

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
جامعة أمّ عمر شلي-ج-ي بالڤواط  
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOuat

كلية العلوم  
FACULTE DES SCIENCES  
قسم البيولوجيا  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire

*En vue de l'obtention du diplôme de Master*

*Filière : Sciences Biologiques*

*Option : Biochimie Appliquée*

### THEME

---

## **Etude *in silico* de l'inhibition de la monoamine oxydase par quelques plantes médicinales**

---

### **Présentées par :**

Mlle. METALLAG MANEL

Mlle. DJEBBAR HANANE

Mlle. DOUBA BAKHTA

### **Devant le jury composé de :**

M. CHAIBI Rachid, Professeur, Université Amar Télidji

M. SIFI Ibrahim, MCA, Université Amar Télidji

M. GOUZI Hicham, Professeur, Université Amar Télidji Mr.

BENACEUR Farouk, MCA, Université Amar Télidji

**Président**

**Examineur**

**Rapporteur**

**Co-Rapporteur**

**Année Universitaire : 2020 / 2021**



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
جامعة أمّار تليدجي بالغةواظ  
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOuat

كلية العلوم  
FACULTE DES SCIENCES  
قسم البيولوجيا  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire

*En vue de l'obtention du diplôme de Master*

*Filière : Sciences Biologiques*

*Option : Biochimie Appliquée*

### THEME

---

## **Etude *in silico* de l'inhibition de la monoamine oxydase par quelques plantes médicinales**

---

### **Présentées par :**

Mlle. METALLAG MANEL

Mlle. DJEBBAR HANANE

Mlle. DOUBA BAKHTA

### **Devant le jury composé de :**

M. CHAIBI Rachid, Professeur, Université Amar Téliidji

M.SIFI Ibrahim, MCA, Université Amar Téliidji

M. GOUZI Hicham, Professeur, Université Amar Téliidji Mr.

BENACEUR Farouk, MCA, Université Amar Téliidji

**Président**

**Examineur**

**Rapporteur**

**Co-Rapporteur**

**Année Universitaire : 2020 / 2021**



# **Remerciements**

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

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

*Nous tenons tout d'abord à adresser nos profonds remerciements et gratitude à notre encadreur **Monsieur GOUZI.H.** Professeur, Université Amar Téliidji, pour sa disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour l'orientation, la confiance, La patience et le temps qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port.*



## **Dédicaces**

*Je dédie cet humble travail :*

*A mes chers et respectueux parents, vraiment aucune dédicace ne saurait exprimer mon attachement, mon amour et mon affection, je*

*vous*

*offre ce modeste travail en témoignage de tous les sacrifices et l'immense*

*tendresse dont vous m'avez toujours su me combler.*

*A mes adorable frères Sofiane et bomadien.*

*Ainsi que mes deux sœurs Rachida et Naima*

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

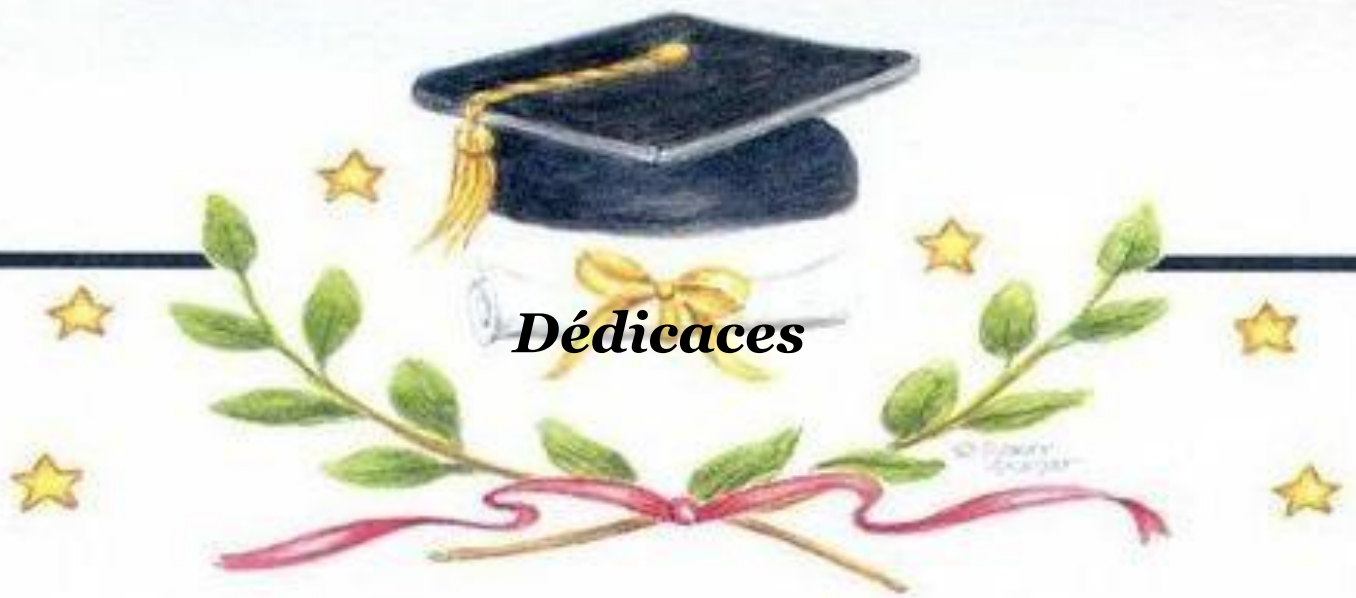
*A ma chère amie Nouna, je souhaite*

*que l'amitié que nous a réuni persiste pour toujours et que nous arrivons*

*à réaliser nos rêves.*

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

**MANEL**



## ***Dédicaces***

*Je dédie ce projet :*

*A mon cher père*

*A ma chère mère*

*Qui n'ont jamais cessé de formuler des prières à mon  
égard de me soutenir et de m'épauler pour que  
je puisse atteindre mes objectifs*

*A mes frères Kamel et Abed Elghani A ma sœur Soumia*

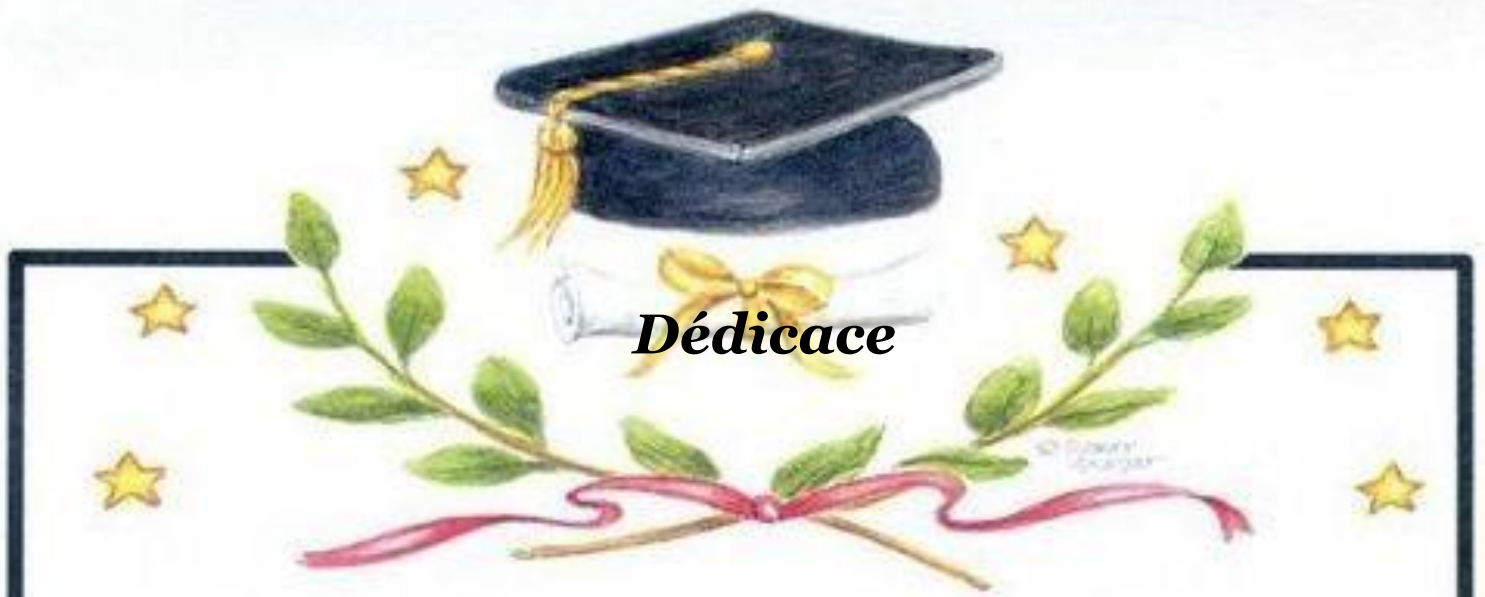
*Pour ses soutiens moral et leurs conseils précieux tout  
au long de mon étude*

*A ma chère amie Manoula*

*A toute ma famille ouissem et nazim*

*A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment*

***Hanane***



## **Dédicace**

*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut ...  
Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour à vous ...*

*À ma formidable maman : qui a œuvré pour ma réussite, de part par son  
amour, ses prières et son  
soutien, sa tendresse, tous les sacrifices consentis et ses conseils, pour  
toute son assistance et sa  
présence dans ma vie.*

*À mon superbe père : qui peut être fière et trouver ici le résultat de  
longues années de ses  
sacrifices. Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien  
permanent venu de toi. Je suis  
très fière d'être votre fille et de pouvoir enfin réaliser ce que vous avez  
tant espéré.*

*À mes très chers frères Hakim et Mahmoud et Radouane ma princesse  
adorée sœur Imen pour leurs sacrifices leurs  
encouragements permanents, et leur soutien moral.*

**Bakhta**

# SOMMAIRE

Liste des figures.....	<b>I</b>
Liste des tableaux.....	<b>II</b>
Liste des abréviations.....	<b>III</b>
Résumés.....	<b>IV</b>
Introduction.....	<b>01</b>
<b>Rappel bibliographique</b>	
<b>Chapitre I. Généralités sur la monoamine oxydase</b>	
I. Historique et nomenclature.....	05
I.1 Génétique de la MAO.....	05
I.2. Structure, localisation, caractéristiques et fonction du MAO.....	05
II. Les substrats et l'inhibiteur du MAO.....	11
III. Pathologies dues à la MAO.....	13
IV. L'activité de la MAO.....	14
V. Estimation de la MAO.....	14
<b>Chapitre II. Les plantes médicinales</b>	
I. Généralité sur les plantes médicinales.....	16
II. Substances actives des plantes.....	16
<b>Chapitre III. Docking moléculaire</b>	
I. Introduction.....	28
II. Etude <i>in silico</i> .....	29
III. Criblage virtuel « Virtual Screening ».....	29
IV. Docking moléculaire.....	30
V. Le principe du docking moléculaire.....	30
VI. Les outils du docking moléculaire.....	32
<b>Chapitre IV. Matériels et méthodes</b>	
I. Matériels.....	36
I. 1. Micro ordinateur.....	36
I. 2. Banques (bases) de données et outils logiciels.....	36

II. Méthodes.....	40
II.1. Préparation des ligands et des protéines.....	40
II. 2. Amarrage moléculaire.....	40
<b>Chapitre V. Résultats et discussion</b>	
I. Etude des interactions de l'enzyme MAO-A.....	43
I. 1. Cas de la naringenin.....	44
I. 2. Cas de la quercetine.....	44
I. 3. Cas du Kaempferol.....	45
I. 4. Cas de l'Harminine.....	46
I. 5. Cas de la Chrysin.....	46
II. Etude des interactions de l'enzyme MAO-B.....	47
II. 1. Cas de safinamide.....	47
II. 2. Cas de naringenin.....	48
II. 3. Cas de kaempferol.....	49
II. 4. Cas de catechin.....	50
II. 5. Cas de la Chrysin.....	50
<b>Conclusion.....</b>	<b>51</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>54</b>
<b>Annexe.....</b>	<b>57</b>

## *Liste de figures*

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Figure 01</b>	Structure cristallographique des monoamines oxydases A humaines	<b>06</b>
<b>Figure 02</b>	Structure cristallographique de la MAO-B humaine	<b>07</b>
<b>Figure 03</b>	Comparaison des programmes de docking les plus cités	<b>32</b>
<b>Figure 04</b>	Interface du site Protéine Data Bank (PDB)	<b>35</b>
<b>Figure 05</b>	Interface du logiciel MOE	<b>35</b>
<b>Figure 06</b>	Structure cristalline des protéines cible, monoamine oxydase A et B (PDB code 2Z5X et 2V5Z) liée avec l'harmine et safinamide (ligand)	<b>36</b>
<b>Figure 07</b>	Interactions entre le naringenin et les résidus de site actif de 2Z5X	<b>44</b>
<b>Figure 08</b>	Interactions entre le Quercetine et les résidus de site actif de 2Z5X	<b>44</b>
<b>Figure 09</b>	Interactions entre le Kaempferol et les résidus de site actif de 2Z5X	<b>45</b>
<b>Figure 10</b>	Interactions entre le Harmine et les résidus de site actif de 2Z5X	<b>46</b>
<b>Figure 11</b>	Interactions entre le Chrysin et les résidus de site actif de 2Z5X	<b>46</b>
<b>Figure 12</b>	Interactions entre le safinamide et les résidus de site actif de 2V5Z	<b>47</b>
<b>Figure 13</b>	Interactions entre le naringenin et les résidus de site actif de 2V5Z	<b>47</b>
<b>Figure 14</b>	Interactions entre le Kaempferol et les résidus de site actif de 2V5Z	<b>49</b>
<b>Figure 15</b>	Interactions entre le catechin et les résidus de site actif de 2V5Z	<b>50</b>
<b>Figure 16</b>	Interactions entre Chrysin et les résidus de site actif de 2V5Z	<b>51</b>

## *Liste des tableaux*

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 01</b>	Expression des MAO-A et -B chez l'Homme dans différents tissus	<b>10</b>
<b>Tableau 02</b>	Principaux substrats des monoamines oxydases	<b>14</b>
<b>Tableau 03</b>	Inhibiteurs réversibles et irréversibles des monoamines oxydases utilisés en médecine	<b>16</b>
<b>Tableau 04</b>	Pourcentage de l'activité totale des MAO-A et B dans certains tissus humains	<b>17</b>
<b>Tableau 05</b>	Liste des flavonoïdes ayant des effets semblables à ceux des antidépresseurs	<b>19</b>
<b>Tableau 06</b>	Liste des alcaloïdes ayant des effets semblables à ceux des antidépresseurs	<b>21</b>
<b>Tableau 07</b>	Structure chimiques de phytoligands	<b>25</b>
<b>Tableau 08</b>	Certaines des propriétés / paramètres ADMET (Absorption, distribution, métabolisme, excrétion /élimination, et toxicité) et leurs plages acceptable	<b>41</b>
<b>Tableau 09</b>	les paramètres ADMET des composés utilisés avec 2Z5X	<b>43</b>
<b>Tableau 10</b>	les paramètres ADMET des composés utilisés avec 2V5Z	<b>43</b>

## *Liste des abréviations*

<b>ADP :</b>	adénosine di phosphate
<b>AMP :</b>	adénosine monophosphat
<b>ADME :</b>	Absorption Distribution Métabolisme Elimination
<b>DA :</b>	la dopamine
<b>FAD :</b>	Flavine adénosine dinucléotide
<b>H2O2 :</b>	Peroxyde d'hydrogène
<b>HTS :</b>	criblage à haut débit
<b>HIV :</b>	Virus de l'immunodéficience humaine
<b>IMAO :</b>	inhibiteur de monoamine oxydase
<b>MAOA :</b>	Monoamine oxydase A
<b>MOE :</b>	Moléculaire Operating Environment
<b>NE :</b>	noradrénaline
<b>PDB :</b>	Protéine Data Bank
<b>PEA :</b>	phényléthylamine
<b>RMN :</b>	Résonance Magnétique Nucléaire
<b>SNC :</b>	système nerveux central
<b>SNP :</b>	système nerveux périphérique
<b>SMP :</b>	La <u>mutagenèse</u> site-spécifique
<b>5-HT :</b>	la 5-hydroxytryptamine

## Résumé

Le criblage virtuel *in silico* est une approche très employée dans la conception de nouveaux médicaments. Cette approche a été utilisée dans le présent travail afin de proposer théoriquement de nouveaux inhibiteurs de la MAO-A et MAOB ; cible thérapeutique validée pour le traitement des maladies neurodégénératives. Grâce au programme MOE, nous avons criblé virtuellement 16 molécules issues de la PubChem envers le site actif de la MAO. À l'issue de ce criblage, la naringenin (-8.12 kcal/mol), la quercetine (-8.06kcal/mol) ; Kaempferol (-7.55kcal/mol) et la Chrysin (-7.31kcal/mol) sont les inhibiteurs puissants de la MAO A ; tandis que la naringenin (-7.58 kcal/mol) , le kaempfreol (-7.36kcal/mol), la catéchine (-7.25kcal/mol) , et la chrysin (-7.04 kcal/mol) inhibent fortement la MAO-B. Les résultats de la règle de Lipinski indique que ces composés possèdent une bonne biodisponibilité sans aucun risque de toxicité.

Les plantes médicinales constituent une source prometteuse de nouveaux médicaments capables d'être utilisés dans le traitement des maladies neurologiques liées à l'activité de la MAO.

**Mots clés :** Monoamine oxydase, Criblage virtuel, PubChem, Inhibition, ADMET.

## Abstract

Virtual *in silico* screening is a widely used approach in the design of new drugs. This approach was used in the present work to theoretically propose new inhibitors of MAO-A and MAOB; a validated therapeutic target for the treatment of neurodegenerative diseases. Thanks to the MOE program, we have virtually screened 16 molecules from PubChem against the MAO active site. As a result of this screening, naringenin (-8.12 kcal/mol), quercetin (-8.06kcal/mol); Kaempferol (-7.55kcal/mol) and Chrysin (-7.31kcal/mol) are potent inhibitors of MAO A; while naringenin (-7.58 kcal/mol) , kaempfreol (-7.36kcal/mol), catechin (-7.25kcal/mol) , and chrysin (-7.04 kcal/mol) strongly inhibit MAO-B. The results of Lipinski's rule indicate that these compounds have a good bioavailability without any risk of toxicity.

Medicinal plants are a promising source of new drugs capable of being used in the treatment of neurological diseases related to MAO activity.

**Keywords :** Monoamine oxidase, Virtual screening, PubChem, Inhibition, ADMET

## الملخص

الفحص الظاهري زوح جديد على نطاق واسع للعثور على جزيئات جديدة . وقد اعتمدنا هذا الزوح في عملنا الذي يهدف الى اقتراح جزيئات جديدة التي يمكن ان تكون علاجاً للمرضى الذين يعانون من مرض MAOA/ MAOB الذي يتسبب في تدهور كبير في علاج المرضى الذين يعانون من مرض MAOB ، بل إننا نعمل على اقتراح جزيئات جديدة التي يمكن ان تكون علاجاً للمرضى الذين يعانون من مرض MAOA حيث اننا نعمل على اقتراح جزيئات جديدة التي يمكن ان تكون علاجاً للمرضى الذين يعانون من مرض MAOB / pubchem حيث اننا نعمل على اقتراح جزيئات جديدة التي يمكن ان تكون علاجاً للمرضى الذين يعانون من مرض MAOA حيث اننا نعمل على اقتراح جزيئات جديدة التي يمكن ان تكون علاجاً للمرضى الذين يعانون من مرض MAOB / 8.06kcal/mol; naringenin; (-8.12 kcal/mol) quercetin; -; Kaempferol kcal/mol 5.77- ( Chrysin -7.31kcal/mol) ، بينما MAOA جزيئات جديدة التي يمكن ان تكون علاجاً للمرضى الذين يعانون من مرض MAOA catechine (-7.25kcal/mol) ، بينما MAOA جزيئات جديدة التي يمكن ان تكون علاجاً للمرضى الذين يعانون من مرض MAOA chrysin (-7.04 kcal/mol) naringenin -7.58 kcal/mol (kaempfreol 7.36kcal/mol)، الى ان هذه الجزيئات يمكن ان تكون علاجاً للمرضى الذين يعانون من مرض MAOB. اختيارنا لتطبيقنا يعتمد على الفحص الظاهري الذي نعمل عليه لتقييم مدى سلامة هذه الجزيئات وتبين ان هذه الجزيئات يمكن ان تكون علاجاً للمرضى الذين يعانون من مرض MAOB. تسمى .

