

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

جامعة أبي بكر بلقايد - تلمسان -

Université Aboubakr Belkaïd – Tlemcen –

Faculté des sciences de la nature et de la vie

et des sciences de la terre et de l'univers

Département de Biologie



## **MEMOIRE**

Présenté pour l'obtention du diplôme de MASTER

En : science biologique

**Spécialité : Biochimie**

**Par : AZZOUZ Marwa et BADAOUI Naima**

**Thème**

**Recherche *in silico* d'inhibiteurs de tyrosine kinase comme cible thérapeutique dans les hémopathies malignes**

Soutenu le 30/06/2022

**Membres du Jury :**

Président :	Pr Sari Lamia	Professeur	UABT
Examineur :	Dr. Cherrak Ahmed Sabri	Maître de conférences A	UABT
Encadrante :	Dr. Benmansour Meriem	Maître de conférences B	UABT

Année universitaire : 2021/2022

## ☞Remerciement☞

✍...A Allah Le tout puissant, le clément le très miséricordieux de nous avoir aider tout au long de nos années d'étude et de nous avoir donner la patience et le courage pour arriver à ce stade...

✍...A notre Encadreur Mme BENMANSOUR Meriem

*Vous nous avez fait l'honneur d'accepter la direction de ce mémoire.*

*Vous avez fait preuve d'une patience et d'une écoute appréciable durant l'élaboration de ce travail. Nous vous remercions pour votre soutien, vos conseils et votre disponibilité.*

*Veuillez trouver ici l'expression de notre immense gratitude.*

*Je tiens à remercier également Mme SARI Lamia, Professeur au département de Biologie, Faculté des SNV-STU, Université Abou Bakr Belkaïd de Tlemcen, pour l'honneur qu'elle me fait de présider le jury d'examen de mémoire.*

*J'exprime mes sincères gratitudees à Mr. CHERRAK Sabri Ahmed Maître de conférences B au département de Biologie, Faculté des SNV-STU, Université Abou Bakr Belkaïd de Tlemcen, pour son aide et ses précieux conseils dans la partie in silico et pour l'honneur d'avoir accepté d'être examinateur de ce mémoire.*

## ❧Dédicaces❧

❧...Je dédie ce travail

*Je dédie ce modeste travail tout d'abord à Allah  
Qui m'a aidé sur le droit chemin tout au long de ce travail*

*A ma très chère mère*

*Maman, L'école de mon enfance et mes 6 ans des études primaires.  
Vous m'avez accompagnée tout au long de ma vie. Grace à vos grands  
sacrifices, vous avez pu créer le climat affectueux et propice à la  
poursuite de mes études. Vous avez fait de moi ce que je suis  
aujourd'hui. J'espère être toujours digne de ce vous m'avez enseigné et  
vous rendre fiers.*

*A la mémoire de mon père*

*J'aurai voulu en ce jour que tu sois parmi nous.*

*A mes chères sœurs « Nacera » et « Nadjet »*

*Pour le soutien qu'ils m'ont toujours apporté.*

*A mon oncle et ma tante*

*À mes chers neveux*

*Anes, Mohammed*

*À mes fidèle amies : Badaoui Ibtissam & Bada Safia*

*A ma chère amie et binôme « Marwa »*

*J'ai l'honneur et la joie d'être tout le temps avec toi et j'ai passée des  
meilleurs moments que je n'oublierai jamais.*

*A toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à notre  
formation et bien être.*

∞Dédicaces∞

✍...Je dédie ce travail

*Je dédie ce modeste travail tout d'abord à Allah  
Qui m'a aidé sur le droit chemin tout au long de ce travail*

*Aes très chers parents*

*Qui m'a donné leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs  
Prières tout au long de mes études*

*A mes chers et adorables frères et sœurs*

*Fouzia, Fatima Zohra, Amina*

*Mohamed et Ibrahim*

*Pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral*

*À mes chers neveux :*

*Mohamed, Mondir, Sérine et Zineb*

*A mes chères amies que j'ai vécu avec elles des beaux moments*

*Naima, Safia et Ibtissam*

*A ma cher amie et binôme Naima*

*Enfin je tiens à remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de  
loin*

## Résumé

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est une hémopathie maligne caractérisée par une translocation chromosomique qui conduit à l'apparition de la protéine chimérique Bcr/Abl 1, à activité tyrosine kinase dérégulée provoquant ainsi une différenciation cellulaire inadéquate, une réplication illimitée et une résistance à l'apoptose. La détermination de la protéine kinase Bcr-Abl chez les patients atteints de LMC a permis le développement de la thérapie moléculaire ciblée, par les inhibiteurs de la tyrosine kinase (ITK). Ce travail a pour objectif de rechercher *in silico* de potentiels ITK à partir de substances naturelles. Pour cela nous avons réalisé un amarrage moléculaire à l'aide du logiciel UCSF Chimera 1.15, avec 12 similaires structuraux dérivés de berbérine et d'émodine. L'analyse de nos résultats montre que sur l'ensemble des composés testés, seuls le Columbamine et le 13-méthylberberine dérivés de la plante *Berberis vulgaris*, sont considérés comme de puissants inhibiteurs de la Bcr-Abl 1 dans la LMC avec des  $\Delta G^\circ$  (Kcal/mol) de -9.3 et -10.5. Ils sont aussi en raison de la présence des paramètres pharmacologiques dans la gamme acceptable. Ensuite, l'analyse des propriétés pharmacologiques par SwissADME a permis de prédire la Columbamine et le 13-méthylberberine comme des inhibiteurs biodisponibles par voie orale.

**Mots clés:** LMC, tyrosine kinase, inhibiteur, Docking moléculaire

## **Abstract**

Chronic myeloid leukemia (CML) is a hematological malignancy characterized by a visible cytogenetic chromosomal translocation leading to the appearance of the chimeric protein Bcr/Ab11. The oncoprotein Bcr-Abl1 which carries deregulated tyrosine kinase activity causes inadequate cell differentiation, unlimited replication and resistance to apoptosis. The study of Bcr-Abl protein kinase and its central role in the pathogenesis of CML has enabled the development of molecular targeted therapy, which include Bcr-Abl tyrosine kinase (TKI) inhibitors or clinical trials of novel therapies. In this work we focused on the study by molecular docking in order to search for new tyrosine kinase inhibitors using the **UCSF Chimera** software. The results obtained after the molecular docking of a collection of two inhibitors of natural origin. Only Columbamine and 13-methylberberine, derived from the *Berberis vulgaris* plant are considered potent inhibitors against chronic myeloid leukemia with  $\Delta G^\circ$  (Kcal/mol) -9.3 and -10.5, due to the presence of pharmacological parameters within the acceptable range. The analysis of the pharmacological properties by **SwissADME** made it possible to predict columbamine and 13-methyleberberine as inhibitors orally bioavailable.

