

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبو بكر بلقايد- تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEM

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie



MEMOIRE

Présenté par

El yebdri nihel imene

Oumiloud fatima zohra

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER II en Biologie

Option : immunologie

Thème

Effet de delta tocophérol sur la kinase dépendante des cycline 8 (CDK8) dans le cancer

Soutenu le 24 juin 2024, devant le jury composé de :

Présidente	Zerhouni khadija	MCB	Université de Tlemcen
Encadrant	Miliani Maroua	MCB	Université de Tlemcen
Examinatrice	Nouari Wafa	MCB	Université de Tlemcen

Année universitaire 2023/2024

Résumé

Le cancer est une maladie caractérisée par une prolifération incontrôlée de cellules au sein d'un tissu normal de l'organisme. Des études ont montré que les cellules cancéreuses peuvent présenter des dysfonctionnements de la protéine CDK8, contribuant à leur prolifération incontrôlée. De plus, des recherches suggèrent que la vitamine E, en particulier les tocophérols γ et δ , ainsi que des mélanges naturels de tocophérols, pourraient avoir des propriétés anticancéreuses.

Notre étude visait à explorer l'impact potentiel du δ -tocophérol sur la protéine CDK8 en utilisant le docking moléculaire. Le logiciel ArgusLab a été utilisé pour effectuer le docking entre le δ -tocophérol et CDK8. Les résultats ont ensuite été visualisés à l'aide du logiciel Discovery Studio. Les structures des composés protéiques et des ligands ont été obtenues à partir des bases de données PDB et PubChem. La modélisation et la minimisation d'énergie du δ -tocophérol ont été réalisées avec le logiciel Chem3D.

Les résultats de cette simulation indiquent que le δ -tocophérol présente une forte affinité pour la protéine CDK-8, avec des énergies de liaison très faibles. Ces observations s'expliquent par la présence d'interactions hydrophobes, notamment des interactions pi-hydrophobes et mixtes pi/alkyles hydrophobes, ainsi que par une interaction électrostatique. Ces résultats suggèrent que le δ -tocophérol pourrait être un inhibiteur potentiel de la protéine CDK-8.

Mots clés : CDK-8, δ -tocophérol, Docking moléculaire, Cancer

Abstract

Cancer is a disease characterized by the uncontrolled proliferation of cells within normal body tissue. Studies have shown that cancer cells can exhibit dysfunction of the CDK8 protein, contributing to their uncontrolled proliferation. Furthermore, research suggests that vitamin E, in particular the γ and δ tocopherols, as well as natural mixtures of tocopherols, may have anticancer properties.

Our study aimed to explore the potential impact of δ -tocopherol on the CDK8 protein using molecular docking. ArgusLab software was used to perform docking between δ -tocopherol and CDK8. The results were then visualized using Discovery Studio software. The structures of the protein compounds and ligands were obtained from the PDB and PubChem databases. Modeling and energy minimization of δ -tocopherol were performed with Chem3D software. The results of this simulation indicate that δ -tocopherol has a high affinity for the CDK-8 protein, with very low binding energies. These observations can be explained by the presence of hydrophobic interactions, including pi-hydrophobic and mixed pi/alkyl hydrophobic interactions, as well as an electrostatic interaction. These results suggest that δ -tocopherol could be a potential inhibitor of the CDK-8 protein.

Key words: CDK-8, δ -tocopherol, Molecular docking, Cancer

الملخص

السرطان هو مرض يتميز بالانتشار غير المنضبط للخلايا داخل أنسجة الجسم الطبيعية. وقد أظهرت الدراسات أن الخلايا السرطانية يمكن أن يكون لديها خلل في بروتين CDK8 ، مما يساهم في تكاثرها غير المنضبط. بالإضافة إلى ذلك، تشير الأبحاث إلى أن فيتامين (هـ)، ولا سيما التوكوفيرول γ و δ توكوفيرول، وكذلك الخلائط الطبيعية من التوكوفيرول، قد يكون لها خصائص مضادة للسرطان.

كان الهدف من دراستنا هو استكشاف التأثير المحتمل لتوكوفيرول- δ توكوفيرول على بروتين CDK8 باستخدام الالتحام الجزيئي. استُخدم برنامج ArgusLab لإجراء الالتحام بين δ -tocopherol وبروتين CDK8. ثم تم تصور النتائج باستخدام برنامج Discovery Studio. تم الحصول على هياكل مركبات البروتين والرباطات من قاعدتي بيانات PDB و PubChem. تم إجراء نمذجة وتقليل طاقة δ -tocopherol باستخدام برنامج Chem3D.

تشير نتائج هذه المحاكاة إلى أن δ -tocopherol لديه تقارب عالٍ لبروتين CDK-8 ، مع طاقات ارتباط منخفضة للغاية. يمكن تفسير هذه الملاحظات من خلال وجود تفاعلات كارهة للماء، لا سيما التفاعلات الكارهة للماء π -hydrophobic والتفاعلات الكارهة للماء/ π الألكيل المختلطة، بالإضافة إلى التفاعل الكهروستاتيكي. تشير هذه النتائج إلى أن- δ توكوفيرول يمكن أن يكون مثبّطاً محتملاً لبروتين CDK-8.

الكلمات الرئيسية: CDK-8 ، δ -tocopherol ، الالتحام الجزيئي، السرطان

Remerciement

Tout d'abord, louange à **ALLAH** qui nous a guidés sur le droit chemin tout au long du travail et qui nous a donné la volonté et le courage pour accomplir ce modeste travail.

J'exprime d'abord mes profonds remerciements, ma vive reconnaissance et ma sincère gratitude à **Mme Miliani Maroua**, maitre de conférences B au Département d'immunologie, Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen, pour avoir accepté de diriger ce travail, pour son aide, ses encouragements, ses précieux conseils, sa patience, tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Que nous vifs remerciements aillent à **Mme NOUARI Wafa**. Qui nous nous a fait l'honneur d'Examinatrice de ce mémoire . Nous lui adressons également nos hommages les plus respectueux.

À **Mme Zerhouni khadidja**. Qui nous a fait l'immense honneur d'accepter d'être président le jury .

Dédicace

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...
Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude,
L'amour, le respect, la reconnaissance...
Je dédie ce modeste travail :

A la mémoire de mon père Abdelghani,

qui a tout fait pour ce que je ne manque de rien et que je sois la meilleur dans mes études et qui, je suis sûre, aurait aimé me voir arriver jusque là. J'ai toujours admiré la tendresse et l'amour que tu portais en toi. Cher papa Aucun témoignage ne saurait t'exprimer ma gratitude pour tous les sacrifices que tu as consentis pour faire de moi ce que je suis. Je te remercie pour ton soutien et tes précieux conseils. Ton amour m'est éternel. Que Dieu tout puissant t'accorde toute sa miséricorde.

A ma Mère Nouria,

Je te remercie pour ta tendresse, ton amour et ton affection. Je tiens particulièrement aujourd'hui à te dire combien ton rôle a été primordial tout au long de mes études et combien je suis fière d'être ta fille.

A ma grande sœur Chérie : ahlem hania

Ta présence à mes côtés m'a toujours donné l'impression d'être proche de toute la famille. Sans toi ma vie ne serait que simple.

A mon cher frère Khaled, ma belle sœur Bouchra et ma nièce Ritel

Sont présent dans tous mes moments d'examens par son soutien moral et ses belles surprises sucrées. Je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité.
Que Dieu vous accorde santé, succès et félicité pour
Faire de vous un couple uni et heureux à jamais.

A mon frère Ilyas, ma belle sœur Bahidja et mon adorable neveu Abdelghani Amir

En signe de l'affection et du grand amour que je vous porte,
les mots sont insuffisants pour exprimer ma profonde estime.
Que Dieu vous accorde santé, succès et félicité pour
faire de vous un couple uni et heureux à jamais.

A mon adorable amie et cousine : radjaa , pour ta fidélité.

A mon binôme nihil imene

C'est une grande fierté pour moi d'être avec toi et je vous remercie pour tous les instants inoubliables que j'ai passés avec toi.

À TOUTES LES PERSONNES QUI ONT PARTICIPÉ À L'ÉLABORATION DE CE TRAVAIL À
TOUS CEUX QUE J'AI OMIS DE CITER

Fatima zohra

Dédicace

Remerciement à dieu seul

C'est avec profonde gratitude

Je dédie ce modeste travail spécialement :

A ma mère Amina et mon père Toufik

Une source de tendresse, de noblesse et d'affection

*Qui ont sacrifié leurs vies pour ma réussite et qui ont éclairé mon
chemin par leurs conseils précieux*

*Qui n'ont jamais cessé de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse
atteindre mes objectifs*

A mon adorable petite sœur Aya

*Qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la
famille*

A mon cher Anas

*Pour son soutien moral, sa présence et son aide dans les moments
difficiles*

A mon chère amie Amina

Pour son amour et son encouragement

A mon binôme Fatima zohra

*Pour son soutien, sa patience et sa compréhension tout au long de ce
projet*

*A mes enseignants et tous mes professeurs et pour ceux qui
m'ont donné l'aide*

Que dieu vous donne santé bonheur et réussite !

Nihel Imene

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1. Les aliments riches en delta tocophérol.....	19
Tableau 3.2. Résultats de la règle de Lipinski sur Delta-tocophérol	31
Tableau 3.3. Caractéristiques du calcul (ligand-interaction).	32
Tableau 3.4. codes PDB de complexe CDK8 en complexe avec sennixine A et delta tocophérol-inhibiteur » avec leur score ΔG.....	32
Tableau 3.5. Les meilleures poses du docking moléculaire	33
Tableau 3.6. Types d'interactions entre binding site et le ligand et leurs distances.	35

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1. Représentation schématique des hallmarks du cancer	4
Figure 1.2. Immunoediting du cancer	5
Figure 1.3. Phase d'élimination	7
Figure 1.4. phase d'équilibre	8
Figure 1.5. Phase d'échappement	9
Figure 1.6. Structure cristalline de la kinase 8 dépendante de la cycline	10
Figure 1.7. Model représente l'activation de CDK8 par Med 12.	11
Figure 1.8. Modèle représente l'interaction du CKM avec le complexe médiateur central et l'ARN Pol II	12
Figure 1.9. Représentation schématique des fonctions de CDK8 dans les différentes voies de signalisation et de transcription (cercle inférieur) et leurs relations avec les conditions pathologiques (rouge) et physiologiques (violet) (cercle extérieur)	14
Figure 1.10. Mécanisme de l'effet de CDK8 sur la croissance métastatique du cancer du côlon	14
Figure 1.11. structure de différents inhibiteurs de CDK8	16
Figure 1.12. structure de vitamine E.	17
Figure 1.13. Structure de delta tocophérol	18
Figure 1.14. Représentation générale des fonctions biologiques de la vitamine E	20
Figure 1.15. Représentation schématique du Docking moléculaire	21
Figure 2.16. Structure 2D du delta tocophérol	27
Figure 2.17. Structure 3D du delta tocophérol	27
Figure 3.19. Structure 3D du complexe CDK8 et delta tocophérol (publication quality)	34
Figure 3.20. Interaction entre binding site et le ligand (Delta-tocophérol) par Discovery Studio	35
Figure 3.21. Interaction entre le ligand (Delta-tocophérol) et la liaison pi hydrophobe (Colorée en ROSE)	36

Figure 3.22. Interaction entre le ligand (Delta-tocophérol) et la liaison Alkyl hydrophobiques (colorée en bleu).	37
Figure 3.23. Interactions entre le ligand (Delta-tocophérol) et la liaison Mixed Pi/Alkyl	37
Figure 3.24. Interactions entre le ligand (Delta-tocophérol) et la liaison Electrostatic de type Pi-charge (colorée en Orange)	38

Liste d'abréviations

(cMed) : complexe médiateur	Mir -138 P5 : microRNA 138
ADN : Acide désoxyribonucléique.	Mir-181b : microRNA 181b
ALA : alanine	MMP3 : matrix metalloproteinase 3
ARG : arginine	MMP9 : matrix metalloproteinase 9
ASP : acide aspartique	MSC : cellule souche mésenchymateuse
ATP : Adénosine-Triphosphate	mTOR : mammalian target of rapamycin
BCL2 : B-cell lymphoma 2	NK : Natural killer γ-TmT : Gamma-Trimethyltryptamine
CD4 : Cluster de différenciation 4	nm : nanomètre
CD8 : Cluster de différenciation 8	PD1 : programme death 1
CDK8 : cyclin Dépendant kinase 8	PDB : Protein Data Bank
CKM :CDK dépendant kinase module	PDL1 : programme death ligand 1
Cyc : cystéine	Phe : phénylalanine
DMG : Docking moléculaire graphiques	ROS : Espèces réactives de l'oxygène
EMT : transition épithéliale mésenchymateuse	Ser : sérine
Gln : glutamine	TGF-β : Transforming growth factor beta
Glu : acide glutamique	Thr : Thréonine
His : histidine	Tim3 : Tcell immunoglobine and mucin domaine 3
IC50 : concentration inhibitrice médiane	Timp3 : Tissue inhibitors of métalloprotéinases 3
IDO : indolamine 2,3 dioxygénase	Trp : tryptophane
IFN : interféron	USA : Upstream Activating sequence
Ile : isoleucine	γδ t cells : Gamma delta T cells
NKG2D : Natural Killer Group 2	VEGF :vascular endothelial growth factor
Lag3 : Lymphocyte activation gene 3	
Leu : leucine	
MDa : malondialdéhyde	
MED12 : médiateur complexe sous-unité 12	
MED13 : médiateur complexe sous-unité 13	
Mic A/B : (MHC- classe 1 related chaîne AB)	

Table de matière

INTRODUCTION.....	1
I- Chapitre 1 : revue de la littérature	3
I. Cancer :	3
I.1. L’historique :.....	3
I.2. Définition de cancer :.....	3
I.3. Les caractéristiques d’une cellule cancéreuse : (Hallmarks du cancer).....	3
I.4. Immunosurveillance et Immunoediting :	4
II. La kinase 8 dépendante de la cycline :	9
II.1. Introduction :	9
II.2. Structure de la kinase 8 dépendante de la cycline (CDK8) :	10
II.3. Activation de CDK8 :	11
II.4. CDK8 et le médiateur complexe :	11
II.5. Rôle de CDK8 :	13
II.5.1. CDK8 contrôle le cycle cellulaire :	13
II.5.2. Le rôle de CDK8 dans le cancer :.....	14
II.6. Inhibiteurs de CDK8 :	15
III. La vitamine E :	17
III.1. La structure de la vitamine E :.....	17
III.2. La Structure chimique de delta tocophérol :	18
III.3. Le Métabolisme de la vitamine E :.....	18
III.4. Les sources alimentaires de la vitamine E :	18
III.5. Les rôles biologiques de la vitamine E :.....	19
III.6. La vitamine E et le cancer :.....	20
IV. Le Docking moléculaire :.....	21
IV.1 Définition :	21
IV.2. Les outils de Docking moléculaire :.....	22

IV.3. Les types de Docking moléculaire :	22
IV.4. Programmes :	23
I. Matériels :	25
I.1. Microordinateur :	25
I.2. Programmes :	25
II. Méthodes :	Erreur ! Signet non défini.
II.1. Source de la protéine cible :	Erreur ! Signet non défini.
II.2 Source du ligand :	Erreur ! Signet non défini.
II.3. Banques de données :	26
II.4. Préparations de la protéine :	28
II.5. Préparation du ligand :	Erreur ! Signet non défini.
II.6. Calcul des grilles de potentiel :	29
II.7. Docking moléculaire :	Erreur ! Signet non défini.
I. Résultats :	30
I.1. Règle de lipinski :	30
I.2. Réalisation du docking moléculaire :	32
II. Analyse des interactions :	34
I.1. Etude des interactions « Inhibiteurs-protéine » :	34
Conclusion :	
Référence :	

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le cancer se caractérise par une prolifération incontrôlée des cellules au sein d'un tissu normal de l'organisme, conduisant à la formation de tumeurs. Ces tumeurs, en grandissant, envahissent les tissus sains et altèrent le fonctionnement normal de l'organisme (**Sarkar et al. 2013**). CDK8 est une kinase nucléaire de sérine-thréonine qui agit comme régulateur transcriptionnel. Bien que la plupart des connaissances sur CDK8 découlent de son association avec le complexe Médiateur, seule une fraction de CDK8 est liée à ce complexe dans les cellules. Cela suggère que CDK8 peut également jouer des rôles indépendants de ce complexe. Des recherches récentes ont mis en lumière le rôle crucial de CDK8 dans le développement et la progression du cancer. CDK8 est surexprimé dans divers types de cancer, y compris le cancer du sein, du poumon, du côlon et du pancréas. Cette surexpression est associée à une prolifération cellulaire accrue, une résistance au traitement et une mauvaise survie des patients. (**Galbraith, Donner, et Espinosa 2010**)

La vitamine E, composée de tocophérols et de tocotriénols, est principalement connue pour ses propriétés antioxydantes. (**Ungurianu et al. 2021**). Au cours des trois dernières décennies, l'intérêt pour la vitamine E et ses effets anticancéreux a considérablement grandi, motivant de nombreux essais cliniques. Ces essais visent à évaluer les propriétés anticancéreuses du delta-tocophérol (δ -tocophérol), une forme importante de la vitamine E, s'appuyant sur l'observation que de nombreux cancers sont associés à un stress oxydatif élevé. (**Jiang, 2014**).

