



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAÏD DE TLEMCEM

Faculté des Sciences

Département de Chimie

Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives

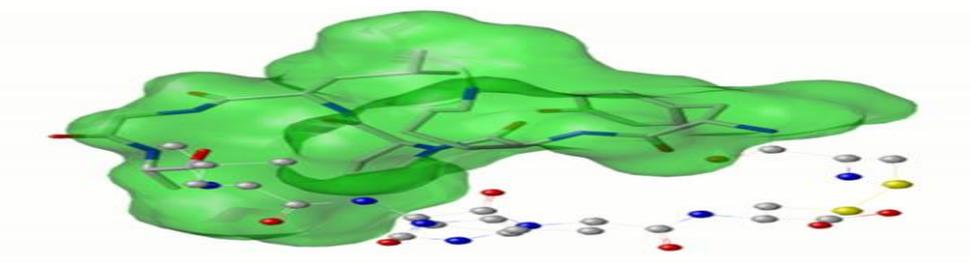
## Thèse

Présenté pour obtenir le diplôme de :

DOCTORAT EN CHIMIE-PHYSIQUE

Option : Chimie Théorique et Modélisation Moléculaire

Présenté Par: **M<sup>me</sup> Lalout Wassila née Soufi**



## Thème

# Contribution a la modélisation des interactions dans les biomolécules: Cas de la Maladie de Parkinson

Président :	Tewfik. BOUCHAOUR	Pr Université de Tlemcen
Examineurs :	Safia TAÏRI-KELLOU	Pr Université d'Alger (USTHB)
	Souad EL HAJJAJI	Pr Université Mohammed V de Rabat Maroc
Co- encadrant :	Saïd GHALEM	Pr. Université de Tlemcen
Encadrante:	Meriem BENYAROU	Pr. Université de Tlemcen

2016

# Dédicaces

Je dédie ce travail :

A mes chers parents, pour leur amour, leur soutien et tous leurs sacrifices

A mon mari et mes deux anges Chiheb et Malek

A ma chère sœur Samia et mon beau frère et leurs enfants ( Houda, Ali).

A mes chers frères ( Abdelilah, Mohamed, Hichem).

A la mémoire de ma sœur.

A mes grands-parents.

A mes tantes et mes oncles, A mes cousins et cousines

A tous ceux, qui de près ou de loin m'ont aidé à mener à bon terme la réalisation de ce travail.

# Remerciements

# Remerciements

C'est avec un réel plaisir que je réserve ces lignes en signe de gratitude et de profonde reconnaissance à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation et à l'aboutissement de ce travail.

Avant tout, je remercie Dieu tout puissant pour m'avoir aidé à réaliser ce modeste travail.

Le présent travail a été réalisé au sein de laboratoire LASNABIO" Substances naturelles et bioactives" dans l'équipe de modélisation moléculaire de la faculté des sciences, Département de chimie, de l'université de Tlemcen

Je remercie énormément Madame le professeur **M. BENYAROU** à l'université de Tlemcen faculté des sciences Qu'il me soit permis de lui exprimer toute ma reconnaissance et ma gratitude pour ses précieux conseils de tout ordre, sa disponibilité, sa patience et sa gentillesse et pour la bienveillante attention dont m'a entouré.

Je remercie Monsieur le professeur S. GHALEM à l'université de Tlemcen faculté des sciences et Directeur du laboratoire de recherche LASNABIO" Substances naturelles et bioactives", pour son aide et son soutien moral et m'avoir fait bénéficier de ses connaissances en chimie théorique et modélisation moléculaire.

Je voudrais exprimer ma profonde reconnaissance à Monsieur le Professeur **T. BOUCHAOUR** à l'université de Tlemcen faculté des sciences, qui a bien voulu présidé ce jury.

J'exprime mon estime et mes remerciements aux honorables membres de jury :

Je remercie énormément Madame le professeur S. TAÏRI-KELLOU à l'université d'Alger (USTHB), que pour avoir accepté de consacrer du temps à examiner et juger ce travail.

Je remercie énormément Madame le professeur S.EL HAJJAJI à l'université de Maroc (Rabat), qui m'a fait l'honneur d'accepter d'être examinatrice de ce travail et de participer à ce jury.

Enfin, j'adresse mes remerciements à tous les collègues de l'équipe de «Dynamiques des Biomolécules» du laboratoire de recherche LASNABIO et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## **LISTE DES TABLEAUX**

### **CHAPITRE I**

Tableau 1 : Symptômes dysautonomiques rencontrés dans la MP .....	25
---	----

### **CHAPITRE III**

Tableau 1 : Données cristallographique pour les trois enzymes.....	66
--	----

Tableau 2 : Dérivés du catéchol.....	67
--------------------------------------	----

Tableau 3 : volume et surface des différentes cavités.....	70
--	----

Tableau 4 : Résultats de l'amarrage entre les acides aminés du site actif et les résidus qui interagissent dans les deux cavités.....	72
---	----

Tableau 5 : Distances entre les acides aminés du site actif et groupes d'inhibiteurs dans les deux cavités .....	75
--	----

Tableau 6 : Les résultats de docking moléculaire des quatre complexes.....	78
--	----

Tableau 7 : Valeurs d'IC50 expérimentaux de différents inhibiteurs.....	80
---	----

Tableau 8 : Résultats de la règle de Lipinski sur les différents composés de coumarine.....	85
---	----

Tableau 9 : résultats de docking moléculaire de différentes coumarines avec la MAO-B.....	87
---	----

Tableau 10 : Les distances entre les sites acides aminés et les groupes actifs d'inhibiteurs CID 71335585 et CID 52937587.....	88
---	----

## LISTE DES FIGURES

### CHAPITRE I

Figure 1 : Eléments entraînant la mort des neurones et les mécanismes d'impression générales.....	16
Figure 2 : James Parkinson (1755-1824).....	18
Figure 3: Des parties importantes de cerveau.....	19
Figure 4: Dessin Parkinson Disease par Sir William Richard Gowers- 1886.....	22
Figure 5 : Corps de Lewy.....	23
Figure 6 : A : Substance noire normale. B : Substance noire dépigmentée dans la maladie de Parkinson. C : Corps de Lewy dans un neurone du locus niger.....	24
Figure 7 : Métabolisme de la L-dopa et de la dopamine, montrant les sites d'actions de drogues utilisées en association.....	27
Figure 8: Représentation schématique du fonctionnement d'inhibiteurs de la MAO utilisés dans le traitement de la maladie de Parkinson.....	29

### CHAPITRE II

Figure 1: Mécanique moléculaire.....	39
Figure 2: Interactions de Van Der Waals.....	40
Figure 3 : ponts hydrogène.....	41
Figure 4: Interaction électrostatiques.....	41
Figure 5: Représentation schématique du principe d'une minimisation d'énergie « statique» .....	44
Figure 6 : Principe générale d'un programme de docking.....	46

Figure 7 : Méthode de détection de la cavité .....	51
Figure 8: Protocole général de docking.....	53

### CHAPITRE III

Figure 1 : Protocole de calcul .....	63
Figure 2 : Structure de la COMT Code PDB 1H1D.....	65
Figure 3 : Forme dimère de la MAO-B code PDB 2V5Z.....	65
Figure 4 : Structure de la MAO-B code PDB 4CRT.....	65
Figure 5 : Modèle simplifié de la COMT.....	66
Figure 6: Modèle simplifié de la MAO-B code PDB 2V5Z.....	66
Figure 7 : Modèle simplifié de la MAO-B code PDB 4CRT.....	67
Figure 8 : Catéchols.....	68
Figure 9 : Dérivés de l'indole.....	68
Figure 10 : Dérivés de la coumarine.....	69
Figure 12 : Interface graphique des cavités 1 et 2 représentée par une ellipse identifiée par MolDock.....	71
Figure 13 : Le mode de liaison entre catéchol-3 avec le site de liaison des catécholamines O - méthyl transférase dans les deux cavités.( - - - - - : Interaction Stérique , - - - - - : Interaction des liaisons Hydrogène ).....	73
Figure 14 : Les modèles d'interaction entre la COMT et la catéchol-3 (cavité1 et cavité 2).....	74

Figure 15 : Complémentarité des complexes Inhibiteurs- MAO-B(2V5Z.pdb).....	78
Figure 16 : Prédiction de l'orientation d'inhibiteur-4 dans le site actif de la MAO-B (2V5Z.pdb).....	79
Figure 17: Valeurs expérimentales en pourcentage d'IC <sub>50</sub> des différents Inhibiteurs .....	80
Figure 18 : Pipeline de nœuds utilisés dans KNIME pour la préparation pour le criblage virtuel de base de données.....	83
Figure 19 : Complémentarité des complexes coumarines- MAO-B (4CRT.pdb).....	87
Figure 20 : Meilleurs inhibiteurs de la MAO-B (CID 71335585 et CID 52937587).....	88
Figure 21: Résidus du site actif.....	89
Figure 22: Dimensions de deux coumarines.....	90

## LISTE DES ABREVIATIONS

AChE: l'acétylcholinestérase.

Amber: Assisted Model Building with Energy Refinement ff03.r1: parm99.dat + frcmod.ff03 + frcmod.ionsjc\_tip3p.

Arg: Arginine.

Asn: acide asparagine.

COMT : Catéchol-O-Méthyltransférase.

DFT : Density functional theory.

DM : Dynamique moléculaire.

DSK: Dyskinésies.

FAD : Flavin adenine dinucléotide.

Glu : Acide glutamique.

IC50 : Concentration Inhibitrice.

ICOMT: Inhibiteurs de la Catéchol-O-Méthyltransférase.

IMAO : Inhibiteurs de la Monoamine oxydase.

IMAO-B : Inhibiteurs de la Monoamine oxydase-B.

L-Dopa : 3-(3,4-dihydroxyphenyl)-L-alanine (levodopa) lévodopa.

MAO : Monoamine oxydase.

MAO-A: Monoamine oxydase-A.

MAO-B: Monoamine oxydase-B.

MDV: Molegro Virtual Docker.

MM: Mécanique moléculaire.

MP : Maladie de Parkinson.

nM : Nano mole/litre.

NST: Noyaux sous-thalamiques.

---

OMS : Organisation mondiale de la Santé.

PDB: Protein Data Bank.

SCP: Stimulation cérébrale profonde.

SNc: Substance noire .

CNS: Système nerveux central.

$\mu$  M: Micro mole/litre.

## Sommaire

Remerciements.	
Liste des tableaux.	
Liste des figures.	
Liste des abréviations.	
Introduction Générale	01
Références	09
<b>Chapitre I : LA MALADIE DE PARKINSON</b>	16
I-1- Généralités sur la maladie de Parkinson	16
I-2- Epidémiologie de la maladie de parkinson	17
I-3- Histoire de la maladie de Parkinson	18
I-4- Les symptômes de la maladie de Parkinson	20
I-4.1- La triade de symptômes moteurs	20
I-4.2- Symptômes non-moteurs	22
I-4-2.a. <i>Symptômes non-moteurs - cognitivo-psychiques</i>	23
I-4-2.b. <i>Symptômes non-moteurs - troubles du sommeil</i>	24
I-4-2.c. <i>Symptômes non-moteurs - dysautonomie</i>	24
I-4-2.d. <i>Symptômes non-moteurs – douleurs</i>	25
I-5-Traitement actuel de la maladie de parkinson	25
I-5-1. La L-DOPA.	26
I-5-2. Les agonistes dopaminergiques	27
I-5-3. Les anticholinergiques	28
I-5-4. Les inhibiteurs de la monoamine oxydase	28
Références	30
<b>Chapitre II : METHODES DE MODELISATION MOLECULAIRE</b>	37
II-1.Introduction	37
II-2. La mécanique moléculaire	38

II-2.1. Principes théoriques	38
II-2.2- Modélisation par champs de force	39
II-3. Les simulations de dynamique moléculaire	42
II-3.1. Principes théoriques	42
II-3.2. Calcul de dynamique moléculaire	43
II-4. Minimisation d'énergie (optimisation de géométrie)	44
II-5. Les simulations de docking	45
II-5.1. Principes théoriques	45
II-5.2. Algorithmes de docking	46
II-6. La cible enzymatique	49
II-7. protocole général de docking	50
II-8. Choix de logiciel de MolDock (MVD)	51
II-9. Protocole général de docking	52
Références	54
<b>Chapitre III : APPLICATIONS, RESULTATS ET DISCUSSIONS</b>	61
III-1. Introduction	61
III-2. La démarche à suivre	63
III-3. Méthodologie des calculs des trois études	64
III-3.1. Préparation du récepteur	64
III-3.2. Préparation des inhibiteurs	67
III-3.3. Étude de docking moléculaire	69
III-4. Résultats et discussion	69
III-4.1. Résultat de la COMT	70
III-4.1.1. Les Energies d'interactions	71
III-4.1.2. Les distances entre les sites acides aminés et les groupes actifs	74

---

d'inhibiteurs	
III-4.2. Résultat de la MAO-B (2V5Z)	77
III-4.3. Résultat de la MAO-B (4CRT)	81
III-4.3.1. Les solutions d'amarrage	81
III-4.3.2. La procédure AUTODOCK Vina	82
III-4.3.3. Calcul des grilles de potentiel	82
III-4.3.4. Préparation des inhibiteurs	83
III-4.3.5. Étude de docking moléculaire	85
III-4.3.6. Résultats des dimensions de la cavité enzymatiques	89
Références	92
Conclusion générale	96
Références	100

---

# **Introduction Générale**

La maladie de Parkinson (MP) est une maladie dégénérative caractérisée par la perte progressive des neurones dopaminergiques de la voie nigro-striatale et se traduit par des symptômes multiples comportant notamment la triade parkinsonienne : tremblement, rigidité et akinésie. La perte d'équilibre ainsi que le dysfonctionnement cognitif et la perte de mémoire sont également observées dans la maladie d'Alzheimer, ils sont connus comme des symptômes cliniques de la MP [1]. La prise en charge en première intention repose sur les traitements médicamenteux symptomatiques visant à compenser la transmission dopaminergique défaillante. Après une phase de bon contrôle des symptômes, l'évolution de la maladie d'une part, les propriétés des molécules utilisées d'autre part, conduisent le plus souvent à l'apparition de fluctuations et de dyskinésies. Les manifestations motrices et non-motrices vont alors varier au rythme des prises médicamenteuses, avec un impact majeur sur la qualité de vie. À ce stade et chez des patients sélectionnés, une prise en charge chirurgicale peut être proposée, via la stimulation cérébrale profonde (SCP) des noyaux sous-thalamiques (NST).

La MP est un facteur de risque important de dépendance, le taux d'institutionnalisation et la mortalité sont plus élevés que dans la population générale [2,3]. Les principaux facteurs de risque de survenue des dyskinésies liées à la L-Dopa regroupent [4]:

- Un âge de début précoce de la MP,
- Une dénervation dopaminergique importante,
- La durée du traitement,
- Le mode d'administration du traitement,
- La dose cumulée du traitement,
- L'interaction de ces différents facteurs reste méconnue [5].

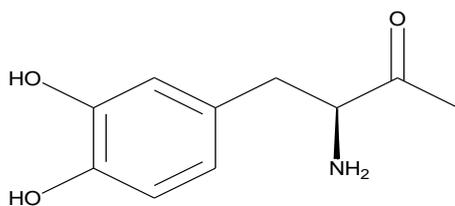
Dans la maladie de Parkinson, les neurones vont se dégrader peu à peu provoquant une diminution de la quantité de dopamine. La dopamine permet le contrôle des mouvements,

notamment ceux qui sont involontaires, son effet naturel est d'augmenter le diamètre des artères du cœur, de l'intestin et surtout des reins.

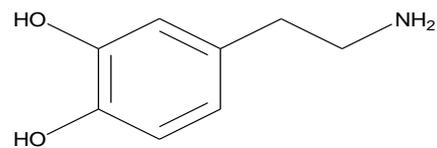
La dopamine peut être fabriquée artificiellement et utilisée principalement dans les états de choc : dans ce cadre, ses effets recherchés sont :

- Problème cardiovasculaire,
- Débit sanguin,
- Maintien de la pression artérielle.

La disparition de ce médiateur chimique est notée dans la maladie de Parkinson, c'est pourquoi l'utilisation de la L-Dopa, une molécule permettant la synthèse de dopamine est préconisée dans le traitement de cette maladie [6].



L-dihydroxyphénylalanine (L-Dopa)



Dopamine

La dopamine est un neurotransmetteur jouant un rôle important au niveau du cerveau. La dopamine ainsi que la noradrénaline et l'adrénaline possèdent une structure chimique commune appelée noyau catéchol (Figure 1). Ces molécules sont synthétisées à partir de la tyrosine, un acide aminé qui suite à son hydroxylation par la tyrosine hydroxylase (TH) est transformé en L-dihydroxyphénylalanine (L-Dopa).

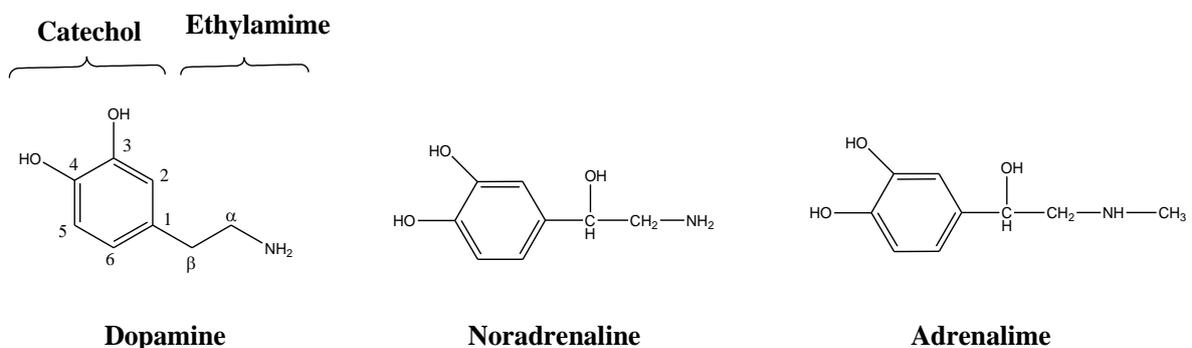


Figure 1: Schéma de la structure chimique des catécholamines [7]

Catéchol-O-Méthyltransférase (COMT) est une enzyme qui joue un rôle essentiel dans le métabolisme des catécholamines [8,9]. La COMT est présente dans sa forme soluble dans de nombreux tissus, mais principalement liée à la membrane dans le cerveau humain.

La COMT est la principale enzyme qui catalyse la méthylation de catéchol, la S-adenosylmethionine agit comme un donneur de méthyle et conduit à la formation de dérivés méthyles (figure 2) [10,11].

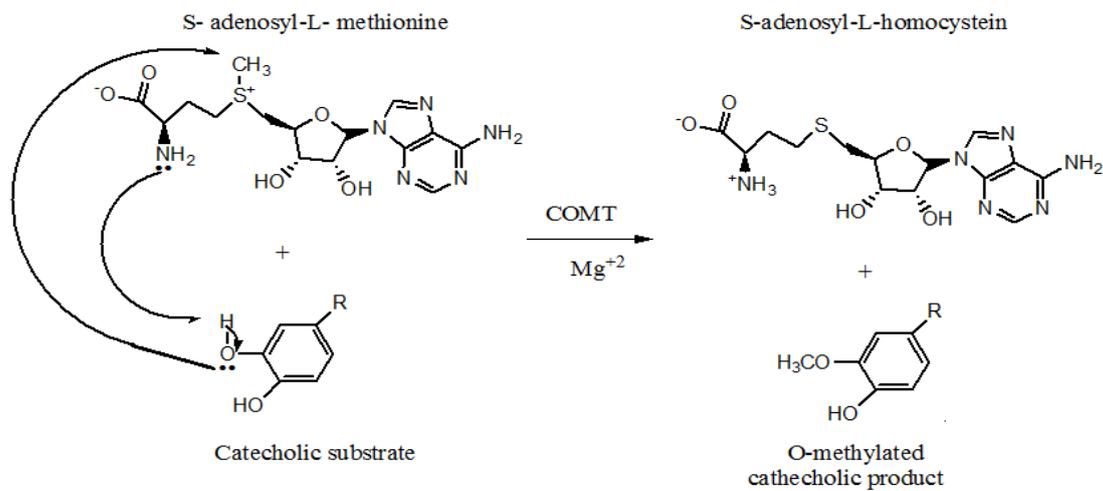


figure 2: Mécanisme général de la COMT

Parmi les inhibiteurs de la COMT qui ont été développés et utilisés en clinique depuis 1960: l'entacapone et la tolcapone obtenues par synthèse. Les inhibiteurs nitrocatéchols utilisés dans la thérapie de la MP sont connus pour leur effet cytotoxique, pour cela la découverte et le développement d'inhibiteurs naturels non toxiques ont une très grande importance dans le traitement de la MP.

L'utilisation d'inhibiteurs de la COMT avec les inhibiteurs de la Dopa et la L-Dopa carboxylase joue un rôle important dans la thérapie de la MP [12,13]. Elle diminue la vitesse de dégradation de la dopamine. De cette manière, ils sont toujours administrés en association avec la L-Dopa car ils évitent sa dégradation avant d'atteindre le cerveau, ou elle est transformée en dopamine [14].

Les Inhibiteurs de la Monoamine Oxydase (MAO) ont un pouvoir thérapeutique potentiel [15]. La MAO de Parkinson a été divisé en deux sous-types [16], La MAO-A et la MAO-B. Les inhibiteurs de MAO-A sont prescrits pour le traitement de la dépression et de l'anxiété, les inhibiteurs de la MAO-B sont utilisées avec la L-Dopa dans le traitement symptomatique de la MP.

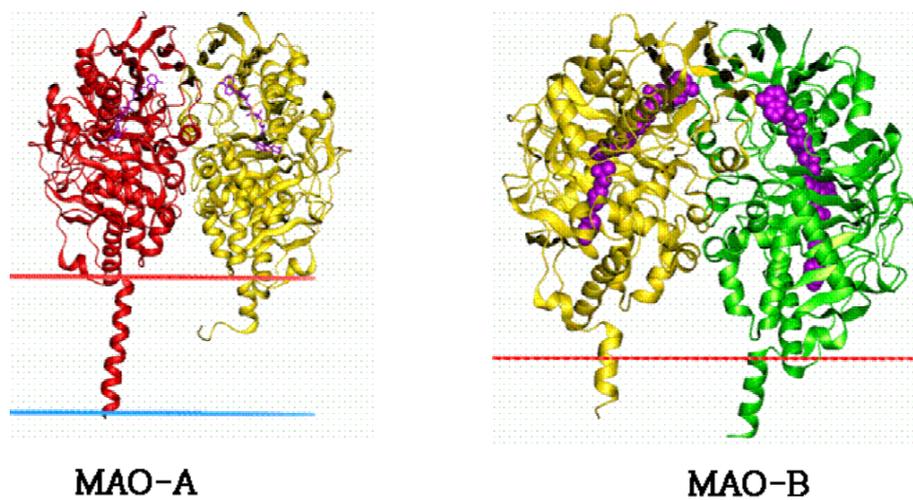
La MAO-B est une protéine mitochondriale située dans la couche externe de la mitochondrie, elle catalyse le métabolisme des neurotransmetteurs tels que la dopamine [17,18]. La MAO-B a donc été d'intérêt dans le développement d'agents thérapeutiques pour le traitement de la MP [19,20]. L'inhibition de la MAO-B entraîne une augmentation des niveaux de dopamine et fournit donc un soulagement symptomatique chez ces patients [21]. La MAO-B dégrade la dopamine et en même temps produit des sous-produits toxiques tels que le peroxyde d'hydrogène de l'ammoniac [22] et le déprényl [23], ont été l'une des premières approches thérapeutiques développées pour augmenter la biodisponibilité de la dopamine et ainsi ralentir l'évolution de cette maladie et restent encore actuellement l'un des traitements utilisés.

En général, les inhibiteurs sélectifs de la MAO-A (moclobemide, befloxatone et la toloxatone ) et les inhibiteurs de la MAO non sélectifs (nialamide , l'iproniazide , phenelzine et la pargyline ) semblent être efficaces dans le traitement de patients souffrant de dépression, la panique, et d'autres troubles de l'anxiété [24]. Il est supposé que l'inhibition de la MAO-B peut ralentir l'évolution de diverses maladies neurodégénératives; ainsi des inhibiteurs sélectifs de la MAO-B peuvent être efficaces dans le traitement de la MP [25] et éventuellement, la maladie d'Alzheimer [26,27].

Les MAO sont formés de deux sous unités liées par un pont disulfure, associées à un groupement FAD (flavin adenine dinucléotide) jouant le rôle de cofacteur : les MAO sont donc des enzymes appartenant à la famille des flavoprotéines.

Des approches structurales (cristallographie) (figure 3) des MAO ont été récemment réalisées et devraient permettre d'avancer dans la connaissance de leur site catalytique et de

leurs sites de fixation aux inhibiteurs ou à leur substrat [28, 29]; cette nouvelle approche devrait permettre de modéliser de nouvelles molécules.



**Figure 3:** Structures cristallographiques des monoamines oxydases humaines

### Indole

L'Indole est un hétérocycle aromatique condensé, composé d'un noyau benzénique six chaînons condensé à pyrrole, les nouveaux composés synthétisés possédant un noyau de l'indole ont une activité biologique intéressante comme :

- ✓ Antimicrobienne,
- ✓ Anti-virale,
- ✓ Anti-tuberculeux,
- ✓ Antidiabétique,
- ✓ Anti-cancéreuse,
- ✓ Anti-convulsivant,
- ✓ Anti-oxydant,
- ✓ Antidépresseurs,
- ✓ Anti-inflammatoires [30].

## Coumarine

Les coumarines sont une grande famille de composés d'origine naturels ou synthétiques possédant des activités pharmacologiques intéressantes en raison de leur diversité structurelle. Les coumarines ont une structure hétérocyclique contenant de l'oxygène montrant une variété d'activités biologiques [31]. En outre, ils sont utilisés comme intermédiaires pour la synthèse des molécules importantes dans le domaine pharmaceutique [32,33].

Elles sont utilisées en parfumerie. Leur odeur se rapproche de la vanilline et du foin fraîchement coupé. On la retrouve dans plusieurs plantes comme l'aspérule, la cannelle de Chine, le céleri, la fève tonka, la lavande,.... [34,35]. Du fait de l'accessibilité et la variabilité de ces composés hétérocycliques synthétiques différemment substitués ces derniers jouent un rôle important non seulement dans la chimie organique, mais également dans le domaine de la chimie médicinale. [36-40]. En fait, les coumarines ont été précédemment décrits comme:

- ✓ anticancéreux,
- ✓ antiviraux,
- ✓ anti-inflammatoires,
- ✓ antimicrobiens,
- ✓ agents antioxydants et inhibiteurs enzymatiques [41-43].

Au cours des dernière années, les dérivés de la coumarine ont été identifiés comme des inhibiteurs d'enzymes thérapeutiquement importants tels que l'aromatase [44,45], l'acétylcholinestérase (AChE) [46] et de la MAO [47].

Notre travail consiste à étudier l'inhibition des différentes enzymes impliquées dans la MP avec des différents inhibiteurs [48-50]. Cette étude a pour but de diminuer la perte de cellules dopaminergiques dans la substance noire et par la suite retarder sa progression.

Avec le développement des outils informatiques dans les 20 dernières années, la modélisation moléculaire et plus précisément le docking moléculaire (assemblage ou arrimage moléculaire) a rapidement investi le domaine de la recherche en biologie. Celui-ci peut être défini comme la recherche du meilleur appariement entre deux molécules. Le docking moléculaire a pour objectif essentiel de prédire la conformation (position et orientation relative) la plus favorable du ligand au sein de son récepteur [52] comme il peut servir à l'optimisation de molécules et au criblage de bases de données. En pharmacie, la découverte et la mise au point de nouvelles substances médicamenteuses peuvent passer par le criblage de bases de données avec des millions de composés pour une même protéine cible, ce qui ne serait pas réalisable en biologie classique. En général, la cible est une protéine et le ligand peut être une petite molécule organique [53].

La plupart des programmes utilisent une approche semblable : une molécule est fixe dans l'espace tandis que la seconde est déplacée par un ensemble de translations et de rotations. Chaque configuration est alors évaluée par une fonction de score en termes de complémentarité de surface, d'interaction électrostatique, de répulsion de van der Waals ... De manière générale, le protocole de docking peut être décomposé de la façon suivante :

- ✓ représentation du système
- ✓ procédure de recherche (searching)
- ✓ criblage par fonction de score (scoring)

Le but principal de ce travail est de tester les performances de certains programmes d'arrimage moléculaire qui permettent de simuler les interactions entre protéines et ligands. Pour étudier ces interactions, nous avons choisi deux programmes de docking moléculaire: Molegro Virtual Docker (Version 2012) et Autodock vina implanté dans UCSF Chimera (Version 2013). Ces programmes ont été développés pour aider à la mise au point de

molécules à activité thérapeutique. Il s'agit de calculer l'interaction entre des composés de petit poids moléculaire (inhibiteurs) et des récepteurs protéiques de types enzymatiques.

Dans les deux premières parties nous avons étudié l'interaction de la COMT - Catéchols, et de la MAO-B (code :2V5Z) -Dérives indoles par le programme MDV .

Dans la dernière étude nous avons étudié l'interaction entre MAO-B (code :4CRT) - coumarines par le programme Autodock vina implanté dans UCSF Chimera, pour ces trois études on s'intéresse à déterminer le mode d'interaction du complexe pour la fixation des différents inhibiteurs de ces enzymes, avec une meilleure complémentarité et en calculant l'énergie d'interaction du complexe formé. Le complexe qui a l'énergie d'interaction la plus faible présentera une meilleure activité et par la suite une meilleure inhibition [48-50].