**Key words: Chronic myeloid leukemia, tyrosine kinase inhibitor, molecular docking.**

## ملخص

ابيضاض الدم النخاعي المزمن (CML) هو ورم خبيث في الدم يتميز بالانتقال الكروموسومي الذي يؤدي إلى ظهور البروتين Bcr / Abl 1، مع نشاط كيناز التيروسين غير المنظم، مما يتسبب في تمايز الخلايا غير الكافي، والتكاثر غير المحدود ومقاومة موت الخلايا المبرمج. سمح تحديد بروتين كيناز Bcr-Abl في مرضى سرطان الدم النخاعي المزمن بتطوير العلاج الجزيئي المستهدف بواسطة مثبطات التيروسين كيناز (ITK) يهدف هذا العمل إلى البحث *in silico* عن ITK المحتملة من المواد الطبيعية. لهذا قمنا بتنفيذ عملية الالتحام الجزيئي باستخدام برنامج UCSF Chimera 1.15 ، مع 12 تشبيهاً هيكلياً مشتقاً من berberine et émodine يُظهر تحليل نتائجنا أنه من بين جميع المركبات التي تم اختبارها، يعتبر فقط بـ **Columbamine** و **13-methylberberine** المشتق من نبات *Berberis vulgaris* مثبطات قوية لـ Bcr-Abl 1 في CML مع  $\Delta G^\circ$  (Kcal/mol) من -9.3 و -10.5. كما أنها ترجع إلى وجود معلمات دوائية في النطاق المقبول. بعد ذلك جعل تحليل الخصائص الدوائية بواسطة **SwissADME** من الممكن التنبؤ بـ **Columbamine** و-13 **methylberberine** كمثبطات متوافرة بيولوجياً عن طريق الفم

الكلمات المفتاحية: تيروزين كيناز، مثبطات، الالتحام الجزيئي

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Structure d'un domaine protéique kinase typique avec un site de liaison à l'ATP et des éléments conservés (Modi & Dunbrack Jr, 2019).....	6
<b>Figure 2:</b> Disposition des domaines des divers sous-familles RTK (Dricu et al., 2012) .....	8
<b>Figure 3:</b> Organisation structural des différentes sous-familles des tyrosine kinase non réceptrices (Gocek et al., 2014).....	9
<b>Figure 4:</b> Les conformations inactives et actives d'une kinase (Gagic et al., 2020). .....	10
<b>Figure 5:</b> Structure en domaine de la protéine Abl (Carofiglio et al., 2020). .....	13
<b>Figure 6:</b> Structure en domaine de la protéine Bcr (Peiris et al., 2019).....	13
<b>Figure 7:</b> Structure en domaine de la protéine de fusion Bcr-Abl (Carofiglio et al., 2020) ...	25
<b>Figure 8:</b> Principales applications de l'amarrage moléculaire dans la découverte actuelle de médicaments (Pinzi & Rastelli, 2019).....	25
<b>Figure 9:</b> Processus d'amarrage moléculaire par UCSF Chimera. ....	28
<b>Figure 10:</b> L'interface d'accès au AutoDock vina dans UCSF chimera.....	29
<b>Figure 11:</b> Interface de logiciel Discovery Studio Visualizer .....	30
<b>Figure 12:</b> Interface de l'outil web SwissADME. ....	30
<b>Figure 13:</b> Interface de la base de données PDB le mois de mai 2022. ....	31
<b>Figure 14 :</b> Interface de la base de données PubChem avec les statistiques actuelles .....	32
<b>Figure 15 :</b> Interaction de Chelerythrine chlorure avec l'Abl1 .....	41
<b>Figure 16 :</b> Interaction de 13-méthylberberine avec l'Abl1 .....	42
<b>Figure 17:</b> Interaction de Columbamine avec l'Abl1 .....	43
<b>Figure 18:</b> Interaction de la Chrysofanol-8-O-glucoside avec l'Abl1 .....	44
<b>Figure 19:</b> Interaction de la Rhapontigénine 3'-O-glucosides avec l'Abl1 .....	44
<b>Figure 20:</b> Interaction de Rhapontine avec l'Abl1 .....	45
<b>Figure 21:</b> Radar de biodisponibilité de Columbamine et 13-méthylberberine .....	46
<b>Figure 22:</b> Radar de biodisponibilité de Chelerythrine chlorure .....	47
<b>Figure 23 :</b> Radar de biodisponibilité de Rhapontine et Rhapontigénine 3'-O-glucosides.....	47
<b>Figure 24:</b> Radar de biodisponibilité de Chrysofanol-8-O-glucoside .....	48

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Les données PDB de la protéine cible .....	33
<b>Tableau 2:</b> Représentation des structure 3D des inhibiteurs étudiés dans ce travail.....	34
<b>Tableau 3:</b> Taille et position du centre de la grille.....	37
<b>Tableau 4:</b> Résultats de docking moléculaire pour les 12 analogues.....	39
<b>Tableau 5:</b> Les résultats de docking moléculaire pour les meilleurs analogues de la berbérine .....	40
<b>Tableau 6:</b> Les résultats de docking moléculaire pour les meilleurs analogues de l'émodine. 40	
<b>Tableau 7:</b> le profil ADMET des meilleurs inhibiteurs obtenus par le serveur SwissADME 46	

## Liste des abréviations

<b>ATP</b>	Adénosine tri-phosphate
<b>ADP</b>	Adénosine di-phosphate
<b>PTK</b>	Protéine tyrosine kinase
<b>AMP</b>	Adenosine monophosphate
<b>APE</b>	Ala-Pro-Glu
<b>DFG</b>	Asp-Phe-Gly
<b>HRD</b>	His-Arg-Asp
<b>NRTK</b>	Non récepteur tyrosine kinase
<b>RTK</b>	Récepteur tyrosine kinase
<b>SH 1/2/3</b>	SRC Homology 1/2/3 domain
<b>AND</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>Src</b>	sarcoma
<b>MAP</b>	Kinase mitogene activator protein kinase
<b>ETS</b>	Electron transport system
<b>FOS</b>	Fibrous Organelles
<b>MYC</b>	Myélocytomatose cellulaire
<b>SP1</b>	Protéine stimulante 1
<b>PI3K</b>	Phosphoinositide-3-kinase
<b>Jak</b>	Janus kinases
<b>Abl</b>	Abelson
<b>RAS</b>	Rat sarcoma viral oncogene homolog
<b>STAT</b>	Signal transducers and activators of transcription
<b>LMC</b>	leucémie myéloïde chronique
<b>Ph1</b>	Chromosome Philadelphie
<b>Bcr</b>	Breakpoint Cluster Region
<b>BCR-ABL</b>	Breakpoint cluster region-Abelson leukemia virus
<b>Rho/GEF</b>	Ras homolog gene family/ Guanine nucleotide exchange factor

