



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID - TLEMCCEN

MEMOIRE

Présenté à :

FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de :

MASTER EN CHIMIE

Spécialité : Chimie des produits naturels

Par :

Melle BENCHAIB Rawda

Sur le thème

**MODELISATION MOLECULAIRE DE QUELQUES INHIBITEURS
NATURELS DE PROTEINES KINASES**

Soutenu publiquement le 11 juillet 2021 à Tlemcen devant le jury composé de :

Mme BENYAROU Meriem	Professeur	Université de Tlemcen	Présidente
Mme ABDELLI Imane	M.C.A	ESSA-Tlemcen	Examinatrice
Mme SARI MAHAMMED Souad	M.C.B	Université de Tlemcen	Encadrante

Année Universitaire 2020/2021

Dédicace

A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail et avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, que je dédie mon travail

A ma très **chère mère**

A celle qui était et sera toujours mon idole

Quoi que je fasse ou je dise, je ne saurais point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide, ton amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles que j'ai rencontrés dans mon chemin je te présente par le biais de ce travail le témoignage de ma profonde reconnaissance et mon grand amour

A mon **adorable père**

A celui qui a été le meilleur guide durant le long chemin de ma vie, à celui qui m'a appris le travail et le bon comportement, j'espère te rendre fier par ce mémoire.

A mes chères frères **Mohamed, Malik et Hamza**

A ma charmante sœur **Sarah**

Je vous dédie ce travail en témoignage des liens solides et intimes qui nous unissent et pour votre soutien, encouragement en vous souhaitant un avenir plein de succès et de bonheur

Ma tante **Habiba, Saliha** et mon oncle **Ali**.

A tous mes enseignants durant les années des études.

A mes amies que j'ai vécu avec elles des beaux moments **Marwa, Fatima Zahra, Ikram, Soumia, Asma, Amina, Meriem, Kaouter, et Sarah**.

Ainsi à toutes personnes qui m'ont encouragé ou aidé au long de mes études

A Mme **SARI MAHAMMED Souad** pour m'avoir encadrée. Merci

Remerciements

Avant tout, nous remercions ALLAH, tout puissant, de nous avoir donné la force, la volonté et la patience pour achever ce travail.

Le présent travail a été réalisé au sein de laboratoire **LASNABIO** (Laboratoire des substances naturelles et Bioactives) dans l'équipe de modélisation moléculaire de la faculté des sciences, Département de chimie, de l'université de Tlemcen, sous la direction de Monsieur le **professeur S.GHALEM**

Je tiens particulièrement à exprimer ma gratitude envers **Mme Dr SARI MAHAMMED Souad** pour m'avoir encadrée. Merci énormément pour la patience illimitée et considérable envers ma personne et pour son suivi rigoureux et ses précieux conseils et m'avoir fait bénéficier de ses connaissances et sa grande expérience dans le domaine de la chimie théorique.

Je voudrais exprimer ma profonde reconnaissance à **Mme le professeur BENYAROU Meriem** à l'université de Tlemcen faculté des sciences, qui a bien voulu présidé ce jury.

J'adresse mes vifs et sincères remerciements à **Mme Dr ABDELLI Imene** à l'université de Tlemcen faculté des sciences, pour l'honneur qu'elles nous ont fait en acceptant d'examiner notre travail.

Je tiens de remercier Monsieur le **professeur GHALEM Said**.

Merci à mes camarades du Master II « Chimie des substances naturelles » 2020/2021. Merci à Melle BESSAID Fatima Zahra.

Enfin, j'adresse mes remerciements à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la concrétisation de ce mémoire.

TABLE DES MATIERES

<i>INTRODUCTION GENERALE</i>	1
Références	3
CHAPITRE 1: PROTEINES KINASES	
I. Introduction.....	6
II. Protéines kinases	6
III. Protéines kinases et signalisation cellulaire	6
III.1. Structure des protéines kinases	8
III.2. Conformations des Protéines Kinases.....	8
III.3. Classification des protéines kinases	8
IV. Approche thérapeutique du cancer et les kinases	8
V. Protéine kinase CK2.....	9
V.1. Structure de la CK2	9
V.2. CK2 à l'échelle atomique	10
V.3. Isoformes de la protéine Kinase CK2.....	10
V.3.1. CK2 α	10
V.3.2. CK2 α'	10
V.3.3. CK2 β	11
Références	12
CHAPITRE 2: INHIBITEURS DES PROTEINES KINASES	
I. Introduction.....	16
II. Inhibiteurs naturels des protéines kinase.....	16
II.1. Acides phénoliques.....	16
II.2. Caroténoïdes	17
II.3. Flavonoïdes.....	18
II.4. Composés organosulfurés.....	21
III. Inhibiteurs naturels dans l'ail [<i>Allium sativum</i>]	21
III.1. Description botanique de la plante	21
III.2. Variétés d'ail.....	22
III.3. Utilisation de l'ail	22
III.4. Composition chimique de l'ail.....	23
III.5. Composés phénoliques dans l'ail	23
a) Quercétine	24
b) Apigénine.....	25
c) Myricétine	26
Références	28

CHAPITRE 3: METHODES ET LOGICIELS UTILISES

I. Introduction.....	33
II. Mécanique moléculaire	33
II.1. Champs de forces.....	34
II.2. Différents champs de forces en mécanique moléculaire	34
III. Docking moléculaire	35
III.1. Principe théorique	35
III.2. Protocole générale de Docking	36
IV. Logiciels utilisés.....	37
IV.1. Molecular Operating Environment MOE (version 2014).....	37
IV.2. Chemdraw Ultra 8.0.....	37
Références	38

CHAPITRE 4: RESULTATS ET DISCUSSIONS

I. Introduction.....	41
II. Préparation des protéines	42
III. Préparation des ligands.....	43
IV. Règle de Lipinski	46
V. Docking moléculaire	47
VI. Résultats et discussion.....	47
VI.1. Protéine CK2 α (1PJK)	47
VI.2. Protéine CK2 α' (3OFM).....	48
Référence.....	57
<i>CONCLUSION GENERALE</i>	59
Références	62

Liste des Figures

Figure 1: Le processus de phosphorylation des protéines kinases.	7
Figure 2: structure tridimensionnelle de la CK2	9
Figure 3: Structure chimique de l'acide benzoïque.....	17
Figure 4: Structure chimique de l'acide cinnamique.....	17
Figure 5: Structure chimique du lycopène et du β -carotène.....	18
Figure 6: Squelette de base des flavonoïdes.....	19
Figure 7: Structure chimique thiosulfinate.....	21
Figure 8: l'ail (<i>Allium Sativum</i>).....	22
Figure 9: Quercétine.....	24
Figure 10: Structure chimique de la quercétine	25
Figure 11: Apigénine.....	25
Figure 12: Structure chimique de l'apigénine.....	26
Figure 13: la myricétine	26
Figure 14: Structure chimique de La myricétine.....	27
Figure 15: la mécanique moléculaire	34
Figure 16: Principe de base de la conception de la notion clé-serrure [12]	35
Figure 17: Protocole général de docking [13].....	36
Figure 18: L'interface graphique du logiciel ChemDraw.....	37
Figure 19: protéine kinase CK2 α simplifiée	43
Figure 20: protéine kinase CK2 α Non simplifiée	43
Figure 21: protéine kinase CK2 α' simplifiée	43
Figure 22: protéine kinase CK2 α' Non simplifiée	43
Figure 23: Interactions hydrogènes du complexe_1PJK-A3.....	54
Figure 24: Interactions hydrogènes du complexe_1PJK-A4.....	54
Figure 25: Interactions hydrogènes du complexe_1PJK-Q1.....	54
Figure 26: Interactions hydrogènes du complexe_3OFM-A4.....	55
Figure 27: Interactions hydrogènes du complexe_3OFM-Q3.....	55

Liste des Tables

Tableau 1: Principales classes et structure des flavonoïdes	20
Tableau 2: Données cristallographique pour la protéine 1PJK.....	42
Tableau 3: Données cristallographique pour la protéine 3OFM.....	42
Tableau 4: propriétés de l'apigenin et ses dérivés	44
Tableau 5: propriétés de la quercétine et ses dérivés	45
Tableau 6: propriétés de la myricétine et ses dérivés.....	46
Tableau 7: Complexes de la protéine 1PJK avec l'apigenin et ses similaires	47
Tableau 8: Complexes de la protéine 1PJK avec quercétine et ses similaires	48
Tableau 9: Complexes de la protéine 1PJK avec myricitine et ses similaires	48
Tableau 10: Complexes de la protéine 3OFM avec l'apiginie et ses similaires	49
Tableau 11: Complexes de la protéine 3OFM avec quericitine et ses similaires.....	49
Tableau 12: Complexes de la protéine 3OFM avec myricitine et ses similaires	49
Tableau 13: valeurs des IC50 des flavonoïdes naturels	50
Tableau 14: Résultats des interactions et les distances formés entre PCK et les inhibiteurs ..	51
Tableau 15 : Complexes protéines 1PJK et 3OFM avec CX-4945.....	56

Liste des abréviations

PK : protéine kinase

Ck2 : caséine kinase 2

ATP : adénosine triphosphate

MOE : Molecular Operating environment

INTRODUCTION GENERALE



Introduction Générale

Dans l'esprit de la plupart des gens, il n'y a pas de diagnostic plus effrayant que celui de cancer. Le cancer est souvent considéré comme une maladie incurable, insupportablement douloureuse. Aussi populaire que puisse être cette vision du cancer, elle est exagérée et trop généralisée. Le cancer est sans aucun doute une maladie grave et potentiellement mortelle. Cependant, il est faux de penser que toutes les formes de cancer sont incurables et mortelles. La vérité est qu'il existe plusieurs types de cancer, dont beaucoup peuvent aujourd'hui être traités efficacement de manière à éliminer, réduire ou ralentir l'impact de la maladie sur la vie des patients. Alors qu'un diagnostic de cancer peut encore laisser les patients se sentir impuissants et incontrôlables, dans de nombreux cas aujourd'hui, il y a lieu d'espérer plutôt que de désespoir [1].

Au cours de la dernière décennie, d'importants progrès thérapeutiques ont été réalisés. La chimiothérapie conventionnelle agit sans différenciation sur les cellules à division rapide des tissus normaux et sur les cellules tumorales. Cette absence de spécificité est à l'origine de nombreux effets indésirables ; contrairement aux thérapies ciblées, où une plus grande spécificité d'action est observée envers les cellules tumorales et permet d'obtenir des index thérapeutiques plus larges et par conséquent, une moindre toxicité [2]. Ces dernières sont actuellement en plein essor en cancérologie et leurs indications s'étendent rapidement [3]. Ces médicaments anticancéreux ciblent des anomalies moléculaires spécifiquement présentes au niveau des cellules tumorales, notamment des kinases présentes au sein des voies de signalisation impliquées dans l'oncogenèse [4].

Les enzymes sont les catalyseurs du monde biologique. Présentes dans les cellules de tous les organismes vivants où elles jouent un rôle essentiel en contrôlant les procédés métaboliques permettant aux nutriments d'être transformés en énergie et en matériaux cellulaires [5-7].

La modélisation moléculaire est une nouvelle technique de compréhension des phénomènes chimiques comme les mouvements dynamiques des molécules et la prédiction qualitative des propriétés des molécules. Elle regroupe aussi les techniques de visualisation, de manipulation, d'analyse et de calcul de la structure spatiale [8,9]. Elle permet de prédire l'interaction entre le ligand et sa cible. Pour cela, des outils spécifiques ont été développés tel que le docking moléculaire ayant pour but d'obtenir un ensemble de conformations du ligand de plus basse énergie issu de son interaction avec la cible [10].

Introduction Générale

Lors de la conception des médicaments, il est essentiel de trouver quelles molécules peuvent interagir avec d'autres plus grandes molécules. Dans ce contexte, le problème de docking consiste à trouver comment une petite molécule (le ligand) peut être mise en contact dans un endroit particulier d'une autre plus grande molécule (la protéine). Des bases de données de ligand sont analysées afin de trouver ceux qui peuvent être accouplés avec la molécule d'intérêt (protéine) afin d'activer, désactiver ou modifier sa fonction [11].

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'inhibition de la protéine kinase II ; une protéine impliquée dans différents type de cancer tel que le cancer du sein du côlon et de l'intestin par des flavonoïdes naturels présents dans l'ail (*allium sativum*) et leurs dérivés issus à partir de la banque de donnée PubChem.

L'ail a une composition chimique particulièrement diversifiée, lui permettant ainsi d'avoir de nombreux effets thérapeutiques. Plusieurs études ont montré que les personnes qui consomment régulièrement des légumes de la famille de l'ail ont un risque moindre de développer plusieurs types de cancer, en particulier ceux du système digestif, comme les cancers de l'estomac et du côlon [12].

Les méthodes retenues pour mener à bien cette étude sont la mécanique moléculaire et le docking moléculaire [13-15]. Les calculs ont été effectués par le logiciel MOE(2014). L'interprétation des résultats est basée sur l'énergie de score des complexes protéines kinase-flavonoïdes et les interactions hydrogènes. Le complexe de plus basse énergie présentera probablement une meilleure inhibition de la protéine.

Références

- [1] What is cancer? National cancer institut, [https:// www.cancer. gov/ about- cancer/ understanding/ what-is-cancer?](https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer?) (2021).
- [2] Merlin .J.L, Tyrosine kinase inhibitors in oncology: La Lettre du Pharmacologue. 22(8). 51-62. (2008).
- [3] Cunningham D, Humblet Y, Siena S, Khayat D, Bleiberg H, Santoro A, et al. Cetuximabmonotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecanrefractory metastatic colorectal cancer. N Eng; 351: 337-45, (2004).
- [4] PALUDETTO M .N. Inhibiteurs de Tyrosine Kinases : relations structure-activité, voies métaboliques et implications pharmacologiques des métabolites. Thèse du Doctorat en sciences pharmaceutiques université : Toulouse III Paul sabatier. 86p. (2015).
- [5] H.U. Bergmeyer, K. Gawekn, et al. Principe de l’analyse enzymatique. Tech. Et Doc. Lavoisier. Parie. P : 17, (1979).
- [6] J. Pelmont, Enzymes: catalyseurs du monde vivant. Presse Universitaire de Grenoble. P : 7; 621; 652–654. (1995).
- [7] M. Drouin, Etude de production de protéases alcalines par Bacillus licheniformis en utilisant des boues d’épuration municipales comme substrat. Mémoire de Maître en sciences (M.Sc.). Canada, (2005).
- [8] Leach AR, Molecular Modeling: Principals and Applications, Edimbourg: Addison Wesley Longman Ltd, 1-24. (1996).
- [9] Graham LP, Chimie pharmaceutique, de boeck, 319-334. (2003).
- [10] Mahdjoub ,Y. Développement d’une application distribuée en utilisant la plateforme Jini«Application docking moléculaire». Mémoire Université Mohamed Boudiaf Oran. (2010).
- [11] Amandine SC, Ciblage thérapeutique du Complexe Récepteur de l’Elastine dans le cadre de l’invasion tumorale du mélanome : Aspects mécanistiques et impact de l’âge. Université de reims champagne –ardenne, (2015).
- [12] S. Boultif, L’ail, cette plante auxmultiples vertus, planète santé, (2014).

Introduction Générale

[13] I. Abdelli , S. Sari. & S. Ghalem, Molecular Modelling of Green Tea Catechins Inhibitors of Human Brain BACE1, IBScientific Journal of Science, 3, 27-29, (2008).

[14] S. SARI, W. MEDJAHED, J. KAJIMA MULENGI and S. GHALEM, Approach of the Interaction Enzyme-Substrate by Molecular Modelling, Asian Journal of Chemistry, 19, 2117-2124, (2007).

[15] I. ABDELLI, S. SARI, C. ZIANI-CHERIF and S. GHALEM, Theoretical Study of the Inhibition of β -Secretase. Asian Journal of Chemistry. 19, 5407-5416, (2007).

CHAPITRE 1 PROTEINES KINASES

I. Introduction

Le corps est composé de plusieurs millions de minuscules cellules, chacune étant une unité vivante autonome. Normalement, chaque cellule se coordonne avec les autres qui composent les tissus et les organes du corps. Une façon dont cette coordination se produit se reflète dans la façon dont les cellules se reproduisent. Les cellules normales du corps se développent et se divisent pendant un certain temps, puis cessent de croître et de se diviser. Par la suite, ils ne se reproduisent qu'au besoin pour remplacer les cellules défectueuses ou mourantes. Le cancer survient lorsque ce processus de reproduction cellulaire devient incontrôlable. En d'autres termes, le cancer est une maladie caractérisée par une division cellulaire incontrôlée, non coordonnée et indésirable. Contrairement aux cellules normales, les cellules cancéreuses continuent de croître et de se diviser pendant toute leur vie, se répliquant en cellules de plus en plus nocives [1].