## Références

1. Zhu B. T. "CNS Dopamine Oxidation and Catechol-O-Methyltransferase: Importance in the Etiology, Pharmacotherapy, and Dietary Prevention of Parkinson's Disease". *International Journal of Molecular Medicine*, 2004, 13, 343-353.
2. Chen H, Zhang SM, Schwarzschild MA, Hernan MA, Ascherio A. Survival of Parkinson's disease patients in a large prospective cohort of male health professionals. *Mov Disord*, 2006, 21, 1002-7.
3. Driver JA, Kurth T, Buring JE, Gaziano JM, Logroscino G. Parkinson disease and risk of mortality: a prospective comorbidity-matched cohort study. *Neurology*, 2008, 70, 1423-30.
4. Derkinderen P, Vidailhet M. [L-DOPA-induced dyskinesia]. *Rev Neurol (Paris)* ,2002, 158, 92-101.
5. Bezard E, Brotchie JM, Gross CE. Pathophysiology of levodopa-induced dyskinesia: potential for new therapies. *Nat Rev Neurosci*, 2001, 2, 577-88.
6. Pierrick Horde. « Dopamine - Définition » issu de Sante-Médecine, 2014
7. Manon Lebel. Rôle des protéines responsables du maintien du cytosquelette neuronal dans la maladie de parkinson et les dyskinésies induites par la l-dopa. Thèse de doctorat d'université : biophysique et biologie cellulaires. Université du Québec à Trois-Rivières , 2010, 2 p.
8. Reuter M, Kupper Y, Schmitz A, Breuer J. P, Wend U, Hennig J. Detection of new single nucleotide polymorphisms by means of real time PCR. *Indian Academy of Sciences. Journal of Genetics*, 2005, 84, 341-345
9. Ann-Christine Ehlis , Andreas Reif , Martin J Herrmann , Klaus-Peter Lesch and Andreas J Fallgatter. Impact Catechol- O -methyltransferase on prefrontal brain function in disorders of schizophrenia spectrum. *Neuropsychopharmacology* , 2007, 32, 162-170.

10. Muthusamy J, Gangaraj k, Vasudevan P and Manoharan S. Molecular understanding and insilico validation of traditional medicines for parkinson's disease. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 2012, 5 ,974-2441.
- 11 . Shirish Deshpande, Harmish G. Patel. Molecular Docking Study Of Inha Inhibitors On Catechol-O-Methyltransferase. *world de Journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, 2014, 3, 552-565
12. Lerner C, Masjost B, Ruf A, Gramlich V, Jakob-Roetne R, Zürcher G, Borroni E, Diederich F. Bisubstrate Inhibitors for the Enzyme Catechol-O- Methyltransferase (COMT): Influence of Inhibitor Preorganisation and Linker Length Between The Two Substrate Moieties on Binding Affinity. *Organic and Biomolecular Chemistry*, 2003, 1, 42-49.
13. Singh N, Pillay V, Choonara Y. E. Advances in the Treatment of Parkinson's Disease. *Progress in Neurobiology*, 2007, 81, 29-44.
14. Conférence de consensus sur la maladie de Parkinson. Texte des experts. Textes du groupe bibliographique et recommandations du jury (texte court et texte long). *Rev Neurol*, 2000, 156 , 1-294.
15. Ramsay RR, Gravestock MB. Monoamine oxidases: to inhibit or not to inhibit. *Mini Rev Med Chem*, 2003, 3, 129–136.
16. Li-Hua Mua, Bo Wanga, Hao-Yang Ren, Ping Liu, Dai-Hong Guo, Fu-Meng Wang, Lin Bai, Yan-Shen Guo. Synthesis and inhibitory effect of piperine derivates on monoamine oxidase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2012, 22 , 3343–3348.
17. Edmondson D. E, Mattevi A, Binda C, Li M, Hubalek F. *Curr. Med. Chem*, 2004,11, 1983.
18. Binda C, Hubalek F, Li M, Edmondson D. E, Mattevi A. *FEBS Lett*, 2004, 564, 225.
19. Youdim M. B, Edmondson D, Tipton K. F. *Nat. Rev. Neurosci*, 2006, 7, 295.

20. Youdim M. B, Geldenhuys W. J, Van der Schyf C. J. *Parkinsonism Relat. Disord*, 2007,13, S281.
21. Fernandez H. H, Chen, J. J. *Pharmacotherapy*, 2007, 27, 174S.
22. Bortolato M, Chen K, Shih J. C. *Adv. Drug Delivery Rev*, 2008, 60, 1527.
23. Coatrieux C. *Monoamine oxydases et athérosclérose : signalisation mitogène et études in vivo*. Thèse de doctorat en Discipline : Innovation Pharmacologique. Toulouse : Université Toulouse III - Paul Sabatier. France. 2007, 14p.
24. Stahl SM, Felker A. Monoamine oxidase inhibitors: a modern guide to an unrequited class of antidepressants. *CNS Spectr*, 2008, 13, 855–870.
25. Horstink M, Tolosa E, Bonuccelli U, Deuschl G, Friedman A, Kanovsky P, et al; European Federation of Neurological Societies; Movement Disorder Society-European Section. Review of the therapeutic management of Parkinson’s disease. Report of a joint task force of the European Federation of Neurological Societies and the Movement Disorder Society-European Section. Part I: early (uncomplicated) Parkinson’s disease. *Eur J Neurol*, 2006, 13, 1170–1185.
26. Riederer P, Danielczyk W, Grünblatt E. Monoamine oxidase-B inhibition in Alzheimer’s disease. *NeuroToxicology*, 2004, 25, 271–277.
27. Fišar Z, Raboch J. Depression, antidepressants, and peripheral blood components. *Neuroendocrinol Lett*, 2008, 29, 17–28.
28. Binda C, Li M, Hubalek F, Restelli N, Edmondson DE, Mattevi A Insights into the mode of inhibition of human mitochondrial monoamine oxidase B from high-resolution crystal structures. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100, 9750-9755.
29. De Colibus L, Li M, Binda C, Lustig A, Edmondson DE, Mattevi A Three-dimensional structure of human monoamine oxidase A (MAO A): relation to the structures of rat MAO A and human MAO B. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102, 12684-12689.

30. Ramesh Dhani, A. Avinash, S. K. Salenaagina, M. V. Saicharan Teja, P. Masthanaiah, P. Raja Rathnam and V.Chandana silpa. Indole: The molecule of diverse pharmacological activities. *J. Chem. Pharm. Res*, 2011, 3, 519-523
31. Neyts J, De Clercq E, Singha R, Chang Y. H, Das A. R, Chakraborty S. K, Hong S. Tsay C, Hsu S. C, Hwu M. H, J. R. J. Structure-activity relationship of new anti-hepatitis C virus agents: heterobicycle-coumarin conjugates. *Med. Chem*, 2009, 52, 1486.
32. Mohamed A. Khalil, Samia M. Sayed, and Mohamed A. Raslan. Synthesis of New Pyrazolo[5,1-c]triazine, Triazolo[5,1-c]triazine, Triazino[4,3-b]indazole and Benzimidazo [2,1-c]triazine Derivatives Incorporating Chromen-2-one Moiety. *Journal of the Korean Chemical Society*, 2013, 57, 5-612.
33. Jung M. E, Allen D. A. *Organic Lett*, 2009; 11:757. Chen G, Tokunaga N, Hayashi T. *Organic Lett*, 2005; 7: 2285. (c) Stoffman E. J. L, Clive D. L. K. *Org. Biomol. Chem*, 2009, 7, 4862.
34. Borges F, et al. Simple coumarins and analogues in medicinal chemistry: occurrence, synthesis and biological activity. *Curr. Med. Chem*, 2005, 12, 887- 916.
35. Borges F, et al. Simple coumarins: privileged scaffolds in medicinal chemistry. *Front. Med. Chem*, 2009, 4, 23-85.
36. Kabeya L, et al. Inhibition of horseradish peroxidase catalytic activity by new 3-phenylcoumarin derivatives: synthesis and structure-activity relationships. *Bioorg. Med. Chem*, 2007, 15, 1516-1524.
37. Belluti F, et al. Design, synthesis and anticancer activities of stilbene-coumarin hybrid compounds: identification of novel proapoptotic agents. *Bioorg. Med. Chem*, 2010, 18, 3543-3550.

38. Roussaki M, et al. A novel synthesis of 3-aryl coumarins and evaluation of their antioxidant and lipoxygenase inhibitory activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett*, 2010, 20 , 3889-3892.
39. Neyts J, et al. Structure-activity relationship of new anti-hepatitis C virus agents: heterobicycle-coumarin conjugates. *J. Med. Chem*, 2009, 52, 1486-1490.
40. Matos M.J, et al. Synthesis and study of a series of 3-aryl coumarins as potent and selective monoamine oxidase B inhibitors. *J. Med. Chem*, 2011, 54, 7127-7137.
41. Viña D, et al. 3-substituted coumarins as dual inhibitors of AChE and MAO for the treatment of Alzheimer's disease. *MedChemComm*, 2011, 3, 213-218.
42. Serra, S, et al. Hydroxycoumarins as selective MAO-B inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett*, 2012, 22, 258-261.
43. Chimenti F. et al. Synthesis, molecular modeling, and selective inhibitory activity against human monoamine oxidases of 3-carboxamido-7-substituted coumarins. *J. Med. Chem*, 2009, 52, 1935-1942.
44. Chen S, Cho M, Karlsberg K, Zhou D, Yuan Y.C. Biochemical and biological characterization of a novel antiaromatase coumarin derivative. *J. Biol. Chem*, 2004, 279, 48071-48078.
45. Leonetti F, Favia A, Rao A, Aliano R, Paluszczak A, Hartmann R.W, Carotti A. Design, synthesis, and 3D QSAR of novel potent and selective aromatase inhibitors. *J. Med. Chem*, 2004, 47, 6792-6803.
46. Bruhlmann C, Ooms F, Carrupt P.A, Testa B, Catto M, Leonetti F, Altomare C, Carotti A. Coumarins derivatives as dual inhibitors of acetylcholinesterase and monoamine oxidase. *J. Med. Chem*, 2001, 44, 3195-3198.

47. Gnerre C, Catto M, Leonetti F, Weber P, Carrupt P.A, Altomare C, Carotti A, Testa B. Inhibition of Monoamine Oxidases by Functionalized Coumarin Derivatives: Biological Activities, QSARs, and 3D-QSARs. *J. Med. Chem.*, 2000, 43, 4747-4758.
48. Wassila Soufi, Meriem Merad, Faiza Boukli, Fatima Lebbad and Said Ghalem .Molecular docking studies of catechol derivatives with Catechol-O-Methyltransferase receptor for Antiparkinson Drug. *J. Chem. Chem. Eng.* 8 (2014) 978-984 .
49. W.Soufi, M.Merad, F.lebbad, F.Boukli,S.Ghalem .Study of monoamine oxidase by molecular modeling. *International Journal of Chemical and Environmental Engineering* . Vol 6, No. 2 (2015) 73-75.
50. Wassila Soufi, Meriem Merad, Fatima Lebbad,Said Ghalem and Faiza Boukli. Study of the interaction of the monoamine oxidase-B with a series of coumarin by molecular modeling methods. *Asian Journal of Chemistry*.Vol 28,No.3(2016), 634-638.
51. Xia R, Mao ZH. Progression of motor symptoms in Parkinson's disease. *Neuroscience Bulletin*, 2012, 28, 39-48.
52. Chikhi A. Calculs et modélisations des interactions peptide déformylase – Substances antibactériennes à l'aide de techniques de "docking" (arrimage) moléculaire. Thèse de doctorat d'université: Biochimie appliquée. Constantine : Université Mentouri de Constantine. Algérie, 2007, 90p.
53. De Oliveira E. B. Simulation moléculaire appliquée à l'acétylation de flavonoïdes catalysés par des lipases : Influence des structures de la lipase et des flavonoïdes sur la régiosélectivité de la bioconversion. Thèse de doctorat d'université: Procédés biotechnologiques et alimentaires. Nancy Institut National Polytechnique de Lorraine. France, 2009, 187 p.

---

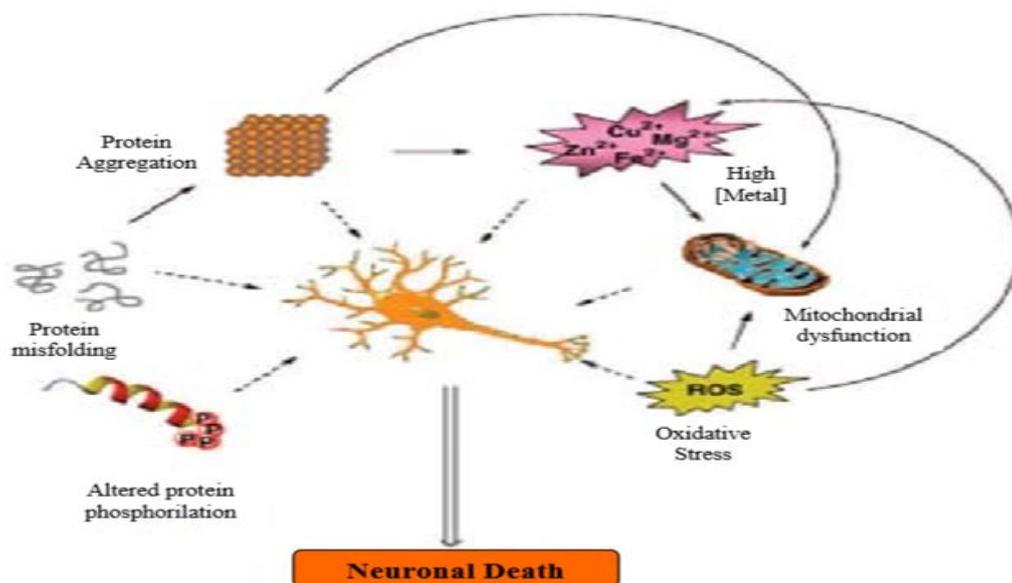
# **Chapitre I :**

*La Maladie de Parkinson*

## LA MALADIE DE PARKINSON

### I-1- Généralités sur la maladie de Parkinson

Les maladies neurodégénératives, l'une des questions qui ne pouvaient pas être claire par la science médicale, impliquent de nombreuses situations négatives résultant de la destruction des neurones dans le système nerveux central et en particulier de leurs dysfonctionnements chroniques, défauts mitochondriaux, l'agrégation des protéines, la forte concentration de métal et le stress oxydatif sont connus comme les raisons les plus importantes pour la mort et la destruction des neurones (Figure 1)[1].



**Figure1:** Eléments entraînant la mort des neurones et les mécanismes

d'impression générales [1].

De nombreux troubles neurologiques tels que les maladies d'Alzheimer et de Parkinson sont connus comme les maladies les plus importantes parmi les troubles neurologiques qui sont communément observés chez les personnes âgées qui est révélé par les recherches de l'Institut des Maladies Neurodégénératives [2].

La MP est la deuxième maladie neurodégénérative la plus fréquente après la maladie d'Alzheimer, sa prévalence augmente avec l'âge et peut être estimée entre 3% et 5% de la

population après 70 ans [3]. Le pic d'incidence de la maladie se situe entre 70 et 80 ans. Les coûts directs et indirects de la maladie reviennent très coûteux et augmentent avec la durée d'évolution de la maladie [4-6]. La maladie a un fort impact sur la qualité de vie, en lien avec les signes moteurs et non-moteurs [4,7,8]. L'espérance de vie, lorsque la MP est correctement diagnostiquée et non confondue avec les autres syndromes parkinsoniens dégénératifs, est seulement modérément diminuée en comparaison de la population générale [9,10]. Les recommandations générales relatives au traitement de la MP rendent compte des résultats de nombreuses études contrôlées et reflètent donc une médecine fondée sur les preuves [11-13]. En revanche, la littérature concernant l'évaluation contrôlée des différents traitements de la MP dans le sous-groupe particulier des sujets âgés est extrêmement limitée, de sorte que les recommandations en la matière ne peuvent être faites que sur une base principalement empirique [14,15]. A partir des données existantes de la littérature et d'expériences cliniques, on peut proposer ici des éléments permettant de guider la prise en charge des sujets âgés atteints de MP.

## **I-2- Epidémiologie de la maladie de parkinson**

Dans le monde, la prévalence de cette maladie s'échelonne entre 0.1% et 0.2% environ de la population générale, avec une tendance à l'augmentation avec l'âge. A 60 ans, la prévalence est d'environ 1%, mais s'élève à plus de 4% à 80 ans. L'incidence de la MP s'élève à un million de nouveaux cas par année dans le monde (source : OMS).

- En Suisse, on pense que la maladie de Parkinson touche environ 15000 hommes et femme. Il faut noter que ces chiffres restent des approximations, dans la mesure où aucune étude épidémiologique ou statistique de la MP n'a jamais été effectuée en Suisse. La MP atteint 2 % de la population après 65 ans, soit environ 150 à 200 000 patients en France.

- En Algérie, 900.000 personnes souffrant de la MP, alors que l'incidence de l'épilepsie est de 1 à 2%. La MP touche légèrement plus les hommes que les femmes, et survient le plus souvent chez le sujet âgé, avec une apparition généralement entre 50 et 70 ans.

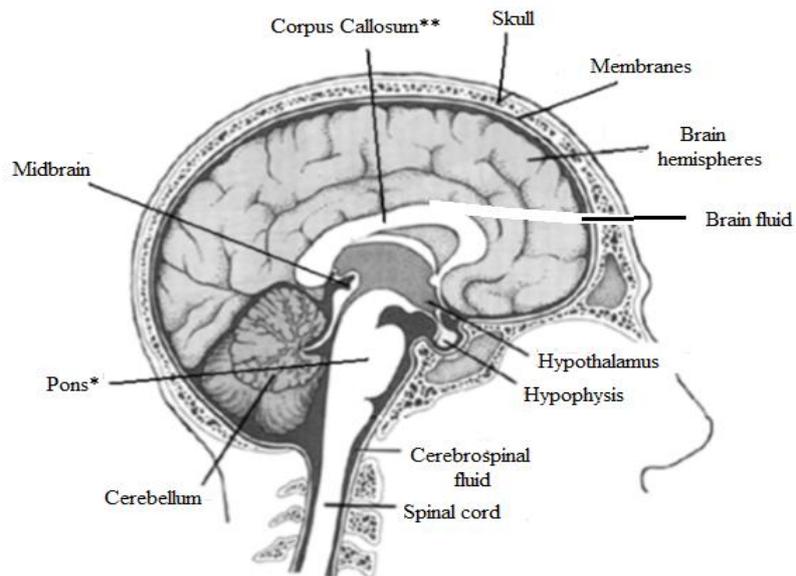
### **I-3. Histoire de la maladie de Parkinson**

La première description de la MP a été faite en 1817 par James Parkinson (figure 2) [16]. Il s'agit d'une maladie neurodégénérative extrêmement connue. Elle est caractérisée d'un point de vue neuropathologique principalement par la dégénérescence et la mort des neurones dopaminergiques de la substance noire (SNc) [17] et la présence d'inclusion intracellulaire contenant de l' $\alpha$ -synucléine appelée corps de Lewy (figure 3).



**Figure 2** : James Parkinson (1755- 1824),

Médecin anglais et géologue, paléontologue et activiste politique anglais, publie une description claire et détaillée de six patients présentant les symptômes de la maladie neurodégénérative caractérisée par la perte progressive de cellules nerveuses (neurones) qui porte maintenant son nom [18], et qu'il dénomme alors *paralysis agitans* (paralysie agitante) pour la première fois en 1817. Ce n'est que soixante ans plus tard qu'un neurologue français, Jean Martin Charcot, reconnut l'importance des travaux de James Parkinson et nomma ainsi cette affection : « Maladie de Parkinson » [19].



**Figure 3:** Des parties importantes de cerveau.

(\* Pons: masse composée de cellules et des fibres nerveuses du système nerveux central en face du cervelet \*\* corps calleux: Centre de contrôle généralement parésie de troubles physiques)[2].

Les autres raisons importantes de la maladie de Parkinson sont liée à d'autre facteurs:

- Diminution du niveau de dopamine dans le cerveau,
- Déséquilibre entre les neurotransmetteurs (acide gamma-aminobutyrique , l'acétylcholine, noradrénaline, la sérotonine),
- Formation de radicaux libres.

La maladie Parkinson atteint généralement des personnes âgés, actuellement il a été observé que cette maladie touche aussi les gens au-dessous de l'âge de 40 ans [20].

La MP et ses manifestations sont connues depuis longtemps. Elle était déjà référée au système médical indien antique de l'Ayurveda sous le nom de Kampavata. Elle était alors traitée par une plante, la mucuna pruriens (cf. illustration), aujourd'hui connue comme source de L-Dopa [21].

Mucuna pruriens Bak (Légumineuses) est communément connu par une multitude de noms communs, y compris fève de velours, cowitch, cowhage, Kawanch, kapikachu, Nescafé, mer bean. Elle est utilisée par l'Ayurveda (médecine traditionnelle de l'Inde). Les graines de Mucuna contiennent une forte concentration de L-Dopa, précurseur direct de la dopamine, un neurotransmetteur et a longtemps été utilisé dans l'Ayurveda pour le traitement du parkinsonisme ("Kampavata", Ayurveda) [22,23].



**Mucuna pruriens**

(image [http://www.metafro.be/prelude/prelude\\_pic/Mucuna\\_pruriens2.jpg](http://www.metafro.be/prelude/prelude_pic/Mucuna_pruriens2.jpg)).

---

## **I-4- Les symptômes de la maladie de Parkinson**

### ***I-4.1- La triade de symptômes moteurs***

La MP est caractérisée par une triade de symptômes moteurs comprenant les tremblements au repos, la bradykinésie et la rigidité musculaire. Un autre symptôme a été associé à cette maladie: l'instabilité posturale. Lorsque les symptômes moteurs sont visibles en clinique, plus de 80 % de la dopamine striatale est absente et 50 % des neurones de la substance noire ont déjà été détruits [24]. Les tremblements au repos sont l'un des symptômes moteurs les plus communs et les plus facilement identifiables de la MP.

Les tremblements peuvent également affecter les membres inférieurs, touchant davantage le pied ou les orteils, ou atteindre les lèvres, le menton ou la mâchoire [25]. Il est important de noter que les tremblements parkinsoniens apparaissent ou s'aggravent au repos et en situation de stress émotionnel et cessent totalement, la plupart du temps, dès l'initiation d'un mouvement ou même lorsque la décision de bouger est prise [26]. L'apparition des tremblements au repos est variable selon les patients et l'évolution de la maladie.

La bradykinésie, quant à elle, se définit comme étant la lenteur d'exécution d'un mouvement [25]. En temps normal, les mouvements sont fluides, sans effort apparent, car les muscles reçoivent les informations adéquates en provenance du cerveau. Par contre, chez les patients parkinsoniens, il y a une perte graduelle de la capacité à planifier, initier et exécuter des mouvements moteurs volontaires, témoignant de dysfonctions dans les circuits moteurs des ganglions de la base [25,26].

La rigidité musculaire, souvent appelée hypertonie, est la conséquence d'une insuffisance du relâchement musculaire. Les patients qui en sont atteints souffrent de raideurs, de tensions musculaires et d'engourdissements qui peuvent même devenir douloureux. Elle affecte principalement la colonne vertébrale, la racine des membres, le buste penché vers l'avant, le dos voûté, le regard dirigé vers les pieds, la nuque et les épaules, les bras collés au corps et les genoux fléchis (figure 4). La douleur aux épaules est l'une des premières et plus fréquentes manifestations de la MP, bien qu'elle soit souvent diagnostiquée, à tort, comme étant de l'arthrite ou une bursite [27]. Ils sont la conséquence d'une diminution de l'amplitude et de la cadence du pas [28]. Comme tous les autres symptômes moteurs de la MP, la rigidité musculaire est associée au stress émotionnel et s'accroît lors de la réalisation d'un mouvement.



**Figure 4:** Dessin Parkinson Disease par Sir William Richard Gowers- 1886

#### ***I-4.2- Symptômes non-moteurs***

Aux symptômes moteurs s'associe un vaste ensemble de symptômes dits « non-moteurs ». Ils sont polymorphes : cognitivo-psychiques, troubles du sommeil, dysautonomiques ou douloureux [29,30].

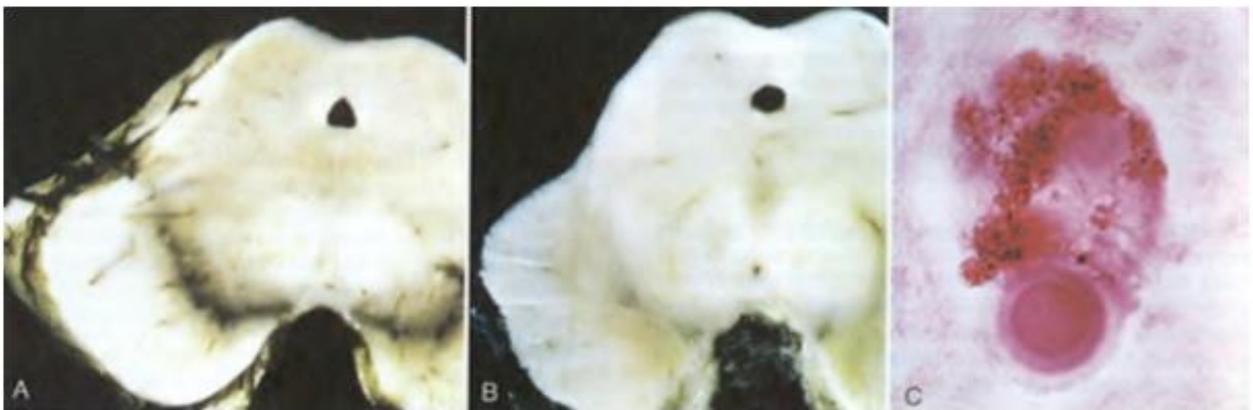
Leur fréquence augmente avec l'évolution naturelle de la maladie : de 21% initialement jusqu'à 88% des patients après sept ans d'évolution [31]. Leurs mécanismes physiopathologiques demeurent mal compris. L'hypothèse d'une progression des corps de Lewy vers les systèmes non dopaminergiques du système nerveux central est évoquée [32,33], C'est néanmoins dans le système nigro-striatal que les mécanismes de neurodégénération ont été le plus étudiés. La présence d'inclusions cytoplasmiques éosinophiles appelées corps de Lewy (figure 5) dans les neurones dopaminergiques de la substance noire mais aussi dans d'autres régions du cerveau est une autre caractéristique pathologique de la MP, de même que les neurites de Lewy [34]. Le noyau dense des corps de Lewy est composé de lipides et il est entouré d'éléments périphériques filamenteux qui

comprennent différentes protéines dont l'ubiquitine, le neurofilament, des éléments du protéasome et l' $\alpha$ -synucléine [35].



**Figure 5 :** Corps de Lewy

On remarque une dissémination des corps de Lewy dans diverses régions du cerveau , dont le noyau basal de Meynert, de manière importante , aboutissant finalement à un syndrome démentiel caractérisé par la perte de diverses fonctions cognitives (figure 6). Ce type de déficit est appelé démence à corps de Lewy, ou maladie à corps de Lewy.



**Figure 6 :** A : Substance noire normale. B : Substance noire dépigmentée dans la maladie de Parkinson. C : Corps de Lewy dans un neurone du locus niger [36].

#### ***1-4-2.a Symptômes non-moteurs - cognitivo-psychiques***

Les troubles cognitivo-psychiques sont fréquents chez les patients parkinsoniens : il s'agit de la dépression, mais également des troubles psychotiques, cognitifs et du contrôle des impulsions. La dépression, signe non-moteur la plus fréquente, touche ou touchera un patient sur deux avec un impact majeur sur la qualité de vie [32,37]. Elle peut être précoce voire

constituer le signe avant-coureur de la maladie. L'anxiété y est associée dans plus de 70% des cas, mais peut être isolée [38, 39].

Les troubles psychotiques présentés par certains patients sont regroupés sous le terme de «psychose associée à la MP». Selon les critères utilisés, on la retrouve chez 20 à 60% des patients. Elle est corrélée à la sévérité et à la durée d'évolution de la maladie [40]. Elle associe des illusions visuelles, des hallucinations, des impressions de présence ou un délire qui évoluent de manière chronique en dehors d'un état confusionnel [41]. Les hallucinations sont plus fréquentes chez les patients présentant une altération des fonctions cognitives et des troubles visuels perceptifs [42].

#### ***I-4-2.b. Symptômes non-moteurs - troubles du sommeil***

Des troubles du sommeil sont observés chez 88% des patients [43]. Ils peuvent précéder de plusieurs années la symptomatologie motrice [44]. Ils sont de nature diverse, allant de l'insomnie aux troubles du comportement en sommeil paradoxal avec disparition de l'atonie musculaire normalement présente. Sont également rapportés des syndromes des jambes sans repos, des attaques de sommeil [45] ou encore des syndromes d'apnées du sommeil [46]. Elle est multifactorielle [43], l'origine iatrogénique ne devant pas être sous-estimée, surtout chez les patients âgés traités par des doses élevées de L-dopa et présentant des troubles cognitifs [41]. Quelle que soit la nature des troubles du sommeil, ils altèrent la qualité de vie des patients [47].

#### ***I-4-2.c. Symptômes non-moteurs - dysautonomie***

Les troubles dysautonomiques sont les symptômes non-moteurs les plus fréquents [46]. Très variés, (**Tableau 1**) ils impactent la survie des patients [49]. Quant à l'hyposmie, elle est présente dans 90% des cas dès les premiers stades de la maladie [50].

**Tableau 1** : Symptômes dysautonomiques rencontrés dans la MP

<b>Cardiovasculaire</b>	<b>Respiratoires</b>	<b>Digestives</b>	<b>Urinaires</b>	<b>Autres</b>
<b>Palpitations</b>	Dyspnée	Dysphagie	Impériosité	Crise sudorale
<b>Oppression thoracique</b>	Stridor	Douleurs	Dysurie	Flou visuel
<b>Hypertension</b>	Toux sèche	abdominales	Pollakiurie	Trouble de
<b>Hypotension</b>		Pyrosis		l'accommodation
<b>Pâleur</b>		Nausées		Fringale
<b>Flush</b>		Hyper sialorrhée		
		Xérostomie		
		Ténesme		
		Flatulence		

***I-4-2.d. Symptômes non-moteurs – douleurs***

Un patient parkinsonien sur deux présente des douleurs chroniques [49].

Multifactorielles, elles peuvent être :

- musculo-squelettiques dans 70% des cas,
- dystoniques dans 40% des cas,
- radiculaires dans 20% des cas,
- liées à l'acathisie ,
- ou d'origine centrale [52]. Elles sont plus fréquentes dans les formes à début précoce, avec des complications motrices sévères et des symptômes dépressifs [53].