Le docking moléculaire s'est imposé comme un outil incontournable dans le développement de médicaments *in silico* ces dernières années. Cette technique offre aux chercheurs la possibilité d'analyser le comportement de petites molécules, telles que les nutraceutiques, au sein du site de liaison d'une protéine cible et de comprendre les processus biochimiques essentiels qui soutiennent cette interaction. Fondée sur la structure, la méthode nécessite une représentation 3D à haute résolution de la protéine cible, obtenue par cristallographie aux rayons X, spectroscopie par résonance magnétique nucléaire ou cryomicroscopie électronique. Divers outils informatiques et algorithmes, qu'ils soient commerciaux ou gratuits, sont disponibles pour effectuer des simulations de docking moléculaire. (**Agu et al., 2023**).

INTRODUCTION

Dans cette optique, nous proposons d'utiliser le docking moléculaire pour effectuer une simulation bio-informatique et explorer l'impact du δ -tocophérol, un inhibiteur potentiel, sur la kinase 8 dépendante de la cycline (CDK8).

I- Chapitre 1 : revue de la littérature

I. Cancer :

I.1. L'historique :

Le terme "cancer" a été créé par Hippocrate (460-370 av. J.-C.) à partir du mot grec "karkinos" pour désigner les tumeurs carcinomateuses, mais il n'était pas le premier à en avoir découvert l'existence (**Platel, 2009**). Des traces de cette maladie redoutée ont été retrouvées dans des momies égyptiennes datant de 1600 avant J.-C., témoignant des premiers cas avérés de cancer des os chez l'homme.

Le premier cas de cancer du sein documenté à l'échelle mondiale remonte à 1500 avant J.-C., également dans l'Égypte ancienne (**Sudhakar, 2009**). A cette époque, aucun traitement curatif n'existait, et les soins se limitaient aux mesures palliatives. Les tumeurs malignes superficielles étaient toutefois retirées, employant des techniques similaires à celles pratiquées aujourd'hui.

I.2. Définition de cancer :

Le cancer est un processus complexe qui transforme une cellule normale en néoplasme. Au cœur du développement du cancer se trouvent des perturbations majeures de la signalisation et du métabolisme cellulaires, entraînant une division anarchique et la survie de cellules altérées. De nombreux facteurs, molécules et conditions ont été identifiés comme les instigateurs de l'apparition et de la progression de cette maladie. Parmi eux, l'accumulation progressive de mutations somatiques au cours du développement du cancer joue un rôle crucial. (**Upadhyay, 2021**).(**Lakatos et al., 2020**).

Chaque année, le cancer fait 10 millions de victimes dans le monde, ce qui témoigne de sa prévalence et de sa gravité persistantes (**Chen et al., 2023**). Face à ce fléau, la recherche scientifique s'intensifie pour décrypter les mécanismes complexes du cancer et développer des traitements toujours plus efficaces.

I.3. Les caractéristiques d'une cellule cancéreuse : (Hallmarks du cancer)

Le cancer se caractérise par une multitude de génotypes de cellules cancéreuses. Malgré cette diversité, ces cellules partagent six altérations fondamentales de la physiologie cellulaire qui, ensemble, orchestrent la croissance maligne : l'autosuffisance en signaux de croissance, l'insensibilité aux signaux inhibiteurs de croissance, l'évasion de la mort cellulaire programmée (apoptose), la capacité de réplication infinie, l'angiogenèse soutenue, et l'invasion tissulaire suivie de métastases (**Hanahan et Weinberg 2000**).

Les avancées conceptuelles réalisées au cours de la dernière décennie ont permis des progrès significatifs dans la compréhension du cancer. Hanahan et ses collègues ont ajouté à leur liste

Chapitre 1. Revue de la littérature

quatre caractéristiques principales du cancer. Deux de ces caractéristiques sont émergentes : la reprogrammation du métabolisme énergétique et l'échappement à la réponse immunitaire. Les deux autres sont le microenvironnement inflammatoire qui favorise la formation de tumeurs et l'instabilité génétique (Hanahan et Weinberg, 2011).

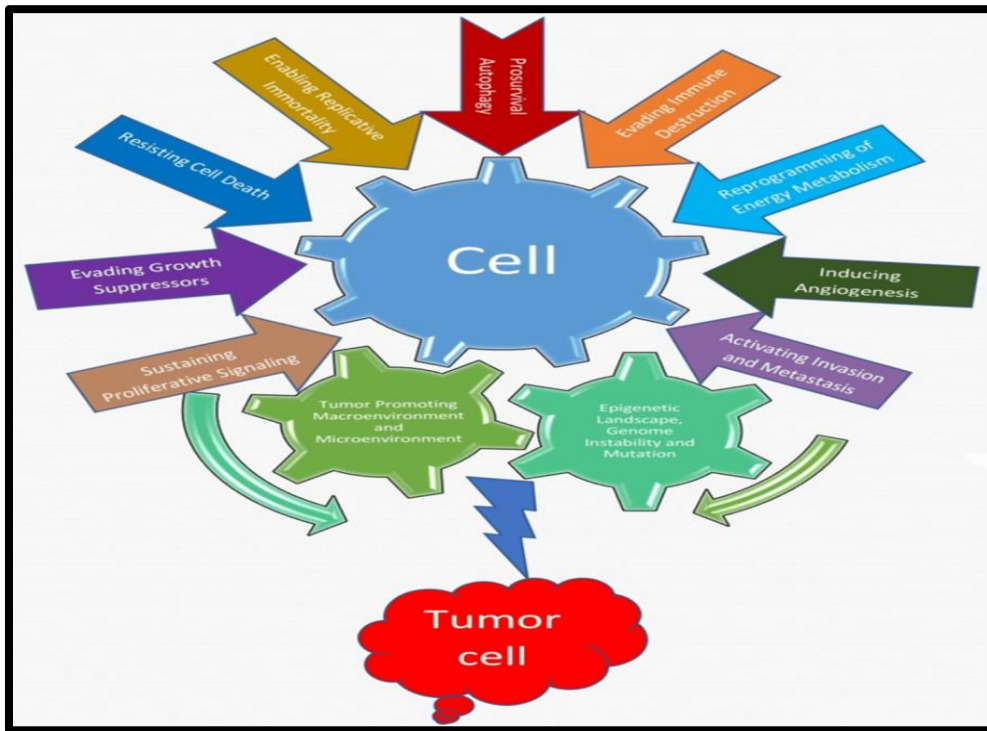


Figure 1.1. Représentation schématisée des hallmarks du cancer (Ravi et al. 2022)

I.4. Immunosurveillance et Immunoediting :

Dès les années 1950, le concept d'immunosurveillance des tumeurs a émergé, révélant le rôle crucial du système immunitaire dans la lutte contre le cancer (Burnet, 1957). Ce système de défense complexe agit comme une sentinelle pour la reconnaissance et l'élimination des cellules néo-transformées à l'origine des cancers (Martin et Lewis, 2020). (Lorenzo-Herrero et al., 2019). Dans le meilleur des cas, cette immunosurveillance permet d'éliminer complètement les tumeurs naissantes ou de les maintenir en état de dormance non évolutive (Kim et Cho, 2022). Des études approfondies réalisées pendant plusieurs années montrent que, bien que le système immunitaire joue un rôle protecteur contre le développement du cancer, il contribue également à modeler les tumeurs émergentes en favorisant des variants tumoraux moins immunogènes. Ce concept, appelé "immunoédition du cancer", a été introduit pour définir un processus dynamique dans lequel l'immunité agit non seulement comme un suppresseur extrinsèque de la tumeur, mais aussi comme un facteur influençant l'immunogénicité de la tumeur. Ce

Chapitre 1. Revue de la littérature

processus est classiquement divisé en trois phases : élimination, équilibre et échappement (Borroni et Grizzi, 2021).

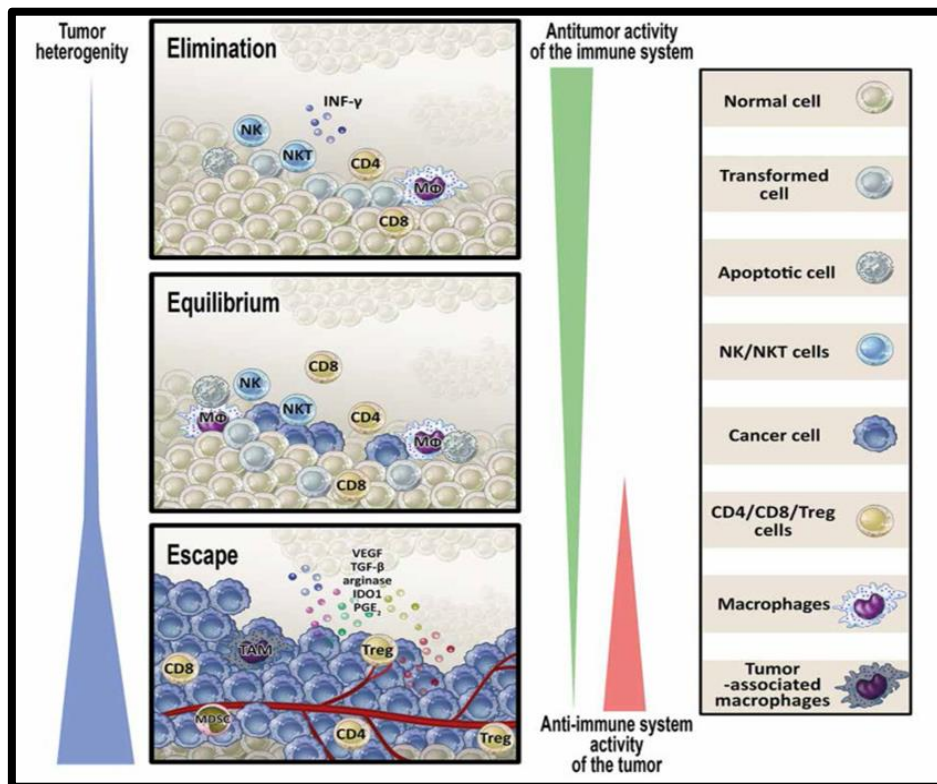


Figure 1.2. Immunoediting du cancer (Lasek 2022).

Les relations entre les cellules transformées/tumorales et la réponse antitumorale protectrice sont expliquées par l'hypothèse d'immunoédition du cancer. Ce processus comprend trois étapes : l'élimination, l'équilibre et la fuite. Lors de la phase d'élimination, les cellules transformées sont détruites par des mécanismes effecteurs antitumoraux. Certaines de ces cellules peuvent survivre et entrer dans la phase d'équilibre, durant laquelle des variantes de cellules cancéreuses capables d'échapper à l'attaque immunitaire sont générées. Dans la phase d'évasion, la tumeur se développe progressivement grâce à l'immunosuppression locale, qui permet d'éviter la réponse antitumorale.

I.4.1. Phase d'élimination :

L'élimination constitue la première phase de l'immunoédition du cancer, au cours de laquelle les systèmes immunitaires inné et adaptatif collaborent pour éradiquer la tumeur naissante. Ce processus aboutit à la destruction de la tumeur et à la restauration de l'homéostasie ou à la normalisation des tissus (Gubin et Vesely, 2022). Les cellules tumorales expriment des

Chapitre 1. Revue de la littérature

molécules de stress comme la calréticuline de surface, des antigènes tumoraux en association avec les molécules du CMH de classe I et/ou des ligands NKG2D, reconnus respectivement par les cellules effectrices CD8⁺ et les cellules NK. Les cellules dendritiques (CD) peuvent également capturer et présenter de manière croisée des antigènes tumoraux aux cellules T, y compris les cellules NKT (qui reconnaissent les antigènes glycolipidiques présentés via CD1d). Ces cellules effectrices activées libèrent de l'IFN- γ , lequel peut avoir des effets anti-tumoraux en inhibant la prolifération des cellules tumorales et l'angiogenèse. Les lymphocytes T CD8⁺ peuvent provoquer l'apoptose des cellules tumorales en interagissant avec les récepteurs Fas et TRAIL sur ces cellules, ou en libérant de la perforine et des granzymes. Les cellules T effectrices expriment des molécules co-stimulatrices comme CD28, CD137, GITR et OX40, qui augmentent leur prolifération et leur survie. Les lymphocytes T $\gamma\delta$ peuvent aussi reconnaître et tuer les tumeurs exprimant des ligands NKG2D (comme MICA/B chez l'homme). Les cellules immunitaires innées, telles que les macrophages (M1) et les granulocytes, participent également à l'immunité anti-tumorale en sécrétant TNF- α , IL-1, IL-12 et des espèces réactives de l'oxygène (ROS). Durant la phase d'élimination, l'équilibre penche en faveur de l'immunité anti-tumorale grâce à une augmentation de l'expression des antigènes tumoraux, des molécules du CMH de classe I, des récepteurs Fas et TRAIL sur les cellules tumorales, ainsi que de la perforine, des granzymes, de l'IFN- $\alpha/\beta/\gamma$, de l'IL-1, de l'IL-12 et du TNF- α dans le microenvironnement tumoral. (Mittal et al. 2014)

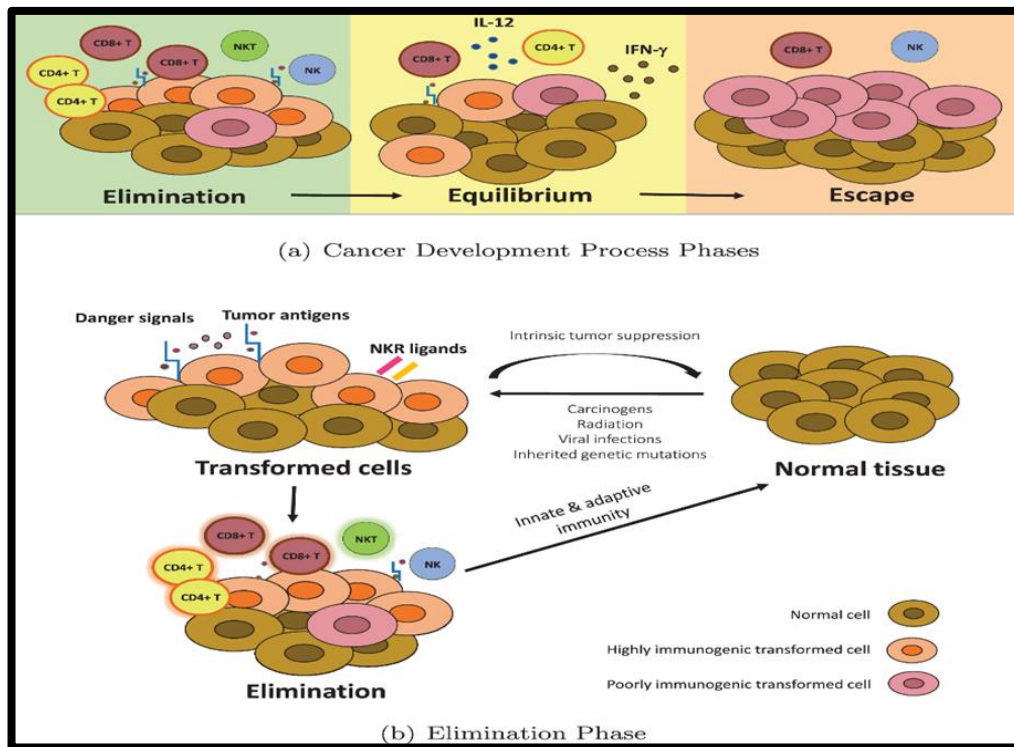


Figure 1.3. Phase d'élimination (Schreiber, Old, et Smyth 2011)

I.4.2. Phase d'équilibre :

Lors de la phase d'équilibre, les cellules immunitaires régulent et contrôlent la croissance tumorale et le développement des métastases. Cette phase est à l'origine de l'hypothèse expliquant la longue période de latence entre l'événement de transformation tumorale et l'apparition d'une maladie maligne. Selon cette théorie, l'équilibre peut être la phase la plus longue de l'immunoédition, durant laquelle les cellules tumorales acquièrent des mutations permettant d'échapper au système immunitaire, ce qui peut conduire à une maladie cliniquement identifiable (Pandya et al., 2016).