II. Protéines kinases

Les protéines kinases sont les molécules les plus complexes et les plus variées des êtres vivants. Elles représentent l'une des plus grandes familles de protéines. Leurs structures aussi bien que leurs fonctions sont incroyablement complexes et variées [2].

Le génome humain contient quelques 550 kinases ainsi que 130 phosphatases qui régulent l'activité de plusieurs protéines impliquées dans la prolifération et la survie cellulaire [3].

Les kinases constituent une classe d'enzymes clés responsables de la régulation de nombreux phénomènes biologiques, en particulier les mécanismes de transduction du signal.

III. Protéines kinases et signalisation cellulaire

Vers la fin des années 1970, il est devenu évident que les protéines ne sont pas simplement traduites au niveau du ribosome puis transformées par la glycosylation, mais ils peuvent être modifiées de manière réversible en réponse à de nombreux stimuli extracellulaires et intracellulaires [4]. Le premier mécanisme découvert est la phosphorylation, par laquelle des groupes phosphate sont ajoutés aux chaînes latérales appropriées avec des groupes hydroxyle sur la sérine et la thréonine.

La phosphorylation des protéines régule plusieurs fonctions cellulaires: La croissance cellulaire, la différenciation, le développement, les fonctions et la mort. Toute perturbation ou dérégulation de cette phosphorylation modifiera la fonction cellulaire et peut générer diverses maladies [5].

PROTEINES KINASES

La présence de signaux induit l'activation des protéines kinases, activant ainsi leurs cibles par leur phosphorylation (**Figure1**).

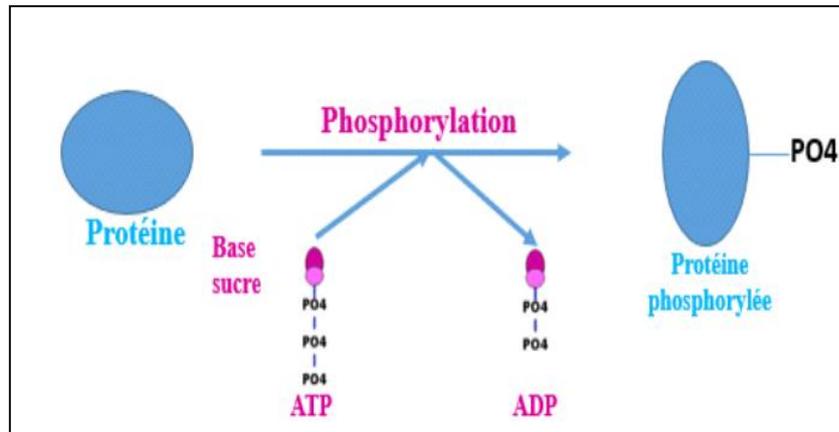


Figure 1: Le processus de phosphorylation des protéines kinases.

Les protéines kinases sont des enzymes qui catalysent le transfert d'un groupe phosphate de l'adénosine triphosphate (ATP) sur l'hydroxyle (groupe $-OH$) des chaînes latérales des acides aminés ayant une fonction alcool : sérine, thréonine et tyrosine [6].

La plus grande partie des processus cellulaires nécessite un ensemble d'évènements de phosphorylation, catalysés par des enzymes connues sous le nom de kinases. Ils transfèrent des groupes phosphoryle sur des protéines cibles [7], en modifiant leur activité. Ce processus est inversé par l'action des phosphatases, qui éliminent les groupements phosphoryle des protéines cibles [7]. La régulation est un élément indispensable de la fonction de la protéine kinase, elle contrôle le moment d'activité catalytique et la spécificité du substrat.

L'inhibition des protéines kinases est devenue l'un des premiers choix pour le développement de stratégies ciblées pour les maladies tumorales.

Les protéines kinases sont des cibles importantes pour les cibles anti tumorales en raison de leurs rôles clés dans la régulation de plusieurs voies de signalisation cellulaire. De nombreux composés contenant un échafaudage de flavonoïdes comme ancrage indispensable se sont avérés être de puissants inhibiteurs des protéines kinases. Certains de ces flavonoïdes ont fait l'objet de recherches cliniques en tant qu'inhibiteurs des protéines kinases pour le traitement du cancer [8].

Les phases du cycle cellulaire sont menées par un grand nombre de protéines spécifiques tel que les protéines kinases (PK), Qui après avoir rempli leurs fonctions, subissent une destruction ou une inactivation rapide et permettent à la cellule d'exécuter

correctement ses fonctions et de poursuivre le cycle [7]. Les Protéines Kinases sont considérées comme une cible thérapeutique prometteuse dans les maladies malignes, les infections virales et d'autres troubles [9].

III.1. Structure des protéines kinases

Trois méthodes expérimentales sont utilisées pour déterminer la structure des protéines: La microscopie électronique, la résonance magnétique nucléaire (RMN) et la cristallographie par rayons X [10,11]. Ces structures sont regroupées dans une base de données accessible gratuitement dite «Protein Data Bank» (PDB) (<http://www.rcsb.org/>).

III.2. Conformations des Protéines Kinases

Les protéines kinases peuvent exister sous deux conformations distinctes : La conformation active et inactive, appelé aussi conformation fermée et ouverte. Cette conformation est déterminée par la position de la boucle d'activation. Dans la conformation ouverte, la boucle d'activation s'éloigne du centre de la molécule, permettant donc la liaison de substrat productive. Alors que dans la conformation fermée, la boucle d'activation bloque la boucle de la kinase, entraînant un état inactif [12].

III.3. Classification des protéines kinases

Il existe différentes classifications de Protéines Kinases, Les deux principales classifications sont basées sur la spécificité du substrat et sur les séquences d'acides aminés des domaines catalytiques :

- Kinases classées par les acides aminés qu'elles phosphorylent: Ces kinases sont caractérisées par un noyau catalytique avec une poche de liaison d'ATP N-terminale riche en glycine et un résidu d'acide aspartique au centre indispensable pour son activité catalytique [13]. Parmi ces kinases on trouve les tyrosines kinases (TK), et les sérine-thréonine kinases.
- Kinases classées selon les séquences des domaines catalytiques: Elle repose sur des comparaisons de séquences des domaines catalytiques.

IV. Approche thérapeutique du cancer et les kinases

Etant donné que la chimiothérapie est un élément important dans le traitement des patients cancéreux, Toutefois, son succès est limité en raison du manque de sélectivité des cellules tumorales par rapport aux cellules normales. Il en résulte ainsi des concentrations de médicaments insuffisantes au sein de la tumeur, et par conséquent une toxicité systémique

(effets indésirables) d'un côté et l'apparition de cellules tumorales résistantes aux médicaments d'un autre côté [14].

V. Protéine kinase CK2

La protéine kinase CK2 (caséine kinase II) est une sérine / thréonine kinase hautement conservée considérée comme constitutivement active et exprimée de manière ubiquitaire. La CK2 est connue par son rôle essentiel dans les processus cellulaires, par exemple la prolifération cellulaire, la croissance cellulaire et la survie cellulaire, la morphologie cellulaire et favorise l'angiogenèse [15-23]. Dans de nombreux rapports, l'implication de la CK2 dans plusieurs pathologies est décrite, comme les maladies neurodégénératives (maladie de Parkinson et d'Alzheimer), l'inflammation, les infections virales et parasitaires et le cancer [24].

V.1. Structure de la CK2

La CK2 peut fonctionner comme des kinases monomères, mais aussi comme des complexes tétramères. Chez l'homme, les formes monomères sont désignées par CK2 α et CK2 α' , étant les sous-unités catalytiques de CK2 et d'un dimère de sous-unités de régulation (β) [25]. Les sous-unités catalytiques sont actives même en l'absence de sous-unités régulatrices dont la fonction principale est de stabiliser l'holoenzyme et de réguler la sélectivité du substrat [26].

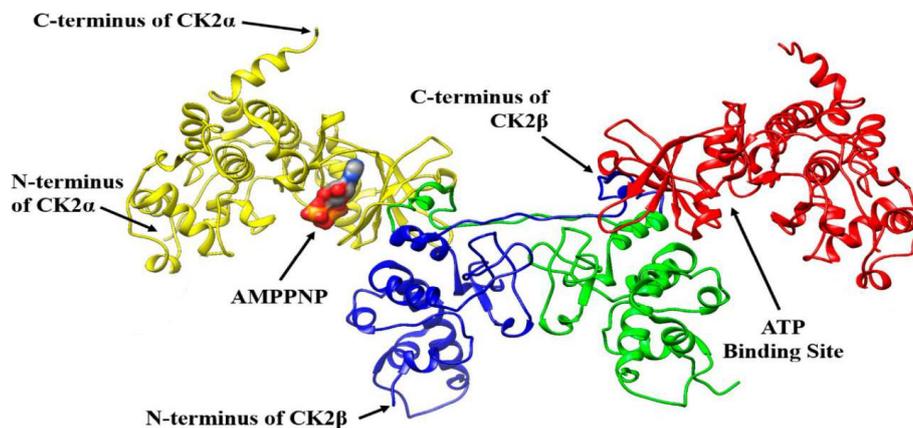


Figure 2: structure tridimensionnelle de la CK2

La CK2 améliore le phénotype du cancer en bloquant l'apoptose et en stimulant simultanément la croissance cellulaire [27]. Un certain nombre de cancers sont associés à l'hyperactivation et à la surexpression de CK2. Cependant, la CK2 est essentielle à la survie

cellulaire et l'inhibition de son activité entraînera la mort à la fois des tumeurs et des cellules normales [28,29].

V.2. CK2 à l'échelle atomique

Comparée aux autres protéines kinases, la CK2 possède plusieurs caractéristiques non conventionnelles sur le plan de son organisation moléculaire. La complexité de cette protéine kinase est déjà évidente au niveau de sa structure quaternaire. Purifiée à partir de différentes sources, l'enzyme se présente sous la forme d'un complexe moléculaire tétramérique (holoenzyme) composé de deux sous-unités catalytiques (CK2 α) et de deux sous-unités régulatrices (CK2 β) [30].

Comme toutes les protéines kinases, la sous-unité catalytique présente une structure bilobée composée d'un domaine amino-terminal riche en feuillets β et d'un domaine carboxy-terminal riche en hélices α . Les deux lobes délimitent le site catalytique qui, dans le cas de la CK2, est largement accessible en raison d'une forte interaction entre l'extrémité amino-terminale de la kinase et sa boucle d'activation, segment de la protéine contrôlant l'accès des substrats à la poche catalytique [31]. Contrairement à la plupart des protéines kinases, la sous-unité catalytique de CK2 est constitutivement active, qu'elle soit ou non associée à la sous-unité β .

V.3. Isoformes de la protéine Kinase CK2

La protéine CK2, possède les isoformes suivants :

V.3.1. CK2 α

La CK2 α , est une protéine monomérique (42 KD), présentant une séquence primaire extrêmement conservée au cours de l'évolution. Elle possède une activité constitutive liée au caractère rigide de son segment d'activation qui est maintenu en permanence en position ouverte par de nombreuses interactions électrostatiques et des liaisons hydrogènes avec le lobe N-terminal [32,33].

V.3.2. CK2 α'

La sous-unité CK2 α' de la protéine kinase II, est une isoforme particulière, présente chez tous les eucaryotes, possède une séquence plus courte (37 KD) et un domaine C-terminal différent de celui de la CK2 α [32,33].

V.3.3. CK2 β

La sous-unité CK2 β de la protéine kinase II, qui joue un rôle important en morphologie neural et la transmission synaptique [33-35].

Références

- [1] What is cancer ? National cancer institut, [https:// www.cancer. gov/ about- cancer/ understanding/ what-is-cancer?](https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer?) (2021).
- [2] Elhadjsaid,K . Contribution à l'étude de l'inhibition d'enzyme par des Tripodes pyrazoliques par modélisation moléculaire. Mémoire université AbouBekr Belkaid Tlemcen. (2016).
- [3] Inhibiteurs de Protéines Kinases <https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/inhibiteurs-de-proteines-kinases>. (accessed May 10, 2021).
- [4] Hanks SK, Quinn AM, Hunter T. The protein kinase family: conserved features and deduced phylogeny of the catalytic domains. *Science* 241(4861):42-52. (1988).
- [5] Cohen P. Protein kinases--the major drug targets of the twenty-first century? *Nature reviews Drug discovery* 1(4):309-15. (2002).
- [6] Protéine kinase. *Wikipédia*. (2021).
- [7] Blagden S, Bono Jd. Drugging Cell Cycle Kinases in Cancer Therapy. *Current Drug Targets* 6(3):325-35. (2005).
- [8] Zhao, L.; Yuan, X.; Wang, J.; Feng, Y.; Ji, F.; Li, Z.; Bian, J. A Review on Flavones Targeting Serine/Threonine Protein Kinases for Potential Anticancer Drugs. *Bioorg. Med. Chem.* 27 (5), 677–685. (2019).
- [9] Manning G, Whyte DB, Martinez R, Hunter T, Sudarsanam S. The protein kinase complement of the human genome. *Science* 298(5600):1912-34. (2002).
- [10] Tamaoki T, Nomoto H, Takahashi I, Kato Y, Morimoto M, Tomita F. Staurosporine, a potent inhibitor of phospholipid/Ca⁺⁺dependent protein kinase. *Biochemical and biophysical research communications* 135(2):397-402. (1986).
- [11] Shukla S, Chufan EE, Singh S, Skoumbourdis AP, Kapoor K, Boxer MB, et al. Elucidation of the structural basis of interaction of the BCR-ABL kinase inhibitor, nilotinib (Tasigna) with the human ABC drug transporter P-glycoprotein. *Leukemia* 28(4):961-4. (2014).
- [12] Deininger MWN, McGreevey L, Willis S, Bainbridge TM, Druker BJ, Heinrich MC. Detection of ABL kinase domain mutations with denaturing high-performance liquid chromatography. *Leukemia* 18(4):864-71. (2004).

PROTEINES KINASES

- [13] Knighton DR, Zheng JH, Ten Eyck LF, Ashford VA, Xuong NH, Taylor SS, et al. Crystal structure of the catalytic subunit of cyclic adenosine monophosphate-dependent protein kinase. *Science* 253(5018):407-14. (1991).
- [14] Xu G, McLeod HL. Strategies for enzyme/prodrug cancer therapy. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 7(11):3314-24. (2001).
- [15] Pinna LA, Meggio F. Protein kinase CK2 (“casein kinase-2”) and its implication in cell division and proliferation. *Prog Cell Cycle Res* 3:77–97. (1997).
- [16] Ahmed K, Davis AT, Wang H, Faust RA, Yu S, Tawfic S. Significance of protein kinase CK2 nuclear signaling in neoplasia. *J Cell Biochem* 79:130–135. (2000).
- [17] Litchfield DW. Protein kinase CK2: structure, regulation and role in cellular decisions of life and death. *Biochem J* 369:1–15. (2003).
- [18] Ahmad KA, Wang G, Unger G, Slaton J, Ahmed K. Protein kinase CK2—a key suppressor of apoptosis. *Adv Enzyme Regul* 48:179–187. (2008).
- [19] Ahmed K, Gerber D, Cochet C. Joining the cell survival squad: an emerging role for protein kinase CK2. *Trends Cell Biol* 12:226–230. (2002).
- [20] Canton DA, Litchfield DW. The shape of things to come: an emerging role for protein kinase CK2 in the regulation of cell morphology and the cytoskeleton. *Cell Signal* 18:267–275. (2006).
- [21] Filhol O, Deshiere A, Cochet C. In: Pinna LA (ed) *Protein kinase CK2*, Wiley, Oxford, pp 363–381. (2013).
- [22] Kramerov AA, Saghizadeh M, Caballero S, Shaw LC, Li Calzi S, Bretner M, Montenarh M, Pinna LA, Grant MB, Ljubimov AV. Inhibition of protein kinase CK2 suppresses angiogenesis and hematopoietic stem cell recruitment to retinal neovascularization sites. *Mol Cell Biochem* 316:177–186. (2008).
- [23] Montenarh M. Protein kinase CK2 and angiogenesis. *Adv Clin Exp Med* 23:153–158. (2014).
- [24] Guerra B, Issinger OG. Protein kinase CK2 in human diseases. *Curr Med Chem* 15:1870–1886. (2008).
- [25] Bibby AC, Litchfield DW. The multiple personalities of the regulatory subunit of protein kinase CK2: CK2 dependent and CK2 independent roles reveal a secret identity for CK2 β . *Int J Biol Sci* 1:67–79. (2005).
- [26] Bibby AC, Litchfield DW. *Int. J. Biol. Sci.* 1:67–79. (2005).