# **Introduction**

Le bon fonctionnement des amines biogènes telles que l'histamine, la dopamine, la sérotonine ou encore l'adrénaline et la noradrénaline « neurotransmetteur » nous apporte un équilibre régulier dans toutes nos fonctions du système nerveux. Ils interviennent dans des processus essentiels comme la prolifération, la différenciation cellulaire et l'apoptose (**Pierre., 2020**).

Cependant, lorsque l'action des amines biogènes est troublée, on voit fréquemment l'apparition des troubles du comportement, comme par exemple l'anxiété, la dépression, voire l'agressivité : (La "maladie d'Alzheimer" est associée à un manque d'acétylcholine dans certaines régions du cerveau ; la perte de dopamine dans certaines parties du cerveau entraîne la rigidité musculaire typique de la maladie de Parkinson et pour la noradrénaline si l'équilibre est perturbé, apparition de troubles de l'humeur, repli sur soi, détachement, démotivation, dépression, baisse de la libido).(Anonyme., 2021)

En effet ces maladie sont causées par la sur ou la sous-expression de la monoamine oxydase. Cette enzyme existe sous deux isoformes : la MAO-A et la MAO-B " qui ont un effet direct sur l'activité des amines biogènes, et qui confèrent un rôle important dans le métabolisme de ces derniers (**Pierre., 2020**).

La dégradation régulée de ces MAOs assure le bon fonctionnement de la neurotransmission au niveau synaptique qui est essentiel pour le contrôle des fonctions intellectuelles et autres fonctions cérébrales dans le système nerveux central (SNC) (**Herraiz et al., 2010**). Par conséquent, des inhibiteurs sélectifs et spécifiques des MAOs ont été utilisés pour le traitement de ces pathologies qui sont principalement représentés par l'iproniazide et la nialamide. (**Pierr., 2020**).

Cependant, ces médicaments ont des effets indésirables graves tels que la cytotoxicité, hyperpyrexie, coagulation intra vasculaire disséminée, convulsions, coma et rigidité musculaire; principalement en raison des interactions médicamenteuse et des aliments (**Herraiz et al., 2010**).

Il y a donc un besoin urgent de trouver des inhibiteurs plus respectueux de l'environnement préparées à partir de sources végétales en raison de leur coévolution avec les sites cibles des protéines dans les systèmes naturels et leur richesse en métabolite secondaire qui peut avoir des activité biologique divers « antioxydant, anti-inflammatoire, antiparkinsonienne... ».

Alors l'objectif initial de ce travail c'est de rechercher des molécules naturel à partir des plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle pour traiter ces maladies et donc pour vérifier leur effet sur l'enzyme c'est-à-dire on doit confirmer le mécanisme d'action de métabolite secondaire de ces plantes sur la monoamine oxydase par une modalisation in-silico.

Ce mémoire est organisé de deux parties : une partie théorique et une autre expérimentale.

- La partie théorique comporte trois chapitres :
  - ✓ Généralités sur la monoamine oxydase;
  - ✓ Les plantes médicinales et leur utilisation dans le traitement des maladies neurodégénératives ;
  - ✓ et un dernier chapitre sur le docking moléculaire ;
- La partie expérimentale décrit la démarche expérimentale adoptée puis les résultats et discussion.

# **Chapitre I.**

## **Généralités sur la**

### **Monoamine Oxydase**

## **I. Historique et nomenclature**

La monoamine oxydase (MAO) fut isolée pour la première fois en 1928 par Hare et nommée tyramine oxydase pour sa capacité à catalyser une déamination oxydative de la tyramine. Plus tard de nombreux substrats de la MAO, de type monoamines dont les catécholamines (dopamine, noradrénaline, adrénaline) et la sérotonine, furent mis en évidence d'où sa dénomination de monoamine oxydase (**Johnson et al., 1968**).

### **I. 1. Génétique de la MAO**

Les MAOs sont codés par deux gènes différents situés sur le chromosome X (**Chaaya ., 2010**), à partir de bibliothèques génomiques du chromosome X ils sont constitués de cinq exons adolescents et ont une organisation exon-intron indiscernable. L'exon-12, codant le site de liaison FAD covalent avec 93,9 % d'acides aminés identiques à ceux de la MAO-A et de la MAO-B. 93,9 % entre les MAO-A et B, est l'exon le plus conservé (**Tripathi et al., 2018**).

### **I.2. Structure, localisation, caractéristiques et fonction de la MAO**

#### **I.2.1. Structure**

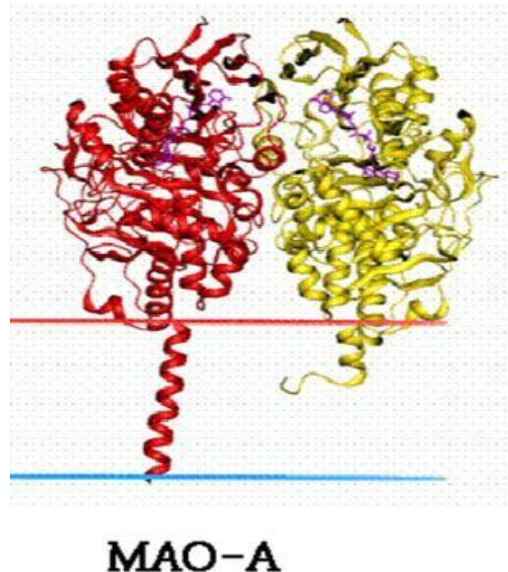
Les deux isoformes de MAO (MAO-A et MAO-B) sont composées de 527 et 520 acides aminés identiques. Les deux isoenzymes possèdent une identité de 70 % et une séquence primaire pentapeptidique (Ser-Gly-Gly-Cys-Tyr), se liant par une liaison covalente de type thioester de la cystéine au cofacteur FAD via le groupe 8a-méthyle du cycle isoalloxazine : ils sont donc des enzymes appartenant à la famille des flavoprotéines (**Wu et al., 1993**).

Il a été démontré dans des études de mutagenèse dirigée (SDM) que le segment interne (entre les acides aminés 152 et 366) confère des spécificités d'inhibiteur et de substrat.

Quatre régions extrêmement conservées dans les isozymes de la MAO ont été identifiées. Il s'agit de ; (1) une unité de liaison à l'ADP (résidus 6 e 43) ; (2) un domaine de liaison au substrat putatif (résidus 178e 221); (3) un site pour la fixation covalente du FAD (résidus 350e 458) ; et (4) une région C-terminal (résidus 4 91e511) prédit pour former une hélice R associée au transmembranaire (**Tripathi et al., 2018**).

### I.2.1.1. La monoamine oxydase A

La MAO A présente un poids moléculaire de 60kDa chez l'homme (Chaaya., 2010). Des approches structurales (cristallographie) (Figure N°1) de MAOA ont été récemment réalisées et devraient permettre d'avancer dans la connaissance de leur site catalytique et de leurs sites de liaison au x inhibiteurs ou à leur substrat; cette nouvelle approche devrait permettre de modéliser de nouvelles molécules (Weyler et al., 1990).

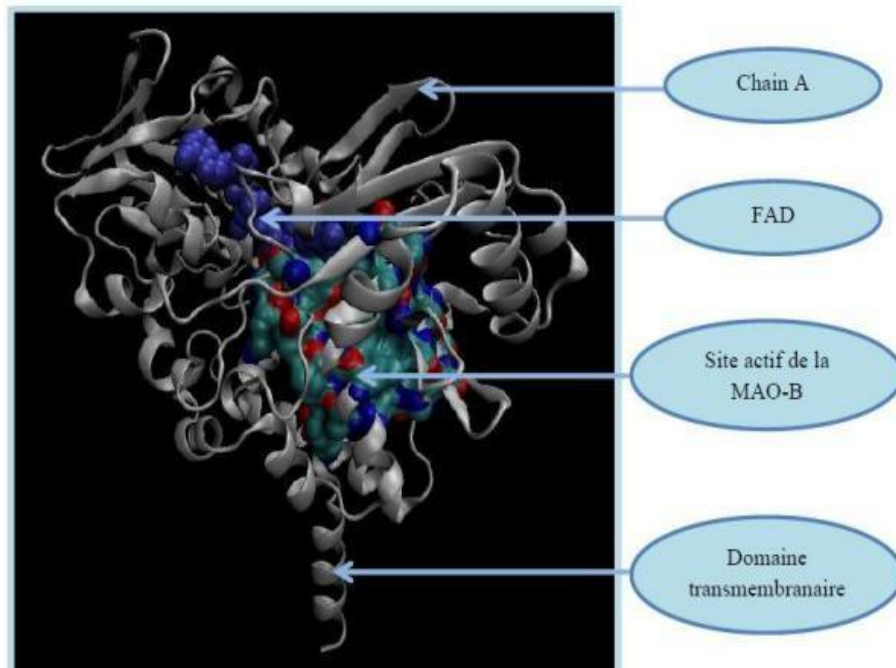


**Figure 01.** Structure cristallographique des monoamines oxydases A humaines: Elle cristallise sous-forme monomérique ; le cofacteur FAD est représenté en violet (Weyler et al., 1990).

### I.2.1.2. la monoamine oxydase B

MAO-B est une enzyme de poids moléculaire d'environ 63 KDa qui constitue un dimère de 520 acides aminés. La structure cristalline de la MAO-B humaine montre que l'enzyme est composée de trois domaines (figure N°2):

- Le premier est le domaine de liaison au FAD (cofacteur se liant par une liaison covalente à l'enzyme au niveau du résidu Cys 397).
- Le deuxième est un domaine hydrophobe de liaison au substrat entouré par des résidus principalement aromatiques et aliphatiques (triade catalytique).
- Le dernier est un domaine transmembranaire attaché à la membrane externe des mitochondries. Il est constitué de la séquence des résidus acides aminés de 489 jusqu'à 520 (Gaweska et al., 2011).



**Figure 2:** Structure cristallographique de la MAO-B humaine (H.Gaweska et al., 2011).

### I.2.1.3. Structure du site actif

L'activité des enzymes est liée à la présence dans leur structure d'un site particulier appelé le site actif qui interagit avec le substrat. (Chaaya., 2010).

Les études par la mutagenèse dirigée de la MAO - A et B ont permis d'étudier le site actif et de constater des différences entre la nature des acides aminés pour chacun des deux sites. L'emplacement actif du MAO-A contient les acides aminés : Lys-305, Try-397, Tyr-407 et Tyr-444, alors que le site du MAO-B en contient : Lys-296, Tr p-388, Tyr-398 et Tyr-435. MAO-A et B sont fixés à la membrane externe mitochondriale par l'intermédiaire des 39 acides aminés avec le C -terminale, grâce à une liaison covalente simple Cys-406 dans MAO-A et liaisons non covalente Cys-397 pour MAO-B. Une rupture quelconque entre ces interactions a comme conséquence l'inactivation de l'enzyme. L'emplacement substrat-binding se compose d'une succession aromatique de Tyr -398 et Tyr-435, et un résidu Cys-365 catalytique (Pierre., 2020).

### **I.2.2. Localisation**

Est une enzyme clé, située sur la membrane externe des mitochondries, liée par un segment polypeptidique transmembranaire C-terminal et insérée dans la membrane au moyen de l'ubiquitine (**Tripathi et al., 2018**).

Les MAO sont présents dans la majorité des tissus des mammifères, mais leurs proportions varient selon les tissus. Au cours du développement, la MAO-A apparaît avant la MAO-B. Cependant, après la naissance l'intensité de la MAO-B augmente de façon spectaculaire dans le cerveau (**Tripathi et al., 2018**).

#### **I.2.2.1. La monoamine oxydase A**

Présente dans la muqueuse gastro-intestinale, elle joue un rôle dans le métabolisme de la sérotonine dans le cerveau (**Nel et al., 2016**).

Dans le cerveau humain, la MAO-A est retrouvée principalement dans la substance noire, le locus cœruleus, le striatum et d'autres aires contenant des neurones catécholaminergiques (**Pierre., 2020**).

Dans le cœur des mammifères, la production de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> augmente avec l'âge et induit des dommages. Ont montré que cette augmentation pourrait être due majoritairement à l'activité de la MAO-A, qui augmente aussi avec l'âge (**Nel et al., 2016**).

#### **I.2.2.3 la monoamine oxydase B**

Enzyme majeur des plaquettes et des cellules gliales, joue un rôle important dans la dégradation de la dopamine (**Chaaya., 2010**).

Dans le cerveau humain, la MAO-B est retrouvée principalement dans la substance noire, le locus cœruleus, le striatum et d'autres aires contenant des neurones catécholaminergiques en moindre quantité, mais est plus abondante que la MAO-A dans le raphé (**Pierre., 2020**).

L'expression des MAOs chez l'Homme dans différents tissus est résumé dans le tableau suivant.

**Le tableau N°1** : Expression des MAO-A et -B chez l'Homme dans différents tissus ( **Billett., 2004**)

Localisation	MAO-A	MAO-B
Cerveau	++	++
Thyroïde	++	+/-
Rein	++	+
Poumon	++	++
Cœur	++	+/-
Foie	+++	+++

### I.2.3 Caractéristiques enzymatiques des MAOs

#### I.2.3.1 Cofacteur FAD

Les MAOs sont des enzymes appartenant à la famille des flavoprotéines ayant pour le FAD. Le FAD est un groupement qui se lie de manière covalente à une cystéine (liaison 8-a-cystéinyl-FAD). Chez l'homme, c'est la cystéine 406 pour la MAO-A et la cystéine 397 de la MAO-B. Il existe également des liaisons non covalentes entre l'acide glutamique 34, la tyrosine 44, la glycine 226 et l'acide aspartique 227 de la MAO-B humain et le 2'hydroxyl du ribose du groupement AMP du FAD (**Chaaya., 2010**).

#### I.2.3.2. Site catalytique

Des études de mutagenèse dirigée et des constructions des protéines chimériques ont permis de spécifier les domaines de l'enzyme responsables de son activité, de sa spécificité de liaison avec des substrats et avec des inhibiteurs. La mutation des neufs cystéines de chaque isoforme de MAO en sérine a montré que la cystéine 374 de la MAO-A et les cystéines 156 et 365 de la MAO-B jouent un rôle clé dans l'activité enzymatique (**Wu et al., 1993**). La partie carboxy-terminale de la MAO-B est également indispensable pour son activité enzymatique (**Foucras., 2016**). La construction de protéines chimériques a aussi permis d'identifier des domaines responsables de la spécificité des substrats. Les acides aminés 120-220 de la MAO-A et 152-366 de la MAO-B confèrent la spécificité aux substrats aux d'inhibiteurs. Un rôle pour la spécificité au substrat a également été montré pour la phénylalanine 208 de la MAO-A et l'isoleucine 199 de la MAO-B (**Tripathi et al., 2018**).

### I.2.3. Fonction de la MAO

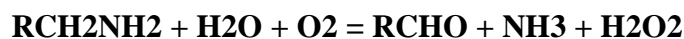
L'homéostasie des amines biogéniques, telles que la 5-hydroxytryptamine (5-HT) ou la sérotonine, la dopamine (DA) et la noradrénaline (NE), dans le cerveau est maintenue par leur élimination de la clé synaptique par un mécanisme de Récupération et l'oxydation par les monoamines oxydases (**Mohamed et al., 2020**).

Les MAO accomplissent un rôle protecteur dans l'organisme par l'oxydation des amines dans le sang ou en mettant fin à leur entrée dans la circulation dans l'intestin, le foie, les poumons et le placenta (c'est-à-dire les tissus périphériques). Il est probable que l'opération protectrice de la MAO-B est également observée dans les microvaisseaux agissant comme une barrière métabolique (**Tripathi et al., 2018**).

En outre, il a été établi que la MAO-A et la MAO-B intraneurales protègent les neurones des amines exogènes en mettant fin aux actions des neurotransmetteurs aminés qui régulent leurs réserves intracellulaires dans le SNP et le SNC (**Tripathi et al., 2018**).

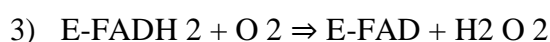
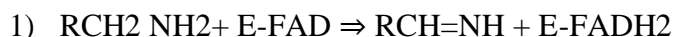
#### Réaction enzymatique :

Les MAOs catalysent la déamination oxydative des amines primaires aliphatiques et aromatiques, ainsi que sur quelques amines secondaire et tertiaires, selon la réaction générale suivante (**Nel et al., 2016**) :



Cette réaction se déroule en trois temps :

- ✚ Le substrat est tout d'abord oxydé, générant l'imine correspondante et le cofacteur FAD est réduit en hydroquinone.
- ✚ L'imine s'hydrolyse ensuite en aldéhyde, libérant de l'ammoniaque.
- ✚ Lors de la réoxydation du cofacteur FAD par l'oxygène, du peroxyde d'hydrogène est produit.



Au cours de cette réaction, le peroxyde d'hydrogène produit pourrait avoir des fonctions essentielles de métabolisme et de signalisation essentielles dans le cerveau.

Aldéhydes obtenus à partir de la désamination de la 5-HT et de la noradrénaline auraient dû être impliqués dans la régulation du sommeil.

Néanmoins, les produits NH<sub>3</sub> et H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sont toxiques à des concentrations plus élevées. Chez les patients atteints de la maladie de Parkinson, les niveaux de d'aldéhyde déshydrogénase sont fortement diminués et donc la concentration d'aldéhydes est très élevée dans la substantia nigra, qui semblent s'accumuler dans le cerveau sain et produisent des effets cytotoxiques (neurodégénérescence) (Tripathi et al., 2018).

## II. Les substrats et les inhibiteurs de la MAO

### 1. Les substrats

Il existe une spécificité au substrat pour chaque isoforme. La MAO-A métabolise préférentiellement la sérotonine (5-HT) et la MAO-B possède une grande affinité pour la phényléthylamine (PEA) et la benzylamine. Certains substrats sont communs aux deux isoformes comme la dopamine, la noradrénaline, l'adrénaline et la tyramine qui sont métabolisés avec la même efficacité par les deux enzymes (**Tableau 2**).

Cependant, il y a parfois quelques exceptions. En effet la spécificité des MAOs pour un substrat donné dépend de la concentration, de l'affinité et du turn-over du substrat. Par exemple 10 µM de PEA sont oxydés par la MAO-B mais 1 mM de PEA devient un substrat commun aux deux isoformes. Des xénobiotiques sont également susceptibles d'être dégradés par les MAOs, dont l'exemple le plus connu est le 1-méthyle 4 - phényl 1, 2, 3,6-tétrahydro Pyridine (MPTP) (Trevor et al., 1987).

**Tableau N°2:** Principaux substrats des monoamines oxydases

MAO-A	MAO-B	MAO-A et MAO-B
Sérotonine	Dopamine	B-phényléthylamine
	Adrénaline	benzylamine
	noradrénaline	Méthyl-histamine
	tyramine	MPTP

## **2. Les inhibiteurs**

Le développement des IMAO a débuté de façon fortuite en raison des effets antidépresseurs de l'Iproniazide (un agent antituberculeux à base d'hydrazine analogue à l'Isoniazide).

Au cours des premiers essais cliniques de l'iproniazide en tant qu'agent antituberculeux en 1951, on a noté la progression de euphorie chez les patients a été notée comme un effet secondaire du médicament.