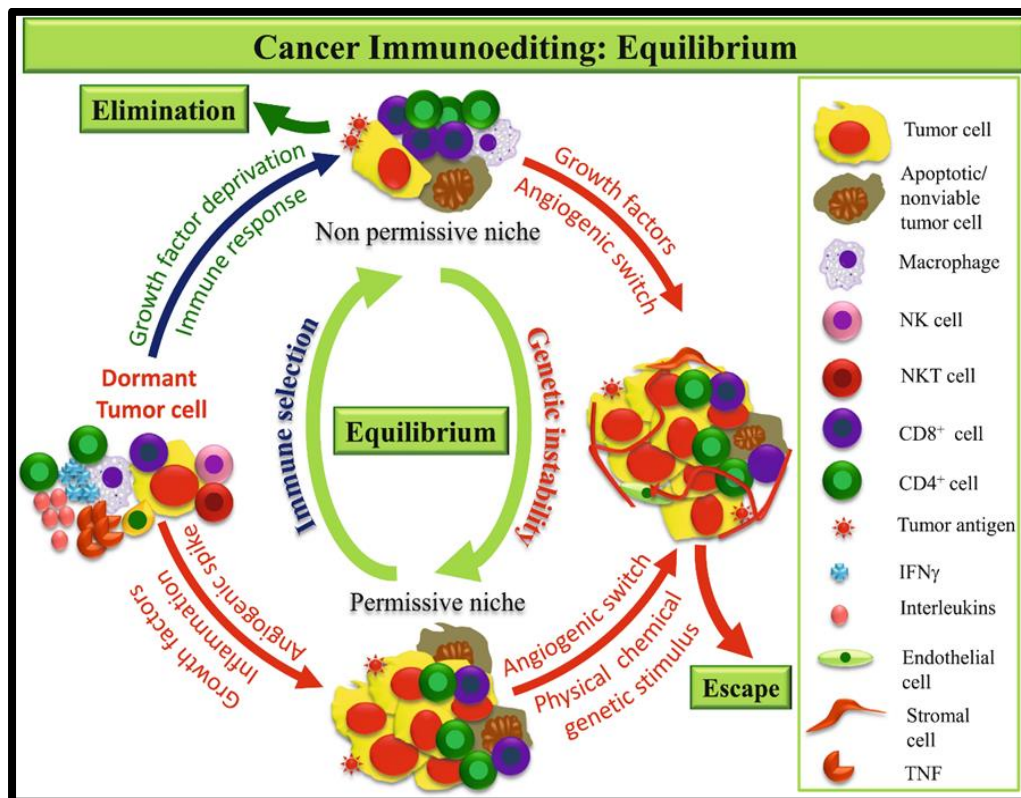


Figure 1.4. phase d'équilibre (Bhatia et Kumar 2011)

Certaines cellules cancéreuses ont la capacité de résister à l'élimination et d'entrer en état de dormance. En tant qu'immunogènes, ces cellules déclenchent une forte réponse inflammatoire, accompagnée de la libération de différentes molécules telles que l'IFN γ , l'IL et le TNF, par les cellules immunitaires adaptatives. Ainsi, lors de la première phase d'équilibre, les cellules tumorales sont en dormance, avec un faible taux d'apoptose et aucune croissance maligne accrue.

I.4.3 Phase d'échappement :

L'échappement des cellules tumorales peut se produire par divers mécanismes. Ces mécanismes incluent une réduction de la reconnaissance immunitaire, telle que l'absence d'antigènes tumoraux forts ou la perte de molécules CMH de classe I. De plus, les cellules tumorales peuvent acquérir une résistance accrue à l'apoptose, favorisée par une augmentation de l'expression de protéines comme STAT-3 ou la molécule anti-apoptotique Bcl2. En outre, le microenvironnement tumoral peut devenir immunosuppresseur grâce à des cytokines telles que le VEGF et le TGF- β , ainsi qu'à des molécules immuno-régulatrices comme IDO, PD-1/PD-L1, Tim-3/galectine-9 et LAG-3 (Mittal et al., 2014).

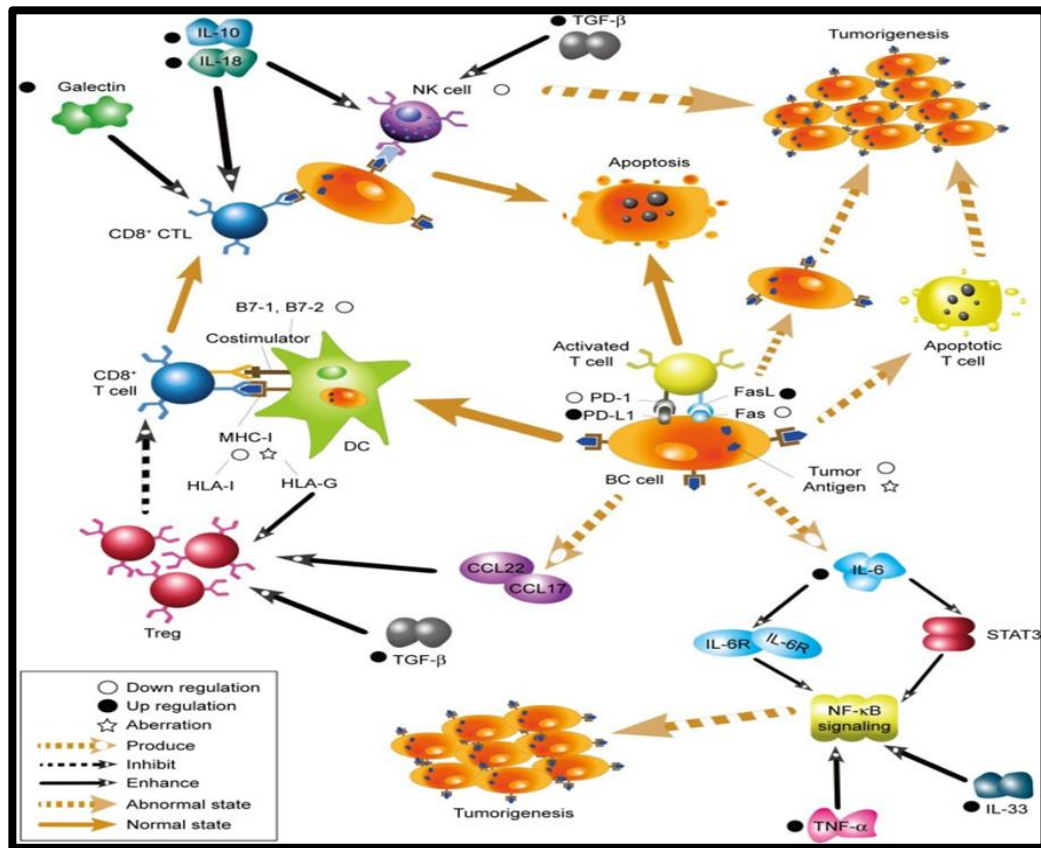


Figure 1.5. Phase d'échappement (Wang et al. 2017)

TGF beta:transforming growth factor beta **Pd1**: programme death **Pd11**:programme death ligand1 **NF-kb**:nuclear factor kappa b **Treg**:lymphocyte t régulateur **Stat**:signal transducers and activation of transcription **IL**: interleukine **CD**: clusteres différenciation **HLA**: humain leucocytaires humain **CMH**: complexe majeur d'histocompatibilité **CTL** : lymphocyte T cytotoxique

II. La kinase 8 dépendante de la cycline :

II.1. Introduction :

Les membres de la famille des protéines kinases dépendantes de la cycline (CDK) ont été identifiés comme des kinases spécifiques à la sérine/thréonine, activées par l'expression des cyclines. Elles se répartissent en deux groupes fonctionnels : les régulateurs de la progression du cycle cellulaire et ceux de la transcription (Wood et Endicott, 2018).

Les CDK participent à de nombreux processus vitaux tels que le cycle cellulaire, la transcription, la communication cellulaire, le métabolisme et l'apoptose. Elles sont organisées en une cascade régulatrice pour garantir que chaque cellule, lors de sa division, reproduise son ADN et assure une répartition équitable entre ses deux cellules filles (Łukasik, Załuski, et Gutowska, 2021).

Chapitre 1. Revue de la littérature

La kinase 8 dépendante de la cycline (CDK8) est un sous-type de la famille des CDK. Elle est associée à MED12, MED13 et CycC dans un complexe protéique nommé CKM (module CDK8), qui régule l'interaction du complexe médiateur avec l'ARN polymérase II (**Friedson et Cooper, 2021**).

II.2. Structure de la kinase 8 dépendante de la cycline (CDK8) :

La kinase 8 dépendante de la cycline (CDK8) se compose de deux régions distinctes : une région N-terminal allant des résidus 1 à 96 et une région C-terminal couvrant les résidus 97 à 356. Les résidus actifs se trouvent dans ces deux régions, reliées par une charnière constituée des résidus Asp98, Thr99, Ala100 et Gln101. La zone catalytique se situe près de cette charnière, formant un sillon entre les deux zones contenant également des résidus actifs.

Le domaine N-terminal du site de liaison à l'ATP comporte un motif DMG unique, qui peut fonctionner de deux manières : en mode DMG-in, où de petites molécules se lient à une poche hydrophobe peu profonde composée de résidus Arg356, Ile158, Ala155, His106 et Trp105, et en mode DMG-out, où les composés traversent cette région pour atteindre une capsule profonde formée par les résidus Leu70, Leu73, Ser62, Arg65 et Phe176 (**Ma et al., 2020**).

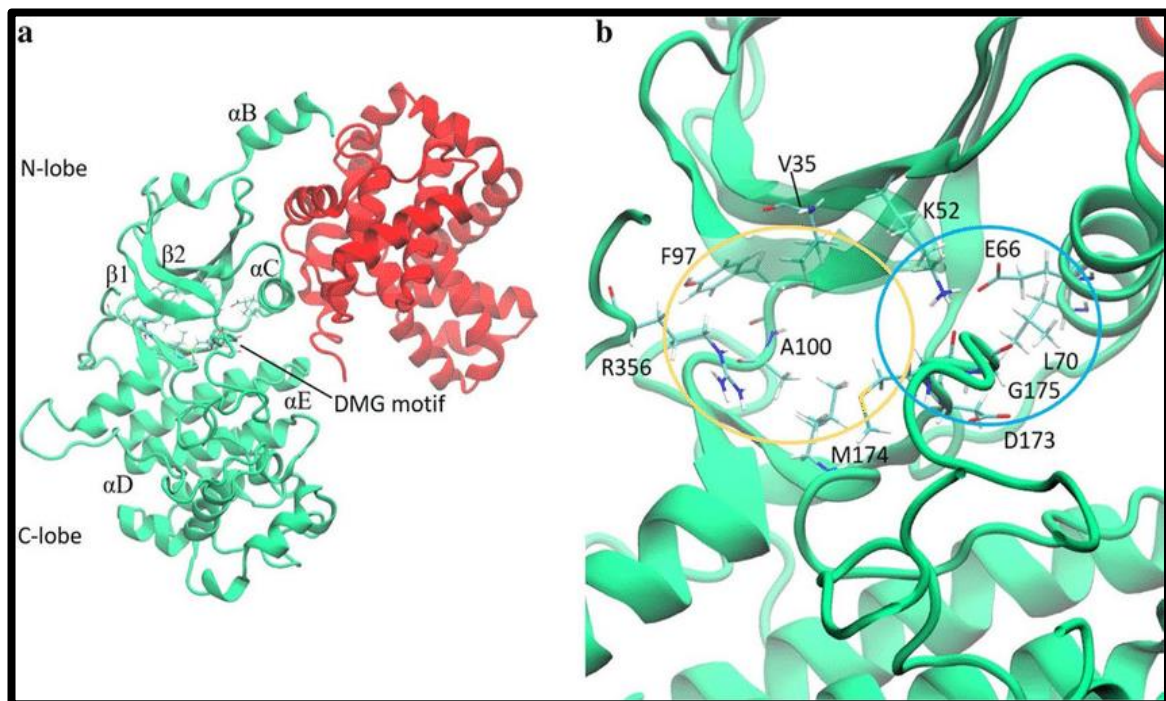


Figure 1.6. Structure cristalline de la kinase 8 dépendante de la cycline

a) CDK8 est représenté en vert et Cyclin C en rouge. b) Vue rapprochée de la poche de liaison de CDK8 : Les ovales jaune et bleu entourent approximativement les sites de liaison à l'ATP et les sites allostériques (poche hydrophobe) (**Cholko et al. 2018**).

II.3. Activation de CDK8 :

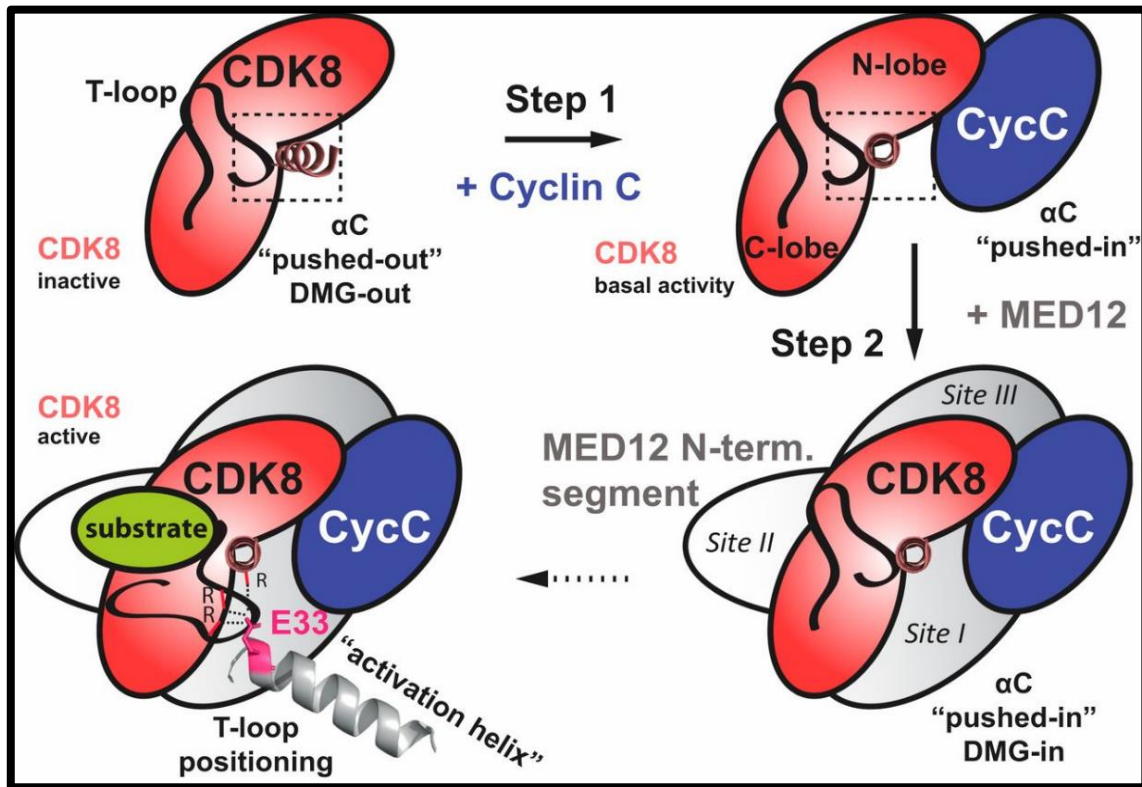


Figure 1.7. Model représente l'activation de CDK8 par Med 12. (Klatt et al. 2020)

Étape 1 : La cycline C se lie à CDK8 et pousse l'hélice C de CDK8 dans une conformation "push". Cet événement de liaison entraîne une activité kinase basale essentiel à la formation du site actif de CDK8.

Étape 2 : Le complexe ternaire est stabilisé et activé grâce à la liaison de MED12 à CDK8/cycline C. Une hélice d'activation dans MED12 entre en contact et stabilise la boucle T de CDK8, ce qui active ainsi la kinase. L'interaction d'un résidu acide à l'extrémité N-terminale de l'hélice d'activation de MED12 (Glu-33) avec la triade d'arginine de CDK8 (Arg-65, Arg-150 et Arg-178) est probablement responsable de ce contact. De plus, la liaison de MED12 favorise l'adoption de la conformation DMG-in par le site actif de CDK8, améliorant ainsi son activité.

II.4. CDK8 et le médiateur complexe :

Le complexe médiateur central est un complexe multiprotéique et un coactivateur transcriptionnel d'un poids moléculaire supérieur à 1 MDa. Il est composé de 25 sous-unités chez la levure et de 30 sous-unités chez l'homme, formant une structure à trois niveaux : la "tête", le "milieu" et la "queue" (Verger, Monté, et Villeret 2019).

Chapitre 1. Revue de la littérature

Les signaux des activateurs de transcription liés aux régions amplificatrices sont transmis par le médiateur à la machinerie de transcription, qui est assemblée au niveau des promoteurs sous forme de complexe de pré-initiation (PIC), afin de contrôler l'initiation de la transcription (Soutourina 2018).

Le module CDK8 (CKM) est une partie dissociable du médiateur, constitué de quatre sous-unités : MED12, MED13, CDK8 et cycline C. Le CKM joue un double rôle, négatif et positif, dans la transcription des gènes. En conditions normales, le CKM se lie au complexe médiateur central (cMed), empêchant ce dernier de s'associer au complexe de pré-initiation (PIC) de la polymérase II. Cependant, en conditions de stress, l'activité kinase de CDK8 dans le CKM peut libérer le médiateur, permettant ainsi sa liaison au complexe d'initiation de la polymérase II. En effet, "l'activité kinase de CDK8 est essentielle pour activer les gènes en réponse au choc thermique *in vivo*, mais pas dans des conditions de croissance normale stable" (Osman et al. 2021).