<b>GRB-2</b>	Growth factor receptor-bound protein 2
<b>CRKL</b>	CRK Like Proto-Oncogene, Adapter Protein
<b>CRK</b>	Cysteine-rich Receptor-like Kinase.
<b>RAS/MAPK</b>	Rat sarcoma viral oncogene homolog/ mitogen activator protein kinase
<b>PI3K/AKT</b>	Phosphoinositide-3-kinase/ protéine kinase à sérine-thréonine
<b>JAK2/STAT</b>	Janus kinases /Signal transducers and activators of transcription
<b>ITK</b>	Inhibiteur tyrosine kinase
<b>MI</b>	Imatinib
<b>3D</b>	Trois dimensions
<b>PDB</b>	Protein Data Bank
<b>HQP1351</b>	Olverembatinib
<b>BBR</b>	Berbérine
<b>DSV</b>	Discovery Studio Visualizer
<b>CLTR</b>	Chelerythrine chloride
<b>13MBBR</b>	13-methylberberine
<b>DHBBR</b>	Dihydroberberine,
<b>JAT</b>	Jatrorrhizine

## Table des matières

Introduction .....	1
CHAPITRE I : Les tyrosine kinases .....	4
1. Généralité.....	5
2. Structure.....	5
3. Familles de protéines tyrosine kinase :.....	6
3.1 Récepteurs tyrosines kinases .....	6
3.2. Les tyrosine kinases non réceptrices .....	8
4. Mécanisme d'activation des protéines tyrosine kinases .....	9
5. Rôle des tyrosine kinases dans les voies de signalisation .....	10
6. Régulation des tyrosine kinases.....	11
7. L'activité tyrosine kinase dans les hémopathies malignes : cas de la leucémie myéloïde chronique .....	12
7.1. Protéine de fusion Bcr-Abl.....	12
7.2. Les vois de signalisation associée à Bcr-Abl.....	14
8. La thérapie ciblée : les inhibiteurs de tyrosine kinases (ITK).....	14
8.1. Les ITK de première génération : Imatinib mésylate ou STI 571 (Glivec /Gleevec).....	15
8.2. Les ITK de seconde génération : Nicotinb, Dasatinib et Bosutinib.....	15
8.3. Les ITK de troisième génération : Ponatinib AP24534.....	16
9. Les substances naturelles ciblant la protéine de fusion Bcr-Abl.....	17
9.1. Berbérine (BBR) .....	18
9.2. Émodine .....	18
CHAPITRE II : Docking Moléculaire .....	20
1. Introduction .....	21
2. Principe théorique.....	21
3. Les outils de Docking moléculaire .....	22
3.1. Récepteur .....	22
3.2. Ligand .....	22
3.3. Les programmes de Docking moléculaire .....	22
4. Les algorithmes de recherche .....	23
4.1. L'amarrage à corp rigide.....	23
4.2. L'amarrage flexible.....	23
5. Fonction de score.....	23
5.1. Les fonctions de score basées sur le champ de force.....	24

5.2. Les fonctions de score empirique.....	24
5.3. Les fonctions de score basées sur la connaissance « Knowledge-based ».....	24
6. Intérêt de Docking moléculaire .....	25
<b>CHAPITRE III : Matériel et méthodes .....</b>	
1. Matériel.....	28
1.1. Micro-ordinateur.....	28
1.2. Les programmes .....	28
1.3. Les banques de donnée .....	31
2. Méthodes .....	32
3. Le Docking moléculaire .....	37
<b>CHAPITRE IV : Résultats et discussion.....</b>	<b>38</b>
1. Résultats de docking moléculaire .....	39
2. Les interactions moléculaires .....	41
3. L'évaluation des propriétés pharmacologiques : .....	45
<b>Conclusion.....</b>	<b>49</b>
<b>Références bibliographiques</b>	

# Introduction

Les protéines kinases (PK) sont des transférases qui jouent un rôle crucial dans les processus de transduction du signal, elles peuvent être regroupées en tyrosine, sérine et thréonine kinase (Azevedo et *al.*, 2019; De Santis et *al.*, 2022). Les tyrosine kinases est une famille qui modifient de manière covalente les groupes hydroxyle des résidus tyrosine par le transfert du  $\gamma$ -phosphate de l'ATP sur des substrats protéiques (Kim et *al.*, 2017; Solouki et *al.*, 2019). Cependant, la dérégulation ou la perte de leurs activités sont souvent lié souvent liée à des anomalies génétiques est à l'origine du développement de divers types de cancers notamment les hémopathies malignes (K. Bhanumathy et *al.*, 2021).

Parmi ces pathologies, la leucémie myéloïde chronique (LMC), est un syndrome myéloprolifératif caractérisé par une prolifération clonale de la lignée myéloïde granulocytaire (Druker et *al.*, 2006; Jabbour & Kantarjian, 2020; K. Bhanumathy et *al.*, 2021). Cette maladie résulte d'un réarrangement chromosomique récurrent appelé chromosome de Philadelphie (Ph) due à une translocation réciproque équilibrée entre le gène Abl du chromosome 9 (q34) et le gène BCR localisé du chromosome 22 (q11). Le gène Bcr-Abl qui en résultent code pour une protéine de fusion dont l'activité tyrosine kinase non contrôlée, dérégule la prolifération cellulaire et protège les cellules leucémiques de l'apoptose (Deininger et *al.*, 2020). La découverte de ce marqueur moléculaire a révolutionné le traitement de la LMC en prenant comme cible thérapeutique l'oncoprotéine Bcr-Abl.

En effet, les inhibiteurs de la tyrosine kinase (ITK) ont nettement amélioré la prise en charge de la leucémie myéloïde chronique. Bien que les patients atteints de la maladie se portent généralement bien sous traitement par les ITK, des stratégies supplémentaires sont nécessaires pour ceux qui présentent des résistances au traitement, en raison des mutations ponctuelles principalement le mutant T315I (Yurttas & Eşkazan, 2020). De ce fait, la recherche de nouveaux inhibiteurs de tyrosine kinase est en plein essor.

Par ailleurs, les produits naturels sont à l'origine du développement de la majorité des molécules thérapeutiques grâce à leur mode d'action unique et la diversité de leur structure moléculaire. L'obtention de nouvelles entités chimiques ayant une activité inhibitrice de la tyrosine kinase à partir de produits actifs naturels apportera des percées dans la recherche de nouveaux médicaments anticancéreux (Yin et *al.*, 2019).

D'autre part, les outils informatiques jouent un rôle central dans la rationalisation du chemin vers la découverte de médicaments. Le docking moléculaire est la première méthode *in silico* qui vise à prédire la structure d'un complexe à partir des molécules isolées, ce qui est

considérablement plus facile à mettre en œuvre, moins cher et plus rapide que l'utilisation des méthodes expérimentales *in vitro*. Les logiciels de l'amarrage moléculaire sont donc des moyens très utiles en biologie, pharmacie et médecine (BOUCHERIT et *al.*, 2013).

