

~~M 540 800~~

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE GUELMA

M 540, 079

Faculté des mathématiques et de l'informatique et des sciences de la matière
Département des sciences de la matière

Mémoire de fin d'études
Master II



Spécialité : Chimie Physique et Analytique

N/S

Présenté par :

Cheriet Mouna

**Etude par docking moléculaire des complexes
neurotransmetteurs : cyclodextrine**

Sous la Direction de :

Pr. Khatmi Djameleddine

Juin 2015



Remerciements

Mon premier remerciement va à Allah sobhanahou w taala qui nous a

donné la force et la puissance pour réaliser et achever ce travail dans des bonnes conditions.

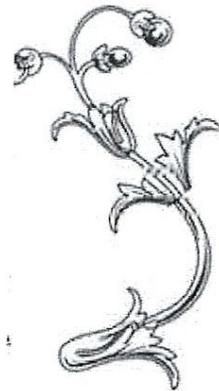
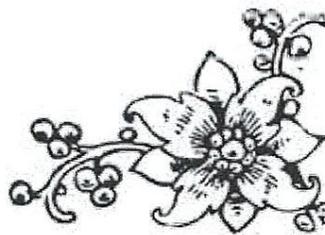
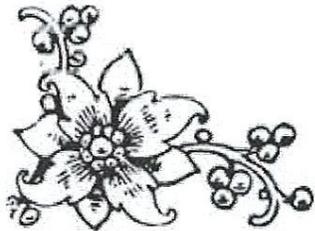
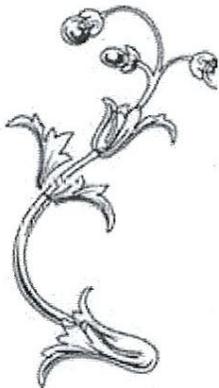
*Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à mon Directeur de mémoire Monsieur Khatmi Djameleddine
Je le remercie de m'avoir encadré, orienté, aidé et conseillé*

Merci encore Mr. Khatmi Djameleddine

Un grand merci à Mme. Djemil pour sa patience, ces conseils, ces efforts fournis et pour sa précieuse et honorable aide

J'adresse mes sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé mes réflexions

et ont accepté à me rencontrer et répondre à mes questions durant mes recherches





Dédicaces

Je dédie ce travail :

*A mes très chers parents, qui ont toujours été là pour moi,
« Vous avez tout sacrifié pour vos enfants n'épargnant ni santé ni efforts. Vous m'avez donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. Je suis redevable d'une éducation dont je suis fier »
A mon frère Hichem et ma sœur Mahen pour leurs amours, leurs soutiens moraux et leurs encouragements*

Très spécialement à ma chère Sara qui a été toujours là pour moi

A celle qui m'a aidé, qui m'a donné la force et la volonté de surmonter tous les obstacles et les difficultés Amani

A Sara Nour , Asma.N , Yasmine , Nabila , Habiba , Asma.A, pour leur amitié, leur soutien inconditionnel et leur encouragement

A tous mes collègues de promotion de Master chimie physique et analytique 2015

A tous ceux qui par un mot, un geste, m'ont donné la force de continuer



Liste des figures

<u>Figure N° 1</u> : Principe générale d'un programme de docking.....	3
<u>Figure N° 2</u> : Construction incrémentale	4
<u>Figure N° 3</u> : a) corde spinale ; b) tronc cérébral (en rouge) ; c) cortex moteur(en bleu et orangé).....	7
<u>Figure N° 4</u> : Modèle tridimensionnel de la structure de la Cu/Zn-SOD cytoplasmique.....	12
<u>Figure N° 5</u> : Modèle tridimensionnel de la structure de la Mn-SOD mitochondrial.....	13
<u>Figure N° 6</u> : Modèle tridimensionnel de la structure de la Cu/Zn-SOD extracellulaire	13
<u>Figure N° 7</u> : Le site actif de la Cu/Zn-SOD cytoplasmique	14
<u>Figure N° 8</u> : Structure de la dopamine	15
<u>Figure N° 9</u> : Schéma de la voie de synthèse de DA	15
<u>Figure N° 10</u> : Résultats en % obtenus par Surfex de RMSD (Å)	22
<u>Figure N° 11</u> : Superposition des géométries des cinq ligands obtenues par cristallographie (colorées en violet) et par docking avec Surfex (colorées en vert).....	24
<u>Figure N° 12</u> : Structures des composés étudiés	26
<u>Figure N° 13</u> : Représentation de différentes propriétés de Structure-1@β-cyclodextrine ...	27
<u>Figure N° 14</u> : Représentation de différentes propriétés de Structure-2@β-cyclodextrine.....	28
<u>Figure N° 15</u> : Représentation de différentes propriétés de Structure-3@β-cyclodextrine....	29
<u>Figure N° 16</u> : Représentation de différentes propriétés de Structure-4@β-cyclodextrine....	30
<u>Figure N° 17</u> : Représentation de différentes propriétés de Structure-5@β-cyclodextrine.....	31
<u>Figure N° 18</u> : Représentation de différentes propriétés de Structure-6@β-cyclodextrine.....	32
<u>Figure N° 19</u> : Représentation de différentes propriétés de Structure-7@β-cyclodextrine.....	33
<u>Figure N° 20</u> : Représentation des liaisons hydrogène formées par le substrat et le site actif	35
<u>Figure N° 21</u> : Représentation des liaisons hydrogènes formées par la structure1 et le site actif.....	37
<u>Figure N° 22</u> : Représentation des interactions hydrophobique entre la structure1 et SOD1	38
<u>Figure N° 23</u> : Représentation des liaisons hydrogènes formées par la structure2 et le site actif.....	39
<u>Figure N° 24</u> : Représentation des interactions hydrophobique entre la structure2 et SOD1	39

Liste des tableaux

<u>Tableau N°1</u> : Valeurs du RMSD des cinq complexes protéine-ligand.....	23
<u>Tableau N°2</u> : Résultats de docking avec le programme Surflex.....	25
<u>Tableau N° 3</u> : résultat de docking DA-SOD1	34
<u>Tableau N° 4</u> : Le classement de la base par Total score.....	36
<u>Tableau N° 5</u> : Les structures étudiées.....	36

Introduction.....	1
I. Partie bibliographique	
I.1. Le docking moléculaire.....	2
I.1.1. Introduction	2
I.1.2. Principe théorique	3
I.1.3. Algorithmes de docking.....	3
I.1.3.1. Méthodes systématiques.....	4
I.1.3.2. La méthode stochastique	4
I.1.4. Fonctions de score	4
I.1.4.1. Fonctions de score basé sur les champs de force.....	5
I.1.4.2. Fonctions de score empirique.....	5
I.1.4.3. Fonctions de score basées sur la connaissance « knowledge-based ».....	5
I.1.4.4. Fonctions de score consensus.....	5
I.1.5. Les outils de docking moléculaires.....	6
I.1.5.1. Le récepteur.....	6
I.1.5.2. Le(s) ligand(s).....	6
I.1.5.3. Un programme de docking moléculaire	6
I.2. La sclérose latérale amyotrophique.....	7
I.2.1. Définition.....	7
I.2.2. Etiologie de la maladie.....	8
I.2.3. Les facteurs de risque.....	10
I.2.4. Traitement.....	11
I.3. Les structures mises en jeu.....	11
I.3.1. Le récepteur : Superoxyde Dismutase (SOD).....	11
I.3.1.1. La Cu/Zn-SOD cytoplasmique.....	11
I.3.1.2. La Mn-SOD mitochondrial.....	12
I.3.1.3. La Cu/Zn-SOD extracellulaire.....	13
I.3.1.4. Le site actif de la Cu/Zn-SOD.....	14
I.3.2. Choix l'inhibiteur.....	14
I.3.2.1. La dopamine.....	15
I.3.2.2. Rôle.....	16

II. Partie résultats et discussion	
II.1. Méthodologie	17
II.1.1. Evaluation de programme de docking.....	17
I.1.1.1. Le RMSD (Root Mean Square Deviation).....	17
II.1.1.2. Analyse visuelle.....	17
II.1.2. Les structures mises en jeu.....	18
II.1.2.1. La β -cyclodextrine.....	18
II.1.2.2. La famille de la dopamine.....	19
II.1.2.3. La protéine	19
II.1.3. Programme utilisé.....	20
II.3.1. Surflex.....	20
II.2. Résultats et discussion.....	22
Conclusion.....	41
Références bibliographiques	
Annexes	

Introduction

Au cours de ce travail qui rentre dans le cadre du Mémoire de Master II nous allons présenter nos résultats obtenus au laboratoire de chimie computationnelle de l'université de 8 Mai 45 de Guelma. Ces résultats concernent un docking automatique d'une famille de composé issu de la dopamine dans la cavité de la β -cyclodextrine et également un mini criblage effectué avec cette ma famille de composé sur la protéine superoxide-dismutase SOD1.

Depuis quelques années le laboratoire s'est spécialisé dans le docking manuel qui présente malheureusement quelques limites et qui réduit considérablement sa précision. Ces limites sont liées principalement à la méthode elle-même réalisé manuellement et donc imprécise et également à la procédure qui repose sur des calculs d'optimisation sur des points précis dans l'espace et en conséquence beaucoup d'autres points sont ignorés et une partie de l'espace conformationnel se retrouve non concerné. L'augmentation du nombre de point à étudier la rend très couteuse en calcul.

Une des solutions à ce problème est la réalisation du docking de manière automatique à l'aide de programme spécifique, tel que Dock, Autodock, Gold et SYBYL. Nous nous sommes proposé de réaliser le docking d'une famille de dopamine sur deux cibles différentes et pour des objectifs différents à l'aide du programme SYBYL.

Le premier objectif, c'est la famille de dopamine et évaluer les forces motrices de l'inclusion sur toute la famille et d'en tirer une conclusion générale à la famille des composés au lieu de la faire uniquement sur un seul composé comme c'est la cas dans le docking manuel.

Le deuxième objectif est de trouver de nouvelles molécules similaires à la dopamine et qui sont actives envers la protéine superoxide-dismutase SOD1.

Partie bibliographique

I.1. Le docking moléculaire

I.1.1. Introduction

Les interactions protéine-protéine et protéine-ligand jouent un rôle clé dans l'organisation des systèmes biologiques. Elles permettent la régulation de certains processus biologiques [2], la transmission des signaux ou encore la catalyse de diverses réactions biochimiques.

Connaître la façon dont les protéines interagissent avec d'autres entités biochimiques est une étape essentielle pour comprendre les processus biologiques dans lesquels elles sont impliquées. Le développement d'approches prédictives ouvre la voie à la conception assistée par ordinateur de systèmes protéiniques aux propriétés modifiées et présente donc un intérêt indéniable pour la recherche et l'industrie pharmaceutique et médicale.

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

Cependant, chaque programme de docking diffère par rapport aux autres par leurs algorithmes d'échantillonnage, par leur manière de manipuler la flexibilité du ligand et de la protéine et par leurs fonctions d'évaluation des complexes. Il existe deux grands types de docking moléculaire. Le docking rigide consiste à obtenir la conformation préférentielle d'un système protéine-ligand en considérant que chacune des deux molécules conserve une géométrie interne fixe. Dans ce cas, la relaxation de la géométrie interne de chaque entité, en interaction dans le complexe, n'est pas prise en compte [3]. Actuellement cette approche est utilisée dans le docking protéine-protéine. L'approche la plus récente dans le traitement de la flexibilité, considère la cible protéique comme corps rigide tandis que le ligand est flexible. En effet elle représente l'approche la plus utilisée dans la plupart des logiciels ou programmes de docking. Néanmoins, celle-ci reste approximative, du fait que le récepteur ne doit pas être considéré comme corps rigide (au moins la flexibilité du site d'interaction doit être prise en compte).

I.1.2. Principe théorique

Docking (ancrage ou amarrage en français) est le nom donné aux simulations moléculaires dans lesquelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interactions entre deux molécules. Dans la plus part des cas, il s'agit d'un récepteur macromoléculaire (cible de docking) dont la structure tridimensionnelle est connue et d'une petite molécule (ligand). Le récepteur macromoléculaire étant le plus souvent une protéine [4]. Une simulation de docking comprend essentiellement deux étapes : le docking proprement dit et le scoring (Figure N°1).

La première (le docking) est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celle qui représentent les modes d'interactions les plus favorables.

La deuxième (le scoring) est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées [4, 5].

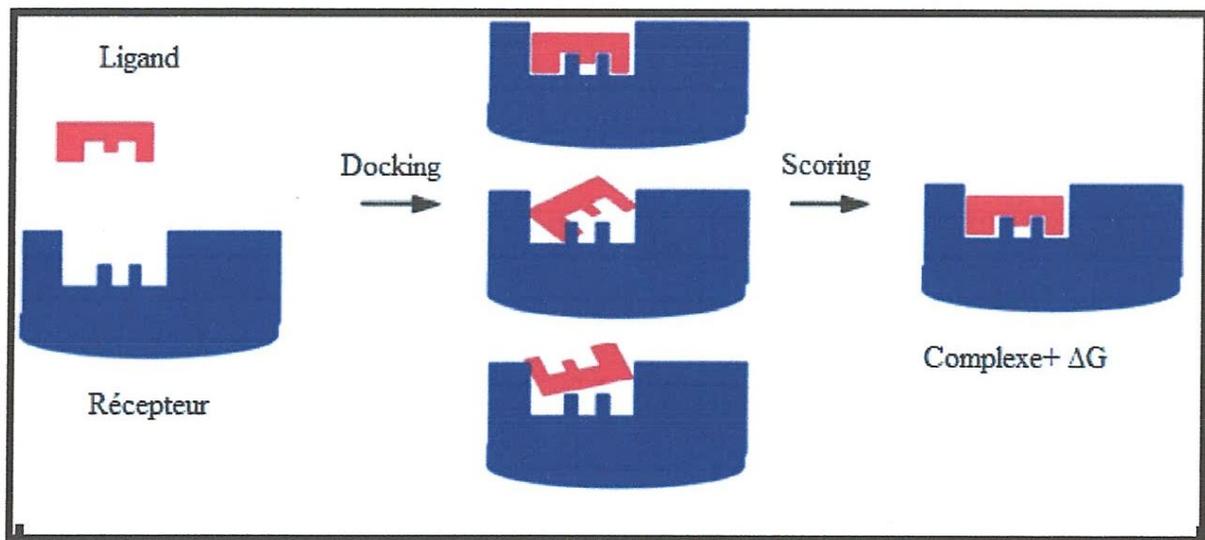


Figure N°1 : Principe générale d'un programme de docking

I.1.3. Algorithmes de docking

Il existe différentes méthodes qui permettent de prendre en compte la flexibilité du ligand notamment des méthodes systématiques et des méthodes aléatoires ou stochastiques.

I.1.3.1. Méthodes systématique

Le principe général est de couper le ligand en fragments rigides et flexibles. Entre les points où des rotations sont possibles, une ou plusieurs ancres sont définies. Dans un premier lieu, un [6, 7] ou plusieurs [8, 9] fragments qui doivent être rigides sont placés au sein du site actif et donc mis en interaction avec la cible, puis le ligand est reconstruit en plaçant les fragments flexibles d'une manière successive tout en exploitant les angles de torsion (Figure N°2). Cette méthode a été incorporée dans plusieurs programmes dont Dock [6], FlexX [7] et Surflex [10].

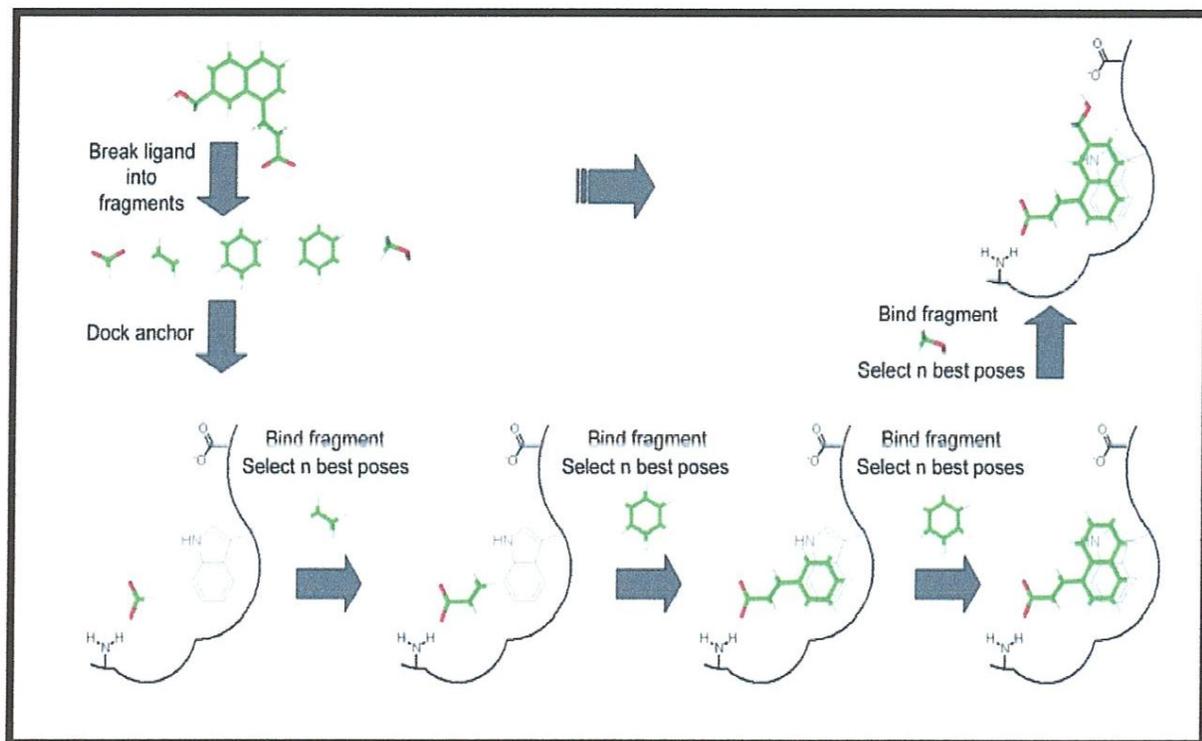


Figure N°2 : Construction incrémentale

I.1.3.2. La méthode stochastique

L'approche stochastique consiste à effectuer des changements aléatoires dans la structure tridimensionnelle du ligand. Un des principaux algorithmes stochastiques est la méthode par algorithme génétique. Cette méthode a été implémentée dans plusieurs programmes dont AutoDock et GOLD [11].