Dans 1952, Zeller et ses collègues ont découvert que l'iproniazide était un inhibiteur de la MAO in vivo et in vitro et ont suggéré l'utilité antidépressive potentielle d'un tel produit, qui pourrait résulter de la potentialisation des amines dont le métabolisme est normalement catalysé par l'enzyme MAO dans le SNC (**Tripathi et al., 2018**).

De façon générale, les IMAO sont classés en deux catégories : non sélectifs et sélectifs, réversibles (compétitifs et à liaison lente et étroite) ou irréversibles (agents de marquage d'affinité ou inactivateurs basés sur un mécanisme) (**Tripathi et al., 2018**).

Les inhibiteurs réversibles inhibent l'enzyme en faisant intervenir des interactions faibles non covalente vis-à-vis du site actif (**Ghardaoui et Merrad., 2017**). Les inhibiteurs sélectifs de la MAO-A ont été employés comme antidépresseurs efficaces, tandis que plusieurs inhibiteurs de la MAO-B sont utilisés cliniquement dans le traitement des maladies d'Alzheimer et de Parkinson (**Mohamed et al., 2020**).

Les inhibiteurs irréversibles forment une liaison covalente avec l'enzyme et ne peuvent plus se dissocier du site de liaison, dans ce cas l'enzyme est bloqué jusqu'à nouvelle synthèse enzymatique (**Ghardaoui et Merrad., 2017**). L'inhibition non sélective et irréversible de la MAO est risqué de crise hypertensive après l'ingestion de tyramine alimentaire, alors que les inhibiteurs sélectifs de la MAO-B ou de la MAO-A sont exempts de cette menace potentielle (**Mohamed et al., 2020**).

En effet, leur utilisation a entraîné une hépatotoxicité importante et des risques d'interaction avec les antidépresseurs de type tricycliques (inhibiteurs du transport de la sérotonine), leur utilisation chronique entraîne des crises hypertensives dites « cheese-effect » chez les patients qui consomment une alimentation riche en tyramine comme le fromage, la bière et le chocolat (**Tipton., 1994**).

**Tableau N°3 :** Inhibiteurs réversibles et irréversibles des monoamines oxydases utilisés en médecine

Les inhibiteurs	Sélectivité	Réversibilité
IMAO non sélectifs		
Iproniazide	A+B	Irreversible
Phénelzine	A+B	Irreversible
Tranlycypromide	A+B	Irreversible
Isocarboxazide	A+B	Irreversible
Nialamide	A+B	Irreversible
Iproclozide	A+B	Irreversible
IMAO sélectifs		
Clorgyline	A	Irreversible
Moclobémide(moclamine)	A	reversible
Toloxatone	A	reversible
Brofaromide	A	reversible
Sélégiline (déprényl)	B	Irreversible
Rasagiline (azilect)	B	Irreversible
Lazabémide	B	reversible

### III. Pathologies dues à la MAO

La sur ou la sous-expression de la MAO peut conduire à un grand nombre de pathologies. Les mieux connues à ce jour restent les maladies neurologiques liées à la MAO. En effet, une sur- ou une sous-activité de la MAO conduit à un déséquilibre dans la production ou la dégradation des catécholamines et de la sérotonine, ce qui impacte de façon importante le système nerveux central (Foucras., 2016).

Parmi ces pathologies, on peut citer la psychopathie, perversion narcissique, la dépression, la toxicomanie, la criminalité, le trouble de déficit de l'attention, les phobies sociales, l'Alzheimer et parkinson (Foucras., 2016).

#### IV. L'activité de la MAO

L'activité de la MAO dans le cerveau humain diffère selon les régions ; L'activité la plus élevée est observée dans le striatum (ganglions de la base) et l'hypothalamus, tandis que le cervelet et le néocortex présentent une activité minimale.

Des enquêtes immunohistochimiques ont montré que les ganglions basaux, les neurones sérotoninergiques et les astrocytes contiennent principalement une activité élevée de la MAO-B, tandis que les neurones catécholaminergiques, dont la substantianigra, les parties périvericulaires de l'hypothalamus contiennent principalement une activité élevée de la MAO-A (Mohamed et al., 2020).

**Tableau N°4** : Pourcentage de l'activité totale des MAO-A et B dans certains tissus humains

Tissu	MAO-A (%)	MAO-B (%)
Cerveau	<20	>80
Tractus gastro-intestinal	>80	<20
Rein	25	75
Poumon	55	45
Plaquettes	<5	>95

#### V. Estimation de la MAO

L'activité de la monoamine oxydase (MAO) dans les tissus est mesurée en utilisant diverses techniques continues et discontinues, telles que les dosages manométriques, spectrophotométriques, fluorimétriques et radiométriques (Tripathi et al., 2018).

Les méthodes susmentionnées diffèrent par leur sélectivité, leur spécificité, sensibilité et leurs exigences tissulaires. Toutes ces techniques très sensibles impliquent une quantité raisonnable de manipulation de l'échantillon, c'est-à-dire l'extraction, le lavage, etc., avant de pouvoir appliquer la spectrophotométrie, la fluorimétrie ou le comptage par scintillation (Tripathi et al., 2018).

La méthode la plus simple et la plus rapide pour déterminer l'activité de la MAO est la méthode spectrophotométrique, utilise une technique spectrophotométrique directe qui permet une mesure rapide et précise. Cette méthode est appropriée pour les tissus extrêmement actifs tels que ceux du foie de cobaye ou de lapin. Cependant, elle est difficile à utiliser pour les tissus moins actifs (Tripathi et al., 2018).

# **Chapitre II.**

## **Les plantes médicinales**

## **I. Généralités sur les plantes médicinales**

Les plantes médicinales constituent un réservoir important de substances naturelles pour la découverte de nouvelles molécules thérapeutiques. L'intérêt de ce travail est d'explorer le potentiel thérapeutique des plantes médicinales connues pour leurs vertus neuromodulatrices et potentiellement d'intérêt pour le traitement de maladies neurologiques.

Donc on appelle une plante médicinale toute plante ayant des propriétés thérapeutiques. Actuellement et grâce aux progrès scientifiques la thérapeutique a beaucoup évolué et a utilisé la plante comme matière première pour la production des médicaments (CHEVALLIER., 2001).

## **II. Substances actives**

Les plantes médicinales contiennent un mélange de substances actives, que l'on peut répartir en trois grands groupes : les composés phénoliques ; les terpénoïdes et les stéroïdes ; les alcaloïdes.

Nous allons étudier successivement ces trois groupes.

### **1. Composés phénoliques**

Les composés phénoliques sont des dérivés non azotés possédant au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction (éther, ester, hétéroside). Les noyaux benzéniques sont principalement issus du métabolisme de l'acide shikimique (shikimate) ou/et de celui d'un polyacétate et sont issus de deux voies biogénétiques différentes :

**1. Voie de l'acide shikimique** : acide cinnamique, acide benzénique, coumarines...

**2. Voie de l'acide acétique (polyacétate)**: chromones, quinones... (Christophe., 1989).

### **2. Terpénoïdes et stéroïdes**

Elaborés à partir des mêmes précurseurs, les terpénoïdes et les stéroïdes constituent sans doute le plus vaste ensemble connu de métabolites secondaires des végétaux. Ils peuvent être considérés comme formés par l'assemblage d'un nombre entier d'unités pentacarbonées ramifiées dérivées du 2-méthylbutadiène.

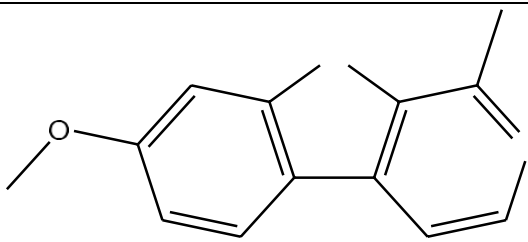
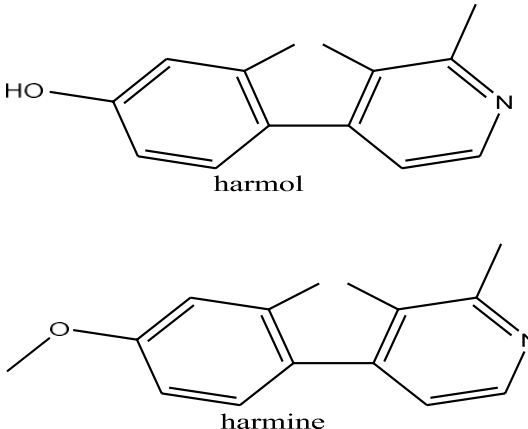
On distingue les monoterpènes réguliers (oléorésines, iridoïdes), les monoterpènes irréguliers (pyréthrines), les sesquiterpènes (lactones sesquiterpéniques), les diterpènes, les triterpènes et les stéroïdes (saponosides, hétérosides cardiotoniques, phytostérols, triterpènes modifiés), les caroténoïdes.

Les monoterpènes et les sesquiterpènes sont les constituants principaux des huiles essentielles, qui sont utilisées en thérapeutique pour leurs propriétés antiseptiques ou pour d'autres propriétés (spasmolytiques, sédatives, etc.). (Christophe., 1989).

### 3. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés organiques d'origine naturelle, azotés (Tableau 06), plus ou moins basiques, de distribution restreinte et doués, à faible dose, de propriétés pharmacologiques marquées. Ils ont pour précurseurs des acides aminés azotés principalement (tryptophane, ornithine, phénylalanine, tyrosine, histidine).

**Tableau 06 :** Liste des alcaloïdes ayant des effets semblables à ceux des antidépresseurs

Le nom de la plante	alcaloïdes ( $\beta$ -carboline)	Mécanisme	Référence
Peganum harmala	 <p>harmine</p>	Inhibition de monoamine oxydase A	(Herraiz et all., 2010)
Peganum harmala	 <p>harmol</p> <p>harmine</p>	inhibition de monoamine oxydase B	(Herraiz et all., 2010)

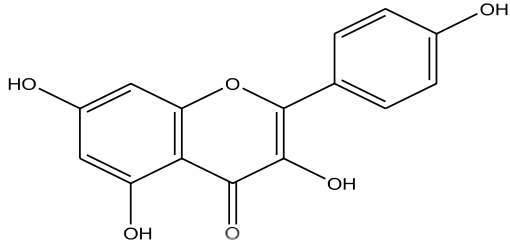
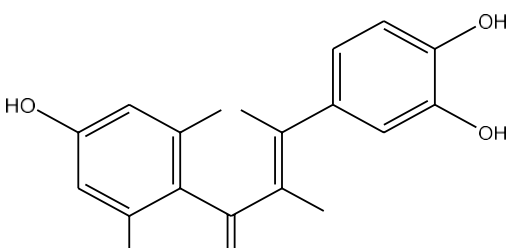
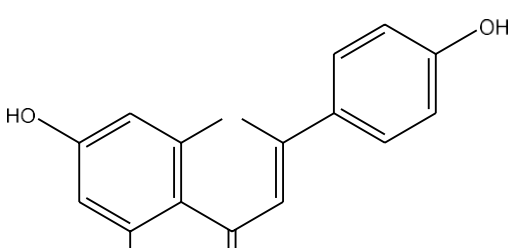
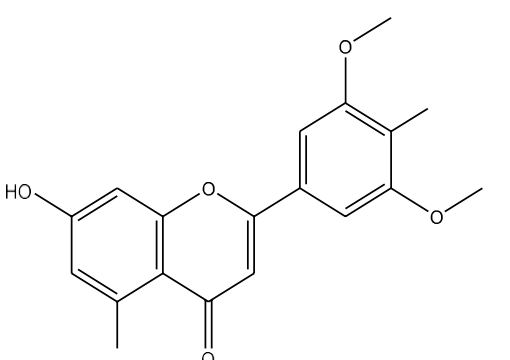
Les activités pharmacologiques des alcaloïdes s'exercent dans les domaines les plus variés:

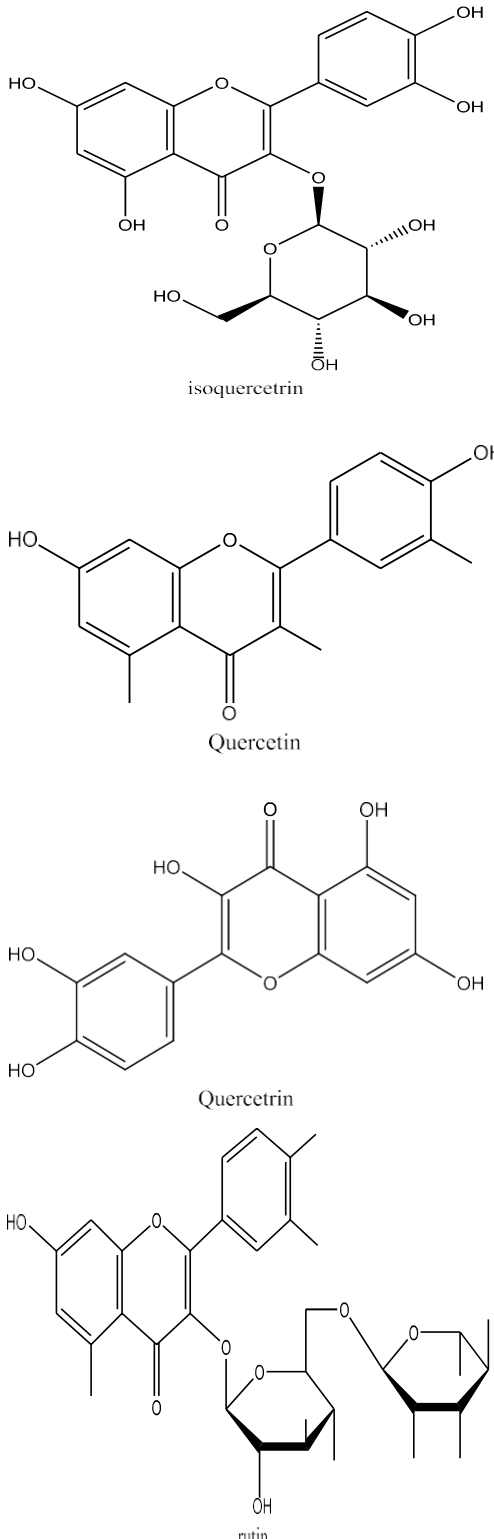
1. au niveau du système nerveux central, qu'ils soient dépresseurs (morphine, scopolamine) ou stimulants (strychnine, caféine) ;
2. au niveau du système nerveux autonome : sympathomimétiques (éphédrine) ou sympatholytiques (yohimbine, certains alcaloïdes de l'ergot de Seigle), parasymphatomimétiques inhibiteurs des cholinestérases (ésérine, pilocarpine, galanthamine), anticholinergiques (atropine, hyoscyamine, scopolamine), ganglioplégiques (spartéine, nicotine). (Christophe., 1989).

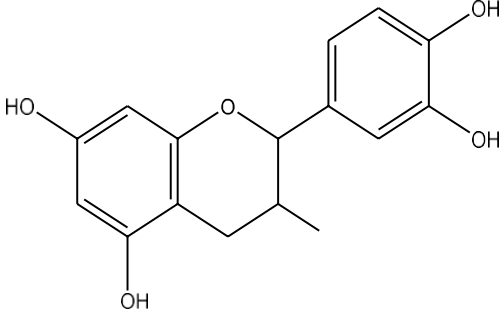
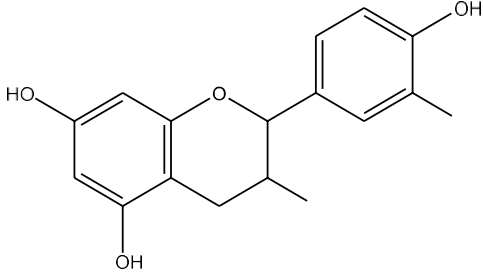
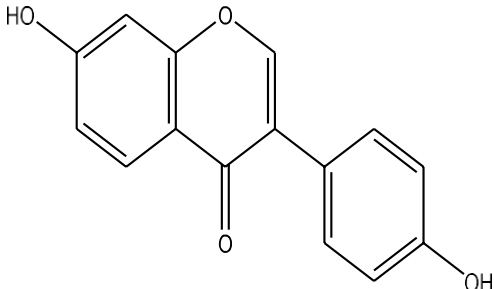
#### **Les plantes antidépresseurs quelle interaction possible ?**

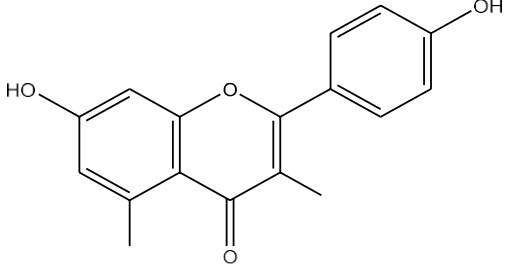
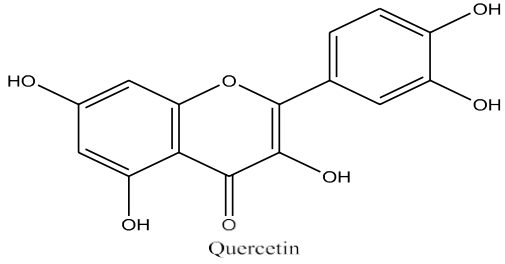
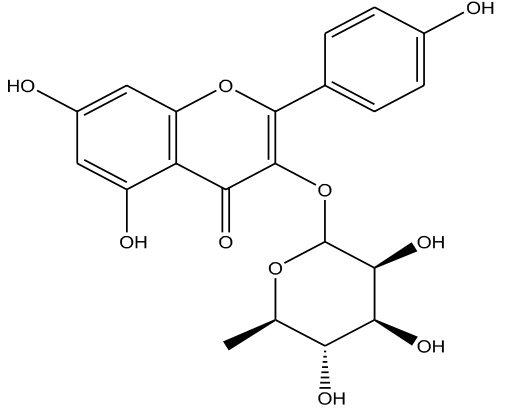
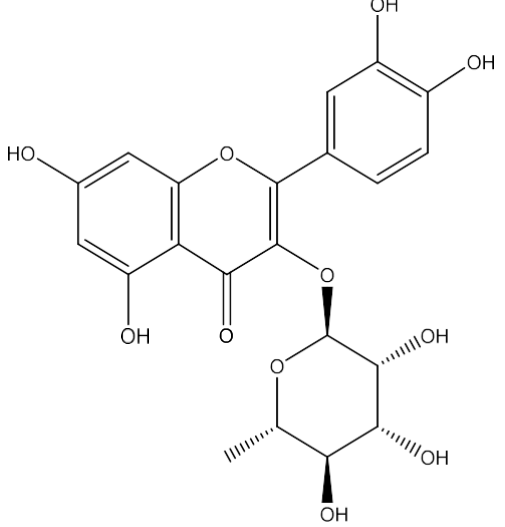
De plus en plus, des études scientifiques et de publications insistent sur le manque d'efficacité des antidépresseurs chez les patients qui présentent une dépression réactionnelle légère à modérée. Ces études soulignent aussi les nombreux d'effets secondaires de ces traitements. Alors qu'une phytothérapie moderne, qui repose sur la connaissance d'action des différents principes de la plante peut apporter une solution naturelle et individualisée.