L'objectif de notre travail est de contribuer à la recherche de nouveaux inhibiteurs de tyrosine kinase BCR-ABL à partir de substances naturelles en utilisant les méthodes d'amarrage moléculaire. Ces dernières consistent à rechercher *in silico* le mode d'interaction le plus favorable entre une protéine cible et son ligand afin de sélectionner les structures potentiellement actives sur la protéine cible.

Ce manuscrit commence par une introduction, suivi de deux parties :

La première partie ; est une étude bibliographique réunie en deux chapitres. Le premier chapitre commence par une généralité sur les protéines tyrosine kinases avec leurs principales caractéristiques structurelles et fonctionnels, la physiopathologie et leurs inhibiteurs. Le deuxième chapitre aborde la notion de l'amarrage moléculaire et des logiciels utilisés.

La deuxième partie expérimentale ; se divise en deux chapitres ; le premier explique le matériel et les méthodes bio-informatiques appliquées dans ce travail. Le deuxième chapitre présente les résultats et discussion des différents tests réalisés.

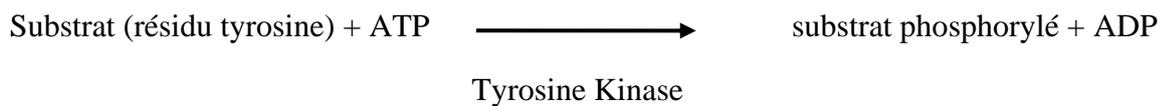
Enfin, cette étude se termine par une conclusion générale.

# *CHAPITRE I*

## Les tyrosine kinases

## 1. Généralité

Les protéines kinases constituent un grand groupe d'enzyme qui contrôlent plusieurs voies de signalisation (K. Bhanumathy et *al.*, 2021). La superfamille des protéines kinases humaines se compose de 518 membres dont 90 sont des protéines tyrosine kinases, ces enzymes font partie des transférases qui catalysent la phosphorylation par le transfert d'un groupement phosphate issu de l'adénosine tri-phosphate (ATP) vers le groupe hydroxyle d'un acide aminé tyrosine dans un substrat protéique, selon la réaction (Yin et *al.*, 2022). :



Les protéines tyrosine kinases (PTK) sont trouvées uniquement chez les métazoaires et localisées soit au niveau des membranes cellulaires soit à l'intérieur de cytoplasme (Allain, 2007). Ils agissent comme des médiateurs fondamentaux de tous les processus de transduction du signal, contribuant à une variété de mécanismes biologiques en réponse à des messagers internes et externes, modulant la croissance cellulaire, la différenciation, la migration, le métabolisme, l'apoptose, et la survie (Azevedo et *al.*, 2019 ; K. Bhanumathy et *al.*, 2021).

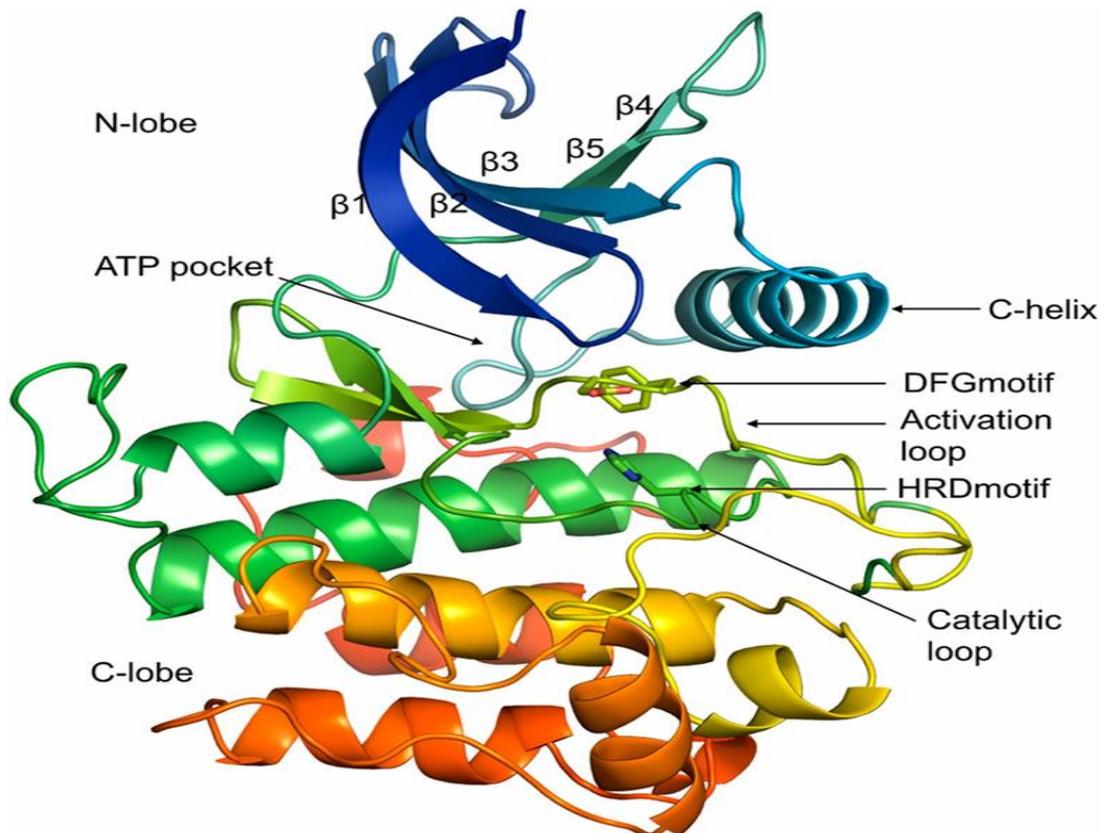
## 2. Structure

L'étude structurale des protéines tyrosine kinases a considérablement progressé au cours des années. En 1991, Knighton a résolu pour la première fois la structure aux rayons X de la protéine kinase dépendante de l'AMP cyclique (Knighton et *al.*, 1991).

La structure globale des domaines kinases consiste en un lobe N-terminal contenant un feuillet  $\beta$  à 5 brins et une hélice  $\alpha$  (appelée  $\alpha C$ ), ainsi qu'un lobe C-terminal, principalement en hélice hélicoïdale (figure1) (Gagic et *al.*, 2020). Les deux lobes sont reliés par une région charnière flexible formant le site de liaison à l'ATP au milieu de la protéine (Modi & Dunbrack Jr, 2019).