I.1.4. Fonctions de score

Les méthodes de « *scoring* » permettent d'évaluer l'énergie de liaison du complexe formé et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score

permettra d'une part de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées, mais également de classer la meilleure pose de différents ligands pour identifier les meilleurs d'entre eux. Dans les programmes de docking, on trouve différents types de fonction de score: celles utilisant un champ de force de mécanique moléculaire, celles reposant sur les connaissances actuelles et les méthodes empiriques.

I.1.4.1. Fonctions de score basées sur les champs de force

Les fonctions de score basées sur un champ de force calculent, par mécanique moléculaire, l'énergie d'interaction du complexe récepteur-ligand (interactions intermoléculaires) et l'énergie interne du ligand. Les interactions entre récepteur et ligand comprennent souvent des termes de Van der Waals et électrostatiques. L'énergie interne du ligand est généralement écrite de manière similaire [3, 12]. Les fonctions de score qui se basent sur les champs de force sont par exemple : G_score[13] et D_score[14].

I.1.4.2. Fonctions de score empiriques

Les fonctions empiriques de score estiment l'affinité des complexes protéine-ligand en additionnant des termes d'interaction (liaison hydrogène, interaction hydrophobe, interaction ionique ...). Elles sont utilisées dans la plupart des algorithmes d'amarrage notamment FlexX [15], Chemscore[16].

I.1.4.3. Fonctions de score basées sur la connaissance « knowledge-based »

Ces fonctions de score sont construites à partir de règles fondées sur une analyse statistique des complexes protéine-ligand résolus expérimentalement. La fonction PMF (Potential of Mean Force) fait partie de cette classe de fonction [17].

I.1.4.4. Fonctions de score consensus

Les fonctions de score consensus [50], combinent les informations obtenues à partir des différents score, afin de compenser les erreurs des fonctions de score individuelles. Plusieurs études ont montré que ces fonctions performant le calcul des énergies libres de complexes et ainsi les interactions protéine - ligand mieux que les fonctions individuelles. Un exemple de fonction de score consensus est CSCORE module dans SYBYL-X2.0 [19] qui combine un PMF_score[17], Chemscore[16], G_score[13] et D_score[14].

I.1.5. Les outils de docking moléculaires

I.1.5.1. Le récepteur

La première grande voie d'étude et de conception de molécules bioactives par modélisation moléculaire est celle qui se fonde sur la structure des récepteurs. Cette approche est basée sur l'exploitation de la structure moléculaire tridimensionnelle de la protéine cible. Trois méthodes expérimentales permettent aujourd'hui de déterminer la structure des protéines : la résonance magnétique nucléaire (RMN), la microscopie électronique et la cristallographie par rayons X. Cette dernière technique est responsable de la majorité des structures issues d'une base de données de structures appelée la «*Protein Data Bank*» (PDB) [20].

La PDB est un répertoire mondial de dépôt d'informations sur la structure tridimensionnelle des protéines et des acides nucléiques. Ces molécules proviennent de l'ensemble des règnes biologiques. La PDB est gratuitement accessible par Internet (<http://www.rcsb.org/pdb/>). Elle contient plusieurs de milliers de structures protéiques obtenues soit par cristallographie aux rayons X, soit par RMN.

Si la cible n'est pas encore déposée au niveau de la banque, et cette dernière contient une protéine avec des séquences similaires, la modélisation par homologie intervient afin de construire la structure 3D de la cible souhaitée [21].

I.1.5.2. Le(s) ligand(s)

Pour un docking moléculaire, le ligand doit être également sous forme 3D. A présent, il existe deux moyens pour obtenir la structure chimique d'un ligand donné : La première souvent d'aspect commercial, est constituée de bases de données de structures chimiques appelées chimiothèques ou espaces chimique. Le second moyen consiste à utiliser des ligands de la PDB ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol, mol2....etc.) grâce à des logiciels de construction moléculaire tels que ChemDraw, Arguslab, Titan ou Sybyl ...etc [22].

I.1.5.3. Un programme de docking moléculaire

Un programme de docking moléculaire a pour but de prédire correctement le mode d'interaction entre deux entités chimique, et de reconnaître parmi ceux -ci lequel est le meilleur. De ce fait, tout programme de docking se repose sur deux composantes principales

majeures : La première, dite « docking », permet aux petites molécules testées d'explorer l'espace conformationnel autour de la protéine. La molécule adopte plusieurs conformations et plusieurs positions au niveau de son récepteur. La deuxième étape, dite « scoring », permet d'évaluer les poses obtenues lors de la première étape pour ne retenir que la meilleure. Cette étape donne lieu à un score.

Cependant, chaque programme de docking diffère par rapport aux autres par la manière de recherche de l'espace conformationnel et la fonction de score qui le guide.

I.2. La sclérose latérale amyotrophique

I.2.1. Définition

C'est un désordre neurodégénératif progressif caractérisé par la perte des motoneurons dans la corde spinale, le tronc cérébral et le cortex moteur [23]. Lorsque les motoneurons ne peuvent plus envoyer des impulsions aux muscles, ces derniers commencent à s'atrophier, causant une faiblesse musculaire intense qui évolue rapidement vers une paralysie complète et la SLA conduit au décès du patient en raison d'une insuffisance respiratoire.

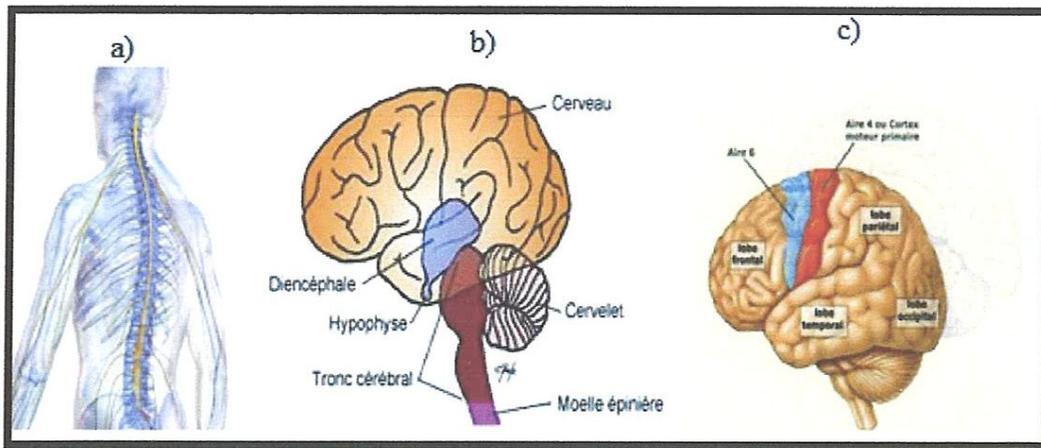


Figure N°3 : a) corde spinale ; b) tronc cérébral (en rouge) ; c) cortex moteur(en bleu et orangé).

C'est la forme la plus commune des maladies du motoneurone évaluées au laboratoire d'électromyogramme. Elle est caractérisée par une dégénérescence du motoneurone supérieur (corticospinal ou central dans le cortex moteur) et inférieur (spinal ou périphérique dans le tronc cérébral et la corde spinale) incluant plusieurs régions du corps (crânienne, cervicale, thoracique et lombo-sacrée) [24].

La perte des motoneurones commence généralement dans une région du corps, elle est asymétrique, et plus tard devient évidente dans d'autres régions. Les résultats cliniques et électrophysiologique dépendent du segment impliqué et de la gravité de son implication. Tandis que la reconnaissance de l'implication du motoneurone dépend des signes cliniques, les études de routine d'Analyse dispersive en énergie sont d'une grande aide dans l'identification des anomalies du motoneurone inférieur, avant même qu'elles soient cliniquement reconnaissables.

"Amyotrophique" fait référence à l'atrophie musculaire, faiblesse, fasciculation qui retrace l'atteinte du motoneurone inférieur. "Sclérose latérale" fait référence à la dureté à la palpation de la colonne latérale de la corde spinale dans des spécimens d'autopsie, où la gliose suit la dégénérescence de la voie corticospinale. En effet, la perte des motoneurones dans le cortex est suivi par la dégénérescence des voies descendantes corticospinales, les voies axonales dégénérées sont remplacées par un tissu glottique responsable du caractère "sclérotique" de la maladie. Les résultats cliniques sont des signes du motoneurone supérieur: réflexes tendineux hyperactifs, signe de Hoffmann, clonus et signe de Babinski.

Jean Martin CHARCOT (1825-1893), médecin français fondateur de la neurologie moderne, est le premier à avoir décrit la sclérose latérale amyotrophique [25]. Par définition la sclérose latérale amyotrophique met en jeu un dysfonctionnement progressif et graduel des motoneurones supérieurs et aussi des motoneurones inférieurs. Techniquement, si un patient a seulement une affection des motoneurones inférieurs, le désordre est appelé maladie de la corne antérieure ou atrophie musculaire spinale. La maladie du motoneurone supérieur pur est connue sous le nom de sclérose latérale primaire. Certains patients ont des troubles qui affectent la parole, la déglutition (aplasie bulbaire progressive) [26-29].

1.2.2. Etiologie de la maladie

La majorité des cas de la SLA est d'origine inconnue et l'affection est dite sporadique (SLAs)[30]. Dans les SLAs, plusieurs gènes ont été identifiés comme gènes de susceptibilité pouvant jouer un rôle dans l'étiologie de la maladie. Parmi ces gènes on peut citer ceux codant pour l'angiogénine, l'apolipoprotéine E, le CNTF (pour *Ciliary NeuroTrophic Factor*), la protéine *tau* associée aux microtubules, la chaîne lourde des neurofilaments, la péripherine, la protéine SMN (pour *Survival Motor Neuron*), et le VEGF (pour *Vascular Endothelial*

Growth Factor) [31]. Ces études essayant d'associer des phénotypes SLA et des gènes candidats sont menées localement et devront être réalisées à grande échelle pour avoir plus de significativité. Cependant, ces études suggèrent un rôle important de la génétique dans les SLAs en apparence non héréditaires [30].

En dehors des cas sporadiques qui sont les plus fréquents, les autres cas de SLA sont héréditaires. Les patients présentant ces formes génétiques de SLA sont atteints de SLA familiales (SLAf). Les SLAf ont un mode de transmission autosomique dominant pour la majorité des cas [32]. Pour environ 20 % des patients SLAf génotypés, il est clairement établi que la maladie trouve son origine dans une mutation ponctuelle sur le gène codant pour l'enzyme cytosolique à Cu,Zn de la superoxyde dismutase (SOD1) [33]. Il est important de noter que, selon les études, 2 à 7% des patients sporadiques sont aussi porteurs d'une mutation du -22-gène codant pour la SOD1 [34]. Ces données montrent qu'au moins une partie des SLAs possède une origine génétique et que la stricte division SLAs / SLAf est problématique. Le nombre de SLAf est à ce jour probablement sous-estimé pour plusieurs raisons. D'une part, le génotypage n'est pas systématique. D'autre part, pour qu'une SLAf soit diagnostiquée il faut qu'un des ascendants du malade soit décédé d'une SLA ce qui est souvent difficile à prouver.

En l'absence de génotypages parentaux, un cas isolé de SLA pourrait être sporadique, familial à transmission dominante, familial à transmission récessive, porteur d'une mutation répertoriée mais avec une faible pénétrance, ou porteur d'une nouvelle mutation encore inconnue [31]. Les mutations à l'origine de SLAf ne sont pas encore toutes répertoriées. Par exemple, pour le gène SOD1, le nombre de mutations connues augmente avec l'avancement des recherches sur le sujet [35]. Le fait que les formes familiales et sporadiques soient cliniquement impossibles à distinguer suggère l'existence de mécanismes physiopathologiques communs [36].

Cette dernière étude, réalisée à partir de tissus de patients humains de SLAf liées à une mutation SOD1 et de SLAs, confirme les données obtenues *in vitro* et *in vivo* sur des souris SOD1 montrant que la protéine SOD1 non mutée sous sa forme oxydée peut, comme la protéine mutée, être toxique pour les motoneurons [37]. Ces études montrent que la protéine SOD1 oxydée pourrait être à l'origine de la SLA chez des personnes ne présentant pas de mutations du gène SOD1 [38]. Il faut cependant noter que l'âge d'apparition des formes

familiales est plus précoce (environ 45 ans) et que leur évolution est plus rapide que dans les formes sporadiques. Cette différence peut refléter le fait que les formes familiales diagnostiquées restent celles -23- qui ont les plus fortes pénétrances [34].

Les multiples mutations du gène codant pour la SOD1 sont une des seules causes directes de SLA connues à ce jour [33]. Avec le gène SOD1, cinq autres gènes répartis sur onze loci ont été identifiés comme origine de SLAf quand ils présentent une mutation [30]. Mises à part les SLAf avec une mutation du gène SOD1, les autres mutations ont été retrouvées dans des formes atypiques de la maladie comme par exemple les formes juvéniles liées à des mutations du gène Als-2[39].

I.2.3. Les facteurs de risque

Les facteurs de risque les plus couramment avancés sont les traumatismes, les chocs électriques [40], une activité physique intensive [41] et l'exposition à des produits neurotoxiques comme des solvants ou des métaux lourds [42]. Enfin, des exemples, comme l'observation de formes conjugales de SLA, soulignent l'importance de facteurs environnementaux [43].

Dans ce cadre, il faut noter l'augmentation de l'incidence de formes précoces de SLA parmi les vétérans de la guerre du Golfe et de l'armée américaine [44]. Ou l'augmentation du nombre de SLA parmi les joueurs professionnels de football en Italie [45].et de football américain en Amérique du Nord [46]. Ces données soulèvent principalement le problème de l'utilisation de produits toxiques. L'existence de foyers de haute incidence dans le Pacifique ouest, comme sur l'île de Guamoù il a été observé une forte augmentation de l'incidence de SLA dans les années 50 [47].souligne aussi le rôle de l'environnement. En effet, une des hypothèses avancées était la consommation quotidienne par les autochtones de cycas circinalis, une plante contenant de l'acide bêta-Nméthylamino- L-alanine, neurotoxique à forte dose. Une possible prédisposition génétique des populations locales a aussi été proposée [48].Cependant, il semblerait que même un court séjour dans cette île augmente le risque de développer une SLA [49].

I.2.4. Traitement

Le traitement de SLA actuel est basé sur l'utilisation du RILUZOLE (Le seul traitement actif actuel) et une prise en charge multidisciplinaire des patients ; or ce traitement est loin de répondre aux conditions biologiques et pharmacologiques indispensables à la neuroprotection. Le manque d'efficacité, comme le démontrent les essais cliniques et le suivi des patients SLA sous traitement, en est la preuve. S'y rajoute la progression rapide et fatale de la maladie que, jusque là, aucun ne produit n'a encore pu arrêter.

Plusieurs essais expérimentaux ont été initiés pour analyser une gamme large de molécules à propriétés neuroprotectrices ou neurorégénératrices et leurs effets sur la progression de la maladie dans les motoneurons altérés et chez le modèle de SLA animal : les souris transgéniques SOD-1. Ces essais cliniques sont un espoir pour les malades et leurs familles pour la prise en charge de cette pathologie.

I.3. Les structures mise en jeu

I.3.1. Le récepteur : Superoxyde Dismutase (SOD)

Ce sont des métalloenzymes retrouvées dans toutes les cellules animales ou végétales. Leur structure forme un puits hydrophobe au centre de la protéine, puit dans lequel se glisse l'anion superoxyde. Le mécanisme réactionnel est catalysé par un métal situé au cœur de l'enzyme dont la nature distinguera un type précis. Il existe trois types de SOD [50] chez l'homme notamment:

I.3.1.1. La Cu/Zn-SOD cytoplasmique

Une SOD cytoplasmique possédant une masse molaire apparente d'environ 32 kDa et 153 acides aminés [51]. La présence de cuivre et de zinc dans sa structure lui confère une couleur bleu-vert et elle fut considérée comme ayant un rôle dans le stockage de ces métaux. Ce n'est qu'en 1969 que McCord et Fridovich ont mis en évidence sa fonction enzymatique de dismuter les ions superoxydes d'où son nom de superoxyde dismutase. Cette enzyme est formée de deux sous unités contenant chacune un atome de cuivre et un atome de zinc [52]. Les ions cuivre sont nécessaires à son activité catalytique alors que les ions zinc stabilisent la molécule. Elle est sensible à l'inhibition par le cyanure et semble protéger le cytosol. La Cu/Zn-SOD possède aussi une activité superoxyde réductase et une activité superoxyde oxydase [53] (Figure N°4).

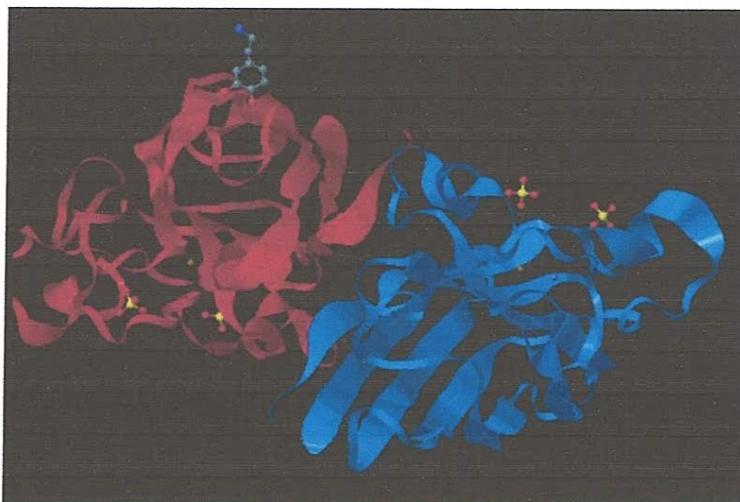


Figure N° 4 : Modèle tridimensionnel de la structure de la Cu/Zn-SOD cytoplasmique

I.3.1.2. La Mn-SOD mitochondrial

une SOD située au niveau mitochondrial. Elle est la première SOD à avoir été isolée d'*Escherichia coli*. Le superoxyde dismutase humaine est de couleur rose en raison de la présence de manganèse au niveau du site actif de l'enzyme. Celle-ci présente un poids apparent de 80-96 kDa et comporte quatre sous-unités contenant chacune un atome de manganèse [54] et 196 acides aminés. Elle résiste assez bien à l'inhibition par le cyanure contrairement à la Cu/Zn-SOD. Elle correspond au superoxyde dismutase à manganèse (Mn-SOD) et c'est l'une des enzymes ayant une activité antioxydante et anti-tumorale la plus efficace [55] (Figure N°5).