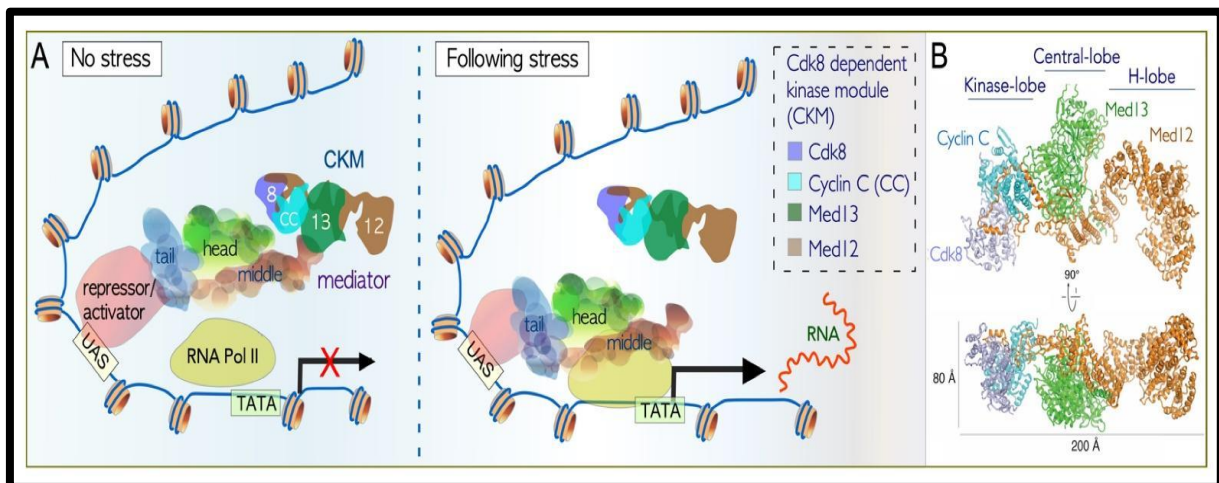


Figure 1.8. Modèle représente l'interaction du CKM avec le complexe médiateur central et l'ARN Pol II (Friedson et Cooper 2021)

A : Dans les cellules non stressées, le CKM s'associe au médiateur sur les sites UAS trouvés près des promoteurs, par l'interaction de Med13 avec le médiateur. Cela inhibe l'interaction entre le médiateur et l'ARN pol II, empêchant ainsi la formation du PIC et la transcription de l'ARNm. En réponse au stress, le CKM se détache du médiateur, permettant la formation du PIC et la transcription de l'ARNm. D'autres répresseurs ou activateurs participent également à la régulation de la transcription en se liant à des motifs UAS (Upstream Activating Sequence).

B : Structure du complexe CKM de levure révélée par cryo-microscopie électronique et spectrométrie de masse.

II.5. Rôle de CDK8 :

La CDK8 joue un rôle crucial dans le contrôle de l'expression génique et la signalisation cellulaire, influençant divers processus biologiques tels que le développement, la différenciation et la réponse au stress. La CDK8 est également impliquée dans la régulation de la transcription de gènes essentiels pour la croissance et la survie des cellules cancéreuses. (Yamada et al. 2022)

II.5.1. CDK8 contrôle le cycle cellulaire :

La CDK8 est identifiée comme un acteur nécessaire dans le contrôle de cycle cellulaire et aussi un régulateur essentiel de l'apoptose des cellules β pancréatique dans des conditions de stress oxydatif. (Xue, Scotti, et Stoffel 2019)

CDK8 agit comme un coactivateur dans le programme transcriptionnel de p53, favorisant une liaison renforcée aux gènes cibles de p53 qui est positivement associée à l'activité transcriptionnelle. Le gène p21, une cible régulée par CDK8, joue un rôle clé en tant que régulateur négatif des complexes CDK1 et CDK2, et est essentiel pour l'arrêt du cycle cellulaire induit par p53. (Donner et al. 2007)

CDK8 participe à la régulation du cycle cellulaire et encourage la prolifération dans plusieurs types de tumeurs. En particulier, dans le carcinome non à petites cellules (CPNPC), une surexpression de CDK8 diminue partiellement l'effet de l'arrêt en phase G0/G1 induit par miR-138-5p, ce qui favorise la croissance tumorale. (Xing et al. 2019).

II.5.2. Le rôle de CDK8 dans le cancer :

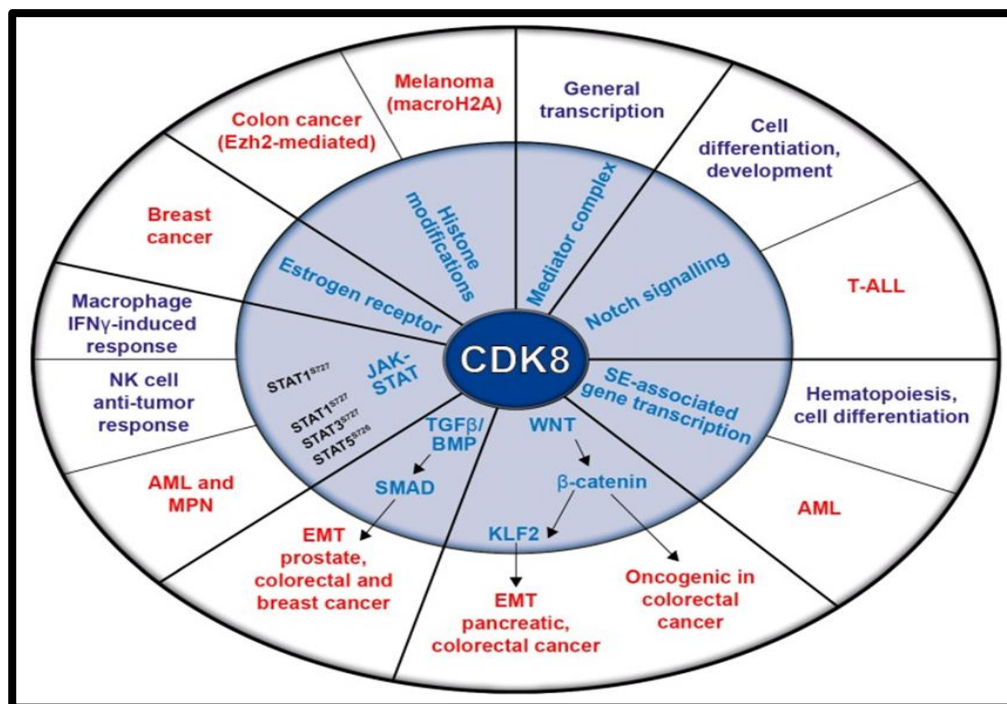


Figure 1.9. Représentation schématique des fonctions de CDK8 dans les différentes voies de signalisation et de transcription (cercle inférieur) et leurs relations avec les conditions pathologiques (rouge) et physiologiques (violet) (cercle extérieur) (Menzl, Witalisz-Siepracka, et Sexl 2019)

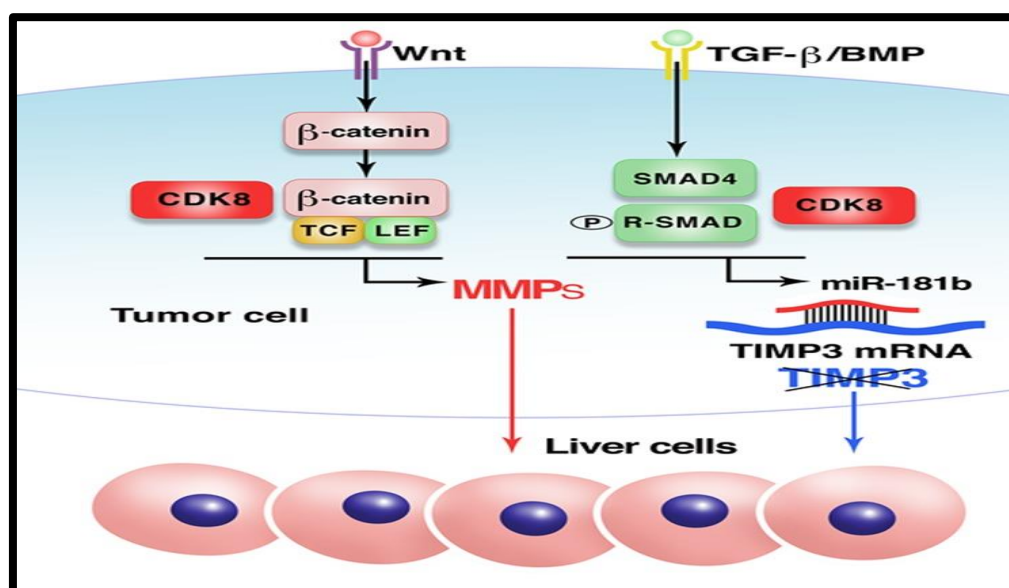


Figure 1.10. Mécanisme de l'effet de CDK8 sur la croissance métastatique du cancer du côlon. (Liang et al. 2019)

Chapitre 1. Revue de la littérature

L'inhibition de l'expression de la protéine de la matrice extracellulaire TIMP3 a été impliquée dans la suppression angiogénèse et la croissance invasive. L'expression de TIMP3 est supprimée par CDK8 en stimulant la transcription de TGF β /SMAD d'un micro ARN qui cible le TIMP3, miR-181b. Cela fournit un mécanisme nouveau largement utilisé pour réguler négativement l'expression des gènes par CDK8. L'induction de l'expression de certaines métalloprotéinases matricielles (MMP), notamment MMP3 dans les cellules murines et MMP9 dans les cellules humaines, était un autre facteur contribuant à l'activité pro-métastatique de CDK8.

La CDK8 est identifiée comme un biomarqueur tumoral dans divers cancers tels que le cancer du sein, de l'ovaire, de l'estomac, ainsi que la leucémie myéloïde aiguë. Elle agit comme un régulateur positif et négatif de la transcription des gènes (**Łukasik, Załuski, et Gutowska 2021**). La CDK8 a été initialement identifiée comme un oncogène surexprimé ou amplifié dans le carcinome du côlon. Il a été découvert que CDK8 contribue à la transcription dépendante de la β -caténine en activant la voie Wnt et en favorisant la prolifération du cancer colorectal (**Bian et al. 2020**). Les cellules cancéreuses du côlon ont montré une incapacité à proliférer et ont été arrêtées en phase G0/G1 lorsque CDK8 a été inhibée (**He et al. 2011**).

Des études récentes ont montré une corrélation inverse entre la survie sans récurrence et le niveau de CDK8 chez les patients atteints de cancer du sein triple négatif (TNBC). Ces études ont démontré que CDK8 participe à la cytotoxicité des cellules Natural Killer (NK). L'inactivation de CDK8 dans les cellules TNBC prévient les métastases et altère la repousse tumorale après une ablation chirurgicale. La clairance des cellules tumorales médiée par le système immunitaire est facilitée, et l'absence de CDK8 perturbe la transition épithélio-mésenchymateuse (EMT). Il a été confirmé que CDK8 joue un rôle clé dans l'évasion immunitaire médiée par les cellules NK dans le cancer du sein triple négatif (**Knab et al. 2021**).

II.6. Inhibiteurs de CDK8 :

II.6.1. Inhibiteurs de types I :

Les inhibiteurs ciblent la conformation active de CDK8/CycC en occupant la région de liaison de l'ATP. Ils forment une liaison hydrogène avec le résidu Ala100 dans la région charnière, interagissent avec le résidu Phe97, établissent un contact de liaison hydrogène avec les résidus Lys52 ou Asp173, et interagissent également avec Arg356. Le CCT251545, la senexine A et la cortistatine A présentent les caractéristiques typiques des inhibiteurs de type I de CDK8 (**Wang et al. 2017**). Le CCT251545 est un inhibiteur puissant et sélectif de la signalisation WNT, avec un IC₅₀ de 5 nM. Il est utilisé comme sonde chimique pour étudier la fonction des kinases

Chapitre 1. Revue de la littérature

CDK8 et dans les maladies humaines *in vitro*. Le CCT251545 a démontré une suppression significative de la croissance tumorale chez des modèles de souris porteurs de xénogreffes de cancer colorectal humain (Guo et al. 2019). La cortistatine A, un produit naturel dérivé d'une éponge, est un inhibiteur compétitif de CDK8 à l'ATP ($IC_{50} = 15 \text{ nM}$). Elle utilise la quinoléine pour entrer en contact avec la charnière segmentale de la kinase, et le noyau stéroïdien établit des contacts étroits avec la cavité de liaison à l'ATP. La cortistatine A montre une sélectivité exceptionnelle pour la kinase CDK8 et la kinase étroitement apparentée CDK19 (Hatcher et al. 2018).

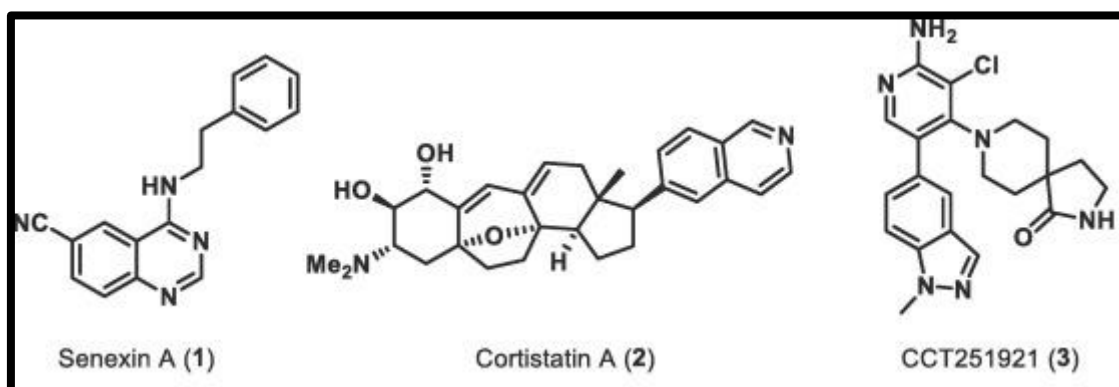


Figure 1.11. structure de différents inhibiteurs de CDK8.(Solum et al. 2020)

II.6.2. Inhibiteurs de type II :

Les inhibiteurs de type II se fixent à la conformation DFG-out de CDK8/CycC et occupent la poche hydrophobe profonde. Ils forment des liaisons hydrogène avec les résidus Lys52 et Glu66, perturbant ainsi le pont salin formé entre ces résidus. La caractéristique distinctive des inhibiteurs de type II de CDK8 est leur interaction hydrophobe robuste avec cette poche profonde, entourée par Leu70, Leu69, Val147, Leu73, Leu142, Val78 et Tyr32, comme c'est le cas avec le sorafénib (Wang et al. 2017).

Le sorafénib est un inhibiteur hautement sélectif de CDK8. Les informations structurales de CDK8 liées au sorafénib ont servi de base pour développer une nouvelle série d'inhibiteurs de type II de CDK8. Le cycle 4-pyridyl distal (fragment de N-méthylpicolinamide) du sorafénib occupe la poche de liaison à l'ATP adénine du domaine kinase et interagit de manière bidentée avec la région charnière via des liaisons hydrogène entre la fraction N-méthylpicolinamide et le squelette Ala100. Le 3-trifluorométhyl-4-chlorophényle lipophile s'insère dans la poche profonde et établit une interaction hydrophobe avec le Phe176. Par conséquent, des dérivés tricycliques de la pyrido[2,3b][1,5]benzoxazépine-5(6H)-one ont été développés, fabriqués et testés pour leur activité sur CDK8. L'un de ces dérivés a été identifié comme l'inhibiteur le plus

Chapitre 1. Revue de la littérature

puissant de la série, avec un IC₅₀ de 8,25 nM, soit quatre fois plus puissant que le sorafénib (Martínez-González et al. 2020).

III. La vitamine E :

La vitamine E a été découverte en 1922 aux États-Unis. Initialement connue sous le nom de facteur X, elle a ensuite été rebaptisée tocophérol ou vitamine E. Cette vitamine liposoluble a fait l'objet de nombreuses recherches et études cliniques. Présente en grande quantité dans les huiles végétales, la vitamine E possède de puissantes propriétés antioxydantes et exerce un effet protecteur sur les membranes cellulaires (Mohd Mutalip, Ab-Rahim, et Rajikin 2018).