**I-5-Traitement actuel de la maladie de parkinson**

Depuis l'identification de la maladie en 1817 par James Parkinson, le traitement symptomatique a considérablement évolué, même s'il n'existe pas à l'heure actuelle de traitement curatif. L'avènement de la dopathérapie a remplacé les premiers traitements chirurgicaux lésionnels, avant que la chirurgie dorénavant fonctionnelle, via la stimulation

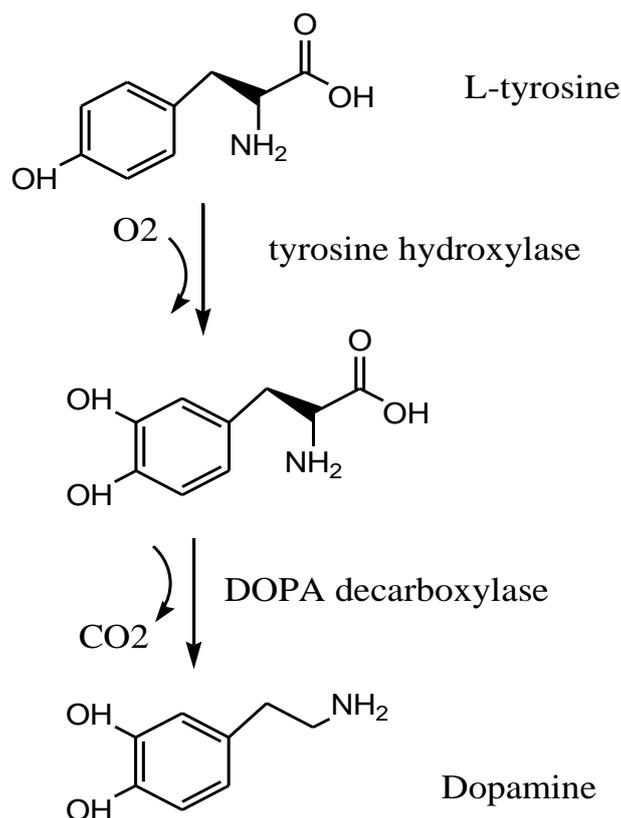
cérébrale profonde, ne vienne compléter l'arsenal thérapeutique.

### **I-5-1. La L-dopa**

La découverte de la L-dopa a ouvert la voie à d'autres classes thérapeutiques, dont les indications varient en fonction des situations, dans l'objectif d'une stimulation dopaminergique continue.

C'est en 1911 que le biochimiste américain Casimir Funk (1884-1967) synthétise pour la première fois de la L-dopa. Initialement considérée comme toxique, source de troubles digestifs sévères [54], elle fut redécouverte quarante ans plus tard par Arvid Carlsson (1923), qui étudiait un neuroleptique antipsychotique, la réserpine, à l'origine de syndromes parkinsoniens.

La L-dopa est la molécule la plus efficace dans la MP [55]. Elle a fait la preuve de son efficacité à long terme sur la triade symptomatique, à tel point que la sensibilité des symptômes à la dopathérapie constitue un critère de diagnostic positif. Différentes galéniques sont disponibles : libération immédiate, prolongée. Ses contre-indications principales sont l'infarctus du myocarde en phase aiguë et le syndrome occlusif. L'adjonction à la L-dopa d'un inhibiteur de la dopa-décarboxylase (benzérazide ou carbidopa) permet d'en minimiser les effets secondaires périphériques, notamment digestifs et tensionnels [56]. Les ICOMT peuvent être prescrits simultanément à la L-dopa pour augmenter la biodisponibilité de la dopamine et favoriser une stimulation dopaminergique cérébrale continue (Figure 7).



**Figure 7 :** Métabolisme de la L-dopa et de la dopamine, montrant les sites d'actions de drogues utilisées en association [56].

### I-5-2. Les agonistes dopaminergiques

Plusieurs options de traitements antiparkinsoniens sont devenues accessibles dans les dernières années, menant à l'amélioration du contrôle des mouvements moteurs dans les stades précoces et avancés de la maladie [57]. Bien que controversée, l'utilisation d'agonistes dopaminergiques, agissant directement sur les récepteurs, semble représenter une option thérapeutique intéressante pour le traitement symptomatique de la MP. Présentant généralement un temps de demi-vie plus long que la L-dopa, les agonistes dopaminergiques sont susceptibles de réduire, ou du moins retarder, le risque d'apparition des fluctuations motrices [58,59].

Les agonistes dopaminergiques à effets centraux provoquent tous l'apparition d'effets indésirables communs, dont les plus fréquents sont la somnolence et les troubles digestifs. Toutefois, la fréquence et l'intensité des effets secondaires diffèrent selon les produits et la

durée de traitement. Il n'y a pas de consensus à l'effet de déterminer si les agonistes dopaminergiques doivent être introduits au début de la maladie afin de retarder l'introduction de la L-dopa et l'apparition des effets secondaires [57] ou encore plus tard dans l'évolution de la maladie, lorsque l'efficacité de la L-dopa diminue.

### **I-5-3. Les anticholinergiques**

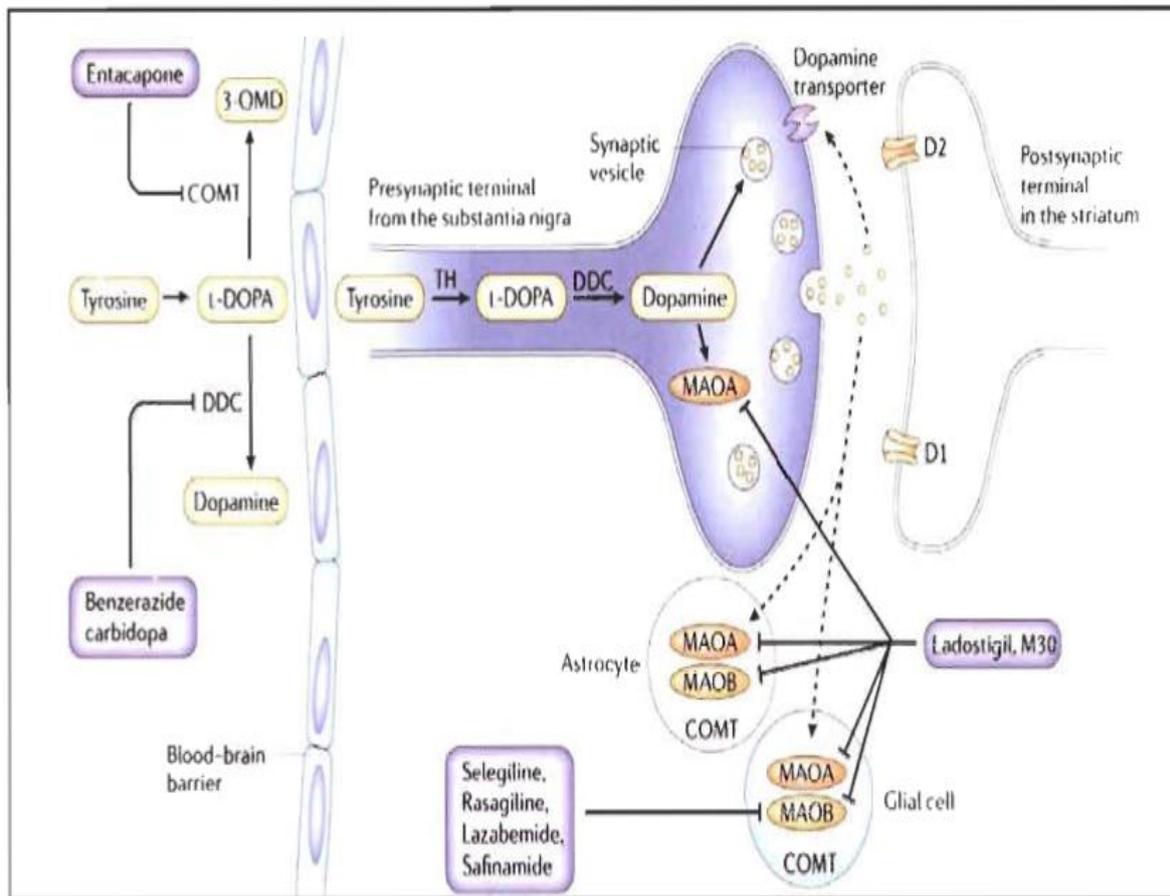
Les anticholinergiques sont plutôt réservés aux formes tremblantes du sujet jeune sans trouble cognitif. L'amantadine est, quant à elle, prescrite pour ses effets anti-dyskinésies dopa-induites. Les IMAO B ont une efficacité modérée sur la triade parkinsonienne et sont prescrits aux stades initiaux. Les principales drogues anticholinergiques utilisées sont le bentrupine, le trihexyphenidyl, l'orphenadrine et la procyclidine. Elles présenteraient une efficacité moyenne sur les tremblements parkinsoniens et leur utilisation est limitée par les effets secondaires importants qu'ils provoquent: le déclin des fonctions neuropsychiatriques et cognitives [60].

### **I-5-4. Les inhibiteurs de la monoamine oxydase**

La MAO est une enzyme mitochondriale catalysant la dégradation des monoamines et des catécholamines. Présente sous deux isoformes dans les tissus des mammifères, la MAO-A et la MAO-B jouent un rôle central dans la dégradation de la dopamine. Des études cliniques évaluant l'efficacité d'inhibiteurs non sélectifs des MAO ont révélé l'apparition de graves crises hypertensives [61] justifiant la mise au point d'inhibiteurs sélectifs de cette enzyme. Inhibant seulement l'isoforme B de la MAO, la sélégiline est l'inhibiteur le plus utilisé pour le traitement symptomatique de la maladie de Parkinson. Toutefois, la rasagiline et le lazabémide sont d'autres inhibiteurs de la MAO-B couramment utilisés. Le ladostigil, quant à lui, combine plusieurs effets thérapeutiques puisqu'en plus de démontrer des effets neuroprotecteurs [62], il possède des propriétés d'inhibiteur des MAO-A et MAO-B spécifiques du cerveau et également un effet inhibiteur de cholinestérase, ce qui expliquerait

son efficacité sur l'amélioration des performances motrices des patients parkinsoniens [63]

(Figure 8).



**Figure 8:** Représentation schématique du fonctionnement d'inhibiteurs de la MAO utilisés dans le traitement de la maladie de Parkinson [63].

## Références

1. Cavalli A, Bolognesi M. L, Minarini A, Rosini M, Tumiatti V, Recanatini M, Melchiorre C .Multi-Target-Directed Ligands to Combat Neurodegenerative Diseases. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2008, 51, 347-372.
2. Dilek yalçın . Inhibition of catechol-O- methyltransferase (COMT) enzyme activity by some plant-derived alkaloids and phenols. a thesis submitted to the graduate school of engineering and sciences of izmir institute of technology. december 2009 izmir.
3. Muangpaisan W, Mathews A, Hori H, Seidel D.A systematic review of the worldwide prevalence and incidence of Parkinson's disease. *J Med Assoc Thai*, 2011, 94,749–55
4. Dowding CH, Shenton CL, Salek SS. A review of the health-related quality of life and economic impact of Parkinson's disease. *Drugs Aging* ,2006; 23, 693–721.
5. Chen JJ. Parkinson's disease: health-related quality of life, economic cost, and implications of early treatment. *Am J Manag Care* 16 Suppl Implications , 2010, S87-93.
6. Kaltenboeck A, Johnson SJ, Davis MR, et al .Direct costs and survival of medicare beneficiaries with early and advanced parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* [Epub ahead of print] ,2011.
7. Gage H, Hendricks A, Zhang S, Kazis L . The relative health related quality of life of veterans with Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* ,2003,74,163–9.
8. Soh SE, Morris ME, McGinley JL . Determinants of health- related quality of life in Parkinson's disease: a systematic review. *Parkinsonism Relat Disord*, 2011,17,1–9.
9. Posada IJ, Benito-León J, Louis ED, et al . Mortality from Parkinson's disease : a population-based prospective study (NEDICES). *Mov Disord*, 2011, 26, 2522–9.
10. Fall PA, Saleh A, Fredrickson M, et al . Survival time, mortality, and cause of death in elderly patients with Parkinson's disease: a 9-year follow-up. *Mov Disord* ,2003, 18, 1312–6.

11. Goetz CG, Poewe W, Rascol O, Sampaio C. Evidence-based medical review update: pharmacological and surgical treatments of Parkinson's disease, 2005, 20, 523–39.
12. Fox SH, Katzenschlager R, Lim SY, et al. The Movement Disorder Society Evidence-Based Medicine Review Update: Treatments for the motor symptoms of Parkinson's disease. *Mov Disord*, 2011, 3, S2–41.
13. Seppi K, Weintraub D, Coelho M, et al. The Movement Disorder Society Evidence-Based Medicine Review Update: Treatments for the non-motor symptoms of Parkinson's disease. *Mov Disord*, 2011, 3, S42–80.
14. Jégo M, Viallet F. Maladie de Parkinson du sujet âgé : prise en charge thérapeutique : médicaments à prescrire, médicaments à éviter. *Rev Geriatr*, 2009, 34, 8–11.
15. Geny C. Spécificités gériatriques de la maladie de Parkinson. *Rev Geriatr*, 2009, 34, 4–7.
16. Parkinson J. : An essay on the shaking palsy. 1817. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci Spring*, 2002, 14, 223-36.
17. Lees AJ, Hardy J, Revesz . Parkinson's disease. *Lancet*, 2009, 373, 2055–66.
18. Lees AJ. Unresolved issues relating to the shaking palsy on the celebration of James Parkinson's 250th birthday . *Mov Disord*, 2007, 17, S327-34.
19. Antoine-Flavien, Eger, Christophe, Gaudet-Blavignac, Arthur, Hammer. Thèse de doctorat: La Maladie de Parkinson, 2009.
20. Houghton P. J, Houghton Howes M. J. Natural Products and Derivatives Affecting Neurotransmission Relevant to Alzheimer's and Parkinson's Disease. *Neurosignals*, 2005, 14, 6-22.
21. Katzenschlager R. et al. Mucuna pruriens in Parkinson's disease: a double blind clinical and pharmacological study. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 2004, 75, 1672-1677.
22. Katzenschlager R et al., *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2004; 75(12): pp 1672-1677.
23. Nagashayana N et al., *J Neurol Sci*. 2000; 176(2) pp 124-127.

24. Ahlskog, J. E, Muenter, M. D. Frequency of levodopa-related dyskinesias and motor fluctuations as estimated from the cumulative literature. *Mov Disord*, 2001, 16, 448-58.
25. Jankovic, J. Levodopa strengths and weaknesses. *Neurology*, 2002, 58, S19-32.
26. Pollak, P. *La maladie de Parkinson*. Éditions Odile Jacob, Paris, 2004, 29-67.
- Polymeropoulos, M. H. "Genetics of Parkinson's disease", *Ann N Y Acad Sci* , 2000 ,920, 28-32.
27. Stamey, W, Davidson, A and Jankovic, J. Shoulder pain: a presenting symptom of Parkinson disease. *J Clin Rheumatol*, 2008, 14, 253-4.
28. Moreau C. Cantiniaux S, et al .Les troubles de la marche dans la maladie de parkinson : problématique clinique et physiopathologique *Revue Neurologique*, 2010, 2, 158-167.
29. Gallagher DA, Lees AJ, et al. What are the most important nonmotor symptoms in patients with Parkinson's disease and are we missing them?. *Movement Disorders*, 2010, 15, 2493-500.
30. Martinez-Martin P, Rodriguez-Blazquez C, et al. The impact of non-motor symptoms on health-related quality of life of patients with Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 2011, 3, 399 - 406.
31. O'Sullivan SS, Williams DR, et al. Nonmotor symptoms as presenting complaints in Parkinson's disease: a clinicopathological study. *Mov. Disord*, 2008, 1, 101-106.
32. Chaudhuri KR, Healy DG, et al. Non-motor symptoms of Parkinson's disease: diagnosis and management. *The Lancet Neurology*, 2006, 3, 235-245.
33. Kempster PA, O'Sullivan SS, et al. Relationships between age and late progression of Parkinson's disease: a clinico-pathological study. *Brain*, 2010, 6, 1755-1762.
34. Kramer, M.L. & Schulz-Schaeffer, W.J. Presynaptic alpha-synuclein aggregates, not Lewy bodies, cause neurodegeneration in dementia with Lewy bodies. *J. Neurosci*, 2007, 27, 1405- 1410.

35. Zhang, Y, Dawson, V.L, & Dawson, T.M. Oxidative stress and genetics in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Neurobiol. Dis*, 2000, 7, 240-250.
36. Kumar V, Abbas A.K, Fausto N, Robbins and Cotran. *Pathologic basis of disease*, Philadelphia, W.B. Saunders, 7th ed, 2004.
37. Factors impacting on quality of life in Parkinson's disease: Results from an international survey. *Movement Disorders*, 2002, 1, 60-7.
38. Walsh K, Bennett G. Parkinson's disease and anxiety. *Postgrad Med J*, 2001, 77, 89- 93.
39. Witjas T, Kaphan E, et al. Nonmotor fluctuations in Parkinson's disease Frequent and disabling. *Neurology*, 2002, 3, 408-13.
40. Fenelon G, Goetz CG, and al. Hallucinations in Parkinson disease in the prelevodopa. *Neurology*, 2006, 1, 93 -98.
41. Bonnet AM, Jutras MF, and al. Nonmotor Symptoms in Parkinson's Disease in 2012 : Relevant Clinical Aspects. Hindawi publishing corporation, 2012.
42. Diederich N, Goetz CG, and al. Repeated visual hallucinations in Parkinson's disease as disturbed external/internal perceptions: Focused review and a new integrative model. *Movement Disorders*, 2005, 2, 130-40.
43. Menza M, Dobkin RD, and al. Sleep disturbances in Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 2010, 25, S117-S122.
44. Postuma RB., Lang AE., and al. How does parkinsonism start? Prodromal parkinsonism motor changes in idiopathic REM sleep behavior disorder. *Brain*, 2012, 6, 1860-1870.
45. Ferreira J, Galitzky M, and al. Sleep attacks and Parkinson's disease treatment. *The Lancet*, 2000, 9212, 1333-1334.
46. Diederich NJ, Vaillant M, and al. Sleep apnea syndrome in Parkinson's disease. A case-control study in 49 patients. *Movement disorders*, 2005, 11, 1413-8.

47. Santamaria J. How to evaluate excessive daytime sleepiness in Parkinson's disease. *Neurology*, 2004, 3, S21-S23.
48. Khoo TK, Yarnall AJ, and al. The spectrum of no motor symptoms in early Parkinson disease. *Neurology*, 2013, 3, 276-81.
49. Stubendorff K, Aarsland D, and al. The Impact of Autonomic Dysfunction on Survival in Patients with Dementia with Lewy Bodies and Parkinson's Disease with Dementia. *Plos one*, 2012, 10, 45451.
50. Doty RL. Olfactory dysfunction in Parkinson disease. *Nat Rev Neurol*, 2012, 6, 329-339.
51. Borsook D. Neurological diseases and pain. *Brain*, 2012, 2, 320-344.
52. Beiske AG, Loge JH, and al. Pain in Parkinson's disease: prevalence and characteristics. *Pain*, 2009, 1-2, 173-7.
53. Nègre-Pagès L, Rezagui W, and al. Chronic pain in Parkinson's disease: The crosssectional French DoPaMiP survey. *Movement Disorders*, 2008, 10, 1361-9.
54. Abbott A. Levodopa: the story so far. *Nature*, 2010, 7310, S6-S7.
55. Ferreira JJ, Katzenschlager R, et al. Summary of the recommendations of the EFNS/MDS-ES review on therapeutic management of Parkinson's disease. *European Journal of Neurology*, 2013, 1, 5-15.
56. Lewitt PA. Levodopa for the Treatment of Parkinson's Disease. *New England Journal of Medicine*, 2008, 23, 2468-2476.
57. Antonini A and Barone P. Dopamine agonist-based strategies in the treatment of Parkinson's disease. *Neurol Sei*, 2008, 5, S371-4.
58. Whone A. L, Watts R. L, Stoessl A. J, Davis M, Reske S, Nahmias C, Lang A. E, Rascol O, Ribeiro M, Remy P, Poewe W. H, Hauser R. A. and Brooks D. J. Slower progression of Parkinson's disease with ropinirole versus levodopa: The REAL-PET study. *Ann Neurol*, 2003, 54, 93-101.

59. Suchowersky O, Reich S, Perlmutter J, Zesiewicz T, Gronseth G. and Weiner W. J. Practice Parameter: diagnosis and prognosis of new onset Parkinson disease (an evidence-based review): report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*, 2006, 66, 968-75.
60. Yuan H, Zhang ZW, Liang LW, Shen Q, Wang XD, Ren SM, Ma HJ, Jiao SJ, Liu P. Treatment strategies for Parkinson's disease. *Neurosci Bull*, 2010, 1 ,66-76.
61. Yamada M, and Yasuhara H. Clinical pharmacology of MAO inhibitors: safety and future. *Neurotoxicology*, 2004, 25, 215-21.
62. Bar-Am O, Weinreb O, Amit T, and Youdim M. B. The novel cholinesterase-monoamine oxidase inhibitor and antioxidant, ladostigil, confers neuroprotection in neuroblastoma cells and aged rats. *J Mol Neurosci*, 2009, 37, 135-45.
63. Youdim M. B, Edmondson D, and Tipton K. F. The therapeutic potential of monoamine oxidase inhibitors. *Nat Rev Neurosci*, 2006, 7, 295-309.

---

# **Chapitre II :**

## Méthodes de Modélisation Moléculaire

## METHODES DE MODELISATION MOLECULAIRE

### II-1.Introduction

La modélisation moléculaire est le terme générique regroupant les méthodes qui permettent de simuler le comportement d'un système de particules, elle exploite des lois de la chimie, de la physique et de la biologie dans des programmes informatiques spécifiques afin de calculer structures et propriétés d'entités chimiques et biochimiques (protéines, acides nucléiques, complexes moléculaires, solides, cristaux etc.) [1]. La modélisation moléculaire a pour but de prévoir la structure et la réactivité des molécules ou des systèmes de molécules [2].

La modélisation moléculaire met en jeu des méthodes de calcul théorique dont les principales font appel à la mécanique moléculaire, la dynamique moléculaire et à la mécanique quantique afin de déterminer la géométrie des atomes d'une molécule ainsi que ses propriétés physicochimiques [3-5].

L'interprétation est facilitée par de nombreux outils de représentation graphique et permet ainsi d'analyser les résultats sous un jour différent de celui de la voie expérimentale, qui demeure néanmoins complémentaire. Ainsi, la modélisation moléculaire trouve de nos jours en effet, les structures tridimensionnelles de ces biomolécules sont le point de départ pour des simulations visant à comprendre leurs interactions, entre elles ou avec des petites molécules, ce qui est à la base d'un grand nombre de phénomènes chimiques, biologiques et biochimiques [6]. Ainsi, la modélisation moléculaire trouve de nos jours d'importantes applications, parmi lesquelles trois exemples classiques sont :

- ✓ L'Étude des propriétés des matériaux : à partir de simulations moléculaires, un lien peut être établi entre les résultats de calculs menés à l'échelle microscopique (sur un échantillon représentatif d'atomes en interaction) et des propriétés mesurables à l'échelle macroscopique (sur les systèmes matériels réels que l'on souhaite maîtriser). Ainsi, peuvent

être étudiées les propriétés mécaniques des polymères, les propriétés électroniques de solides cristallins ou encore les propriétés thermodynamiques et spectroscopiques d'une large gamme de composés d'intérêt scientifique et technologique [7].

- ✓ Le développement de nouveaux médicaments : le mécanisme d'action de nombreux médicaments consiste à agir comme inhibiteur (ligand) d'une enzyme (récepteur) impliquée dans le développement de la maladie, que ce soit une protéine d'un microorganisme pathogène ou d'un organisme humain. L'élucidation de la structure tridimensionnelle de protéines impliquées dans plusieurs pathologies a permis, via des simulations informatiques, la découverte d'inhibiteurs puissants pour ces protéines, en réduisant considérablement le nombre d'essais de screening nécessaires pour aboutir à un nouveau médicament [8].
- ✓ La rationalisation de l'ingénierie enzymatique : le fondement est le même que celui du développement de médicaments : en permettant d'étudier les interactions entre les substrats (ligand) et les enzymes (récepteurs), la modélisation moléculaire apporte une meilleure compréhension de la sélectivité enzymatique, au niveau moléculaire. Ceci peut rendre possible, par la suite, le développement d'approches prédictives pour la sélectivité des enzymes natives vis-à-vis d'un substrat ou d'une classe de substrats donnée [9,10], ou encore, d'identifier des acides aminés dont la mutation ponctuelle permettrait de modifier la sélectivité ou la spécificité enzymatiques [11,12].

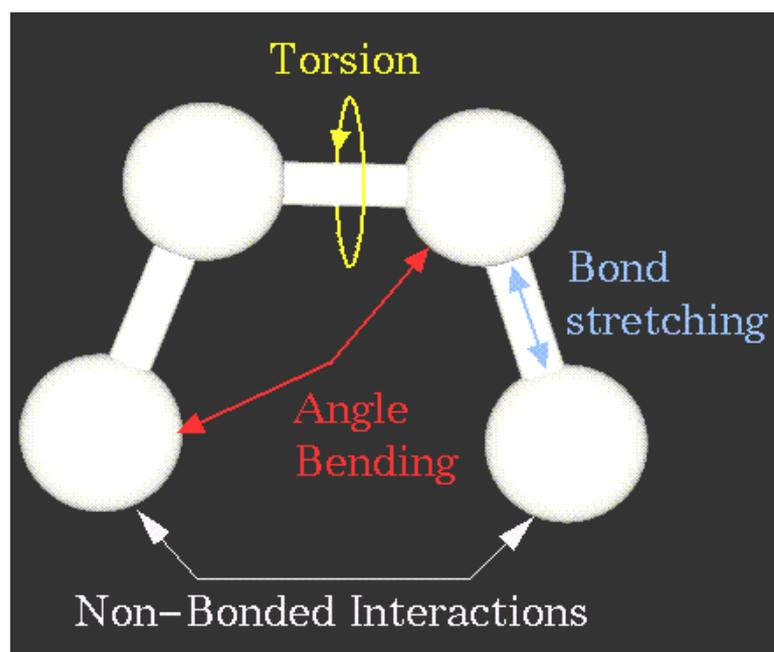
## **II-2. La mécanique moléculaire**

### **II-2.1. Principes théoriques:**

Les méthodes de mécanique moléculaire (MM) utilisent les lois de la physique classique pour la prédiction des structures et de leurs propriétés, comme l'énergie. Au même titre que les méthodes de mécanique quantique est un outil puissant utilisé pour mieux comprendre les petits systèmes moléculaires et pour répondre à certaines questions concernant

la structure électronique de molécules. D'autre part, la mécanique moléculaire décrit les molécules en fonction de leurs noyaux et non pas de leurs électrons, elle définit une fonction purement empirique prenant pour variable, les positions des noyaux et impliquant de manière implicite la présence des électrons.

La mécanique moléculaire (Figure 1) considère une molécule comme une série de masses (les atomes) reliés entre eux par des ressorts (liaisons chimiques). En fonction des interactions entre les masses, des déformations structurales peuvent avoir lieu. Plus particulièrement, pour l'ensemble des méthodes, la fonction d'énergie est généralement décrite en termes internes reliés directement aux liaisons covalentes des atomes (interactions liantes) et en termes externes traduisant les interactions entre atomes non liés de manière covalente (interactions non liantes) [13].



**Figure 1:** Mécanique moléculaire

## II-2.2- Modélisation par champs de force

Dans l'expression fonctionnelle des champs de forces classiques, l'énergie potentielle totale du système ( $E_{\text{tot}}$ ) est exprimée comme étant la somme des contributions énergétiques des termes liés et de celles des termes non liés [14] :

$$E_{\text{Total}} = E_{\text{stretch}} + E_{\text{bend}} + E_{\text{tors}} + E_{\text{Van der Waals}} + E_{\text{electro}} + \dots$$



$E_{\text{atomes-liés}}$

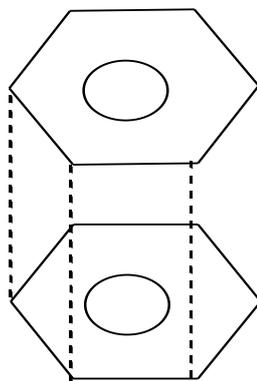


$E_{\text{atomes-non-liés}}$

Les interactions intramoléculaires ne dépendent que des coordonnées internes des molécules c'est-à-dire des liaisons, des angles de valence, et de torsions ( $E_{\text{atomes-liés}}$ ).

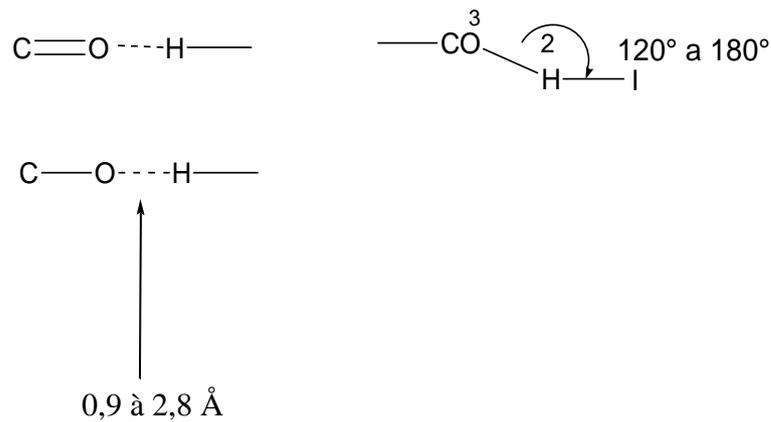
Les interactions intermoléculaires prennent en compte les interactions qui n'interagissent pas par des termes de liaison, d'angle de valence et d'angle de torsion. Le potentiel non liant s'exprime en trois termes : un terme de Van der Waals, terme d'énergie électrostatique et un terme des liaisons hydrogène ( $E_{\text{atomes-non-liés}}$ )[15].

Les interactions de Van Der Waals sont des dipôles non permanents de faible rayon d'action (figure 2). Elles sont nombreuses et contribuent essentiellement dans la recherche de la concordance stérique entre le ligand et la protéine réceptrice.



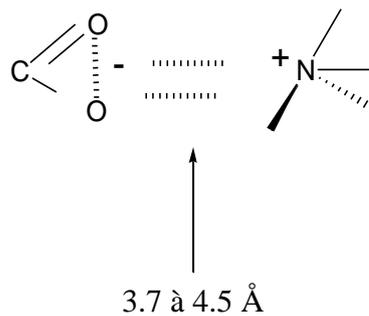
**Figure 2:** Interactions de Van Der Waals

Les ponts hydrogène avec une force de l'ordre de 2 à 4 Kcal/mol agissent, dans les systèmes biologiques, à très courte distance (0,9 à 2,8 Å) entre un H lié à un O ou un N avec un O ou un N (Figure 3). Ils sont peu nombreux et s'adaptent très bien à la flexibilité (l'angle peut varier de 120° à 180°).



**Figure 3 :** ponts hydrogène

Les interactions électrostatiques agissent à plus grande distance entre dipôles chargés. La distance pour une liaison saline, par exemple, est de 3,7 à 4,5 Å (Figure 4), et sa force est de l'ordre de 8 Kcal/mol. En présence de solvant, ces interactions sont favorisées du fait de la polarité et de la petite taille de la molécule d'eau.