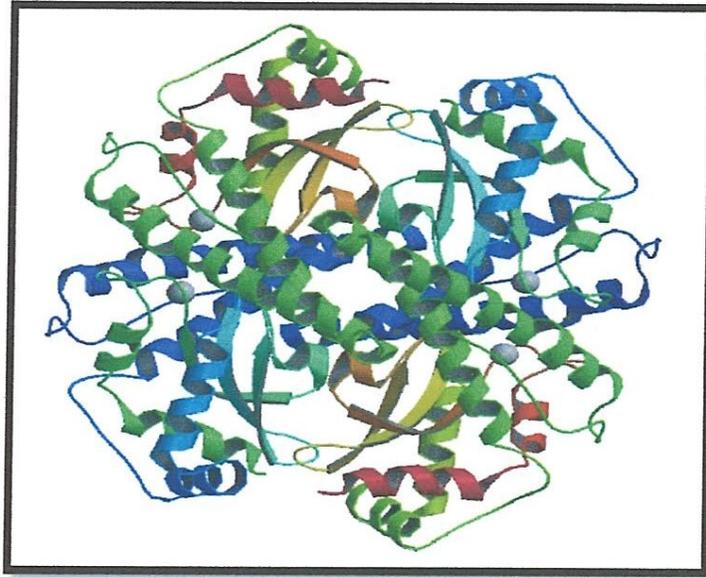


Figure N° 5 : Modèle tridimensionnel de la structure de la Mn-SOD mitochondrial

I.3.1.3. La Cu/Zn-SOD extracellulaire

Une SOD extracellulaire ou Cu/Zn-SOD extracellulaire qui est immunologiquement différente de l'enzyme cytosolique, et qui est exclusivement synthétisée par certains types cellulaires dont les cellules endothéliales et les fibroblastes [56]. En collaboration avec la glutathion peroxydase, elle constitue la première ligne de défense contre les oxydants [57]. Décrite par Marklund en 1982, la SOD extracellulaire est une glycoprotéine tétramérique de masse molaire voisine de 135 kDa dont chaque sous unité de 30 kDa (240 acides aminés) comporte un atome de cuivre et un atome de zinc.

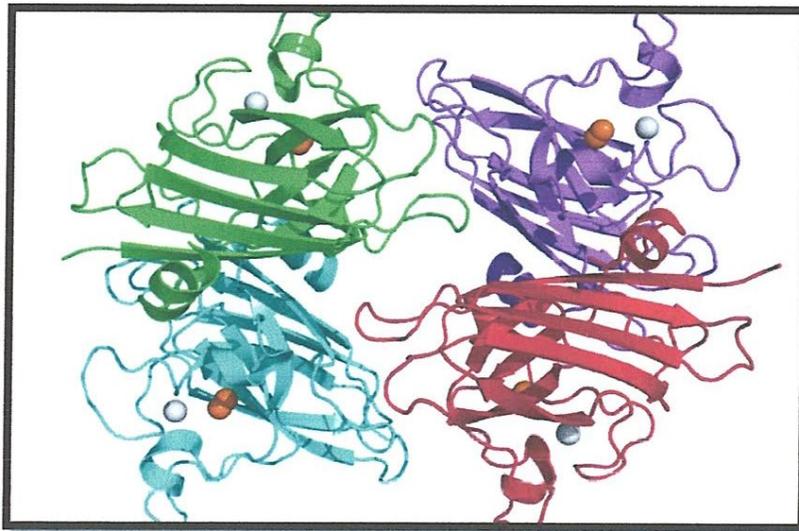


Figure N° 6 : Modèle tridimensionnel de la structure de la Cu/Zn-SOD extracellulaire

Les différentes SODs catalysent la même réaction avec une efficacité comparable. Elles accélèrent la vitesse de dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène [58].

I.3.1.4. Le site actif de la Cu/Zn-SOD

Dans ce chapitre, je vais représenter la figure du site actif du système étudié à titre d'exemple. Le site actif de la Cu/Zn-SOD est représenté notamment par les acides aminés Glu21, Pro28, Lys30, Trp32 et Glu100.

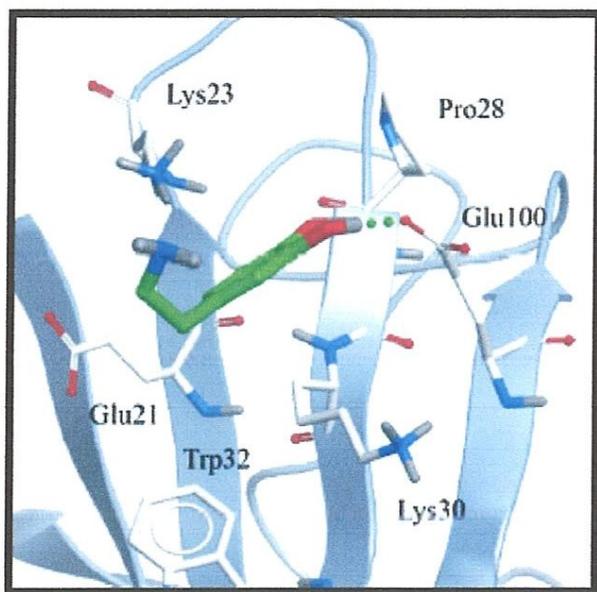


Figure N° 7 : Le site actif de la Cu/Zn-SOD cytoplasmique

I.3.2. Choix de l'inhibiteur

La dopamine est surtout connu par ces effets de neurotransmission mais récemment d'autres activités biologique ont été découverte récemment pour la dopamine, on peut citer particulier son effet inhibiteur pour la protéine SOD1 publier en 2013 dans le fameuse revue Nature communication [59].

I.3.2.1. La dopamine

La dopamine (DA 3, 4-dihydroxyphenethylamine), (Figure N°8) est un important neurotransmetteur appartenant aux catécholamines qui est largement présente à la fois dans le cerveau et le système nerveux périphérique. La voie de bio-synthétique de la dopamine est assez simple la tyrosine, un acide aminé d'origine naturelle dans les aliments en protéines (composant des protéines de l'alimentation), est converti en L-Dopa par l'enzyme tyrosine hydroxylase. La L-Dopa peut alors être converti en dopamine, qui peuvent ensuite être convertis à la norépinéphrine et enfin épinéphrine par une série d'enzymes (Figure N°9) [60].

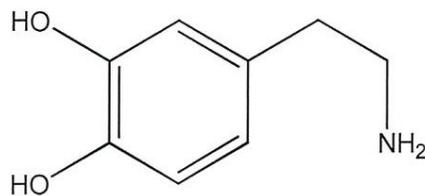


Figure N° 8 : Structure de la dopamine

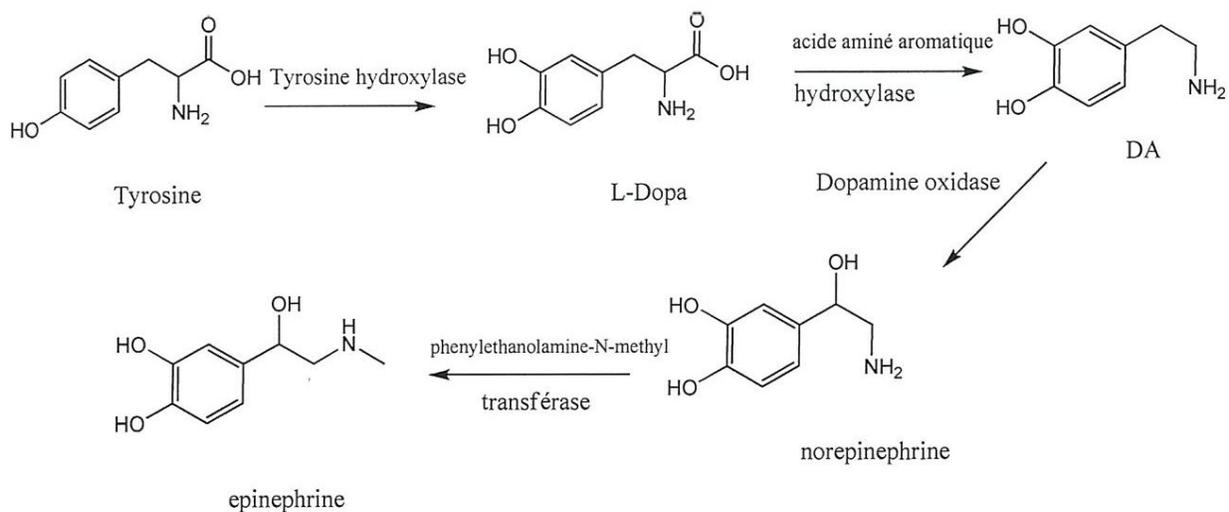


Figure N° 9 : Schéma de la voie de synthèse de DA

I.3.2.2. Rôle

La dopamine est un neurotransmetteur inhibiteur qui est impliqué dans le contrôle des mouvements et de la posture. Elle est très connue par son rôle dans le plaisir (système de récompense) et les mécanismes liés (addiction et dépendance). Il module aussi l'humeur et joue un rôle central dans le renforcement positif de la dépendance.

Elle est également impliquée dans le contrôle moteur. La dopamine a été liée à la maladie de Parkinson et le désordre mental, la schizophrénie sévère. La dégénérescence de neurones dopaminergiques de la substance noire entraîne la maladie de Parkinson. Les symptômes de la maladie de Parkinson se posent lorsque les neurones contenant la dopamine dans le cerveau commencent à se détériorer. Ils ont fini par disparaître à mesure que la maladie progresse. Actuellement, il n'existe aucune guérison immédiate pour les patients atteints de la maladie de Parkinson. L'administration de L-Dopa a été jugée utile, mais elle devient moins efficace au fur du temps [61].

Plusieurs études ont aussi confirmé un rôle de la dopamine dans la schizophrénie, les troubles déficitaires de l'attention avec l'hyperactivité. Contrairement à la maladie de Parkinson, un excès de dopamine dans certaines régions du cerveau, est à l'origine des terribles symptômes associés à la schizophrénie. Encore une fois, il n'y a pas de guérison instantanée, cependant, la sensibilité du système peut être réduite en bloquant les récepteurs dopamine avec les médicaments antipsychotiques [60].

La dopamine est également soupçonnée de jouer un rôle central dans la maladie de Huntington, un accident mortel, génétiques des troubles du mouvement neurodégénératives pour lesquels il n'existe aucune guérison. Toutefois, la diminution de la libération de dopamine avec tétrabénazine est apparue comme un traitement efficace dans la répression de la maladie Huntington [62]. En outre, il a été démontré que dopamine joue un rôle très important rôle dans l'addiction de la drogue [63] et dans les désordres de l'attention [64] et il a même été associé avec l'infection VIH [65]. En conséquence, le développement de méthodes analytiques simples pour la détermination des concentrations de dopamine est important.

Partie résultats et discussion

Dans ce chapitre nous allons présenter les différents résultats obtenus durant notre stage de Master II. En premier, nous exposerons la méthodologie suivie pour l'élaboration des différents modèles de simulation puis serons discuté les différents résultats obtenus.

II.1. Méthodologie

II.1.1. Evaluation de programmes de docking

Il est important de savoir que dans le cas des simulations de docking moléculaire automatique que celui-ci est fortement dépendant de l'algorithme qui génère les poses. Et comme chaque programme possède son propre algorithme, les résultats des simulations sont différents. Il est donc, recommandé de tester avant chaque simulation la performance du programme sur des systèmes expérimentaux en relation avec le système à étudier.

Deux critères sont utilisés pour évaluer la performance du programme :

- a. L'écart quadratique moyen ou le RMSD (Root Mean Square Déviation)
- b. L'analyse visuelle

II.1.1.1. Le RMSD (Root Mean Square Deviation)

Pour qu'un ligand puisse produire son effet sur la protéine et par conséquent crée une activité, son positionnement ne doit pas trop différer de la position du ligand naturel afin qu'il « bind » de la même manière sur la protéine. C'est la raison pour la quelle est utilisé le RMSD comme caractéristique d'évaluation des programme de docking. Il est défini comme la déviation quadratique moyenne de la position du ligand calculée par rapport au ligand de référence (naturel) existant dans la structure pdb.

La prédiction est acceptable si sa valeur ne dépasse pas 2 angströms [66].

Le RMSD a été utilisé pour évaluer la fiabilité du programme Surflex. Le test a été effectué sur 100 complexes protéines-ligands pris de manière arbitraire de la protein data bank (Annexe 1).

II.1.1.2. Analyse visuelle

Egalement, nous avons utilisé l'analyse visuelle, comme un deuxième test de la fiabilité du programme Surflex pour l'étude de l'interaction dopamine et la superoxide dismutase. Ce deuxième test est considéré comme complémentaire et de confirmation des calculs RMSD et constitue en plus une rassurance supplémentaire pour l'utilisation du programme Surflex sans risque.

Nous avons appliqué le test visuel uniquement sur cinq complexes de superoxide-dismutase disponibles dans la PDB afin de voir la superposition des ligands.

Avant l'étude du système dopamine@superoxide-dismutase nous avons jugé utile de commencer avec un système plus simple, dopamine@ β -cyclodextrine. Dans ce système la cyclodextrine prend la place de la protéine. Ces deux systèmes, et malgré la différence dans le poids moléculaire, possèdent une activité hydrophobe, lieu de l'activité biologique et chimiques. Comme dans la protéine, les molécules à l'intérieure de la cavité de la cyclodextrine s'adaptent de manière à donner une meilleure stabilité au système par rapport aux molécules individuelle, de même que les protéines et le ligand. Cette étude va nous servir d'éclaireur avant l'étude du système dopamine@sulfoxide-dismutase afin de se familiariser avec le programme surflex et résoudre les difficultés techniques sur des systèmes plus simples.

Et également, cette étude du système famille-dopamine@ β -cyclodextrine est originale, car il sera question du docking d'une famille de molécule afin de trouver des forces motrices communes à toute la famille de la dopamine dans le processus d'inclusion. Il n'existe pas pour l'instant d'exemple dans la littérature sur ce sujet.

II.1.2. Les structures mise en jeu

Dans la première partie de ce chapitre sera réservé à l'étude du système famille-dopamine@ β -cyclodextrine. Nous allons donner un petit aperçu sur les molécules formant ce système.

II.1.2.1. La β -cyclodextrine

La β -cyclodextrine est un oligosaccharide cyclique obtenue par la dégradation enzymatique de l'amidon. Elle est formée de 7 unités α -D-glucopyranose reliés par des liaisons α -1,4. Sa structure 3D apparaît sous la forme d'un cône à deux entrées, une petite entrée dite primaire (présence d'OH primaire) et une grande entrée dite secondaire (présence d'OH secondaire). De ce fait, la partie extérieure est hautement hydrophile. En revanche L'intérieur de la cavité est extrêmement hydrophobe et constituée uniquement d'atomes d'hydrogène [67].

La β -cyclodextrine utilisée dans cette étude est extraite de la base de données CSD et qui correspond à la structure cristalline expérimentale. Afin d'éliminer les effets du champ cristallin sur la structure de la β -cyclodextrine, elle est minimisée avec le champ de force TRIPOS en utilisant l'algorithme steepst descent (10000 itérations), en calculant au préalable les charges partielles avec la méthode de Gasteiger-Marsili.

II.1.2.2. La famille de la dopamine

Les structures moléculaires de la famille de la dopamine ont été générées via la banque de données, PUBCHEM. Il s'agit d'une banque de données américaines de structures de molécules chimique accessible gratuitement via Internet (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>). Une recherche sur la base de la molécule, Dopamine, la banque fournit 137 structures 3D similaires à la dopamine avec un taux de similarité supérieure ou égale à 95%. Pour construire la base propre à la famille dopamine dans le programme SYBYL on a recours à quelques astuces techniques car le programme ne prend pas, d'une seule manipulation les 137 structures générées par la banque de données. Donc, les structures ont été introduites manuellement dans la base SYBYL. Malheureusement, seulement 44 structures ont été acceptées. Le test "finger print" appliqué aux 44 structures, élimine 21 structure. Donc, la base formée de 23 structures a été enregistrée et sur laquelle sera effectué le processus de docking (Annexe 2). Il est important de noter qu'à partir de la base Pubchem, les structures sont téléchargées avec l'extension SDF, en revanche, dans SYBYL, elles seront enregistrées sous l'extension SLN (format hits). Enfin, toute la base a été soumise à un calcul de charge avec la méthode Gasteiger Huckel et une optimisation d'énergie de 10000 itérations avec l'algorithme steepest descent et le champ de force Tripos.

II.1.2.3. La protéine

Dans notre recherche de la protéine ayant une activité vis-à-vis de la dopamine, la banque de données PDB, nous propose 10 protéines dans la quelle la dopamine est le ligand naturel. Parmi les 10 protéines on a relevé la protéine superoxide-dismutase 1, une protéine qui a subit une mutation provoquant des agrégations, qui peuvent être l'une des causes de la maladie de Sclérose latérale amiotrophique (SLA). Egalement, notre choix de la protéine superoxide-dismutase 1 est basé sur l'existence de nombreuses données issues de la littérature [59]. Le code de cette protéine est 4A7V.

Elle est constituée de deux unités (chaines) A et F, dans laquelle se trouve le seul ligand qui est la dopamine, quatre molécules de SO₄, quatre métaux et évidemment un nombre important de molécule d'eau. Les deux unités de la protéine ne sont pas connecté ce qui nous emmena à prendre en considération uniquement l'unité A qui renferme la dopamine et son site actif.

Avant de procéder au docking, on doit d'abord préparer la protéine. Ainsi, l'unité F est supprimée puis les liaisons métalliques sont éliminées.

Puis à l'aide de l'outil de biopolymer de SYBYL-X.2.0 on termine la préparation de la protéine.