III.1. La structure de la vitamine E :

La vitamine E se compose de 8 composés liposolubles, divisés en deux groupes principaux : les tocophérols et les tocotriénols. Ces composés sont classés en quatre types : alpha, bêta, gamma et delta. Les tocophérols et les tocotriénols ont une structure chimique similaire, caractérisée par une chaîne latérale de 16 carbones attachée à la position 2 d'un cycle benzopyrène. Cependant, ils diffèrent par la saturation de leur chaîne latérale : les tocophérols possèdent une chaîne entièrement saturée, tandis que les tocotriénols ont une chaîne insaturée. Les différents homologues sont nommés en fonction de la position et du nombre des groupes méthyle liés au cycle phénolique (Gamma et Spriano 2021)

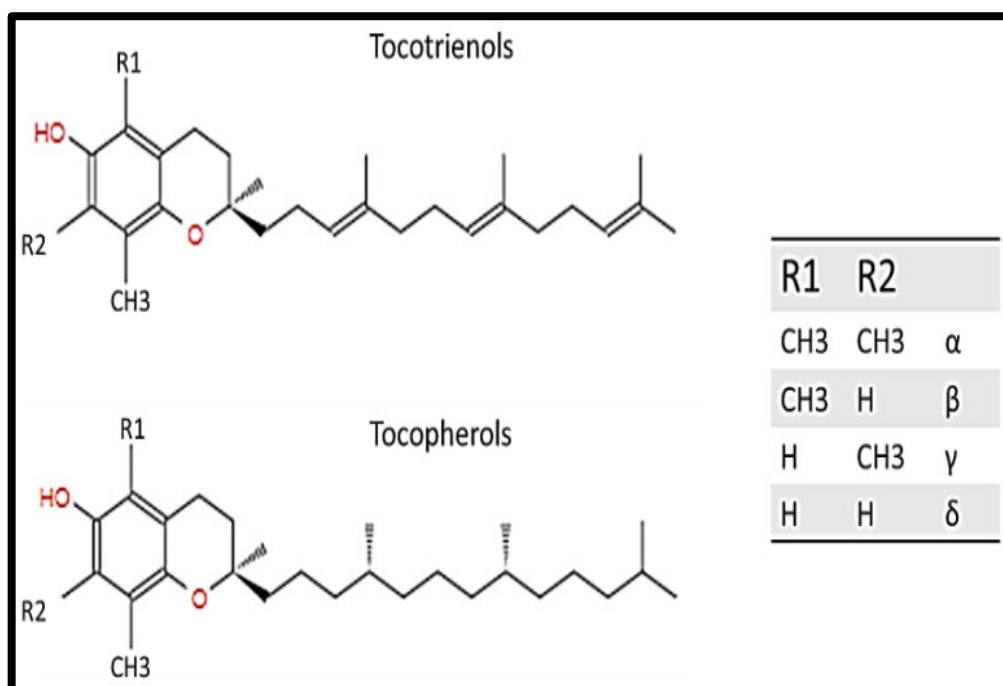


Figure 1.12. structure de vitamine E.(Gamma et Spriano 2021)

III.2. La Structure chimique de delta tocophérol :

Le delta-tocophérol est un isomère de la vitamine E faisant partie des composés organiques connus sous le nom de « tocophérols ». Sa structure se distingue chimiquement par la présence d'une chaîne triméthyltridécylo saturée, attachée à l'atome de carbone C6 d'un système cyclique benzopyrane. Une autre caractéristique distinctive est la présence d'un groupe méthyle à la position 8 du noyau chroman-6-ol du tocophérol (Kutushev et al. 1979)

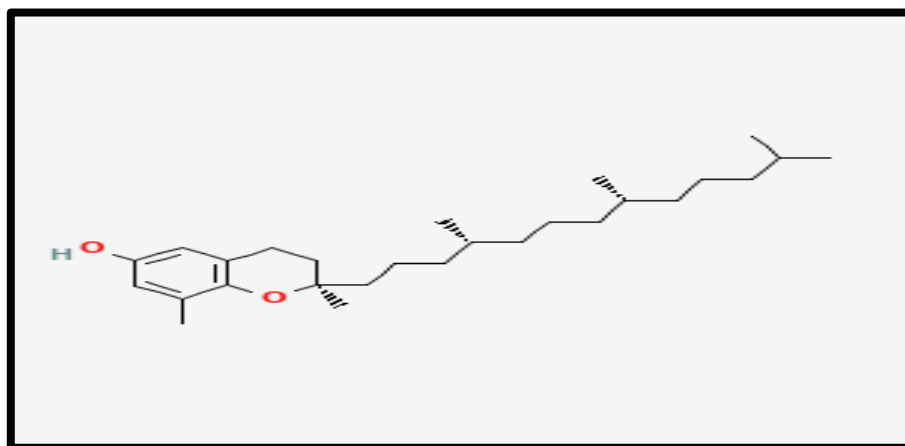


Figure 1.13. Structure de delta tocophérol (Kutushev et al. 1979)

III.3. Le Métabolisme de la vitamine E :

Le delta-tocophérol a été moins étudié que l'alpha-tocophérol en ce qui concerne son métabolisme spécifique, mais des recherches sont en cours sur son métabolisme général. Après son absorption par l'intestin grêle, le delta-tocophérol intègre les micelles lipidiques et traverse la muqueuse intestinale. Une fois dans la circulation sanguine, il est transporté par les chylomicrons et se lie à des lipoprotéines. Le delta-tocophérol se distribue ensuite dans divers tissus du corps, où il peut être stocké dans les tissus adipeux et incorporé dans les membranes cellulaires. Au niveau hépatique, il subit des réactions métaboliques similaires à celles des autres formes de vitamine E, telles que l'hydroxylation et la conjugaison avec des molécules comme le gluconate ou le sulfate pour faciliter son excrétion. Les métabolites du delta-tocophérol sont principalement excrétés dans la bile et éliminés du corps par les voies fécales, bien qu'une petite quantité puisse également être excrétée par l'urine (Blaner 2013).

III.4 Les sources alimentaires de la vitamine E :

Les tocophérols sont présents dans une variété d'aliments d'origine animale et végétale, mais la majorité des sources de vitamine E proviennent des produits végétaux. On les trouve principalement dans les céréales telles que le seigle, le blé et l'avoine, ainsi que dans diverses huiles comme celles d'olive, de soja, de tournesol, de maïs, d'arachide, et encore d'olive. La

Chapitre 1. Revue de la littérature

vitamine E est également présente en moindre quantité dans certains fruits tels que le melon, la fraise et la banane, ainsi que dans divers légumes comme les épinards, le chou, le poireau et la salade. Les tocophérols delta, spécifiquement, se trouvent principalement dans les huiles de maïs et de soja (Lindsay 2002).

Tableau 1.1. Les aliments riches en delta tocophérol

Les Aliments Les plus riche en delta tocophérol	Mg /100g
Huile de tournesol	0 ,8
Germe de blé	27,1
Huile d'olives	0
Huile de soja	26,4
Palmier	7,0
Noix de coco	0,6
Arachide	2,1
Maïs	1,8

III.5. Les rôles biologiques de la vitamine E :

III.5.1. Une action antioxydant :

Le stress oxydatif est une condition pathologique qui résulte du déséquilibre entre la production et l'élimination des substances oxydantes chimiques (ROS), et il est associé à diverses maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson et cancer, qui sont liées aux processus radicaux libres et aux dommages oxydatifs. Cependant, la vitamine E qui, grâce à ses propriétés, peut jouer un rôle crucial en tant qu'antioxydant (Lloret et al. 2019) Les tocophérols sont tous des antioxydants, mais le γ -T et le δ -T se distinguent par leur capacité supérieure à capturer les espèces réactives de l'azote, grâce à la présence de carbones non méthylés aux positions 5 et 7 du cycle chromanol, par rapport à l' α -T. (Yang, Suh, et Kong 2012)

III.5.2. Une action anti-inflammatoire :

La vitamine E joue un rôle crucial en tant qu'anti-inflammatoire en influençant divers facteurs qui impactent directement ou indirectement le système immunitaire. Elle régule l'inflammation en modulant des enzymes pro-inflammatoires telles que la COX, responsable de la production de prostaglandines (PGE2) (Schubert et al. 2018). La PGE2 est un médiateur pro-inflammatoire

Chapitre 1. Revue de la littérature

associé à plusieurs pathologies liées au vieillissement telles que le cancer, l'arthrite et les maladies cardiovasculaires, en régulant la multiplication et l'activation des lymphocytes T et des lymphocytes NK (Lee et Han 2018).

De plus, la vitamine E joue un rôle essentiel en tant qu'anti-inflammatoire chez les personnes séropositives au virus de l'immunodéficience humaine (VIH). Des études ont montré qu'une augmentation significative de la consommation alimentaire de vitamine E normalise les paramètres immunitaires altérés chez les animaux atteints du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA), soulignant son importance dans la gestion des troubles immunitaires associés au VIH/SIDA (Graham et al. 2007).

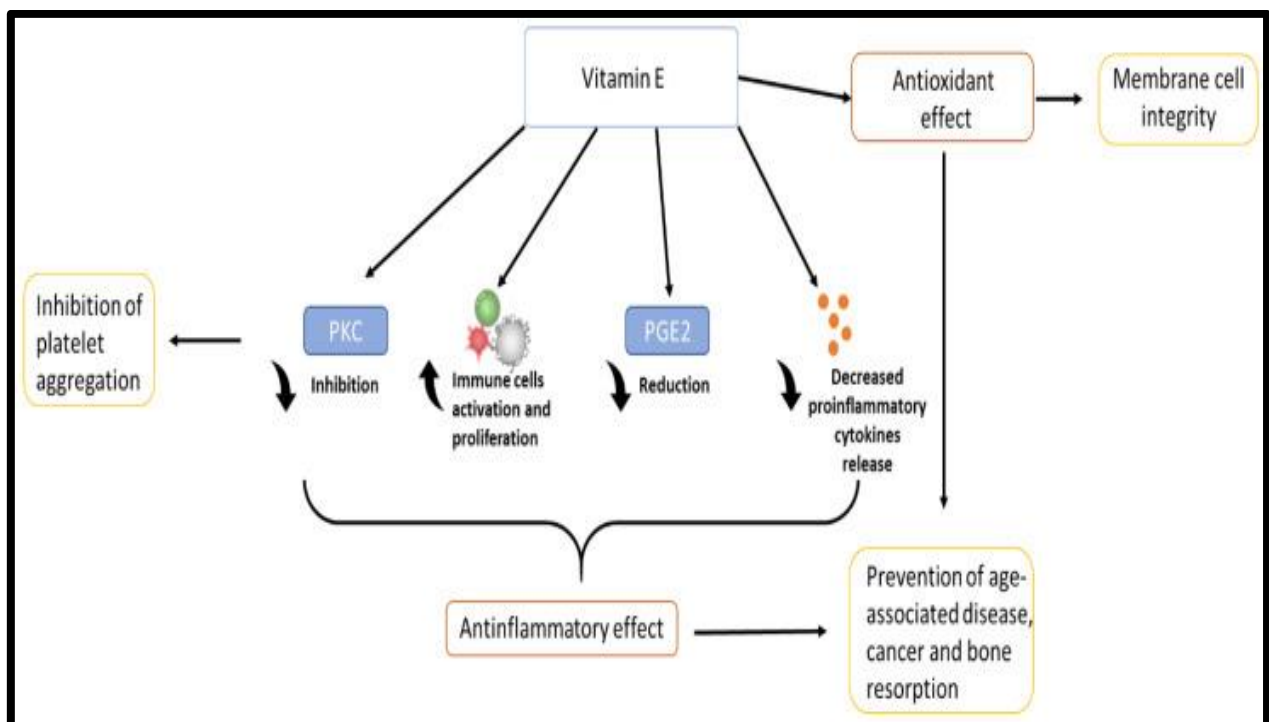


Figure 1.14. Représentation générale des fonctions biologiques de la vitamine E (Rizvi et al. 2014)

III.6. La vitamine E et le cancer :

Le lien entre la consommation de vitamine E et le risque de cancer a été largement exploré à travers des recherches épidémiologiques récentes. Les tocophérols, sont suggérés pour réduire le risque de divers types de cancer tels que le cancer du sein, de la prostate et du poumon en raison de leurs puissantes propriétés antioxydantes (Ju et al. 2010).

Le γ -T et le δ -T, en particulier, montrent une activité anticancéreuse élevée en piégeant les espèces réactives d'oxygène et d'azote, et en inhibant le métabolisme de l'acide arachidonique.

Chapitre 1. Revue de la littérature

Ils inhibent le développement du cancer du sein en activant les récepteurs activés par les proliférateurs de peroxyosomes (PPAR γ) et en bloquant la signalisation des œstrogènes (Yang et Suh 2012). Des études *in vitro* et *in vivo* suggèrent que le γ -T et le δ -T pourraient être plus efficaces que l' α -T comme agents anticancéreux, incitant à envisager des essais cliniques futurs avec des mélanges purs de δ -T et γ -T ou des tocophérols enrichis en ces formes (Das Gupta et Suh 2016).

L'induction de l'apoptose par les isomères et analogues de la vitamine E cible principalement les mitochondries, optimisant ainsi la voie intrinsèque de l'apoptose et régulant la voie d'apoptose indépendante des caspases (Constantinou, Papas, et Constantinou 2008). Dans le contexte du cancer du sein, les chromanols à faible poids moléculaire ciblant les mitochondries montrent des effets antiprolifératifs et cytotoxiques sélectifs (Cheng et al. 2013).

IV. Le Docking moléculaire :

IV.1 Définition :

Ces dernières années, le Docking moléculaire est devenu un élément essentiel du développement de médicaments *in silico*. C'est une méthode qui consiste à prédire l'interaction au niveau atomique entre une petite molécule et une protéine. Cela permet aux scientifiques d'étudier le comportement de petites molécules comme les nutraceutiques dans le site de liaison d'une protéine cible et de comprendre le processus biochimique fondamental qui sous-tend cette interaction. Cette méthode est basée sur la structure et nécessite une représentation 3D haute résolution de la protéine cible obtenue à l'aide de techniques telles que la cryomicroscopie électronique, la cristallographie aux rayons X ou la spectroscopie par résonance magnétique nucléaire. (Agu et al. 2023)

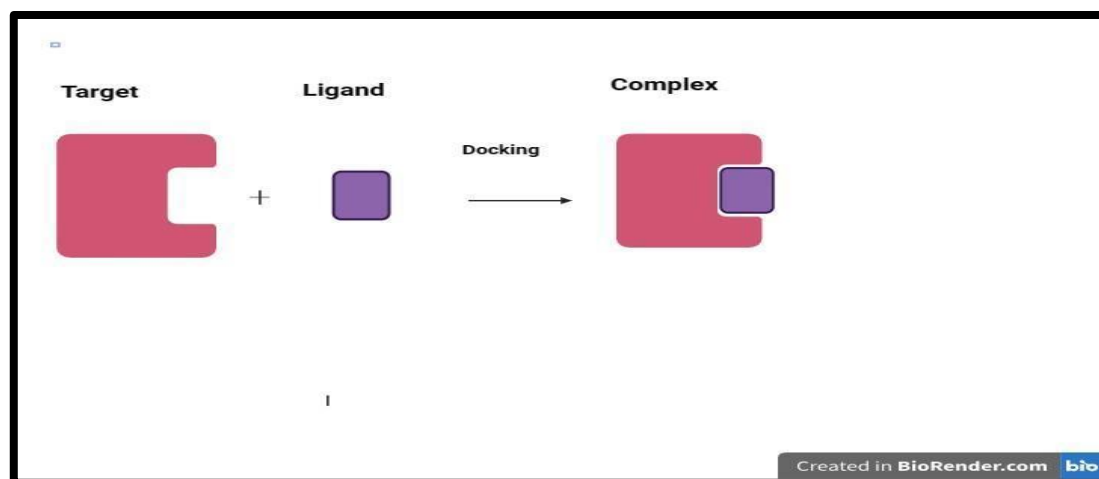


Figure 1.15. Représentation schématique du Docking moléculaire (Chen 2015)

Chapitre 1. Revue de la littérature

IV.2. Les outils de Docking moléculaire :

IV.2.1. Le récepteur :

Le récepteur cellulaire est une protéine présente naturellement dans les cellules, située dans la membrane cellulaire, le cytoplasme ou le noyau. Ce récepteur se lie à des facteurs spécifiques, appelés ligands, tels que des neurotransmetteurs, des hormones, des molécules médicamenteuses, des toxines, des ions calcium ou des protéines, ce qui induit une réponse cellulaire (**Vabret et Miszczak, 2010**). L'étude et la conception de molécules bioactives par modélisation moléculaire se basent principalement sur la structure des récepteurs. Cette méthode utilise la structure tridimensionnelle de la protéine cible, laquelle peut être déterminée par trois techniques expérimentales : la résonance magnétique nucléaire (RMN), la microscopie électronique et la cristallographie par rayons X. La majorité des structures protéiques sont disponibles dans une base de données nommée Protein Data Bank (PDB) (**Berman, Henrick, et Nakamura, 2003**).

IV.2.3. Le ligand :

Un ligand est une substance chimique libérée par une cellule pour transmettre des signaux à elle-même ou à une autre cellule. La liaison de ce ligand provoque une réponse cellulaire, entraînant diverses modifications telles que l'altération de la transcription ou de la traduction des gènes, ou encore des changements dans la morphologie cellulaire (**Bhagwat et Ramachandran, 1975**). Pour un docking moléculaire, il est essentiel de prendre en compte les structures tridimensionnelles à haute résolution ou co-cristallisées avec des ligands de haute affinité ou des substrats naturels. Cependant, cela n'est pas toujours possible pour certaines protéines (**Warren et al., 2012**). Actuellement, il existe deux principales méthodes pour déterminer la structure chimique d'un ligand : la première, souvent commerciale, consiste à utiliser des bases de données de structures chimiques appelées chimiothèques ou espaces chimiques. La deuxième méthode utilise la base de donnée Pubchem ou la littérature des ligands, où les ligands peuvent être dessinés, optimisés et enregistrés dans différents formats (pdb, mol, mol2, etc.) à l'aide de logiciels de construction moléculaire tels que ChemDraw, ArgusLab, Titan ou Sybyl.