**Figure 4:** Interaction électrostatiques

On appelle champ de force le modèle mathématique représentant l'énergie potentielle d'une molécule en mécanique moléculaire. Sous ce terme sont en fait regroupés deux éléments:

- d'une part l'expression des différentes fonctions contribuant au calcul énergétique .
- d'autre part les valeurs des différentes constantes paramétrant ces fonctions.

Ce potentiel empirique est constitué de deux parties représentant les interactions entre atomes non liés (électrostatique et Lennard-Jones) et les interactions entre atomes liés (représentation harmonique des déformations des liaisons, des angles de valence et des barrières énergétiques des angles de torsion propres et impropres) [16].

Il existe de nombreux champs de force avec des versions successives et de nombreuses manières de définir l'énergie potentielle. Parmi les champs de forces le plus connus, figurent :

- ✓ MMFF (*Merck Molecular Force Field*),
- ✓ CFF (*Conformément Field Force*) et
- ✓ CVFF (*Consistent Valence Force Field*), utilisés dans le traitement de petites molécules organiques et de biomolécules, et
- ✓ GROMOS (*Groningen molecular Simulation Program Package*) [16],
- ✓ AMBER (*Assisted Model Building with Energy Refinement*) [18] et
- ✓ CHARMM (*chemistry at harvard using molecular mechanics*) [19,20], spécialisés dans le traitement de molécules biologiques, telles que les acides nucléiques et les protéines [21].

### II-3. Les simulations de dynamique moléculaire

#### II-3.1. Principes théoriques

La dynamique moléculaire est une approche de simulation qui prend en compte les interactions entre atomes et molécules pendant une période de temps, à une certaine température, permettant ainsi une évaluation des mouvements atomiques [22]. On se trouve alors en présence d'un assemblage de masses, de ressorts et de vitesses et donc le problème peut être résolu en intégrant la seconde équation de mouvement de Newton.

$$\vec{F}_i = m_i \vec{a}_i = m_i \frac{d^2 \vec{r}_i(t)}{dt^2}$$

$\vec{F}_i$  : Vecteur force agissant sur l'atome i.

$m_i$  : Masse de l'atome i.

$\vec{a}_i$  : Vecteur accélération de l'atome i.

$\vec{r}_i$  : La position de l'atome i.

Les vitesses sont appliquées de façon aléatoire sur les atomes (sphères) selon la

température choisie pour l'expérience. En utilisant la DM, on peut étudier la flexibilité ou la rigidité des biomolécules, mesurer les interactions intermoléculaires entre la protéine et les ligands ou d'autres biomolécules, calculer l'énergie libre ou bien étudier l'effet du solvant sur la structure des biomolécules. Parmi les algorithmes intégrateurs les plus souvent implémentés dans les logiciels se trouvent les algorithmes de Verlet et de Verlet-Leapfrog [23].

### II-3.2. Calcul de dynamique moléculaire

Une simulation de dynamique moléculaire se réalise généralement en quatre étapes :

- 1- Une étape de minimisation de la structure initiale destinée à éliminer les contacts stériques.
- 2- Une étape dite de thermalisation au cours de laquelle les vitesses des atomes sont augmentées progressivement afin d'atteindre la température finale choisie.
- 3- Une étape d'équilibration pendant laquelle les vitesses ne sont plus modifiées. L'énergie cinétique se répartit sur toute la molécule afin d'atteindre son état d'équilibre.
- 4- Enfin, pendant la dernière étape, appelée dynamique productive, les coordonnées et les vitesses sont sauvegardées pour une analyse de la dynamique.

Deux points importants doivent être pris en compte:

La température d'une molécule ou agitation thermique correspond en réalité à l'énergie cinétique des atomes de la molécule puisque :

$$E_{\text{cinétique}} = \frac{1}{2} \sum m_i v_i^2 = \frac{3}{2} N K_b T$$

Ou :

$v_i^2$  : Valeur de la moyenne carrée de la vitesse.

N : Nombre d'atomes du système.

$K_b$  : Constante de Boltzmann.

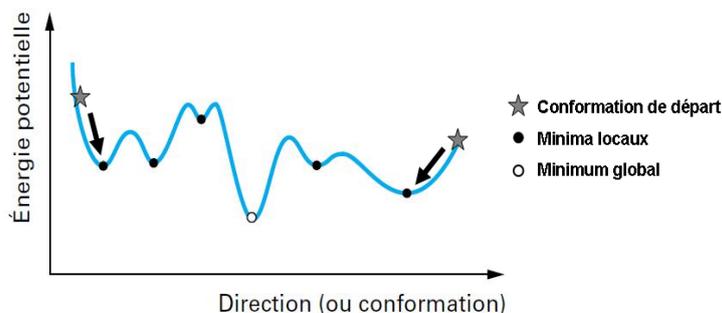
T : Température absolue.

## II-4. Minimisation d'énergie (optimisation de géométrie)

Une simulation typique de mécanique moléculaire est la minimisation d'énergie, le but étant de trouver une conformation de faible énergie d'une molécule ou d'un système moléculaire. La fonction d'énergie potentielle  $E$ , possède  $3N$  variables ( $N$  = nombre d'atomes du système étudié). C'est cette fonction objective  $E(\mathbf{r}_i)$  qu'il faut minimiser, où  $\mathbf{r}_i = (x_i, y_i, z_i)$  représente les coordonnées de chaque atome  $i$  du système. Formellement, la minimisation de l'énergie potentielle d'un système moléculaire consiste donc à résoudre un problème d'optimisation à plusieurs variables indépendantes : à partir des coordonnées cartésiennes des atomes dans la structure initiale  $(x_i, y_i, z_i)$ , on recherche un nouveau jeu de coordonnées optimisées  $(x^*_i, y^*_i, z^*_i)$  qui réduit à son minimum l'énergie du système,  $E(x^*_i, y^*_i, z^*_i)$ . Pour cette raison, la minimisation d'énergie est aussi appelée optimisation de géométrie, les deux phénomènes étant indissociables. Le principe consiste à prendre la dérivée première de l'énergie  $E$  par rapport à chacun des degrés de liberté du système et à trouver l'endroit sur son hypersurface énergétique où, pour chaque coordonnée :

$$\frac{\partial E}{\partial \mathbf{r}_i} = \mathbf{0}$$

Les algorithmes numériques qui exécutent cette tâche sont itératifs et ont, au moins, un point en commun : on commence en un endroit donné de l'hypersurface et on descend vers le minimum le plus proche, sans savoir si ce minimum est local ou absolu (Figure 5).



**Figure 5:** Représentation schématique du principe d'une minimisation d'énergie « statique »

: à partir d'un ensemble de coordonnées atomiques (conformation) de départ, l'algorithme retrouve le minimum local de la fonction d'énergie le plus proche, ainsi que la nouvelle conformation correspondant à ce minimum.

Les procédures sont de deux types : les unes utilisent uniquement la pente de la surface (dérivée première), comme les algorithmes Steepest Descent (SD) et les Conjugate Gradients (CG) ; les autres, utilisent à la fois cette pente et la courbure de la surface (les dérivées première et seconde), comme l'algorithme Adopted-basis Newton-Raphson (ABNR) [24,25]. Il est important de noter que, étant donné le nombre important de variables de la fonction d'énergie  $E(x_i, y_i, z_i)$ , celle-ci présente, généralement, plusieurs minima et maxima. Ces algorithmes de minimisation ne permettent de trouver que le minimum local le plus proche de la configuration de départ, sans franchir les barrières énergétiques.

## **II-5. Les simulations de docking**

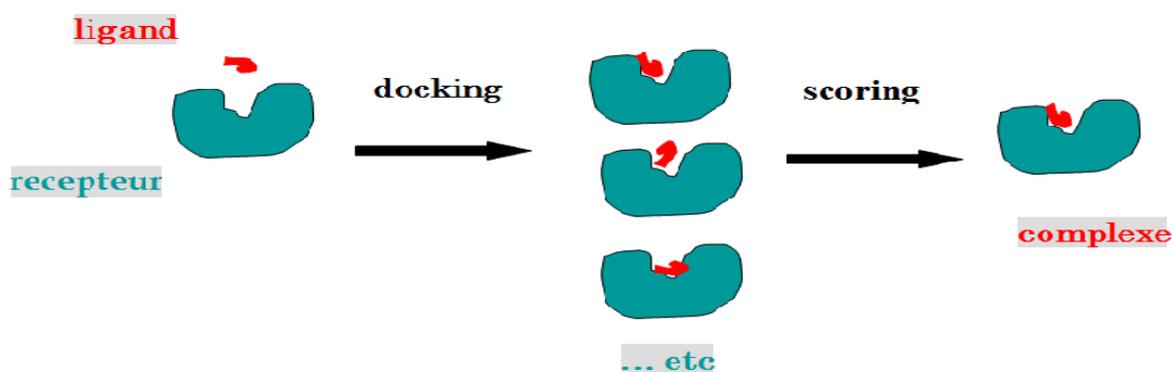
### **II-5.1. Principes théoriques**

Docking moléculaire vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules isolées, dans lesquelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interaction entre deux molécules. Les logiciels de docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique. Le récepteur macromoléculaire étant le plus souvent une protéine, le terme docking seul est couramment employé pour désigner un « docking protéine-ligand » [26].

Le docking moléculaire a pour but de déterminer le mode d'interaction d'un complexe formé de deux ou plusieurs molécules, en cherchant des orientations dans l'espace et des conformations favorables pour la fixation d'un ligand à un récepteur [27].

Une simulation de docking comprend essentiellement deux étapes : le docking proprement dit et le scoring (figure 6).

- La première (le 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, en ne retenant que celle qui représentent les modes d'interactions les plus favorables.
- La deuxième (le 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 [26].



**Figure 6** : Principe général d'un programme de docking

## II-5.2. Algorithmes de docking

En principe, un docking peut être fait de façon « manuelle », directement par le modélisateur, en plaçant le ligand dans le site actif de la protéine à l'aide d'une interface graphique. Ensuite, la géométrie de l'ensemble est optimisée de manière à corriger les problèmes stériques et obtenir un complexe énergétiquement stable. Cette approche est appliquée quand on a une idée précise du mode d'interaction réel du ligand [28]. Néanmoins, le plus souvent, le mode d'interaction réel n'est pas connu. Dans ce cas, tester manuellement toutes les conformations et orientations des ligands s'avère impossible d'un point de vue pratique, même en considérant la protéine comme un corps rigide. Pour contourner cette difficulté, les algorithmes de docking ont été conçus pour rechercher de façon objective, rapide et efficace les modes d'association protéine-ligand les plus favorables [29].

Les algorithmes de docking peuvent être séparés en deux grandes classes : ceux qui ne tiennent pas compte de la flexibilité de la protéine, en traitant celle-ci comme un corps rigide, et ceux qui sont capables de prendre en compte, partiellement la flexibilité du récepteur.

- ✓ Dans les procédures de docking considérant la protéine comme un corps rigide, la flexibilité du ligand seule est prise en compte pour l'obtention de complexes. Selon la méthode utilisée pour générer les conformères du ligand et les placer dans la cavité catalytique du récepteur, les algorithmes peuvent être sous-divisés en algorithmes de simulation de MM et DM [27-30], de forme, systématiques et stochastiques. Plusieurs articles de revue décrivant le principe, les points forts et les limitations de ces méthodes sont disponibles [31-34]. Toutefois, cette classification doit être considérée avec précaution, puisque un bon nombre d'algorithmes combinent plus d'une méthode pour la génération et l'échantillonnage de conformères du ligand. Dans la plupart des cas, l'utilisation d'algorithmes considérant la protéine comme un corps rigide mène à de bons résultats, principalement quand la protéine a une flexibilité limitée. En effet, dans de tels cas, la structure cristallographique peut être considérée comme plus représentative de l'état de la protéine dans son environnement naturel, ce qui augmente les chances de simuler correctement la complexation des ligands [35-37].
- ✓ Certaines protéines présentent naturellement des régions de grande flexibilité, subissant des réarrangements considérables en présence d'un ligand. Dans ce cas, négliger la flexibilité de la protéine peut mettre en péril la fiabilité des résultats de docking, et rend nécessaire l'utilisation d'approches capables de tenir compte de la flexibilité du système entier [35,36]. Des méthodes indirectes ou directes, où la flexibilité de la protéine est partiellement ou totalement prise en compte, sont décrites dans la littérature. Néanmoins, ces méthodes ne sont pas souvent utilisées car le gain en précision par rapport aux

algorithmes traditionnels est généralement trop petit par rapport à l'augmentation du temps de simulation [37-40]

### II-5-3. Fonctions de score

La procédure de docking permet de générer une liste de complexes représentant les modes d'association favorables entre le ligand et le récepteur macromoléculaire. L'étape suivante consiste à évaluer ces complexes, afin de trouver celui ou ceux les plus susceptibles de reproduire au mieux le mode d'association réel. L'association entre protéines et ligands est gouvernée par plusieurs paramètres thermodynamiques : les interactions hydrophobes, les interactions électrostatiques, les liaisons hydrogène, les effets de solvation et les effets d'entropie. Théoriquement, le complexe est favorable si la variation d'énergie libre globale de complexation est négative ( $G_{\text{complexation}} < 0$ ).

En pratique, l'évaluation de l'énergie libre des complexes est une tâche souvent coûteuse d'un point de vue informatique, ce qui limite son utilisation en routine [41]. De ce fait, des méthodes approximatives ont été développées pour distinguer (évaluer et classifier) les meilleurs complexes parmi ceux générés par une procédure de docking : les fonctions de score [42]. Selon les principes utilisés dans leur conception, les fonctions de score sont classées en : fonctions de score basées sur des champs de force, fonctions de score knowledge-based et fonctions de score empiriques [43, 44]. Ces fonctions de score sont construites à partir de règles fondées sur une analyse statistique des complexes protéine-ligand résolus expérimentalement. La fonction PMF (Potential of Mean Force) fait partie de cette classe de fonction [45].

Il s'agit d'une technique de classement de complexes qui combine les résultats individuels de plusieurs fonctions de score afin de compenser les faiblesses des unes avec les forces des autres, en augmentant ainsi la fiabilité du résultat final.

Le principe consiste à vérifier la fréquence à laquelle chaque complexe apparaît

parmi les X complexes les mieux classés selon différentes fonctions de score (X = 5 ou 10 le plus souvent). D'un point de vue statistique, plus cette fréquence est élevée pour un certain complexe, plus la probabilité que ce complexe représente le réel mode d'interaction protéine-ligand est élevée, vu qu'il est reconnu comme tel par plusieurs fonctions de score distinctes [46,47].

Un grand nombre de programmes (commerciaux ou non) de docking moléculaire sont d'ores et déjà disponibles. Parmi ceux-ci, nous citerons par exemple AUTODOCK [48], FLEXX [49], GOLD [50], DOCK [51], SURFLEX [52], MOLEGRO VIRTUAL DOCKER [53], UCSF CHIMERA [54] et Schrödinger (Glide) [55] etc. Ils diffèrent les uns des autres sur la manière de représenter le système moléculaire et la manière de déterminer le score de docking (fonction de score). Deux approches sont principalement employées pour la modélisation du système protéine-ligand.

## **II-6.La cible enzymatique:**

Afin d'obtenir expérimentalement la structure d'une protéine, plusieurs étapes sont nécessaires:

- ✓ L'isolement du gène.
- ✓ Le clonage.
- ✓ Expression dans un organisme adéquat.
- ✓ Purification de la dose de la protéine obtenue.
- ✓ Dans certains cas élimination du fragment ajouté à la protéine [56].

Ces étapes de la biologie moléculaire restent encore délicates et limitent le travail. La structure tridimensionnelle est la plus souvent obtenue à partir de l'échantillon par diffraction de rayons X.

Pour ces méthodes, les molécules doivent auparavant être préparées sous forme de cristal, mais la cristallogénèse reste une étape hautement empirique et difficile [57]. La

possibilité d'obtenir des cristaux complexe protéine-ligand est bien plus intéressante leur réalisation reste difficile. Les structures obtenues sont fournies par les banques de données ajoutées; PDB[58], le nombre de structures d'une même molécule avec ou sans ligand permet d'avoir une information pertinente.

## II-7. Etape de docking moléculaire

La première étape consiste au téléchargement des structures chimiques des cibles à traiter (Enzyme dans notre cas), pour cela il est nécessaire d'aller directement à la Bank PDB (<http://www.pdb.org>) et déterminer où sont déposées les structures de ces cibles.

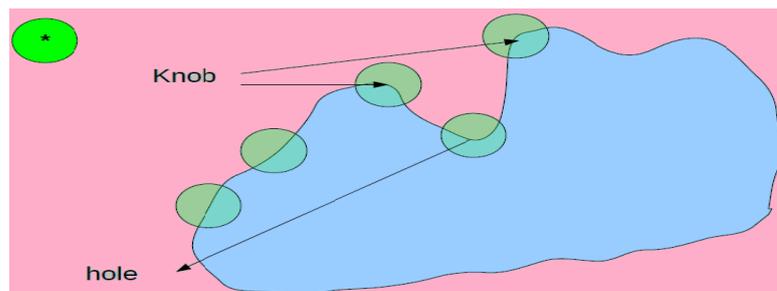
En suite, la PDB contient plusieurs milliers de structures protéiques obtenues soit par cristallographie (rayons X), soit par RMN. Si la cible n'est pas encore déposée au niveau de la Bank, et cette dernière contient une protéine avec des séquences similaires, la modélisation par homologie intervient afin de construire la structure 3D de la cible souhaitée.

Après le téléchargement de la cible (PDB), nous utilisons un logiciel de visualisation pour voir avec quels ligands l'enzyme est Co-cristallise (eau, ligands, ion,...).

Pour identifier le site actif on utilise la méthode de détection de cavité "knob&hole" [59]:

- ✓ On considère le centre de la sphère de volume  $V$  qui est placé sur la surface moléculaire (Connolly)(voir la figure 12).
- ✓ On fait "rouler" la sphère sur la surface moléculaire
- ✓ On calcule le volume commun de la sphère appartenant également à la protéine:  $V_{com}$

Si	{	$0 < V_{com} \leq V/3$		Knob (coin)
		$V/3 < V_{com} \leq 2V/3$		Plan
		$2V/3 < V_{com} \leq V$		Hole (trou)



**Figure 7** : Méthode de détection de la cavité

La deuxième étape, concerne les structures du (ou des) ligand(s) utilisé(s) lors du docking moléculaire. Il y a deux grandes bases de données de structures chimiques des ligands. La première représente ces structures par les programmes d'informatiques de modélisation moléculaire, où les différentes structures sont générées par optimisation de géométrie. Ces structures sont gouvernées par les lois de la chimie quantique. Dans le deuxième cas elles sont obtenues à partir des bases de données comme Pub Chem Project ou autres bases de données des structures. Ces dernières ont différentes extensions comme PDB (Protein Data Bank), SDF, ...ect.

### **II-8. Choix de logiciel de MolDock (MVD)**

Dans le domaine de docking moléculaire, plusieurs logiciels ont été utilisé pour étudier les différentes interactions existantes entres deux entités moléculaire (Enzyme-ligands). MolDock est un logiciel récemment développé a donne de bon résultats (algorithme génétique) [60]. La fonction de score de Moldock est une fonction empirique. Ce type de fonction nous permet de choisir les composes ayant la plus grande probabilité d'interagir avec la cible, ne nécessite pas une grande puissance de calcul, ce qui permet de cribler la cible plus rapidement. Ainsi que se démarque par sa capacité à mieux évaluer les ponts H ainsi que les interactions électrostatiques. La procédure d'accueil est composée de trois éléments :

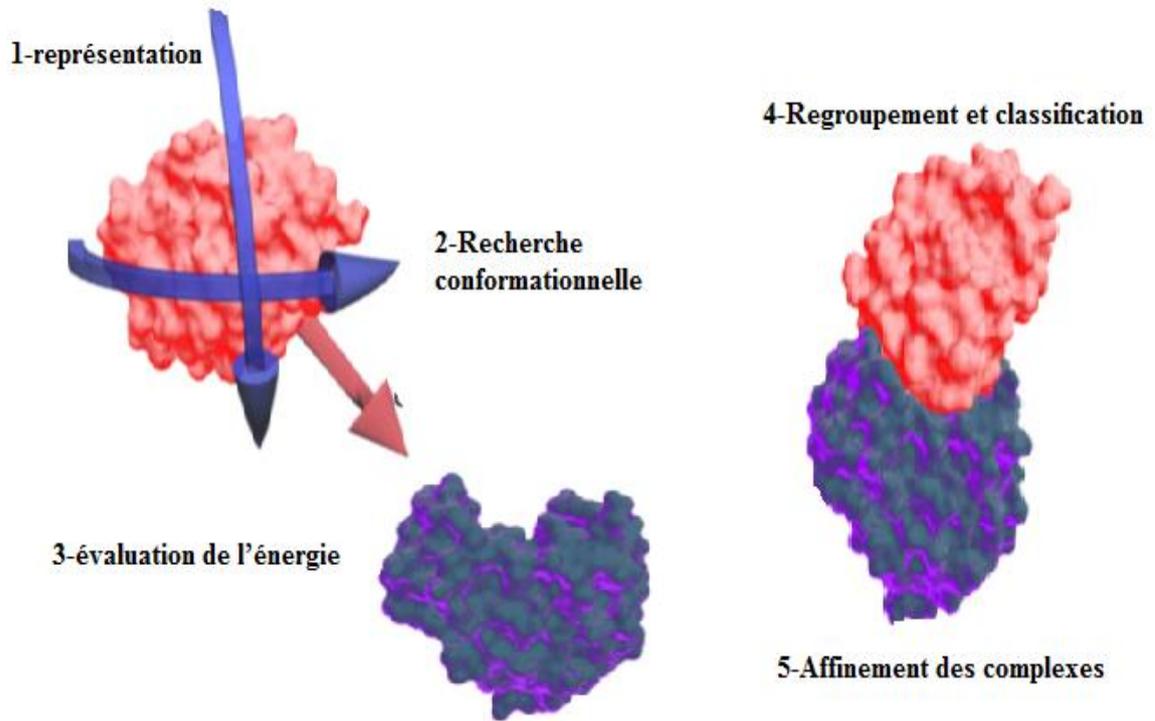
- a) L'identification de site de liaison.
- b) La recherche de la meilleure pose parmi les poses possibles.
- c) La fonction de score [60].

## II -9. Protocole général de docking

Les approches utilisées actuellement sont exclusivement calculatoires et évaluées par des outils de visualisation. Ces approches peuvent être décomposées en quatre à cinq phases successives ( figure 1) :

- Choix du mode de représentation des protéines (tout atome, pseudo-atome, grille, etc.),
- Exploration conformationnelle (corps-rigide position/orientation du ligand et/ou flexible position/orientation/forme du ligand),
- Minimisation de la fonction d'évaluation de l'énergie d'interaction (ou fonction de score) des conformations issues de l'exploration,
- Regroupement par ressemblances et classification par évaluation plus fine du score , accompagnée d'une étape non automatique d'évaluation visuelle des résultats lorsque le score ne permet pas de discriminer la conformation native des différentes conformations générées.
- Une étape optionnelle d'affinement des complexes sélectionnés par minimisation ou dynamique moléculaire.

Un algorithme de recherche pour explorer les possibilités de modes de liaison, un mécanisme pour placer le ligand dans le site de liaison et une fonction de score pour classer les différents modes de liaison.



**Figure 8 :** Protocole général de docking [61]

## Référence:

1. A.R. Leach. Molecular Modelling: Principles and Applications, Prentice Hall, New Jersey, 2001.
2. J. Debord, Introduction à la modélisation moléculaire, 2004, 37-41.
3. Frenkel D, Smit B, Understanding molecular simulation: from algorithms to applications. Academic Press, London, 2nd ed., 2002.
4. Leach A.R, Molecular modeling. Principles and applications. Prentice Hall, Harlow, 2nd ed, 2001.
5. Santiso E.E., Gubbins K.E., Multi-scale molecular modeling of chemical reactivity. Molecular Simulation, 2004, 30, 699-748.
6. G.S. Mala, S. Tekeuchi. Understanding structural features of microbial lipases - an overview. Analytical Chemistry Insights, 2008, 9-19.
7. H. Toulhoat. Modélisation moléculaire - Bases théoriques : des propriétés microscopiques aux propriétés macroscopiques. Techniques de l'Ingénieur J, 2007, 1-13 .
8. W.J. Geldenhuys, K.E. Gaasch, M. Watson, D.D. Allen, C.J. Van Der Schyf. Optimizing the use of open-source software applications in drug discovery. Drug Discovery Today, 2006, 11, 127-132.
9. P. Braiuca, C. Ebert, A. Basso, P. Linda, L. Gardossi. Computational 2006, 24, 419-425.
10. A.J. Mulholland. Modelling enzyme reaction mechanisms, specificity and catalysis. Drug Discovery Today, 2005, 10, 1393-1402
11. Z. Qian, C.J. Fields, Y. Yu, S. Lutz. Recent progress in engineering  $\alpha/\beta$  hydrolase-fold family members. Biotechnology Journal, 2007, 2.
12. J. Damborsky, J. Brezovsky. Computational tools for designing and engineering biocatalysts. Current Opinion in Chemical Biology, 2009, 13, 26-34.
13. M. Laguerre, Modélisation moléculaire et conception de nouvelles molécules. Bull

Cancer vol., 2007, 7, 94

14. A. Soldera. Modélisation moléculaire des polymères linéaires. Techniques de l'Ingénieur AF, 2007, 6-042.

15. 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 lipoxgénase et la cyclooxygénase. Thèse de Doctorat : Biochimie appliquée. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie, 2007, 91p.

16. I. Soury-Lavergne Navizet, thèse de doctorat, Université Paris 6, France, 2004.

17. D. Van der Spoel, E. Lindahl, B. Hess, G. Groenhof, A.E. Mark, H.J.C. Berendsen. GROMACS: fast, flexible and free. Journal of Computational Chemistry, 2005, 26, 1701-1718.

18. D.A. Pearlman, D.A. Case, J.W. Caldwell, W.S. Ross, T.E. Cheatham III, S. DeBolt, D. Ferguson, G. Seibel, P. Kollman. AMBER, a package of computer programs for applying molecular mechanics, normal mode analysis, molecular dynamics and free energy calculations to simulate the structural and energetic properties of molecules. Computer Physics Communications, 1995, 91, 1-41.

19. M. Rueda, C. Ferrer-Costa, T. Meyer, A. Pérez, J. Camps, A. Hospital, J.L. Gelpi, M. Orozco. A consensus view of protein dynamics. PNAS, 2007, 104, 796-801.

20. O. Guvench, A.D. MacKerell Jr. Comparison of protein force fields for molecular dynamics simulations. Methods in Molecular Biology, 2008, 443, 63-88.

21. R.R.S. Pissurlenkar, M.S. Shaikh, R.P. Iyer, E.C. Coutinho. Molecular mechanics force fields and their applications in drug design. Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry, 2009, 8, 128-150.

22. J.C. Phillips, R. Braun, W. Wang, J. Gumbart, E. Tajkhorshid, E. Villa, C. Chipot, R.D. Skeel, L. Kalé, K. Schulten. Scalable molecular dynamics with NAMD. Journal of

Computational Chemistry, 2005, 26, 1781-1802.

23. P. Rabinowitz, P.J. Davis. *Methods of Numerical Integration* 2007.

24. M.R. Hestenes, E. Stiefel. *Methods of conjugate gradients for solving linear systems.* *Journal of Research of the National Bureau of Standards*, 1952, 49, 409-438.

25. J. Nocedal, S.J. Wright. *Numerical Optimization* 2006.

26. G.L. Warren, C. Webster Andrews, A.M. Capelli, B. Clark, J. LaLonde, M.H. Lambert, M. Lindvall, N. Nevins, S.F. Semus, S. Senger, G. Tedesco, I.D. Wall, J.M. Woolven, C.E. Peishoff, M.S. Head. *A critical assessment of docking programs and scoring functions.* *Journal of Medicinal Chemistry*, 2006, 49, 5912-5931.

27. D. Duhovny, R. Nussinov, H.J. Wolfson, *Efficient unbound docking of rigid molecules*, 2002.

28. B. Coupez, R.A. Lewis. *Docking and Scoring - theoretically easy, practically impossible?* *Current Medicinal Chemistry*, 2006, 13, 2995-3003.

29. A.R. Leach, B.K. Shoichet, C.E. Peishoff. *Prediction of protein-ligand interactions.* *Docking and scoring : successes and gaps.* *Journal of Medicinal Chemistry*, 2006, 49, 5851-5855.

30. I. Helperin, B. Ma, H. Wolfson, R. Nussinov. *Principles of dockings : an overview of search algorithms and a guide to scoring functions.* *PROTEINS: Structure, Function and Bioinformatics*, 2002, 47, 409-443.

31. B.D. Bursulaya, M. Trotoev, R. Abagyan, C.L. Brooks III. *Comparative study of several algorithms for flexible ligand docking.* *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 2004, 17, 755-763.

32. M. Kontoyianni, L.M. McClellan, G.S. Sokol. *Evaluation of docking performance : comparative data on docking algorithms.* *Journal of Medicinal Chemistry*, 2004, 47, 558-565.

33. S.F. Sousa, P.A. Fernandes, M.J. Ramos. Protein-ligand docking : current status and future challenges. *PROTEINS: Structure, Function and Bioinformatics*, 2006, 65, 15-26.
34. N. Moitessier, P. Eglebienne, D. Lee, J. Lawandi, C.R. Corbeil. Towards the development of universal, fast and highly accurate docking/scoring methods: a long way to go. *British journal of Pharmacology*, 2008, 153.
35. J.A. Erickson, M. Jalaie, D.H. Robertson, R.A. Lewis, M. Vieth. Lessons in molecular recognition : the effects of ligand and protein flexibility in molecular docking accuracy. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2004, 47, 45-55.
36. S.J. Teague. Implications of protein flexibility for drug discovery. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2003, 2 , 527-541.
37. O. Sperandio, M.A. Miteva, F. Delfaud, B.O. Villoutreix. Receptor-based computational screening of compounds databases : the main docking-scoring engines. *Current Protein and Peptide Science*, 2006, 7, 369-393.
38. M.I. Zavodszky, L.A. Kuhn. Side-chain flexibility in protein–ligand binding: The minimal rotation hypothesis. *Protein Science*, 2005, 14, 1104-1114.
39. J. Meiler, D. Baker. ROSETTALIGAND: Protein–small molecule docking with full side-chain flexibility. *PROTEINS: Structure, Function, and Bioinformatics*, 2006, 65, 538-548.
40. C.R. Corbeil, P. Englebienne, N. Moitessier. Docking ligands into flexible and solvated macromolecules-1. Development and validation of FITTED 1.0. *Journal of Chemical Informatic Modelling*, 2007, 47, 435-449.
41. N. Foloppe, R. Hubbard. Towards predictive ligand design with free-energy based computational methods? *Current Medicinal Chemistry*, 2006, 13, 3583-3608.
42. A. Jain. Scoring functions for protein-ligand docking. *Current Protein and Peptide Science*, 2006, 7, 407-420.