Le site actif comprend plusieurs éléments structurels essentiels à l'activité enzymatique, le lobe N contient un motif GxGxxG flexible conservé riche en glycine entre  $\beta 1$  et  $\beta 2$  (également appelé boucle P), qui stabilise les phosphates de la molécule d'ATP liée pendant la catalyse. Le lobe C est important à la fois pour la liaison protéine-substrat et pour la liaison nucléotidique. Il contient une boucle d'activation mobile de 20 à 30 résidus qui commence par le motif DFG (Asp-Phe-Gly) et se prolonge jusqu'à un motif APE (Ala-Pro-Glu). Un autre motif sur le lobe C, est le HRD (His-Arg-Asp) qui joue un rôle important pendant la catalyse (figure 1) (Gagic et *al.*, 2020; Modi & Dunbrack Jr, 2019).

Les domaines kinase sont hautement conservés dans les PTK. En plus du domaine catalytique, la structure de PTK contient d'autres domaines protéiques bien caractérisés, tels que : les partenaires de liaison protéique (SH2, SH3, domaines d'adhérence focale/domaines de ciblage d'adhérence focale), domaine d'homologie Pleckstrin (PH), domaine de liaison à l'ADN, d'autres multi domaines de type soit immunoglobuline (IgD), fibronectine III (FNIII), riche en cystéine (CRD) et de type facteur de croissance épidermique (EGFD) (Hubbard & Till, 2000; Tsygankov, 2003).



**Figure 1:** Structure d'un domaine protéique kinase typique avec un site de liaison à l'ATP et des éléments conservés (Modi & Dunbrack Jr, 2019)

### 3. Familles de protéines tyrosine kinase :

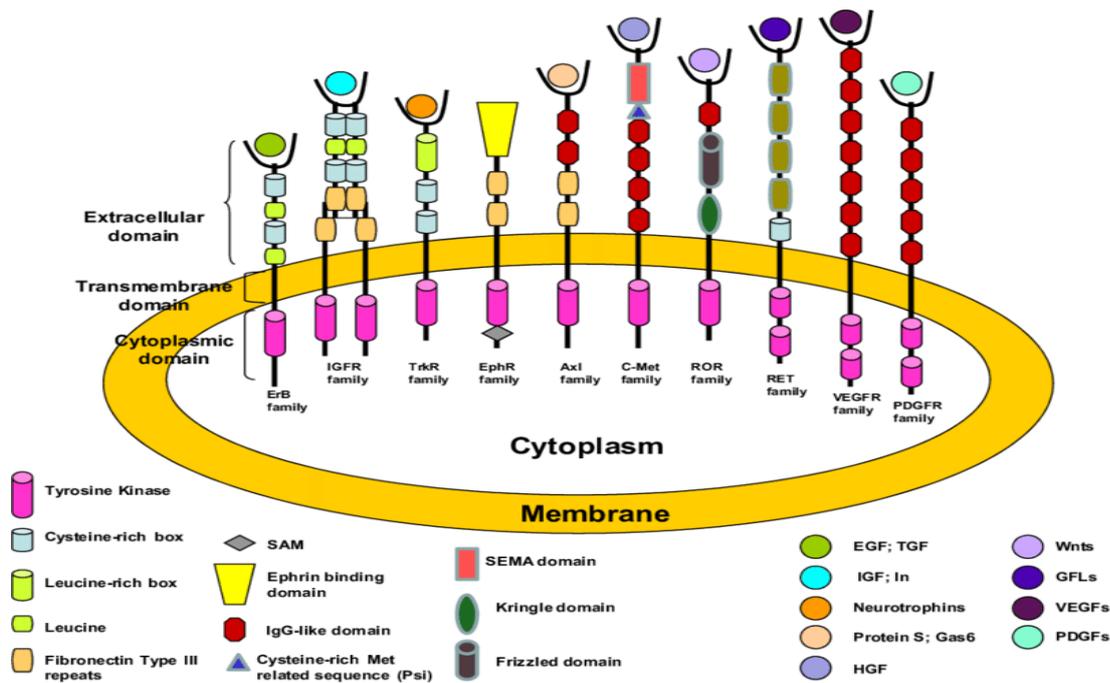
Les tyrosine kinases sont définies comme des médiateurs fondamentaux de presque tous les processus de transduction du signal (Siveen *et al.*, 2018). Ils sont divisés en deux groupes selon la présence des domaines transmembranaires et extracellulaires ; les PTK réceptrices et PTK non réceptrices (NRTK) (Yin *et al.*, 2022).

#### 3.1 Récepteurs tyrosines kinases

Les RTK sont des glycoprotéines transmembranaires constitués d'une région extracellulaire, comportant le site de liaison pour son ligand. C'est une région transmembranaire de 20 acides

aminés qui permet l'attachement à la membrane plasmique et une région cytoplasmique comprenant un domaine catalytique à activité tyrosine kinase (Hubbard, 1999; Soumana, 2007). Lors de la transduction d'un signal extracellulaire, les RTK peuvent soit autophosphoryler les résidus de tyrosine intracellulaires localisées sur leur propre récepteur, ou sur un récepteur adjacent, soit phosphoryler les protéines du substrat, créant des sites de liaison pour les molécules de signalisation en aval (Solouki et *al.*, 2019).

Actuellement, il existe près de 60 récepteurs à activité tyrosine kinase réunis selon leur organisation structurale en 20 familles (figure 2) (Robinson et *al.*, 2000). Les RTK agissent comme récepteurs d'un large éventail de facteurs de croissance, y compris le facteur de croissance épidermique (EGF), le facteur de croissance nerveuse (NGF), facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF), facteur de croissance endothéliale vasculaire (VEGF), fibroblaste facteur de croissance (FGF), insuline et insuline-like facteurs de croissance (IGF), ainsi que les éphrines et les angiopoïétines (Du & Lovly, 2018).