PROTEINES KINASES

- [27] Laramas M, Pasquier D, Filhol O, Ringeisen F, Descotes JL, Cochet C. *Eur J Cancer*;43:928–934. (2007).
- [28] Glover CVC. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol*. 59:95–133. (1998).
- [29] Birnbaum MJ, Glover CVC. *Biochem Biophys Res Commun*. 181:524–528. (1991).
- [30] Litchfield DW. Protein kinase CK2: structure, regulation and role in cellular decisions of life and death. *Biochem J*; 369: 1-15. (2003).
- [31] Niefind K, Guerra B, Pinna LA, Issinger OG, Schomburg D. Crystal structure of the catalytic subunit of protein kinase CK2 from *Zea mays* at 2.1 Å resolution. *EMBO J* 17: 2451-62. (1998).
- [32] Chantalat L., Leroy D., Filhol O., Nueda A., Benitez M J., Chambaz E M., Claude Cochet C., Dideberg O. Crystal structure of the human protein kinase CK2 regulatory subunit reveals its zinc finger-mediated dimerization. *The EMBO Journal*, 18 (11):2939-2940. (1999).
- [33] Canton D. A., Zhang C. et Litchfield D. W., Assembly of protein kinase CK2: investigation of complex formation between catalytic and regulatory subunits using a zinc-finger-deficient mutant of CK2beta. *Biochemical Journal*, 358(1): 87–94. (2001).
- [34] Raaf J, Brunstein E, Issinger O G., Niefind K. The CK2 α /CK2 β Interface of Human Protein Kinase CK2 Harbors a Binding Pocket for Small Molecules. *Chemistry Biology*, 15(2):111-7. (2008).
- [35] Mingzi C., et Jonathan C A. The β subunit of CKII negatively regulates *Xenopus* oocyte maturation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94(17): 9136–9140. (1997).

Chapitre 2
Inhibiteurs Naturels Des Protéines Kinases



I. Introduction

L'homme s'intéresse à la nature qui est pleine de ressources aux vertus bénéfiques et en particulier les plantes qui possèdent des propriétés médicinales. Ces dernières utilisent des remèdes à base de plantes et aussi des produits naturels qui occupent une place importante dans la découverte de nouveaux agents thérapeutiques [1,2]. Les dernières données de l'industrie pharmaceutique montrent que pour certaines maladies complexes, les produits naturels représentent encore une source extrêmement précieuse pour la production de nouvelles entités chimiques, car ils représentent une structure privilégiée sélectionnée à travers des millions d'années de mécanisme évolutifs [3-6].

II. Inhibiteurs naturels des protéines kinase

Les produits naturels présentent des vertus thérapeutiques contre différentes maladies y compris le cancer depuis des milliers d'années [7]. L'activité biologique des produits naturels repose essentiellement sur la présence de composés phytochimiques biologiquement actifs tels que: les acides phénoliques, les flavonoïdes, les caroténoïdes, les alcaloïdes et les composés organosulfurés [8].

II.1 Acides phénoliques

Le terme d'acide phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. En phytochimie, l'emploi de cette dénomination est réservé aux seuls dérivés des acides benzoïque et cinnamique.

- **Acides phénols dérivés de l'acide benzoïque**

Les acides phénols en C₆-C₁, dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très communs, aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou d'hétéroside. L'acide gallique et son dimère (l'acide hexahydroxydiphénique) sont les éléments constitutifs des tannins hydrolysables. D'autres aldéhydes correspondants à ces acides, comme la vanilline, est très utilisé dans le secteur pharmaceutique [9].

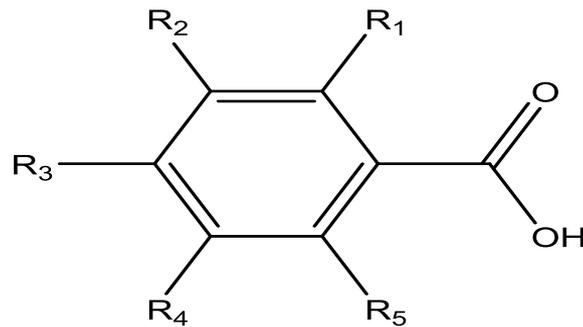


Figure 3: Structure chimique de l'acide benzoïque

- **Acide phénols dérivés de l'acide cinnamique**

La plupart des acides phénols en C₆-C₃ (acide *p*-coumarique, caféique, férulique, sinapique) ont une distribution très large ; les autres (acides *o*-coumarique, *o*-férulique) sont peu fréquents [9]. Les acides cinnamiques et caféique sont des représentants communs du groupe de dérivés phénylpropaniques qui diffère par leurs degrés d'hydroxylation et de méthylation [10].

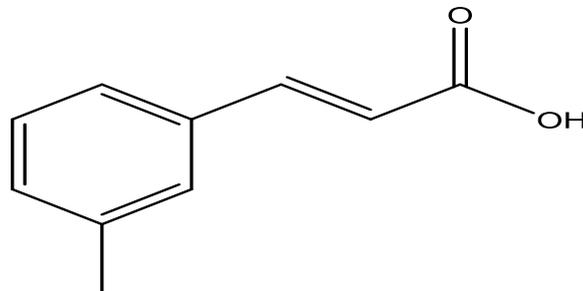


Figure 4: Structure chimique de l'acide cinnamique

II.2. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments colorés dont la couleur varie du jaune au rouge. Environ 700 caroténoïdes ont été isolés à partir de produits naturels [11], mais seulement une vingtaine est détectable dans les tissus ou le sérum humain. Ils sont naturellement synthétisés par des plantes, certains champignons, des algues et quelques bactéries [12-14]. Chez les plantes et les algues qui contiennent des caroténoïdes, ceux-ci se trouvent dans les chloroplastes et les chromoplastes. Ils ont deux rôles principaux: l'absorption de l'énergie lumineuse pour la

INHIBITEURS NATURELS DES PROTÉINES KINASES

photosynthèse et la protection de la chlorophylle contre les dommages causés par la lumière [15].

Parmi les caroténoïdes, le lycopène et le β -carotène, pigments de couleur rouge et orange, sont très abondants dans les plantes et les fruits. Ils sont également absorbés par le corps humain depuis l'alimentation et possèdent pour celui-ci des propriétés avantageuses.

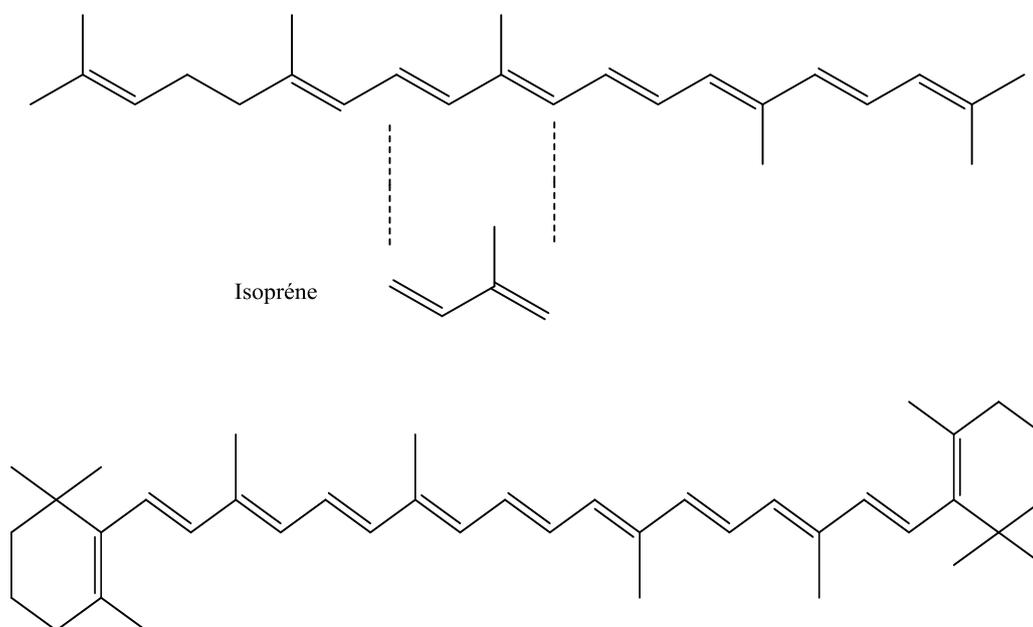


Figure 5: Structure chimique du lycopène et du β -carotène

II.3. Flavonoïdes

L'appellation «flavonoïdes» rassemble une très large gamme de composés polyphénoliques formés par un squelette de base à 15 atomes de carbones. Ces composés représentent le groupe de composés phénoliques le plus diversifié: plus de 4000 flavonoïdes ont déjà été identifiés [16,17].

Les flavonoïdes sont présents dans différentes parties des végétaux supérieurs selon le type de l'espèce : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollen, fruits, graines, bois...etc. Aussi, ils varient quantitativement et qualitativement selon le stade de développement du végétal [18].

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires, appartenant à la famille des polyphénols. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux [19]. A nos jours, plus de 10000 flavonoïdes naturels ont été décrits [20,21].

INHIBITEURS NATURELS DES PROTÉINES KINASES

La classe des flavonoïdes est depuis bien des années définies par la nature de son squelette de carbone qui comprend 15 atomes répartis selon la séquence C6-C3-C6 commune à tous les flavonoïdes et dans laquelle deux cycles benzéniques A et B sont reliés par un élément à 3 atomes de carbone . [22]

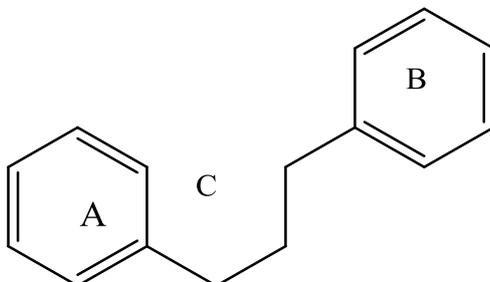
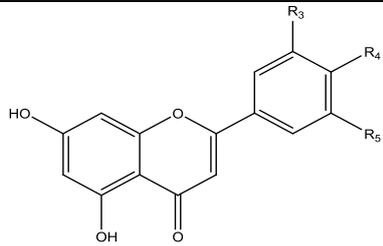
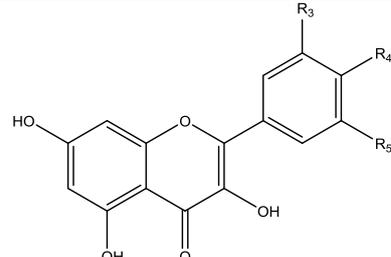
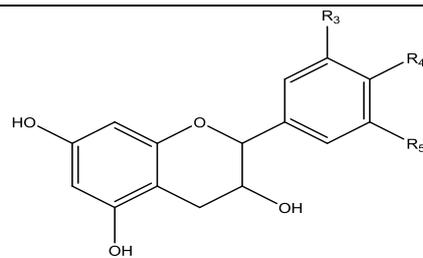
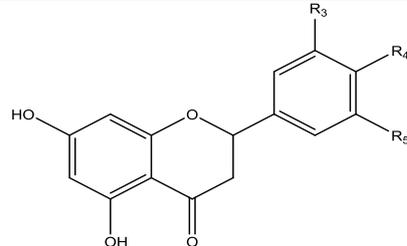
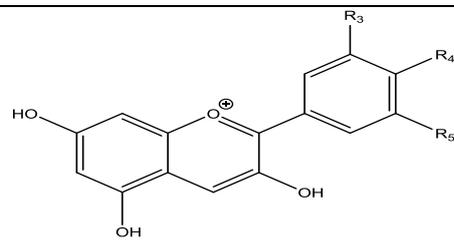
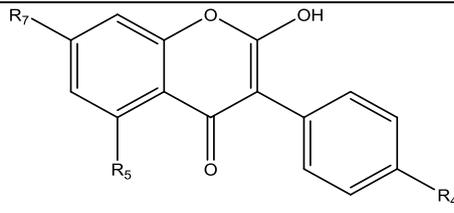


Figure 6: Squelette de base des flavonoïdes

Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes selon le degré d'oxydation et la nature des substituant portés sur le cycle C, quatorze groupes différents ont été identifiés [Tableau 1], dont six sont particulièrement les plus répandus et les mieux caractérisés: flavones, flavonols, isoflavones, flavanones, flavanols et anthocyanidines [23-25].

INHIBITEURS NATURELS DES PROTÉINES KINASES

Tableau 1: Principales classes et structure des flavonoïdes

Classes	Structures Chimiques	R3	R4	R5	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH ₃	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Narigénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Deiphénidine
Isoflavones		R5	R7	R4	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daidezine

II.4. Composés organosulfurés

Un composé organosulfuré est un composé organique qui comporte au moins un atome de soufre. Ils sont souvent associés à une mauvaise odeur mais beaucoup de composés les plus doux sont des dérivés organosulfurés. Ces composés sont très abondants dans la nature, deux des vingt acides aminés sont des composés organosulfurés. Les combustibles fossiles comme le pétrole, le charbon et le gaz naturel, produits par la fossilisation d'êtres vivants, contiennent ainsi toujours des composés organosulfurés et leur élimination est un des enjeux majeurs de leur raffinage[26].

Le soufre fait partie du groupe des chalcogènes avec l'oxygène et il est attendu que les composés organosulfurés aient des similarités avec les composés oxo correspondants, ce qui est vrai dans une certaine mesure. Formellement, dans tout composé comportant un ou plusieurs atomes d'oxygène, celui-ci peut être remplacé par du soufre pour donner un composé organosulfuré [26].

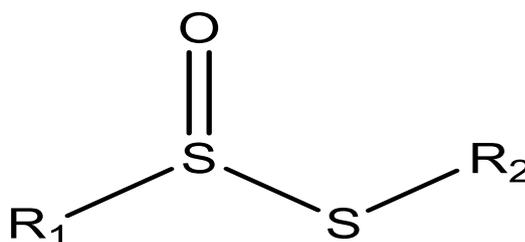


Figure 7: Structure chimique thiosulfinate

La flore algérienne est extrêmement riche et diversifiée, Cette richesse présente un intérêt scientifique pour la connaissance et le savoir dans le domaine de l'ethnobotanique, de la pharmacopée traditionnelle [27]. Elle est composée d'une grande variété d'espèces, environ 4000 espèces et sous-espèces de plantes [28].

III. Inhibiteurs naturels dans l'ail [*Allium sativum*]

III.1. Description botanique de la plante

L'ail, ou *Allium sativum* L, est une plante monocotylédone, vivace donnant des caïeux (gousses d'ail, bulbilles) appréciés dans le domaine culinaire pour leur goût et leur odeur caractéristiques.

La partie souterraine se compose d'un bulbe composé pourvu de nombreuses radicelles fibreuses. Le bulbe se prolonge à la surface en une tige entourée de feuilles engainantes,

INHIBITEURS NATURELS DES PROTÉINES KINASES

linéaires, planes et lisse, mesurant 1 à 2,5 cm de large et 30 à 60 cm de long. Les inflorescences sont ombelles. De petites bulbilles sont produites dans les inflorescences. Les fleurs sont variables en nombre et parfois absentes. Rarement ouvertes, elles peuvent se défraîchir dans le bourgeon. Les fleurs sont installées au bout de pédicelles minces et se composent d'un périanthe de 6 pièces d'environ 4-6 mm de long, rosâtre ou blanc, en cloche ; de 6 étamines ; et d'un ovaire supère triloculaire. Le fruit est une petite capsule à déhiscence loculicide [29-32].



Figure 8: l'ail (*Allium Sativum*).

III.2. Variétés d'ail

Il existe 2 grandes familles : l'ail d'automne et l'ail de printemps. Le premier est planté d'octobre à novembre, dans la zone du littoral et l'autre est mis en terre entre décembre et début janvier, dans les zones de l'intérieures. Dans les deux cas, la récolte a lieu en avril – mai [33].

III.3. Utilisation de l'ail

L'ail est utilisé en cuisine pour relever le goût des aliments et ses nombreuses propriétés thérapeutiques en font un complément alimentaire prisé. En effet, des qualités antimicrobiennes, antioxydantes, anti-inflammatoire, antitumorales lui ont été reconnues. En outre, il aurait le pouvoir d'inhibant la coagulation, de réduire l'hypercholestérolémie et le taux de lipides sanguins, ou encore de faciliter la digestion. L'ail prévient aussi le risque de thrombose et d'athérosclérose. Enfin, il diminue l'hyperglycémie et la tension sanguine [34].

Les premiers Egyptiens utilisaient l'ail pour traiter la diarrhée et son pouvoir médical a été décrit sur les murs de l'ancien temple et sur papyrus datant de 1500 avant J-C [35]. Il a été

utilisé par les médecins grecs Hippocrate et Galène pour traiter les maladies intestinales et extra-intestinales. Les anciens japonais et chinois l'utilisaient pour traiter les maux de tête, la grippe, maux de gorge et de la fièvre. En Afrique, en particulier au Nigeria, il est utilisé pour traiter des douleurs abdominales, diarrhée, otite infections des médias et des voies respiratoires [36]. L'ail est surnommée la pénicilline russe pour son utilisation généralisée comme un agent antimicrobien topique et systémique. Il est communément utilisé dans de nombreuses cultures comme une excitation et la réputation de pouvoir de guérison [37]. L'ail est indiqué aussi pour les personnes souffrant de diabète à cause de ses propriétés hypoglycémique [38].