43. G. Schneider, H.J. Böhm. Virtual screening and fast automated docking methods. *Combinatorial Chemistry*, 2002, 7, 64-70.
44. T. Schulz-Gasch, M. Stahl. Scoring functions for protein-ligand interactions : a critical perspective. *Today Technologies*, 2004, 1, 231-239.
45. Chikhi A. Calculs et modélisations des interactions peptide deformylase – substances antibactériennes a l'aide de techniques de « docking » (arrimage) moléculaire. Thèse de doctorat en microbiologie. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie, 2007; 90p.
46. R.D. Clark, A. Strizhev, J.M. Leonard, J.F. Blake, J.B. Mattew. Consensus scoring for ligand/protein interactions. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 2002, 20, 281-295.
47. M. Feher. Consensus scoring for protein–ligand interactions. *Drug Discovery Today*, 2006, 11, 421-428.
48. Morris G. M., Goodsell D. S., Halliday R. S. and al . Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *J. Comput. Chem*, 1998, 19 , 1639-1662.
49. Rarey M., Kramer B., Lengauer T., Klebe G. A fast flexible docking method using an incremental construction algorithm. *J Mol Biol*, 1996, 261 , 470-489.
50. Jones G., Willett P., Glen R. C., Leach A. R., Taylor R. Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking. *J. Mol. Biol*, 1997, 267 , 727-48.
51. Ewing T.J., Makino S., Skillman A. G., Kuntzi. D. Dock 4.0: search strategies for automated molecular docking of flexible molecule databases., *J. Comput. Aided. Mol. Des*, 2001, 15 , 411-428.
52. jay A, Jain N. Surflex-Dock 2.1: Robust performance from ligand energetic modeling, ring flexibility, and knowledge-based search. *J Comput Aided Mol Des*, 2007, 21 ,281–306.

53. Molegro Virtual Docker User Manual, <http://www.molegro.com/>. [cited 2011 January 17th].
54. Duan Y, Wu C, Chowdhury S, Lee MC, Xiong G, Zhang W, Yang R, Cieplak P, Luo R, Lee T, Caldwell J, Wang J, Kollmann P. Un champ de force au point de frais pour la mécanique simulations moléculaires de protéines à base de phase condensée calculs de mécanique quantique. *J Comput Chem*, 2003 CME, 24, 1999-2012.
55. Richard A. Friesner, Jay L. Banks, Robert B. Murphy, Thomas A. Halgren, Jasna J. Klicic, Daniel T. Mainz, Matthew P. Repasky, Eric H. Knoll, Mee Shelley, Jason K. Perry, David E. Shaw, Perry Francis, et Peter S. Shenkin. Glide: A New Approach for Rapid, Accurate Docking and Scoring. 1. Method and Assessment of Docking Accuracy. *J. Med. chem*, CME 2004, 47, 1739-1749.
56. Edwards AM, Arrowsmith CH, Christendat D, Dharamsi A, Friensen JD, Greenblatt JF, Vedadi M. Protein production: feeding the crystallographers and NMR spectroscopists, *Nat. Struct. Biol*, 2000, 7, 970-972.
57. Abola E, Kuhn P, Earnst T. Stevens RC. Automation of X-ray crystallography, *Nat. Struct. Biol*, 2000, 7, 973-977.
58. Siegal G, Van Duynhoven J, Baldus M. Biomolecular NMR: recent advances in liquids, solids and screening. *Curr. Opin. Chem. Biol*, 1999, 3, 530-543.
59. Thomsen R, Christensen MH: MolDock. A New Technique for High-Accuracy Molecular Docking. *J Med Chem*, 2006, 11, 3315–3321.
60. B. Florent, Cours on line;" le docking moléculaire", Université de Paris7, ITODYS( CNRS UMR 7086), 2014.
61. Férey N, Bouyer G, Martin C, Drif A, Bourdot P, Ammi M, Nelson J, Burkhardt J-M, Autin L. Docking de protéines en Réalité Virtuelle : une approche hybride et multimodale. 2-soumission à RSTI, 2008, p 10

---

# **Chapitre III :**

Applications, résultats et  
Discussions

## APPLICATIONS, RESULTATS ET DISCUSSIONS

### III-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:

- L'affinité entre deux molécules.
- Les distances entre les acides aminés du site actif de l'enzyme et ceux des inhibiteurs.
- L'énergie d'interaction.

De même, la découverte de nouvelles drogues 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 modélisation moléculaire, regroupées sous le nom d' "Amarrage" ou "Docking" moléculaire ont été développées.

La flexibilité des molécules biologiques résulte de la haute dimensionnalité des systèmes, mais aussi de l'intervention d'un grand nombre d'interactions faibles (Van der Waals, liaison hydrogène, effet hydrophobe, ...). Il est connu qu'elle fait partie intégrante de la dynamique des macromolécules et de leur bon fonctionnement. La négligence de ce paramètre dans les calculs introduit à des erreurs, il convient donc de déterminer la flexibilité intrinsèque d'une molécule mais aussi de pouvoir l'introduire, au moins partiellement, dans une procédure de docking [1- 4].

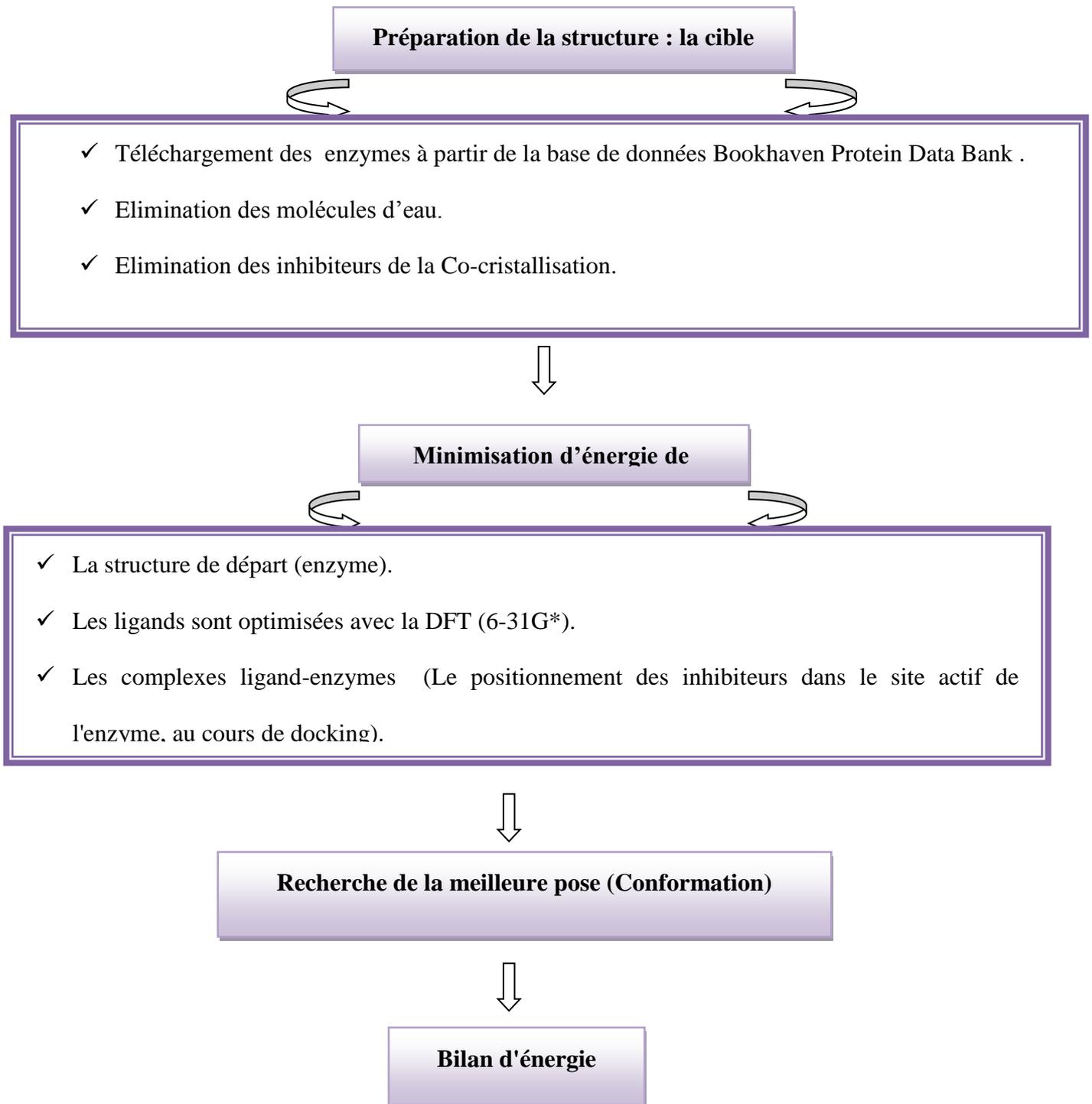
Les logiciels de docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligands) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique, généralement protéique (récepteur), afin d'influencer le mécanisme dans lequel cette protéine est impliquée [5].

Le docking reste une étape importante dans la compréhension des réactions biologiques et par suite la conception de médicaments. Les approches dans le cadre du docking sont basées sur le concept "clé-serrure".

Ce travail consiste à étudier les interactions entre les différents inhibiteurs et des différents enzymes par les méthodes de la modélisation moléculaire .

Dans ce chapitre nous avons englobé tous les résultats de calcul effectués dans ces trois études et la discussion que nous allons engager est basée sur les énergies d'interactions, les distances entre certains groupements de la chaîne latérale de l'enzyme et ceux d'inhibiteurs.

### III-2. La démarche à suivre (figure 1)



**Figure 1** : Protocole de calcul

Trois études ont été effectuées dans le cadre de cette thèse et ont fait l'objet de publications :

**Etude 1:** «Docking Studies on Binding Modes between the Catechol-O-Methyltransferase and Catechol Derivatives for Antiparkinson Drug. »

«Études d'accueil sur les modes de liaison entre la catéchol-O-méthyltransférase et les dérivés catéchols pour antiparkinsonien drogues. »

**Etude 2:** «Study of Monoamine Oxidase by Molecular Modeling. »

« Etude de la monoamine oxidase par modélisation moléculaire . »

**Etude 3:** «Study of the Interaction of the Monoamine Oxidase-B With a Series of Coumarin by Molecular Modeling Methods. »

«Étude de l'interaction de la monoamine-oxydase-B avec une série de coumarine par méthodes de modélisation moléculaire . »

### **III-3. Méthodologie des calculs des trois études**

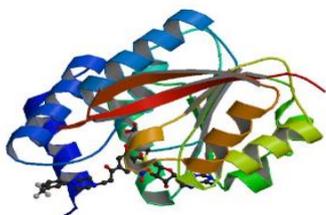
#### **III-5.1. Préparation du récepteur**

Le téléchargement des trois enzymes a été fait à partir de la base de données Bookhaven Protein Data Bank ([www.rcsb.org/pdb](http://www.rcsb.org/pdb)) [6]

- la COMT (code d'accès 1H1D [7]) elle est Co- cristallisée avec l'inhibiteur s-adenosylmethionine ( $C_{15}H_{22}N_6O_5S$ ). La COMT cristallise sous forme de monomère (Figure 2), avec 214 résidus et 1680 atomes.

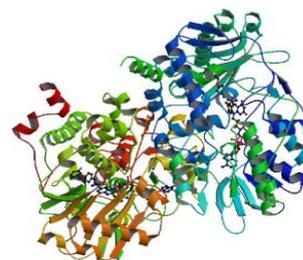
- la MAO-B (code d'accès de 2V5Z) [8], il est Co-cristallisé avec l'inhibiteur sélectif safinamide La MAO-B cristallise sous forme de dimère (Figure 3), avec 993 résidus et 7911 atomes.

- la MAO-B (code d'accès de 4CRT) [9], il est Co-cristallisé avec un inhibiteur ASS234 multi cible. La MAO-B cristallise sous forme de dimère (Figure 4), avec 993 résidus et 7914 atomes.



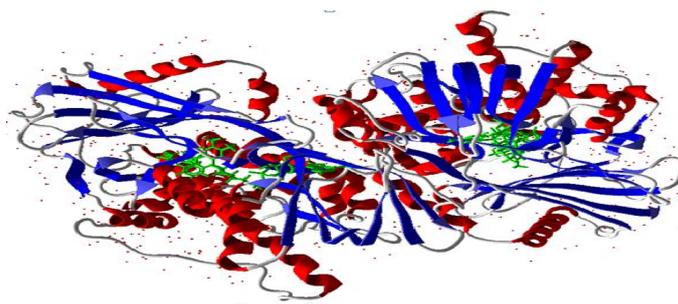
**Figure 2 :** Structure de la COMT

Code PDB 1H1D



**Figure 3:** Forme dimère de la MAO-B

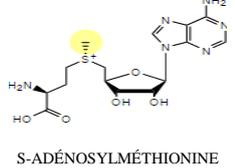
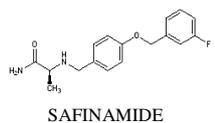
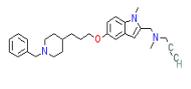
code PDB 2V5Z



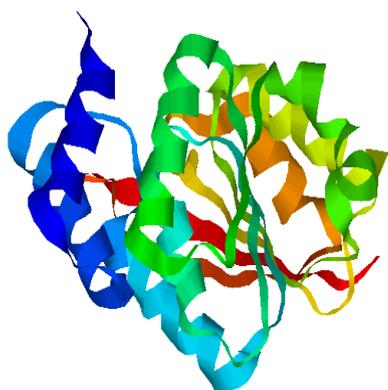
**Figure 4 :** Structure de la MAO-B code PDB 4CRT

La structure tridimensionnelle des trois enzymes a été obtenue par diffraction en rayon X . Les données de la Co-cristallisation sont résumées dans le tableau 1.

**Tableau 1** : Données cristallographique pour les trois enzymes

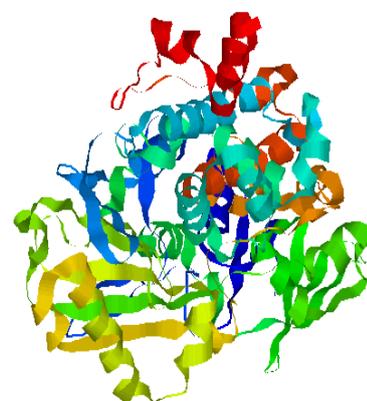
Enzyme	Inhibiteurs de Co-cristallisation	Classification	Poids moléculaire (KDa)	Polymère	Chaîne	Résolution (Å)
la COMT code PDB 1H1D	 S-ADÉNOSYLMÉTHIONINE	Transférase	25634,63	1	A	2
la MAO-B code PDB 2V5Z	 SAFINAMIDE	Oxydoréductase	119848.38	1	A, B	1.60
la MAO-B code PDB 4CRT	 ASS234	Oxydoréductase	120139.01	1	A, B	1.80

Avec l'effet réducteur de la modélisation moléculaire, les trois modèles des enzymes sont simplifiés on retient seulement un monomère pour la COMT (Figure 5), la MAO-B code PDB 2V5Z (Figure 6) et la MAO-B code PDB 4CRT (Figure 7).



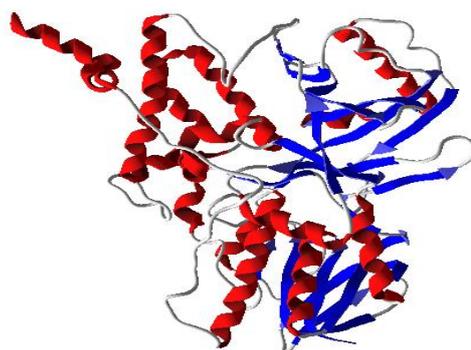
**Figure 5** : Modèle simplifié

de la COMT



**Figure 6**: Modèle simplifié

de la MAO-B (2V5Z)



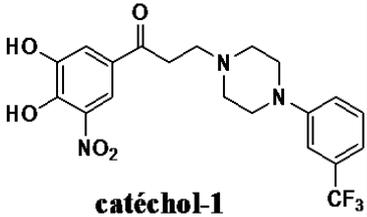
**Figure 7** : Structure simplifiée de la MAO-B (4CRT)

### III-3.2. Préparation des inhibiteurs

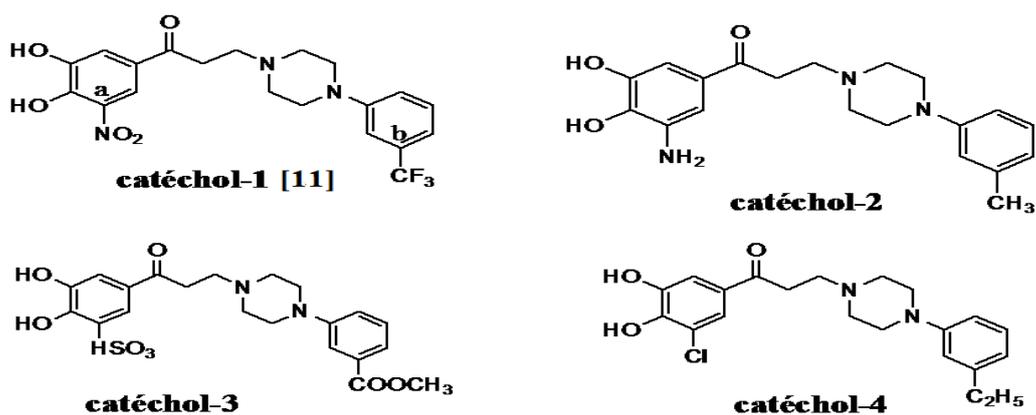
Dans ces trois études, toutes les structures ont été optimisées au niveau de calcul DFT/B3LYP(6-31G\*) en utilisant le programme gaussian 03 [10], Les molécules ainsi obtenues sont enregistrées au format pdb ou mol2 .

- ❖ Pour la COMT : La catéchol-1 [11] est la structure de base, nous avons modifiés la catéchol-1 en position (a et b) (figure 8). Les inhibiteurs modifiés sont représentés dans le Tableau 2.

**Tableau 2:** Dérivés du catéchol.

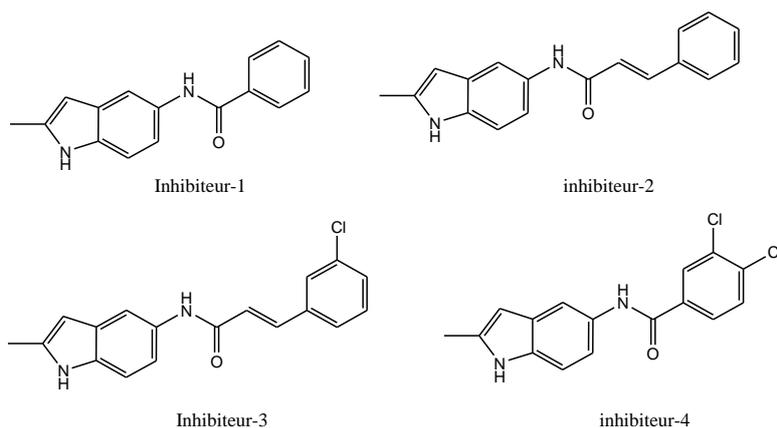
 <p><b>catéchol-1</b></p>	<b>Catéchol-2</b>	<b>Catéchol-3</b>	<b>Catéchol-4</b>
	-NO <sub>2</sub> «Attracteur» par-NH <sub>2</sub> «donneur»	- NO <sub>2</sub> «attracteur» par -HSO <sub>3</sub> «attracteur»	-NO <sub>2</sub> «Attracteur» par -Cl «donneur »
-CF <sub>3</sub> «attracteur» par-CH <sub>3</sub> «donneur»	-CF <sub>3</sub> «attracteur» par -COOCH <sub>3</sub> «attracteur»	-CF <sub>3</sub> «attracteur» par -C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> «donneur»	

Le catéchol -1 a été choisie de la littérature. Pour prédire une meilleurs inhibition on a choisie d'autre catéchol, pour cela on a changé le substituant de la chaine latérales tout en gardant le squelette des catéchol .le catéchol-3 est le ligand le plus stable d'où le meilleur inhibiteur de MP, mais il reste à synthétiser et tester l'effet de toxicité de ce derniers.



**Figure 8:** Catéchols

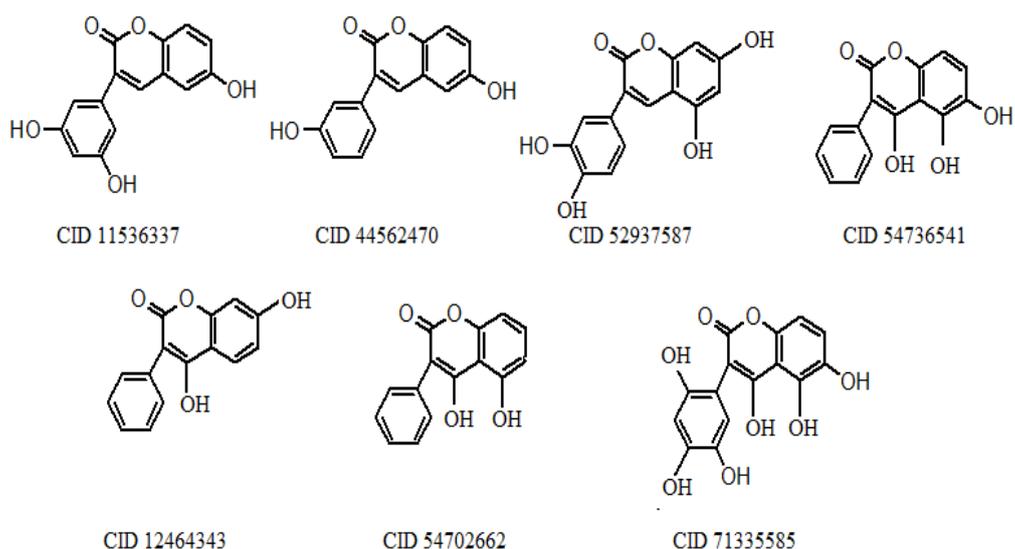
- ❖ Pour la MAO-B (2V5Z) nous avons utilisé des dérivés d'indole synthétisés [12] et représentés dans la figure 9.



**Figure 9:** Dérivés de l'indole

- ❖ Pour la MAO-B (4CRT) nous avons utilisé des dérivés de la coumarine qui sont représentés dans la figure 11.

Les composés similaire de la coumarine (format 3D extension SDF) ont été téléchargés à partir Pub Chem Project .



**Figure 11:** Dérivés de la coumarine

### III-3.3. Etude de docking moléculaire

L'étude de l'interaction entre le site actif de l'enzyme de la COMT, de la MAO-B (2V5Z) et les inhibiteurs pour former un complexe stable est réalisée à l'aide du logiciel "Molegro Virtual Docker (MVD)"[13]. L'élimination des molécules d'eau et les hétéroatomes de Co-cristallisation, nous permet d'obtenir un modèle simplifié de l'enzyme.

Une fois que le complexe ligand-récepteur est formé, celui-ci va adapter la conformation la plus stable, c'est à dire avec le niveau énergétique le plus faible.

### III-4. Résultats et discussion

Les simulations d'accueil moléculaires ont été utilisées pour prévoir les types de liaison des inhibiteurs des catéchols étudiés dans le site actif de la COMT (1H1D) et des dérivés indoles étudiés dans le site actif de la MAO-B (2V5Z). Plusieurs modes de liaison plausibles ont été détectés et ont été classés sur la base de leur score de MolDock.

La façon la plus commode d'incorporer la flexibilité des protéines dans le processus d'accueil est d'effectuer en utilisant un ensemble de conformations des récepteurs statiques.

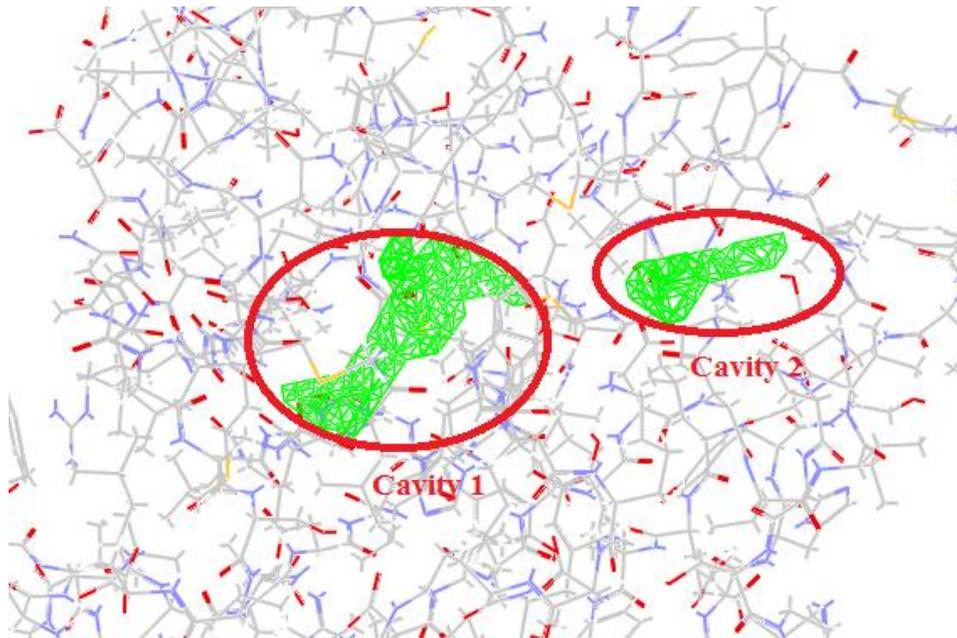
De nos jours, cette approche est appliquée de plus en plus dans des expériences de criblage virtuel [14,15].

### III-4.1. Résultat de la COMT

Pour obtenir de meilleurs sites de liaison potentiels dans la COMT, un maximum de cinq cavités a été détecté en utilisant des paramètres par défaut. Le volume et la surface de la région ont été donnés dans le tableau 3. Le volume de la cavité 1 (38,40 Å<sup>3</sup>) s'est avérée être supérieure à celle des autres cavités, aussi nous avons trouvé que le ligand de la COMT de la Co-cristallisation est fixé dans la cavité 2 (14,33 Å<sup>3</sup>), donc l'absence des données expérimentales concernant les résidus du site actif nous a obligé de choisir les deux cavités pour notre études ultérieures (Figure 12).

**Tableau 3:** volume et surface des différentes cavités :

Cavités	Volume (Å <sup>3</sup> )	Surface (Å <sup>2</sup> )
Cavité 1	38.40	138.40
Cavité 2	14.34	57.60
Cavité 3	11.78	53.76
Cavité 4	11.26	55.04
Cavité 5	5.12	26.88



**Figure 12** : Interface graphique des cavités 1 et 2 représentée par une ellipse identifiée par MolDock

#### **III-4.1.1. Les Energies d'interactions :**

Le score de MVD des meilleures poses pour l'étude d'accueil de la COMT avec les différents catéchols, dans les deux cavités sont reportés dans le tableau 4, qui présente l'énergie d'interaction entre le ligand et la protéine, marqué par MolDock et l'énergie de liaison hydrogène de chaque ligand.

**Tableau 4:** Résultats de l'amarrage entre les acides aminés du site actif et les résidus qui interagissent dans les deux cavités.

**Cavité 1**

<b>Inhibiteur</b>	MolDock score <sup>a</sup>	Interaction <sup>b</sup> ( Kcal/mol)	H-bond ( Kcal/mol)	Interaction des résidus d'acides aminés de la COMT
<b>Catéchol-1</b>	-164.119	-145.317	-6.650	Gln120,Gly66,Met40,Arg146,Asp169, Glu199, Asn170, His142
<b>Catéchol-2</b>	-175.426	-118.914	-4.792	Ser119,Gly117,Gly66,Met40, Asp141,Asp169,Glu199,Asn170
<b>Catéchol-3</b>	<b>-185.808</b>	<b>-163.158</b>	-9.343	Ser119, Gly117, Gly66,Met40, Asp141,Asp169,Glu199,Asn170
<b>Catéchol-4</b>	-167.466	-125.501	-7.516	Gly66,Asp141,Asp169,Glu199,Asn170,Lys144,His142, Trp143

**Cavité 2**

<b>Inhibiteur</b>	MolDock score <sup>a</sup>	Interaction <sup>b</sup>	H-bond	Interaction des résidus d'acides aminés de la COMT
<b>Catéchol-1</b>	-171.977	-138.84	- 10.669	Gln120, Gly66, Met40, Arg146, Asp169,Glu199,Asn170,His142
<b>Catéchol-2</b>	-172.171	-128.64	-8.939	Ser119, Gly117, Gly66, Met40, Asp141,Asp169,Glu199,Asn170
<b>Catéchol-3</b>	<b>-192.180</b>	<b>-146.129</b>	-10.917	His142,Gly66,Asp141,Asp169,Glu199,Asn170,Trp143, Lys144
<b>Catéchol-4</b>	-170.138	-136.938	-8.832	Gly66, Asp141, Met40, Glu199, Asn170, Asp169, Trp143

<sup>a</sup> MolDock score calculée par la somme d'interaction externe et interne ligand (interaction protéine-ligand) en utilisant le Viewer moléculaire Virtual 1.2.0.

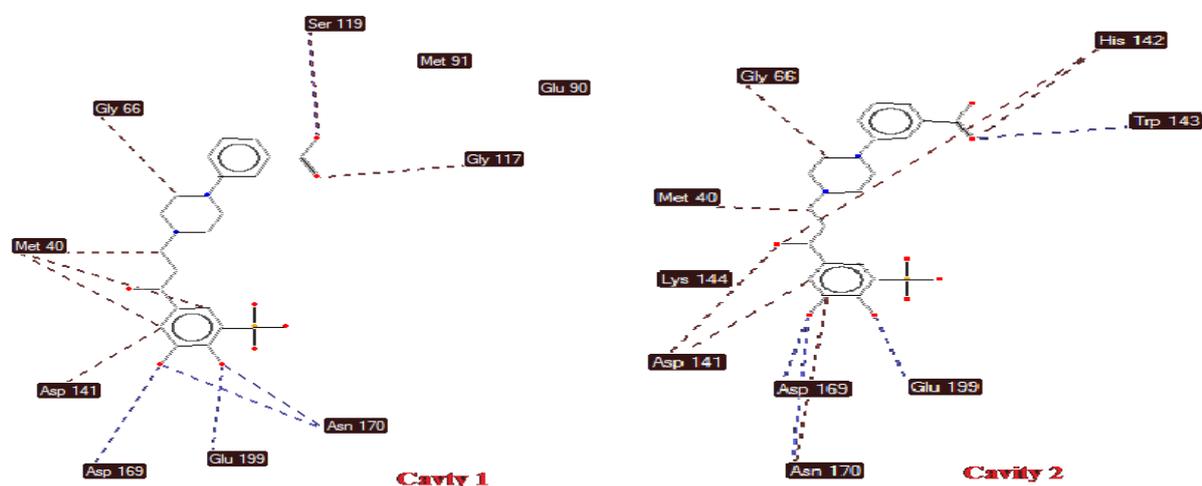
<sup>b</sup> Energie d'interaction totale entre la pose et les molécules cibles (s).