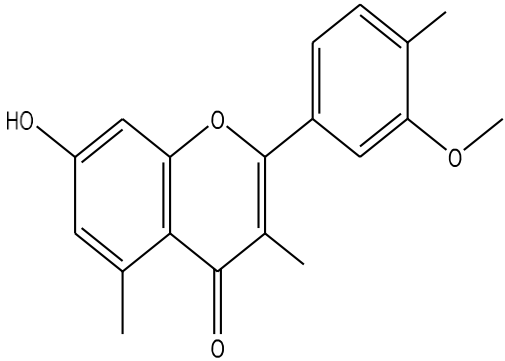
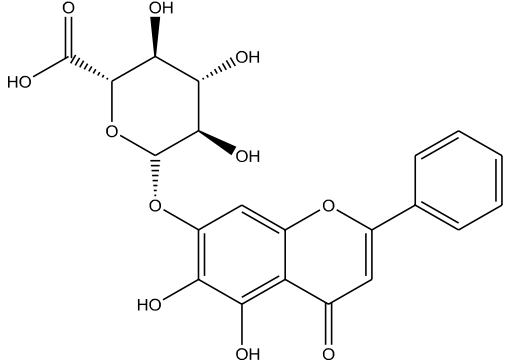
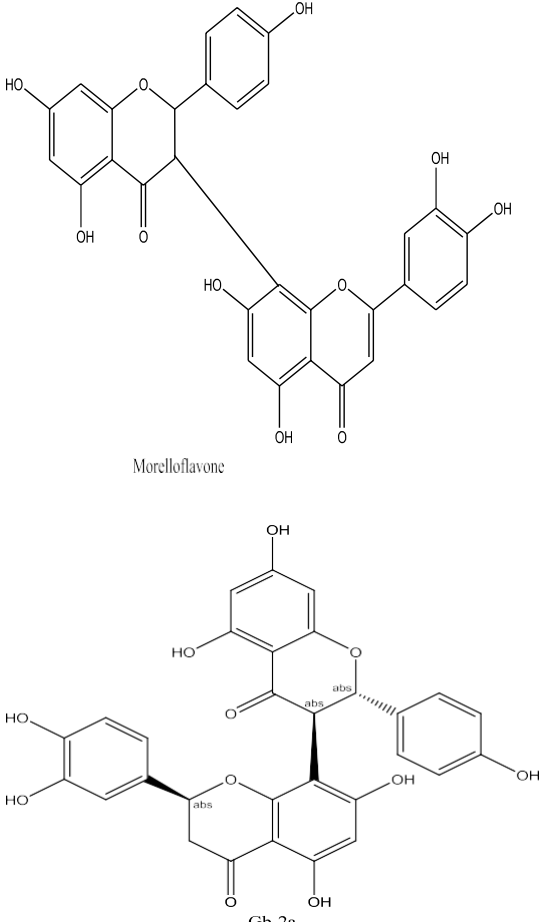
Tableau 05 : Liste des flavonoïdes ayant des effets semblables à ceux des antidépresseurs.

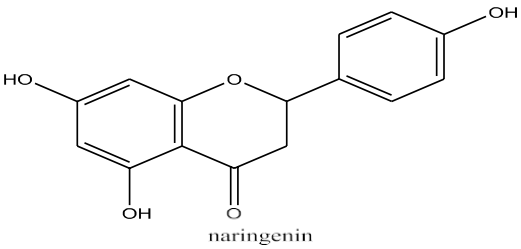
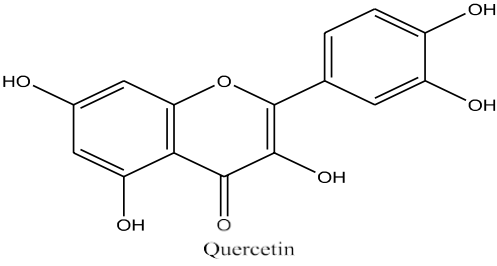
Nom de la plante	Flavonoïdes	Mécanisme d'action	Référence
<p><i>Ginkgo biloba</i></p>	 <p>kaempferol</p>	<p>Inhibiteurs de la AMO-A et de la AMO-B.</p>	<p>(Khan et al., 2018)</p>
	 <p>Quercetin</p>		
	 <p>Apigenin</p>		
	 <p>chrysin</p>		

<p>Melastoma candidum D (Melastomataceae)</p>	 <p>isoquercetin</p> <p>Quercetin</p> <p>Quercetrin</p> <p>rutin</p>	<p>Inhiber MAO-B</p>	<p>la (Recalde-Gil et al., 2017)</p>
---	--	----------------------	--------------------------------------

<p>Uncaria rhynchophylla (Rubiaceae)</p>	<div style="text-align: center;">  <p>Epicatechin</p>  <p>Catechin</p> </div>	<p>MAO-B</p>	<p>(Recalde- Gil et al., 2017)</p>
<p>Sophora flavescens Ait. (Fabaceae)</p>	<div style="text-align: center;">  <p>Formononetin</p> </div>	<p>Activité inhibitrice de la monoamine oxydase</p>	<p>(Khan et al., 2018)</p>

<p>Albizia julibrissin</p>	<div style="text-align: center;">  <p>Kaempferol</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Quercetin</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Kaempferol-3-O-Rhamnopyranoside</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Quercitrin</p> </div>	<p>Diminution des niveaux de monoamine neurotransmetteurs tels que la sérotonine, la dopamine et la norépinéphrine dans le cerveau</p>	<p>(Khan et al., 2018)</p>
----------------------------	--	--	----------------------------

<p>Hypericum monogynum</p>		<p>Diminution des niveaux de monoamine neurotransmetteurs tels que la sérotonine, la dopamine et la norépinéphrine dans le cerveau</p>	<p>(Khan et al., 2018)</p>
<p>Scutellaria baicalensis</p>	 <p style="text-align: center;">Baicalin</p>	<p>inhibition de monoamine oxydase (MAO A et B)</p>	<p>(Khan, H., et al. 2018).</p>
<p>Garcinia gardneriana (Clusiaceae)</p>	 <p style="text-align: center;">Morelloflavone</p> <p style="text-align: center;">Gb-2a</p>	<p>Activité inhibitrice de la monoamine-oxydase</p>	<p>(Recalde-Gil et al., 2017)</p>

<p>Garcinia gardneriana (Clusiaceae)</p>			
<p>La Menthe aquatique</p>	 <p>naringenin</p>	<p>Activité inhibitrice de la monoamine- oxydase</p>	<p><b>(Recalde- Gil et al., 2017)</b></p>
<p>Calluna vulgaris (L.) Hull.</p>	 <p>Quercetin</p>	<p>Activité inhibitrice de la monoamine- oxydase A</p>	<p><b>(Recalde- Gil et al., 2017)</b></p>

# **Chapitre III.**

## **Docking moléculaire**

## **I. Introduction**

Le développement d'un nouveau médicament est un processus long et coûteux, allant de l'identification d'une cible biologique d'intérêt thérapeutique jusqu'au patient, dans lequel les essais cliniques succèdent au développement préclinique. Entre 12 et 15 ans et près d'un milliard de dollars sont nécessaires à la mise sur le marché d'un médicament (**Mokrani., 2012**).

Dans le passé, la méthode expérimentale établie pour la recherche des ligands interagissant avec une protéine donnée est le criblage à haut débit. Les difficultés intrinsèques aux techniques à haut débit ainsi que celles rencontrées lors des étapes d'optimisation des molécules chimiques, ont encouragé le développement de nouvelles approches (**Mokrani., 2012**), on utilisant des outils informatiques qui sont un domaine scientifique interdisciplinaire de sciences informatiques et de la biologie. Elle intéresse particulièrement au rapport entre la structure, la dynamique des macromolécules et leur fonction biologique, qui recouvre l'ensemble des technologies et des méthodes permettant de collecter, de stocker, d'analyser et d'interpréter les données biologiques (**Laribi et Rabhi., 2017**).

L'un de ces outils est la modélisation moléculaire et plus précisément l'arrimage moléculaire (plus souvent connu sous le terme anglo-saxon "Docking"). L'emploi initial du "Docking" moléculaire a été de prédire et reproduire des complexes protéine-ligand (**Chikhi., 2007**).

Ainsi cette méthode, permet de cribler des milliers de composés pour une protéine cible, est couramment utilisée en pharmacochimie pour l'obtention de nouveaux médicaments " une telle approche serait difficilement réalisable en biologie traditionnelle où le récepteur est classiquement une protéine ou une oligomère de protéine et le ligand est une petite molécule" (**Chikhi., 2007**).

Dans l'étude réalisée ici, la protéine est la monoamine oxydase (MAOs) et les ligands sont des composés organiques divers d'origine végétale pouvant jouer le rôle d'inhibiteur de l'enzyme.

Par cette étude, nous essayons de contribuer d'une part, à la compréhension des mécanismes fondamentaux de la liaison entre une cible protéique et son ligand et, d'autre part,

à la recherche d'agents thérapeutiques potentiels par arrimage et criblage virtuel de la monoamine oxydase à l'aide de simulations sur ordinateur.

De plus, par ce travail, nous souhaitons acquérir des compétences en "docking" moléculaire de façon à pouvoir développer cette nouvelle technique à l'université de Laghouat.

## **II. Etude in silico**

Par analogie avec les expressions *in vivo* et *in vitro*, le terme « *in silico* » a été introduit pour qualifier les méthodes numériques mises en œuvre pour traiter de tels systèmes. De par son nom, ce terme fait référence au silicium, matériel principal retrouvé dans les puces informatiques de tous les ordinateurs. *In silico* c'est un modèles biomathématiques utilisant des bases de données issues d'expérimentation *in vivo* ou *in vitro*, permettant d'analyser, grâce à des logiciels informatiques, les propriétés recherchées ou indésirables d'une substance en fonction de sa structure ou de sa réactivité, et de raccourcir les temps de recherche (**Laribi et Rabhi., 2017**).

## **III. Criblage virtuel « Virtual Screening » :**

Le terme criblage virtuel «Virtual Screening» regroupe un ensemble de techniques computationnelles ayant pour objectif l'exploration de bases de composés à la recherche de nouvelles molécules. Une analogie souvent utilisée compare ces techniques à des filtres qui permettraient de constituer des ensembles de molécules partageant certaines propriétés et de sélectionner les plus susceptibles d'interagir avec une cible donné (**Laribi et Rabhi., 2017**).

L'introduction du criblage virtuel a offert une nouvelle voie d'identification de ligands basé sur la structure 3D de la protéine consiste à amarrer et à prédire l'affinité d'un grand nombre de molécules (collectées en chimiothèques) pour le site actif ciblé. Les molécules les plus prometteuses sont sélectionnées, achetées ou synthétisées puis testées expérimentalement (**Mokrani., 2012**).

Le criblage virtuel permet d'accéder à un espace de molécules beaucoup plus grand que celui qui serait exploré par l'utilisation de techniques expérimentales (en raison du coût, du temps et de l'infrastructure nécessaire à ces dernières). Il permet une présélection qui augmente la probabilité d'identifier un ligand (par exemple : 34.8% contre 0.021% de

molécules actives pour le criblage virtuel et HTS respectivement). De plus, les informations sur le mode d'amarrage d'un ligand permettent de comprendre structurellement son mode d'action et d'envisager son amélioration par dérivation.

Le criblage virtuel a été appliqué avec succès sur un certain nombre de cibles thérapeutiques (protéines) dont la structure 3D en complexe avec le ligand a été parallèlement déterminée (**Mokrani., 2012**).

Actuellement, un bon nombre de médicaments mis sur le marché proviennent d'une conception rationnelle basée sur des stratégies de criblage virtuel comme par exemple :

- Des inhibiteurs de l'aldose réductase: par recherche dans des bases de données de composés
- Un inhibiteur d'un élément de réponse de la trans-activation de la HIV-1 RNA: par docking rigide et recherche dans des bases de données de composés
- Un inhibiteur de la thrombine et celui de la glyceraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase : par docking sur des chimiothèques combinatoires.
- 

#### **IV. Docking moléculaire**

Docking (ancrage, amarrage ou arrimage moléculaire en français) est le nom donné aux simulations moléculaires dans lesquelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interaction entre deux molécules (**Chikhi., 2007**).

Dans la plupart des cas, il s'agit d'un récepteur macromoléculaire le plus souvent une protéine (cible) et d'une petite molécule (ligand). Le terme docking seul est couramment employer pour désigner un « docking protéine-ligand » (**Mokrani., 2012**).

Initié au début des années 1980, ce domaine s'est développé pour devenir, de nos jours, un outil incontournable dans la recherche de produits biologiquement actifs.

#### **V. Le principe du docking moléculaire**

Le plus important problème pour l'étape de Docking est de parcourir le mieux possible l'espace conformationnel. La complexité de ce problème est fonction du nombre de degrés de liberté, de translation, de rotation en plus des conformations de départ possibles du ligand. Afin d'éviter des calculs que les machines ne peuvent résoudre ou seulement dans des temps

bien trop importants, plusieurs approximations sont possibles. Les algorithmes de recherche de la flexibilité du ligand peuvent se classer en trois principes, nommés combinatoire, stochastique, et déterministe (Mokrani., 2012).

### **i. L'approche combinatoire**

Cette approche est basée sur des grilles de valeurs pour chaque degré de liberté, et chacune de ces grilles est explorée de manière combinatoire au cours de la recherche. En raison de l'effet combinatoire, le nombre d'évaluations augmente bien plus rapidement que le nombre de degrés de liberté.

Pour cela, des critères de fin sont imposés pour éviter à l'algorithme de parcourir des portions de l'espace qui ne mèneraient qu'à de mauvaises solutions.

Dans un premier temps le ligand est découpé en parties rigides et flexibles. Entre les points où des rotations sont possibles, une ou plusieurs «ancres» rigides sont définies, ensuite une première partie rigide est mise en interaction avec le récepteur puis les parties flexibles sont ajoutées de manière successive avec une exploration des angles de torsion. Le plus important est le choix des fragments de base à placer en premier dans le site car il est très difficile pour les algorithmes de compenser une mauvaise position initiale. Les différentes implémentations changent par la manière dont le premier segment rigide est placé dans le site et dans les procédures d'élimination quand le nombre d'angles de rotation augmente (Mokrani., 2012).

### **ii. L'approche stochastique**

L'approche stochastique consiste à effectuer des changements aléatoires dans la structure tridimensionnelle du ligand. Habituellement il s'agit de modifier un degré de liberté à chaque fois. L'un des points faibles de cette méthode est l'incertitude de convergence, pour l'éviter, il faut multiplier les calculs, indépendamment les uns des autres. Un des principaux algorithmes stochastiques est la méthode de Monte Carlo.

Pour la méthode de Monte Carlo le ligand est considéré dans son ensemble et les changements s'effectuent aussi bien sur les translations, les rotations que sur les torsions. A chaque mouvement, la molécule est minimisée et son énergie est calculée.

Pour déterminer si une structure doit être conservée les programmes se servent du critère de Metropolis.

Le programme ICM utilise des probabilités partielles pour son algorithme de Monte Carlo. Les mouvements de translation et de rotation sont testés par une simulation des mouvements pseudo-brownienne, alors que les mouvements de torsion se basent sur des probabilités partielles. Après chaque cycle une minimisation locale est faite, qui est suivie par un calcul de l'énergie de solvation et de l'entropie. Le choix se fait selon le critère de Metropolis. Les probabilités partielles sont dérivées du diagramme de Ramachadran de structures connues.

Le programme Glide utilise lui aussi la méthode de Monte Carlo. Il se sert de caractéristiques chimiques pour évaluer la pertinence des structures et faire un choix à chaque cycle, mais afin de réduire l'espace à explorer par Monte Carlo il emploie préalablement plusieurs filtres qui permettent d'éliminer les mauvais contacts notamment polaires ou hydrophobes (Mokrani., 2012).

### **iii. L'approche déterministe**

Dans l'approche déterministe, l'état initial détermine les mouvements à effectuer pour générer l'état suivant. Cet état devant être d'énergie égale ou inférieure à celle de l'état initial. Le problème des systèmes déterministes est qu'ils peuvent facilement rester piégés dans un minimum local car leurs capacités à surmonter des barrières énergétiques sont faibles. Il s'agit de l'approche la plus simple et la plus directe.

Cette méthode est très rarement employée en Docking du fait des moyens qu'elle demande et de son biais pour les minima locaux (Mokrani., 2012).

## **VI. Les outils du docking moléculaire**

### **1. Récepteur**

Les structures 3D que nous utilisons proviennent de la PDB (« Protéine Data Bank », en anglais), la plus grande archive de données structurales de macromolécules biologiques, comme les protéines et les acides nucléiques (ARN et ADN). Cette banque de données a été établie en 1971 et contenait à l'époque sept structures. En avril 2011, plus de 72300 structures 3D, dont environ 67000 structures de protéines sont disponibles et accessibles gratuitement. Elles ont été résolues pour la grande majorité par cristallographie aux rayons X (un peu plus de 63000 structures) du fait que cette technique présente de nombreux avantages, notamment celui de ne pas être limitée par la taille de la protéine.

L'étape limitante de cette méthode se situe principalement au niveau de l'obtention de monocristaux diffractant à une résolution suffisante. La RMN fournit, quant à elle, plus de 8800 structures contre seulement 360 dans le cas de la microscopie électronique (**Laribi et Rabhi., 2017**).

De nombreuses informations associées à chaque structure sont accessibles à l'ensemble de la communauté scientifique via la PDB par un serveur internet (<http://www.rcsb.org/pdb/>). On peut y trouver la séquence correspondante, ses coordonnées atomiques, les conditions expérimentales (par exemple, la résolution), des images 3D...etc. Cette base de données est fiable car elle est vérifiée et maintenue par différents centres (RCSB, PDBj, MSD-EBI) (**Laribi et Rabhi., 2017**).

Les coordonnées atomiques des structures se trouvent dans un format de référence, appelé pdb, lu par différents logiciels de visualisation, de modélisation, de criblage virtuel...etc. Donc il suffit de consulter la PDB et d'inscrire le nom de la structure pour télécharger le fichier du récepteur au format pdb indispensable à l'opération de docking moléculaire (**Laribi et Rabhi., 2017**).

Le fichier pdb contient diverses informations sur la macromolécule telle que le nom du récepteur, l'équipe qui a résolu la structure, la méthode expérimentale, ...etc. On y retrouve aussi des informations sur la structure primaire, les hétéroatomes (ligand, métaux, résidus modifiés, ...etc.), la structure secondaire et les coordonnées atomiques X, Y et Z qui déterminent la position exacte de chaque atome dans une conformation donnée. Enfin, la dernière section du fichier fournit des informations sur les connections chimiques entre les atomes (**Laribi et Rabhi., 2017**).

## **2. Le ligand**

En docking moléculaire, le choix du ligand est une étape très importante. Ce choix doit être pertinent en raison de la spécificité du site actif de la cible évitant de tester inutilement des molécules.

A présent, il existe deux moyens pour obtenir la structure chimique d'un ligand donné

- ✚ Le premier : consiste à utiliser des ligands du pdb ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol, mol2....) grâce à des logiciels de construction moléculaires tels que Titan.
- ✚ Le deuxième : consiste à utiliser des collections de molécules (chimiothèques) virtuelles aussi bien commerciales que libres. Parmi les chimio thèques les plus utilisées, nous citons la PubChem (Laribi et Rabhi., 2017).

### 3. Les programmes de docking moléculaire

A l'heure actuelle, plus de 30 programmes de docking moléculaires (commerciaux ou non) sont disponibles . Les plus fréquemment cités sont respectivement: AutoDock, GOLD, FlexX, DOCK et ICM (voir figure N°3).

Bien que ces programmes reposent le plus souvent sur des algorithmes spécifiques, leur protocole est composé de 2 étapes essentielles :

- La première (docking) : est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles.
- La deuxième (scoring) : est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées (Laribi et Rabhi., 2017).