III.4. Composition chimique de l'ail

L'ail contient en moyenne **65 %** d'eau, **28 %** des polysaccharides de stockage, principalement des fructanes, **7 %** de protéines dont essentiellement des enzymes (alliinase, peroxydases, etc.), **0,67 %** de lipides, **24,67 %** de glucides et **3 %** de fibres [39], **1,2%** d'acides aminés libres et **2,3 %** de nombreux composés organo-soufrés responsables de l'odeur et du goût caractéristiques de l'ail. Certaines vitamines (A, B1, B2 et C), de l'acidephytique, du β -pistostérol et du sélénium sont également présentes en quantités non-négligeables [39]. L'ail contient aussi des saponines, des sapogénines certains flavonoïdes (apigénine, quercétine et myricétine) [40].

III.5. Composés phénoliques dans l'ail

Dans l'ail, les polyphénols constituent un nombre important de métabolites secondaires, environ 10 000 composés ont été caractérisés jusqu'à aujourd'hui. La teneur en composés phénoliques dans l'ail varie fortement avec les facteurs génétiques, agronomiques et environnementaux [41]. Selon Park et al. dans l'ail, il existe une petite quantité des polyphénols [42], dont les majeurs composants sont des flavonoides : quercitine (47mg/kg) et myrcétine (693mg/kg) et un flavone : apigénine (217mg/kg). D'après Park et al. la teneur en polyphénols totaux est l'ordre de 562 mg /100 g dans l'ail mature [43].

a) Quercétine

La quercétine est l'un des flavonoïdes les plus actifs (flavonols), elle est retrouvée naturellement dans plusieurs fruits et légumes [44]. Ce polyphénol fut découvert en même temps que la vitamine C par Albert Szent-Györgyi en 1937. Il est souvent associée à cette dernière car elle aide à améliorer son absorption et en même temps, retarde son élimination. Elle est souvent proposée comme supplément alimentaire sous forme de comprimés ou de capsules [45].



Figure 9: Quercétine

1. Sources alimentaires:

On peut retrouver la quercétine dans plusieurs variétés d'aliments, à savoir:

- Les fruits : les pommes, les raisins rouges, les baies, les câpres, les cerises, Les agrumes, les tomates [46], certaines graines et des fruits oléagineux comme les noix.
- Les légumes: l'ail, le brocoli, le haricot vert, Les oignons plus particulièrement les oignons rouge [47].
- Les boissons : le thé vert, le vin rouge et même dans le miel [48].

2. Propriétés physico-chimiques :

La nomenclature donnée par l'Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée (UICPA) pour la quercétine est la 3, 3', 4', 5,7-pentahydroxy-2-phénylchromen- 4-one.

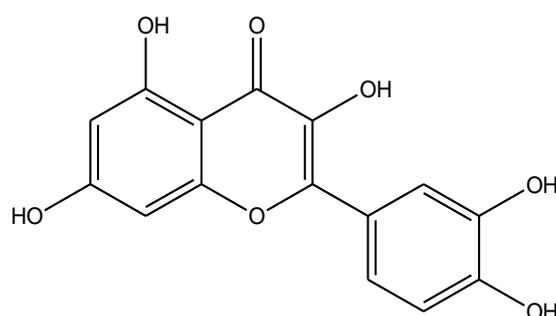


Figure 10: Structure chimique de la quercétine

La quercétine connue également sous le nom de quercétol ($C_{15}H_{10}O_7$) est un aglycone, de couleur jaune, avec un point de fusion de $316,5^{\circ}C$ [49]. Malgré la présence de 5 groupes hydroxyles (OH) elle est à caractère lipophile [50], c'est-à-dire elle est entièrement insoluble dans l'eau froide, peu soluble dans l'eau chaude, et très soluble dans l'alcool (éther, éthanol, méthanol...) et les lipides [49].

b) Apigénine

L'apigénine (ou apigénol) est un composé chimique de la famille des flavones, une sous-classe des flavonoïdes.



Figure 11: Apigénine

1. Sources alimentaires :

L'apigénine est un flavonoïde naturel présent dans les fruits et légumes comme le persil, l'oignon, le céleri, le thé ou le pamplemousse. L'une des sources les plus communes de consommation d'apigénine est la camomille. L'apigénine est reconnue comme un flavonoïde bioactif possédant des propriétés anti-inflammatoires, anti-oxydantes, antiangiogéniques, antiallergisantes, antigénotoxiques et anticancéreuses [51].

2. Propriétés physico-chimiques :

La nomenclature donnée par l'Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée (UICPA) pour l'apigénine 5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphényl)-4H-1-benzopyran-4-one

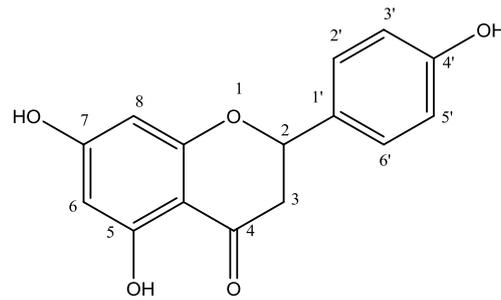


Figure 12: Structure chimique de l'apigénine

L'apigénine connue également sous le nom apigénol ($C_{15}H_{10}O_5$), avec un point de fusion de $347,5^{\circ}C$, L'apigénine est une trihydroxyflavone qui est une flavone substituée par des groupes hydroxy aux positions 4', 5 et 7. Elle induit une autophagie dans les cellules leucémiques. Il a un rôle de métabolite et d'agent antinéoplasique, Soluble dans l'éthanol, la pyridine, l'acide sulfurique concentré; très soluble dans les alcalis dilués [52].

c) Myricétine

La myricétine ou myricétol est un composé organique de la famille des flavonols, naturellement présent dans de nombreux types de végétaux, la myricétine fait partie de la classe des flavonoïdes des composés polyphénoliques, avec des propriétés antioxydantes.

1. Sources alimentaires :

On peut retrouver la myricétine dans plusieurs variétés d'aliments comme le raisin, les baies les noix et l'ail



Figure 13: la myricétine

2. Propriétés physico-chimique

La nomenclature donnée par l'Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée (UICPA) pour myricétine 3,5,7-Trihydroxy-2-(3,4,5-trihydroxyphenyl)-4H-chromen-4-one .

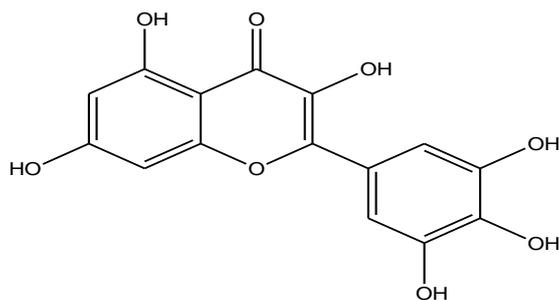


Figure 14: Structure chimique de La myricétine

La myricétine connue également sous le nom de myricétole ($C_{15}H_{10}O_8$), avec un point de fusion de $357\text{ }^{\circ}\text{C}$, Il a un rôle d'inhibiteur de la cyclooxygénase 1, d'agent antinéoplasique, d'antioxydant, de métabolite végétal, de composant alimentaire et d'agent hypoglycémiant. C'est une hexahydroxyflavone et un 7-hydroxyflavonol, peu soluble dans l'eau bouillante, soluble dans l'alcool et pratiquement insoluble dans le chloroforme et l'acide acétique [53].

Références

- [1] Pousset, J.-L. *Plantes médicinales africaines*, Ellipses Paris. (1989).
- [2] McChesney, J. D., S. K. Venkataraman, et al. "Plant natural products: back to the future or into extinction?" *Phytochemistry*68(14): 2015-2022. (2007).
- [3] Boldi A.M., Libraries from natural product-like scaffolds. *Current Opinion in Chemical Biology* 8: 281 -286. (2004).
- [4] Clardy J., Walsh C., Lessons from natural molecules. *Nature*432: 729 -837. (2004).
- [5] Koehn F. E., Carter G.T., The evolving role of natural products in drug discovery. *Nature Review Drug Discovery*4: 206 -220. (2005).
- [6] Newman D.J., Cragg G.M., Snader K.M., Natural products as sources of new drugs over the period 1981 -2002. *Journal of Natural Products* 66: 1022 -1037. (2003).
- [7] Miyata, T. "Pharmacological basis of traditional medicines and health supplements as curatives." *J PharmacolSci*103(2): 127-131 . (2007).
- [8] Wang, H., T. O. Khor, L. Shu, Z. Y. Su, F. Fuentes, J. H. Lee and A. N. Kong. "Plants vs. cancer: a review on natural phytochemicals in preventing and treating cancers and their druggability." *Anticancer Agents Med Chem*12(10): 1281-1305. (2012).
- [9] Bruneton, J. *Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales*. 2ème édition, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris. (1993).
- [10] Cowan, M.M. *Plant Products as Antimicrobial Agents*. *Clin. MicrobiolRe*, 12 (4): 564-582. (1999).
- [11] Britton, G., Liaaen-Jensen, S. et Pfander, H. *Special Molecules, Special Properties. Carotenoids*. G. Britton, S. Liaaen-Jensen et H. Pfander. Basel-Boston-Berlin, Birkhäuser Verlag. 4, 1-6. (2008).
- [12] Achir, N., Randrianatoandro, V. A., Bohuon, P., Laffargue, A. et Avallone, S. Kinetic study of β -Carotene and lutein degradation in oils during heat treatment. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112, 349-361. (2010).
- [13] Astray, G., Gonzalez-Barreiro, C., Mejuto, J. C., Rial-Otero, R. et Simal-Gandara, J. A review on the use of cyclodextrins in foods. *Food Hydrocolloids*, 23, 1631-1640. (2009).
- [14] Liu, J., Ong, W., Román, E., Lynn, M. J. et Kaifer, A. E. Cyclodextrin-Modified Gold Nanospheres. *Langmuir*, 16, 7, 3000-3002. (2000).

INHIBITEURS NATURELS DES PROTÉINES KINASES

- [15] Bartley, G. E. et Scolnik, P. A. Plant Carotenoids: Pigments for Photoprotection, Visual Attraction, and Human Health. *The Plant Cell*,7, 1027-1038. (1995).
- [16]HarborneJB.Recent advances in chemical ecology. *Nat. Prod. Rep*, 25 (7): 85-109. (1989).
- [17]Sarni-Manchado P, CheynerV.Les polyphénols en agroalimentaire, Ed. Lavoisier (Tec & Doc), Paris, 300-398. (2006).
- [18] Fritch H, GriesbachH.Biosynthesis of cyaniding in cell cultures of *Haplopappusgracilis*. *Phytochem*. 14: 2437-42. (1975).
- [19] Stoclet, JC,Schini-KerthV. Flavonoïdes alimentaires et santé humaine. *Annales pharmaceutiques françaises*, Elsevier. (2011).
- [20] Agati, G., E. Azzarello, et al. "Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance." *Plant science*196: 67-76. (2012).
- [21] Dixon, R. A. and G. M. Pasinetti. "Flavonoids and isoflavonoids: from plant biology to agriculture and neuroscience." *PlantPhysiology*154(2): 453-457. (2010).
- [22] Emerenciano, V. P., K. O. Barbosa, et al. "Self-organizing maps in chemotaxonomic studies of Asteraceae: a classification of tribes using flavonoid data." *Journal of the Brazilian Chemical Society*18(5): 891-899. (2007).
- [23] Pietta, P.-G. "Flavonoids as antioxidants." *Journal of natural products*63(7): 1035-1042. (2000).
- [24] Narayana, K. R., M. S. Reddy, et al. "Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential." *Indian journal of pharmacology*33(1): 2-16. (2001).
- [25] Erdman J., Balentine J. D., Arab L., Beecher G., Dwyer J. T., Folts J., Harnly.,Hollman J. P., L –Keen C., Mazza G., Messina M., Scalbert A., Vita J., WilliamsonG.et Burrowes J. Flavonoids and heart health : Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop, may 31-june 1, 2005, Washington. *Journal of Nutrition.*, 137 (3 supp1) : 718 s-737 s. (2007).
- [26]Composé organosulfuré. *Wikipédia*.(2020).
- [27]NouiouW., Biodiversité et ressources phylogénétiques d'un écosystème forestier «*Paeoniamascula* (L.) Mill ». Mémoire de magister, Université Ferhat Abbas Setif, p:2. (2012).
- [28] Hamel, T., S. Sadou, et al. "Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule de l'edough (nord-est algérien)." *Ethnopharmacologia*59: 75-81. (2018).

INHIBITEURS NATURELS DES PROTÉINES KINASES

- [29] Farnsworth et al.; Youngken H. W., 1950 et Coste H., 1937; Girre, 1980). (1992).
- [30] Youngken, H.W. Textbook of pharmacognosy, GTH ed philadelphia.182-183. (1950).
- [31] Coste, H. Flore descriptive et illustrée de la France, de la corse, et conhééslimitrophes, Second Tirage, Paris:librairie des sciences et des ARTS. (1937).
- [32] Girre L., Connaitre et reconnaitre les plantesmédicinales, Rennes :Ouest France 333 p. (1980).
- [33] ITCMI-Institut Technique Des Cultures MaraichèresetIndustrielles.La culture de l'ail .Fiches techniques valorisées des cultures maraichères et Industrielles. (2010).
- [34] Silagy, C.A. and Meilh, A..Garlic lipid louerinyagent.ameta, analysis journal royal college of physicians of london.28:39.45. (1994).
- [35] Bradley,Recueilréduit la démenceet la maladiocardiaquerisque. j nutr.136(3):8 10-812. (1992).
- [36] Jaber MA ., Al- Moussawi ,A .Susceptibility of some miltiple resistant bacteria to garalic extract.A ferican Journal of Biotechnology 6(6) : 771-776. (2007).
- [37] Timbo, B. B. Ross, M. P. McCarthy, P. V., & Lin, C. T. Dietary supplements in a national survey: prevalence of use and reports of adverse events. Journal of American Diet Association, 106(12), 1966–1974. (2006).
- [38] Sheela,C. G., Augusti, K. T. Ind. J. Exp. Biol. 30, 523— 526. (1992).
- [40] Lanzotti, V.The analysis of onion and garlic, journal of chromatographyA .1112:3.22. (2006).
- [41] Waterer, D. and Schmitz, D.Influence of variety and cultural practices on garlic yields in Saskatchewan. Can J Plant Sci74(3):611-614. (1994).
- [42] Lanzotti, V. The analysis of onion and garlic, journal of chromatographyA .1112:3.22. (2006).
- [43] Park, J.H., Park, Y.K. and Park, E. Antioxidative and antigenotoxic effects of garlic (Allium sativumL.) prepared by different processing methods. Plant Foods Hum.Nutr.64:244-249. (2009).
- [44] de Vries, W. H., et al. ApJS, 110, 191 (Paper I) First citation in article | IOPscience | ADS. (1997).

INHIBITEURS NATURELS DES PROTÉINES KINASES

[45] Hamideche,L .,Nacer,C.Synthèse bibliographique des effet anti-inflammatoire de la quercétine : les mécanisme moléculaires. Mémoire université Mouloud Mammeri Tizi-ouzou. (2016).

[46] Mitchell, K.E., Weiss, M.L., Mitchell, B.M., Martin, P., Davis, D., Morales, L.M., Helwig, B., Beerenstrauch, M., Abou-easa, K., Medicetty, S., Hildreth, T., Troyer, D.L., Wharton's Jelly mesenchymal cells form neurons and glia. *Stem Cells* 21, 50–60. (2003).

[47] Smith, T. M., & Ingersoll, R. M. Does teacher mentoring matter? Unpublished manuscript. (2003).

[48] PETRUS K., SCHWARTZ H., SONTAG G. Analyse des flavonoïdes dans le miel par HPLC couplée à une détection de réseau d'électrodes coulométrique et ionisationspectrométrie de masse. *Anal. Bioanal. Chem*,400:2555-2563. (2011).

[49] LIDE D.R., MILNE. Handbook of Data on organic compound. Volume CRC pre. 3rded. CRC press, Inc. Boca Raton. FL,2:1570. (1994).

[50] WILLIAMS C.A., GRAYER R.J. Anthocyanins and other flavonoids. *Nat. Prod. Rep*,21:539–573. (2004).

[51]Enhancement of UVB-Induced Apoptosis by Apigenin in Human Keratinocytes and Organotypic Keratinocyte Cultures. Abu-Yousif AO et al. *Cancer Res*, 68(8):3057-3065. (2008).

[52] PubChem. Apigenin <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5280443> (accessed May (2021)).

[53] PubChem. Myricetin <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5281672> (accessed May (2021)).