En premier, les résidus manquants ainsi que tous les hydrogènes ont été rajoutés puis sont supprimer toutes les molécules d'eau. Les charges partielles sont calculées selon le champ de force MMFF94 (en absence du modèle MMFF94s pour le calcul des charges) puis la géométrie de la protéine est optimisée en utilisant l'algorithme Steepest Descent avec le champ de force MMFF94s. Enfin, le fichier préparé a été enregistré sous format (pdb).

II.1.3. Programme utilisé

Dans le logiciel SYBYL il existe deux programmes de Docking moléculaire, Surflex et Flex. Les deux programmes reposent sur deux algorithmes de pose différents. Pour le programme Surflex c'est un algorithme basé sur des poses par incrémentation tandis que le programme Flex utilise un algorithme génétique. Dans la pratique, il est préférable d'utiliser les deux méthodes successivement et parfois d'autres programmes de différents logiciels sont utilisés.

Pour des raisons de temps, nous nous sommes contentés d'un seul programme qui est le Surflex.

II.1.3.1. Surflex

Nous avons utilisé, pour cette étude, le SYBYL-X version 2.0. L'opération principale de docking, qui est le placement du ligand dans la cavité de cyclodextrine ou dans le protomole. Elle est basée sur la construction d'une pseudo-molécule, molécule cible, sur laquelle le ligand doit être l'aligner. Il s'agit de fragments de molécules placés dans le site actif de manière à occuper idéalement et de manière redondante celui-ci, à partir uniquement de critères morphologiques. Il est important de préciser que cette pseudo molécule peut être construite à partir du ligand dans le site à condition de bénéficier d'une structure de référence, ou bien à partir du récepteur sans aucun ligand: dans ce cas 3 types de fragments CH₄, C=O et N-H sont utilisés mais il est nécessaire de connaître au préalable l'emplacement du site actif.

Dans cette étude nous avons utilisé les paramètres par défauts.

On peut diviser l'opération du docking en trois étapes :

1. Détermination du site actif avec ou sans ligand
2. Génération du protomole :

Pour la création de *protomol* nous avons utilisé les paramètres suivants : la valeur du Threshold est de 0.5 Å avec un Bloat de 0 Å (qui correspond à un box de 60 Å x 63 Å x 50 Å).

3. Docking d'un ou de plusieurs ligands.

Nous avons utilisé la même base de ligand et les mêmes paramètres, pour le docking avec la cyclodextrine ou avec la protéine. Le processus de docking dure quelques minutes en utilisant 4 processeurs. Les résultats peuvent être visionnés sous formes de tableau de résultats ou sous formes de structures moléculaires. Dans le processus de docking, le programme génère 20 poses (conformation), pour chaque composé, à l'intérieure de la cavité ou du protomole et chaque pose est évaluée énergétiquement en utilisant les différentes fonctions de score.

Ainsi, les poses sont classées avec le meilleur score de la fonction consensus score, et les composés sont classés par la fonction de score, totale score. Donc, en premier on prend la meilleure pose du composé, celle qui possède le meilleur consensus score, s'il y'a égalité ils seront partagé par le total score. Une fois on a pour chaque composé la meilleure pose, les composés seront classés en fonction de la valeur de la fonction de score, le total score, qui représente l'affinité à formé un complexe entre les deux composé par rapport aux formes individuelles.

En plus de la colonne de résultats, total score, le fichier comporte deux autres colonnes de résultat. La deuxième fonction de score est le « crash score » qui représente le degré de la pénétration du ligand à l'intérieur de la macromolécule ; une valeur proche de zéro est synonyme d'une grande de stabilité. La troisième fonction est la fonction « polar score » qui indique la contribution des interactions polaires dans la stabilité du complexe.

II.2. Résultats et discussion

On peut diviser la partie résultat et discussion en trois parties. La première partie consiste à des manipulations numériques sur des systèmes expérimentaux et qui permettent de tester la performance de programme utilisé. La deuxième partie concernera les résultats de l'étude du système famille-dopamine@ β -cyclodextrine. Enfin, dans la troisième partie seront exposés les résultats du docking de la famille dopamine dans la protéine SOD1.

II.2.1. Fiabilité de programme utilisé

Le test de fiabilité du programme Surflex est effectué en utilisant le calcul du RMSD et l'analyse visuelle des structures.

II.2.1.1. Le RMSD

Le test RMSD, a été effectué sur 100 complexes protéines-ligands pris de manière arbitraire de la protéine data bank. (Annexe 1).

L'histogramme suivant illustre les résultats du test RMSD en pourcentage (%). Une colonne violette représentant les tests inférieure à 2 Å et une deuxième colonne rouge brique représentant les valeurs supérieures à 2 Å.

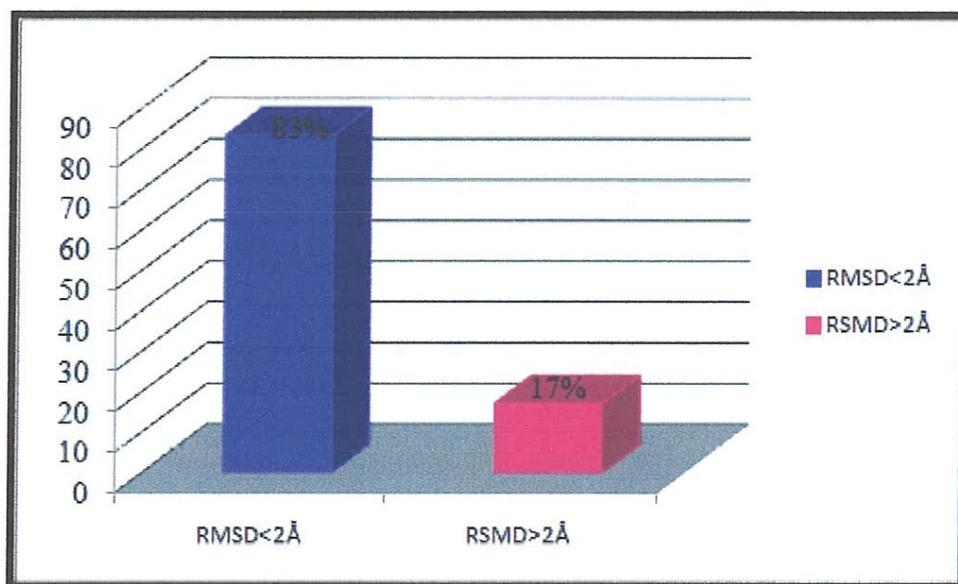


Figure N° 10: Résultats en % obtenus par Surflex de RMSD (Å)

On constate, d'après l'histogramme, que 83 % des valeurs RMSD sont inférieures à 2 Å et seulement 17 % sont supérieures à 2 Å. Selon les règles de Vieth et al, ou ils énoncent que les programmes de docking sont jugés fiables pour des valeurs RMSD inférieure à 2 Å. Nos résultats indiquent que 83 % des valeurs RMSD sont inférieures à 2 Å et qui démontrent que le programme Surflex est un outil de modélisation par docking moléculaire hautement performant.

II.2.1.2. Analyse visuelle

L'analyse visuelle a été effectuée sur cinq complexes ayant des valeurs RMSD inférieure à 2 Å. Dans le tableau suivant sont indiqués les codes des protéines ainsi que ceux des ligands testés. Une troisième colonne comporte les valeurs des tests RMSD.

Tableau N°1 : Valeurs du RMSD des cinq complexes protéine-ligand

Code PDB	Code ligand	RMSD (Å)
4A7S	5UD	1.63
4A7U	ALE	0.69
4A7T	5FW	1.79
4A7V	LDP	0.60
4A7G	12I	0.42

Dans la figure suivante sont schématisés les tests visuels effectués sur les ligands. La superposition est effectuée entre la structure du ligand optimisé avec le programme Surflex et la structure du même ligand obtenu avec les rayons X. La superposition est globalement correcte avec en plus des valeurs RMSD inférieure à 2 Å et qui justifie fortement l'utilisation du programme Surflex dans nos études et l'utilisation des résultats du docking pour le calcul des propriétés des complexes sans trop de risques.

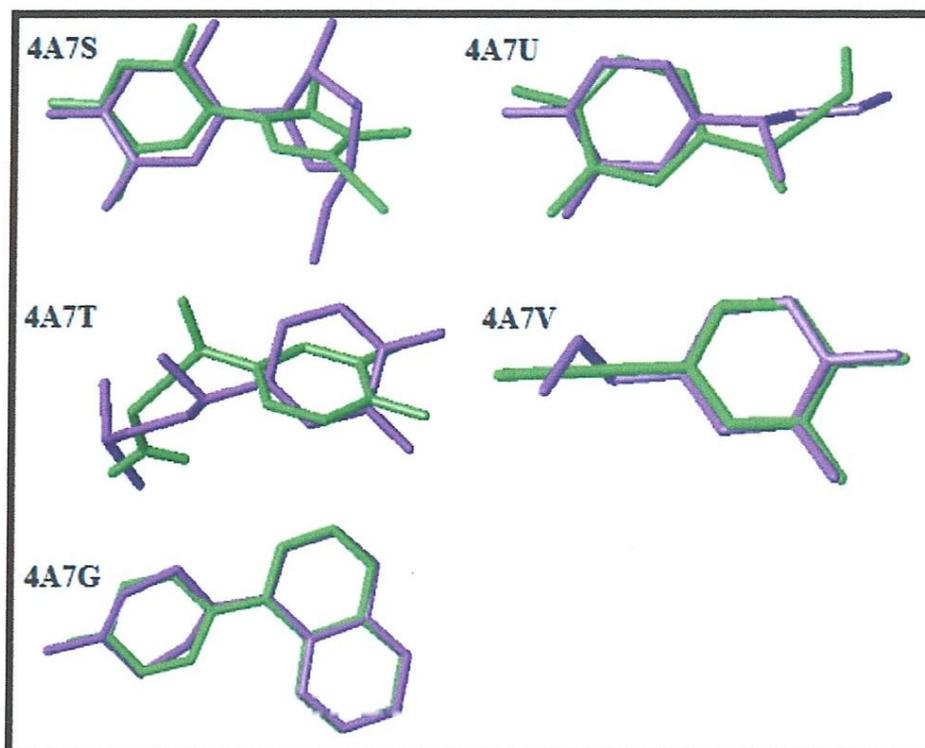


Figure N°11: Superposition des géométries des cinq ligands obtenues par cristallographie (colorées en violet) et par docking avec Surfex (colorées en vert).

II.2.2. Le système famille-dopamine@ β -cyclodextrine

On a docké la base constituée de 23 molécules dans la β -cyclodextrine. On obtient les résultats du docking sous forme d'un fichier listant les structures et les classant selon la fonction de score, Total score (Annexe 3). A l'intérieur de la ligne du fichier des résultats d'une structure il existe les différents résultats du docking des 20 poses de la dite structure, qu'on peut visualiser sur un tableau à part par un simple click. Au contraire du classement établi par le programme Surfex sur la base du total score, nous allons classer les résultats des poses en utilisant plutôt la fonction consensus score.

Egalement, le Programme Surfex applique d'autres fonctions de score, tel que D_Score, PMF_Score, G_Score et ChemScore qui ont été développés dans la partie théorique mais leurs résultats ne seront pas analysés dans cette étude car ils sont compris dans la fonction CScore.

Tableau N°2 : Résultats de docking avec le programme Surflex

Classement	Code	Total score (M ⁻¹)	Crash	Polar	Cscore
1	13289477_000	<u>4.58</u>	<u>-1.46</u>	<u>3.05</u>	3
2	11644631_002	<u>4.51</u>	<u>-0.85</u>	<u>1.93</u>	5
3	3713609_000	<u>4.39</u>	<u>-1.33</u>	<u>3.23</u>	3
4	20329954_000	<u>4.21</u>	<u>-1.96</u>	<u>2.71</u>	5
5	20266880_000	<u>4.14</u>	<u>-0.89</u>	<u>2.13</u>	4
6	205951_001	<u>4.05</u>	<u>-1.31</u>	<u>2.98</u>	5
7	681_000	<u>4.05</u>	<u>-0.89</u>	<u>2.11</u>	5

La première colonne comporte les structures des molécules exprimées avec le code utilisé par la base de données PUBCHEM. Pour l'analyse des résultats et la déduction des forces motrices de l'inclusion de la famille de la dopamine dans la β -cyclodextrine nous allons nous contenter des structures ayant des valeurs de total score supérieure à 4 et qui représente les systèmes ayant les meilleures affinités à former des complexes d'inclusion. Donc, on aura 7 structures à analyser.

Point de vue énergétique : l'analyse des résultats du tableau ci-dessus amène les commentaires suivants :

- ✓ Les valeurs du total score varient entre 4.05 jusqu'à 4.58 M⁻¹, la structure ayant la meilleure affinité.
- ✓ Les valeurs du crash, fonction mesurant la profondeur de la pénétration dans la cavité varient de -1.46 à -0.85. Quatre des sept structures possèdent des valeurs plus faibles de la valeur de la moyenne qui est égale à -1.01.
- ✓ la variation des valeurs de la fonction polaire est de 1.93 à 3.05. Il est très difficile de tirer une conclusion nette sur l'influence de la polarité sur le mode d'inclusion, idem pour la fonction score de crash.
- ✓ Néanmoins, nous pouvons diviser la série à sept composés en deux sous-groupes. Sous groupe I, constitué des structures 1, 3, 4 et 6. Le sous groupe II constitué de 2, 5 et 7.
- ✓ Le sous groupe I est caractérisé par des scores élevés de la fonction polar et de petit score pour la fonction crash. Pour le sous groupe II, le score de la fonction polar est plus faible tandis que le score de la fonction crash est plus élevé.

Nous constatons que d'après les seules valeurs des fonctions de score, il est impossible de déduire les forces motrices de l'inclusion de la famille de la dopamine dans la cavité de la b-cyclodextrine. Nous allons donc, dans ce qui suit, adopter une nouvelle démarche pour déduire les forces motrices, une approche reposant sur l'analyse des différentes surfaces obtenues de la même manière que les surfaces de van der Waals.

Le programme SYBYL-X.2.0 permet de générer les surfaces la répartition de : l'hydrophobicité, les liaisons d'hydrogène et le potentiel électrostatique. Nous testons également les directions des moments dipolaires des molécules hôtes et invités afin de vérifier la théorie stipulant qu'une disposition anti parallèle des moments dipolaires favorisent l'inclusion.

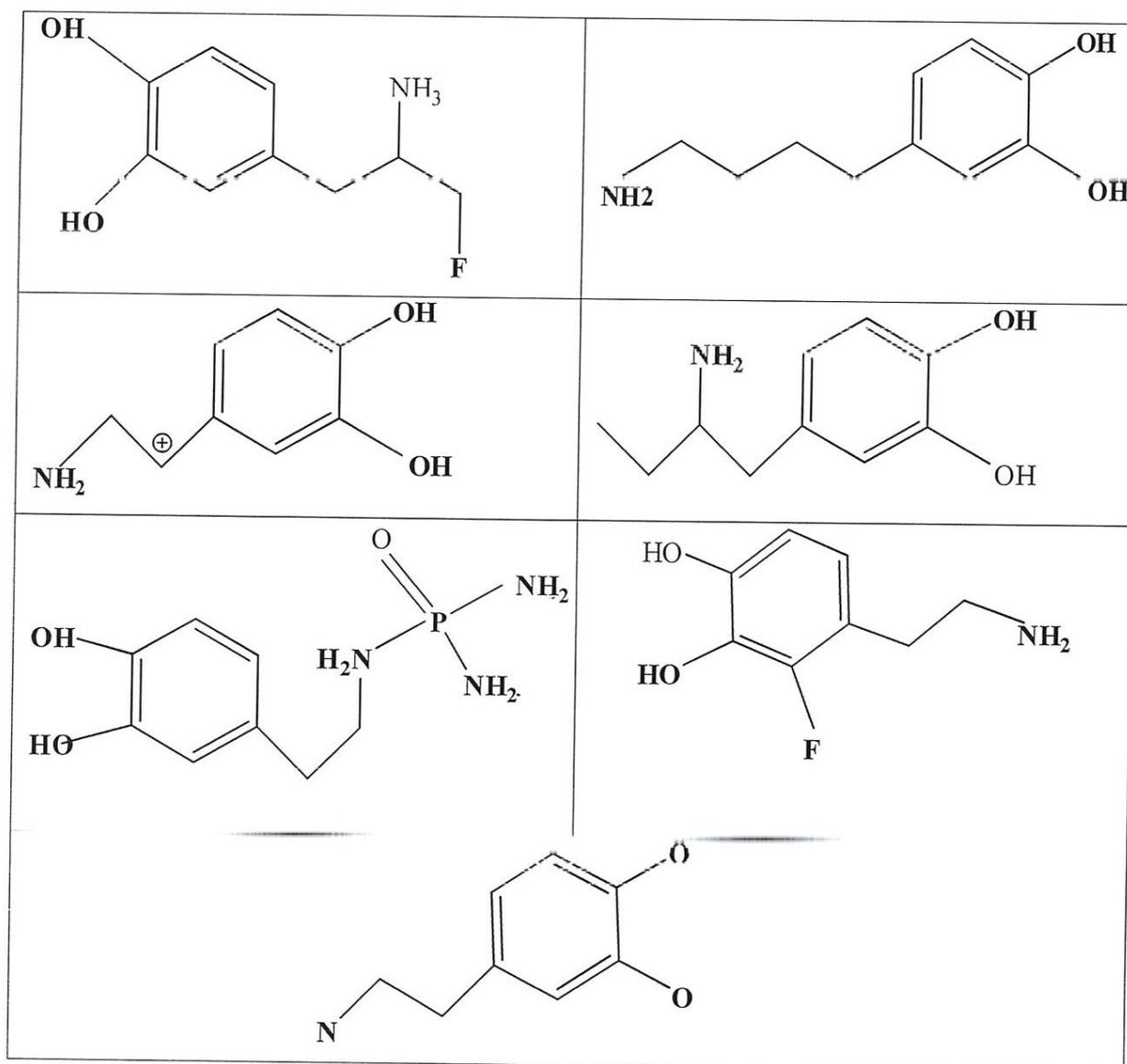


Figure N° 12: Structures des composés étudiés

II.2.2.1. Structure-1@ β -cyclodextrine

Les trois surfaces sont représentées dans la figure ci-dessous ainsi que la figure schématisant les moments dipolaires.