D'après les résultats obtenus (tableau 4), nous remarquons que les complexes formés par la catéchol-3 dans les deux cavités (1et 2) possèdent des énergies plus basses par rapport aux autres complexes et par conséquent nous pouvons dire qu'ils seront probablement les plus stables.

L'interaction du meilleur inhibiteur (catéchol-3) avec les acides aminés du site actif est représentée dans la figure 13. Il est à noter pour les deux cavités que le catéchol-3 a montré la plus forte affinité de liaison :

-185,808 kcal / mol dans la cavité 1

-192,180 kcal / mol dans la cavité 2.

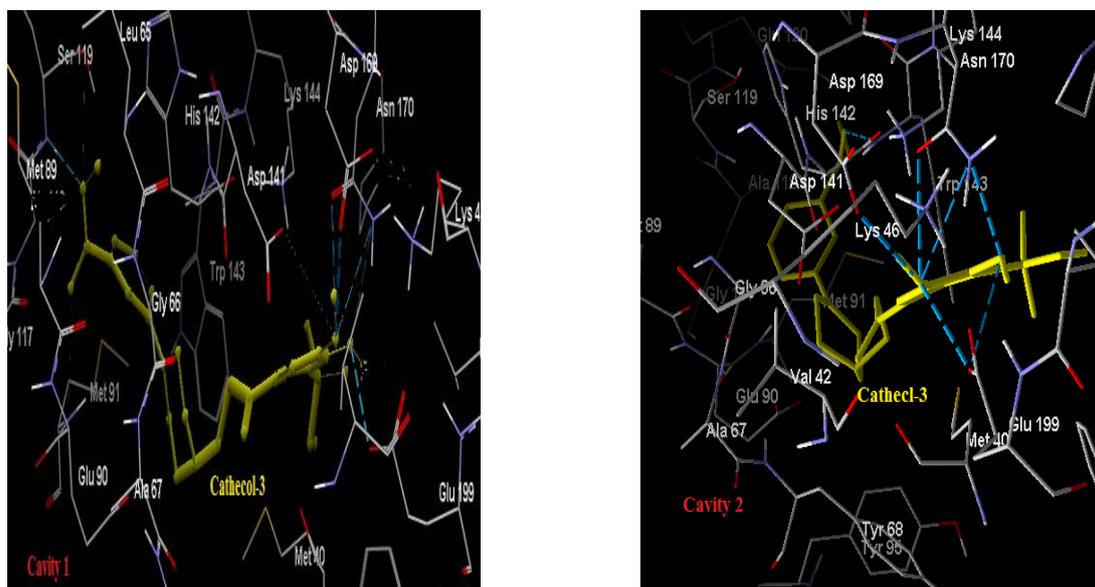


**Figure 13:** Le mode de liaison entre catéchol-3 avec le site de liaison des catécholamines O - méthyl transférase dans les deux cavités.( -----: Interaction Stérique ,-----: Interaction des liaisons Hydrogène ).

Dans la COMT, le groupement hydroxyle de la catéchol-3 peut former des liaisons hydrogène avec les résidus du site actif suivant Asp 169, Glu 199 et Asn 170 avec une distance respectivement de 2.98 Å , 3.19 Å et 3.04 Å dans la cavité 1, et une distance de 2.63 Å, 2.83 Å, 2.76 Å respectivement dans la cavité 2. Ces caractéristiques communes ont été trouvées dans les résultats de quatre modèles d'amarrage favorables.

On constate que les interactions existantes entre les résidus du site actif est la catéchol-3 forment un complexe stable (figure 14), ce qui lui confère une meilleur fixation de ce catéchol-3 au niveau de site actif.

La nouvelle notation de ces résultats acquit à l'aide de Molegro révèle que la catéchol-1, la catéchol-2 et la catéchol-4 se lie dans le site actif de la COMT avec énergie de liaison libre supérieur à celui trouvé pour la catéchol-3. Le mode de fixation du catéchol-3 est situé dans le site actif de la COMT est fourni dans les deux cavités dans la Figure 15.



**Figure 14:** Les modèles d'interaction entre la COMT et la catéchol-3 (cavité1 et cavité 2)

### III-4.1.2. Les distances entre les sites acides aminés et les groupes actifs d'inhibiteurs:

Nous avons mesuré les distances entre les inhibiteurs des groupes de chaînes responsables de l'interaction des différents catéchols dans les deux cavités (Tableau 5):

**Tableau 5:** Distances entre les acides aminés du site actif et groupes d'inhibiteurs dans les deux cavités:

**Cavité 1:**

Distances(Å)	Gly117	Gly66	Met40	Glu199	Asp169	Ser119	Asp141	His142	Asn170
Catéchol-1	-	3.03	2.52	2.89	3.10	-	-	-	3.05
Catéchol-2	-	3.19	3.19	2.93	3.10	2.76	3.00	-	3.09
Catéchol-3	2,55	3.09	2.97	3.19	2.98	2.60	3.01	-	3.04
Catéchol-4	-	3.17		2.71	3.19	-	3.12	2.97	3.05

**cavité 2**

Distances(Å)	Gly117	Gly66	Met40	Glu199	Asp169	Ser119	Asp141	His142	Asn170
Catéchol-1	-	3.03	2.52	2.89	3.10	-	-	-	3.05
Catéchol-2	-	3.19	3.19	2.93	3.10	2.76	3.00	-	3.24
Catéchol-3	-	2.77	3.04	2.83	2.63	-	3.06	3.16	2.76
Catéchol-4	-	3.17	-	2.71	3.20	-	3.12	2.97	3.05

Nous avons mesuré les distances entre les groupes R des différents catéchols, et les chaînes latérales d'acides aminés qui forment le site actif et éventuellement d'autres groupes de la chaîne principale de l'enzyme responsable de l'interaction (ce qui peut provoquer une conformation favorable à un niveau élevé de complémentarité résultant en l'activité cohérente). Les distances mesurées varient entre 2,55 Å et 3,24 Å pour tous les complexes étudiés. Les interactions entre 2,5 Å et 3,1 Å sont considérés comme élevés et celles entre 3,1 Å et 3,55 Å sont supposées moyennes. Interactions supérieures à 3,55 Å sont faibles ou absents .

À la lumière de ces résultats, il apparaît que l'introduction de groupes volumineux provoque un réarrangement de conformation à l'intérieur de la poche de site actif, et probablement une augmentation de la complémentarité et par conséquent l'activité.

Les interactions de liaison hydrogène avec Asp 169, Glu 199 et Asn 170 ont été détectés, ce qui peut suggérer l'influence de la triade catalytique dans le mécanisme de l'inhibition de la COMT par les différents catéchols dans les deux cavités. Nous avons confirmé que, dans quatre modèles d'amarrage, Asp169, Glu199 et Asn170 forment ces types de liaisons hydrogène. Ces interactions amenés à se déplacer dans les modèles inhibiteurs d'accueil de la COMT.

Après comparaison des énergies minimales obtenues à l'aide du programme MDV ces dernières sont reportées dans le tableau 4, le Catéchol-3 demeure le meilleur car son énergie d'interaction est la plus basse.

## **Conclusion**

Le calcul de l'énergie de MolDock score a été effectué pour former les complexes et identifier les interactions existantes, enfin nous constatons que le catéchol-3 possède une énergie la plus basse et par la suite un meilleur inhibiteur de la COMT.

Pour conclure, compte tenu des résultats obtenus dans ce travail, qui consiste à l'élucidation de l'inhibition de la COMT par les méthodes de modélisation moléculaire, il apparaît que les catéchol-3 présente probablement une meilleure contribution à l'inhibition et pourra ralentir la progression de la maladie de Parkinson.

### III-4.2. Résultat de la MAO-B (2V5Z)

Monoamine oxydase (MAO), est une enzyme responsable du métabolisme des neurotransmetteurs monoamines, a un rôle important dans le développement et le fonctionnement du cerveau, et les inhibiteurs de la MAO ont un éventail d'utilisations thérapeutiques potentielles [16]. La MAO a été divisé en deux sous-types [17], MAO -A et la MAO-B :

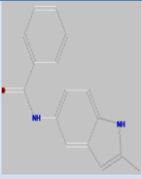
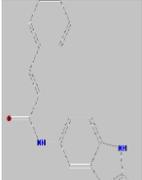
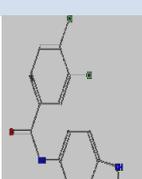
- sur la base de leur séquence d'acides aminés,
- substrat et inhibiteur
- sélectivité et la distribution tissulaire.

La structure tridimensionnelle (3D) montre que l'enzyme est cristallisée sous la forme d'un dimère (deux chaînes A et B) (figure 4), avec une résolution de 1.60 Å de la MAO-B (2V5Z). Parmi les avantages de la modélisation moléculaire, est de simplifier le modèle de l'enzyme, et dans ce cas nous pouvons retenir un seul monomère pour faire notre étude (figure 7). Ce monomère comporte les acides aminés formant le site actif. On a éliminé toutes les molécules d'eau ainsi que tous les inhibiteurs qui ont été utilisé au cours la Co-cristallisation.

Plusieurs travaux sont effectués pour l'optimisation des enzymes à l'aide de la méthode de dynamique moléculaire. Pour l'optimisation de notre enzyme, MAO-B, on a utilisé le logiciel Molegro Virtual Docker (MVD).

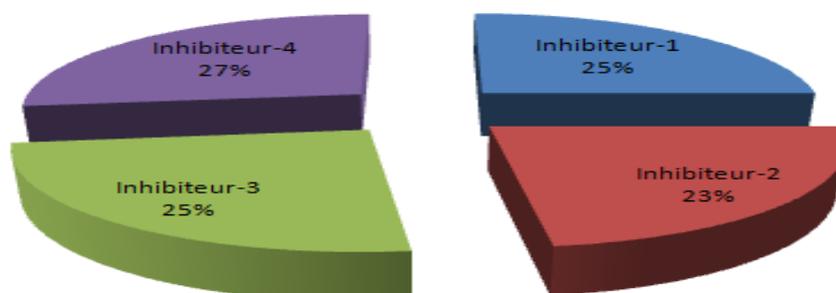
Les meilleures poses amarrées au niveau de la région du site actif de la protéine sont présentées dans (tableau 6).

**Tableau 6** : Les résultats de docking moléculaire des quatre complexes :

Inhibiteurs	Structure	MolDock Score <sup>a</sup>	Interaction <sup>b</sup> ( Kcal/mol)	Hbond ( Kcal/mol)
<b>inhibiteur-1</b>		-140.651	-115.651	-4.008
<b>inhibiteur-2</b>		-131.305	-113.788	0
<b>inhibiteur-3</b>		-140.575	-114.659	-0.016
<b>inhibiteur-4</b>		<b>-151.007</b>	<b>-118.52</b>	<b>-0.307</b>

<sup>a</sup> MolDock score calculée par la somme d'interaction externe et interne ligand (interaction protéine-ligand) en utilisant le Viewer moléculaire Virtual 1.2.0.

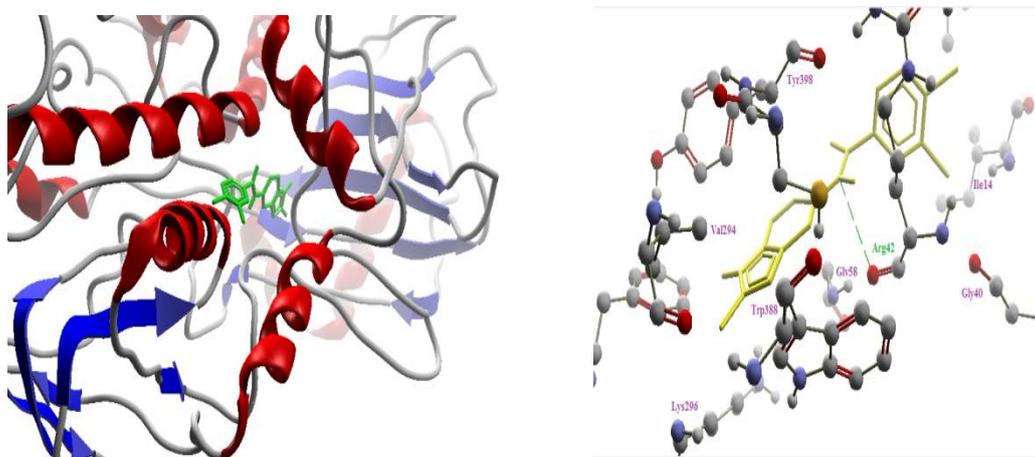
<sup>b</sup> Energie d'interaction totale entre la pose et les molécules cibles (s).



**Figure 15** : Complémentarité des complexes Inhibiteurs- MAO-B(2V5Z.pdb).

La formation d'un complexe stable dépend de la fixation de l'inhibiteur dans le site active. La figure 16 présenté ci-dessous montre que l'inhibiteur-4 prend la forme de la cavité enzymatique formé par les résidus du site actif, ce qui signifie qu'il y a des interactions qui stabilisent le complexe et par la suite, une meilleure fixation de ce l'inhibiteur au niveau du site actif.

D'après les résultats obtenus à l'aide Molegro, on remarque que l'inhibiteur-4 possède la plus petite énergie " -151,007 Kcal / mol" donc c'est le plus stable.



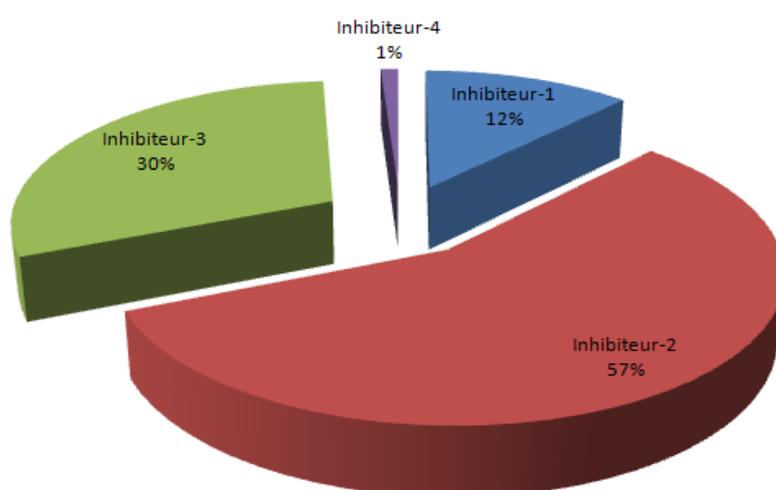
**Figure 16:** Prédiction de l'orientation d'inhibiteur-4 dans le site actif de la MAO-B (2V5Z.pdb).

L'interaction entre les inhibiteur-4 et Arg42 sont présentés dans la figure 17, Arg42 est un accepteur de liaison hydrogène formée entre l'atome d'azote de l'inhibiteur-4 et le groupe hydroxyle en groupement d'acide carboxylique de Arg42. Nous avons confirmé que dans les quatre modèles d'amarrage Arg42 forme ces types de liaisons hydrogène.

Inhibiteur-4 est un inhibiteur de la MAO-B le plus puissant et sélectif identifiés dans cette étude, on peut donc conclure que l'ajout d'un chlore substituant supplémentaire sur l'anneau phényle est une stratégie appropriée pour améliorer l'affinité de liaison au site actif de la MAO-B.

**Tableau 7:** Valeurs d'IC<sub>50</sub> expérimentaux de différents inhibiteurs [17]:

Composes	IC <sub>50</sub> (μ M)
Inhibiteur-1	3.84 ± 0.75
Inhibiteur-2	18.82 ± 3.28
Inhibiteur-3	9.83 ± 1.63
Inhibiteur-4	0.06 ± 0.01



**Figure 17 :** Valeurs expérimentales en pourcentage d'IC<sub>50</sub> des différents Inhibiteurs.

#### - Classement des IC<sub>50</sub>

IC<sub>50</sub> Inhibiteur-4 < IC<sub>50</sub> Inhibiteur-1 < IC<sub>50</sub> Inhibiteur-3 < IC<sub>50</sub> Inhibiteur-2

La valeur d'IC<sub>50</sub> de l'inhibiteur de la Co-cristallisation SAG est 0,08 μm issue de la littérature . Cette fiabilité de l'inhibiteur-4 est confirmée en comparant les valeurs expérimentales des IC<sub>50</sub> dans le tableau 7 avec la valeur IC<sub>50</sub> de l'inhibiteur Co-cristallisation SAG donc on peut dire que l'inhibiteur-4 a la plus petite valeur d'IC<sub>50</sub> = 0,06 ± 0,01 μm, donc il représente une meilleur inhibition par rapport aux autre inhibiteurs. Ce résultat expérimental a été confirmé théoriquement. En conclusion on peut classer par ordre décroissant les dérivés de l'indole selon leur pouvoir inhibiteur.

**Inhibiteur-4 < Inhibiteur-1 < Inhibiteur-3 < Inhibiteur-2**

## **Conclusion**

Méthodes de criblage virtuel sont régulièrement et largement utilisées pour le coût et le temps de la découverte de médicaments. Il a été clairement démontré que l'approche utilisée dans cette étude est de trouver de nouveaux inhibiteurs. L'inhibiteur-4, en particulier, a montré une grande affinité avec un score de Moldock **151,007** contre la MAO-B.

Après comparaison des résultats de l'étude théorique de l'inhibition de la MAO-B et ceux de l'étude expérimentale, on voit que les deux résultats sont compatibles pour l'inhibiteur-4.

Ce travail peut être prolongé pour étudier les interactions récepteur-ligand et une évaluation expérimentale de leur activité biologique qui aidera probablement à concevoir des composés basés sur des techniques de criblage virtuel. Dans cette étude, il s'est avéré que l'inhibiteur-4 présente une bonne activité pour la MAO-B, cette information peut conduire à développer un nouveau médicament anti-parkinsonien.

### **III-4.3. Résultat de la MAO-B (4CRT)**

#### **III-4.3.1. La procédure AUTODOCK Vina**

Dans cette étape on a représenté la macromolécule (MAO-B) avec ses hydrogènes polaires ainsi que les charges partielles de tous ses atomes. Cette opération a été effectuée avec le logiciel UCSF Chimera [18] et son champ de force AMBERff03.r1. On remarque que la MAO-B cristallise sous la forme d'un dimère. Nous avons simplifié le modèle de l'enzyme par élimination des molécules d'eau et des hétéroatomes de la Co-cristallisation le modèle de l'enzyme retenu est un monomère. La protéine ainsi préparée est enregistrée dans un fichier au format mol2 (Figure 7).

### III-6.3.2. Calcul des grilles de potentiel

Pour augmenter la vitesse d'évaluation de l'énergie du système, le récepteur MAO-B (4CRT) est plongé dans une grille tridimensionnelle englobant largement le site actif de la protéine étudiée et permettant la libre rotation du ligand dans ce site. La boîte est alors centrée sur le ligand et ses dimensions sont proportionnelles à la taille de ce ligand. Par conséquent, il est nécessaire d'éditer ce fichier généré pour modifier les paramètres de position et de dimensionner la boîte afin de l'ajuster au mieux à la région du récepteur que l'on étudie. La boîte est alors centrée sur le ligand et ses dimensions sont proportionnelles à la taille de tous les ligands étudiés.

### III-4.3.3. Les solutions d'amarrage

AutoDock Vina, un nouveau programme pour l'amarrage moléculaire et criblage virtuel, AutoDock Vina réalise environ deux ordres de grandeur accélération par rapport à logiciels d'accueil précédemment Auto Dock. Elle calcule automatiquement les cartes quadrillées et les clusters [19].

Le programme AutoDock Vina implanté dans le logiciel UCSF Chimera a été conçu pour être compatible avec le format de fichier de structure PDBQT utilisé pour AutoDock 4.

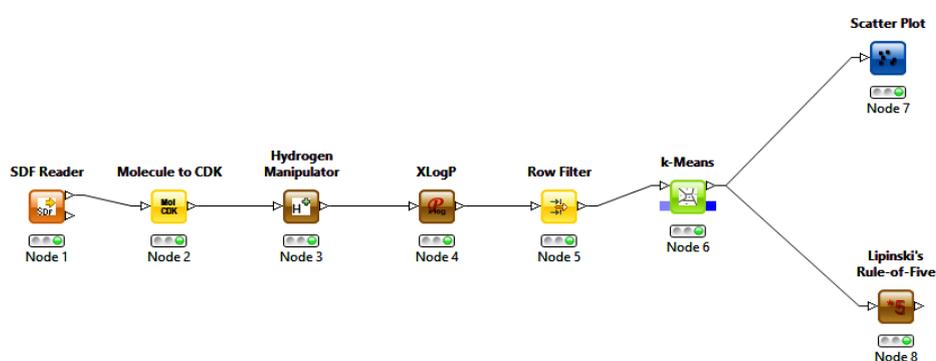
Les paramètres d'un calcul d'AutoDock Vina sont :

- Les noms des fichiers contenant le récepteur et ligand.
- L'état initial du ligand (position, orientation et conformation aléatoire ou précisée) ;
- Dimensions de la grille à utiliser ;
- Enfin lancer le processus de Docking ;

A la fin de chaque cycle d'exploration, AutoDock Vina enregistre la meilleure interaction avec le ligand.

#### III-4.3.4. Préparation des inhibiteurs:

Les composés similaires de la coumarine (format 3D extension SDF) ont été téléchargés à partir Pub Chem Project et ils sont représentés dans le tableau 1. Ces structures doivent vérifier la règle de Lipinski pour cela on a utilisé le programme de pipeline KNIME 2.7.0 (<http://www.knime.org/nœuds>) (figure 18).



**Figure 18:** Pipeline de nœuds utilisés dans KNIME pour la préparation du criblage virtuel de base de données.

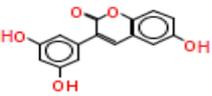
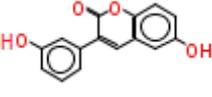
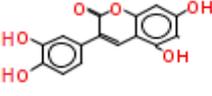
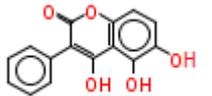
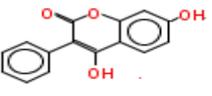
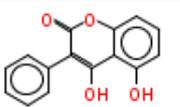
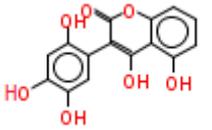
La règle de 5 de Lipinski est en relation directe avec les propriétés biologiques d'absorption, de digestion, de métabolisme et d'excrétion éventuelles des molécules étudiées. La règle a été formulée par Christopher A. Lipinski en 1997, basée sur l'observation que la plupart des médicaments sont relativement petites et lipophiles [20,21].

La règle de Lipinski stipule que, en général, un médicament actif par voie orale doit avoir cinq critères :

- Un poids moléculaire (PM) maximum de 500g/mol.
- Nombre d'angles de rotations (LF) <5,
- LogP calculée ( $-2 < \log P < 5$ ),
- Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène doit être inférieur à 5 (DH) (OH ou NH).
- Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène doit être inférieur à 10 (AH) (O ou N).

Le tableau suivant présente les résultats de la règle de Lipinski appliquée aux dérivés de coumarine étudiés. Les résultats des prédictions des règles de Lipinski sont présentés dans (tableau 8) pour tous les dérivés de coumarine la règle Lipinski est vérifiée.

**Tableau 8:** Résultats de la règle de Lipinski sur les différents composés de coumarine :

Ligands	PM (g/mol)	DH	AH	LogP	Energies(u.a)
 CID 1153633	270.2369	3	5	2.414	-0.2144933
 CID 44562470	254.2375	2	4	2.82	-0.1450174
 CID 52937587	286.2363	4	6	2.16	<b>-0.2820153</b>
 CID 54736541	270.2369	3	5	2.9	-0.210901
 CID 12464343	254.2375	2	4	2.82	-0.1440558
 CID 54702662	254.2375	2	4	3.14	-0.1413305
 CID 71335585	302.2357	5	7	2.08	<b>-0.3459077</b>

### III-4.3.5. Étude de docking moléculaire

Études d'amarrage moléculaires ont été réalisées avec UCSF Chimera qui est un programme extensible pour la visualisation et l'analyse des structures moléculaires et les données connexes, y compris des cartes de densité, des alignements de séquences, les résultats d'accueil, et de dynamiques moléculaires trajectoires [22], interactives pour obtenir l'affinité et mode de liaison des inhibiteurs du site actif de la MAO-B. L'optimisation de la géométrie de la MAO-B a été réalisée en utilisant le champ de force AMBERff03.r1 [23] et par des calculs d'énergie AutoDock Vina implantées dans le logiciel UCSF Chimera ([www.cgl.ucsf.edu/chimera](http://www.cgl.ucsf.edu/chimera))[24]. AutoDock Vina, un nouveau programme pour l'amarrage moléculaire et criblage virtuel, permet l'exécution des calculs ligand-récepteur. AutoDock Vina utilise une méthode de gradient d'optimisation sophistiquée dans sa procédure d'optimisation locale. Le gradient donne en fait l'algorithme d'optimisation d'un "sens de l'orientation" à partir d'une seule évaluation [25] et un programme de simulation d'amarrage de ligand flexible sur un récepteur rigide.

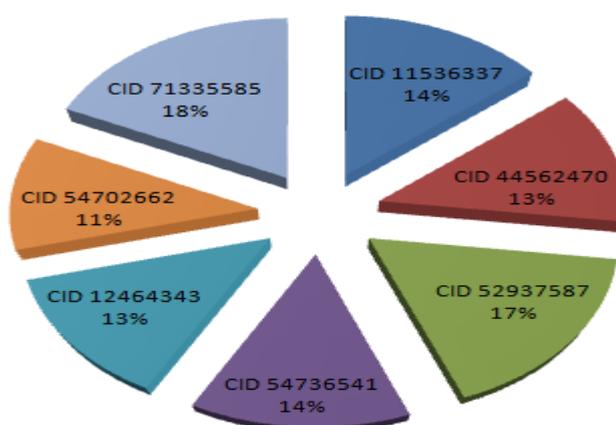
MAO-B est une cible importante pour le développement de nouveaux médicaments contre la maladie de Parkinson. Les inhibiteurs correspondants sont actuellement explorés comme médicaments potentiels pour le traitement clinique du MP [26], et sont utilisés aussi pour soulager les symptômes ou ralentir la progression de la maladie de Parkinson (MP) [27].

La qualité des résultats d'amarrage peut être affectée par la simplification du traitement de structures protéiques en tant qu'entités rigides. la Flexibilité sélective des résidus est une option disponible sur plusieurs outils moléculaires d'accueil [28], y compris Autodock Vina utilisé dans ce travail, a été exécuté plusieurs fois pour obtenir différentes conformations amarré, et utilisé pour analyser l'énergie d'accueil prévu. Les sites de liaison pour ces molécules ont été sélectionnés sur la base de la poche enzymatique.

Les interactions entre les différentes énergies de la MAO-B et différents inhibiteurs sont calculées lors de l'amarrage moléculaire, ils sont présentés dans le tableau 9 suivant:

**Tableau 9:** résultats de docking moléculaire de différentes coumarines avec la MAO-B.

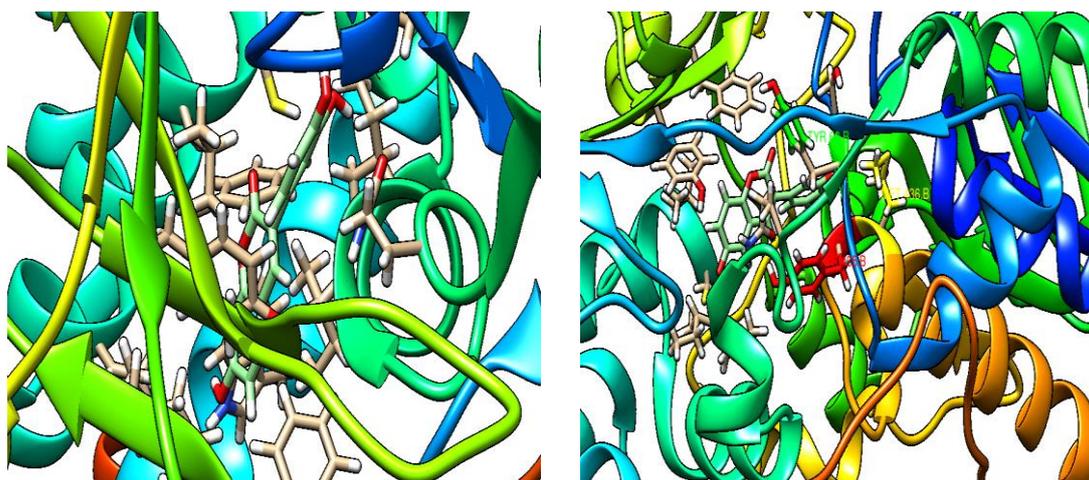
Compounds	CID						
	11536337	44562470	52937587	54736541	12464343	54702662	71335585
Score (Kcal/mol)	-7.9	-7.1	-9.4	-7.6	-7.3	-6.1	-9.8



**Figure 19:** Complémentarité des complexes coumarines- MAO-B

(4CRT.pdb)

D'après les résultats obtenus dans notre travail, il apparaît que les valeurs obtenues sur les énergies d'interaction de AutoDock Vina implantées dans le UCSF Chimera sont du même ordre de grandeur pour tous les inhibiteurs à l'exception de deux inhibiteurs: CID 52937587 et CID 71335585. Ces derniers possèdent une basse énergie similaire (-9.4 Kcal/mol, -9.8 Kcal/mol) donc des inhibiteurs les plus stable et présentent une bonne complémentarité (figure 20).