Chapitre 3

Méthodes Et Logiciels Utilisés



I. Introduction

La modélisation moléculaire est un terme général qui englobe plusieurs disciplines, en effet, c'est l'exploitation à la fois des lois de la chimie, de la physique et de la biologie dans des programmes informatiques spécifiques afin de calculer les structures et propriétés d'entités chimiques et biochimiques (Protéines, acides nucléiques, complexes moléculaires, solides, cristaux etc..). Le but principal est la compréhension mais aussi et surtout la prédiction des phénomènes auxquels s'intéressent ces disciplines [1].

La modélisation moléculaire est une nouvelle branche de chimie informatique permettant à tout chimiste de mieux appréhender les problèmes liés au domaine moléculaire basé sur l'utilisation des méthodes de calcul théoriques (mécanique moléculaire, dynamique moléculaire, Docking, mécanique quantique...) afin de déterminer la géométrie ou la configuration des atomes d'une molécule et d'évaluer les propriétés physico-chimiques de la molécule étudiée [2].

II. Mécanique moléculaire

La mécanique moléculaire est appelée parfois " calcul par champ de force empirique " [3], elle nous permet de minimiser l'énergie afin d'obtenir des conformations à basse énergie de notre système moléculaire et de réduire des forces initiales trop grandes qui aboutiront à une trajectoire aberrante [4]. Dans le cadre de ces méthodes empiriques les atomes (les noyaux) sont représentés par des masses ou des sphères, et les liaisons par des ressorts de différentes forces, c'est une méthode non quantique, mais qui a un intérêt pour les grands systèmes, comme dans le cas des systèmes biologiques qu'on ne peut aborder avec les méthodes quantiques [5].

La mécanique moléculaire ressemble aux modèles de type " tiges et boules ». L'idée directrice de cette méthode est d'établir par le choix des fonctions énergétiques et des paramètres qu'elles contiennent, un modèle mathématique, le " CHAMP DE FORCE", qui représente aussi bien que possible les variations de l'énergie potentielle avec la géométrie moléculaire [6].

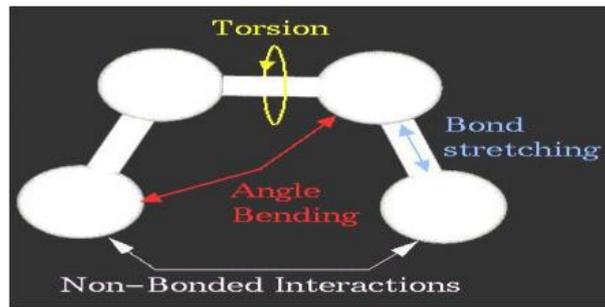


Figure 15: la mécanique moléculaire

II.1. Champs de forces

Dans l'expression fonctionnelle des champs de forces classiques, l'énergie potentielle totale du système (E) est exprimée comme étant la somme des contributions énergétiques des termes liés et de celles des termes non liés [7].

$$E_{\text{Totale}} = E_{\text{liés}} + E_{\text{non liés}}$$

Les termes liés correspondent aux liaisons covalentes (β), angles de valence (θ), angles de torsion (φ) et dièdres impropres (ω), soit :

$$E_{\text{liés}} = E_{\text{liaisons covalentes}} + E_{\text{angles de valences}} + E_{\text{torsions}} + E_{\text{impropres}}$$

Les termes non liés, quant à eux, correspondent aux interactions de Van Der Waals, électrostatiques... [8].

II.2. Différents champs de forces en mécanique moléculaire

Différents champs de force utilisent le même type de termes énergétiques mais de différents paramètres. On peut ainsi trouver des champs destinés plus spécialement à la modélisation de petites molécules organiques, de macromolécules comme les protéines.....

- ✓ MM2 / MM3 (Allinger): champ de force développé par Allinger et Coll. molécules organiques.
- ✓ CHARM (BIO⁺) : développé par Karplus et Col, pour le calcul de biomolécules.
- ✓ AMBER (Kollman): protéines et acides nucléiques [9].

III. Docking moléculaire

III.1. Principe théorique

Le Docking moléculaire vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules isolées, dans les quelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interactions entre deux molécules. Les logiciels de Docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique. Le récepteur macromoléculaire étant le plus souvent une protéine, le terme Docking seul est couramment employé pour désigner un « Docking protéine-ligand » [10].

Le Docking moléculaire a pour but de déterminer le mode d'interaction d'un complexe formé de deux ou plusieurs molécules, en cherchant des orientations dans l'espace et des conformations favorables pour la fixation d'un ligand à un récepteur [11].

Une simulation de Docking comprend essentiellement deux étapes : le Docking proprement dit et le Scoring (**figure16**) :

- ✚ 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 [10].

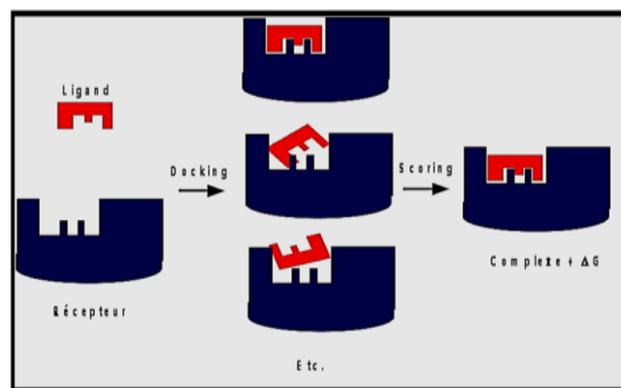


Figure 16: Principe de base de la conception de la notion clé-serrure [12]

III.2. Protocole générale de Docking

Les approches utilisées actuellement sont exclusivement calculatoires et évaluées par des outils de visualisation. Ces approches peuvent être décomposées en quatre à cinq phases successives (figure 17) :

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

Un algorithme de recherche peut explorer les possibilités de modes de liaison, un mécanisme pour placer le ligand dans le site de liaison et une fonction de score pour classer les différents modes de liaison [13].

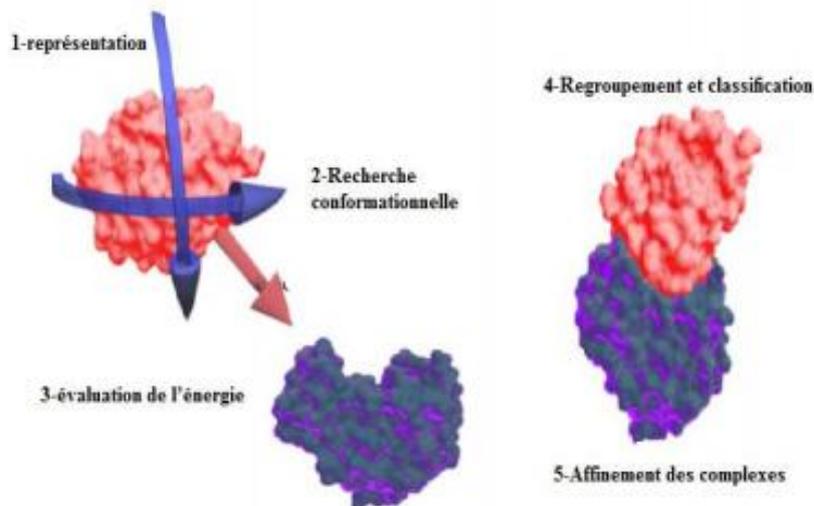


Figure 17: Protocole général de docking [13]

IV. Logiciels utilisés

IV.1. Molecular Operating Environment MOE (version 2014)

MOE, Molecular Operating Environment, est un package de plusieurs logiciels destinés à la découverte et à la conception assistée par ordinateur de molécules biologiquement actives. Celui-ci permet d'effectuer plusieurs tâches pendant un temps très réduit. Il permet de dessiner les molécules, de les minimiser pour avoir les meilleures conformations de ces molécules. Il permet également de docker plusieurs ligands rassemblés dans une base de données dans le site actif d'une protéine de manière successive. MOE présente une forme de docking flexible dans lequel le récepteur et le ligand change de conformation et s'adaptent à l'environnement. Il est également possible de représenter l'enzyme et son ligand co-cristallisateur [14].

IV.2. Chemdraw Ultra 8.0

Le logiciel Chem Draw est un éditeur de molécules faisant partie de la suite de programmes ChemOffice. Ce logiciel a une interface de dessin chimique basique mais puissante [15]. Dans notre travail, il a été utilisé afin de dessiner les différentes structures pour pouvoir les représentées dans notre manuscrit et pour faire les calculs.

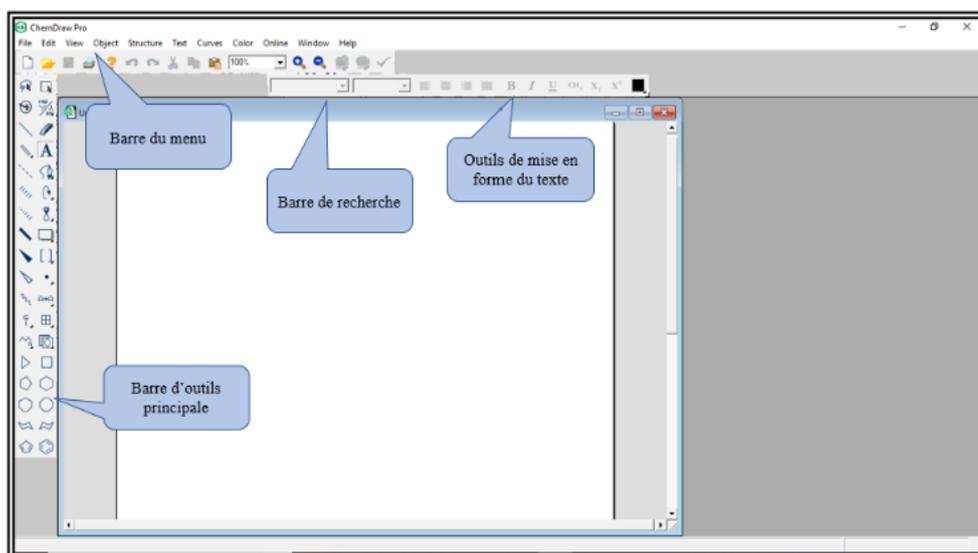


Figure 18: L'interface graphique du logiciel ChemDraw

Références

- [1] Leach AR, (Molecular modeling. Principles and applications). Prentice Hall, Harlow, 2nd ed. (2001).
- [2] Náray-Szabó.G, I. Berente, Journal of Molecular Structure (Theochem), Computer Modeling of Enzyme Reaction, P637-644. (2003).
- [3] Williams.J.E, P. Von, R. Schleyer. Physic-Chemistry, P19. (1968).
- [4] Baaden,M. Outils pour étudier la structure et la dynamique des peptides et des protéines, (Institut de Biologie Physico-chimique, PARIS) CNRS UPR9080, P36. (2003).
- [5] Chaquin P, (application a la structure et la réactivité en chimie moléculaire).Manuel de chimie théorique. 190. (2000).
- [6] Lomas JS,(l'actualite chimique, La MecaniqueMoleculaire, une methode non quantique pour le calcul de la structure et de l'energie d'entitemoleculaire. p.7. (1986).
- [7] Soldera A, (Modélisation moléculaire des polymères linéaires). Techniques de l'ingenieurAF 6-042. (2007).
- [8] McQuaid.M.J, H. Sun, D. Rigby. Development of COMPASS force field for moleculeswithaliphaticazidechains.Journal of ComputationalChemistry 25, 61-71. (2004).
- [9] B. Coupez, R.A. Lewis. Docking And Scoring - Theoretically Easy, Practically Impossible? Current Medicinal Chemistry, 13, 2995-3003. (2006).
- [10] WarrenGL,Webster Andrews GLC,Capelli AM,Clark B,LaLonde J,Lambert M.H, Lindvall M,Nevins N,Semus SF, Senger S, Tedesco G, Wall ID,Woolven JM, Peishoff CE, Head MS, (A critical assessment of docking programs andscoring functions). Journal of Medicinal Chemistry.49:p.5912-5931. (2006).
- [11] Duhovny D R, Nussinov H J, Wolfson, (Efficient unbound docking of rigid molecules). (2002).
- [12] ERLANSON D. A., Frangment-based lead discovery : a chemical update. CurropinBiotechnol, 17:643-652, (2006).

METHODES ET LOGICIELS UTILISES

[13] Férey N, Bouyer G, Martin C, Drif A, Bourdot P, Ammi M, Nelson J, Burkhart J-M, Autin L. Docking De Protéines En Réalité Virtuelle : Une Approche Hybride Et Multimodale. 2e Soumission A Rsti, P 10. (2008).

[14] Molecular Operating Environment (MOE) Chemical Computing Group, Montreal, Quebec, Canada10. (2012).

[15] Bahita,S.,Hour ,I .Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de l'Aldose réductasepar docking moléculaire .Mémoire Université Frères Mentouri Constantine 1. (2019).

Chapitre 4 : Résultats Et Discussions



I. Introduction

La conception d'un nouveau médicament est un processus basé sur une méthode quasiment expérimentale, long, coûtant très cher à l'industrie pharmaceutique. Avec le développement de l'outil informatique, des méthodes de modélisation moléculaire *in silico*, telle que le docking moléculaire, ont pris une place capitale dans le processus du *drug design*. En effet, cette approche consiste à rechercher le mode d'interaction le plus favorable d'un ligand au sein de son récepteur, ce qui est plus facile à mettre en œuvre, plus rapide pour un coût bien moindre que les méthodes expérimentales classiques [1].

La modélisation moléculaire s'est développée grâce à l'évolution de l'informatique qui a permis d'intégrer les concepts de chimie théorique dans les algorithmes et de développer des machines capables d'exécuter les lourds calculs demandés et de stocker les données générées[2-4].

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

Le Docking moléculaire a pour but de prédire la conformation et l'orientation d'un ligand dans le site actif de la protéine, ainsi que la détermination de mode d'interaction des liaisons probables, et énergétiquement, en prédisant l'affinité de liaison [5].

Le présent travail consiste à faire une étude théorique par les méthodes de modélisation moléculaire de l'inhibition des sous unités CK2 α et CK2 α' de la protéine kinase II par des flavonoïdes naturels présents dans l'ail (*Allium Sativum*) et leurs dérivés.

Plusieurs travaux ont été effectués sur la protéine kinase II[6-8]. C'est une protéine impliquée dans diverses études pathologiques telle que les maladies dégénératives, l'inflammation et le cancer [6]. Cette protéine présente une complexité au niveau de sa structure quaternaire. Elle se présente sous la forme d'un complexe tétramérique composé de 2 sous unités catalytiques α et de 2 sous unités régulatrices β . Contrairement aux autres protéines kinases, la sous unité catalytique de CK2 reste active qu'elle soit associée ou pas à la sous unité régulatrice β [7].

L'ail (*Allium sativum*) a une composition chimique particulièrement diversifiée, lui permettent ainsi d'avoir de nombreux effets thérapeutiques. En agissant sur certaines

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

protéines, l'ail frais ou macéré peut éliminer les molécules cancérigènes au niveau du colon et du foie[9].

II. Préparation des protéines

La structure tridimensionnelle des sous unités catalytiques CK2 α et CK2 α' de la protéine kinase II a été obtenue par diffraction aux rayons X à haute résolution (2.50Å et 2.00Å respectivement). Un modèle a été déposé dans la base de données **BookhavenProtein Data Bank**, code d'accès : 1PJK.pdb(CK2 α) et 3OMF.pdb (CK2 α') (tableau1).

- 1PJK(CK2 α)

1PJK.pdb			
Molécule	Poids moléculaire (KDa)	Chaîne	Structure
Protéine kinase II (α) (caséine kinase)	40.48	A	334 acides aminés
ANP		C	gamma-Imino-ATP ADENYLYL IMIDODIPHOSPHATE (C10H7N6O12P3)
Cl		B	Ion chloridrique

Tableau 2: Données cristallographique pour la protéine 1PJK

- 3OMF (CK2 α')

3OFM.pdb			
Molécule	Poids moléculaire (KDa)	Chaîne	Structure
Protéine kinase II (α') (caséine kinase)	41.79	A	350 acides aminés
4BO		B	3-(4,5,6,7-tetrabromo-1H-benzotriazol-1-yl)propan-1-ol C ₉ H ₇ Br ₄ N ₃ O
Cl		C	Ion chloridrique

Tableau 3: Données cristallographiques pour la protéine 3OFM

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Dans le but de préparer un modèle simplifié pour les deux protéines, on a éliminé toutes les molécules d'eau en gardant les acides aminés qui forment le site actif de chaque protéine et une seule molécule de Co-cristallisation.