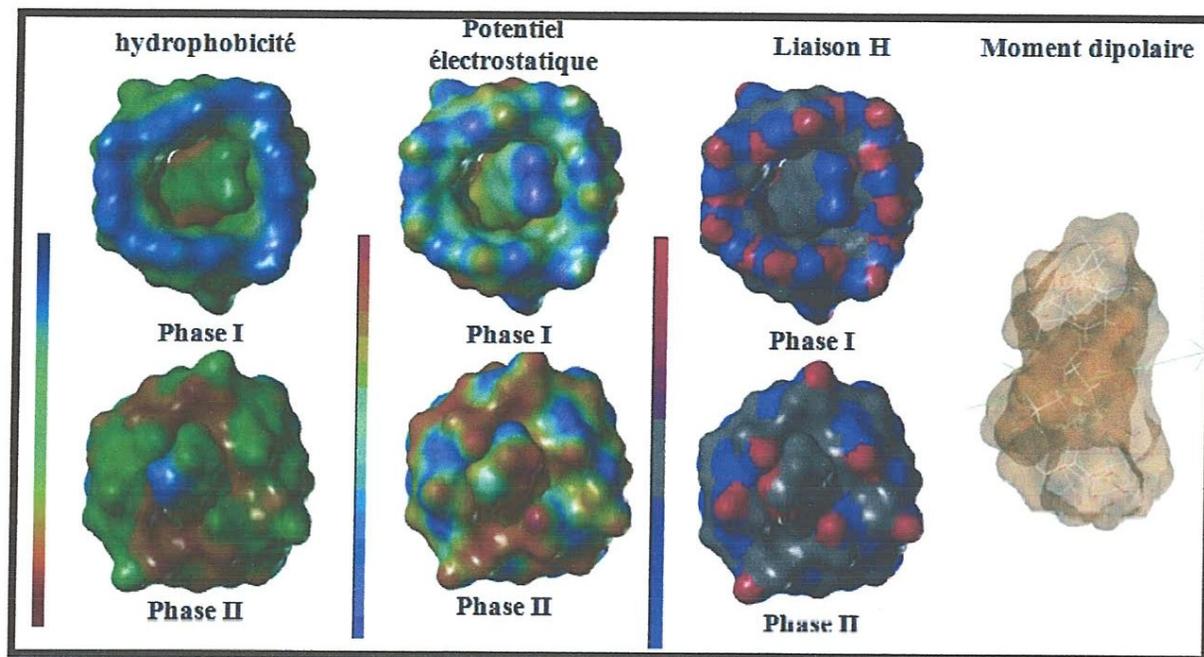


Figure N°13: Représentation de différentes propriétés de Structure-1@ β -cyclodextrine

La Structure-1@ β -cyclodextrine se caractérise par la valeur la plus élevée de total score 4.58 M^{-1} ; l'analyse visuelle du complexe nous a permis de voir :

- L'hydrophobicité :** La surface de gauche exprime l'hydrophobicité, les deux phases du complexe sont indiquées. Celle-ci est schématisée par différentes couleurs. Bleu hydrophile, vert hydrophobe et marron entre les deux. Nous allons adopter une analyse basée sur le contact entre les deux surfaces (hôte et invité) calculées séparément. La figure du haut montre le contact de surface hydrophobes à l'intérieure de la cavité et la surface hydrophile est libre. En revanche dans la figure du bas, on observe un contact de surface hydrophile avec une autre hydrophobe. Donc on peut dire que l'interaction hydrophobique est moyennement adaptée.
- Liaison H :** La susceptibilité d'établir des liaisons hydrogène entre les deux molécules est importante car les deux molécules possèdent plusieurs sites de donneur et accepteur de liaisons d'hydrogène. Dans les deux phases on voit que les sites de la dopamine sont en contact avec la surface de la β -cyclodextrine pouvant donner des liaisons d'hydrogène. Donc, tous les sites de l'invité sont impliqués dans des liaisons

H et de ce fait on peut considérer que les liaisons d'hydrogène est une force motrice importante.

- **Potentiel électrostatique** : Il existe une interaction faible dans la phase 1 (vert en face de bleu) ; dans l'autre phase existe une interaction moyenne (bleu avec le marron). L'interaction électrostatique est donc une force motrice faible à moyenne.
- **Moment dipolaire** : Le moment dipolaire de l'invité et celui de la β -CD sont dans le même sens et un angle $< 60^\circ$. L'antiparallélisme des moments dipolaires n'est pas vérifié.

Conclusion 1 : En résumé pour la structure 1, la force motrice principale est l'interaction des liaisons d'hydrogène.

II.2.2.2. Structure-2@ β -cyclodextrine

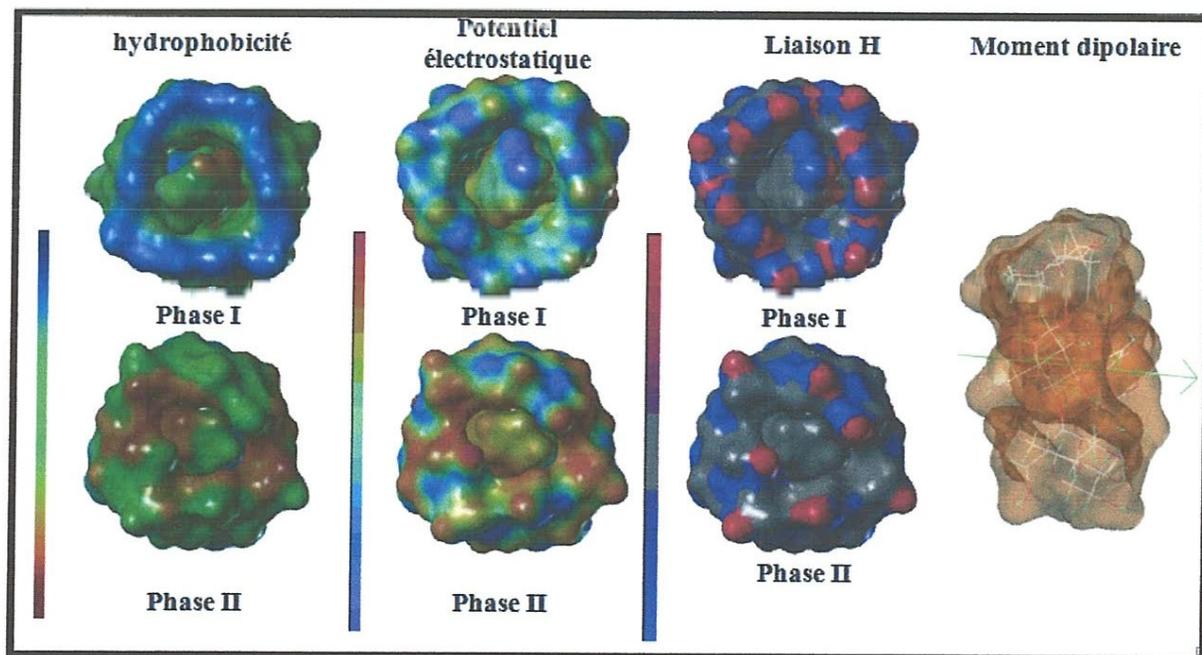


Figure N°14 : Représentation de différentes propriétés de Structure-2@ β -cyclodextrine

Le complexe structure-2@ β -cyclodextrine se caractérise par une valeur de total score égale à 4.51 M²; l'analyse visuelle des différentes surfaces révèle que:

- **L'hydrophobicité** : Les interactions hydrophobiques sont présentes dans les deux phases de la cyclodextrine.

- **Liaison H** : La surface du potentiel électrostatique fait apparaître une faible interaction dans la phase 1 (vert en face de bleu); tandis que dans l'autre phase on observe une interaction moyenne (bleu avec le marron).
- **Potentiel électrostatique** : L'analyse de la surface indique l'établissement d'une seule interaction de type H entre le seul site de la molécule invité qui est susceptible de donner une liaison H avec un OH de la CD. Dans ce complexe il y'a une forte tendance à l'établissement de liaison H entre l'invité et la CD.
- **Moment dipolaire** : Le moment dipolaire de l'invité et celui de la β -CD sont dans le même sens et un angle $< 60^\circ$. L'antiparallélisme des moments dipolaires n'est pas vérifié.

Conclusion 2 : En résumé pour la structure 2, la force motrice principale est l'interaction des liaisons d'hydrogène.

II.2.2.3. Structure-3@ β -cyclodextrine

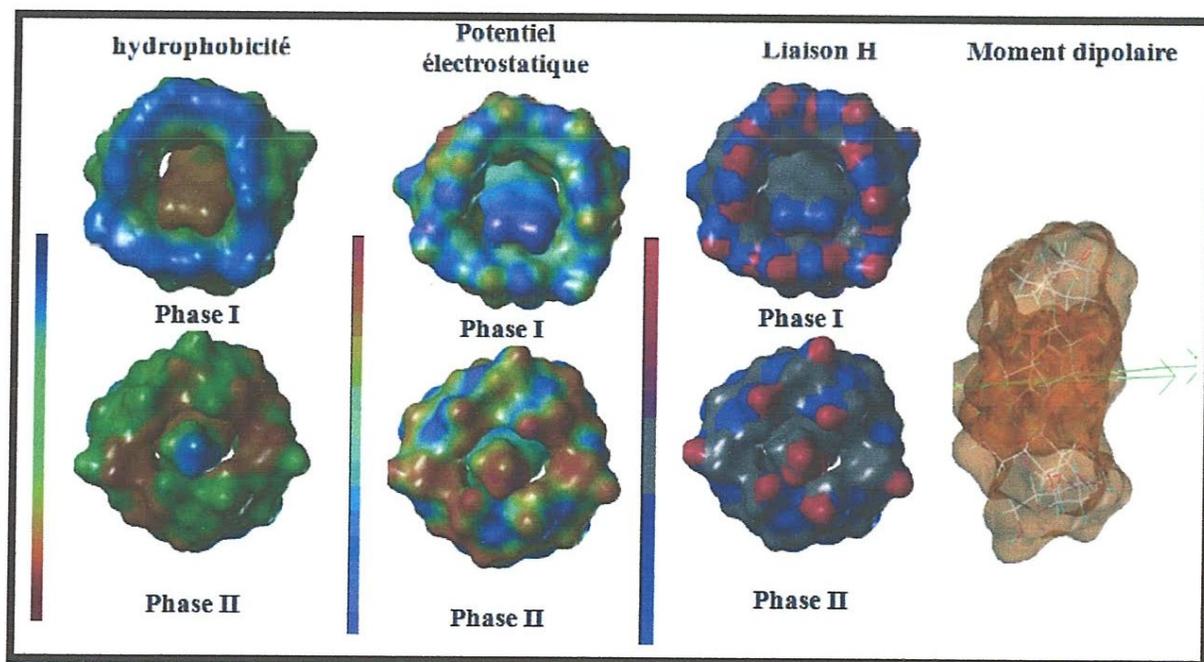


Figure N° 15: Représentation de différentes propriétés de Structure-3@ β -cyclodextrine

Le complexe structure-3@ β -cyclodextrine se caractérise par une valeur de total score 4.39 M²; l'analyse des surfaces de contacts de la structure 3 avec la β -cyclodextrine donne:

- **Hydrophobicité** : les interactions hydrophobiques sont observées seulement dans une phase, dans l'autre phase n'observe aucune interaction.

- **Potentiel électrostatique** : On comptabilise une interaction faible dans la phase 1 (vert en face de bleu) ; en revanche dans l'autre phase on constate la présence d'une interaction moyenne (bleu avec le marron).
- **Liaison H** : On observe une très forte tendance à l'établissement de liaisons H dans les deux phases.
- **Moment dipolaire** : Les deux moments dipolaires établissent un angle d'environ 30° .

Conclusion 3 : Donc, la principale force motrice dans le complexe structure-3@ β -cyclodextrine, les interactions de liaisons H.

II.2.2.4. Structure-4@ β -cyclodextrine

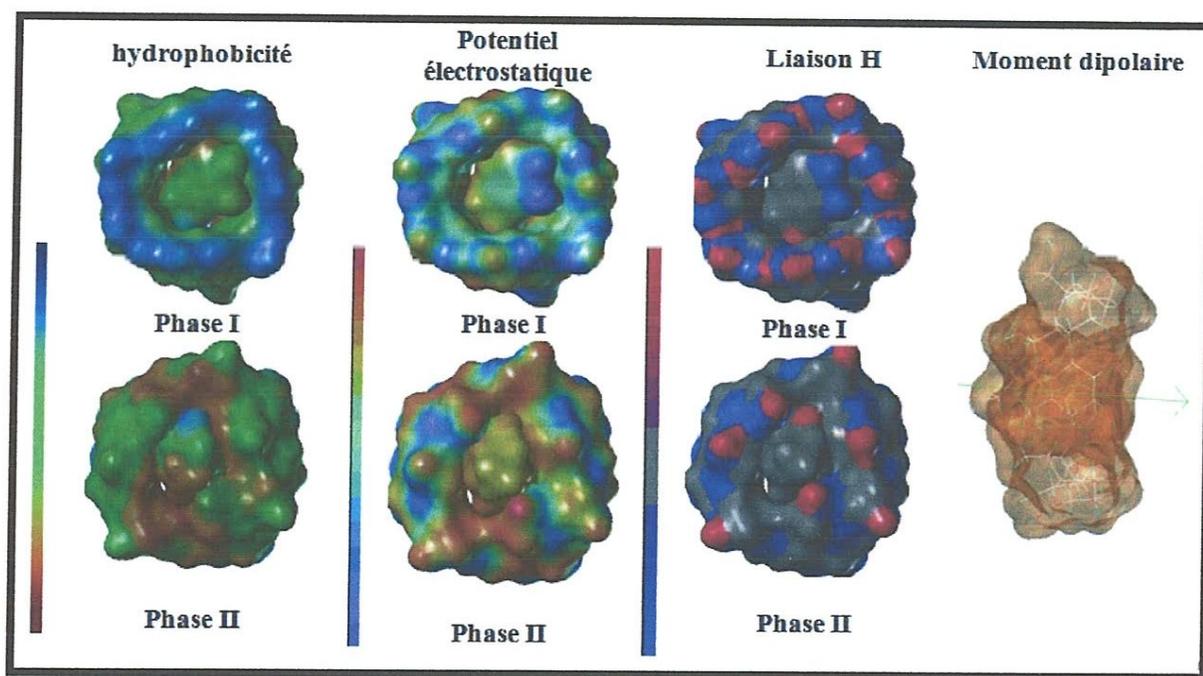


Figure N°16: Représentation de différentes propriétés de Structure-4@ β -cyclodextrine

Le complexe structure-4@ β -cyclodextrine se caractérise par une valeur de total score 4.21 M^+ ; l'analyse visuelle des contacts des différentes surfaces de potentielle donne :

- **Hydrophobicité** : La présence d'interaction hydrophobique forte, seulement dans une phase.
- **Potentiel électrostatique** : On observe une interaction potentielle électrostatique moyenne dans une phase et faible dans la deuxième.
- **Liaison H** : Une très forte tendance à l'établissement de liaisons H et dans les deux phases.

- **Moment dipolaire** : Pas de disposition antiparallèle des moments dipolaires.

Conclusion 4 : Les forces motrices dominantes, Liaisons H et les interactions hydrophobiques.

II.2.2.5. Structure-5@ β -cyclodextrine

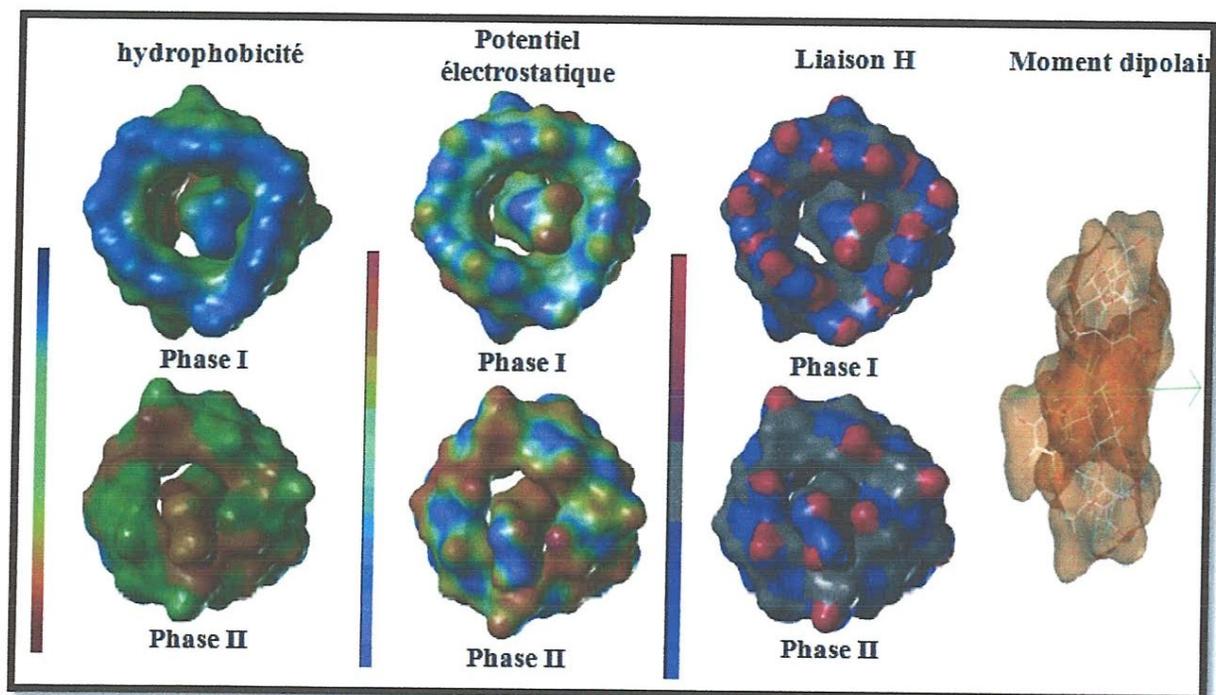


Figure N°17: Représentation de différentes propriétés de Structure-5@ β -cyclodextrine

Le complexe structure-5@ β -cyclodextrine se caractérise par une valeur de total score 4.14 M²; l'analyse des surfaces de contacts nous donne:

- **Hydrophobicité** : Une forte interaction hydrophobique est observée dans les deux phases.
- **Potentiel électrostatique** : Une très forte tendance à l'établissement de liaisons H est observée dans les deux phases.
- **Liaison H** : Dans une phase une interaction électrostatique moyenne dans une phase et une faible dans la deuxième phase.
- **Moment dipolaire** : Les moments dipolaires ne sont pas antiparallèles.