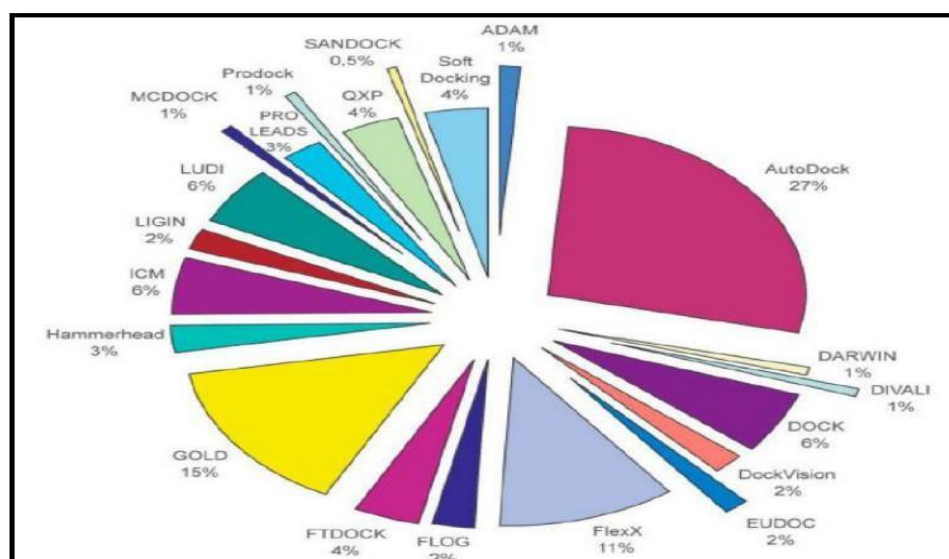


Figure N°3: Comparaison des programmes de docking les plus cités

# **Chapitre IV.**

## **Matériels et méthodes**

## I. Matériels

Avant de présenter les détails de notre méthodologie que nous avons suivi afin d'accomplir ce travail, nous présentons dans cette section le matériel et outils sur lesquels nous sommes appuyés pour réaliser ce travail.

### I. 1. Micro-ordinateur

Dans ce travail en utilisant deux micro-ordinateurs dont les caractéristiques sont présentées dans le Tableau 06.

**Tableau 06** : Caractéristiques d'ordinateurs utilisés

Composants	Caractéristiques
Mémoire (RAM)	2 GO
Processeur	Intel® core™ 2Duo CPU 2,66 Hz
Système d'exploitation	Windows 10 Professionnel
Type de système	64 bits
Carte graphique	NIDIA Ge force G 100

### I. 2. Banques (bases) de données et outils logiciels

#### I. 2. 1. Protéine Data Bank (PDB) :

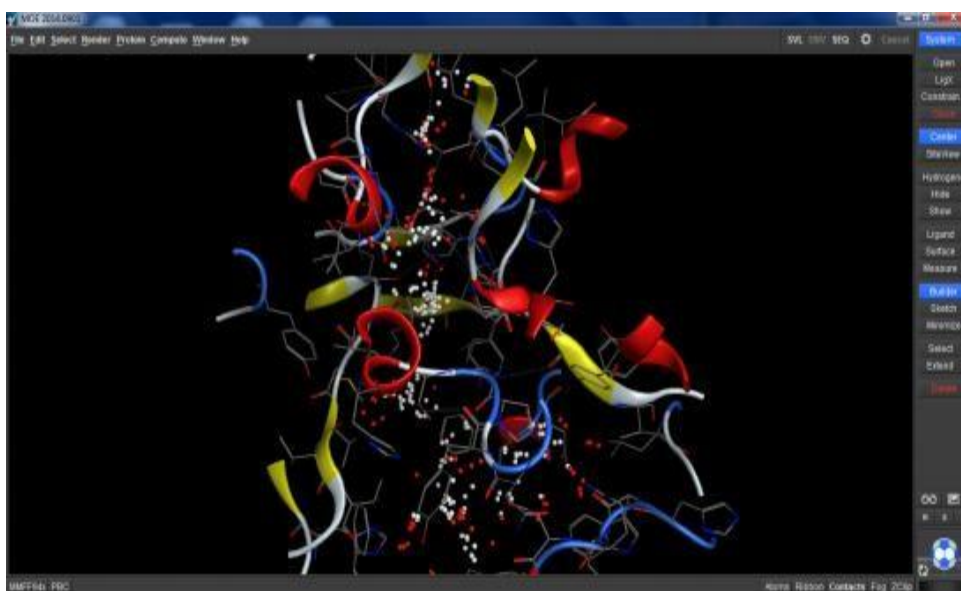
Protéine Data Bank (PDB) ou Banque de Données sur les Protéines (APB) [<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>] est une base de données contenant des expériences qui déterminent la structure tridimensionnelle (3D) des protéines, des acides nucléiques et d'autres macromolécules (LARIBI et RABAHI., 2017).



**Figure 04:** Interface du site Protéine Data Bank (PDB)

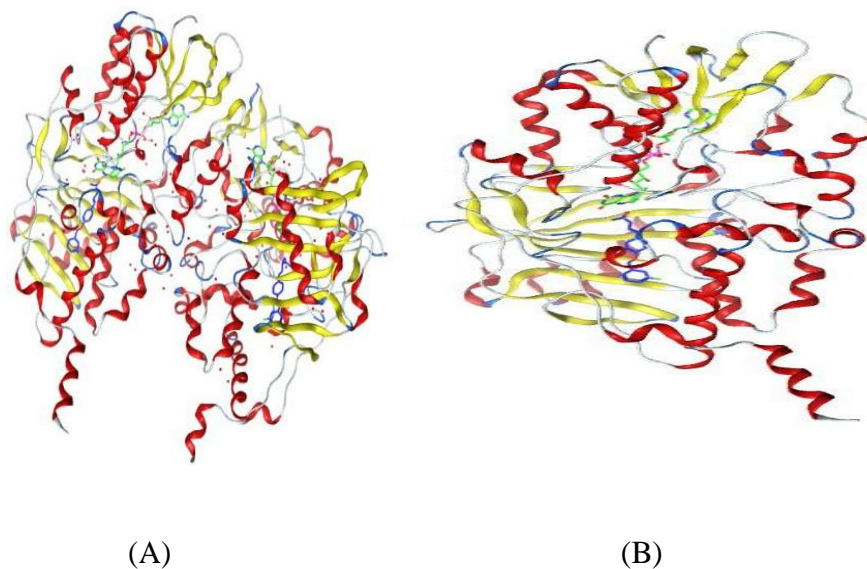
## I. 2.2. MOE (Molecular Operating Environment)

C'est une plateforme logicielle de découverte de médicaments qui intègre la visualisation, la modélisation et les simulations. Le **MOE** est capable de suivre les idées de conception et les modifications des ligands avec des modèles de propriété, de produire des graphiques de corrélation pour visualiser la structure, la propriété, les relations d'activité et de visualiser la surface des protéines hydrophobes et chargées pour étudier les régions sujettes à l'agrégation (Amani et W., 2020).



**Figure : 05** Interface du logiciel MOE

Le téléchargement de la protéine cible, monoamine oxydase a été fait à partir de la base de données Bookhaven Protéine Data Bank ([www.rcsb.org/pdb](http://www.rcsb.org/pdb)) (Figure 06).





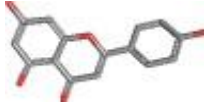
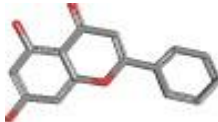



**Figure 06 :** Structure cristalline des protéines cible, monoamine oxydase A et B (PDB code 2Z5X et 2V5Z) liée avec l'harmine et safinamide (ligand) : FAD représenté en vert, les ligands en bleu, l'eau bleu vert

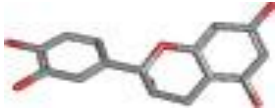



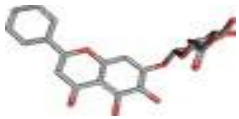
Les structures des composés phénoliques (phytoligands) seront téléchargées à partir des bases de données suivantes (Tableau 07) : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>


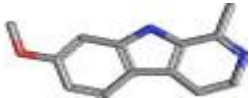



La minimisation de l'énergie globale des ligands et l'addition des atomes d'hydrogène à l'aide du programme MOE.

**Tableau 07 :** Structure chimiques des phytoligands étudiés.

Phytoligands	PubChem CID	Structure
Kaempferol	5280863	

Quercetin	5280343	
Apigenin	5280443	
Chrysin	5281607	
Isoquercitrin	5280804	
Quercitrin	5280459	
Rutin	5280805	

Epicatechin	72276	
catechin	9064	
Formononetin	5280378	
Astilbin	119258	
Baicalin	64982	

naringenin	932	
Harmine	5280953	
Harmol	68094	
Safinamide	131682	
Kaempferol	5280863	

## II. Méthodes

### II. 1. Préparation des ligands et des protéines

La préparation de la protéine cible, la monoamine oxydase utilisée dans cette étude a été réalisé à l'aide du programme BIOVIA Discovery Studio Visualizer 2020 (v20. 1.0.19295). En utilisant ce programme, les molécules d'eau seront éliminées à partir de la structure cristalline des deux protéines (A : PDB/2Z5X) et (B : PDB/2V5Z) lié avec ces ligands Harmine et Safinamide respectivement.

La deuxième étape de préparation, consiste à l'addition des atomes d'hydrogène et la charges Kollman ceci à l'aide du programme MOE (Molecular Operating Environment) (Version 2016. 02) et par la suite les ligands seront enregistrés en format PDB. Pendant la préparation, l'énergie des phytoligands est minimisée par l'algorithme Gasteiger.

### II. 2. Amarrage moléculaire

L'analyse de l'amarrage moléculaire est réalisée par l'outil MOE 2016 pour déterminer l'énergie d'interaction entre les ligands et les protéines cibles.

Le même programme est utilisé aussi pour obtenir le grid box en 3D pour la simulation du docking dans lequel le box d'une taille de 40x40x40, et 0,742 Å est crée et centré à (x = 13.544, y = 12.198, z = 67.681) autour des résidus du site actif de la protéine cible MAO. De plus, le grid box de la protéine spike est centré à (x=-36.921, y = 30.66, z = 2.967) avec un espacement de 0.503 Å de dimensions de 40 x 84 x 40, pour couvrir le site actif avec les résidus essentiels du site d'interaction.

Les sites d'interaction entre les phytoligands et la MAO seront déterminés par le programme MOE 2016.

Le docking moléculaire de l'interaction de 15 phytoligands appartenant à plusieurs plantes médicinales utilisées dans le traitement des maladies liées au système nerveux a été réalisé à l'aide du programme MOE et les résultats ainsi obtenus sont regroupés dans le Tableau (voir annexe 3et 4).

Afin de choisir les composés qui présentent de bonnes propriétés pharmacologiques, on utilise les 5 paramètres de la règles de Lipinski qui traitent les problèmes d'absorption et de perméabilité. Les caractéristiques physico-chimiques des 15 composés «drug-like » ont été bien décrit selon la règle de Lipinski (**voir le tableau 08**) :

**Tableau 08** : Certaines des propriétés / paramètres ADMET (Absorption, distribution, métabolisme, excrétion /élimination, et toxicité) et leurs plages acceptable (Foucras., 2016).

Nom de la propriété	Notation	Plage par défaut
PM	Poids moléculaire	50-500
iLOGP	Coefficient de partage octanol /eau	-2 -10
TPSA	Surface polaire topologique	20 -130
HBA	Nombre d'accepteurs de liaisons H	0-10
HBD	Nombre de donneurs de liaisons H	0-5
RB	Liaisons rotatives	0 -5
Atomes lourds	Atomes lourds	15 -50
logP	Lipophilicité du composé	-0,7 -5,0
MR	Réfractivité molaire	40-130

# **Chapitre V.**

## **Résultats et discussion**

Les résultats de l'étude de paramètre ADMET par la règle de lipinski sont représenté dans les tableaux ( voir annexe 1 et 2).

**Tableau 09:** Critères de la règle de Lipinski des meilleurs composés obtenus suite au criblage virtuel des composés utilisés avec l'enzyme 2Z5X

Molécule	Score	A_acc	A_don	Lip_violation	LogP (o/w)	Poids moléculaire
932	-8.1228	5	3	0	2.3800	272.2560
5280343	-8.0648	6	5	0	2.0320	302.2380
5280863	-7.5504	5	4	0	2.3050	286.2390
5281607	-7.3113	3	2	0	2.8420	254.241

**Tableau 10:** Critères de la règle de Lipinski des meilleurs composés obtenus suite au criblage virtuel des composés utilisés avec l'enzyme 2V5Z

Molécule	Score	A_acc	A_don	Lip_violation	LogP (o/w)	Poids moléculaire
932	-7.5858	5	3	0	2.3800	272.2560
5280863	-7.3658	5	4	0	2.3050	286.2390
9064	-7.2541	6	5	0	1.9790	290.2710
5281607	-7.0445	3	2	0	2.8420	254.2410

On peut avoir à travers les deux **tableaux 09** et **10** que les ligands choisir ont des nombres d'accepteurs d'hydrogène inférieurs à 10 ; et nombre de donneurs d'hydrogène inférieurs à 5. Et pour Le poids moléculaire de ces ligands sont inférieurs à 500 DA, ainsi ils peuvent facilement passer à travers la membrane cellulaire.

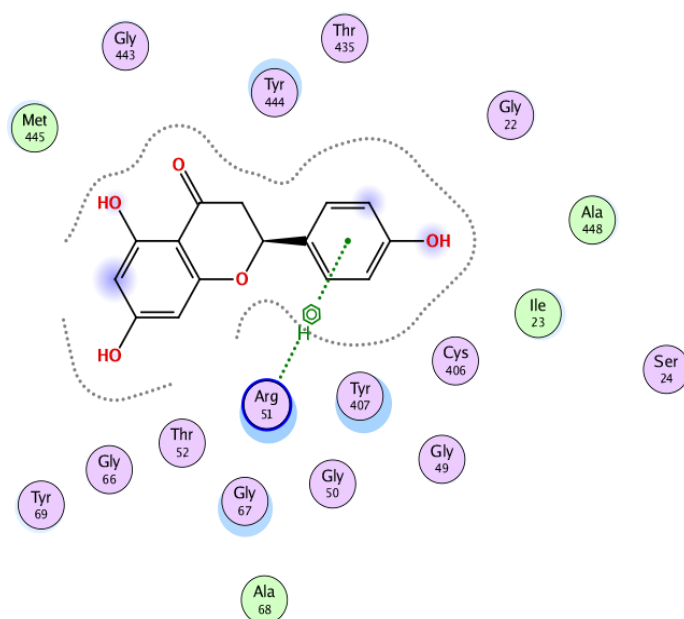
Alors on peut dire que ces composés sont en accord avec la règle de lipinski.

### Étude des interactions de l'enzyme MAO-A

Sur la base du meilleur score d'énergie, seulement 5 ligands « rutin, Baicalin, Quercitrin, Isoquercitrin, Astilbin » ont été sélectionné tandis que les autres ne valident pas à la règle de lipinski.

### 1) Cas de la naringenin

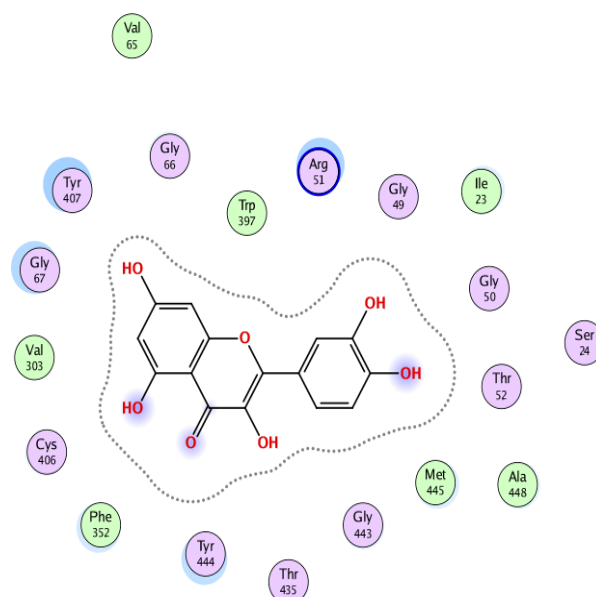
Avec le score  $-8.12$  kcal/mol, l'analyse visuelle montre qu'une liaison est formée entre le noyau benzoylique de ligand et le résidu Arg 51 du site actif avec une distance  $3.83$  Å. Le naringenin est également stabilisé par l'interaction hydrophobique avec les résidus Tyr 407, Tyr 444, Gly 67, Met 445 de l'enzyme. Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par (Olsen et al., 2008) qui ont montré également que la naringinine peut inhiber la MAO à long terme.



**Figure 07** Interactions entre le naringenin et les résidus de site actif de 2Z5X.

### 2) Cas de la quercetine

Le Quercetin est considéré comme l'un des meilleurs inhibiteurs sortis de notre criblage virtuel avec un score égal à  $-8.06$  kcal/mol. Ce score peut être expliqué par la présence des mêmes interactions hydrophobes formées avec le naringenin, Tyr 407, Tyr 444, Gly 67 et Arg 51, Met 445 qui assurent la stabilité de ce complexe.

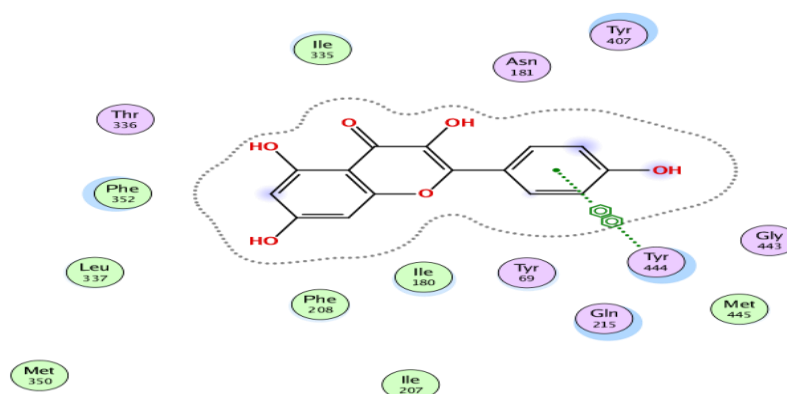


**Figure08** Interactions entre le Quercetin et les résidus de site actif de 2Z5X

(Dhiman et al., 2019) ont signalé également que les acides aminés, Tyr 407, Arg 51, et Met 445 sont impliqués dans la formation du complexe enzyme-ligand.

### 3) Cas du Kaempferol

Les résultats montrent que ce ligand se caractérise par un score  $-7.55\text{kcal/mol}$ . Il établit une liaison hydrogène entre le ligand et le résidu Tyr 444 du site actif avec une distance  $3.69\text{\AA}$ , et des interactions hydrophobiques interviennent pour stabiliser le complexe avec les résidus : Gln 215, Tyr 407, Phe 352.



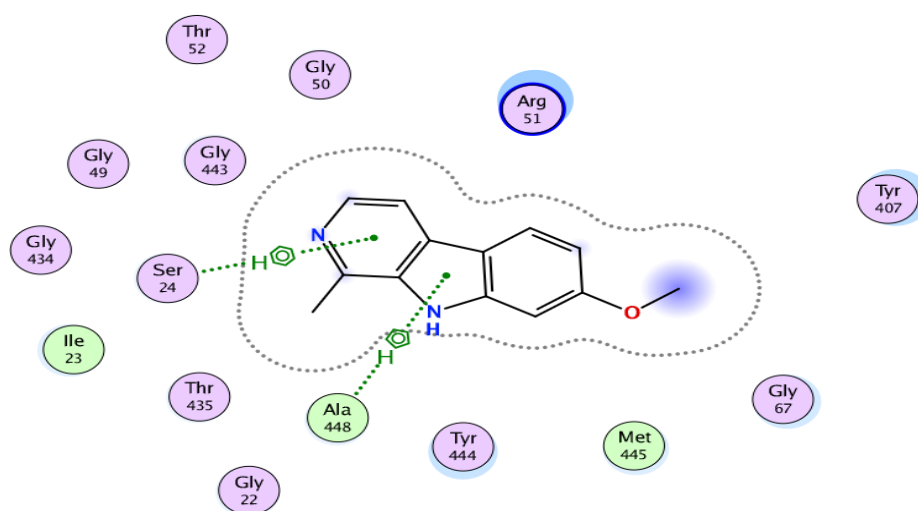
**Figure09** Interactions entre le Kaempferol et les résidus de site actif de 2Z5X

(Esfahani et Mirzaei., 2019) ont trouvé aussi le kaempferol se fixe sur le site actif de la MAO au niveau des acides aminés Tyr407, Tyr444, Phe352, et Arg51.

