cible thérapeutique validée pour le traitement de la maladie de Parkinson. Grâce au programme Surflex, nous avons criblé virtuellement 189 molécules issues de la PubChem envers le site actif de l'enzyme étudiée. À l'issue de ce criblage, les composés CID-6507117 et CID-55411293 se présentent comme nouveaux inhibiteurs de la MAOB avec des scores respectives de 4.11 et 6.88. Enfin, l'application de la règle de Lipinski nous renseigne de manière positive sur les propriétés ADME de ces nouveaux composés.

Mots clés : Criblage virtuel, MAOB, Parkinson, PubChem, Surflex

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Biochimie Appliquée.

Jury d'évaluation :

Président du jury : *BENSEGHENI A.* (Professeur à UFM Constantine 1),

Rapporteur : *MOKRANI E.H.* (Maitre assistant A à UFM Constantine 1),

Examinatrice : *TENIOU S.* (Maitre assistante A à UFM Constantine 1).

Date de soutenance : 20/06/2017