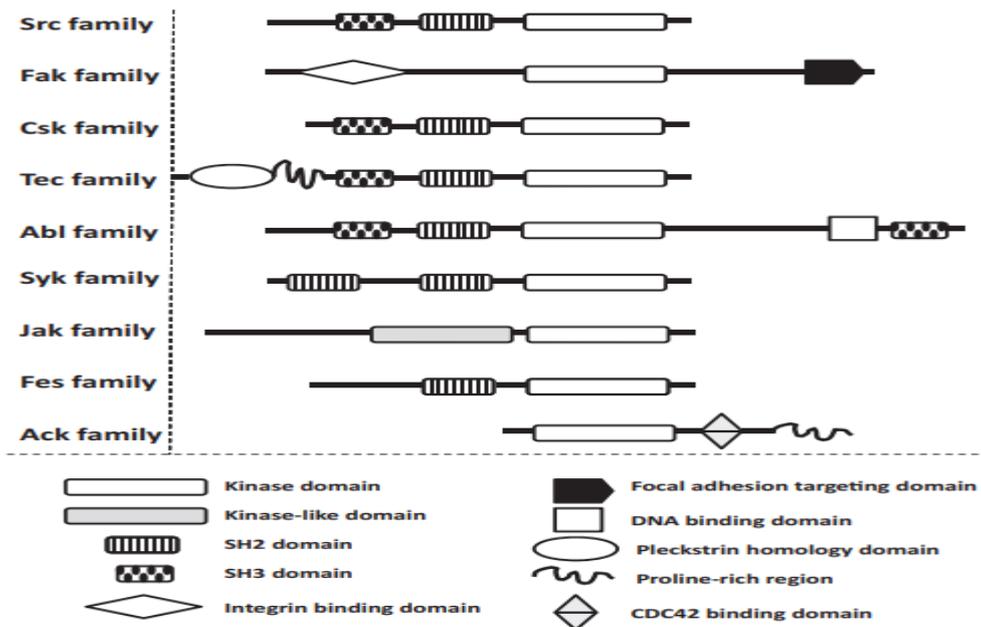


**Figure 2:** Disposition des domaines des divers sous-familles RTK (Dricu et al., 2012)

### 3.2. Les tyrosine kinases non réceptrices

Contrairement aux RTK, les NRTK sont dépourvus de caractéristiques de types récepteurs marqués par l'absence du domaine extracellulaire et le domaine transmembranaire. La plupart des NRTK sont situés dans le cytoplasme, alors que certains d'autres sont attachés à la membrane cellulaire par une modification amino-terminale, telle que la myristoylation ou la palmitoylation (Neet & Hunter, 1996). En plus d'un domaine tyrosine kinase commun entre toutes les NTRK, elles possèdent des domaines homologues Src homologues : SH2 et SH3 (Phillippe et al., 2009). Les domaines SH2 sont responsables de la liaison des phosphotyrosines sur les protéines alors que les domaines SH3 se lient aux régions riches en proline des protéines. Ces deux domaines interviennent dans la transduction du signal en interagissant avec leurs protéines cibles, et sont susceptibles de réguler négativement l'activité kinase (Solouki et al., 2019).

Les NRTK sont séparées en neuf grandes familles, selon leurs similitudes dans la structure du domaine. Parmi ces différentes familles, on distingue les kinases d'adhésion focale (FAK), les Janus kinases (Jak), Abelson tyrosine kinase (Abl), C-terminal Src kinase (Sck), et Src (figure 3) (Huang et al., 2015).



**Figure 3:** Organisation structurale des différentes sous-familles des tyrosine kinases non réceptrices (Gocek et al., 2014)

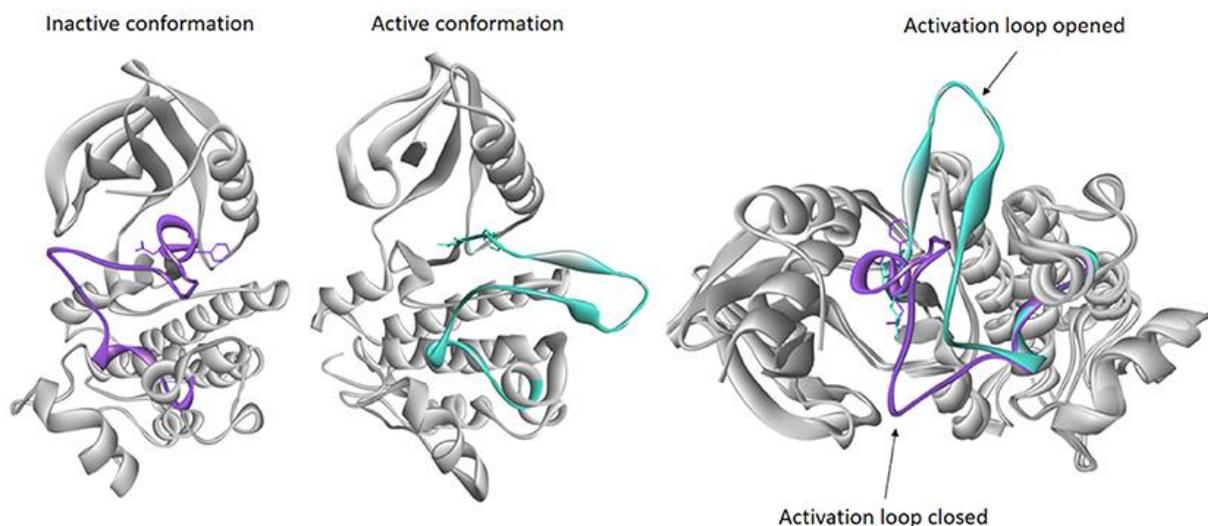
#### 4. Mécanisme d'activation des protéines tyrosine kinases

Dans le cas des tyrosine kinases réceptrices ou non réceptrices, l'activation de la tyrosine kinase initie une cascade de phosphorylation qui comprend l'autophosphorylation, la phosphorylation des substrats sous-cytoplasmiques et le recrutement de protéines contenant le domaine SH2 qui se lie à des résidus phosphorylés spécifiques à la tyrosine. Ces événements entraînent l'activation d'autres protéines, ainsi que la production de seconds messagers qui remplissent une fonction régulatrice (Kolibaba & Druker, 1997). Fondamentalement, les protéines kinases résident dans un état actif et plusieurs états inactifs, dont les deux se distinguent par la grande variété de positions et de conformations des résidus du motif DFG (Gagic et al., 2020).

Dans la conformation active, un ion métallique  $Mg^{2+}$  (ou parfois  $Mn^{2+}$ ), interagit avec un résidu d'acide aspartique hautement conservé du motif DFG, il se coordonne avec les phosphates  $\alpha$  et  $\gamma$  de l'ATP et facilite la phosphorylation. À l'autre extrémité, l'acide glutamique du motif APE est fixé par la formation d'un pont salin avec l'arginine du lobe C. Le résidu aspartate de motif HRD (His-Arg-Asp) est requis pour l'orientation du groupe hydroxyle du peptide substrat et le transfert du groupe phosphorylé. L'arginine interagit avec le segment d'activation phosphorylé contribuant ainsi à sa bonne orientation, alors que l'histidine est impliquée dans le maintien de l'organisation rigide du noyau catalytique. La boucle riche en glycine du lobe N stabilise les phosphates de la molécule d'ATP liée pendant la catalyse (Gagic et al., 2020; Modi & Dunbrack Jr, 2019). Un état catalytiquement actif d'une kinase nécessite

un assemblage unique de ces éléments qui créent un environnement favorable à la réaction de transphosphorylation (Modi & Dunbrack Jr, 2019).