IV.3. Les types de Docking moléculaire :

IV.3.1. Docking ligand rigide :

Le docking rigide est une méthode de modélisation moléculaire où tant le ligand que la protéine sont considérés comme des structures rigides. Dans cette approche, seuls les six degrés de liberté - trois de translation et trois de rotation - sont examinés pour le ligand. Le ligand est

Chapitre 1. Revue de la littérature

soumis à des déplacements et des rotations dans chacune des trois dimensions spatiales (**Meng et al., 2011**). Le docking rigide est couramment utilisé pour étudier de grands systèmes moléculaires, tels que les interactions entre protéines. Cette approche permet d'évaluer efficacement la compatibilité des surfaces de contact et d'identifier les modes d'interaction possibles entre les macromolécules (**Meng et al., 2011**) (**Fernández-Recio, Totrov, et Abagyan 2002**).

IV.3.2. Docking ligand flexible :

L'amarrage flexible, où les structures du ligand et de la cible peuvent changer au cours du processus d'accueil, est généralement utilisé pour l'examen de la reconnaissance moléculaire, car il nécessite plus de puissance de calcul (**Bonvin, 2006**). Lorsqu'une méthode de docking prend en compte la flexibilité du ligand, deux étapes successives sont réalisées pendant toute la durée du processus. La première étape consiste à explorer l'espace conformationnel afin de retrouver, parmi les conformations proposées, celles qui sont bioactives. Ensuite, une fonction de score évalue ces conformations pour déterminer celles qui sont les plus probables en termes de compatibilité et d'affinité avec la cible (**Meng et al., 2011**). L'une des méthodes d'accueil flexibles est MedusaDock, qui simule la flexibilité à la fois du ligand et du récepteur en utilisant des ensembles de rotamères discrets, permettant de mieux représenter la dynamique et la diversité structurale des interactions moléculaires (**Wang et Dokholyan, 2019**).

IV.3.3. Docking ligand semi-flexible:

Au cours de l'amarrage semi-flexible, une approche intermédiaire est adoptée où la conformation du ligand ou de la cible peut changer dans une certaine plage. Généralement, cette méthode permet au ligand de rester flexible tout en maintenant la structure du récepteur rigide. Cela permet de capturer certains aspects de la dynamique moléculaire sans nécessiter la puissance de calcul intensive requise pour un amarrage entièrement flexible. Par exemple, le ligand peut adopter différentes conformations pour mieux s'adapter au site actif du récepteur, augmentant ainsi la précision des prédictions d'affinité et de pose (**Morris et al., 2009**). Ce compromis entre rigidité et flexibilité rend l'amarrage semi-flexible particulièrement utile pour des études où la flexibilité complète serait trop coûteuse en termes de temps de calcul, tout en offrant une meilleure représentation des interactions moléculaires comparée à l'amarrage rigide.

IV.4. Programmes :

Après des décennies de développement et d'utilisation, de nombreux programmes de docking moléculaire ont été créés et adoptés à l'échelle mondiale, jouant un rôle crucial dans la recherche et le développement de médicaments. La majorité de ces programmes sont destinés à l'ancrage

Chapitre 1. Revue de la littérature

de petites molécules (ligands) aux protéines (récepteurs), ainsi qu'à l'ancrage des interactions protéine-protéine, protéine-ADN et protéine-ARN. Ces logiciels ont été développés par des laboratoires de recherche et sont souvent disponibles gratuitement. Certains de ces logiciels, lorsqu'ils sont mis à jour et ne présentent que des défauts mineurs, peuvent être acquis par des sociétés spécialisées en logiciels commerciaux et intégrés dans des suites logicielles plus complètes (**Pagadala et al., 2017**).

Parmi les logiciels gratuits les plus utilisés pour ces applications figurent DOCK, AutoDock, AutoDock Vina, 3D-DOCK, LeDock, rDOCK, UCSF DOCK, Surflex (pour les utilisateurs universitaires) et HEX. Les logiciels commerciaux incluent Glide, GOLD, MOE Dock, ICM-Dock, MCDOCK, Surflex-Dock, LigandFit, FlexX, entre autres (**Prieto-Martínez, Arciniega, et Medina-Franco 2018**).

Chapitre 2. Matériel et Méthode

I. Matériels :

L'objectif essentiel de notre travail de master est une initiation aux approches de modélisation par docking moléculaire afin de proposer le delta tocophérol comme nouvel inhibiteur de la conformation actif de CDK8 au niveau de site de liaison de l'ATP. Pour ce faire, nous avons utilisé le matériel suivant:

I.1. Microordinateur :

Nous avons utilisé un microordinateur ayant une mémoire vive de 8 Go. Tous les programmes utilisés sont installés sous le système d'exploitation Windows 10.

I.2. Programmes :

I.2.1. Arguslab :

Dans le domaine de l'amarrage moléculaire, ArgusLab est reconnu comme un logiciel de référence en raison de ses capacités exceptionnelles d'analyse, de calcul et de visualisation des structures moléculaires. Il fournit aux utilisateurs une gamme d'outils efficaces pour explorer les interactions entre ligands et protéines avec une grande précision.

I.2.2. ChemSketch :

ChemSketch est un logiciel gratuit de modélisation moléculaire largement utilisé pour dessiner et manipuler des structures moléculaires complexes en 2D et en 3D. Il permet aux utilisateurs de créer, visualiser et modifier des images de structures chimiques avec une grande précision. En plus de ses fonctionnalités de dessin, ChemSketch offre des outils pour calculer des propriétés physico-chimiques, générer des noms IUPAC, et dessiner des réactions chimiques. Ce logiciel est particulièrement apprécié dans les milieux académiques et industriels pour son interface conviviale et ses capacités d'analyse approfondies.

I.2.3. Chem3D :

Chem3D est un outil puissant pour la visualisation, le partage et l'optimisation de structures tridimensionnelles (3D) de molécules. Construit sur une plateforme de représentation 3D avancée, il permet aux utilisateurs de visualiser des structures moléculaires complexes, d'effectuer des optimisations géométriques et de calculer des propriétés physico-chimiques. Chem3D est particulièrement apprécié pour sa capacité à créer des modèles moléculaires précis et interactifs, facilitant ainsi l'analyse et la communication des données structurales dans les milieux académiques et industriels.

I.2.4. Discovery Studio :

Discovery Studio est une suite logicielle conçue pour la simulation et l'analyse de systèmes moléculaires de petite et grande taille. Elle inclut des outils pour la simulation moléculaire, la

Chapitre 2. Matériel et Méthode

conception de ligands, la modélisation de pharmacophores, et la conception basée sur la structure. En plus de ces fonctionnalités, Discovery Studio offre des capacités avancées pour les études QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) et les prévisions ADMET (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, and Toxicity). Il permet également de visualiser les interactions moléculaires, facilitant ainsi l'analyse détaillée des interactions entre ligands et protéines. Ces outils sont essentiels pour la recherche et le développement de nouveaux médicaments, permettant aux chercheurs d'explorer et de modéliser les interactions moléculaires avec une grande précision.

I.3. Banques de données :

I.3.1. Protein Data Bank (PDB) :

La Protein Data Bank (PDB; <http://www.rcsb.org/pdb/>) est la seule base de données structurales mondiale des macromolécules biologiques. Elle est définie comme une base de données contenant les structures tridimensionnelles (3D) des macromolécules biologiques, notamment les protéines et les acides nucléiques (**Berman 2000**). Cette ressource est essentielle pour la recherche scientifique, permettant aux chercheurs d'accéder à des informations détaillées sur la structure des biomolécules, facilitant ainsi l'étude de leurs fonctions et interactions.

I.3.2. PubChem :

Le NCBI (National Center for Biotechnology Information) gère la base de données PubChem, une base de données américaine de molécules chimiques. Actuellement, elle se compose de plusieurs millions de composés dont la structure et les caractéristiques physico-chimiques sont accessibles pour étude. Cette bibliothèque est utilisée pour identifier et proposer des structures similaires à notre ligand, facilitant ainsi la recherche et le développement de nouveaux composés chimiques.

II. Méthodes

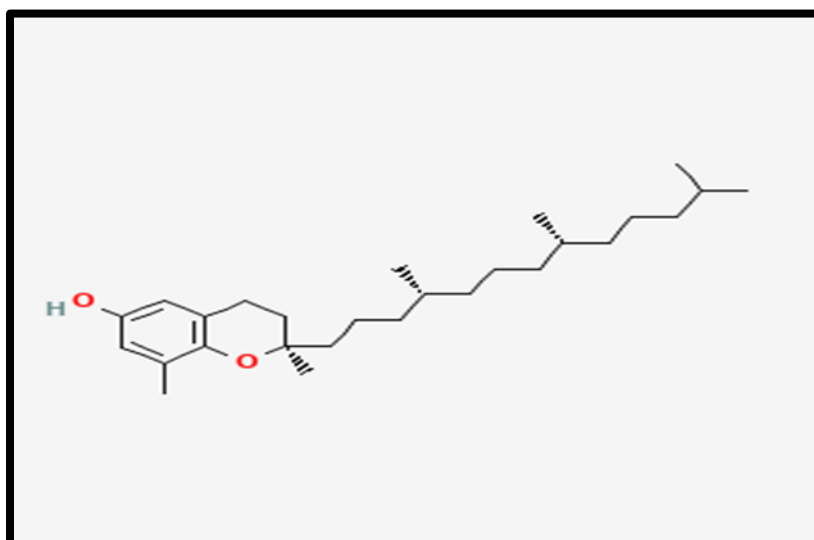


Figure 2.16. Structure 2D du delta tocophérol

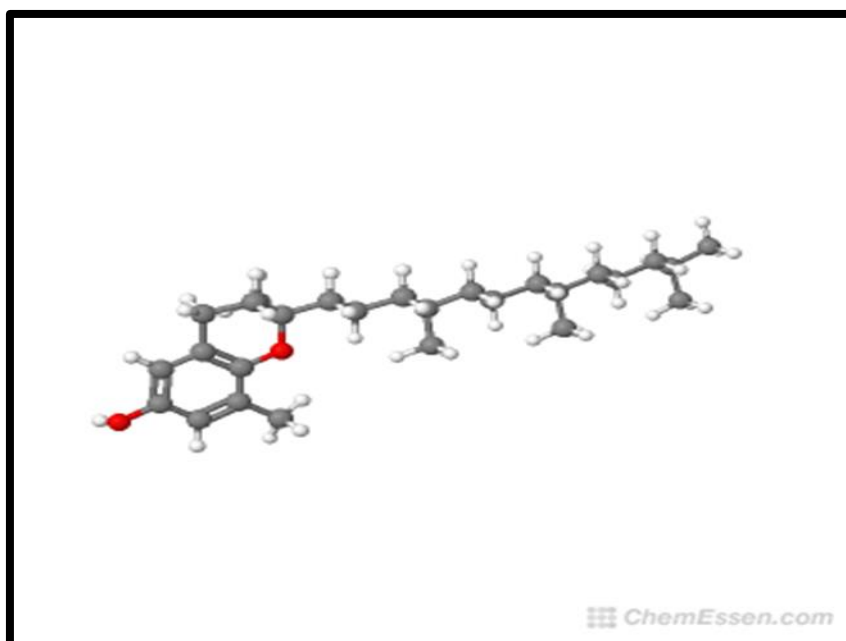


Figure 2.17. Structure 3D du delta tocophérol

Chapitre 2. Matériel et Méthode

II.1. Objectif du Travail

L'objectif principal de notre travail de master est de proposer de nouveaux inhibiteurs pour la protéine CDK8 en utilisant des approches de modélisation moléculaire par docking. Plus précisément, nous avons cherché à évaluer l'efficacité du delta-tocophérol, une forme biodisponible de la vitamine E, en tant qu'inhibiteur potentiel de la protéine CDK8.

Pour atteindre cet objectif, nous avons réalisé un docking moléculaire pour évaluer l'affinité de liaison du delta-tocophérol avec la conformation active de CDK 8 et anticiper les interactions entre le ligand et le site actif de la protéine. Nous avons suivi les étapes suivantes pour mener à bien cette étude :

II.2. Préparation des composants pour le docking :

1. Sélection et Préparation de la Cible :

La première étape a consisté à sélectionner la protéine cible, CDK8, en utilisant la structure cristalline (PDB : 4F7S) en complexe avec le ligand Senexine A. La préparation de la protéine a impliqué les actions suivantes :

- **Retrait des molécules d'eau** : Afin de se concentrer sur le site actif et éviter les interférences, nous avons éliminé les molécules d'eau de la structure cristalline.
- **Détermination du Site Actif** : Le site actif a été identifié par la création d'une pseudo-molécule, en ciblant les acides aminés impliqués dans l'interaction avec le ligand. Les résidus du site actif sont : Phe97, Val27, Val35, Asp98, Ala100, Arg356, Leu158, Tyr32, Asp173, et Lys52.

La protéine, désormais prête pour le docking, a été enregistrée au format .pdb sous le nom CDK8.pdb.

2. Sélection et Préparation du ligand :

Pour préparer le ligand delta-tocophérol :

- **Extraction des Données** : Le delta-tocophérol a été obtenu depuis la plateforme PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>), où nous avons récupéré les données nécessaires à son étude.
- **Modélisation et Optimisation** : La structure chimique du delta-tocophérol a été illustrée à l'aide du logiciel ChemSketch. Pour l'optimisation de l'énergie, nous avons utilisé Chem3D, en effectuant une minimisation d'énergie pour obtenir la conformation la plus stable. Cette étape est cruciale pour garantir que le ligand soit

Chapitre 2. Matériel et Méthode

dans son état le plus stable avant le docking.

- **Dynamique Moléculaire** : Une simulation de dynamique moléculaire (MD) a été effectuée pour explorer les évolutions temporelles du système en utilisant les lois du mouvement de Newton, afin de mieux comprendre les interactions ligand-protéine.

III . Docking Moléculaire :

Le docking moléculaire a été réalisé avec le logiciel ArgusLab, en suivant ces sous-étapes :

- **Préparation des Fichiers** : Le delta-tocophérol a été préparé au format .mol et la protéine au format .mol2.
- **Configuration du Docking** : La grille de docking a été configurée avec les dimensions suivantes pour explorer le site actif : $X = 23 \text{ \AA}$, $Y = 19 \text{ \AA}$, $Z = 27 \text{ \AA}$. La grille permet au ligand de se déplacer librement dans le site actif de la protéine.
- **Exécution du Docking** : Le logiciel ArgusLab a été utilisé pour générer et évaluer différentes poses du ligand dans le site actif de la protéine en fonction de divers critères d'affinité et d'interactions.
- **Analyse des Résultats** : Les poses obtenues ont été analysées en examinant les scores de liaison et les interactions entre le ligand et le site actif. La meilleure pose a été sélectionnée en fonction de l'énergie de liaison la plus favorable, où une énergie plus négative indique une meilleure interaction.

III.2. Analyse Post-Docking :

Après le docking, nous avons procédé à une analyse approfondie des résultats :

- **Visualisation des Interactions** : Nous avons examiné les interactions entre le delta-tocophérol et la protéine CDK8 en observant les liaisons hydrogène et les interactions hydrophobes.
- **Évaluation des Performances** : Les interactions ont été évaluées en termes de distances entre le ligand et les résidus d'acides aminés du site actif, ainsi que par des mesures de performance de l'amarrage telles que les scores d'affinité.

La structure cristallographique de CDK8 (PDB : 4F7S) a servi de référence pour ces analyses, offrant une base solide pour l'évaluation des interactions entre le delta-tocophérol et la protéine cible.

Chapitre 3. Résultat et discussion

I. Résultats :

I.1. Règle de lipinski :

Évaluation de la Biodisponibilité du Delta-Tocophérol

Chaque ligand destiné à être utilisé dans le développement de nouveaux médicaments doit répondre à plusieurs critères de base afin de garantir son efficacité, sa sécurité et sa praticabilité. Ces critères incluent des aspects tels que le coût de production, la solubilité, la stabilité, ainsi que des propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques. Parmi ces propriétés, l'absorption, la distribution, le métabolisme, l'excrétion et la toxicité sont des facteurs essentiels à évaluer.

Dans ce contexte, nous avons utilisé l'outil **Molinspiration Checker** pour évaluer la biodisponibilité du delta-tocophérol, un composé de la vitamine E, en nous basant sur **les règles de Lipinski**. Cette évaluation nous permet de déterminer dans quelle mesure le delta-tocophérol respecte les critères nécessaires pour être un bon candidat comme médicament potentiel.