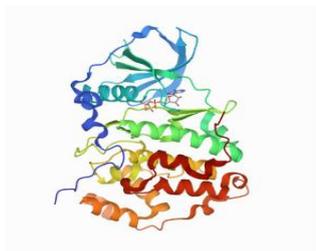


Figure 20: protéine kinase CK2 α Non simplifiée

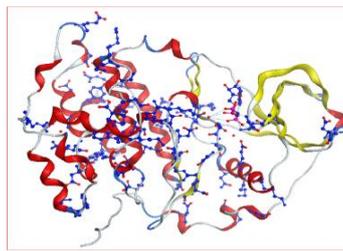


Figure 19: protéine kinase CK2 α simplifiée

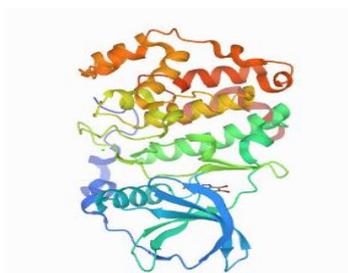


Figure 21: protéine kinase CK2 α' Non simplifiée

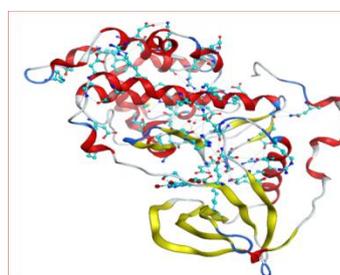


Figure 22: protéine kinase CK2 α' simplifiée

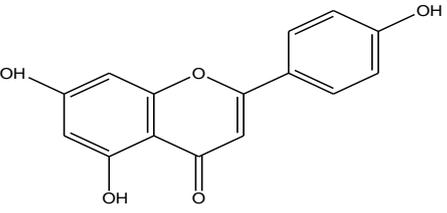
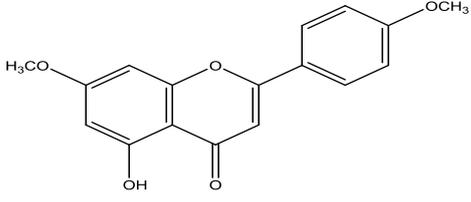
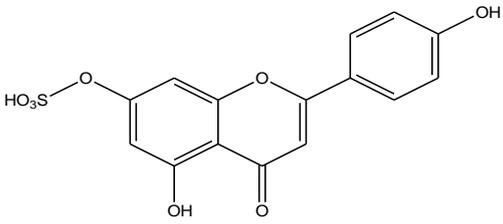
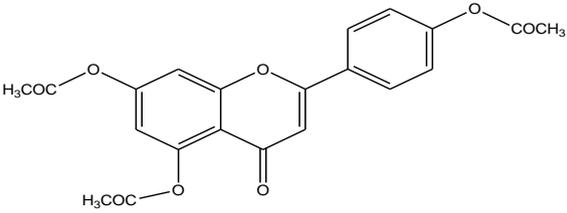
III. Préparation des ligands

Les inhibiteurs étudiés dans ce travail sont des dérivés de flavonoïdes, présentes dans la plante d'**Allium sativum** (apigenin, quercétine et myricétine) et leurs analogues téléchargés à partir de la banque PubChem. Ces molécules sont construites à l'aide du logiciel Chemdraw8.0.

La structure chimique des différents inhibiteurs est donnée dans les tableaux ci-dessous :

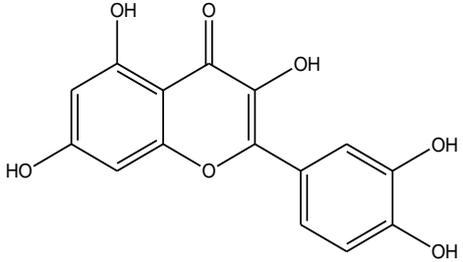
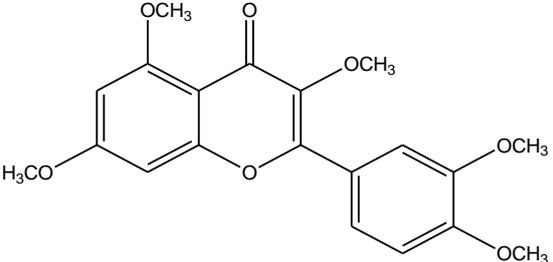
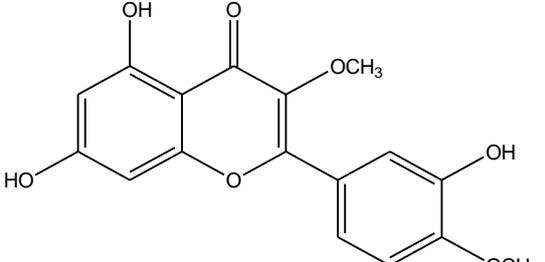
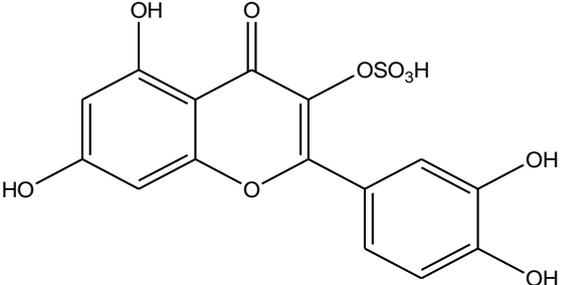
RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Tableau 4: propriétés de l'apigénin et ses dérivés

Ligands	Propriétés moléculaires
<p>A1</p>  <p>5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one</p>	<p>Toxicité : Non Poids : 270,24 g/mol Log P : 2,42 Log S : -3,46 H-donneur : 3 H-accepteur: 5 Liaisons flexible : 1</p>
<p>A2</p>  <p>5-hydroxy-7-methoxy-2-(4-methoxyphenyl)chromen-4-one</p>	<p>Toxicité : Non Poids : 298 ,29 g/mol Log P : 3,03 Log S : -4,29 H-donneur : 1 H-accepteur: 5 Liaisons flexible : 3</p>
<p>A3</p>  <p>[5-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-4-oxochromen-7-yl] hydrogen sulfate</p>	<p>Toxicité : Non Poids : 350,30 g/mol Log P : 1,33 Log S : -4,01 H-donneur : 3 H-accepteur: 8 Liaisons flexible : 3</p>
<p>A4</p>  <p>4-(5,7-diacetyloxy-4-oxochromen-2-yl)phenyl] acetate</p>	<p>Toxicité : Non Poids : 396,35 g/mol Log P : 3,08 Log S : -5,61 H-donneur : 0 H-accepteur: 8 Liaisons flexible : 7</p>

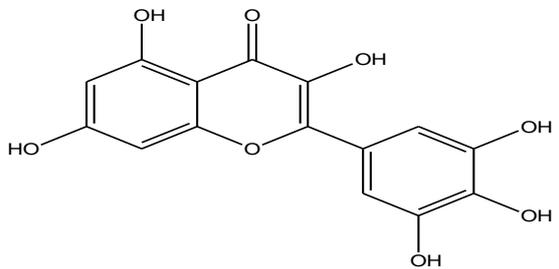
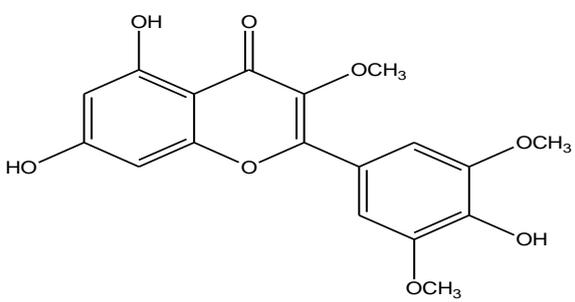
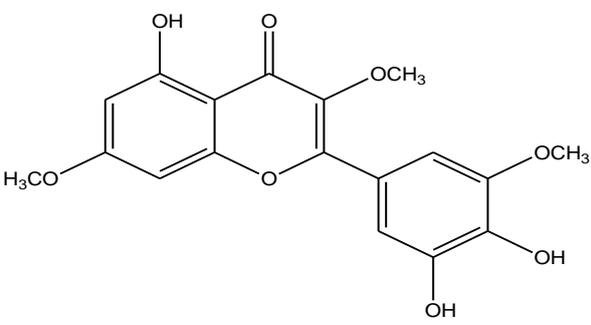
RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Tableau 5: propriétés de la quercétine et ses dérivés

Ligands	Propriétés moléculaires
<p>Q1</p>  <p>2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxychromen-4-one</p>	<p>Toxicité : Non</p> <p>Poids : 302,24 g/mol</p> <p>Log P : 2,01</p> <p>Log S : -2,77</p> <p>H-donneur : 5</p> <p>H-accepteur: 7</p> <p>Liaisons flexible : 1</p>
<p>Q2</p>  <p>2-(3,4-dimethoxyphenyl)-3,5,7-trimethoxychromen-4-one</p>	<p>Toxicité : Non</p> <p>Poids : 372,37</p> <p>Log P : 3,31</p> <p>Log S : -4,84</p> <p>H-donneur : 0</p> <p>H-accepteur: 7</p> <p>Liaisons flexible : 6</p>
<p>Q3</p>  <p>5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-methoxychromen-4-one</p>	<p>Toxicité : Non</p> <p>Poids : 330,29 g/mol</p> <p>Log P : 2,40</p> <p>Log S : -3,60</p> <p>H-donneur : 3</p> <p>H-accepteur: 7 CK2α</p> <p>Liaisons flexible :</p>
<p>Q4</p>  <p>[2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-4-oxochromen-3-yl] hydrogen sulfate</p>	<p>Toxicité : Non</p> <p>Poids : 382,30 g/mol</p> <p>Log P : 0,71</p> <p>Log S : -3,32</p> <p>H-donneur : 5</p> <p>H-accepteur: 10</p> <p>Liaisons flexible : 3</p>

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Tableau 6: propriétés de la myricétine et ses dérivés

Ligands	Propriétés moléculaires
<p>M1</p>  <p>3,5,7-trihydroxy-2-(3,4,5-trihydroxyphenyl)chromen-4-one</p>	<p>Toxicité : Non</p> <p>Poids : 318,24 g/mol</p> <p>Log P : 1,72</p> <p>Log S : -2,41</p> <p>H-donneur : 6</p> <p>H-accepteur: 8</p> <p>Liaisons flexible : 1</p>
<p>M2</p>  <p>5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-3-methoxychromen-4-one</p>	<p>Toxicité : Non</p> <p>Poids : 360,32 g/mol</p> <p>Log P : 2,41</p> <p>Log S : -3,65</p> <p>H-donneur : 3</p> <p>H-accepteur: 8</p> <p>Liaisons flexible : 4</p>
<p>M3</p>  <p>2-(3,4-dihydroxy-5-methoxyphenyl)-5-hydroxy-3,7-dimethoxychromen-4-one</p>	<p>Toxicité : Non</p> <p>Poids : 360,32 g/mol</p> <p>Log P : 2,41</p> <p>Log S : -3,65</p> <p>H-donneur : 3</p> <p>H-accepteur: 8</p> <p>Liaisons flexible : 4</p>

IV. Règle de Lipinski

MOE nous permet de prédire si le composé chimique peut présenter des propriétés médicamenteuses et peut être administré par voie orale ou pas, en vérifiant la loi de **Lipinski** [10] selon cette règle, un composé est capable d'être un médicament administré par voie orale s'il remplit au moins 3 critères des cinq suivantes :

- Un poids moléculaire maximum de 500 g/mol
- Un coefficient de partition ($\log P$) ≤ 5

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

- Le nombre de donneurs de liaisons hydrogènes (OH, NH...) ≤ 5
- Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogènes (O, N...) ≤ 10
- Nombre de fonctions flexibles ≤ 5

Les différents indices moléculaires tel que : Toxicité, log P, log S, poids moléculaires ; sont donnés par le logiciel MOE [Tableaux 4-6], et les résultats obtenus, montrent que les différentes structures de flavonoïdes étudiées répondent à la règle de Lipinski .

V. Docking moléculaire

Après la construction des inhibiteurs, L'étape suivante, est le positionnement de ces molécules dans le site actif de la protéine kinase CK2. Pour ce faire, nous avons utilisé le logiciel MOE(2014). Une fois que le complexe protéine-inhibiteur est formé, celui-ci va adapter la conformation la plus stable, c'est-à-dire avec le niveau énergétique le plus faible.

VI. Résultats et discussion

VI.1. Protéine CK2 α (1PJK)

Les tableaux 7, 8 et 9 récapitulent les différents termes énergétiques des différents complexes formés avec la CK2 α et leurs RMSD de refinement obtenus par docking moléculaire.

Tableau 7: Complexes de la protéine 1PJK avec l'apigénin et ses similaires

Les complexes	Rmsd_Refine	E_Conf Kcal/mol	E_place Kcal/mol	E_SCORE Kcal/mol	E_Refine Kcal/mol	E_Scor2 Kcal/mol
1pjk-refrence	1.3916	-862.1082	-84.9095	-15.6675	-14.4384	-6.3759
1pjk-A1	0.8358	9.9183	-93.6742	-11.9341	-21.5927	-6.1514
1pjk-A2	1.53	49.2946	-79.3707	-11.0651	-18.9200	-5.3315
1pjk-A3	1.9155	-44.9337	-94.6257	-13.9442	-22.3778	-6.4026
1pjk-A4	1.5702	51.2940	-84.1956	-11.3917	-24.1944	-6.4800

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Tableau 8: Complexes de la protéine 1PJK avec quercétine et ses similaires

Les complexes	Rmsd_Refine	E_Conf Kcal/mol	E_place Kcal/mol	E_SCORE Kcal/mol	E_Refine Kcal/mol	E_Scor2 Kcal/mol
1pjk-refrence	1.3916	-862.1082	-84.9095	-15.6675	-14.4384	-6.3759
1pjk-Q1	0.8527	21.6858	-109.5439	-15.5308	-20.9684	-6.4754
1pjk-Q2	1.17	118.8410	-88.4841	-11.0247	-18.8690	-6.8150
1pjk-Q3	1.3917	72.4510	-83.6503	-12.5941	-14.3850	-6.9002
1pjk-Q4	1.1619	-59.6859	-101.8563	-15.4453	-22.3109	-5.8846

Tableau 9: Complexes de la protéine 1PJK avec myricitine et ses similaires

Les complexes	Rmsd_Refine	E_Conf Kcal/mol	E_place Kcal/mol	E_Scor Kcal/mol	E_Refine Kcal/mol	E_Scor2 Kcal/mol
1pjk-refrence	1.3916	-862.1082	-84.9095	-15.6675	-14.4384	-6.3759
1pjk-M1	1.0402	28.7763	-120.8773	-13.6141	-20.4636	-6.2756
1pjk-M2	1.0292	77.9715	-98.2094	-13.7723	-22.9891	-6.1010
1pjk-M3	1.2082	78.5895	-99.6430	-13.2637	-24.6534	-6.2821

VI.2. Protéine CK2 α' (3OFM)

Les tableaux 10,11 et 12 récapitulent les différents termes énergétiques des différents complexes formés avec la CK2 α' et leurs RMSD de refinement obtenus par docking moléculaire.

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Tableau 10: Complexes de la protéine 3OFM avec l'apiginie et ses similaires

Les complexes	Rmsd_Refine	E_Conf Kcal/mol	E_place Kcal/mol	E_Score Kcal/mol	E_Refine Kcal/mol	E_Scor2 Kcal/mol
3OFM-refrence	0.8966	14.2310	-74.3764	-10.6301	-18.3317	-5.8799
3OFM-A1	1.4336	10.0339	-98.3264	-12.6324	-21.3384	-6.6345
3OFM-A2	1.3498	48.9502	-95.4368	-11.5852	-10.3930	-5.3704
3OFM-A3	1.2504	-44.6982	-109.6471	-15.3536	-23.0757	-6.9359
3OFM-A4	1.8670	67.0442	-89.5518	-12.3118	-22.0767	-6.0606

Tableau 11: Complexes de la protéine 3OFM avec quercitine et ses similaires

Les complexes	Rmsd_Refine	E_Conf Kcal/mol	E_place Kcal/mol	E_Score Kcal/mol	E_Refine Kcal/mol	E_Scor2 Kcal/mol
3OFM-refrence	0.8966	14.2310	-74.3764	-10.6301	-18.3317	-5.8799
3OFM-Q1	0.6571	20.5561	-104.8126	-13.8269	-21.6375	-6.9856
3OFM-Q2	1.1653	133.5538	-98.8244	-11.3799	-4.5085	-6.3009
3OFM-Q3	1.7937	61.2116	-124.5627	-12.9756	-20.6939	-5.8399
3OFM-Q4	1.0126	-54.0069	-106.4165	-14.3593	-8.1159	-6.0736

Tableau 12: Complexes de la protéine 3OFM avec myricitine et ses similaires

Les complexes	Rmsd_Refine	E_Conf Kcal/mol	E_place Kcal/mol	E_Score Kcal/mol	E_Refine Kcal/mol	E_Scor2 Kcal/mol
3OFM-refrence	0.8966	14.2310	-74.3764	-10.6301	-18.3317	-5.8799
3OFM-M 1	0.9471	30.6788	-133.9332	-14.7284	-20.8509	-6.7679
3OFM-M 2	1.1379	78.0832	-111.1584	-13.5880	-21.3992	-6.4098
3OFM-M 3	1.4540	78.6675	-110.9653	-13.8979	-22.7619	-6.3950

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Nous remarquons d'après les résultats obtenus, que les écarts quadratiques moyens (RMSD) entre la position du ligand du complexe cristallographique et celles des ligands traités par MOE sont inférieurs ou égales à 2, ce qui montre que le programme utilisé est performant [11], et peut être utilisé pour la prédiction des interactions protéine CK2-flavonoïdes.