#### 4) Cas de l'harmine

L'harmaline est un alcaloïde végétal, dans ce cas il est sélectionné comme un standard car elle possède un pouvoir inhibiteur très important pour la MAO-A.

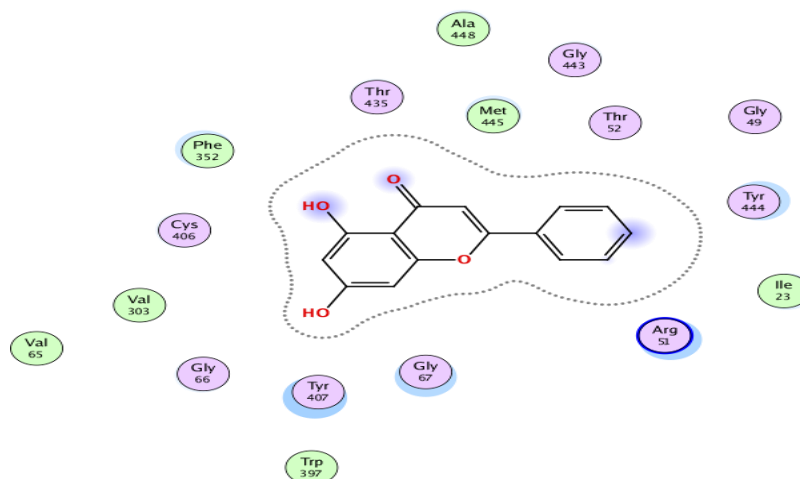
L'analyse visuelle, montre que l'Harmine a un score  $-7.05\text{kcal/mol}$ ; en établissant deux liaisons formées entre le noyau benzoïque de l'atome N de ligand et le résidu Ser 24 séparé par une distance de  $4.80 \text{ \AA}$  et la deuxième liaison entre l'atome NH et le résidu Ala 448 du site actif avec une distance  $4.36\text{\AA}$ . Le complexe est stabilisé aussi par des interactions hydrophobiques avec les résidus Tyr 407, Tyr 444, Gly 67 et Arg 51, Ile 23. Ces résultats sont relativement similaires par rapport à ceux trouvés par (Dhiman et al., 2018).



**Figure10** Interactions entre le Harmine et les résidus de site actif de 2Z5X.

#### 5) Cas de la Chrysin

L'interaction de la Chrysin avec le site actif de l'enzyme donne le score  $-7.31 \text{ kcal/mol}$ . Cependant ce ligand des interactions hydrophobiques qui assurent la stabilisation du complexe avec les résidus Tyr407, Tyr444, Phe352, Arg51. De même, (Esfahani et Mirzaei., 2019) ont observé que ces acides aminés sont responsables de l'interaction de la chrysin avec le site actif de la MAO.



**Figure11** Interactions entre le Chrysin et les résidus de site actif de 2Z5X

## Étude des interactions de l'enzyme MAO-B :

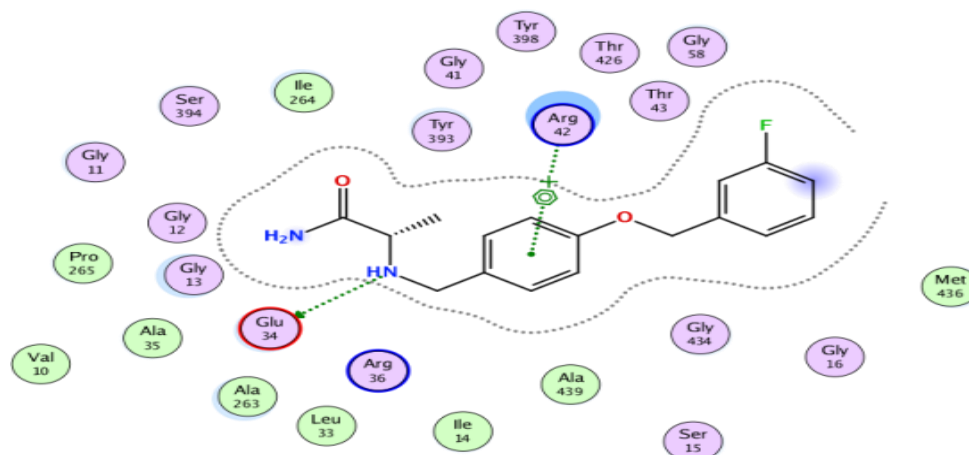
Sur la base du meilleur score d'énergie, on a sélectionné 5 ligands «Astilbin, rutin, Isoquercitrin, Quercitrin, Baicalin » et on les retiré car ne valident pas à la règle de lipinski.

Donc, cette étude est effectuée sur les 5 meilleurs ligands, qui possèdent un score d'énergie et des interactions important.

### 1. Cas de Saffinamide

C'est un inhibiteur hautement sélectif et réversible de la MAO-B, il bloque l'enzyme ce qui contribue à rétablir les taux de dopamine dans le cerveau ; pour ce là on l'utilisé comme un standard.

Le saffinamide se caractérise par un score -8.35 kcal/mol. L'analyse visuelle de ce complexe montre la présence de deux liaisons sachant que : une liaison est de type H-donneur et est formés entre N 4 du ligand et lerésidu OE1 Glu 34 de l'enzyme séparées par une distance3.13 Å. Et une liaison hydrogène est établies respectivement entre le ligand et le résidu Arg42 de l'enzyme avec des distances de 4.26Å. La stabilisation de ce complexe ce fait grâce à des liaisons hydrophobiques avec les résidus Gly13, Ala263.

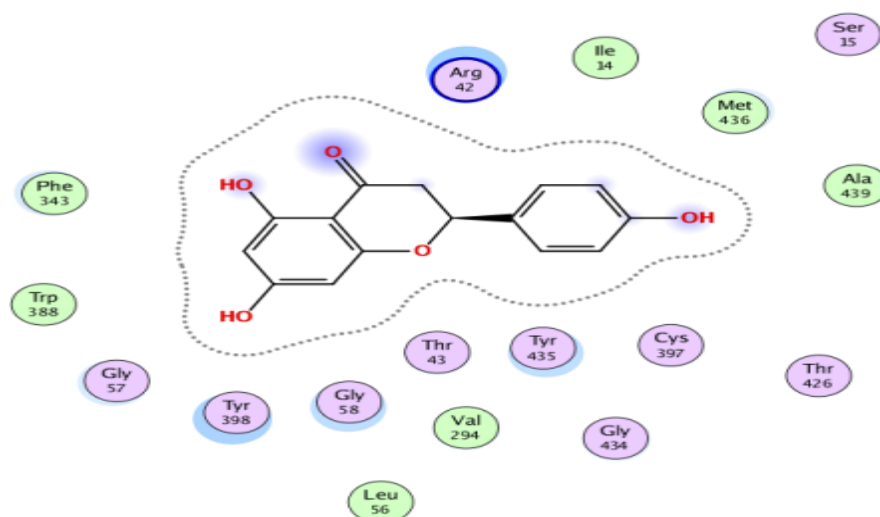


**Figure12** Interactions entre le safinamide et les résidus de site actif de 2V5Z

(Sivaraman et Srikanth., 2016) suggèrent que l'utilisation de safinamide peut inhiber la MAO-B.

## 2. Cas de naringenin

Avec une valeur du score égale à  $-7.58$  kcal/mol, ce complexe 2V5Z – naringenin est é stabilise par des interactions hydrophobiques avec les résidus d'acides aminés : Arg42, Tyr 398, Gly 57, Gly 58, Tyr 435, Phe 343, Met 436.

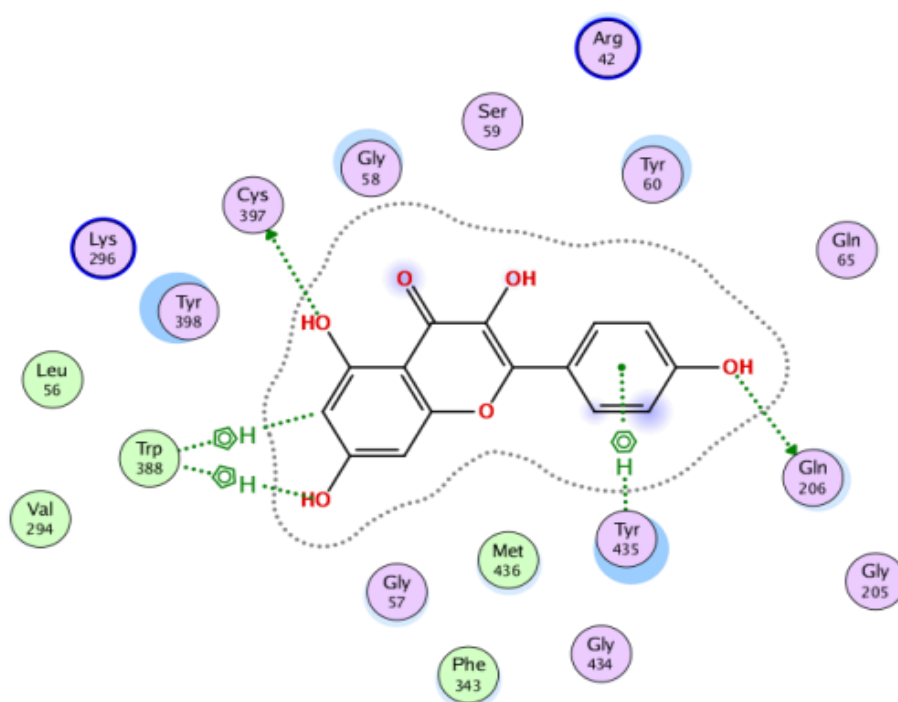


**Figure13** Interactions entre le naringenin et les résidus de site actif de 2V5Z

(Govindasamy et al., 2021) ont suggérée que les acides aminés, Phe343, Tyr398, et Tyr435 sont impliqués dans la formation du complexe enzyme-ligand.

### 3. Cas de Kaempferol

Comme le montre le **tableau N° 3** ce composé se caractérise par un score de -7.36kcal/mol. Ce score se traduit par la formation cinq liaisons Sachant que les deux premières sont de type H-donneur qui sont observées entre O 3 du ligand et le résidu Cys 394; et entre O 6 du ligand et Gln 206 séparé par une distance 3.05Å et 3.09 Å respectivement. Cependant ce ligand forme à l'aide de leur noyau benzoïque avec l'enzyme trois liaisons, l'un observées entre C 16 du ligand et le résidu Trp 388; l'autre est entre O 5 et le résidu Trp 388 ; et une dernière liaison avec le résidu Tyr 435 avec des distances 3.88 Å, 4.22 Å, 3.70 Å, respectivement. Ce complexe est également stabilisé par de nombreuses interactions hydrophobiques qu'il établit avec les résidus Tyr398, Tyr 60, Tyr 435, Gln 206, Gly58, Arg 42.

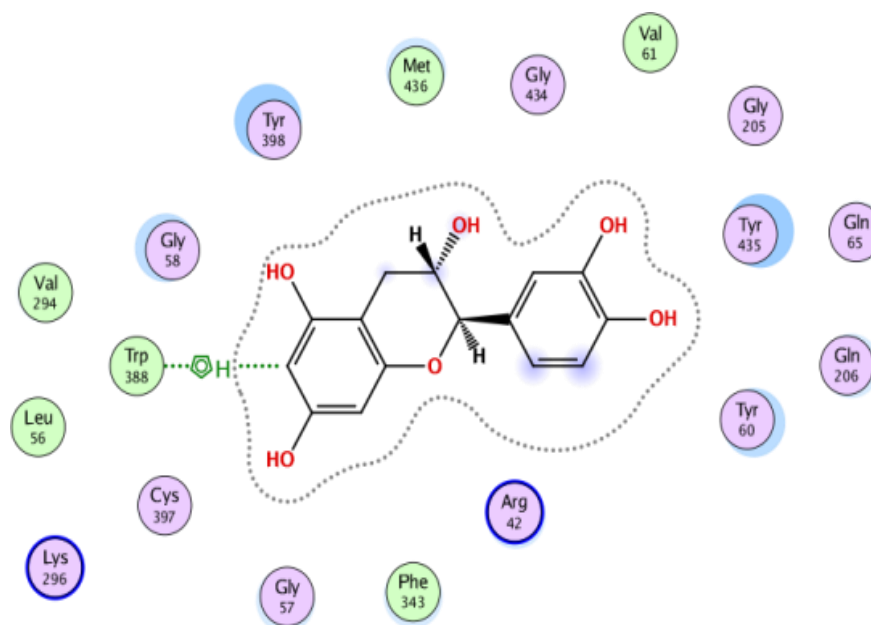


**Figure14** Interactions entre le Kaempferol et les résidus de site actif de 2V5Z

En (2016, Sivaraman et Srikanth) sont trouvé que les acides aminés, 42 ARG, 60 TYR, 397 CYS, 426 THR, et 435 TYR, sont impliqués dans la formation du complexe enzyme-ligand.

#### 4. Cas de catechin

Ce ligand possède une score est égal  $-7.25\text{kcal/mol}$ . L'analyse visuelle du ce complexe indique la présence d'une liaison de type H-accepteur entre C 17 du ligand et le résidu Trp 388 de l'enzyme ( $d= 3.88\text{\AA}$ ). On constate également des interactions hydrophobiques entre l'inhibiteur et les résidus d'acide aminé Tyr435, Tyr60, Tyr 398, Gly 58, Gly 57, Gln 206, Met 436 qui stabilisent le complexe.

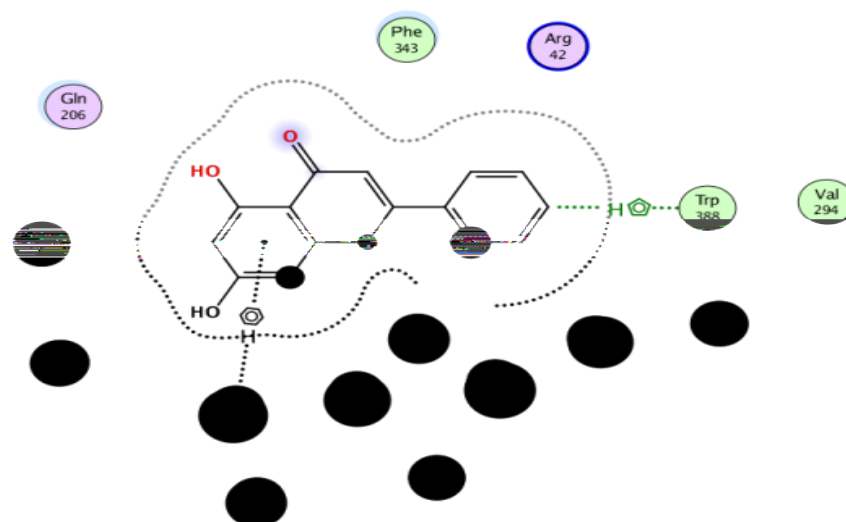


**Figure15** Interactions entre le catechin et les résidus de site actif de 2V5Z

(Azam et al., 2015) ont trouvé que les acides aminés, Gln-206 et la Tyr-435 sont impliqués dans la formation du complexe enzyme-ligand.

#### 5. Cas de la Chrysin

L'interaction de ce ligand avec le site actif de l'enzyme donne le score  $-7.04\text{kcal/mol}$ . Cependant ce ligand forme à l'aide de leur noyau benzoïque avec l'enzyme deux liaisons, sachant que : la première liaison de type hydrogène entre C 19 du ligand et le résidu Trp 388 de l'enzyme ( $d= 3.89\text{\AA}$ ) et la deuxième liaison avec le résidu Tyr 435 ( $d= 3.91\text{\AA}$ ). Ce complexe est stabilisé aussi par des interactions hydrophobiques avec les résidus : Phe 343, Gln 206, Gly 58, Tyr 398, Tyr60, Tyr 435, Arg 42, Met 436 de l'enzyme



**Figure16** Interactions entre Chrysin et les résidus de site actif de 2V5Z

(Monteiro et al., 2018), montrent que le chrysin inhibe fortement la MAO-B avec un score de  $-13.34$  kcal/mol.

D'après les résultats précédents, on peut dire que la naringénine et la Kaempferol peuvent être considérés comme des inhibiteurs potentiels de la MAO A et la MAO B respectivement, puisqu'ils forment des liaisons de type hydrogène et des interactions hydrophobes avec les acides aminés de leur site catalytique, Lys-305, Try-397, Tyr-407 et Tyr-444 pour la MAO-A et Lys-296, Trp-388, Tyr-398 et Tyr-435 pour la MAO-B.

# **Conclusion et perspectives**

Les méthodes de criblage virtuelle sont régulièrement et largement utilisées pour le coût et le temps de la découverte de nouveaux médicaments. Les inhibiteurs de la MAO-A et B sont les médicaments les plus importants pour la gestion clinique des maladies neurodégénératives.

Il a été clairement démontré que l'approche utilisée dans cette étude prouve que les flavonoïdes en particulier la naringénine, la quercétine, la Kaempferol et la chrysin pour la MAO-A et la naringénine, la catéchine, la chrysin et le Kaempferol pour la MAO-B possèdent un pouvoir inhibiteur très fort. Selon les critères de la règle de Lipinski, tous les composés pourraient être bon candidat pour le développement de médicament.

Les plantes médicinales, en particulier *Mentha aquatica* et *Albizia julibrissin* peuvent être considérées comme sources majeures de médicaments utilisées dans le traitement des maladies neurodégénératives ceci due à leur richesse en flavonoïdes.

Afin de compléter ce travail, il serait envisageable de :

- Réaliser le docking moléculaire avec d'autres programmes tels que : GOLD, GROMACS, Autodock afin de valider nos résultats.
- Tester in vitro l'effet des meilleurs ligands sur l'activité de la MAO et déterminer leur mécanisme cinétique d'inhibition.