CID 52937587

CID 71335585

**Figure 20:** Meilleurs inhibiteurs de la MAO-B (CID 71335585 et CID 52937587).

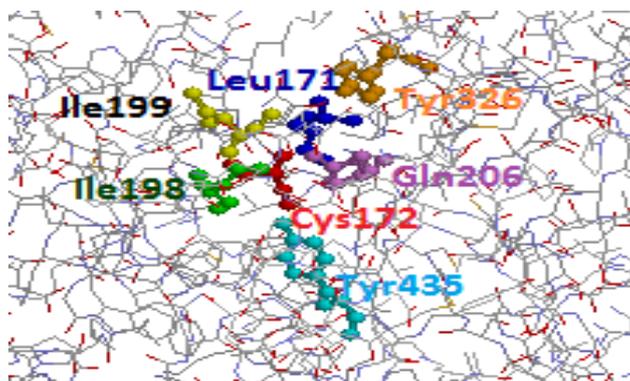
**Tableau 10:** Les distances entre les sites acides aminés et les groupes actifs d'inhibiteurs

CID 71335585 et CID 52937587.

Compounds	Ile 199	Ile 198	Gln206	Cys172	Tyr 435	Leu171	Tyr 326
CID 71335585	2.689	2.921	3.176	2,599	1.612	3.101	3,370
CID 52937587	2.799	3.078	3.224	3.541	1.935	2.762	2.168

Nous avons mesuré les distances entre les groupes R de l'inhibiteur de la coumarine, et les chaînes d'acides aminés latérales qui forment le site actif et éventuellement d'autres groupes de la chaîne principale de l'enzyme responsable de l'interaction . Les distances mesurées varient entre 1,612 Å et 3,541 Å pour les deux complexes étudiés (tableau 10).

Selon les interactions de liaison hydrogène des acides aminés du site actif de la monoamine oxydase-B avec divers coumarines, on peut prédire les acides aminés qui forment le site actif. La cavité enzymatique monoamine-oxydase B est formée dans la séquence suivante des résidus (figure 21): Ile199, Ile 198, Gln206, Cys172, Tyr 435, Leu171, Tyr 326.

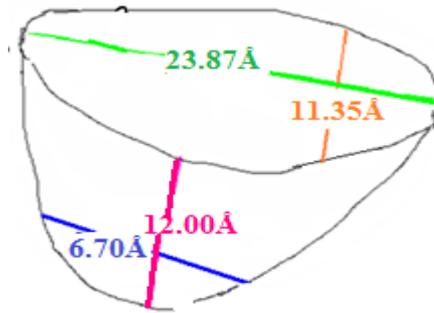


**Figure 21:** Résidus du site actif

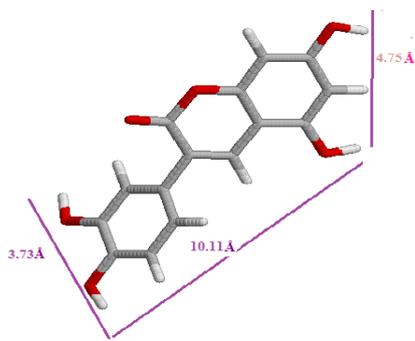
Suite à l'apparition de résidus de sites actifs dans la plupart des interactions de liaison hydrogène avec les différents coumarines, on peut en déduire qu'ils font partie de l'inhibition de la monoamine oxydase-B. Le grand nombre d'interaction avec les résidus de sites actifs qui confèrent inhibiteurs CID 71335585 et CID 52937587 présente une meilleure complémentarité.

#### **III-4.3.6. Résultats des dimensions de la cavité enzymatiques**

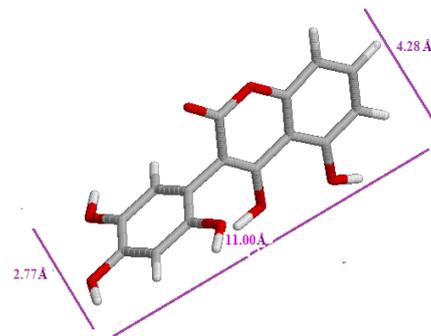
Notez que nous pouvons discuter de la complémentarité en augmentant ou en diminuant la taille de l'intervalle de la poche du site actif, dans notre cas, la poche enzymatique possède une largeur de 11,35 Å et une profondeur de 12 Å.



Cavité enzymatique



CID 52937587



CID 71335585

**Figure 22:** Dimensions de deux coumarines.

L'examen de la cavité enzymatique, et le calcul des distances entre les inhibiteurs R et les chaînes latérales des acides aminés constitutifs du site actif et des énergies calculées, confirment que les inhibiteurs CID 71335585 et CID 52937587 avec les groupes OH présentent une forte interaction de liaison hydrogène et une meilleure complémentarité avec la monoamine oxydase B. Les deux inhibiteurs CID 71335585 et CID 52937587 (Figure 22) peuvent être proposés pour un traitement naturel de la maladie de Parkinson durant le premier stade.

## Conclusion

Méthodes de criblage virtuel sont régulièrement et largement utilisées pour le coût et le temps de la découverte de nouveaux médicaments. Les IMAO-B sont les médicaments les plus importants pour la gestion clinique de la maladie de Parkinson. Il a été clairement démontré que l'approche utilisée dans cette étude prouve que les deux nouveaux inhibiteurs CID 71335585 et CID 52937587 ont montré une forte affinité d'énergie de liaison avec un score de -9.8 et -9.4 kcal / mol, respectivement. Selon les critères de la règle Lipinski, tous les composés pourraient être bon candidat pour le développement de médicaments.

Pour conclure, compte tenu des résultats obtenus dans ce travail, qui consiste à l'élucidation de l'inhibition de la monoamine-oxydase B par les méthodes de modélisation moléculaire, il semble que le CID 71335585 et CID 52937587 présenté probablement une meilleure contribution à l'inhibition pour diminuer l'évolution de la maladie de Parkinson.

## Références:

1. Carlson H.A, Mc Common J.A. Accommodating protein flexibility in computational drug design. *Pharmacology*, 2000, 57, 213-218.
2. Carlson H.A. Protein flexibility and drug design: how to hit a moving target. *Curr. Op. Chem. Biol*, 2002, 6, 447-452.
3. Carlson H.A. Protein flexibility is an important component of structure-based drug discovery. *Curr. Pharm*, 2002, 8, 1571-1578.
4. Teague S.J. Implications of protein flexibility for drug discovery. *Nature rev. drug Discov*, 2003, 2, 527-541.
5. Grosdidier A. Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives. Thèse de doctorat en pharmacie. Grenoble : Université Joseph Fourier. France. 2007. 90p.
6. Berman H. M, Westbrook J, Feng Z, Gilliland G, Bhat T. N, Weissig H, et al. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28, 235-242.
7. Bonifácio M. J, Archer M, Rodrigues M. L, Matias P. M, Learmonth D. A, Carrondo M. A, et al. Kinetics and Crystal Structure of Catechol-O-Methyltransferase Complex with Co-substrate and a Novel Inhibitor with Potential Therapeutic Application. *Mol Pharmacol*, 2002, 62, 795-805.
8. Prins L. H.A, Petzer J. P, Malan S. F. Inhibition of monoamine oxidase by indole and benzofuran derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2010, 45, 4458-4466.
9. Esteban G, Allan J, Samadi A, Mattevi A, Unzeta M, Marco-Contelles J, Binda C, Ramasy RR. L'analyse cinétique et structurale de l'inhibition irréversible de la monoamine oxydases humaines par ASS234, un composé multi-cible conçu pour une utilisation dans la maladie d'Alzheimer. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1104-1110.

10. Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, et al. Gaussian 03, Revision D.01. Wallingford, CT: Gaussian, Inc, 2004.
11. Jee-Young Lee and Yangmee Kim. Comparative Homology Modeling and Ligand Docking Study of Human Catechol-O-Methyltransferase for Antiparkinson Drug Design. *Bull. Korean Chem. Soc* 2005, 26, 11.
12. Louis H.A. Prins, Jacobus P. Petzer, Sarel F. Malan. Inhibition of monoamine oxidase by indole and benzofuran derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry* , 2010, 45, 4458-4466
13. Molegro Virtual Docker User Manual, <http://www.molegro.com/>. [cited 2011 January 17th].
14. Bowman A.L, Nikolovska-Coleska Z, Zhong H, Wang S, Carlson H.A. Small molecule inhibitors of the MDM2-p53 interaction discovered by ensemble-based receptor models. *J. Am. Chem. Soc*, 2007; 129: 12809-12814.
15. Cheng L.S, Amaro R.E, Xu D, Li W.W, Arzberger P.W, McCammon J.A. Ensemble-based virtual screening reveals potential novel antiviral compounds for avian influenza neuraminidase. *J. Med. Chem*, 2008, 51, 3878-3894.
16. Zdenek Fisar, Jana Hroudova, Jiri Raboch. Inhibition of monoamine oxidase activity by antidepressants and mood stabilizers. *Neuroendocrinol Lett*, 2010, 5, 645-656.
17. Ramsay RR, Gravestock MB. Monoamine oxidases: to inhibit or not to inhibit. *Mini Rev Med Chem*, 2003, 3, 129-136.
18. Li-Hua Mua, Bo Wang, Hao-Yang Ren , Ping Liu , Dai-Hong Guo, Fu-Meng Wang, Lin Bai , Yan-Shen Guo. Synthesis and inhibitory effect of piperine derivatives on monoamine oxidase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2012, 22, 3343-3348.

19. Oleg Trott , Arthur J. Olson. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J Comput Chem*, 2010.
20. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, March 2001, 46 , 3–26.
21. Jump up to: Lipinski CA. Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. *Drug Discovery Today: Technologies*, 2004, 4, 337–341.
22. Zheng Yangzx, Keren Lasker, Dina Schneidman-Duhovny, Ben Webb, Conrad C. Huang, Eric F. Pettersen, Thomas D. Goddard, Elaine C. Meng, Andrej Sali, Thomas E. Ferrin. UCSF Chimera, Modeller, and IMP: An integrated modeling system *Journal of Structural Biology*, 2012, 179, 269–278.
23. Duan Y, Wu C, Chowdhury S, Lee MC, Xiong G, Zhang W, Yang R, Cieplak P, Luo R, Lee T , Caldwell J, Wang J, Kollmann P. Un champ de force au point de frais pour la mécanique simulations moléculaires de protéines à base de phase condensée calculs de mécanique quantique. *J Comput Chem*, 2003, 16 , 1999-2012.
24. Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, Ferrin TE. UCSF Chimera visualization system for exploratory research and analysis. *J Comput Chem*, 2004, 13, 1605-12.
25. Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: l'amélioration de la vitesse et la précision de l'amarrage avec une nouvelle fonction de score, l'optimisation efficace, et le multithreading. *J Comput Chem*, 2010, 2, 455-461.
26. Kun Hu, Lichun Zhang, Xiangtang Li, Shulin Zhao. Rapid screening of monoamine oxidase B inhibitors in natural extracts by capillary electrophoresis after enzymatic reaction at capillary inlet. *Journal of Chromatography B*, 2010, 878, 3156–3160

- 
27. B.H. Moussa, M.B.H. Youdim, F. Peter. *Neurology* .2004, 63, S32.
28. Samadi A, Fuente Revenga M, Pérez C, Iriepa I, Moraleda I, Rodríguez-Franco M. I, Marco-Contelles J. Synthesis, pharmacological assessment, and molecular modeling of 6-chloro-pyridonepezils: New dual AChE inhibitors as potential drugs for the treatment of Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry*,2013, 67, 64-74.

---

# Conclusion générale

Dans le cadre de l'étude des mécanismes régissant l'évolution de la MP, nous nous sommes intéressés aux interactions moléculaires entre les trois enzymes étudiées et les différents inhibiteurs à l'aide des méthodes de modélisation moléculaire. Les outils informatiques retenus pour mener à bien cette étude sont la mécanique moléculaire, la dynamique moléculaire et le Docking moléculaire.

Cette étude comprend trois chapitres :

Dans le premier chapitre, la MP qu'est une maladie neurodégénérative la plus commune après la maladie d'Alzheimer. Elle est caractérisée d'un point de vue neuropathologique principalement par la dégénérescence et la mort des neurones dopaminergiques de la substance noire[1]. La MP est décrite par :

- Des généralités sur cette maladie,
- Statistiques de la maladie,
- Historique de la maladie,
- Les facteurs de risque,
- Les symptômes de la maladie,
- Traitement actuel de la maladie.

Dans le deuxième chapitre, nous avons décrit des méthodes utilisables pour analyser l'affinité d'une molécule organique ou synthétique pour une cible de nature protéique. En particulier, nous avons montré l'intérêt du docking [2] pour lequel il est primordial de considérer la flexibilité du ligand. Nous avons également introduit la notion de mécanique moléculaire est un outil puissant utilisé pour mieux comprendre les petits systèmes moléculaires et pour répondre à certaines questions concernant la structure électronique de

molécules [3]. La définition du champ de force est aussi apportée, le champ de force représente l'une des approximations en modélisation moléculaire, et qui a pour objectif de décrire des classes entières de molécules avec une précision relativement probable [4], la notion de dynamique moléculaire en amont du docking afin d'introduire l'information de variabilité structurale de la cavité. Par ailleurs, les fonctions de scoring ont été décrites ainsi que la manière dont l'information doit en être interprétée.

Dans un troisième chapitre, est consacré aux résultats obtenus ainsi qu'à la discussion et l'interprétation de ces derniers.

Nous avons pu élucider les mécanismes d'interaction entre les trois enzymes étudiées et les différents inhibiteurs par visualisation des différents types de liaisons faibles mis en jeu. Les résultats montrent que pour la première étude de la COMT et des différents catéchols étudiés, les valeurs obtenues relatives aux énergies d'interaction de Mol Dock Score et les distances mesurées entre les groupements des inhibiteurs et ceux des chaînes latérales dans les deux cavités sont du même ordre de grandeurs pour tous les inhibiteurs à l'exception la catéchol-3 qui présente une meilleure inhibition pour ralentir l'évolution de l'enzyme étudiée.

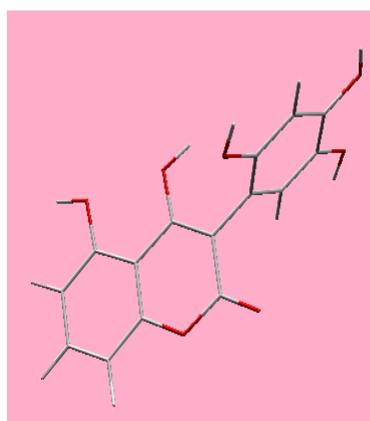
Dans la deuxième étude de la MAO-B et les dérivés d'indole l'exploitation de quelques données expérimentales en occurrence des  $IC_{50}$  pour les structures des dérivés d'indole choisis pour cette étude en se basant sur l'énergie d'interaction totale, montre un accord acceptable pour l'inhibiteur-4. En effet, l'inhibiteur-4 "  $E = -151,007$  Kcal / mol " et "  $IC_{50} = 0.06 \pm 0.01$  " est plus actif que les autres inhibiteurs. L'interaction entre l'inhibiteur-4 et Arg42 présente une liaison hydrogène formée entre l'atome d'azote de l'inhibiteur-4 et le groupe hydroxyle en groupement d'acide carboxylique de Arg42.

La troisième étude est consacré à la discussion des résultats obtenus à partir des calculs effectués qui concerne l'étude théorique de l'inhibition de la MAO-B et les dérivés

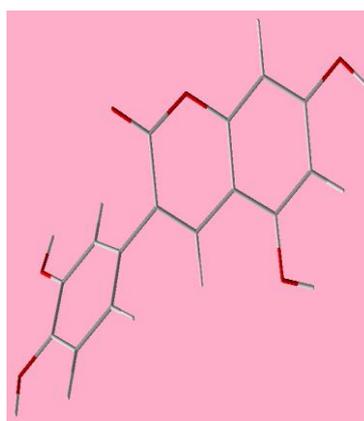
coumarines. La discussion est basée sur les énergies d'interaction minimale des complexes MAO-B - dérivés coumarines obtenus à l'aide du programme AUTODOCK VINA.

L'examen de la cavité enzymatique, et le calcul des distances entre les inhibiteurs R et les chaînes latérales des acides aminés constitutifs du site actif et des énergies calculées, confirment que les inhibiteurs CID 71335585 et CID 52937587 avec les groupes OH présentent une forte interaction de liaison hydrogène et une meilleure complémentarité avec la monoamine oxydase B. Enfin, il est important de noter que les différents inhibiteurs de la MAO-B testés par cette étude sont, en général, conformes aux critères imposés par la règle de Lipinski .

Pour conclure, au vu des résultats obtenus dans ce travail, qui consiste en l'élucidation de l'inhibition de la MAO-B par les méthodes de modélisation moléculaire dans le but de découvrir de nouveaux médicaments antiparkinsonien , nous proposons les composés CID 71335585 et CID 52937587 comme nouveaux inhibiteurs potentiels de l'enzyme. Les deux inhibiteurs seraient probablement les meilleurs pour ralentir l'évolution de la MP.



CID 71335585



CID 52937587

En perspective

Ce travail n'est cependant pas encore terminé, les prochaines étapes consisteront :

- A utiliser d'autres programmes de docking moléculaire, parmi les plus récents et les plus performants, pour tester tous les inhibiteurs de différents enzymes étudiés jusqu'à présent afin de proposer les meilleurs.

- A proposer des substitutions dans le but de découvrir de nouveaux inhibiteurs plus efficaces de la MP.

- Enfin une étude expérimentale *in vitro* et/ou *in vivo* devra permettre de vérifier ensuite les résultats théoriques obtenus.

- Un autre aspect dont il faut tenir compte et qu'on ne peut le quantifier, est le paramètre RMSD (Root Mean Square Deviation) entre deux conformations supposées.

- Il faut tenir compte également de l'effet de solvant qui a été négligé dans notre approche.

---

**Références:**

1. Tanner,C.M. & Aston,D.A. Epidemiology of Parkinson's disease and akinetic syndromes. Curr. Opin. Neurol, 2000, 13, 427-430.
2. D. Duhovny, R. Nussinov, H. J. Wolfson, Efficient unbound docking of rigid molecules, 2002 .
3. M. Ledecq, thèse de doctorat, Université de Notre-Dame de la Paix, France, 2004.
4. I. Soury-Lavergne Navizet, thèse de doctorat, Université Paris 6, France, 2004.



See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <http://www.researchgate.net/publication/272415901>

# Docking Studies on Binding Modes between the Catechol-O-Methyltransferase and Catechol Derivatives for Antiparkinson Drug

ARTICLE · AUGUST 2014

DOI: 10.17265/1934-7375/2014.10.007

---

DOWNLOADS

61

---

VIEWS

92

5 AUTHORS, INCLUDING:



Ghalem Said

About Bakr Belkaid University of Tlemcen

53 PUBLICATIONS 188 CITATIONS

SEE PROFILE

# Docking Studies on Binding Modes between the Catechol-O-Methyltransferase and Catechol Derivatives for Antiparkinson Drug

Wassila Soufi, Meriem Merad, Faiza Boukli, Fatima Lebbad and Said Ghalem\*

*Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Tlemcen, Tlemcen 13000, Algeria*

**Abstract:** Inhibition of the enzyme COMT (catechol-O-methyltransferase) is an important approach in the treatment of Parkinson's disease. A series of potent catechols for COMT may give insight to develop new ways of antiparkinson drug. COMT inhibitors represent a new class of antiparkinson drugs, when they are coadministered with levodopa. Our goal of research is to study the inhibition of catechol-O-methyltransferase by molecular modeling methods. Different molecular modeling tools are used to perform this work (molecular mechanics, molecular dynamics and molecular docking (molegro virtualdocking)). The results obtained from this work, into which the inhibition of catechol-O-methyltransferase by molecular modeling methods was elucidated, allow us to conclude that different catechols presents a more optimised inhibition of catechol-O-methyltransferase. The results suggest reducing the severity of Parkinson's disease.

**Key words:** Parkinson's disease, COMT, catechols, DFT (density functional theory), molecular docking, molegro.

## 1. Introduction

Neurodegenerative diseases of the human brain encompass a diversity of disorders. The age dependent neurodegenerative diseases include Parkinson's disease and Alzheimer's disease [1], which are caused by genetic and environmental influences [2] and lead to the accumulation of protein aggregation thereby causing oxidative stress and inflammation. Parkinson's disease is characterized by progressive loss of dopamine producing neurons in the substantia nigra pars compacta, and results in a drastic depletion of dopamine in the striatum, to which these neurons project [3]. The discovery of PD (Parkinson's disease) genes has led to the hypothesis that misfolding of proteins and dysfunction of the ubiquitin-proteasome pathway are pivotal to PD pathogenesis [4]. Previously implicated culprits in PD neurodegeneration, mitochondrial dysfunction and

oxidative stress, may also act in part by causing the accumulation of misfolded proteins, in addition to producing other deleterious events in dopaminergic neurons:

- Parkinson's disease begins after 70 years of various clinical signs of this disease occur in young people [5];
- a evolution to dementia and the occurrence of more frequent hallucinations;
- symptoms of dystonia, dyskinesia and motor fluctuations appear to be less frequent on youth health.

COMT (catechol-O-methyltransferase) is a key enzyme for inactivation and metabolism of catechols, including dopamine, norepinephrine, caffeine and estrogens. It plays an important role in cognition, arousal, pain sensitivity and stress reactivity in humans and in animal models. The human COMT gene is associated with a diverse spectrum of human behaviors and diseases from cognition and psychiatric disorders to chronic pain and cancer [6]. COMT inactivates catecholamines, and a G to A substitution in codon 108 in the soluble COMT mRNA (or codon

---

\*Corresponding author: Said Ghalem, Professor, research fields: molecular modeling and docking study. E-mail: s\_ghalem2002@yahoo.fr.

158 in the membrane-bound form) [7] substitutes methionine for valine and alters enzyme activity.

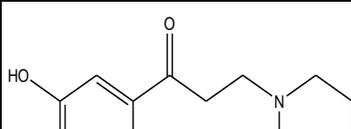
The dopamine system is known to modulate brain function in an inverted U-shaped manner. Recently, the functional networks of the brain were categorized into two systems, a “control system” and a “processing system”. However, it remains unclear whether the inverted U-shaped model of dopaminergic modulation could be applied to both of these functional systems [8]. The L-Dopa (dopamine precursor levodopa) is proved to be a powerful drug for Parkinson’s disease. To increase the action of L-Dopa and to control the catabolism of L-Dopa, the adjuvant like inhibitors of peripheral AADC (l-amino acid decarboxylase), COMT or MAO B (mono amine oxidase B) can be supplemented [9]. The characteristic perturbations in the metabolome could be used as the marker for disease diagnosis [10]. In order to overcome the side effects of synthetic drugs, the catechols can be used as substituents. Therefore, the present study focused to screen the catechols for the inhibition of COMT using molecular docking studies.

## 2. Materials and Methods

### 2.1 Preparation of Ligand Structures

The found structures were optimized at DFT (density functional theory) level using hybrid functional density B3LYP (Becke 3-parameter (exchange), Lee, Yang and Parr (correlation; density functional theory)) with 6-31G\* basis (Gaussian 03) [11].

Catechol-1 is the basic structure of our inhibitor (Fig. 1).

	Catechol-2	Catechol-3	Catechol-4
	-NO <sub>2</sub> «Attractor» by -NH <sub>2</sub> «Donor» and -CF <sub>3</sub> «Attractor»	-NO <sub>2</sub> «Attractor» by -HSO <sub>3</sub> «Attractor» and -CF <sub>3</sub> «Attractor» by -COOCH <sub>3</sub>	-NO <sub>2</sub> «Attractor» by -Cl «Donor» and -CF <sub>3</sub> «Attractor» by -C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>

### 2.2 Preparation of Protein Structure

The downloading of COMT was made from the data base Bookhaven Protein Data Bank (www.rcsb.org/pdb) [12] (access code 1H1D) [13]. It is co-crystallized with inhibitors-adenosylmethionine.

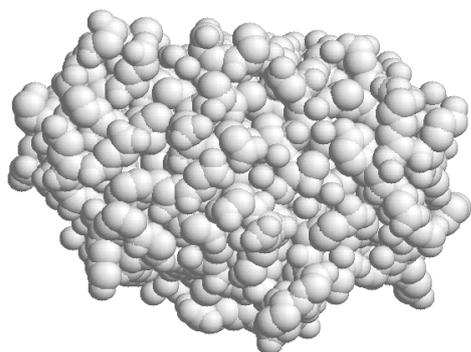
The three-dimensional structure of COMT was obtained by X-ray diffraction with a resolution (2 Å). It is noted that the COMT crystallizes as a monomer (Fig. 2), with 214 residues and 1,680 atoms. With the reducing effect of molecular modeling, we simplified the model of the enzyme by removing water molecules. This allowed us to obtain the model shown in Fig. 3.

### 2.3 Energy Minimization Using Swiss PDB (Protein Data Bank) View

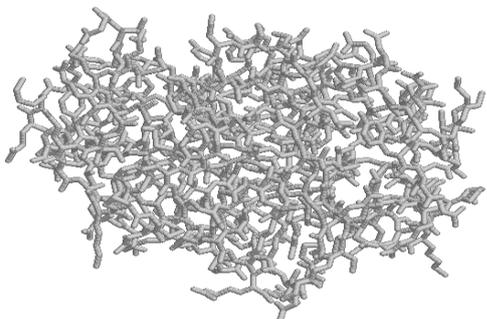
MVD (molegro virtual docker) is a fast and flexible docking program that gives the most likely conformation of ligand binding to a macromolecule. MVD allows you to minimize a protein with respect to itself and other structures in the workspace. The minimization is performed using a fairly simple force field (it uses the PLP (piecewise linear potential)) potentials for steric and hydrogen bonding interactions, and the coulomb potential for the electrostatic forces. Initially the objectives proposed by Gehlhaar et al. [14] and later taken up and extended by Schulz et al. [15]. The scoring function was further improved to include new charge schemes and hydrogen bonding term.

	by -CH <sub>3</sub> «Donor»	«Attractor»	«Donor»
--	-----------------------------	-------------	---------

**Fig. 1** Catechol derivatives.



(a)



(b)

**Fig. 2** The monomeric form of COMT.



**Fig. 3** Simplified model of COMT.

#### 2.4 Molecular Docking Study

Docking studies were performed using the MVD 2011 [16-18] program, graphical-automatic software (<http://molegro.com/mvd-product.php>) that handles all aspects of the docking process from preparation of the molecules to determination of the potential binding sites of the target protein, and prediction of the binding modes of the ligands. The protein COMT was prepared for molecular docking by adding all

hydrogen atoms using standard procedures. The water molecules and other heteroatoms were deleted. The binding energy was observed for each ligand protein complex.

In this study, molecular docking studies were carried out using MVD docking program, to get the favorable binding modes for compounds within the active site of COMT.

### 3. Results and Discussion

Molecular docking simulations were used to investigate possible binding modes of catechols inhibitors studied within the active site of COMT. Several plausible binding modes were detected and were ranked on the basis of their MolDock score.

In MVD, selected parameters were used for the guided differential evolution algorithm: number of runs = 10, population size = 50, maximum iterations = 1,500 and the energy threshold = 100. A grid resolution of 0.30 Å was set to initiate the docking process.

To obtain better potential binding sites in the COMT, a maximum of five cavities was detected using default parameters. The volume and surface area details were given as Table 1. The volume of cavity 1 (38.4 Å<sup>3</sup>) was found to be higher than the other cavities, also we found that the reference ligand of COMT is fixed in cavity 2 (14.336 Å<sup>3</sup>). Out of the detected cavities, cavities 1 and 2 were selected for further studies (Fig. 4).

Molecular docking simulations were used to investigate possible binding modes of catechols inhibitors studied within the active site of COMT. Several plausible binding modes were detected and were ranked on the basis of their MolDock score. The docking results of the four catechols inhibitors with COMT in the both cavities are listed in Table 2, which

**Table 1** Chemical properties of our cavities.

Cavities	Volume (Å <sup>3</sup> )	Surface area (Å <sup>2</sup> )	Cavity 4	11.264	55.04
Cavity 1	38.4	138.4	Cavity 5	5.12	26.88
Cavity 2	14.336	57.6			
Cavity 3	11.776	53.76			

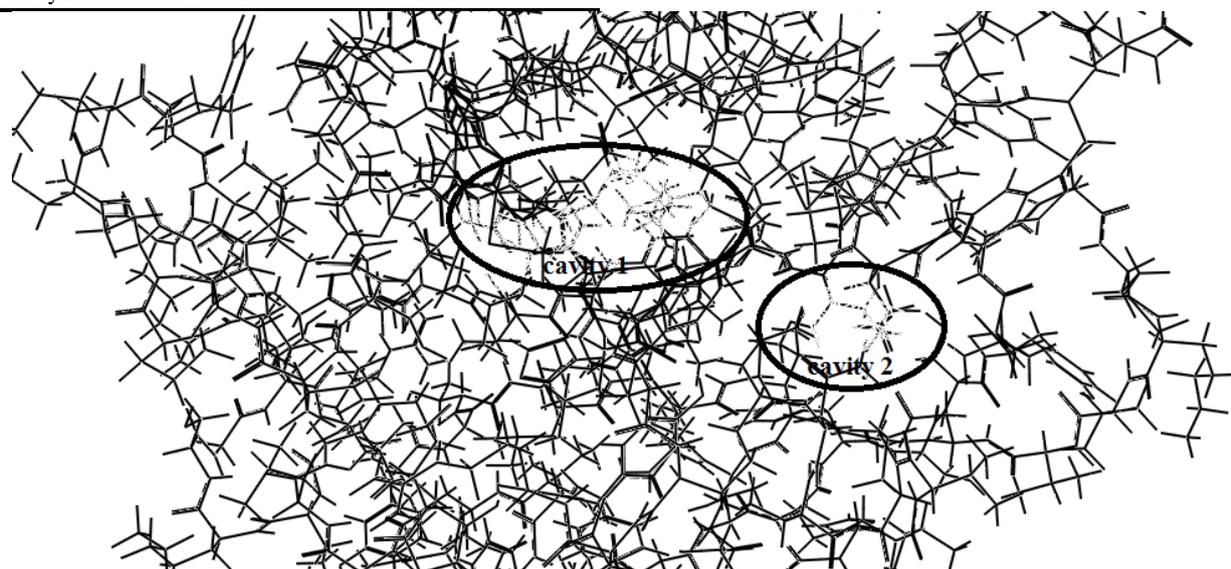


Fig. 4 Presentation of the two cavities identified by MolDock (cavity 1 and cavity 2 indicated by ellipses).

Table 2 Docked results and interacting residues in the both cavities.