Les cinq règles de Lipinski sont des critères empiriques qui prédisent l'absorption orale des médicaments et incluent les propriétés suivantes :

Voici les critères que nous avons calculés pour le delta-tocophérol :

- Nombres des donneurs d'hydrogènes < 5
- Nombres des accepteurs d'hydrogènes < 10
- Le coefficient de partage $\text{Log P} < 5$
- Le poids moléculaire < 500
 - Nombres d'angle de rotation ≤ 15
- **Nombre de Donneurs d'Hydrogène** : Ce critère mesure le nombre de groupes capables de donner un hydrogène dans une liaison hydrogène. Le delta-tocophérol doit avoir moins de 5 donneurs d'hydrogène.
- **Nombre d'Accepteurs d'Hydrogène** : Ce critère mesure le nombre de groupes capables de recevoir un hydrogène dans une liaison hydrogène. Le delta-tocophérol doit avoir moins de 10 accepteurs d'hydrogène.
- **Coefficient de Partage Log P** : Le Log P est une mesure de la lipophilie du composé, c'est-à-dire sa tendance à se dissoudre dans les graisses par rapport à l'eau. Pour être biodisponible, ce coefficient doit être inférieur à 5.

Chapitre 3. Résultat et discussion

- **Poids Moléculaire** : Le poids moléculaire du ligand doit être inférieur à 500 Da pour garantir qu'il est suffisamment petit pour être absorbé oralement et atteindre sa cible.
- **Nombre d'Angles de Rotation** : Ce critère limite le nombre de liaisons rotatives dans la molécule, influençant sa flexibilité. Le delta-tocophérol doit avoir 15 angles de rotation ou moins.

Tableau 3.2. Résultats de la règle de Lipinski sur Delta-tocophérol

compose	PM	LogP	DH	AH	LF
Delta-tocophérol	402.7	8.27	1	2	12

Après avoir appliqué le Molinspiration Checker, nous avons évalué le delta-tocophérol selon ces critères :

- **Nombre de Donneurs d'Hydrogène** : Le delta-tocophérol respecte ce critère, avec un nombre de donneurs d'hydrogène inférieur à 5.
- **Nombre d'Accepteurs d'Hydrogène** : Ce critère est également respecté, avec un nombre d'accepteurs d'hydrogène inférieur à 10.
- **Coefficient de Partage Log P** : Le delta-tocophérol présente une valeur de Log P supérieure à 5, ce qui constitue une violation de cette règle. Une valeur élevée du Log P indique une grande lipophilie, ce qui peut affecter l'absorption du ligand par voie orale.
- **Poids Moléculaire** : Le poids moléculaire du delta-tocophérol est inférieur à 500 Da, ce qui est conforme à ce critère.
- **Nombre d'Angles de Rotation** : Ce critère est également respecté, avec un nombre d'angles de rotation inférieur ou égal à 15.

Bien que le delta-tocophérol présente une violation du critère Log P, il satisfait par ailleurs aux autres critères de la règle de Lipinski. Cette évaluation suggère que, malgré la violation du Log P, le delta-tocophérol pourrait encore être envisagé comme un inhibiteur potentiel de la CDK8, bien que des études supplémentaires puissent être nécessaires pour évaluer sa biodisponibilité et son efficacité en tant que médicament.

Chapitre 3. Résultat et discussion

I.3. Réalisation du docking moléculaire :

Le docking moléculaire a été effectué avec les paramètres suivants dans ArgusLab :

- $x = 23.00000$
- $y = 19.00000$
- $z = 27.00000$
- Résolution : 2,20 Å

Nous avons obtenu 128 poses en 18 secondes, avec un meilleur score ΔG de -10.6817 kcal/mol. Ce score reflète l'affinité de liaison entre le delta-tocophérol et le site actif de CDK8.

Le docking moléculaire réalisé avec ArgusLab a permis de démontrer que le delta-tocophérol se lie efficacement au site actif de CDK8, comme en témoigne le meilleur score ΔG de -10.6817 kcal/mol. L'analyse des poses a révélé que le delta-tocophérol adopte une conformation favorable dans la cavité catalytique, indiquant que ce ligand pourrait potentiellement inhiber l'activité de CDK8 en raison de ses interactions favorables avec le site actif.

Tableau 3.3. Caractéristiques du calcul (ligand-interaction).

Calcul de docking moléculaire protéine-ligand		
Box	Docking énergie	Type de ligand
X :23.00000 Y :19.00000 Z :27.00000	argusLab	Semi-flexible

Tableau 3.4. codes PDB de complexe « CDK8 en complexe avec sennixine A du delta tocophérol -inhibiteur » avec leur score ΔG

Code complexe PDB	Code inhibiteur PDB	Pose finale 0	Energie ΔG	Temps de Docking
4F7S	Delta-tocophérol	128	-10.6817 Kcal/mol	18 seconds

Chapitre 3. Résultat et discussion

Tableau 3.5. Les meilleures poses du docking moléculaire

La pose	Le score
Pose 1	-10.68 Kcal/mol
Pose 2	-10.31 Kcal/mol
Pose 3	-10.23 Kcal/mol
Pose 4	-9.96 Kcal/mol
Pose 5	-9.93 Kcal/mol
Pose 6	-9.83 Kcal/mol
Pose 7	-9.82 Kcal/mol
Pose 8	-9.81 Kcal/mol
Pose 9	-9.76 Kcal/mol
Pose 10	-9.69 Kcal/mol

Chapitre 3. Résultat et discussion

II. Analyse des interactions :

Après avoir réalisé le docking, une analyse visuelle a été effectuée pour examiner la position du delta-tocophérol dans le site actif de la CDK8. Les résultats ont montré que le delta-tocophérol est correctement positionné dans la cavité catalytique, correspondant à la forme de la cavité formée par les résidus du site actif. Cela indique que des interactions stabilisantes sont présentes entre le ligand et le site actif, favorisant ainsi une fixation efficace du delta-tocophérol.

En outre, les interactions observées entre le delta-tocophérol et les résidus du site actif confirment que le ligand est bien adapté à la cavité de CDK8, ce qui pourrait suggérer une bonne affinité pour le site de liaison.

Figure 3.18. Structure 3D du complexe CDK8 et delta tocophérol (publication quality)



I.1. Etude des interactions « Inhibiteurs-protéine » :

La reconstitution du ligand **delta-tocophérol** par le biais du docking moléculaire à l'aide du logiciel **ArgusLab** a généré **128 poses**, avec un meilleur score de ΔG égal à **-10,6817 kcal/mol**. Ce score élevé reflète l'affinité du ligand pour le site actif de l'enzyme, et est principalement dû à la formation de **liaisons hydrophobiques** dans la cavité catalytique de **CDK8 (tableau 3.3)**.

Les **interactions** entre le delta-tocophérol et le site actif catalytique de CDK8 sont illustrées

Chapitre 3. Résultat et discussion

dans les figures suivantes, qui montrent comment le ligand est positionné dans le site actif et les types de liaisons formées avec les résidus de la protéine.

Interactions Hydrophobique								
Molécules	Pi hydrophobiques		Alkyl hydrophobiques		Mixed Pi/Alkyl hydrophobiques		Electrostatic	
	Résidus impliqués	Distances (A)	Résidus impliqués	Distances (A)	Résidus impliqués	Distances (A)	Résidus impliqués	Distances (A)
Delta-tocophérol	TYR32	4.69608	LEU158	4.21925	PHE97	3.6657 4.2906	ASP173	3.05189
			LYS52	4.0324				
			VAL35	2.53955				
			VAL27	5.3314				
			ILE79	4.25023 4.11504				
			ALA172	3.61594				

Tableau 3.6. Types d'interactions entre binding site et le ligand et leurs distances.

Les interactions qui existent entre le ligand delta-tocophérol et le site actif catalytique de CDK8 sont montrées dans Les figures

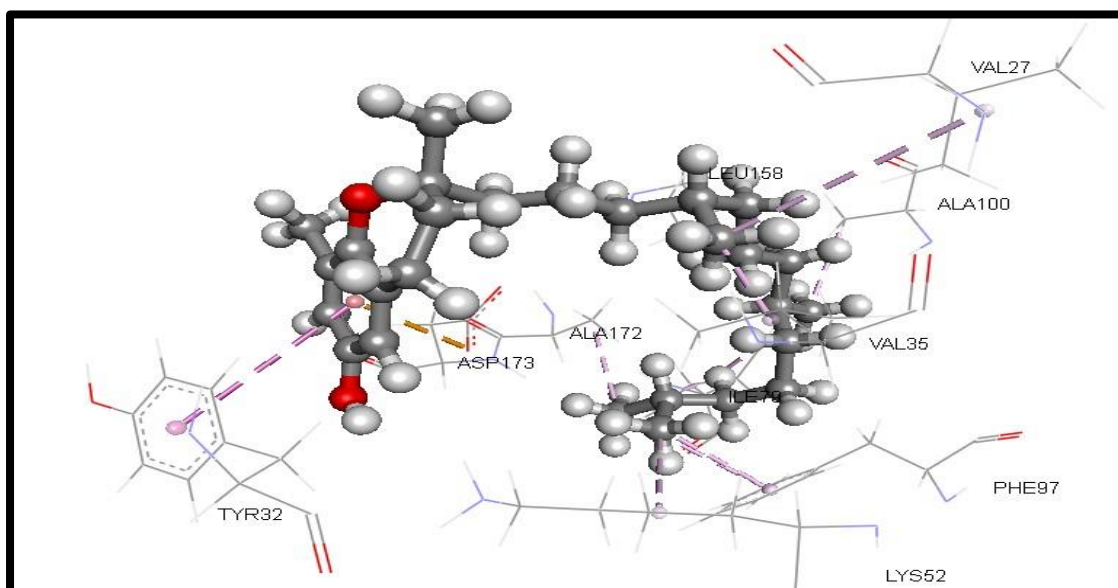


Figure 3.19. Interaction entre binding site et le ligand (Delta-tocophérol) par Discovery Studio.

Chapitre 3. Résultat et discussion

En fait, la liaisons pi-hydrophobiques se forment avec l'acide aminé Tyr32 à une distance 4,69608 Å.

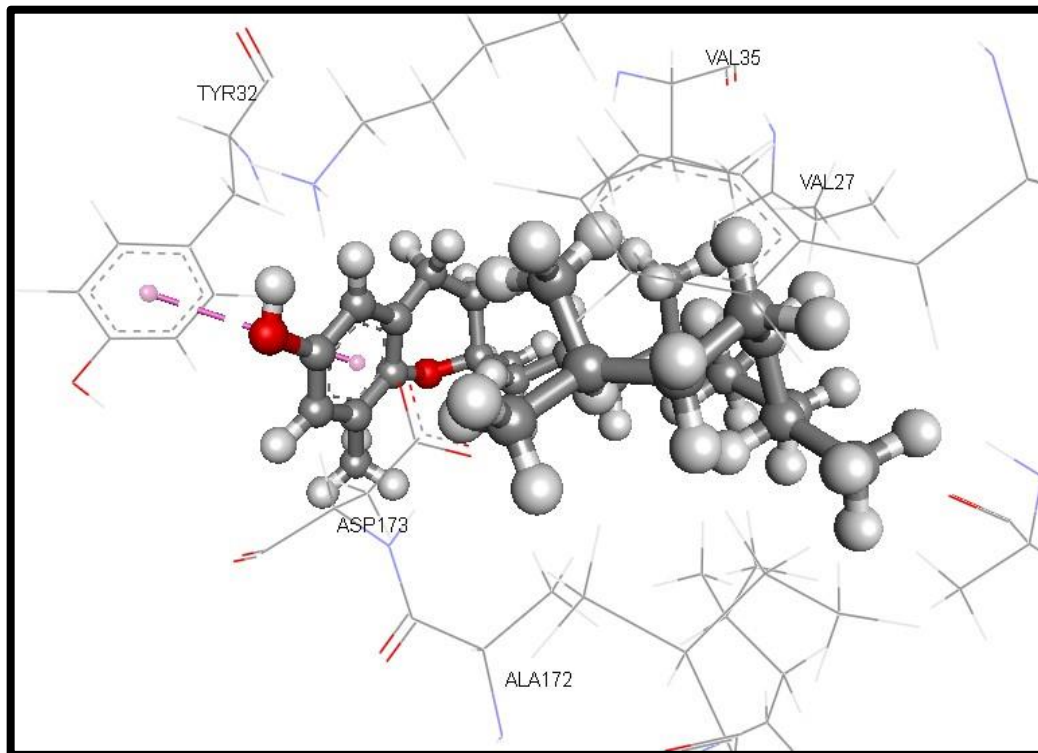


Figure 3.20. Interaction entre le ligand (Delta-tocophérol) et la liaison pi hydrophobe (Colorée en ROSE).

Il est également important de noter que des nombreuses interactions Alkyl hydrophobique(figure3.4) sur les acides aminées LYS52, VAL35, VAL27, ALA100, LEU158 ,ILE 79 ,ALA172, avec des distances de 4,0324 Å ,2,53955 Å , 5,3314Å, 3,83526 Å, 4,21925 Å , 4,25023 Å, 4,11504Å , 3,61594 Å.

Chapitre 3. Résultat et discussion

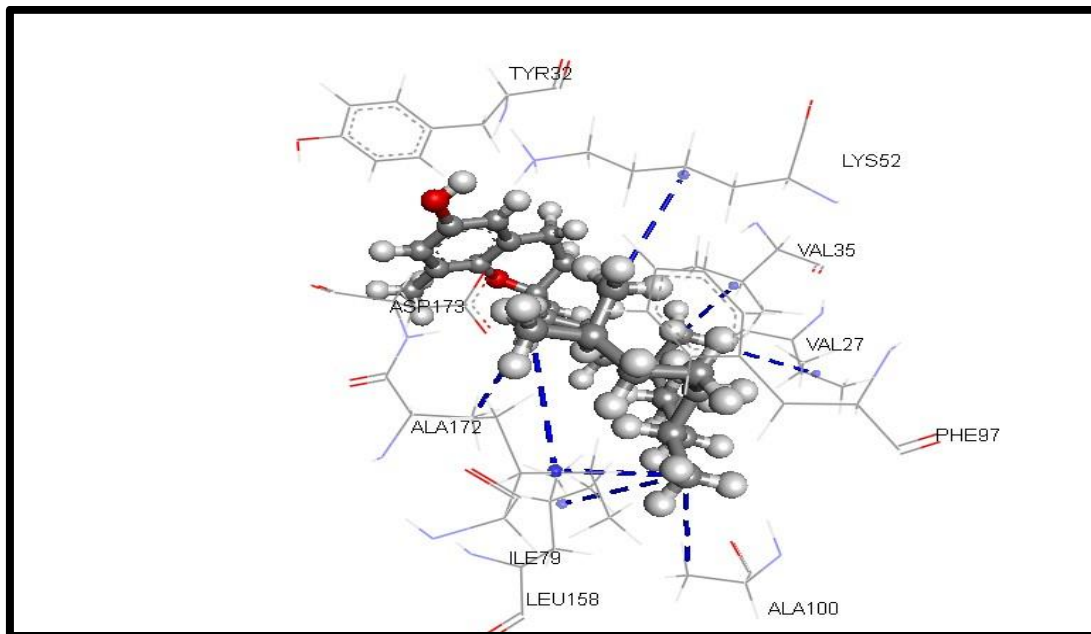


Figure 3.21. Interaction entre le ligand (Delta-tocophérol) et la liaison Alkyl hydrophobiques (colorée en bleu).