# **Références**

# **Bibliographiques**

- Amani Sedrati, W. B. (2020).** Conception par modélisation et criblage virtuel d'inhibiteurs de récepteur LSD1.
- Azam, F., Mohamed, N., & Alhussen, F. (2015).** Molecular interaction studies of green tea catechins as multitarget drug candidates for the treatment of Parkinson's disease: computational and structural insights. *Network: Computation in neural systems*, 26(3-4), 97-115.
- Billett EE (2004).** Monoamine oxidase (MAO) in human peripheral tissues. *Neurotoxicology*; 25:139-48.
- Chaaya, R. Y. (2010).** Rôle du stress oxydant induit par les monoamines oxydases dans la fibrose rénale: étude in vivo dans un modèle d'ischémie reperfusion chez le rat (Doctoral dissertation, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
- Chikhi, A. (2007).** Calculs et modélisations des interactions peptide déformylase–Substances antibactériennes à l'aide de techniques de "docking" (arrimage) moléculaire (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat d'université: Biochimie appliquée. Constantine: Université Mentouri de Constantine. Algérie. 2007. 90p).
- Dhiman, P., Malik, N., & Khatkar, A. (2018).** 3D-QSAR and in-silico studies of natural products and related derivatives as monoamine oxidase inhibitors. *Current neuropharmacology*, 16(6), 881-900.
- Dhiman, P., Malik, N., Sobarzo-Sánchez, E., Uriarte, E., & Khatkar, A. (2019).** Quercetin and related chromenone derivatives as monoamine oxidase inhibitors: Targeting neurological and mental disorders. *Molecules*, 24(3), 418.
- Esfahani, A. N., & Mirzaei, M. (2019).** Flavonoid derivatives for monoamine oxidase–A inhibition. *Advanced Journal of Chemistry-Section B*, 1(1), 17-22.
- Foucras, G. (2016).** Vieillesse cardiaque: caractérisation de la sénescence des cardiomyocytes et du rôle de la monoamine oxydase A (Doctoral dissertation, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
- Johnson GA, Kim EG, Platz PA, Mickelson MM (1968)** Comparative aspects of tyrosine hydroxylase and tryptophan hydroxylase inhibition: arterenones and dihydroxyphenylacetamide (H 22-54). *Biochem Pharmacol* 17: 403-410
- Herraiz, T., González, D., Ancín-Azpilicueta, C., Arán, V. J., & Guillén, H. (2010).**  $\beta$ -Carboline alkaloids in *Peganum harmala* and inhibition of human monoamine oxidase (MAO). *Food and Chemical Toxicology*, 48(3), 839-845.
- H. Gaweska, P. F (2011).** Fitzpatrick, Structures and mechanism of the monoamine oxidase family. *Biomolecular concepts*; 2: 365-377.
- <http://www.swissadme.ch/help.php>
- Govindasamy, H., Magudeeswaran, S., Kandasamy, S., & Poomani, K. (2021).** Binding mechanism of naringenin with monoamine oxidase–B enzyme: QM/MM and molecular dynamics perspective. *Heliyon*, 7(4), e06684
- Khan, H., Perviz, S., Sureda, A., Nabavi, S. M., & Tejada, S. (2018).** Current standing of plant derived flavonoids as an antidepressant. *Food and Chemical Toxicology*, 119, 176-188.
- LARIBI, A., RABAHI, K. (2017).** Etude in-silico de l'inhibition de la Xanthine oxydase (Doctoral dissertation, Université de Bouira).
- Mohamed, S. M., Chaurasiya, N. D., Mohamed, N. M., Bayoumi, S. A., Tekwani, B. L., & Ross, S. A. (2020).** Promising selective MAO-B inhibition by sesamin, a lignan from *Zanthoxylum flavum* stems. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 28(4), 409-413.
- Monteiro, A. F. M., Viana, J. D. O., Nayarissari, A., Zondegoumba, E. N., Mendonça Junior, F. J. B., Scotti, M. T., & Scotti, L. (2018).** Computational studies applied to

flavonoids against alzheimer's and parkinson's diseases. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018.

- Mokrani, E. H. (2012).** Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation informatique.
- M. Ghardaoui, C. Merrad, Mémoire de Master (2017):** Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de la monoamine oxydase B pour le traitement de la maladie de Parkinson, P:2-11.
- Nel M.S, Petzer A., Petzer, J. P., Legoabe, L. J (2016).** 2-Heteroarylidene-1-indanone derivatives as inhibitors of monoamine oxidase. *Bioorganic Chemistry*. 69:20-28.
- Olsen, H. T., Stafford, G. I., Van Staden, J., Christensen, S. B., & Jäger, A. K. (2008).** Isolation of the MAO-inhibitor naringenin from *Mentha aquatica* L. *Journal of ethnopharmacology*, 117(3), 500-502.
- Pierre, C. (2020).** Conséquences fonctionnelles, comportementales et adaptatives d'une mutation de la MAO (Monoamine Oxydase) chez le poisson cavernicole aveugle *Astyanax mexicanus* (Doctoral dissertation, Université Paris-Saclay).
- Recalde-Gil, M. A., Klein-Júnior, L. C., dos Santos Passos, C., Salton, J., de Loreto Bordignon, S. A., Monace, F. D., ... & Henriques, A. T. (2017).** Monoamine oxidase inhibitory activity of biflavonoids from branches of *Garcinia gardneriana* (Clusiaceae). *Natural product communications*, 12(4), 1934578X1701200411.
- Sivaraman, D., & Srikanth, J. (2016).** Discovery of novel monoamine oxidase-B inhibitors by molecular docking approach for alzheimer's and parkinson's disease Treatment. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res*, 40(1), 245-250.
- Tipton, K. F. (1994).** Monoamine oxidase inhibition. *Biochem Soc Trans* 22(3): 764-8.
- Trevor, A. J et al. (1987).** "Processing of MPTP by monoamine oxidases: implications for molecular toxicology." *J Neural Transm Suppl* 23: 73-89.
- Tripathi, A. C., Upadhyay, S., Paliwal, S., & Saraf, S. K. (2018).** Privileged scaffolds as MAO inhibitors: Retrospect and prospects. *European journal of medicinal chemistry*, 145, 445-497.
- Weyler W, Hsu YP and Breakefield XO (1990).** Biochemistry and genetics of monoamine oxidase. *Pharmacol Ther* 47(3):391-417.
- Wu HF, Chen K, Shih JC (1993)** Site-directed mutagenesis of monoamine oxidase A and B: role of cysteines. *Mol Pharmacol*. *Mol Pharmacol* 43: 888-893.

# **Annexes**

## Annexe

### Les paramètres ADMET des composés utilisés avec 2Z5X

N°	Molécule	Score	A_ac	A_don	Lip_violation	LogP (o/w)	Poids moléculaire
1	5280443	-7.6123	4	3	0	2.5340	270.2400
2	119258	-8.8574	11	7	2	0.5650	450.3960
3	64982	-9.5740	10	7	2	0.4280	446.3640
4	9064	-7.9840	6	5	0	1.9790	290.2710
5	5281607	-7.3113	3	2	0	2.8420	254.241
6	72276	-8.0068	6	5	0	1.9790	290.2710
7	5280378	-7.5979	3	1	0	2.4520	268.2680
8	5280953	-7.0517	2	1	0	2.9205	212.2520
9	68094	-6.5791	1	2	0	1.4120	198.2250
10	5280804	-9.1537	11	8	2	-0.2320	464.3790
11	5280863	-7.5504	5	4	0	2.3050	286.2390
12	5464454	-6.3745	10	7	3	4.3390	556.4790
13	932	-8.1228	5	3	0	2.3800	272.2560
14	5280343	-8.0648	6	5	0	2.0320	302.2380
15	5280459	-9.3538	10	7	2	0.8030	.4483800
16	5280805	-12.4148	15	10	3	-1.1130	610.5210

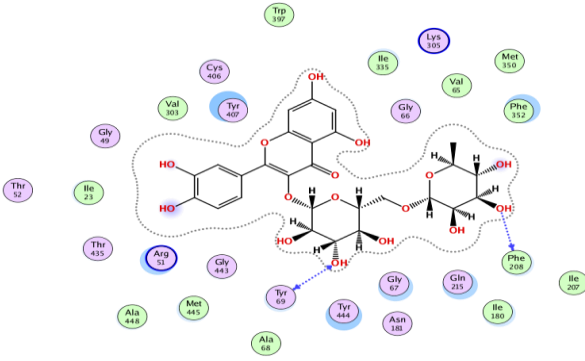
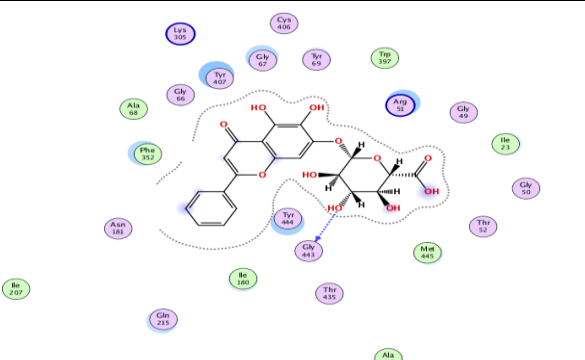
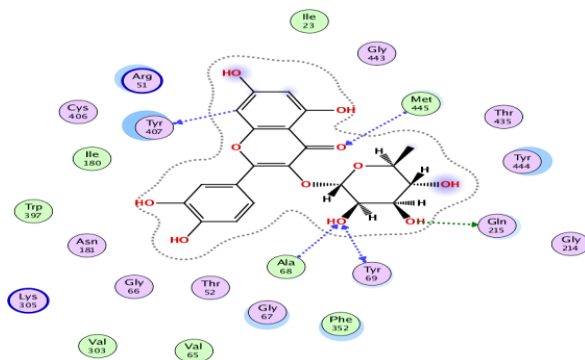
## Annexe

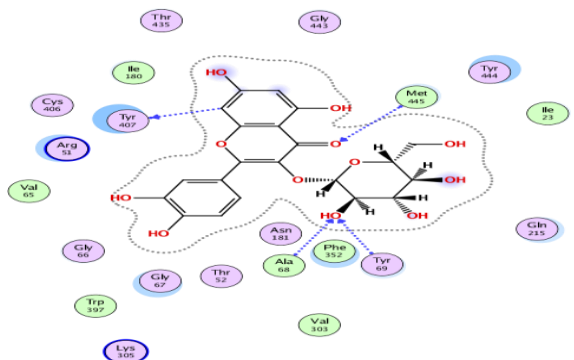
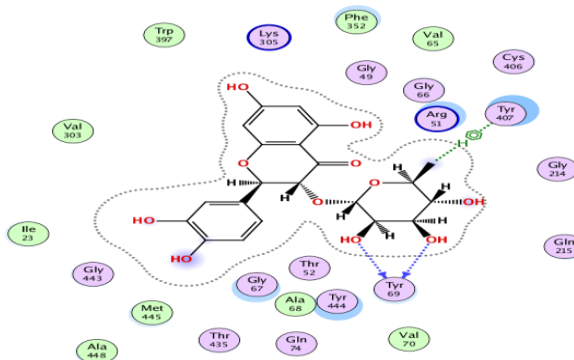
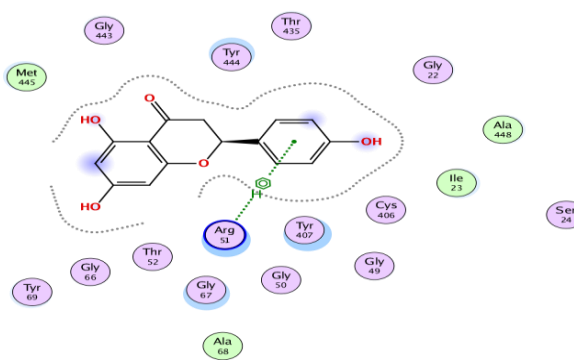
### Les paramètres ADMET des composés utilisés avec 2V5Z

N°	Molécule	Score	A_acc	A_don	Lip_violation	LogP (o/w)	Poids moléculaire
1	5280443	-9.6131954	4	3	0	2.5340	270.2400
2	119258	-9.5943594	11	7	2	0.5650	450.3960
3	64982	-9.4418726	10	7	2	0.4280	446.3640
4	9064	-9.1572828	6	5	0	1.9790	290.2710
5	5281607	-8.9255743	3	2	0	2.8420	254.2410
6	72276	-8.3570642	6	5	0	1.9790	290.2710
7	5280378	-7.603961	3	1	0	2.4520	268.2680
8	68094	-7.5858974	1	2	0	1.4120	198.2250
9	5280804	-7.4201484	11	8	2	-0.2320	464.3790
10	5280863	-7.3658342	5	4	0	2.3050	286.2390
11	5464454	-7.357471	10	7	3	4.3390	556.4798
12	932	-7.25419	5	3	0	2.3800	272.2560
13	5280343	-7.1149678	6	5	0	2.0320	302.2380
14	5280459	-7.0445352	10	7	2	0.8030	448.3800
15	5280805	-6.3101015	15	10	3	-1.1130	610.5210
16	131682	-5.4758873	3	2	0	2.8540	302.3490

## Annexe 60

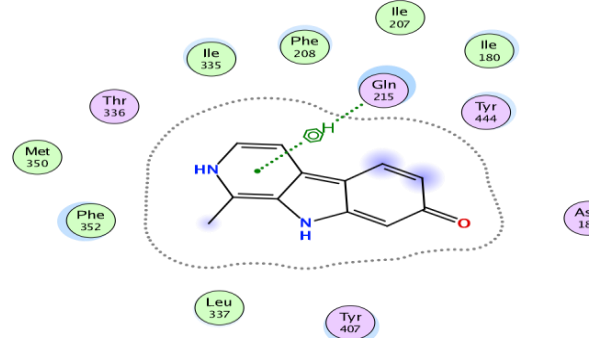
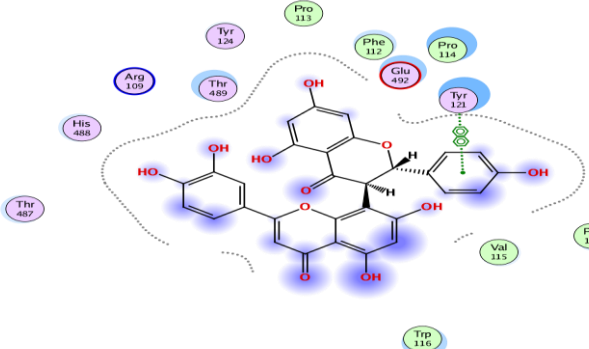
### Les scores énergétiques des phytoligands avec 2Z5X

Ligand	Les acides aminés d'Interaction	Score d'amarrage	RMSD
Rutin	 <p>TYR 69 (A) H-donneur 2,72 -2,7 (kcal/mol)            PHE 208 (A) H-donneur 2,88 -1,6 (kcal/mol)            TYR 69 (A) H-accepteur 2,90 4,5 (kcal/mol)</p>	-12.414774	1.5272328
Baicalin	 <p>GLY 443 (A) H-donneur 2,86 -0,8 (kcal/mol)</p>	-9.5739737	1.7289932
Quercitrin	 <p>GLN 215 (A) H-donneur 2,71 -2,9 (kcal/mol)            TYR 69 (A) H-donneur 3,26 -1,0 (kcal/mol)</p>	-9.3538494	1.6221722

	<p>TYR 407 (A) H-donneur 3,08 -0,8 (kcal/mol)</p> <p>ALA 68 (A) H-accepteur 2,94 -2,6 (kcal/mol)</p> <p>TYR 69 (A) Acteur H 2,85 2,2 (kcal/mol)</p> <p>MET 445 (A) H-accepteur 3,13 -1,6 (kcal/mol)</p>		
Isoquercitrin	 <p>TYR 407 (A) H-donneur 3,07 -0,8 (kcal/mol)</p> <p>ALA 68 (A) H-accepteur 3,31 -1,1 (kcal/mol)</p> <p>TYR 69 (A) Acteur H 2,92 -1,8 (kcal/mol)</p> <p>MET 445 (A) H-accepteur 3,14 -1,8 (kcal/mol)</p>	- 9.153670 3	1.3178663
Astilbin	 <p>TYR 69 (A) H-donneur 2,55 -0,2 (kcal/mol)</p> <p>TYR 69 (A) H-donneur 2,60 -3,3 (kcal/mol)</p> <p>TYR 407 (A) H-pi 3,70 -0,6 (kcal/mol)</p>	- 8.857363 7	1.9743766
naringenin	 <p>ARG 51 (A) pi-H 3,83 -1,2 (kcal/mol)</p>	- 8.122827 5	1.5090761

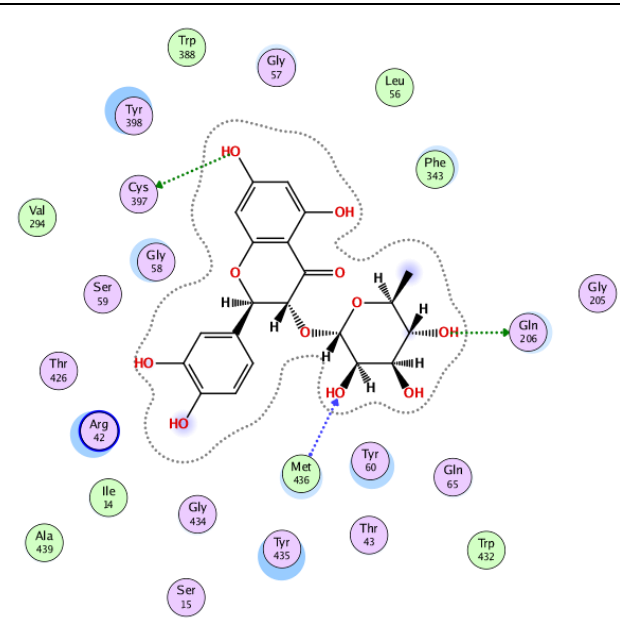


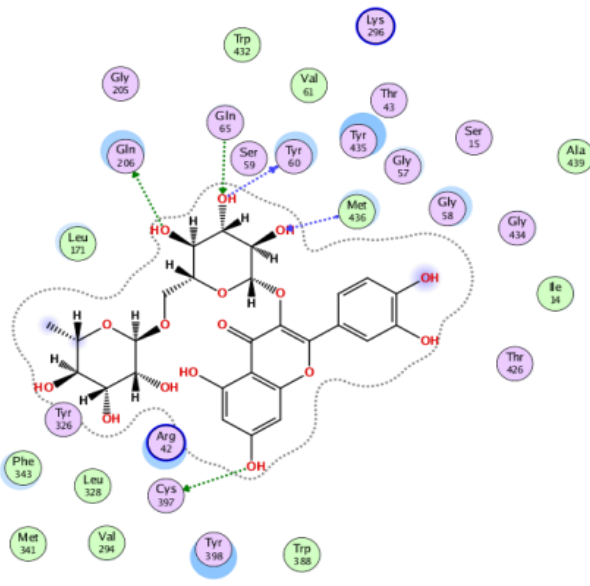
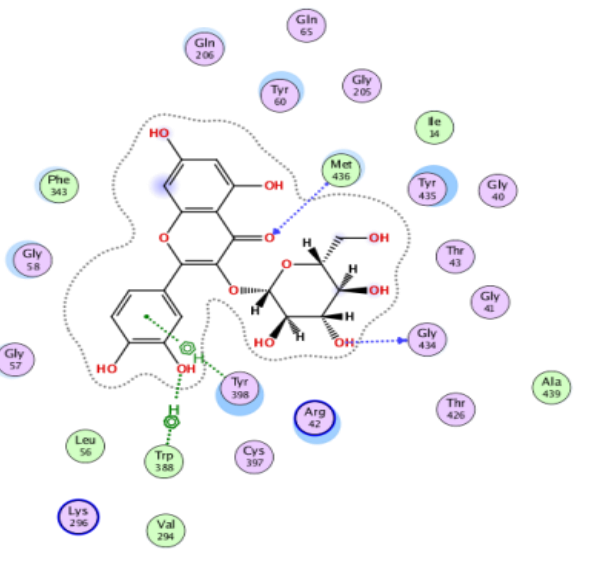
Formononetin		- 7.597936 2	0.9313065 4
Kaempferol	<p>TYR 444 (A) pi-pi 3.69 -0.0 (kcal/mol)</p>	- 7.550396 4	1.5483902
Chrysin		- 7.311262 1	1.3755804
Harmine	<p>SER 24 (A) pi-H 4.80 -1.5 (kcal/mol) ALA 448 (A) pi-H 4,36 -0,6 (kcal/mol)</p>	- 7.051729 7	1.3957045