Les états inactifs d'une kinase n'ont pas les contraintes chimiques requises pour l'activité catalytique. En règle générale, dans une conformation inactive, la boucle d'activation est effondrée sur la surface de la protéine, bloquant la liaison du substrat rendant une kinase catalytiquement inactive (figure 4). En outre, de nombreuses conformations inactives ont des positions du motif DFG incompatibles avec la liaison de l'ATP et de l'ion  $Mg^{2+}$  nécessaires à la catalyse. Dans la conformation DFG out (états inactif) la phénylalanine occupe la poche de liaison d'ATP, alors que l'acide aspartique est hors du site actif (Modi & Dunbrack Jr, 2019).



**Figure 4:** Les conformations inactives et actives d'une kinase (Gagic et al., 2020).

## 5. Rôle des tyrosine kinases dans les voies de signalisation

Les protéines kinases sont des médiateurs essentiels de la transduction du signal. En fait, la phosphorylation des protéines par la tyrosine kinase joue un rôle essentiel dans la plupart des processus cellulaires et organiques telles que la régulation du métabolisme, la division cellulaire, la différenciation, la prolifération, l'apoptose, l'inflammation, l'expression des gènes, la transduction du signal et d'autres processus physiologiques importants (Ardito et al., 2017). Parmi les voies de signalisation qui fonctionnent à travers la tyrosine kinases

### ➤ La voie des MAP kinases

La voie des MAP kinases est une des principales voies de prolifération cellulaire. Les MAP kinases ont la propriété de phosphoryler et d'activer de nombreux facteurs de transcription, comme ETS, FOS, MYC et SP1, qui induisent l'expression de nombreux gènes impliqués dans

le cycle cellulaire et la prolifération ; la plupart étaient connus comme proto-oncogènes qui peuvent subir une mutation et devenir un oncogène (Robert, 2010).

➤ **La voie de la phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K)**

La voie de la phosphatidylinositol-3-kinase est une des voies de signalisation qui s'ouvre en aval de l'interaction d'un facteur de croissance avec un récepteur à activité tyrosine kinase. Cette voie est interconnectée en particulier avec la voie des MAP kinases au niveau de RAS. Elle a des effets multiples sur la transcription de gènes impliqués dans la prolifération, la différenciation et la survie cellulaires (Robert, 2010)

➤ **La voie des JAK-STAT**

Les protéines JAK appartient à une famille de tyrosine kinases intracellulaire qui comporte : les JAK1, JAK2, JAK3 et la tyrosines kinase 2. Les STAT sont des protéines transducteurs de signal intracellulaire (Meunier et *al.*, 2019).

Les gènes cible de la voie JAK-STAT codent à la fois pour les protéines impliquées dans la différenciation, la prolifération cellulaire, la synthèse des cytokines et pour des protéines régulatrices qui entraine un rétrocontrôle négatif sur la voie elle-même (Meunier et *al.*, 2019).

## 6. Régulation des tyrosine kinases

La phosphorylation est le moyen de régulation cellulaire le plus abondant dans les processus cellulaires (Kobe & Kemp, 2010). Il y a plusieurs mécanismes pour réguler les PTK tels que :

➤ **Régulation intrastérique**

Le terme régulation intrastérique a été introduit pour décrire l'autorégulation des PTK par des séquences interne (pseudosubstrat), qui agissent directement sur le site actif (Kobe & Kemp, 2010).

➤ **Régulation allostérique**

La liaison d'un modulateur allostérique aux sites de régulation distincts conduit à des changements conformationnelles qui impliquent une réorganisation structurelle de la boucle d'activation (Gagic et *al.*, 2020; Kobe & Kemp, 2010).

Les effecteurs allostériques ne présentent aucune ressemblance structurelle avec leurs protéines cibles, dont les produits finaux des voies métaboliques peuvent agir pour exercer un contrôle par rétroaction (Kobe & Kemp, 2010).

### ➤ D'autres sites de régulation

Il existe d'autres sites de régulation dans les domaines des PTK ; au niveau de :

La boucle d'activation, la boucle p, l'hélice  $\alpha$ , le site de liaison d'ATP et du substrat (Kobe & Kemp, 2010).

Comme la phosphorylation des protéines est l'une des modifications post-traductionnelles les plus courantes et les plus importantes, les protéines kinases sont impliquées dans de multiples voies de régulation dans la cellule. La dérégulation ou la perte de leurs activités sont souvent associées au développement de divers types de cancers parmi eux les hémopathies malignes (K. Bhanumathy et al., 2021).

## 7. L'activité tyrosine kinase dans les hémopathies malignes : cas de la leucémie myéloïde chronique

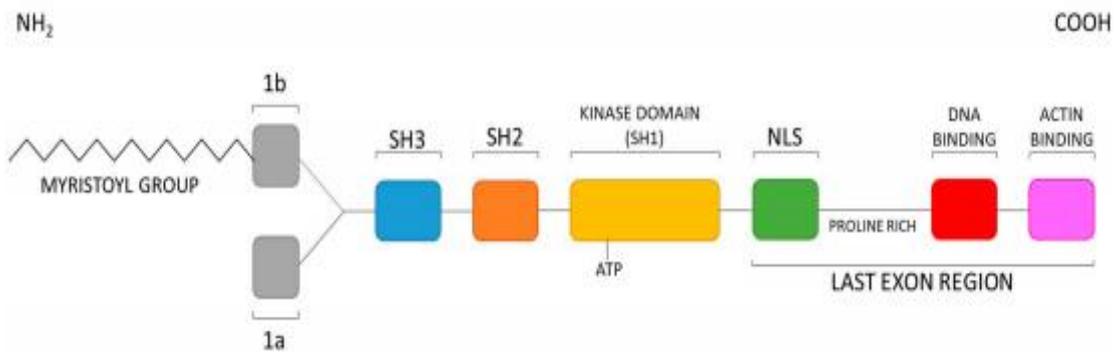
La survenue d'un certain type d'hémopathies malignes est associée à des mutations à un stade précoce qui aboutit à une expansion clonale des cellules souches et progénitrices (Lee, 2000). Il est ainsi en particulier pour la leucémie myéloïde chronique (LMC) (Sawyers, 1999).

Cette maladie est un syndrome myéloprolifératif chronique due à une prolifération monoclonale provenant d'une mutation de cellule souche hématopoïétique pluripotente sans blocage de la maturation de la cellule (Minciacchi et al., 2021). Elle est traduite par une hyperplasie médullaire de la lignée granulocytaire avec une augmentation considérable du nombre de globules blancs (hyperleucocytose) dans le sang du patient (Kumar & Krause, 2021; Nowell, 2007). La LMC est lié à une anomalie chromosomique provenant d'une translocation réciproque équilibrée générant un chromosome Philadelphie Ph1, qui permet l'apparition d'une protéine Bcr- Abl anormale, à activité tyrosine kinase strictement dérégulée et suffisante pour le développement de la maladie (Faderl et al., 1999; Jabbour & Kantarjian, 2020).