Inhibitor	MolDock score	H-bond	Cavity 1		Cavity 2	
			Interacting amino acid residues of COMT	MolDock score	H-bond	Interacting amino acid residues of COMT
Catechol-1	-164.119	-6.65058	Gln120, Gly66, Met40, Arg146, Asp169, Glu199, Asn170, His142	-171.977	-10.669	Gln120, Gly66, Met40, Arg146, Asp169, Glu199, Asn170, His142
Catechol-2	-175.426	-4.79247	Ser119, Gly117, Gly66, Met40, Asp141, Asp169, Glu199, Asn170, His142, Trp143	-172.171	-8.9397	Ser119, Gly117, Gly66, Met40, Asp141, Asp169, Glu199, Asn170, His142, Trp143
Catechol-3	-185.808	-9.34374	Ser119, Gly117, Gly66, Met40, Asp141, Asp169, Glu199, Asn170	-192.180	-10.9178	His142, Met40, Gly66, Asp141, Asp169, Glu199, Asn170, Trp143, Lys144
Catechol-4	-167.466	-7.51661	Gly66, Asp141, Asp169, Glu199, Asn170, Lys144, His142, Trp143	-170.138	-8.83215	Gly66, Asp141, Met40, Glu199, Asn170, Asp169, Trp143

presents the interaction energy between the ligand and protein, MolDock score and hydrogen bond energy of each ligand.

The docking results are listed in Table 2, and receptor-ligand interactions are demonstrated in Fig. 5. In these docking experiments, all selected ligands were able to bind with COMT in both cavities. It is

noted for two cavities that catechol-3 showed the highest binding affinity at -185.808 kcal/mol in the cavity 1 and -192.180 kcal/mol in the cavity 2. If we compared between the two cavities, it was noted that catechol-3 for example (Fig. 5) in the cavity 2 establishes multiple interactions enzyme-substrate, which gives it great stability. For these reasons, we

### Docking Studies on Binding Modes between the Catechol-O-Methyltransferase and Catechol Derivatives for Antiparkinson Drug

can deduce that cavity 2 is more favorable than cavity 1.

Rescoring of these docked results using molegro revealed that catechol-1, catechol-2 and catechol-4

binds within the active site of COMT with binding free energy, which was higher than that found for

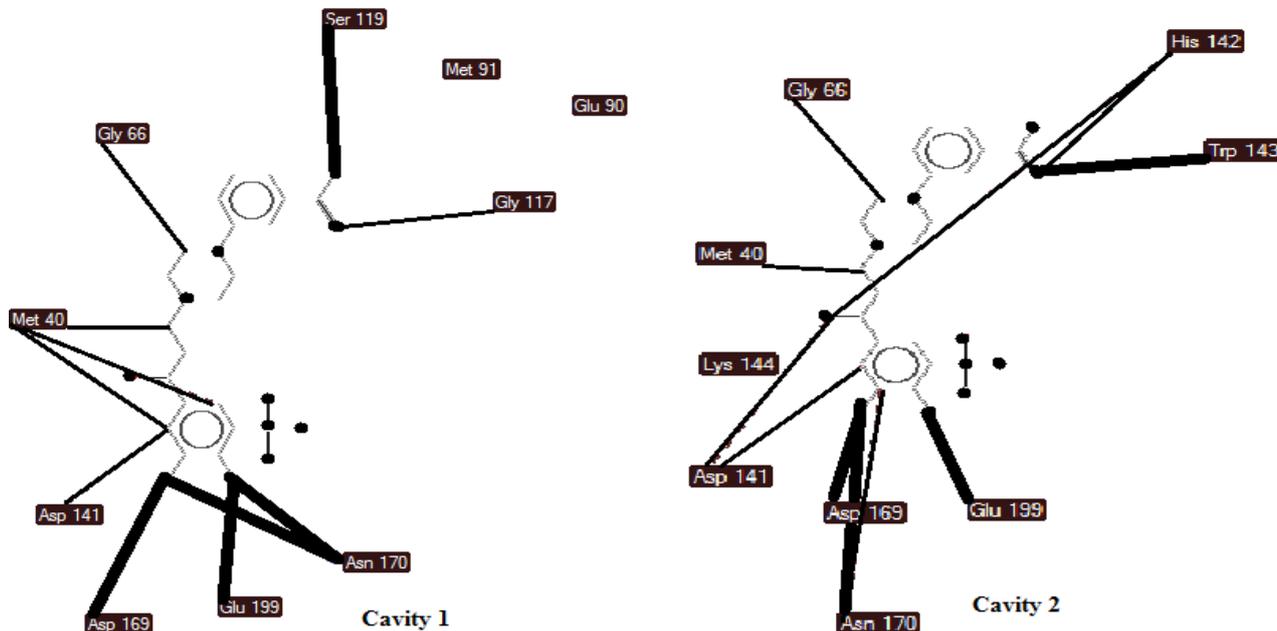


Fig. 5 The binding mode between catechol-3 with binding site of COMT in both cavities (coarse black line: H-bond interactions, thin black line: steric interactions).

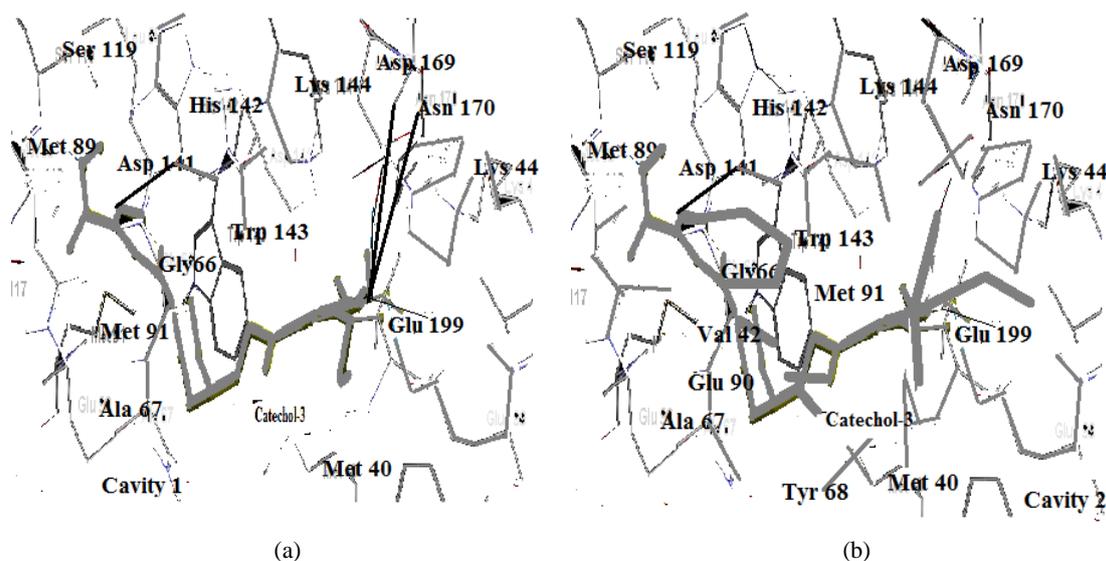


Fig. 6 The interaction models between COMT and catechol-3 (cavity 1 and cavity 2).

catechol-3. The mode of attachment of the catechol-3 is located in the active site of COMT is provided in the two cavities in Fig. 6.

The distances between the active site amino acids

and inhibitors:

We measured distances between inhibitors groups of side chains responsible for interaction of different catechols in both cavities as shown in Table 3.

We measured the distances between the groups (*R*) different catechols and side chains of amino acids forming the active site and possibly other groups in the main chain of the enzyme responsible for the interaction (which may cause a conformation

favorable to a high complementarity resulting in consistent activity). The measured distances vary between 2.55 Å and 3.24 Å for all complexes studied.

**Table 3 Distances between the amino acids of the active site and groups of inhibitors in both cavities.**

Cavity 1									
Distances (Å)	Gly117	Gly66	Met40	Glu199	Asp169	Ser119	Asp141	His142	Asn170
Catechol-1	-	3.03	2.52	2.89	3.10	-	-	-	3.05
Catechol-2	-	3.19	3.19	2.93	3.10	2.76	3.00	-	3.09
Catechol-3	2.55	3.09	2.97	3.19	3.04	2.60	3.01	-	2.98
Catechol-4	-	3.17	-	2.71	3.19	-	3.12	2.97	3.05
Cavity 2									
Distances (Å)	Gly117	Gly66	Met40	Glu199	Asp169	Ser119	Asp141	His142	Asn170
Catechol-1	-	3.03	2.52	2.89	3.10	-	-	-	3.05
Catechol-2	-	3.19	3.19	2.93	3.10	2.76	3.00	-	3.24
Catechol-3	-	2.77	3.04	2.83	2.63	-	3.06	3.16	2.76
Catechol-4	-	3.17	-	2.71	3.20	-	3.12	2.97	3.05

The interactions between 2.5 Å and 3.5 Å are considered high and those between 3.1 Å and 3.55 Å are assumed averages. Interactions greater than 3.55 Å are weak or absent [19].

In light of the results, it appears that the introduction of bulky groups causes a conformational rearrangement within the active site pocket, which probably will increase the complementarity and consequently the activity.

Hydrogen bonding interactions with Asp (acide aspartique)169, Glu (acide glutamique)199 and Asn (acide asparagine)170 were detected, which may suggest the influence of the catalytic triad in the COMT inhibition mechanism by the different catechols in both cavities. We confirmed that, in four docking models, Asp169, Glu199 and Asn170 form these kinds of hydrogen bondings. These interactions caused to move inhibitors in docking models of COMT. There are not yet known biological evidences or experimental data to support these phenomena. Therefore, it can be assumed that these charged environments can play important roles to help ligands to be fixed and to overcome the binding site exposure in COMT.

#### 4. Conclusions

Three-dimensional structure of COMT was determined by comparative homology modeling. From the result of ligand docking for four COMT inhibitors, four models were energetically favorable.

To conclude, given the results obtained in this work, which consists in the elucidation of the inhibition of COMT by the methods of molecular modeling, it appears that the catechol-3 presents probably a better contribution to inhibition by other to slow the progression of Parkinson's disease.

#### References

- [1] Aruoma, O. I.; Bahorun, T.; Jen, L. S. Neuroprotection by Bioactive Components in Medicinal and Food Plant Extracts. *Mutation Research* **2003**, *544*, 203-215.
- [2] Jenner, P.; Olanow, C. W. Understanding Cell Death in Parkinson's Disease. *Ann Neurol.* **1998**, *3(1)*, 72-84.
- [3] Lotharius, J.; Brundin, P. Pathogenesis of Parkinson's Disease: Dopamine, Vesicles and  $\alpha$ -Synuclein. *Nature Reviews-Neuroscience* **2002**, *3*, 1-10.
- [4] William, D.; Serge, P. Parkinson's Disease: Mechanisms and Models. *Neuron* **2003**, *39*, 889-909.
- [5] Roze, E. What Are the Therapeutic Options for Parkinson's Disease in Elderly?. *Cah. 2 Year Gerontol.* **2012**, *4*, 50-55.

**Docking Studies on Binding Modes between the Catechol-O-Methyltransferase and Catechol Derivatives for Antiparkinson Drug**

- [6] Chen, J.; Song, J.; Yuan, P.; Tian, Q.; Ji, Y.; Renee, R.; et al. Orientation and Cellular Distribution of Membrane-Bound Catechol-O-Methyltransferase in Cortical Neurons. *J. Biol. Chem.* **2011**, *40*, 34752-34760.
- [7] Scott, H. S.; Gabor, O.; Patrick, K. R.; Raymond, F. A. COMT Genotype Influences the Effect of Alcohol on Blood Pressure: Results from the COMBINE Study. *American Journal of Hypertension* **2009**, *1*, 87-91.
- [8] Tian, T.; Wen, Q.; Bing, L.; Tianzi, J.; Chunshui, Y. Functional Connectivity in Healthy Subjects Is Nonlinearly Modulated by the COMT and DRD2 Polymorphisms in a Functional System-Dependent Manner. *The Journal of Neuroscience* **2013**, *33*(44), 17519-17526.
- [9] Nagatsu, T.; Sawada, M. L-Dopa Therapy for Parkinson's Disease: Past, Present and Future. *Parkinsonism and Related Disorders* **2009**, *15*(1), 3-8.
- [10] Ahmed, S.; Santosh, W.; Kumar, S.; Christlet, H. Metabolic Profiling of Parkinson's Disease: Evidence of Biomarker from Gene Expression Analysis and Rapid Neural Network Detection. *Journal of Biomedical Science* **2009**, *16*, 63.
- [11] Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; et al. Gaussian 03. Revision D.01. *Pople. J. A.*; Gaussian, Ed.; Inc.: Wallingford, 2004; Vol. 3, pp 1-28.
- [12] Berman, H. M.; Westbrook, J.; Feng, Z.; Gilliland, G.; Bhat, T. N.; Weissig, H.; et al. *Nucleic Acids Res.* **2000**, *28*, 235-242.
- [13] Bonifácio, M. J.; Archer, M.; Rodrigues, M. L.; Matias, P. M.; Learmonth, D. A.; Carrondo, M. A.; et al. Kinetics and Crystal Structure of Catechol-O-Methyltransferase Complex with Co-substrate and a Novel Inhibitor with Potential Therapeutic Application. *Mol. Pharmacol.* **2002**, *62*, 795-805.
- [14] Gehlhaar, D. K.; Bouzida, D.; Rejto, P. A. In *Fully Automated and Rapid Flexible Docking of Inhibitors Covalently Bound to Serine Proteases*, Proceedings of the Seventh International Conference on Evolutionary Programming, San Diego, Mar. 25-27, 1998; William Porto, V., Saravanan, N., Donald, E. W., Eiben, A. E., Eds.; Springer: San Mateo, 1998.
- [15] Schulz, H.; Dale, E.; Karimi-Nejad, Y.; Oefner, C. *J. Mol. Biol.* **2009**, *385*, 178-187.
- [16] Cunha, E. F. F.; Martins, R. C. A.; Albuquerque, M. G. *J. Mol. Mod.* **2004**, *10*, 297-304.
- [17] Elaine, F. F.; Edilaine, F. B.; Aline, A. O.; Teodorico, C. *R. J. Biom. Struct. Dyn.* **2010**, *27*, 619-625.
- [18] Ramalho, T.; Rocha, C. M. V. J.; Cunha, E. F. F.; Freitas, M. P. *Expert Opin. Ther. Pat* **2009**, *19*, 1193-1228.
- [19] Ayachi, H.; Merad, M.; Ghalem, S. Study of Interaction between Dipeptidyl Peptidase-4 and Products Extracted from the *Stevia* Plant by Molecular Modeling. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* **2013**, *18*, 87-90.

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/282291602>

# Study of monoamine oxidase by molecular modeling

ARTICLE · MAY 2015

---

READS

18

5 AUTHORS, INCLUDING:



Ghalem Said

About Bakr Belkaid University of Tlemcen

63 PUBLICATIONS 269 CITATIONS

SEE PROFILE

# Study of monoamine oxidase by molecular modeling

W.Soufi; M.Merad; F.Iebbad; F.Boukli; S.Ghalem

Laboratory of Naturals Products and Bio actives-LASNABIO University of Tlemcen-ALGERIA Soufi\_chimie@yahoo.fr

\*Corresponding autor E-mail: [s\\_ghalem2002@yahoo.fr](mailto:s_ghalem2002@yahoo.fr)

## Abstract:

Monoamine oxidase (MAO) is an important drug target for the treatment of neurological disorders .MAO-B is an enzyme which decomposes naturally chemicals in the brain. MAO-B inhibitors, are considered useful in the therapy of Parkinson's disease since oxidation by MAO-B represents a major catabolic pathway of dopamine in the central nervous system . A series of indole derivatives were synthesised and evaluated as inhibitors of MAO-B. In general, the derivatives were found to be selective MAO-B inhibitors with IC50 values[1]. In our work, the interaction between bioactive structures will be studied by methods of molecular modeling (MM, DM, Docking).We conclude that these indole derivatives are promising reversible MAO-B inhibitors with a possible role in the treatment of neurodegenerative diseases such as Parkinson's disease (PD).

**Keywords:** Parkinson's disease (PD), Monoamine oxidase (MAO), indole derivatives, molecular modeling (MM, DM, Docking, Molegro).

## 1. Introduction

Parkinson's disease is a neurodegenerative movement disorder characterized by loss of midbrain dopaminergic neurons leading to motor abnormalities and autonomic dysfunctions. Despite intensive research [2], The etiology of Parkinson's disease remains poorly understood leaving us with no effective therapeutic options, although several lines of study have pointed to either genetic (e.g., Parkin or LRRK2) or environmental (e.g., pesticides, other xenobiotics) origins [3,4]. Parkinson's disease (PD) is characterized by damage, elective initially dopaminergic neurons of the substantia nigra (SNc) [5]. The main histological lesions associated with neuronal loss is the presence of intraneuronal inclusions (Lewy bodies) composed primarily of aggregated alphasynucleine. The SNc neurons were dopaminergic projections to the striatum and participate in the system of motor control extrapyramidal said. This is the dopaminergic denervation of the striatum is responsible for classic motor signs of PD (resting tremor, hypertonsie and akinesia) [6].Currently, PD symptoms can be improved using dopamine replacement strategies (levodopa treatment) and monoamine oxidase B (MAO-B) inhibitors (selegiline or rasagiline) which reduce the breakdown of dopamine in the brain [7].

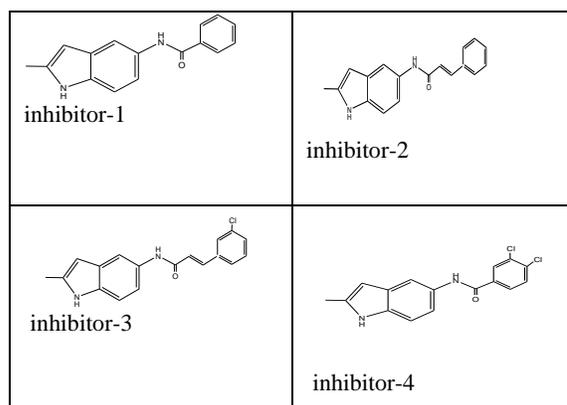
Monoamine oxidase (MAO) is a flavin-containing enzyme located on the outer mitochondrial membrane .Of interest to PD is that MAO-B inhibitors have been used successfully to treat Parkinson's patients by raising the levels of dopamine [8]. The MAOs have been drug targets for numerous decades and inhibitors of these enzymes are used primarily to treat neuropsychiatric syndromes.[9] MAO-B inhibitors, in particular, are considered useful in

the therapy of Parkinson's disease since oxidation by MAO-B represents a major catabolic pathway of dopamine in the central nervous system. MAO-B inhibitors conserve the depleted dopamine stores in the parkinsonian brain and enhance the elevation of dopamine levels after administration of levodopa, the metabolic precursor of dopamine [10]. In fact, interest in selective MAO-B inhibitors has increased in recent years due to their therapeutic potential in aging related neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease (AD) and Parkinson's disease (PD) [11].

## 2. Materials and Methods

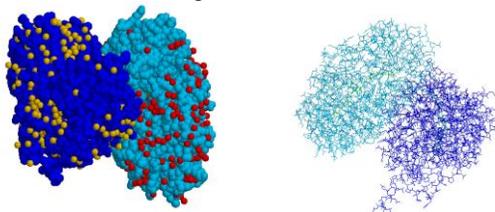
### 2.1. Preparation of ligand structures

In this study, we used of indole derivatives which are synthesized [12]. As shown in figure 1 .The found structures were optimized by DFT level using hybrid functional density B3LYP with 6-31G basis (Gaussview 2.1).



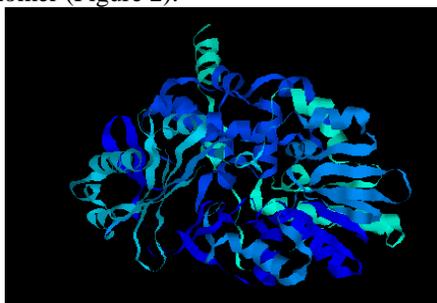
## 2.2 Preparation of protein structure

The downloading of monoamine oxidase B was made from the data base Bookhaven Protein Data Bank (access code 2V5Z) [1] it is co-crystallized with the selective inhibitor safinamide (Figure 1).



**Figure 1:** The dimerous form of monoamine oxidase B

The three dimensional structure of monoamine oxidase B was obtained by X-ray diffraction with a resolution (1.60Å). Note that the monoamine oxidase B crystallizes in the dimer form (Figure1), with 993 residues and 7911 atoms. With the reducing effect of molecular modelling, we simplified the model of the enzyme and retained only one monomer (Figure 2).



**Figure 2:** Simplified model of monoamine oxidase B Molecular Docking study:

The docking scoring function of MolDock that we use is based on a piecewise linear potential (PLP) introduced by Gehlhaar et al [13] and further extended in GEMDOCK by Yang et al [14]. The scoring function was further improved to include new charge schemes and a hydrogen bonding term.

Molegro virtual dockers explore the full range of ligand conformational flexibility with partial flexibility of the protein. Docking procedure consisted of three interrelated components; Identification of binding site ; A search algorithm to effectively sample the search space (the set of possible ligand positions and conformations on the protein surface) and A scoring function or energy calculation software [13].

## 3. Results and discussion

MAO-B is an important target for developing new drugs against PD. Corresponding inhibitors are currently being explored as potential drugs for the clinical treatment of PD [15].

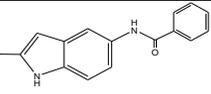
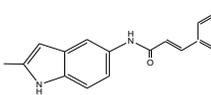
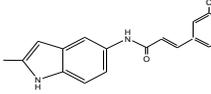
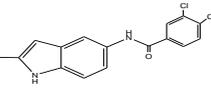
Inhibitors of MAO-B are used to relieve symptoms or slow the progression of Parkinson's disease (PD) [16].

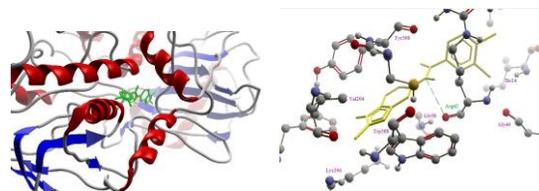
Molecular docking was carried out and the top poses docked at the active site region of the protein are shown in (Table 1). In post docking analysis, it is observed that compounds inhibitor-1 and inhibitor-2 have higher MolDock score as shown in (Table 1). MolDock score is derived from the PLP scoring functions with new hydrogen bonding term and new charge schemes [13]. The ligand–protein interaction energy analysis (H-bond energy) was calculated in order to get a better understanding of the variations between the binding mode of each compound and the molecular factors responsible for the activity.

Rescoring of these docked results using Molegro, revealed that inhibitor-1, inhibitor-2, and inhibitor-3 binds within the active site of MAO-B with binding free energy of -140.651, -131.305 and -140.575Kcal/mol respectively, that was higher than that found for inhibitor-4. -151.007 Kcal/mol. The binding mode of inhibitor-4 is within the active site of MAO-B is shown in Figure 3.

The docking results of the four inhibitor complexes are listed in Table 1

**Table 1:** Docking results

Inhibitors	MolDock Score	Hbond
 inhibitor-1	<b>-140.651</b>	<b>- 4.00886</b>
 inhibitor-2	<b>-131.305</b>	<b>0</b>
 inhibitor-3	<b>-140.575</b>	<b>-0.0169</b>
 inhibitor-4	<b>-151.007</b>	<b>-0.3078</b>



**Figure 3:** The predicted binding orientation of inhibitor-4 in the active site of MAO-B (2V5Z.pdb)

Interactions between inhibitors and Arg42 are shown in Figure 4, represented the possible region for Arg42 to be a hydrogen bonding acceptor. We confirmed that in four docking models Arg42 forms these kinds of hydrogen

bonding. These interactions caused to move inhibitors in docking models of MAO-B.

Inhibitor-4 is the most potent and selective MAO-B inhibitor identified in this study, it can be concluded that the addition of an additional chlorine substituent to the phenyl ring is a suitable strategy to enhance binding affinity to the MAO-B active site.

**Table 2:** Experimental IC<sub>50</sub> values of various ligands [1]:

compounds	IC <sub>50</sub> (μ M)
Inhibitor-1	3.84 ± 0.75
Inhibitor-2	18.82 ± 3.28
Inhibitor-3	9.83 ± 1.63
Inhibitor-4	0.06 ± 0.01

The IC<sub>50</sub> value of the inhibitor with the co-crystallization is SAG 80 ± 98 nM. The reliability of the inhibitor-4 was confirmed by comparing the experimental values of IC<sub>50</sub> in Table 2 with the IC<sub>50</sub> value of the inhibitor co-crystallization SAG so we can say that the inhibitor-4 the smallest value of IC<sub>50</sub> = 0.06 ± 0.01 μM, inhibitor-4 thus has a better inhibition compared to other inhibitors.

#### 4. Conclusion:

Virtual screening methods are routinely and extensively used to reduced cost and time of drug discovery. It has been clearly demonstrated that the approach utilized in this study is successful in finding of novel inhibitors. Inhibitor-4, in particular, showed high binding affinity with a Moldock score of -151.007 kcal/mol against monoamine oxidase B.

After comparing the results of the theoretical study of the inhibition of monoamine oxidase B and those of the experimental study, we see that the two results are consistent for inhibitor-4. Further, work can be extended to study the receptor-ligand interactions experimentally and evaluation of their biological activity would help in designing compounds based on virtual screening techniques. In this study we have demonstrated that of inhibitor-4 is important for MAO-B activity and this information may give insight to develop a novel antiparkinson drug.

#### REFERENCES

[1] L. H.A. Prins, J. P. Petzer, S. F. Malan. Inhibition of monoamine oxidase by indole and benzofuran derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry* ,2010, 45,4458-4466.

[2] Bobby Thomas and M. Flint Beal. Molecular insights into Parkinson's disease. *F1000 Medicine Reports* 2011, 3:7 (doi:10.3410/M3-7).

[3] Wirdefeldt, K.; Adami, H. O.; Cole, P.; Trichopoulos, D.; Mandel, J. *Eur. J. Epidemiol.* 2011, 26, S1.

[4] Kou, J.; Bloomquist, J. R. *Toxicol. Lett.* 2007, 171, 154.

[5] Lees AJ, Hardy J, Revesz T Parkinson's disease. *Lancet* 2009 ,373:2055-66.

[6] C. Gombert · Y. Nadjar · D. Grabli. Parkinson's disease and intensive care: specific issues?. *Réanimation* 2013, 22:616-623.

[7] Meissner, W. G.; Frasier, M.; Gasser, T.; Goetz, C. G.; Lozano, A.; Piccini, P.; Obeso, J. A.; Rascol, O.; Schapira, A.; Voon, V.; Weiner, D. M.; Tison, F.; Bezard, E. *Nat. Rev. Drug Disc.* 2011, 10, 377.

[8] Werner J. Geldenhuys , Max O. Funk, Cornelis J. Van der Schyf, Richard T. Carroll. A scaffold hopping approach to identify novel monoamine oxidase B inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 22 .2012, 1380-1383.

[9] Ramsay, R. R. *Curr. Top. Med. Chem.* 2012, 12, 2189.

[10] L. Meiring, J. P. Petzer , A, Petzer . Inhibition of monoamine oxidase by 3,4-dihydro-2(1H)-quinolinone derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* .2013, 23, 5498-5502.

[11] G.Delogu, C. Picciau , G. Ferino, E.Quezada, G. Podda, E. Uriarte ,D. Viña . Synthesis, human monoamine oxidase inhibitory activity and molecular docking studies of 3-heteroaryl coumarin derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry* 2011 ,46 ,1147-1152.

[12] Louis H.A. Prins, Jacobus P. Petzer, Sarel F. Malan. Inhibition of monoamine oxidase by indole and benzofuran derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry* 2010,45, 4458-4466.

[13] R. Thomsen and M. H. Christensen. MolDock: A New Technique for High-Accuracy Molecular Docking. *J. Med. Chem.* 2006, 49, 3315-3321.

[14] Yang, J.-M.; Chen, C.-C. GEMDOCK: A Generic Evolutionary Method for Molecular Docking. *Proteins* 2004, 55, 288-304.

[15] Kun Hu, Lichun Zhang, Xiangtang Li, Shulin Zhao. Rapid screening of monoamine oxidase B inhibitors in natural extracts by capillary electrophoresis after enzymatic reaction at capillary inlet. *Journal of Chromatography B*, 2010, 878 ,3156-3160.

[16] B.H. Moussa, M.B.H. Youdim, F. Peter, *Neurology* 63 ,2004. S32.

La recherche en biologie ne peut, actuellement, se passer des outils informatiques pour traiter les données produites et optimiser ses avancées. L'un de ces outils est la modélisation moléculaire et plus précisément l'arrimage moléculaire (plus souvent connu sous le terme "docking"). L'emploi initial du "docking" moléculaire a été de prédire et reproduire des complexes protéine-ligand. Le docking est la base de la reconnaissance moléculaire et du type de l'interaction. À chaque protéine cible de structure connue le docking se révèle être la clé dans le design de nouveaux médicaments.

Notre travail consiste à étudier l'inhibition des déférents enzymes impliquée dans (la maladie de Parkinson)MP avec des déférents inhibiteurs par les méthodes de modélisation moléculaire. On a choisi deux programmes de docking moléculaire pour notre travail: Molegro Virtuel Dock et Auto Dock Vina.

Mots clés : Maladie de Parkinson, coumarines, dérivés indoles, catéchols, modélisation moléculaire.

Biological research can currently happen computer tools to process the data produced and optimize its advanced. One of these tools is the molecular modeling and molecular docking specifically (usually known as the "docking "). The initial use of the "docking" to predict molecular was reproducing and protein-ligand complexes. The docking is the basis of molecular recognition and the type of interaction. For each target protein of known structure the docking proves to be the key in the design of new drugs.

Our work is to study the inhibition of enzymes involved in deferent Parkinson's disease with deferent inhibitors by the methods of molecular modeling. Two molecular docking programs were selected for our work: Molegro Virtual Auto Dock and Dock Vina. Our work is to study the inhibition of enzymes involved in deferent Parkinson's disease with deferent inhibitors by the methods of molecular modeling. Two molecular docking programs were selected for our work: Molegro Virtual Auto Dock and Dock Vina.

Keywords: Parkinson's disease, coumarin, indole derivatives, catechols, molecular modeling.

فيما يخص الأبحاث البيولوجية لا يمكن القيام بها حاليا بدون استعمال أدوات الكمبيوتر عليها و بالتالي تحسين هذه الأخيرة بواسطة تقنيات النمذجة الجزيئية وبالتدقيق الآلة الجزيئي عليها م . " " الجزيئي هو الاعتراف و الاستنساخ المركبات بروتين . هو الجزيئي بروتين الهدف هيكل بيرهن على أن تكون تصميم أدوية جديدة.

بحثنا يحتوي تثبيت مختلف الأنزيمات المشاركة النمذجة الجزيئية. تم اختيار على برنامجين هما: Molegro:

الكلمات المفتاحية : الكومارين تقنيات النمذجة الجزيئية.