Conclusion 5 : les forces motrices dominantes sont les interactions hydrophobiques et les liaisons H.

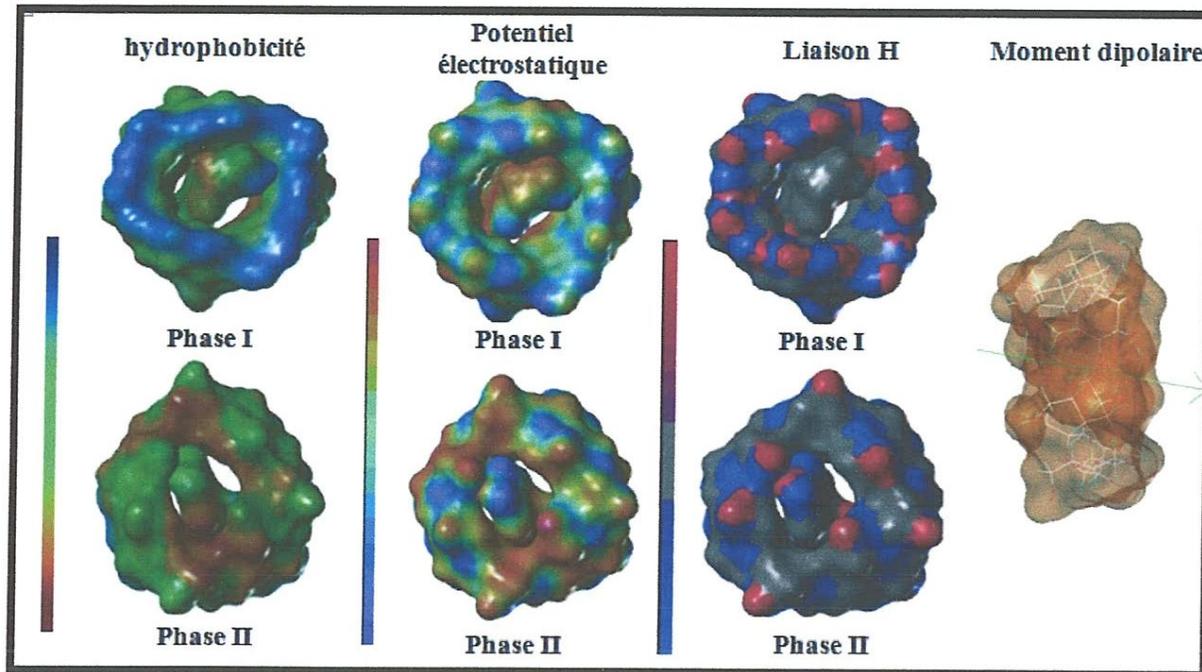
II.2.2.6. Structure-6@ β -cyclodextrine

Figure N°18: Représentation de différentes propriétés de Structure-6@ β -cyclodextrine

Le complexe structure-6@ β -cyclodextrine se caractérise par une valeur de total score 4.05 M^{-1} ; l'analyse des contacts entre les surfaces révèle que:

- **Hydrophobicité :** Une forte interaction hydrophobique est observée dans les deux phases.
- **Potentiel électrostatique :** Est observée une interaction électrostatique moyenne dans une phase et une faible dans la deuxième.
- **Liaison H :** Egalement une forte tendance à établir des liaisons H dans les deux phases.
- **Moment dipolaire :** Pas de disposition antiparallèle des moments dipolaires.

Conclusion 6 : Les forces motrices dominantes, Liaisons H et les interactions hydrophobiques.

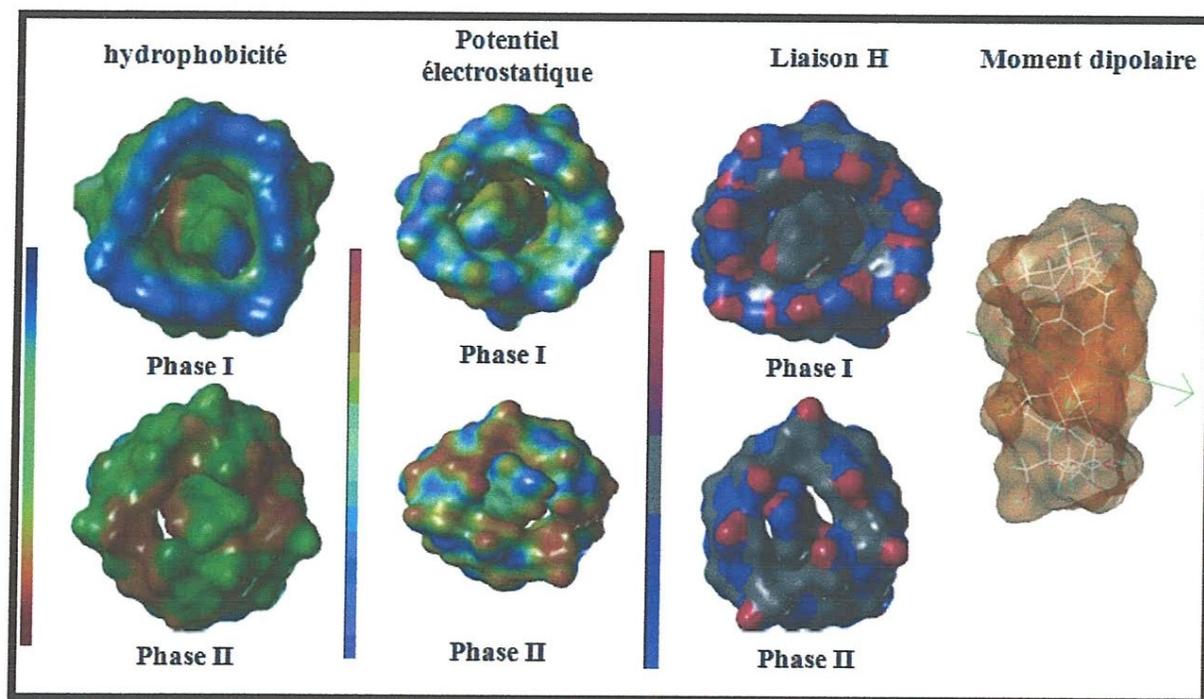
II.2.2.7. Structure-7@ β -cyclodextrine

Figure N° 19: Représentation de différentes propriétés de Structure-7@ β -cyclodextrine

La structure-7@ β -cyclodextrine se caractérise par une valeur de total score 4.05 M⁻¹; l'analyse des contacts des surfaces montre :

- **Hydrophobicité :** Une interaction hydrophobique faible d'un côté et forte de l'autre.
- **Liaison H :** Egalement pour les interactions de liaison H, une tendance forte d'un côté et faible de l'autre.
- **Potentiel électrostatique :** Comme dans les 6 complexes précédents, une interaction moyenne dans une phase et une faible de l'autre.
- **Moment dipolaire :** Pas de disposition antiparallèle des moments dipolaires.

Conclusion 7: Les forces motrices dominantes, Liaisons H et les interactions hydrophobiques.

II.2.2.8. Conclusion

Il en résulte que la force motrice dominante dans la formation des complexes d'inclusion [famille-dopamine@b-cyclodextrine] est l'interaction de la liaison H. Globalement, on peut dire que l'intervention des interactions hydrophobiques arrive en second lieu. L'affinité à établir des interactions électrostatiques est faible à moyenne dans cette famille de complexes. En revanche, les complexes [famille-dopamine@b-cyclodextrine] ne vérifient pas la théorie stipulant une disposition antiparallèle des moments dipolaires pour une plus de stabilité du complexe.

II.3. Etude des interactions entre la DA et superoxide dismutase 1

Le but de notre étude dans cette partie est de trouver des nouveaux inhibiteurs pour la superoxide dismutase 1 muté. Le complexe SOD1-DA a été utilisé pour la recherche de ces inhibiteurs pour inhiber l'agrégation de la SOD1 muté. Le choix de la dopamine : La dopamine a été découverte récemment pour son effet inhibiteur pour la protéine SOD1 publié en 2013 dans la fameuse revue Nature communication [59].

II.3.1. Docking de la DA-SOD1

Tout d'abord nous avons docké la dopamine toute seule dans la protéine SOD1. Les différents résultats du docking sont mentionnés dans le tableau suivant, avec les différentes fonctions de score.

Tableau N° 3 : résultat de docking DA-SOD1

CODE CID	Total score (M ³)	Crash	Polar	Cscore
681	0.92	-0.08	2.80	5

C'est très difficile de discuter les valeurs obtenues par les fonctions de score car celles-ci sont utilisées uniquement à titre comparative, et dans notre cas on a seulement un seul composé. On peut dire seulement que vu la valeur du crash (niveau de la pénétration) qu'elle est profonde et proche du centre du site d'activité, vu la valeur obtenue qui est proche du Zéro. L'analyse visuelle du complexe SOD1-DA (figure N° 20) nous révèle la présence de trois liaisons hydrogènes l'une entre le OII de la dopamine et le H du groupement NH₃ du résidu Lys23 distant de 2.051Å; la 2^{ème} liaison H entre le OH de la dopamine et le H du

groupement NH_3 du résidu LYS30 distant de 2.127 Å et la 3^{ème} liaison H entre le N de la dopamine et le H du groupement NH_3 du résidu LYS30 distant de 1.989 Å.

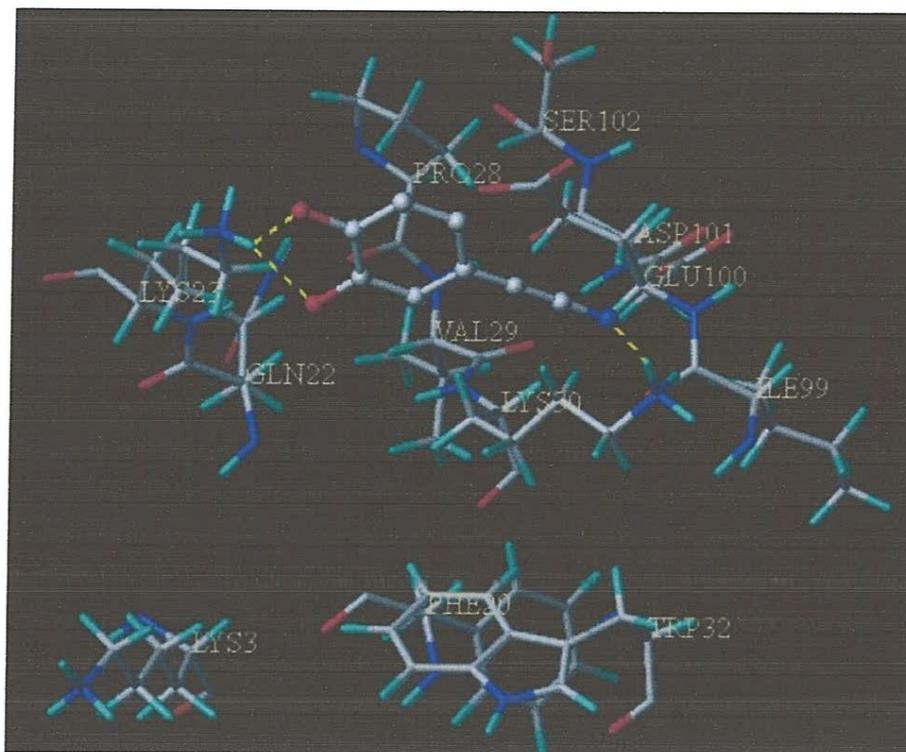


Figure N° 20 : Représentation des liaisons hydrogène formées par le substrat et le site actif

NB : nous avons négligé quelques acides aminés de quelques figures pour la clarté des images.

II.3.2. Docking de la famille de dopamine dans la SOD1

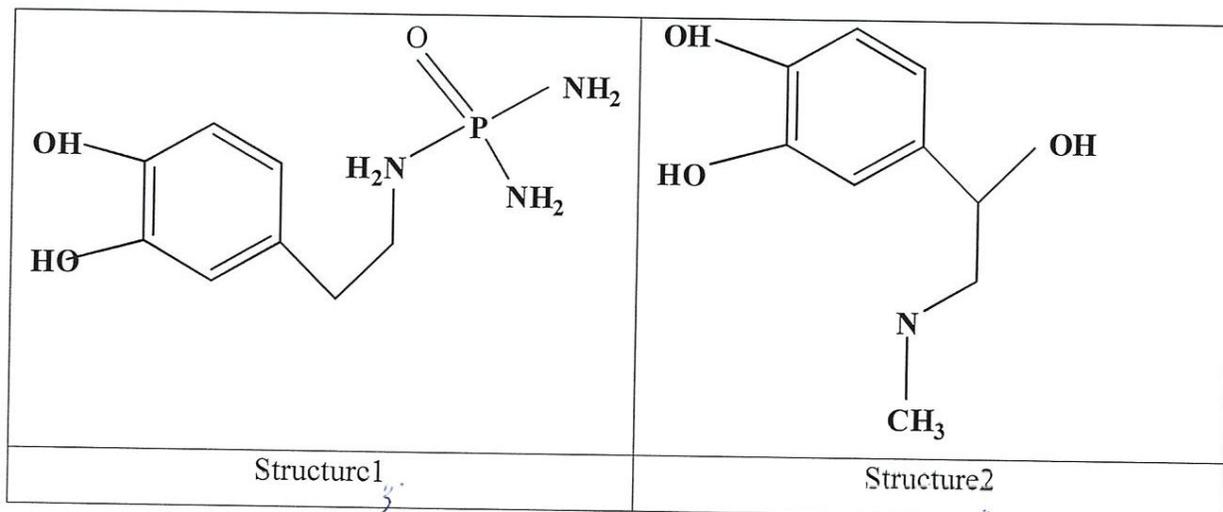
Le docking des 23 structures est effectué sur la structure de la protéine SOD1. On obtient les résultats du docking sous forme d'un fichier listant les structures et les classant selon Total score

Nous avons comparé leurs scores par rapport à la dopamine et proposer le meilleur inhibiteur de la protéine SOD1. Les résultats de docking sont présentés dans le tableau (Annexe 4).

Tableau N° 4 : Le classement de la base par Total score

Classement	Structure	Total score (M ⁻¹)
1	<u>20266880-000</u>	<u>6.20</u>
2	<u>5816-000</u>	<u>6.03</u>
3	20329954_000	5.76
4	205951_000	5.59
5	521660_000	5.54
6	123932_000	5.45
7	18544339_000	5.27
8	19894364_000	5.25
9	3713609_000	5.23
10	12271393_000	5.17
11	681_000	5.15

Les deux premières structures donnent de scores en affinité dépassant la valeur de 6. Elles possèdent vraisemblablement une meilleure affinité à binder avec la protéine SOD1. Nous allons étudier leurs structures en détails en particulier la forme de leur « binding » à la protéine SOD1.

Tableau N° 5 : Les structures étudiées

II.3.2.1. SOD1@Structure1

L'analyse visuelle du complexe SOD1@Structure1 (figure N°21) nous révèle la présence de quatre liaisons hydrogènes.

La première est établie entre l'oxygène du groupement OH de la dopamine et le H du groupement NH_3 du résidu LYS23 (2.139 Å) et l'autre par une distance 2.281 Å. Et le même groupement OH forme par leur l'hydrogène avec l'oxygène du résidu PRO28 distant de (1.918 Å); et le 2^{ème} groupement OH du DA forme une liaison H avec l'oxygène du résidu GLU24 séparés par une distance de 2.002 Å.

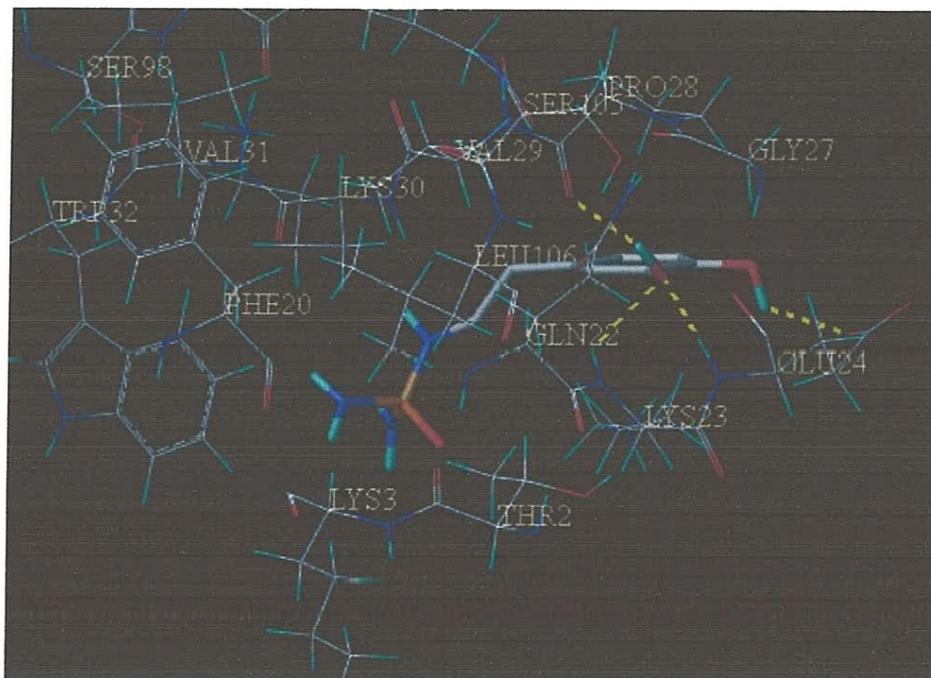


Figure N° 21 : Représentation des liaisons hydrogènes formées par la structure 1 et le site actif

Par rapport aux interactions hydrophobiques entre le ligand et le site actif on peut dire qu'elles sont de deux natures : l'une stabilisante due à la présence du noyau benzénique, fortement hydrophobe, dans la cavité hydrophobe de la protéine. La deuxième est déstabilisante et elle a lieu au contact des surfaces aux différents niveaux d'hydrophobicité des molécules ligand et protéine (contact de surface de couleurs différentes).