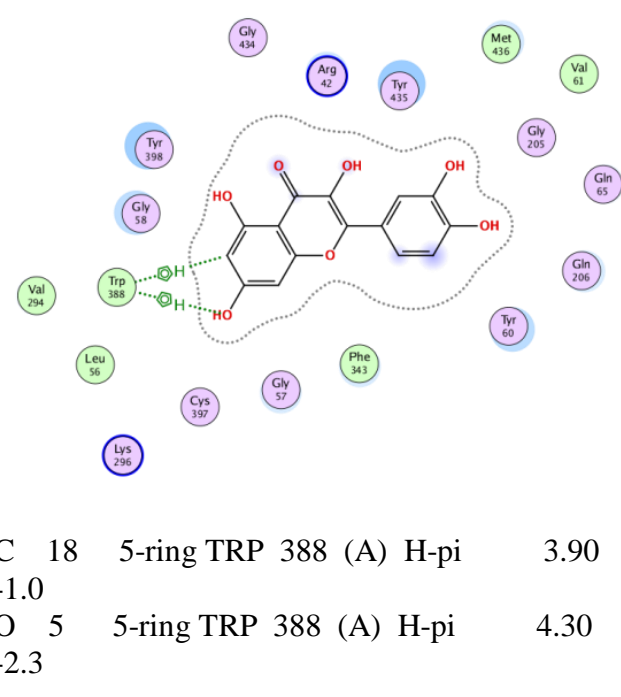
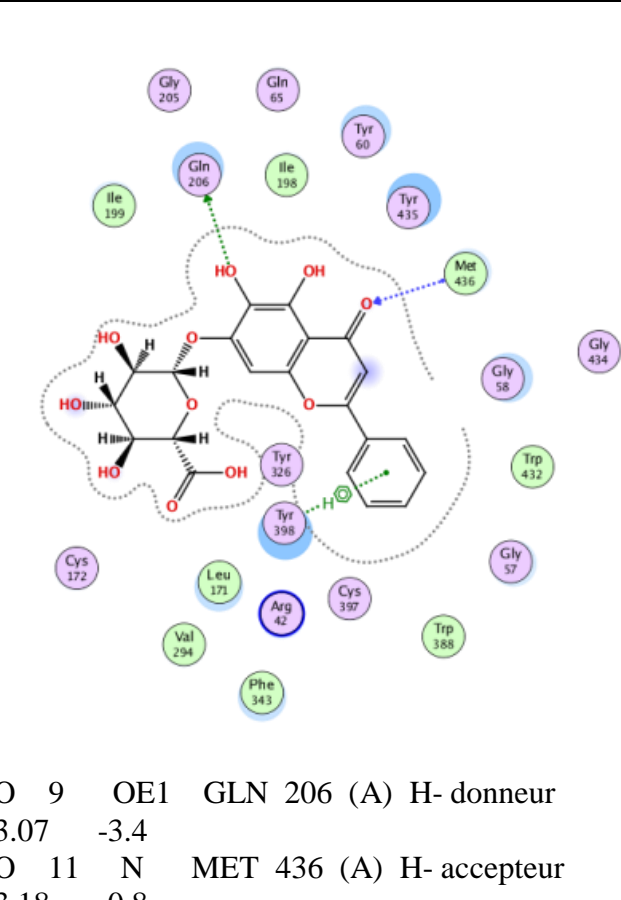
Harmol	 <p>GLN 215 (A) pi-H 3.62 -1.0 (kcal/mol)</p>	- 6.579130 2	1.8448055
Morelloflavone	 <p>TYR 121 (A) pi-pi 3,64 -0,0 (kcal/mol)</p>	- 6.374531 7	0.7373568 4

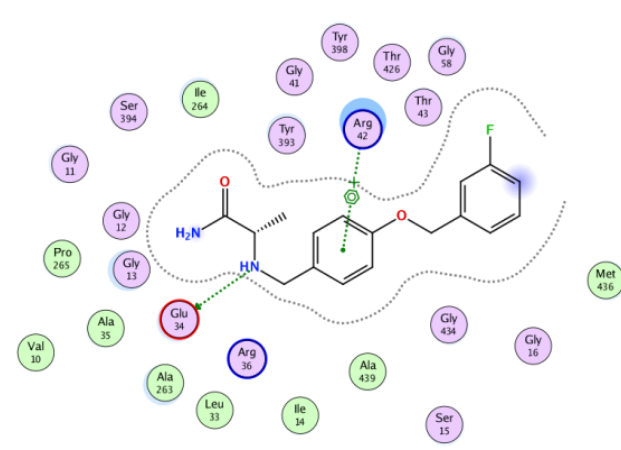
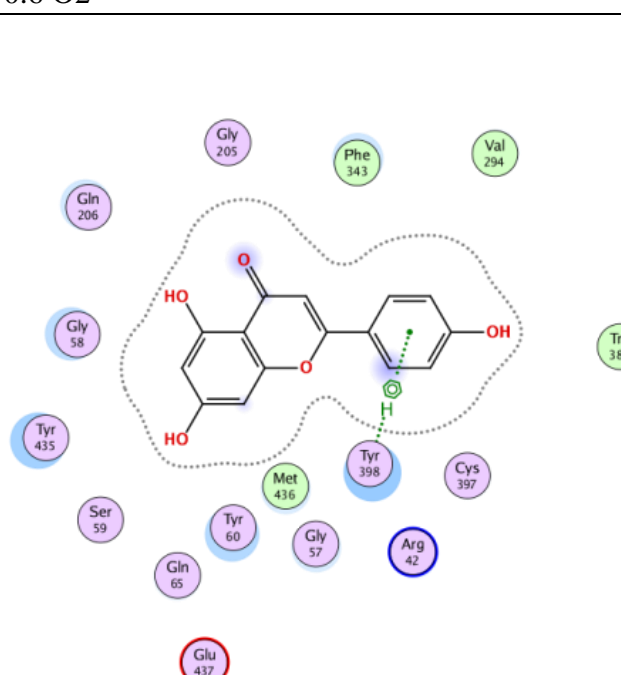
## Annexe IV

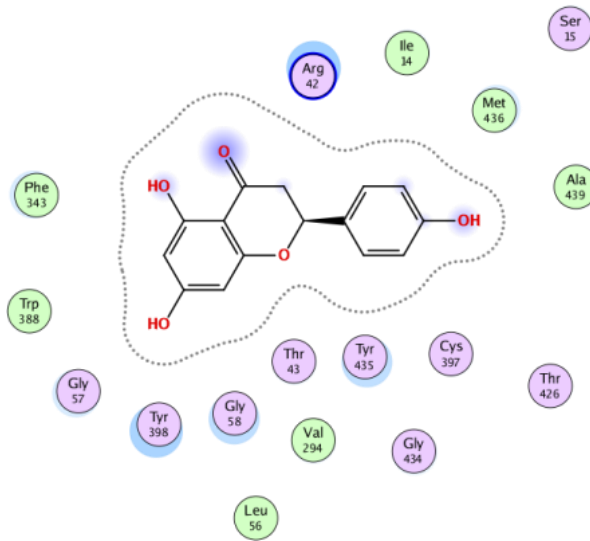
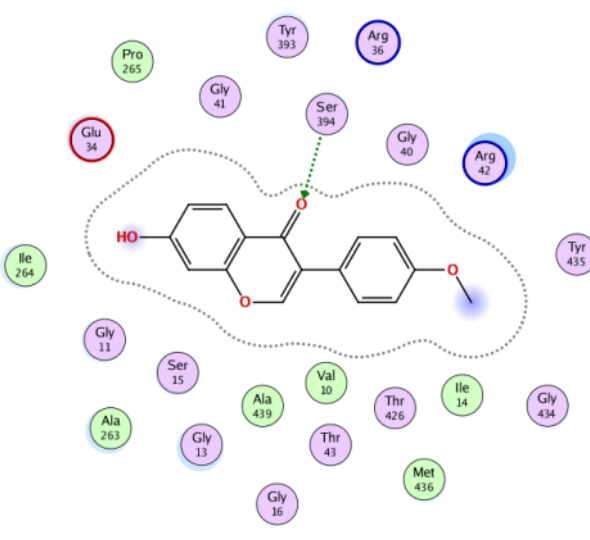
### Les scores énergétiques des phytoligands avec 2V5Z

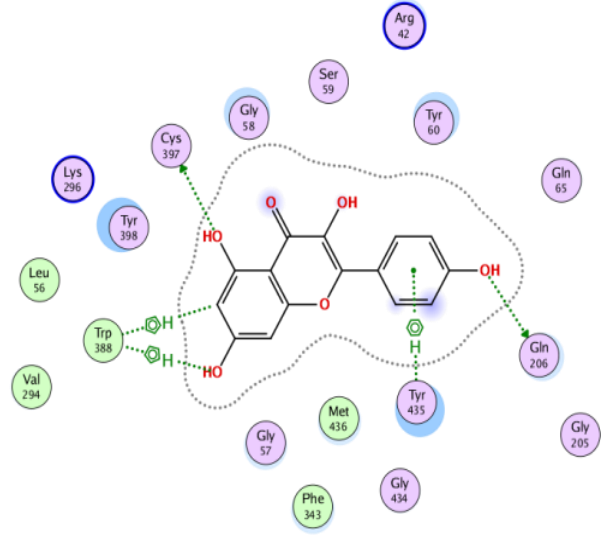
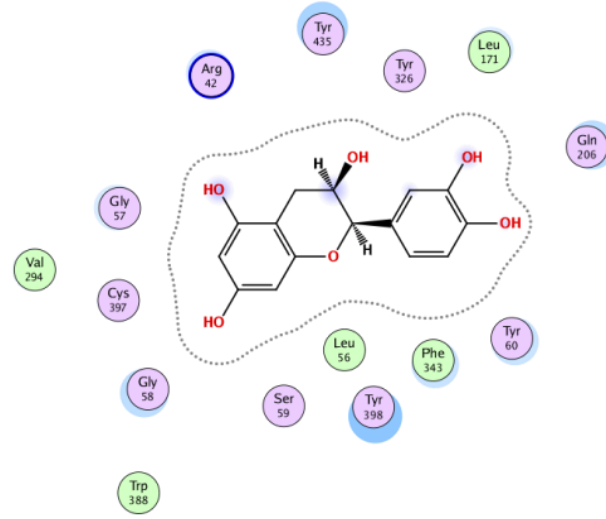
Ligand	Les acides aminés d'Interaction	Score d'amarrage	RMSD
Astilbin	 <p>O 5 OE1 GLN 206 (A) H- donneur 2.67 -2.7 O 9 SG CYS 397 (A) H- donneur 4.32 -0.6 O 4 N MET 436 (A) H- accepteur 2.97 -2.4</p>	-9.6131954	1.5540379
rutin		-9.5943594	1.4040723

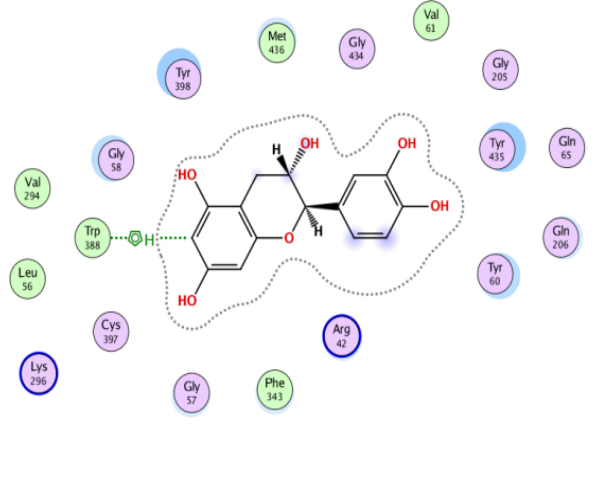
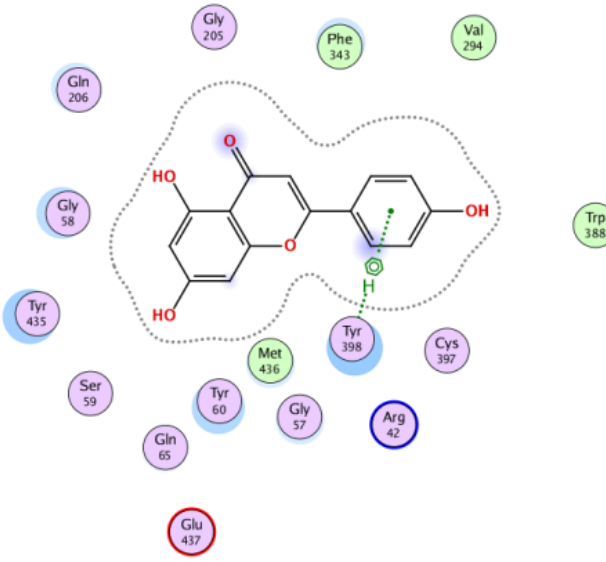
	 <p>O 4 OE1 GLN 206 (A) H- donneur 3.13 -1.5 O 5 O TYR 60 (A) H- donneur 2.63 -1.1 O 14 SG CYS 397 (A) H- donneur 3.63 -1.0 O 5 NE2 GLN 65 (A) H- accepteur 2.74 -2.7 O 7 N MET 436 (A) H- accepteur 3.00 -2.3</p>		
Isoquercitrin	 <p>O 3 O GLY 434 (A) H- donneur 2.79 -1.4 O 8 N MET 436 (A) H- accepteur 2.96 -4.2 O 11 5-ring TRP 388 (A) H-pi 4.33</p>	-9.4418726	1.417989

	<p>-0.8 O 11 6-ring TRP 388 (A) H-pi 4.14 -1.1 6-ring CD1 TYR 398 (A) pi-H 3.67 -0.6</p>		
Quercitrin	 <p>C 18 5-ring TRP 388 (A) H-pi 3.90 -1.0 O 5 5-ring TRP 388 (A) H-pi 4.30 -2.3</p>	-9.1572828	1.2893565
Baicalin	 <p>O 9 OE1 GLN 206 (A) H- donneur 3.07 -3.4 O 11 N MET 436 (A) H- accepteur 3.18 -0.8</p>	-8.9255743	1.3241369

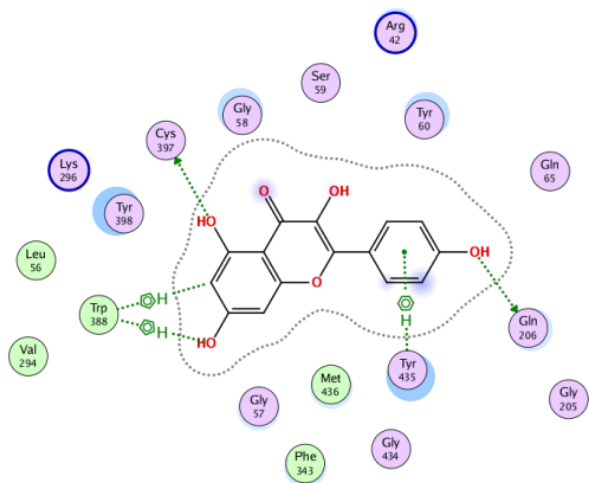
	6-ring CA TYR 398 (A) pi-H -0.6	4.49	
safinamide	 <p>N 4 OE1 GLU 34 (A) H- donneur 3.13 -1.3 6-ring NH2 ARG 42 (A) pi-cation 4.26 -0.6 O2</p>	-8.3570642	1.2061704
Quercetin	 <p>6 TYR 398 (A) pi-H 3.50 -0.6</p>	-7.603961	0.9587070 3

<p>naringenin</p>		<p>-7.5858974</p>	<p>0.5774942 6</p>
<p>Formononetin</p>	 <p>O 2 OG SER 394 (A) H- accepteur 2.78 -1.5</p>	<p>-7.4201484</p>	<p>1.0563689</p>

Kaempferol	 <p>O 3 SG CYS 397 (A) H- donneur 3.05 -0.9 O 6 OE1 GLN 206 (A) H- donneur 3.09 -2.4 C 16 5-ring TRP 388 (A) H-pi 3.88 -0.9 O 5 5-ring TRP 388 (A) H-pi 4.22 -1.9 6-ring CD2 TYR 435 (A) pi-H 3.70 -0.8</p>	-7.3658342	0.7520761 5
epicatechin		-7.357471	1.1714466
catechin		-7.25419	1.6385852

	 <p>Ligand accepteur Interaction Distance E (kcal/mol) C 17 5-ring TRP 388 (A) H-pi 3.88 -0.9</p>		
Apigenin	 <p>6-ring CD1 TYR 398 (A) pi-H 3.50 -0.6</p>	-7.1149678	1.3374785
Chrysin		-7.0445352	1.7950363

	<p>C 19 5-ring TRP 388 (A) H-pi 3.89 -0.7 6-ring CD2 TYR 435 (A) pi-H 3.91 -0.6 ED</p>		
Harmol	<p>N 2 SG CYS 397 (A) H- donneur 4.42 -1.2</p>	-6.3101015	0.5369272 2
Morelloflavone		-5.4758873	1.2346379



O	3	SG	CYS 397 (A)	H- donneur	
					3.05 -0.9
O	6	OE1	GLN 206 (A)	H- donneur	
					3.09 -2.4
C	16	5-ring	TRP 388 (A)	H-pi	3.88
					-0.9
O	5	5-ring	TRP 388 (A)	H-pi	4.22
					-1.9
6-ring		CD2	TYR 435 (A)	pi-H	3.70
					-0.8



## Résumé

Le criblage virtuel *in silico* est une approche très employée dans la conception de nouveaux médicaments. Cette approche a été utilisée dans le présent travail afin de proposer théoriquement de nouveaux inhibiteurs de la MAO-A et MAOB ; cible thérapeutique validée pour le traitement des maladies neurodégénératives. Grâce au programme MOE, nous avons criblé virtuellement 16 molécules issues de la PubChem envers le site actif de la MAO. À l'issue de ce criblage, la naringenin (-8.12 kcal/mol), la quercetine (-8.06kcal/mol) ; Kaempferol (-7.55kcal/mol) et la Chrysin (-7.31kcal/mol) sont les inhibiteurs puissants de la MAO A ; tandis que la naringenin (-7.58 kcal/mol) , le kaempfreol (-7.36kcal/mol), la catéchine (-7.25kcal/mol) , et la chrysin (-7.04 kcal/mol) inhibent fortement la MAO-B. Les résultats de la règle de Lipinski indique que ces composés possèdent une bonne biodisponibilité sans aucun risque de toxicité.

Les plantes médicinales constituent une source prometteuse de nouveaux médicaments capables d'être utilisés dans le traitement des maladies neurologiques liées à l'activité de la MAO.

**Mots clés :** Monoamine oxydase, Criblage virtuel, PubChem, Inhibition, ADMET.

## Abstract

Virtual *in silico* screening is a widely used approach in the design of new drugs. This approach was used in the present work to theoretically propose new inhibitors of MAO-A and MAOB; a validated therapeutic target for the treatment of neurodegenerative diseases. Thanks to the MOE program, we have virtually screened 16 molecules from PubChem against the MAO active site. As a result of this screening, naringenin (-8.12 kcal/mol), quercetin (-8.06kcal/mol); Kaempferol (-7.55kcal/mol) and Chrysin (-7.31kcal/mol) are potent inhibitors of MAO A; while naringenin (-7.58 kcal/mol) , kaempfreol (-7.36kcal/mol), catechin (-7.25kcal/mol) , and chrysin (-7.04 kcal/mol) strongly inhibit MAO-B. The results of Lipinski's rule indicate that these compounds have a good bioavailability without any risk of toxicity.

Medicinal plants are a promising source of new drugs capable of being used in the treatment of neurological diseases related to MAO activity.

**Keywords :** Monoamine oxidase, Virtual screening, PubChem, Inhibition, ADMET

## المخلص

فحص الافتراضي متبع على نطاق واسع لاكتشاف ادوية جديدة . وقد اعتمدنا هذا النهج في عملنا لاقتراح نماذج جديدة لمثبطات انزيم MAOA/ MAOB الذي يلعب دور مهم في علاج الامراض العصبية باستعمال برنامج MOE قمنا بالفحص الافتراضي لمجموعة متكونة من 16 جزئ المنتمية الى المكتبة الكيميائية pubchem حيث اختبرت هذه المركبات في الموقع الفعال للأنزيم MAOA MAOB / حيث اظهر ان مجموعة المركبات naringenin;(- 8.12 kcal/molb) quercetin;- 8.06kcal/mol; Kaempferol 5.77- ; kcal/mol و Chrysin -7. 31kcal/mol) ( Chrysin -7. 31kcal/mol) كمثبطات جديدة لأنزيم . MAOA بينما naringenin (-7.58 kcal/mol) (kaempfreol 7.36kcal/mol), catechine (-7.25kcal/mol) , chrysin (-7.04 kcal/mol) MAO-B . اخيرا تطبيقنا لقاعدة ليبينسكى اشار الى ان هذه الجزيئات متوفرة وبدون أي خطر تسممي.