Les énergies obtenues par le Docking moléculaire, des différents complexes formés par les 2 sous unités catalytiques CK2 α et CK2 α' de la protéine kinase II avec les structures de flavonoïdes choisis, nous permet de tirer quelque conclusions :

En premier lieu, il apparait que la quercétine Q1 à la plus faible énergie de score - **6,4754kcal/mol**avec CK2 α , et -**6,9856 kcal/mol**avec CK2 α' , par rapport à l'apigénine (A1) et la myricétine (M1). Cela est dû à la présence de 5 groupements hydroxyles qui permettent de former des liaisons hydrogènes avec les acides aminés de site catalytique des 2 protéines et qui vont stabiliser les complexes formés.

D'autre part, on remarque que pour la CK2 α ; les composés A3, A4 et Q1 présentent une énergie de score qui se rapproche de celle du ligand de référence. Donc, ils présentent une bonne complémentarité avec le site actif de la protéine et ils peuvent être de bons inhibiteurs de la sous unité α .

De même, pour la CK2 α' , les composés A4 et Q3 ont l'énergie la plus proche à celle de référence ; donc ils peuvent être de bon inhibiteurs pour la sous unité α' .

Les résultats obtenus par docking moléculaire montrent que la quercétine et l'apigénine inhibent mieux les deux sites catalytiques de la CK2. Ce qui est en accord avec les valeurs des IC_{50} des trois flavonoïdes naturels trouvés dans la littérature [tableau 13] [12].

Tableau 13: valeurs des IC_{50} des flavonoïdes naturels

Flavonoïde	IC_{50} (μM)
Apigénine	0.80
Quercétine	0.55
Myricétine	0.99

Nous nous sommes intéressé par la suite aux interactions hydrogènes. On a mesuré les distances entre les différentes structures de flavonoïdes et les groupements des chaînes latérales des sites actifs [tableau 13] qui peuvent engendrer une conformation favorable avec une complémentarité importante et par conséquent une activité meilleure.

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Tableau 14: Résultats des interactions et les distances formés entre PCK et les inhibiteurs

Les complexes	Récepteurs/acide Aminés		Interaction	Distances (Å)	Energie (Kcal/mol)
1PJK-réf	O3G	LYS 49 (A)	H-accepteur	3.38	-1.1
	O1B	SER 51 (A)	H-accepteur	2.67	-1.4
	O1A	LYS 68 (A)	H-accepteur	3.17	-1.6
	N1	VAL116 (A)	H-accepteur	3.51	-1.0
	O1A5	LYS 68(A)	Ionique	3.17	-3.4
	5-ring	VAL 66(A)	Pi-H	3.99	-0.7
1PJK-A1	O12	VAL 116 (A)	H-accepteur	3.34	-1.7
	O19	LYS 68 (A)	H-accepteur	3.12	-2.3
	6-ring	LEU 45 (A)	Pi-H	4.04	-0.7
	6-ring	VAL 66 (A)	Pi-H	4.32	-0.6
1PJK-A2	6-ring	VAL 66(A)	Pi-H	4.13	-0.8
	6-ring	VAL 66 (A)	Pi-H	4.25	-0.8
	6-ring	VAL 66 (A)	Pi-H	4.39	-0.8
	6-ring	ASN 118 (A)	Pi-H	4.15	-0.9
1PJK-A3	O12	VAL 116 (A)	H-accepteur	3.26	-2.2
	O19	LYS 68 (A)	H-accepteur	3.11	-2.3
	O23	ASN 118(A)	H-accepteur	3.34	-0.9
	6-ring	LEU 45 (A)	Pi-H	4.04	-0.7
	6-ring	VAL 66(A)	Pi-H	4.31	-0.6
1PJK-A4	O 21	ARG 43 (A)	H-accepteur	3.08	-3.1
	6-ring	VAL 66 (A)	Pi-H	4.25	-0.8
	6-ring	VAL 66 (A)	Pi-H	4.08	-0.8
	6-ring	VAL 66(A)	Pi-H	3.36	-0.7
	6-ring	ASN 118(A)	Pi-H	4.09	-0.7
1PJK-Q1	O13	VAL 166 (A)	H-accepteur	3.20	-2.4
	O22	LYS 68 (A)	H-accepteur	3.06	-1.9
	6-ring	LEU 45 (A)	Pi-H	4.09	-0.8
	6-ring	VAL 66 (A)	Pi-H	4.30	-0.7
1PJK-Q2	6-ring	VAL 66 (A)	Pi-H	4.15	-0.7
	6-ring	VAL 66 (A)	Pi-H	4.58	-0.7

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

1PJK-Q3	O 21	LYS 68 (A)	H-accepteur	2.97	-2.5
	6-ring	LEU 45 (A)	Pi-H	3.92	-0.8
	6-ring	VAL 66 (A)	Pi-H	4.12	-0.8
1PJK-Q4	O 20	HIS 160 (A)	H-donneur	3.35	-0.8
	O 13	LYS 68 (A)	H-accepteur	2.83	-5.6
	O 24	LYS 68 (A)	Ionique	3.39	-2.3
1PJK-M1	O 13	VAL 166(A)	H-accepteur	3.29	-1.8
	O 22	PHE 113 (A)	H-pi	4.43	-0.9
	6-ring	LEU 45 (A)	Pi-H	4.07	-0.6
	6-ring	VAL 66 (A)	Pi-H	4.41	-0.6
1PJK-M2	6-ring	ASN 118 (A)	Pi-H	4.07	-0.9
1PJK-M3	O 12	LYS 68 (A)	H-accepteur	2.90	-5.3
	6-ring	VAL 53 (A)	Pi-H	4.19	-0.8
3OFM-réf	BRAB 3	Ile 117 (A)	H-donneur	2.94	-6.8
	BRAC 4	Glu 115 (A)	H-donneur	3.17	-4.9
	OAA 1	Asp 176 (A)	H-accepteur	2.93	-2.0
	5-ring	Val 54 (A)	Pi-H	3.78	-1.1
	6-ring	Val 67 (A)	Pi-H	4.33	-0.6
3OFM-A1	O 12	Ile 117 (A)	H-accepteur	3.49	-1.0
	O 19	Lys 69 (A)	H-accepteur	3.21	-1.8
	6- ring	Leu 46 (A)	Pi-H	4.02	-0.7
	6-ring	Val 67 (A)	Pi-H	4.49	-0.6
3OFM-A2	6- ring	Val 67 (A)	Pi-H	3.99	-0.8
	6-ring	Asn 119	Pi-H	3.92	-0.8
	6- ring	Asn 119	Pi-H	4.43	-0.7
	6-ring	Asn 119	Pi-H	4.00	-0.7
3OFM-A3	O 12	Ile 117 (A)	H-accepteur	3.39	-1.5
	O 19	Lys 69 (A)	H-accepteur	3.16	-2.1
	O 23	Asn 119 (A)	H-accepteur	3.24	-2.1
	6- ring	Leu 46 (A)	Pi-H	3.95	-0.8
	6-ring	Val 67 (A)	Pi-H	3.43	-0.6
3OFM-A4	O 34	Arg 44 (A)	H-accepteur	2.96	-2.0
	6- ring	Leu 46 (A)	Pi-H	3.83	-0.7
	6-ring	Leu 46 (A)	Pi-H	4.28	-0.6
	6- ring	Asn 119 (A)	Pi-H	4.28	-0.6
	6-ring	Asn 119 (A)	Pi-H	4.11	-0.9
	6- ring	Asn 119 (A)	Pi-H	4.66	-0.8

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

3OFM-Q1	O 13	Ile 117 (A)	H-accepteur	3.45	-1.0
	O 22	Lys 69 (A)	H-accepteur	3.18	-2.2
	6-ring	Leu 46 (A)	Pi-H	4.04	-0.7
3OFM-Q2	6-ring	Val 54 (A)	Pi-H	3.82	-0.8
3OFM-Q3	O 8	Glu 115 (A)	H-donneur	2.78	-2.2
	6-ring	Val 67 (A)	Pi-H	4.22	-0.7
3OFM-Q4	6- ring	Leu 46 (A)	Pi-H	4.13	-0.8
	6-ring	Val 67 (A)	Pi-H	4.23	-0.8
3OFM-M1	O 13	Ile 117 (A)	H-accepteur	3.56	-0.7
	O 22	Lys69 (A)	H-accepteur	2.89	-1.4
	6- ring	Leu46 (A)	Pi-H	4.04	-0.7
	6-ring	Val67 (A)	Pi-H	4.50	-0.6
3OFM-M2	6- ring	Leu 46 (A)	Pi-H	4.23	-0.6
	6-ring	Val 67 (A)	Pi-H	4.57	-0.6
	6- ring	Asn 119 (A)	Pi-H	4.21	-0.8
3OFM-M3	O 20	Ile 117 (A)	H-donneur	3.07	-1.2
1PJK-CX4549	N 14	Val 116 (A)	H-accepteur	3.65	-0.6
	O 23	Lys 68 (A)	H-accepteur	2.81	-17.2
	O 24	Asp 175 (A)	H-accepteur	3.14	-1.9
	O 23	Lys 68 (A)	Ionique	2.81	-5.9
	6- ring	Val 66 (A)	Pi-H	4.16	-0.8
3OFM-CX4549	N 14	Ile 117 (A)	H-accepteur	3.51	-1.2
	O 23	Lys 69 (A)	H-accepteur	2.95	-12.5
	O 24	Asp 176 (A)	H-accepteur	3.07	-1.7
	O 23	Lys 69 (A)	Ionique	2.95	-4.8
	6- ring	Val 67 (A)	Pi-H	4.31	-0.7
	6- ring	Val 67 (A)	Pi-H	4.31	-0.6

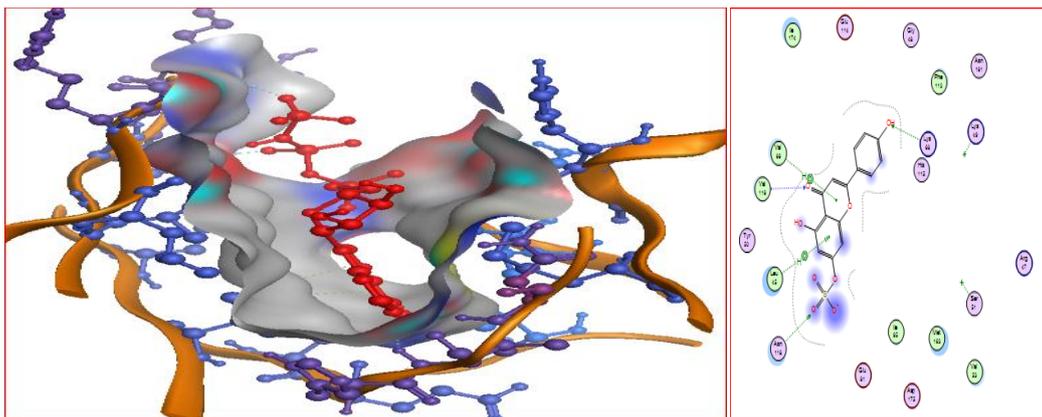


Figure 23: Interactions hydrogènes du complexe_1PJK-A3

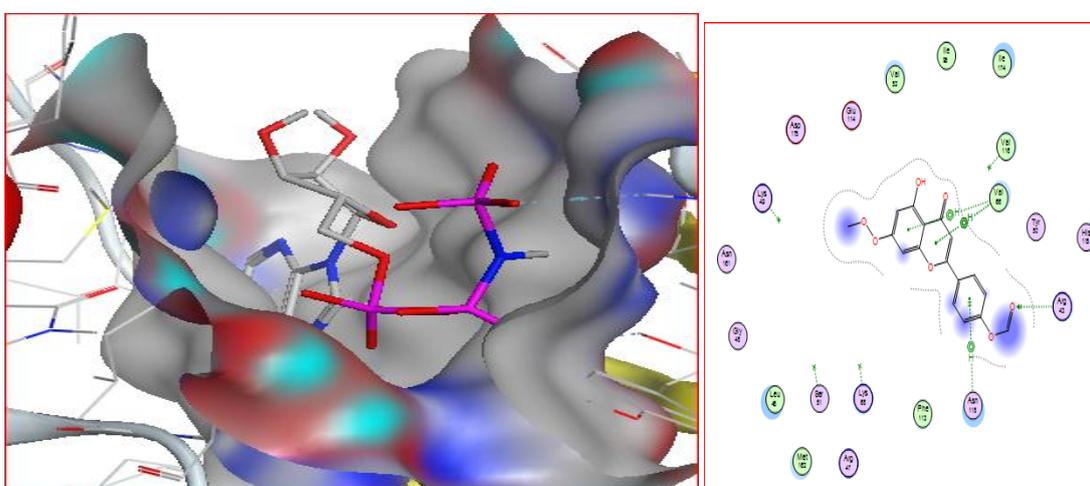
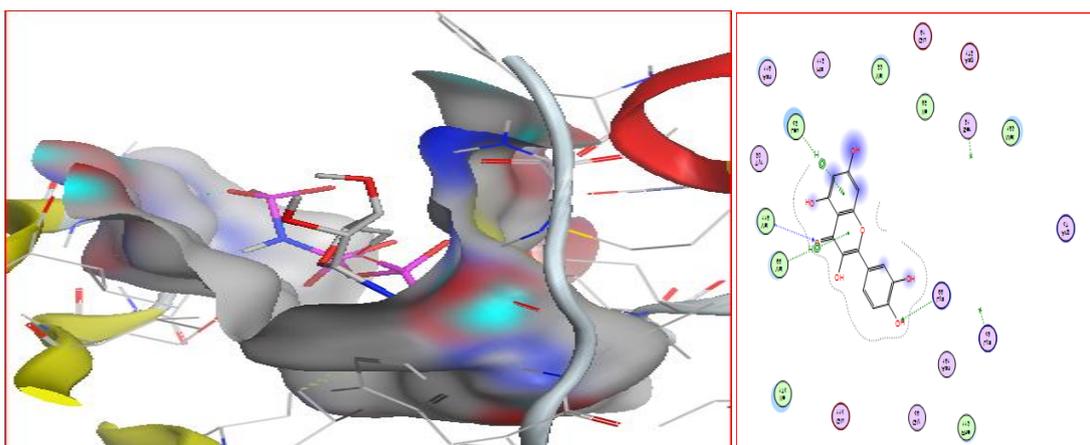


Figure 24: Interactions hydrogènes du complexe_1PJK-A4



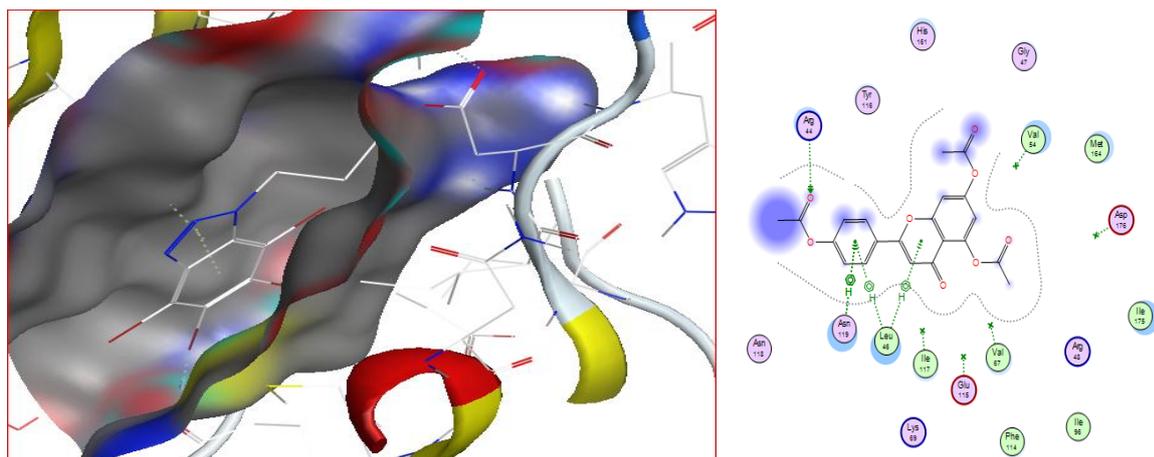


Figure 26: Interactions hydrogènes du complexe_3OFM-A4

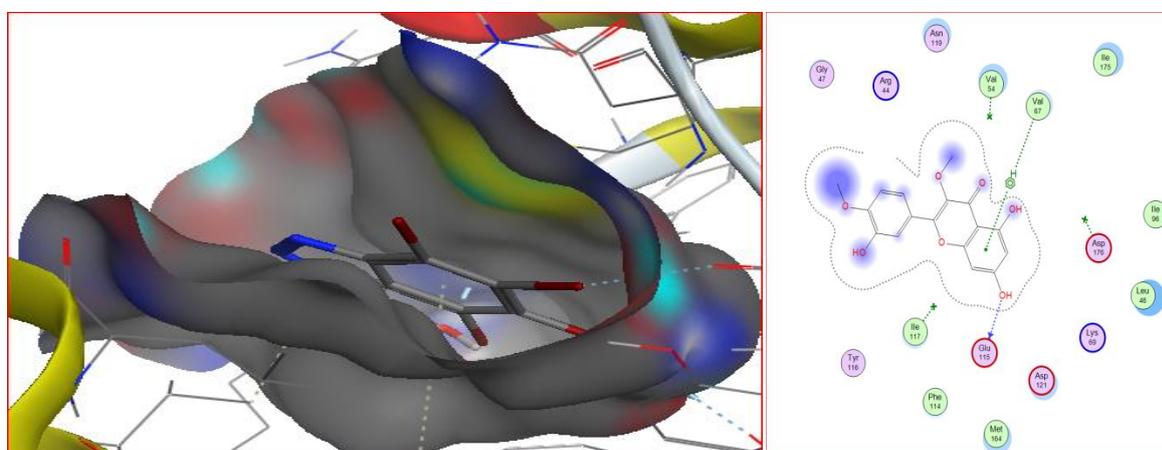


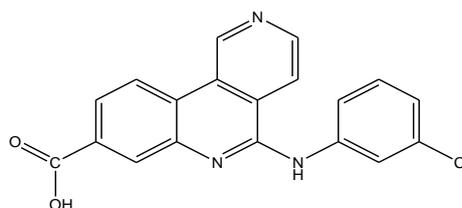
Figure 27: Interactions hydrogènes du complexe_3OFM-Q3

Les distances mesurées varient entre 2.67 Å et 3.56 Å, pour l'ensemble des complexes formés. Les interactions comprises entre 2.5 Å et 3.1 Å sont considérées comme forte et celles comprises entre 3.1 Å et 3.55 Å sont supposée moyennes [13].