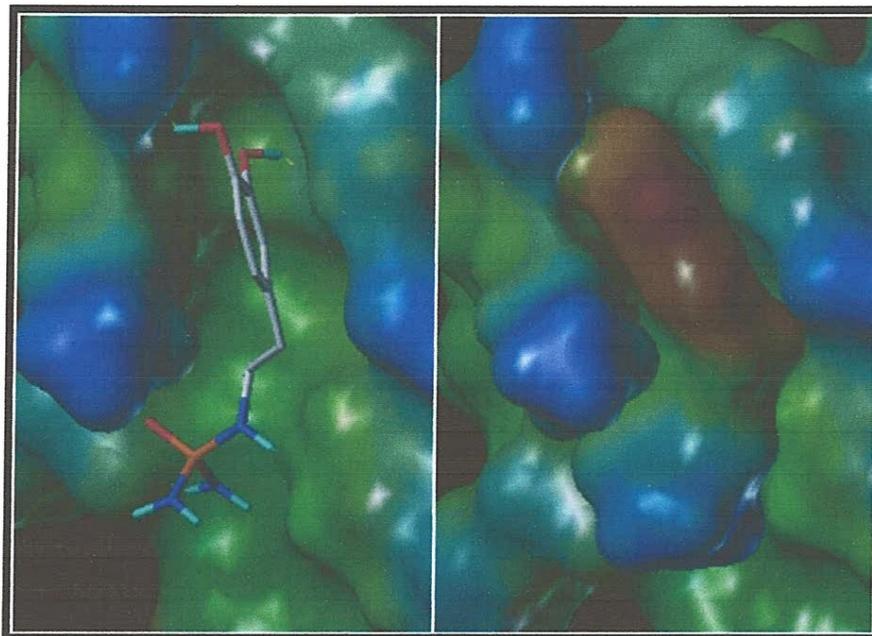


Figure N° 22 : Représentation des liaisons hydrogènes formées par la structure2 et le site actif

II.3.2.2. SOD1@Structure2

L'analyse visuelle du complexe SOD1@structure2 (figure N°23) nous montre quatre liaisons H: 1. La première est établie entre le groupement NH de la structure avec l'oxygène du résidu LYS30 ($d=1.95 \text{ \AA}$). La deuxième entre l'oxygène de la structure avec le H du groupement NH_3 de résidu PHE20 ($d=1.94 \text{ \AA}$). Les deux dernières liaisons H sont établies entre les H du groupement catéchol forment des liaisons H avec l'oxygène de même résidu PRO28 ; $d_1=2.23 \text{ \AA}$ et $d_2=1.93 \text{ \AA}$.

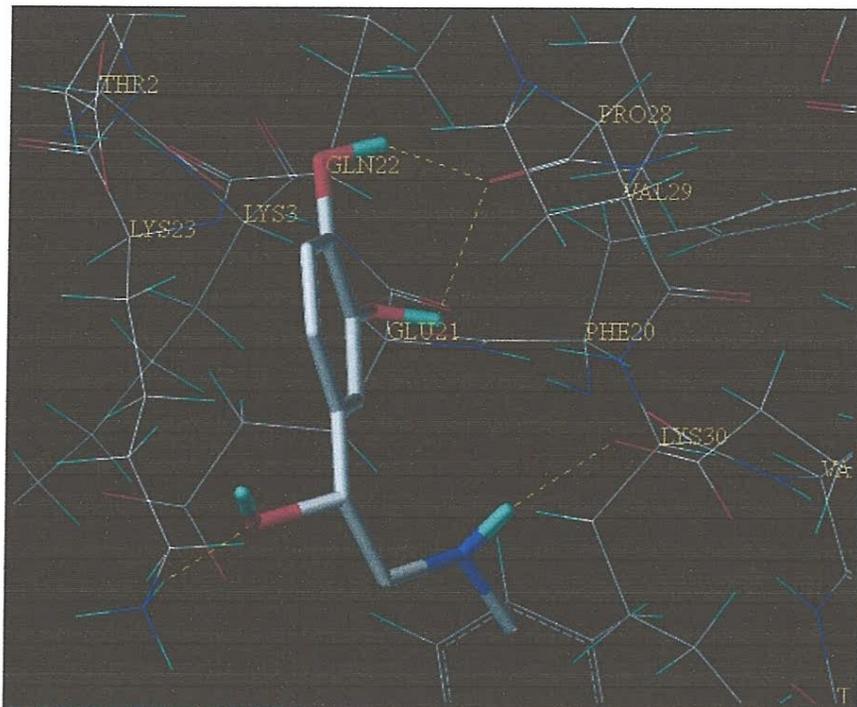


Figure N° 23 : Représentation des liaisons hydrogènes formées par la structure2 et le site actif

Et on peut voir l'hydrophobicité entre le ligand et le site actif est dire qu'il existe une forte interaction hydrophobique.

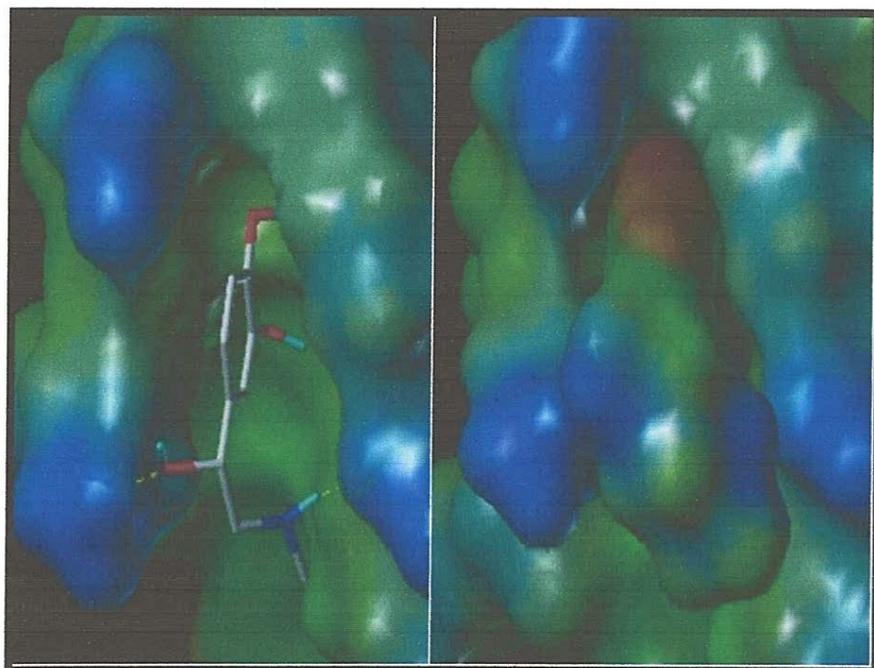


Figure N° 24 : Représentation des interactions hydrophobique entre la structure2 et SOD1

L'image ci-dessus montre les interactions hydrophobiques entre la structure 2 et la protéine SOD1. Dans ce cas, les interactions sont toutes stabilisantes. La cavité hydrophobe contient le noyau benzénique fortement hydrophobe et les parties hydrophiles de la structure bind avec des résidus hydrophiles, comme l'indique le contact entre les surfaces de la même couleur et cela conduit à une interaction hydrophobe ou hydrophile stabilisante.

Conclusion : On dire que le 2^{ème} est mieux adapté pour être un inhibiteur de la SOD1.

Conclusion

Au cours de notre travail nous avons en premier lieu déterminé les principales forces motrices dans la formation des complexes d'inclusion famille-dopamine@ β -cyclodextrine. Cette évaluation repose sur les principes des fonctions de scores qui sont généralement issue de la mécanique moléculaire. Les principales forces sont par ordre décroissant :

- ✓ Les forces hydrophobiques
- ✓ Les liaisons H
- ✓ Les interactions électrostatiques

Les liaisons H ont été évaluées par des considérations géométriques entre les entités donneuses et accepteuses. En revanche les interactions hydrophobiques et électrostatiques ont été déterminées par des techniques d'élaboration de surface de potentielle d'hydrophobicité et d'électrostatique. Les potentiels correspondant différents à travers les différentes parties de la molécule sont schématisés par des couleurs différentes.

Le mini criblage réalisé par la famille de la dopamine sur la protéine sur la protéine superoxide-dismutase SODI fait ressortir deux molécules candidates aux propriétés très intéressantes. Ces deux structures ont donné les meilleurs scores de docking sur la base de la fonction de score, total score, qui représente l'affinité à formé un « binding » avec la protéine.

L'analyse de la forme du « binding » des deux interactions avec la protéine et sa comparaison avec l'interaction du ligand naturel montre que la structure avec l'atome de phosphore donne l'interaction la plus similaire à l'interaction naturelle.

Il ne suffit pas d'avoir le meilleur score pour être candidat mais il faut que les interactions correspondent et sur cette pose qu'on peut dire jusqu'à ce niveau de notre étude que la molécule avec l'atome de phosphore est le meilleur ligand d'inhibition de la protéine superoxide-dismutase.

Références bibliographiques

- [1] A. Grosdidier. *Conception d'un logiciel de docking et applications dans la recherche de nouvelles molécules actives*. Thèse de doctorat en pharmacie. Grenoble : Université Joseph Fourier. France. **2007**. 90.
- [2] E. Rosen, A. O'Donnell, R. Koenig. *Protein-protein interactions involving erba superfamily receptors: through the TRAP door*. *Molecular and Cellular Endocrinology*. **1991**, 78, 83-88.
- [3] D. Kitchen, H. Decornez, J. Furr Bajorath. *Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications*. *Drug discovery*. **2004**, 3, 935-949.
- [4] G. Warren, C. Andrews, A. Capelli. *A Critical Assessment of Docking Programs and Scoring Functions*. *Journal of Medicinal Chemistry*. **2006**, 49, 5912-5931.
- [5] I. Halperin, H. Wolfson, R. Nussinov. *Principles of Docking: An Overview of Search Algorithms and a Guide to Scoring Functions*. *Proteins: Structure, Function, and Genetics* **2002**, 47, 409-443.
- [6] T. Ewing Makino, S. Skillman, G. Kuntza. *DOCK 4.0: Search strategies for automated molecular docking of flexible molecule databases*. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. **2001**, 15, 411-428.
- [7] H. Claußen, C. Buning, M. Rarey, *FLEXE: Efficient Molecular Docking Considering Protein Structure Variations*. *Journal of Molecular Biology*. **2001**, 308, 377-395
- [8] W. Welch, J. Ruppert. *Hammerhead: fast, fully automated docking of flexible ligands to protein binding sites*. *Chemistry & Biology*. **1996**, 3, 449-462.
- [9] N. Budin, N. Majeux, A. Caflisch. *Fragment-Based Flexible Ligand Docking by Evolutionary Optimization*. *Journal of Biological Chemistry*. **2001**, 382, 1365-1372.
- [10] E. Kellenberger, J. Rodrigo, P. Muller, D. Rognan. *Comparative Evaluation of Eight Docking Tools for Docking and Virtual Screening Accuracy*. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. **2004**, 57, 225-242.
- [11] G. Jones, P. Willett, R. Glen. *Development and Validation of a Genetic Algorithm for Flexible Docking*. *Journal of Molecular Biology*. **1997**, 267, 727-748.
- [12] C. Bissantz, G. Folkers. *Protein-Based Virtual Screening of Chemical Databases. 1. Evaluation of Different Docking/Scoring Combinations*. *Journal of Medicinal Chemistry*. **2000**, 43, 4759-4767.
- [13] G. Jones, P. Willett, R. Glen, A.R. Leach and R. Taylor, *J. Mol. Biol.*, **1997**, 267, 727
- [14] I. D. Kuntz, J. Blaney, S. Oatley, R. Langridge. *Biol.* **1982**, 161, 269

- [15] M. Rarey, B. Kram2er, T. Lengauer. *A Fast Flexible Docking Method using an Incremental Construction Algorithm. Journal of Molecular Biology.* **1996**, 261, 470-489.
- [16] M. Eldridge, W. Murray, R. Auton, V. Paolini, Mee, J. *Comp.-Aided Molec. Des.* **1997**, 11, 425-445.
- [17] I. Muegge, *J. Med. Chem.*, **1999**, 42, 791.
- [18] I. Halperin, H. Wolfson, R. Nussinov, *Principles of docking: An overview of search algorithms and a guide to scoring functions.*, *Proteins.* **2002**, 474, 09-443.
- [19] R. Clark, A. Strizhev, J. Leonard, J. Blake. "Consensus scoring for ligand/protein interactions" *J. Mol. Graph. Mod.* **2002**, 20, 281.
- [20] A. Arrault. *Stratégies de docking-scoring assistées par analyse de données. Application au criblage virtuel des cibles thérapeutiques COX-2 et PPAR gamma.* Thèse de doctorat d'université : Modélisation Moléculaire et Chemoinformatique. Orléans : Université d'Orléans. France. **2007**. 176.
- [21] A. Krid. *Modélisation de nouvelles molécules biologiques actives liées au stress oxydant.* Thèse de magister d'université : chimie theorique. Constantine: Université Mentouri de Constantine. Algérie. **2008**. 75.
- [22] E. Mokrani. *Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation informatique.* Thèse de maglster d'université : Technologie des explorations biochimiques. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie. **2012**. 75.
- [23] M. BENATAR. *Neuromuscular Disease Evidence and Analysis in Clinical Neurology.* **2006**.
- [24] M. Berger, B. Redl. *Detection and cellular localization of enterovirus RNA sequences in spinal cord of patients with ALS.* **2000**, 54, 20–25.
- [25] P. Lewis, *The New England Journal of Medicine.* **2001**, 344, 1688.
- [26] J. Bhatt, R. Pascuzzi, *Case Studies Neurol Clin.* **2006**, 24, 233–265.
- [27] F. Jerusalem, C. Pohl, J. Karitzky, F. Ries. ALS, *Neurology*, **1996**, 47, 218–220.
- [28] D. Offen, S. Halevi, D. Orion, *et al. Neurology.* **1998**, 51, 1100–1103.
- [29] M. Donatella Caramia, M. Giuseppina, *et al. Neurology.* **2000**, 54, 1-2.
- [30] B. Turner, K. Talbot. *Transgenics, toxicity and therapeutics in rodent models of mutant SOD1-mediated familial ALS.* **2008**, 85, 94-134.

- [31] C. Simpson. *Amyotrophic lateral sclerosis as a complex genetic disease* *Biochim Biophys Acta*. **2006**, 1762, 973-985.
- [32] L. Rowland. *Amyotrophic lateral sclerosis* *N Engl J Med*. **2001**, 344, 1688-1700.
- [33] D. Rosen, T. Siddique, *Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis*. *Nature*. **1993**, 362, 59-62.
- [34] P. Andersen. *Amyotrophic lateral sclerosis associated with mutations in the CuZn superoxide dismutase gene*. *Curr Neurol Neurosci Rep*. **2006**, 6, 37-46.
- [35] L. Bruijn, T. Miller, D. Cleveland. *Unraveling the mechanisms involved in motor neuron degeneration in ALS*. *Annu Rev Neurosci*. **2004**, 27, 723-749.
- [36] A. Gruzman, W. Wood, E. Alpert, *Common molecular signature in SOD1 for both sporadic and familial amyotrophic lateral sclerosis*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **2007**, 104, 12524-12529.
- [37] S. Ezzi, M. Urushitani, J. Julien. *Wild-type superoxide dismutase acquires binding and toxic properties of ALS-linked mutant forms through oxidation*. *J Neurochem*. **2007**, 102, 170-178.
- [38] E. Kabashi, P. Valdmanis, P. Dion. *Oxidized/misfolded superoxide dismutase-1: the cause of all amyotrophic lateral sclerosis?* *Ann Neurol*. **2007**, 62, 553-559.
- [39] F. Gros-Louis, C. Gaspar, G. Rouleau. *Genetics of familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis*. *Biochim Biophys Acta*. **2006**, 1762, 956-972.
- [40] D. Cruz, L. Nelson, V. McGuire, W. Longstreth, Jr. *Physical trauma and family history of neurodegenerative diseases in amyotrophic lateral sclerosis: a population-based case-control study*. *Neuroepidemiology*. **1999**, 18, 101-110.
- [41] W. Longstreth, V. McGuire, T. Koepsell, Y. Wang. *Risk of amyotrophic lateral sclerosis and history of physical activity: a population-based case-control study*. *Arch Neurol*. **1998**, 55, 201-206.
- [42] I. Wakayama, V. Nerurkar, M. Strong, R. Garruto. *Comparative study of chronic aluminum-induced neurofilamentous aggregates with intracytoplasmic inclusions of amyotrophic lateral sclerosis*. *Acta Neuropathol*. **1996**, 92, 545-554.

- [43] P. Corcia, H. Jafari-Schluep, D. Lardillier, H. Mazyad, P. Giraud, P. Clavelou, J. Pouget. *A clustering of conjugal amyotrophic lateral sclerosis in southeastern France. Arch Neurol.* **2003**, 60, 553-557.
- [44] M. Rose. *Gulf War service is an uncertain trigger for ALS. Neurology.* **2003**, 61, 730-731.
- [45] A. Chio, G. Benzi, M. Dossena, R. Mutani, G. Mora. *Severely increased risk of amyotrophic lateral sclerosis among Italian professional football players. Brain.* **2005**, 128, 472-476.
- [46] E. Abel. *Football increases the risk for Lou Gehrig's disease, amyotrophic lateral sclerosis. Percept Mot Skills.* **2007**, 104, 1251-1254.
- [47] P. Spencer, P. Nunn, J. Hugon. *Guam amyotrophic lateral sclerosis-parkinsonism-dementia linked to a plant excitant neurotoxin. Science.* **1987**, 237, 517-522.
- [48] J. Bailey-Wilson, C. Plato, R. Elston, R. Garruto. *Potential role of an additive genetic component in the cause of amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia in the western Pacific. Am J Med Genet.* **1993**, 45, 68-76.
- [49] D. Majoor-Krakauer, P. Mulder. *A link between ALS and short residence on Guam. Neurology.* **2005**, 64, 1819-1820.
- [50] N. Chandel. *The cellular basis for diverse responses to oxygen. Free radical biology & medicine.* **2007**, 42, 165-74.
- [51] J. Crapo, Y. Chang. *Copper,zinc superoxide dismutase is primarily a cytosolic protein in human cells. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* **1992**, 89, 10405-9.
- [52] Mates. *Antioxidant enzymatic activities in human blood cells after an allergic reaction to pollen or house dust mite. Blood cells, molecules & diseases.* **1999**, 25, 103-9.
- [53] S. Liochev. *Copper- and zinc-containing superoxide dismutase can act as a superoxide reductase and a superoxide oxidase. The Journal of biological chemistry.* **2000**, 275, 38482-5.
- [54] Mates. *Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. Front Biosci.* **1999**, 4, D339-45.
- [55] L. Behrend, G. Henderson. *Reactive oxygen species in oncogenic transformation. Biochemical Society transactions.* **2003**, 31, 1441-4.
- [56] P. Stralin. *Effects of oxidative stress on expression of extracellular superoxide dismutase, CuZn-superoxide dismutase and Mn-superoxide dismutase in human dermal fibroblasts. The Biochemical journal.* **1994**, 298, 347-52.