Et aussi des liaisons mixed Pi/Alkyle hydrophobique colorée en mouve (figure 3.5) sur les acides aminées PHE97

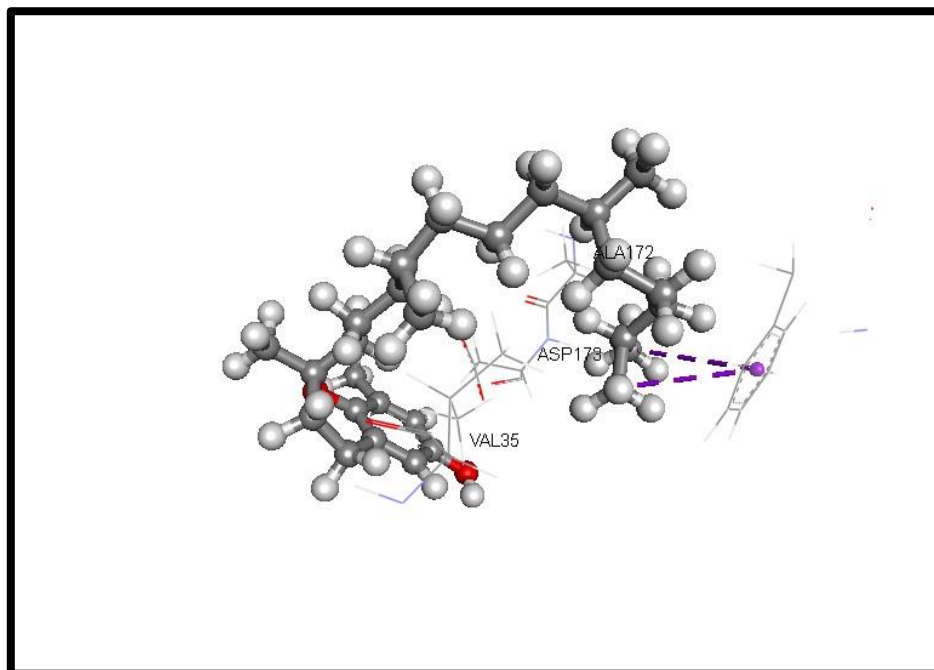


Figure 3.22. Interactions entre le ligand (Delta-tocophérol) et la liaison Mixed Pi/Alkyl hydrophobique (colorée en mouve)

Chapitre 3. Résultat et discussion

Et aussi des liaisons électrostatiques Pi-charge colorées en orange (figure 3.6) sur les acides aminés ASP173

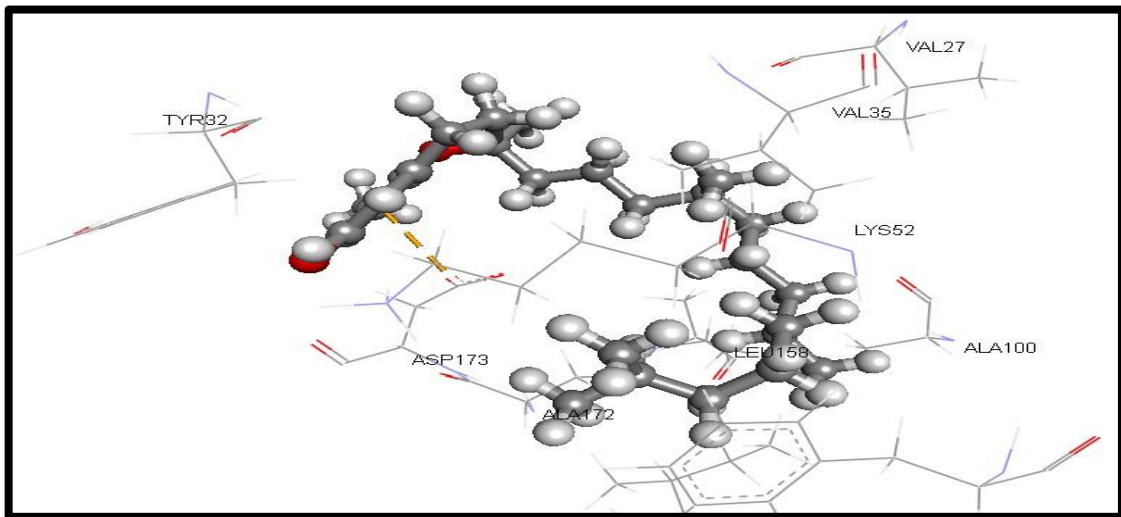


Figure 3.23. Interactions entre le ligand (Delta-tocophérol) et la liaison Electrostatic de type Pi-charge (colorée en Orange)

Conclusion

Conclusion :

Notre étude s'appuie sur une simulation bio-informatique par docking moléculaire pour explorer l'effet inhibiteur du δ -tocophérol sur la CDK8 dans le contexte du cancer.

L'immunosurveillance joue un rôle crucial dans la surveillance, la détection et l'élimination des cellules cancéreuses. Cependant, ces cellules peuvent échapper à ce mécanisme de contrôle et au processus d'apoptose régulé par la CDK8. De nombreuses recherches ont mis en lumière le potentiel antitumoral du δ -tocophérol. La technique de docking moléculaire permet de prédire l'orientation d'une molécule par rapport à une autre afin d'obtenir le complexe le plus stable. Elle est largement utilisée dans l'analyse des cibles moléculaires des médicaments, permettant de réduire le nombre d'expériences en laboratoire.

L'analyse du docking moléculaire du δ -tocophérol avec la protéine CDK8 révèle une interaction favorable entre les deux, caractérisée par une faible énergie de liaison, une forte liaison hydrophobe et des interactions multiples avec le site actif de la protéine CDK8.

Sur la base de cette simulation, le δ -tocophérol se présente comme un candidat prometteur pour le développement d'agents thérapeutiques contre le cancer.

Référence :

Agu, P. C., C. A. Afiukwa, O. U. Orji, E. M. Ezeh, I. H. Ofoke, C. O. Ogbu, E. I. Ugwuja, et P. M. Aja. 2023. « Molecular Docking as a Tool for the Discovery of Molecular Targets of Nutraceuticals in Diseases Management ». *Scientific Reports* 13 (1): 13398. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40160-2>.

Brown, Joel S., Sarah R. Amend, Robert H. Austin, Robert A. Gatenby, Emma U. Hammarlund, et Kenneth J. Pienta. 2023. « Updating the Definition of Cancer ». *Molecular Cancer Research* 21 (11): 1142-47. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-23-0411>.

Galbraith, Matthew D., Aaron J. Donner, et Joaquín M. Espinosa. 2010. « CDK8: A Positive Regulator of Transcription ». *Transcription* 1 (1): 4-12. <https://doi.org/10.4161/trns.1.1.12373>.

Jiang, Qing. 2014. « Natural Forms of Vitamin E: Metabolism, Antioxidant, and Anti-Inflammatory Activities and Their Role in Disease Prevention and Therapy ». *Free Radical Biology and Medicine* 72 (juillet):76-90. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.03.035>.

Kutushev, F. Kh, Iu G. Shubik, A. S. Libov, et A. V. Andreev. 1979. « [Importance of immunotherapy in the management of patients with acute staphylococcal lactation mastitis] ». *Vestnik Khirurgii Imeni I. I. Grekova* 123 (7): 9-13.

Menzl, Ingeborg, Agnieszka Witalisz-Siepracka, et Veronika Sexl. 2019. « CDK8-Novel Therapeutic Opportunities ». *Pharmaceuticals* 12 (2): 92. <https://doi.org/10.3390/ph12020092>.

Mittal, Deepak, Matthew M Gubin, Robert D Schreiber, et Mark J Smyth. 2014. « New Insights into Cancer Immunoediting and Its Three Component Phases—Elimination, Equilibrium and Escape ». *Current Opinion in Immunology* 27 (avril):16-25. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2014.01.004>.

Sarkar, Sibaji, Garrick Horn, Kimberly Moulton, Anuja Oza, Shannon Byler, Shannon Kokolus, et McKenna Longacre. 2013. « Cancer Development, Progression, and Therapy: An Epigenetic Overview ». *International Journal of Molecular Sciences* 14 (10): 21087-113. <https://doi.org/10.3390/ijms141021087>.

Ungurianu, Anca, Anca Zanfrescu, Georgiana Nițulescu, et Denisa Margină. 2021. « Vitamin E beyond Its Antioxidant Label ». *Antioxidants* 10 (5): 634. <https://doi.org/10.3390/antiox10050634>.

<https://dune.univ-angers.fr/fichiers/20111382/2022PPHA15658/fichier/15658F.pdf>

Agu, P. C., C. A. Afiukwa, O. U. Orji, E. M. Ezeh, I. H. Ofoke, C. O. Ogbu, E. I. Ugwuja, et P. M. Aja. 2023. « Molecular Docking as a Tool for the Discovery of Molecular Targets of Nutraceuticals in Diseases Management ». *Scientific Reports* 13 (1): 13398. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40160-2>.

Brown, Joel S., Sarah R. Amend, Robert H. Austin, Robert A. Gatenby, Emma U. Hammarlund, et Kenneth J. Pienta. 2023. « Updating the Definition of Cancer ». *Molecular Cancer Research* 21 (11): 1142-47. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-23-0411>.

Galbraith, Matthew D., Aaron J. Donner, et Joaquín M. Espinosa. 2010. « CDK8: A Positive Regulator of Transcription ». *Transcription* 1 (1): 4-12. <https://doi.org/10.4161/trns.1.1.12373>.

Jiang, Qing. 2014. « Natural Forms of Vitamin E: Metabolism, Antioxidant, and Anti-Inflammatory Activities and Their Role in Disease Prevention and Therapy ». *Free Radical Biology and Medicine* 72 (juillet):76-90. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.03.035>.

Kutushev, F. Kh, Iu G. Shubik, A. S. Libov, et A. V. Andreev. 1979. « [Importance of immunotherapy in the management of patients with acute staphylococcal lactation mastitis] ». *Vestnik Khirurgii Imeni I. I. Grekova* 123 (7): 9-13.

Référence

Menzl, Ingeborg, Agnieszka Witalisz-Siepracka, et Veronika Sexl. 2019. « CDK8-Novel Therapeutic Opportunities ». *Pharmaceuticals* 12 (2): 92. <https://doi.org/10.3390/ph12020092>.

Mittal, Deepak, Matthew M Gubin, Robert D Schreiber, et Mark J Smyth. 2014. « New Insights into Cancer Immunoediting and Its Three Component Phases—Elimination, Equilibrium and Escape ». *Current Opinion in Immunology* 27 (avril):16-25. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2014.01.004>.

Sarkar, Sibaji, Garrick Horn, Kimberly Moulton, Anuja Oza, Shannon Byler, Shannon Kokolus, et McKenna Longacre. 2013. « Cancer Development, Progression, and Therapy: An Epigenetic Overview ». *International Journal of Molecular Sciences* 14 (10): 21087-113. <https://doi.org/10.3390/ijms141021087>.

Ungurianu, Anca, Anca Zanfirescu, Georgiana Nițulescu, et Denisa Margină. 2021. « Vitamin E beyond Its Antioxidant Label ». *Antioxidants* 10 (5): 634. <https://doi.org/10.3390/antiox10050634>.

Agu, P. C., C. A. Afiukwa, O. U. Orji, E. M. Ezeh, I. H. Ofoke, C. O. Ogbu, E. I. Ugwuja, et P. M. Aja. 2023. « Molecular Docking as a Tool for the Discovery of Molecular Targets of Nutraceuticals in Diseases Management ». *Scientific Reports* 13 (1): 13398. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40160-2>.

Brown, Joel S., Sarah R. Amend, Robert H. Austin, Robert A. Gatenby, Emma U. Hammarlund, et Kenneth J. Pienta. 2023. « Updating the Definition of Cancer ». *Molecular Cancer Research* 21 (11): 1142-47. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-23-0411>.

Galbraith, Matthew D., Aaron J. Donner, et Joaquín M. Espinosa. 2010. « CDK8: A Positive Regulator of Transcription ». *Transcription* 1 (1): 4-12. <https://doi.org/10.4161/trns.1.1.12373>.

Jiang, Qing. 2014. « Natural Forms of Vitamin E: Metabolism, Antioxidant, and Anti-Inflammatory Activities and Their Role in Disease Prevention and Therapy ». *Free Radical Biology and Medicine* 72 (juillet):76-90. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.03.035>.

Kutushev, F. Kh, Iu G. Shubik, A. S. Libov, et A. V. Andreev. 1979. « [Importance of immunotherapy in the management of patients with acute staphylococcal lactation mastitis] ». *Vestnik Khirurgii Imeni I. I. Grekova* 123 (7): 9-13.

Menzl, Ingeborg, Agnieszka Witalisz-Siepracka, et Veronika Sexl. 2019. « CDK8-Novel Therapeutic Opportunities ». *Pharmaceuticals* 12 (2): 92. <https://doi.org/10.3390/ph12020092>.

Mittal, Deepak, Matthew M Gubin, Robert D Schreiber, et Mark J Smyth. 2014. « New Insights into Cancer Immunoediting and Its Three Component Phases—Elimination, Equilibrium and Escape ». *Current Opinion in Immunology* 27 (avril):16-25. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2014.01.004>.

Sarkar, Sibaji, Garrick Horn, Kimberly Moulton, Anuja Oza, Shannon Byler, Shannon Kokolus, et McKenna Longacre. 2013. « Cancer Development, Progression, and Therapy: An Epigenetic Overview ». *International Journal of Molecular Sciences* 14 (10): 21087-113. <https://doi.org/10.3390/ijms141021087>.

Ungurianu, Anca, Anca Zanfirescu, Georgiana Nițulescu, et Denisa Margină. 2021. « Vitamin E beyond Its Antioxidant Label ». *Antioxidants* 10 (5): 634. <https://doi.org/10.3390/antiox10050634>.

Cheng, Gang, Jacek Zielonka, Donna M McAllister, A Craig Mackinnon, Joy Joseph, Michael B Dwinell, et Balaraman Kalyanaraman. 2013. « Mitochondria-Targeted Vitamin E Analogs Inhibit Breast Cancer Cell Energy Metabolism and Promote Cell Death ». *BMC Cancer* 13 (1): 285. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-13-285>.

Constantinou, Constantina, Andreas Papas, et Andreas I. Constantinou. 2008. « Vitamin E and Cancer: An Insight into the Anticancer Activities of Vitamin E Isomers and Analogs ». *International Journal of Cancer* 123 (4): 739-52. <https://doi.org/10.1002/ijc.23689>.

Das Gupta, Soumyasri, et Nanjoo Suh. 2016. « Tocopherols in Cancer: An Update ». *Molecular Nutrition & Food Research* 60 (6): 1354-63. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201500847>.

Gamna, Francesca, et Silvia Spriano. 2021. « Vitamin E: A Review of Its Application and Methods of Detection When Combined with Implant Biomaterials ». *Materials* 14 (13): 3691. <https://doi.org/10.3390/ma14133691>.

Jiang, Qing. 2014. « Natural Forms of Vitamin E: Metabolism, Antioxidant, and Anti-Inflammatory Activities and Their Role in Disease Prevention and Therapy ». *Free Radical Biology and Medicine* 72 (juillet):76-90. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.03.035>.

Ju, Jihyeung, Sonia C. Picinich, Zhihong Yang, Yang Zhao, Nanjoo Suh, Ah-Ng Kong, et Chung S. Yang. 2010. « Cancer-Preventive Activities of Tocopherols and Tocotrienols ». *Carcinogenesis* 31 (4): 533-42. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgp205>.

Keen, MohammadAbid, et Iffat Hassan. 2016. « Vitamin E in Dermatology ». *Indian Dermatology Online Journal* 7 (4): 311. <https://doi.org/10.4103/2229-5178.185494>.

Lee, Ga, et Sung Han. 2018. « The Role of Vitamin E in Immunity ». *Nutrients* 10 (11): 1614. <https://doi.org/10.3390/nu10111614>.

Lindsay, D. 2002. « European research on the functional effects of dietary antioxidants – EUROFEDA ». *Molecular Aspects of Medicine* 23 (1-3): 1-38. [https://doi.org/10.1016/S0098-2997\(02\)00005-5](https://doi.org/10.1016/S0098-2997(02)00005-5).

Lloret, Ana, Daniel Esteve, Paloma Monllor, Ana Cervera-Ferri, et Angeles Lloret. 2019. « The Effectiveness of Vitamin E Treatment in Alzheimer's Disease ». *International Journal of Molecular Sciences* 20 (4): 879. <https://doi.org/10.3390/ijms20040879>.

Mohd Mutalip, Siti, Sharaniza Ab-Rahim, et Mohd Rajikin. 2018. « Vitamin E as an Antioxidant in Female Reproductive Health ». *Antioxidants* 7 (2): 22. <https://doi.org/10.3390/antiox7020022>.

Naguib, Marwa M., et Miguel A. Valvano. 2018. « Vitamin E Increases Antimicrobial Sensitivity by Inhibiting Bacterial Lipocalin Antibiotic Binding ». Édité par Paul Dunman. *mSphere* 3 (6): e00564-18. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00564-18>.

Rizvi, Saliha, Syed T. Raza, Faizal Ahmed, Absar Ahmad, Shania Abbas, et Farzana Mahdi. 2014. « The Role of Vitamin e in Human Health and Some Diseases ». *Sultan Qaboos University Medical Journal* 14 (2): e157-165.

Schmölz, Lisa. 2016. « Complexity of Vitamin E Metabolism ». *World Journal of Biological Chemistry* 7 (1): 14. <https://doi.org/10.4331/wjbc.v7.i1.14>.

Schubert, Martin, Stefan Kluge, Lisa Schmölz, Maria Wallert, Francesco Galli, Marc Birringer, et Stefan Lorkowski. 2018. « Long-Chain Metabolites of Vitamin E: Metabolic Activation as a General Concept for Lipid-Soluble Vitamins? ». *Antioxidants* 7 (1): 10. <https://doi.org/10.3390/antiox7010010>.

Référence

Tintino, Saulo R., Cícera D. Morais-Tintino, Fábía F. Campina, Raimundo L. Pereira, Maria Do S. Costa, Maria Flaviana B.M. Braga, Paulo W. Limaverde, et al. 2016. « Action of Cholecalciferol and Alpha-Tocopherol on Staphylococcus Aureus Efflux Pumps ». EXCLI Journal; 15:Doc315; ISSN 1611-2156. <https://doi.org/10.17179/EXCLI2016-277>.

Vergalito, Franca, Laura Pietrangelo, Giulio Petronio Petronio, Federica Colitto, Marco Alfio Cutuli, Irene Magnifico, Noemi Venditti, Germano Guerra, et Roberto Di Marco. 2019. « Vitamin E for Prevention of Biofilm-Caused Healthcare-Associated Infections ». Open Medicine 15 (1): 14-21. <https://doi.org/10.1515/med-2020-0004>.

Yang, Chung S., et Nanjoo Suh. 2012. « Cancer Prevention by Different Forms of Tocopherols ». In Natural Products in Cancer Prevention and Therapy, édité par John M. Pezzuto et Nanjoo Suh, 329:21-33. Topics in Current Chemistry. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/128_2012_345.