Dans le but de faire une comparaison avec l'inhibiteur commercial CX-4945 (Silmitasertib), un calcul de Docking moléculaire a été fait avec 1PKJ et 3OFM.

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Les complexes	Rmsd_Refine	E_Conf Kcal/mol	E_place Kcal/mol	E_SCORE Kcal/mol	E_Refine Kcal/mol	E_Scor2 Kcal/mol
1PJK_CX-4945	1.2767	-40.6824	- 101.5173	-12.3356	-23.7220	-6.5905
3OFM_CX-4945	2.4428	-40.0214	-84.8875	-14.0654	-23.0727	-7.0286



Structure chimique de CX-4945

Tableau 15: Complexes des protéines 1PJK et 3OFM avec CX-4945

Le CX-4945 est un inhibiteur sélectif, puissant et biodisponible par voie orale des sous-unités catalytiques de la CK2 [14,15]. C'est le premier inhibiteur de la petite molécule de la CK2 à passer aux essais cliniques sur l'homme, il présente une activité anti-tumorale sur les cellules cancéreuses [16].

En mesurant ses propriétés moléculaires avec MOE ; le CX-4945 possède un coefficient de partition $\log = 4.88$ proche de 5, un poids moléculaire de 349,0618 g/mol et une énergie de score de -6,5905 Kcal/mol avec 1PJK et de -7.0286 Kcal/mol avec 3OFM, avec une valeur de IC50 égale à 1 μ M [17], mais il est toxique.

En conclusion, ce travail, nous a permis de prédire par une étude théorique, des inhibiteurs naturels des deux sous unités catalytiques de la CK2 ; l'apigénine et la quirécétine. Deux types de flavonoïdes naturels qu'on trouve dans l'ail (*Allium sativum*) qui peuvent être administrés par voie orale et qui ne sont pas toxiques.

Référence

- [1] Hazan C. Recherche d'inhibiteurs de haute affinité de l'ADN polymérase beta par criblage virtuel et RMN. Thèse de doctorat d'université : Biologie structurale. Toulouse : l'Université Toulouse III - Paul Sabatier. France, 258 p. (2008).
- [2] Liotta D., -Advances in molecular modeling, Ed, JAI Press, P1. (1988).
- [3] Deremble c.e.t., Laver y, r, -Macromolecular recognition. *curropin. struct. biol*, 15 (2)171–175. (2005).
- [4] Toulhoat H. -Modélisation moléculaire. bases théoriques : des propriétés microscopiques aux propriétés macroscopiques. techniques de l'ingénieur J 1-013,(2007)
- [5] Morris, G. M. and M. Lim-Wilby. Molecular docking.Molecular modeling of proteins, Springer: 365-382. (2008)
- [6] Andrea Baier et al, Inhibitory influence of natural flavonoids on human protein kinase CK2 isoforms: effect of the regulatory subunit ,*Molecular and Cellular Biochemistry* 444:35–42, (2018)
- [7] Prudent R, Moucadel V, Nguyen CH, Barette C, Schmidt F, Florent JC, Lafanechère L, Sautel CF, Duchemin-Pelletier E, Spreux E, Filhol O, Reiser JB and Cochet C Antitumor activity of pyridocarbazole and benzopyridoindole derivatives that inhibit protein kinase CK2. inhibitors.*Scientific Reports* (2010)
- [8] Kufareva I et al. Discovery of holoenzymedisrupting chemicals as substrateselective CK2 inhibitors.*Scientific Reports* , 9:15893 , (2019).
- [9] 4 seasons Eating Garlic is good for cancer prevention –american Institute for cancer . Reserche www.air.org.
- [10] Lipinski. CA ; Lombardo, F ; Dominy, BW ; Feeney, PJ. « Approches expérimentales et informatiques pour estimer la solubilité et la perméabilité dans les paramètres de découverte et de développement de médicaments ». *Avis sur Advanced Drug Delivery*. 46 (1-3) : 3-26. (2001).
- [11] Gabb J., Jackson R.M., Sternberg M.J.E. Modelling protein docking using shape complementarity, electrostatics and biochemical information. *Journal of Molecular Biology*; 272: 106-120. (1997).
- [12] Lolli G, Cozza G, Mazzorana M, et al. *Biochemistry*.;51:6097–6107. (2012).
- [13] A.Imberty,K.D.Hardman,J.P. Carver.S.Perez.Moleculair of protein-carbohydrate interction. Doching of monosaccharides in the binding site of concanavaline A. *Glycobiology*1. pp631-642 .(1991).

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

- [14] Siddiqui-Jain,A.,Drygin,D.,Streiner,N.,Chua,P.,Pierre,F.,O'Brien,S.E.,etal. CX-4945,anorallybioavailableselectiveinhibitorofproteinkinaseCK2,inhibitsprosurvivalandangiogenic signalingandexhibitsantitumorefficacy. *CancerRes.* 70, 10288–10298.doi:10.1158/0008-5472.CAN-10-1893. (2010)
- [15]Pierre,F.,Chua,P.C.,O'Brien,S.E.,Siddiqui-Jain,A.,Bourbon,P.,Had dach,M.,etal.DiscoveryandSARof5-(3-chlorophenylamino)benzo[2,6]naphthyridine-8-carboxylicacid(CX-4945),thefirstclinicalstage inhibitorofproteinkinaseCK2forthetreatmentofcancer. *J.Med.Chem.* 54, 635–654..(2011)
- [16] Hae J. Chon, Kyoung J. Bae, Yura Lee and Jiyeon Kim. The casein kinase 2 inhibitor, CX-4945, as an anti-cancer drug in treatment of human hematological malignancies.*Frontiers in Pharmacology.* | Volume 6 | Article 701, (2015).
- [17] Hae. J et al. The casein kinase 2 inhibitors, CX-4945, as an anti- cancer drug in treatment of human hematological malignancies. *Frontiers in pharmacology.* Volume6, article 70. (2015).

CONCLUSION GENERALE



CONCLUSION GENERALE

Les protéines kinases sont des cibles de choix dans les thérapies actuelles, notamment en cancérologie. Le cancer est une maladie mortelle caractérisée par une prolifération incontrôlée de cellules au sein de l'organisme. Des études récentes ont démontré le rôle déterminant d'une enzyme nommée la caséine kinase 2 (CK2) dans l'apparition de cette maladie [1]. Il s'agit d'un tétramère constitué de deux sous-unités catalytiques α , α' et de deux sous-unités régulatrices β .

Le but de notre travail est d'étudier par les méthodes de modélisation moléculaire l'inhibition des deux sous-unités catalytiques CK2 α , CK2 α' de la protéine caséine kinase II, par des flavonoïdes naturels de type flavones (Apigénine) et flavonols (Quercétine, Myricétine) présents dans l'ail (*Allium sativum*) [2] et de leurs dérivés téléchargés à partir de la banque de données PubChem.

L'ail est surnommée la pénicilline russe pour son utilisation généralisée comme un agent antimicrobien topique et systémique [3]. Sa composition chimique particulièrement diversifiée, lui permettant ainsi d'avoir de nombreux effets thérapeutiques.

Dans ce présent travail, après avoir donné une introduction générale, dans le premier chapitre, nous avons effectué une recherche bibliographique sur les protéines kinases CK2, qui sont des cibles thérapeutiques importantes pour les maladies tumorales ; en raison de leurs rôles clés dans la régulation de plusieurs voies de signalisation cellulaire [4].

Le second chapitre se divise en deux parties. La première est réservée aux généralités sur les inhibiteurs naturels des protéines kinases II :

- Les acides phénoliques
- Les caroténoïdes
- Les flavonoïdes
- Les composés organosulfurés

Et dans la deuxième partie, on a présenté la plante *Allium sativum* (Ail) en donnant sa composition chimique, sa description botanique son utilisation et on a cité les différents flavonoïdes naturels présents tel que Apigénine, quercétine et myricétine.

CONCLUSION GENERALE

Dans le troisième chapitre, nous avons exposé les méthodes de modélisation moléculaire et les logiciels utilisés. Pour prévoir la structure et la réactivité des molécules ou des systèmes de molécules aux moyens des programmes informatiques, nous avons montré l'intérêt du docking. Nous avons également introduit la notion de mécanique moléculaire qui est un outil puissant utilisé pour mieux comprendre les grands systèmes moléculaires. La définition du champ de force est aussi apportée, qui représente l'une des approximations en modélisation moléculaire et qui a pour objectif de décrire des classes entières de molécules avec une précision relativement probable.

Le dernier chapitre de ce mémoire est consacré aux résultats et discussions.

Il apparaît que la quercétine Q1 à la plus faible énergie de score **-6,4754kcal/mol** avec CK2 α , et **-6,9856 kcal/mol** avec CK2 α' , par rapport à l'apigénine (A1) et la myricétine (M1) ; donc elle présente une meilleure inhibition pour la CK2. D'autre part, on remarque que pour la CK2 α ; les composés A3, A4 et Q1 présentent une énergie de score qui se rapproche de celle du ligand de référence (ANP) et pour la CK2 α' , les composés A4 et Q3 ont l'énergie la plus proche à celle de référence (4BO). Donc, ils présentent une bonne complémentarité avec le site actif de la protéine et ils peuvent être de bons inhibiteurs. Les valeurs des distances des interactions hydrogènes de ces flavonoïdes naturels et de leurs dérivés obtenues par MOE confirment ce résultat.

Les résultats obtenus par docking moléculaire montrent que la quercétine et l'apigénine inhibent mieux les deux sites catalytiques de la CK2. Ce qui est en accord avec les valeurs des IC₅₀ des trois flavonoïdes naturels trouvés dans la littérature [5].

En mesurant les propriétés moléculaires de CX-4945 (Silmitasertib) [6,7], avec MOE ; on a trouvé qu'il possède un coefficient de partition log =4.88 proche de 5, un poids moléculaire de 349,0618 g/mol et une énergie de score de -6,5905 Kcal/mol avec 1PJK et de -7.0286 Kcal/mol avec 3OFM, avec une valeur de IC₅₀ égale à 1 μ M [8], mais il est toxique.

En conclusion, ce travail, nous a permis de prédire par une étude théorique, des inhibiteurs naturels des deux sous unités catalytiques de la CK2 ; l'apigénine et la quercétine. Deux types de flavonoïdes naturels qu'on trouve dans l'ail (*Allium sativum*) qui peuvent être administrés par voie orale et qui ne sont pas toxiques.

CONCLUSION GENERALE

References

- [1] Zhao, L.; Yuan, X.; Wang, J.; Feng, Y.; Ji, F.; Li, Z.; Bian, J. A Review on Flavones Targeting Serine/Threonine Protein Kinases for Potential Anticancer Drugs. *Bioorg. Med. Chem.* 27 (5), 677–685. (2019).
- [2] Lanzotti, V. The analysis of onion and garlic, *Journal of chromatography A* .1112:3.22. (2006)
- [3] Timbo, B. B. Ross, M. P. McCarthy, P. V., & Lin, C. T. Dietary supplements in a national survey: prevalence of use and reports of adverse events. *Journal of American Diet Association*, 106(12), 1966–1974. (2006)
- [4] Guerra B, Issinger OG. Protein kinase CK2 in human dis-eases. *Curr Med Chem* 15:1870–1886. (2008).
- [5] Lolli G, Cozza G, Mazzorana M, et al. *Biochemistry*.;51:6097–6107. (2012).
- [6] Siddiqui-Jain, A., Drygin, D., Streiner, N., Chua, P., Pierre, F., O'Brien, S.E., et al. CX-4945, an orally bioavailable selective inhibitor of protein kinase CK2, inhibits pro-survival and angiogenic signaling and exhibits anti-tumor efficacy. *Cancer Res.* 70, 10288–10298. doi:10.1158/0008-5472.CAN-10-1893. (2010)
- [7] Pierre, F., Chua, P.C., O'Brien, S.E., Siddiqui-Jain, A., Bourbon, P., Had dach, M., et al. Discovery and SAR of 5-(3-chlorophenylamino)benzo[2,6]naphthyridine-8-carboxylic acid (CX-4945), the first clinical stage inhibitor of protein kinase CK2 for the treatment of cancer. *J. Med. Chem.* 54, 635–654. (2011)
- [8] Hae. J et al. The casein kinase 2 inhibitors, CX-4945, as an anti- cancer drug in treatment of human hematological malignancies. *Frontiers in pharmacology*. Volume 6, article 70. (2015).

Résumé :

Les produits naturels présentent des vertus thérapeutiques contre différentes maladies y compris le cancer. L'activité biologique de ces produits repose essentiellement sur la présence des composés biologiquement actifs tels que les flavonoïdes.

Notre objectif de travail est d'étudier par les méthodes de modélisation moléculaire l'inhibition de la protéine kinase II (CK2) par des flavonoïdes naturels présents dans l'ail (*Allium sativum*) : l'apigéniné, quercétine et myrcétine.

La CK2 est une protéine impliquée dans diverses études pathologiques comme les maladies dégénératives, l'inflammation et le cancer, et l'ail a une composition chimique particulièrement diversifiée, lui permettant ainsi d'avoir de nombreux effets thérapeutiques.

Mots Clés : Protéine kinase CK2, Flavonoïdes, *Allium sativum*, docking moléculaire.

Abstract :

Natural products have therapeutic properties against various diseases including cancer. The biological activity of these products is essentially based on the presence of biologically active compounds such as flavonoids. Our work objective is to study by molecular modeling methods the inhibition of the protein kinase II (CK2) by natural flavonoids present in garlic (*Allium sativum*): apigenine, quercetin and myrcetin.

CK2 is a protein involved in various pathological studies such as degenerative diseases, inflammation and cancer, and garlic has a particularity diverse chemical composition, allowing it to have many therapeutic effects.

Key words: molecular docking, protein kinases II, garlic, flavonoids.

الخلاصة

للمنتجات الطبيعية خصائص علاجية ضد الامراض المختلفة بما في ذلك السرطان. و يعود النشاط البيولوجي لهذه المنتجات اساسا الى وجود مركبات نشطة بيولوجيا كالفلافونويدات.

ان هدف عملنا يتلخص في دراسة نظرية بطرق النمذجة الجزيئية لمنع نشاط البروتين كيناز 2 بواسطة الفلافونويدات الطبيعية الموجودة في الثوم مثل الابجنين- الميريسيتين و الكريسيتين.

البروتين كيناز 2 هو بروتين يشارك في عدة امراض كالالتهابات و السرطان و الثوم له تركيبة كيميائية خاصة تمكنه من علاج بعض الامراض السرطانية.

المصطلحات البورتين كيناز – الفلافونويدات- الثوم – النمذجة الجزيئية