- [57] I. Rahman, S. Biswas. *Oxidant and antioxidant balance in the airways and airway diseases. European journal of pharmacology*. **2006**, 533, 222-39.
- [58] A. Desideri, M. Falconi. Prokaryotic Cu,Zn superoxide dismutases. *Biochemical Society transactions*, **2003**, 31, 1322-5.
- [59] G. Wright, S. Antonyuk, *Ligand binding and aggregation of pathogenic SOD1, Nature communications*, **2013**, 4, 1758.
- [60] F. Thompson, *The Brainn: A Neuroscience Primer*, **1993**, 475.
- [61] P. Revest, A. Longstaff. *Molecular neuroscience, Taylor & Francis*, **1998**, 237.
- [62] G. Wilson. *Chemical Reviews*, **2008**, 108, 2462.
- [63] P. Phillips, G. Stuber, *Nature*, **2003**, 422, 614.
- [64] R. O'Neill, *Sensors*, **2005**, 5, 317.
- [65] E. Koutsilieri, V. ter Meulen. *Journal of Neural Transmission*, **2001**, 108, 767.
- [66] D. Kolinski, A. Brooks. *Assessing energy functions for flexible docking. Journal of Computational Chemistry*. **1998**, 19, 1612-22.
- [67] D. Armspach. *In: Bioorganic Chemistry : Carbohydrates. Hecht, S.M. (Ed.), Oxford University Press*, **1999**, 458-488.

Annexes

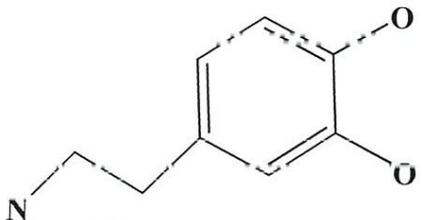
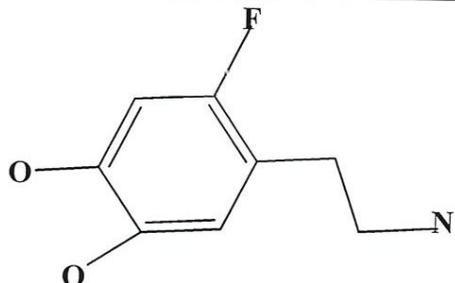
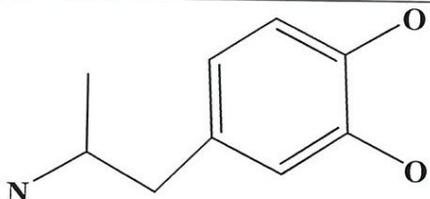
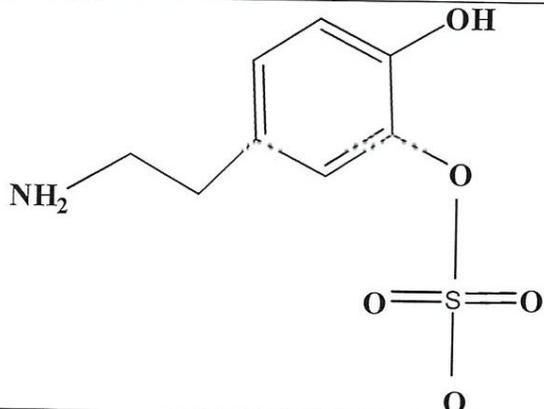
Annexe 1 : Tableau RMSD de 100 complexes

CODE PDB	RMSD
3LR2	0.70
2ZSC	0.94
3A37	2.29
3AQT	0.03
4A7A	0.60
4DGV	2.70
4JRU	0.62
4PY4	1.27
4QO3	0.01
4RQR	0.41
4UYU	0.63
1APB	0.62
1BAP	0.44
1XIM	0.70
3DNT	3.02
8ABP	0.59
4XP1	0.89
4DTZ	0.44
4Z6I	1.97
4A7U	0.53
2WYZ	1.38
2WZ6	0.31
4A7G	0.60
4A7Q	1.41
3PGL	2.68
4JSC	1.85
1AQ1	0.50
1HT5	1.64
2X7S	0.87
2X7U	0.81
3BKK	0.57
2X91	0.68
2X93	1.32
3BKL	0.53
1CX6	0.15
2BPY	3.29
3N8W	1.75
3N8X	1.08
3G0C	1.63
3QBJ	1.34
3RUX	2.78
3V7C	2.62
3V7R	3.75

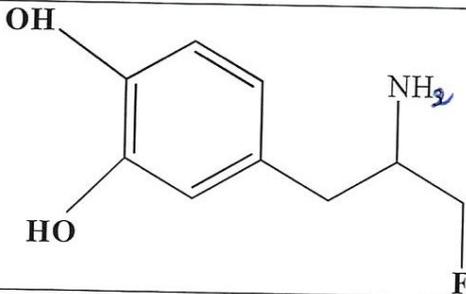
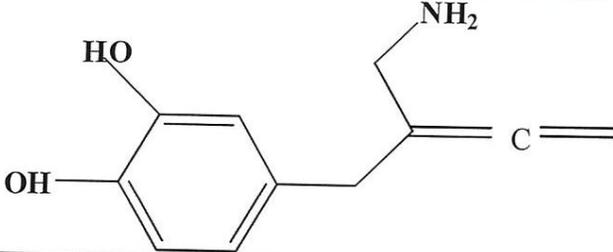
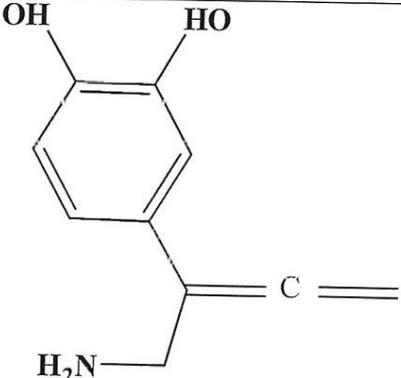
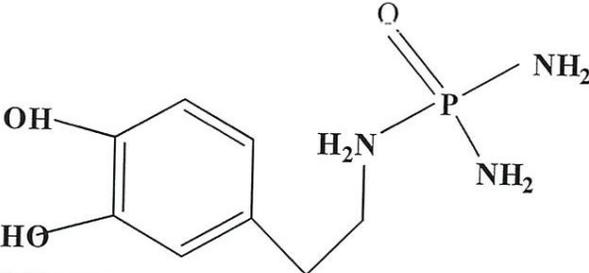
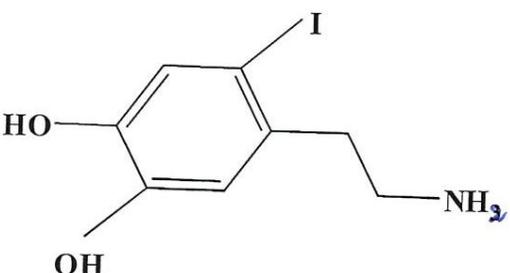
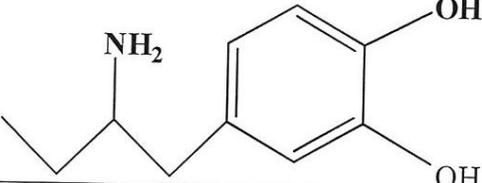
3V8K	0.82
3VH9	0.04
4EEQ	0.78
4G1F	0.63
4GL5	1.44
4GLW	0.34
3NK2	0.40
8A3H	1.05
1AQ1	0.50
1JNQ	1.43
1QIT	0.87
1T8I	0.41
1B6A	2.33
1B59	2.21
1R5G	1.16
1R5H	1.77
1R58	0.86
1YVM	0.48
1YW8	0.54
1YW9	1.45
2ADU	0.93
2BB7	0.71
2GG0	1.65
2GGB	3.20
2NQ6	0.97
2P98	0.68
2EVO	1.28
2RIP	1.21
3CHR	1.37
3C43	2.78
3D4L	1.39
3KWF	1.60
3F8S	1.00
3D27	1.63
2AI7	1.07
3FMR	2.08
1BS4	3.39
1BSK	3.11
1BSZ	2.88
1G2A	1.79
1G27	1.84
1IK1	1.56
1S17	1.01
2AIE	1.35
2EW5	2.23
2P9A	1.28
1C23	0.68

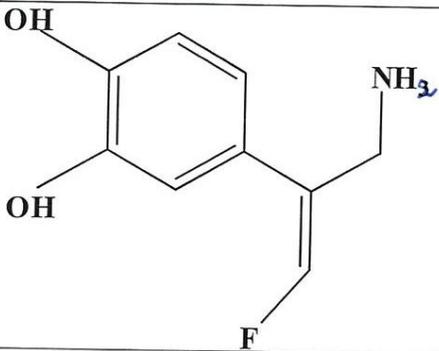
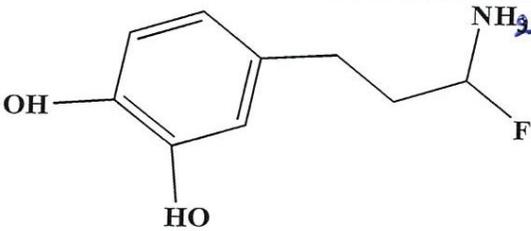
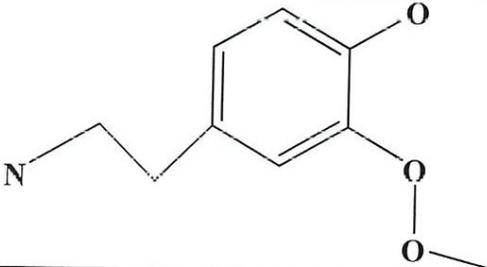
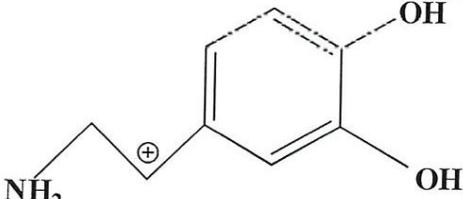
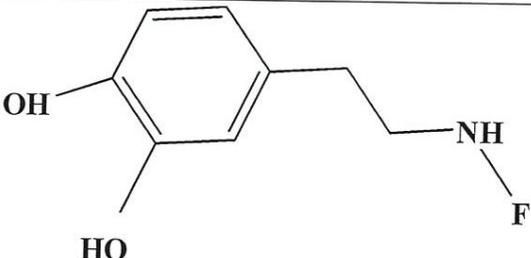
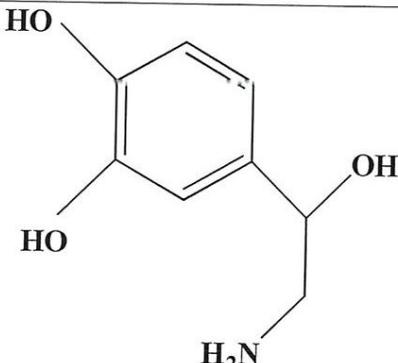
1CP6	0.91
1FT7	0.59
1KQ0	0.32
1LOK	0.73
1MT3	0.90
2B3H	0.57
3FMM	1.68
2UG6	1.21
2WIH	1.35
3GCU	0.58

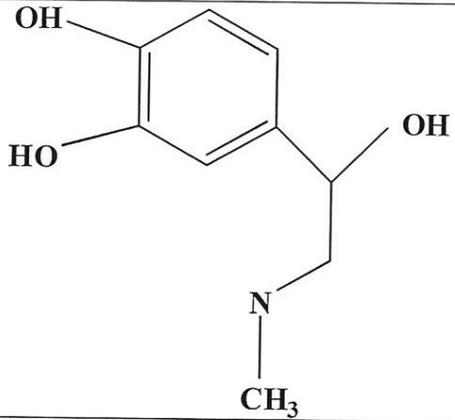
Annexe 2 : Structures des 23 molécules

CODE CID	Structure	Nom IUPAC	Masse moléculaire g/mol
681		4-(2-aminoethyl)benzene-1,2-diol	153.17844
122237		4-(2-aminoethyl)-5-fluorobenzene-1,2-diol	171.168903
17005		4-(2-aminopropyl)benzene-1,2-diol	167.20502
122136		[5-(2-aminoethyl)-2-hydroxyphenyl]hydrogen sulfate	233.24164

123932		[4-(2-aminoethyl)-2-hydroxyphenyl] hydrogen sulfate	233.24164
205951		4-(2-aminoethyl)-3-fluorobenzene-1,2-diol	171.168903
3031524		4-(1-aminopropan-2-yl)benzene-1,2-diol	167.20502
521660		4-(3-aminopropyl)benzene-1,2-diol	167.20502
11644631		4-(4-aminobutyl)benzene-1,2-diol	181.2316
12707042		3-(2-aminoethyl)benzene-1,2-diol	153.17844

13289477		4-(2-amino-3-fluoropropyl)benzene-1,2-diol	185.195483
19894364		4-[2-(aminomethyl)buta-2,3-dienyl]benzene-1,2-diol	191.22642
19894383		4-(1-aminobuta-2,3-dien-2-yl)benzene-1,2-diol	177.19984
20266880		4-[2-(diaminophosphorylamino)ethyl]benzene-1,2-diol	231.188822
12271393		4-(2-aminoethyl)-5-iodobenzene-1,2-diol	279.07497
20329954		4-(2-aminobutyl)benzene-1,2-diol	181.2316

22826806		4-[(E)-3-amino-1-fluoroprop-1-en-2-yl]benzene-1,2-diol	183.179603
18544339		4-(3-amino-3-fluoropropyl)benzene-1,2-diol	185.195483
21199084		4-(2-aminoethyl)-2-methylperoxyphenol	183.20442
3713609		2-(3,4-dihydroxyphenyl)ethyl lazanium	154.18638
17783959		4-[2-(fluoroamino)ethyl]benzene-1,2-diol	171.168903
439260		4-[(1R)-2-amino-1-hydroxyethyl]benzene-1,2-diol	169.17784

5816		4-[(1R)-1-hydroxy-2-(methylamino)ethyl]benzene-1,2-diol	183.20442
------	---	---	-----------

Annexe 3 : Les résultats du docking de la famille-dopamine@ β -cyclodextrine

	Total score	crash	Polar	D_score	PMF_score	G_score	Chemscore	Cscore
13289477_000	4.58	-1.46	3.05	-67.60	14.84	100.32	-20.91	3
11644631_002	4.51	-0.85	1.93	-72.28	-21.89	-123.18	-19.35	5
3713609_000	4.39	-1.33	3.23	-52.83	-19.90	-99.37	-21.38	3
20329954_000	4.21	-1.96	2.71	-74.83	-21.06	-148.71	-21.39	5
20266880_000	4.14	0.89	2.13	-65.57	-10.80	-131.92	-14.90	4
205951_001	4.05	-1.31	2.98	-67.93	-18.35	-124.96	-21.35	5
681_000	4.05	-0.89	2.11	-65.05	-17.82	-109.93	-17.71	5
439260_000	3.87	-1.04	2.75	-60.75	-19.59	-85.23	-16.58	4
123932_000	3.77	-0.57	2.80	-65.19	-25.94	-105.65	-19.40	4
19894364_005	3.74	-1.68	3.06	-71.20	-18.69	-129.94	-25.12	5
521660_000	3.72	-0.64	1.27	-66.55	-18.53	-116.36	-16.47	5
122136_000	3.61	-0.72	1.94	-66.23	-19.79	-116.34	-15.69	5
18544339_000	3.43	-1.02	2.91	-62.07	-22.35	-98.21	-20.80	5
12707042_000	3.28	-0.59	2.25	-59.90	-26.02	-88.81	-18.00	5
3031524_001	3.25	-1.14	1.83	-66.66	-20.08	-124.00	-18.74	5
17005_002	3.25	-0.95	2.13	-61.74	-20.52	-109.19	-18.42	5
21199084_002	3.18	-1.12	1.65	-53.15	-17.42	-96.74	-16.43	4

17783959_000	3.03	-0.95	1.99	-57.09	-11.11	-88.59	-15.66	5
22826806_003	3.03	-0.56	1.87	-66.12	-20.60	-74.59	-18.83	5
122237_002	2.97	-0.73	2.22	-60.09	-24.27	-89.40	-16.64	5
19894383_005	2.92	-1.40	2.26	-64.99	-21.22	-96.22	-20.73	5
5816_002	2.83	-1.21	2.43	-70.52	-17.96	-118.57	-19.24	5
12271393_002	2.32	-0.92	2.23	-60.77	-27.72	-97.23	-17.12	5

Annexe 4 : Les résultats de docking de la famille-dopamine dans la SOD1

Structure	Total_score
<u>20266880_000</u>	<u>6.20</u>
<u>5816_000</u>	<u>6.02</u>
20329954_000	5.76
205951_000	5.59
521660_000	5.54
123932_000	5.44
18544339_000	5.27
19894364_000	5.24
3713609_000	5.23
12271393_000	5.17
681_000	5.14
439260_000	5.09
11644631_000	5.00
122136_000	5.00
17005_000	4.69
12707042_000	4.55
17783959_000	4.47
122237_000	4.17
19894383_000	4.11
21199084_000	3.94
22826806_000	3.80
3031524_000	3.67
13289477_000	3.64