### 7.1. Protéine de fusion Bcr-Abl

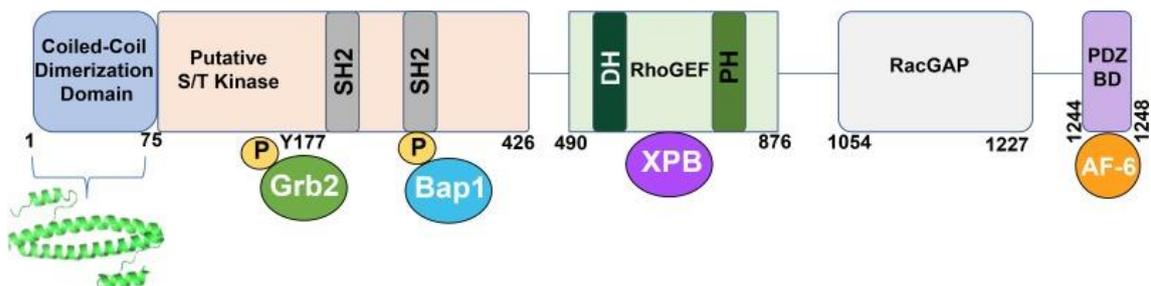
Le gène de fusion Bcr-Abl, aussi appelé gène de Philadelphie ou chromosome Ph1, est le résultat d'une translocation acquise réciproque entre le chromosome 9 et le chromosome 22 t(9 ;22) (q34 ; q11) créant ainsi un gène hybride Bcr-Abl (Dine et al., 2013; Tullett, 2017). Il existe trois formes de la protéine Bcr -Abl : p190, p230 et p210 (Chomel et al., 2009).

La structure de la protéine cellulaire Abl est hautement conservé, les protéines Abl ont des domaines d'homologie SH (SH3, SH2 et SH1). Dans la partie C-terminale de la protéine, il y a une séquence de localisation nucléaire (NLS pour nuclear localization signal) ainsi que des domaines de liaison à l'ADN et aux filaments d'actine FABD (F-actin binding domain). La protéine Abl joue un rôle à la fois dans le noyau et dans le cytoplasme de la cellule (figure 5) (Thijssen et al., 1999).



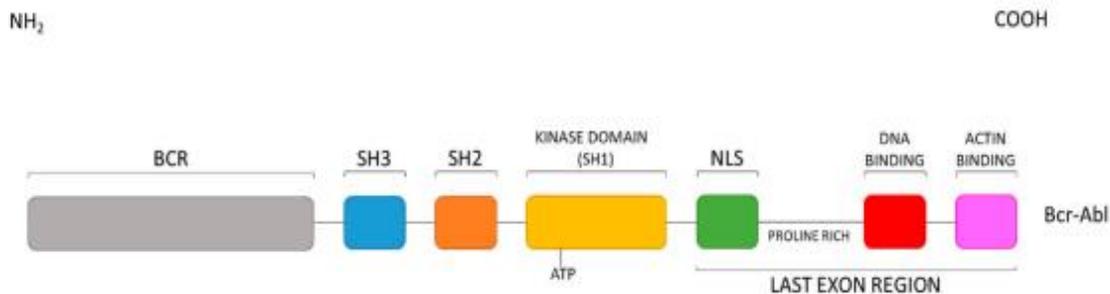
**Figure 5:** Structure en domaine de la protéine Abl (Carofiglio et al., 2020).

La protéine Bcr est constituée de plusieurs domaines, le premier exon comprend un domaine d'oligomérisation et d'activation de l'activité tyrosine kinase BCR-ABL1 (domaine coiled coil). Un domaine sérine/thréonine kinase, des sites d'interaction avec des protéine cytoplasmique et deux domaines SH2. Un domaine central du facteur d'échange de nucléotides de guanine (GEF) contenant les domaines Dbl Homology (DH) et Pleckstrin Homology (PH), suivi d'un domaine RacGap (figure 6) (Peiris et al., 2019).



**Figure 6:** Structure en domaine de la protéine Bcr (Peiris et al., 2019).

La protéine de fusion Bcr-Abl p210 est la plus prédominante dans la LMC. Cette dernière garde un domaine d'oligomérisation coil-coiled, un domaine sérine/thréonine kinase (STK) ; un domaine Rho/GEF, des domaines d'homologie SRC (SH3, SH2 et SH1 qui le support de l'activité tyrosine kinase), le signal de translocation nucléaire (NTS), un domaine de liaison à l'ADN (DB) et un domaine de liaison à l'actine (AB) (figure 7) (Amarante-Mendes et *al.*, 2022).



**Figure 7** :Structure en domaine de la protéine de fusion Bcr-Abl (Carofiglio et *al.*, 2020).

### 7.2. Les voies de signalisation associée à Bcr-Abl

La Bcr-Abl active une variété de voies de signalisation conduisant à la prolifération cellulaire, la promotion de la survie, l'inhibition de l'apoptose, l'altération de l'adhésion cellulaire à la matrice extracellulaire et la capacité d'auto-renouvellement des cellules leucémiques (Benchikh et *al.*, 2022).

Le mécanisme d'activation initié par la dimérisation puis l'autophosphorylation du récepteur tyrosine kinase, la protéine de fusion à l'état active induit le recrutement des protéines adaptatrices telles que GRB-2, protéine d'amarrage (DOK), CRKL, CRK et plusieurs molécules intermédiaires et/ou effectrices nécessaires pour les interactions protéine-protéine et la transduction de signal intracellulaire (figure 8). Les voies de signalisation les plus importantes dépendant de la tyrosine kinase Bcr-Abl sont : RAS/MAPK, PI3K/AKT et JAK2/STAT (Amarante-Mendes et *al.*, 2022; Benchikh et *al.*, 2022).

## 8. La thérapie ciblée : les inhibiteurs de tyrosine kinases (ITK)

Au cours des deux dernières décennies, il y a eu une énorme évolution dans le traitement de la LMC, passant des médicaments cytotoxiques à large spectre aux thérapies ciblées. Contrairement à la chimiothérapie traditionnelle, les thérapies ciblées peuvent agir spécifiquement sur les cellules cancéreuses sans toucher aux cellules normales, ce qui leur confère une efficacité élevée et une faible toxicité (Zhong et *al.*, 2021). Plusieurs approches de thérapie ciblée ont existé, dont les inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK).

Les ITK sont des petites molécules hétérocycliques de faible poids moléculaire (400-600 g/mol), qui se lient de manière compétitive au site de liaison à l'ATP du domaine catalytique des tyrosines kinases (Paludetto, 2015; Thomson et *al.*, 2022). La grande majorité d'entre eux sont administrés par voie orale. Ces molécules sont aujourd'hui à la base du traitement de la LMC, qui doit cibler la fonction enzymatique de la protéine, avec une moindre toxicité, et pénétrer à l'intérieur de la cellule, dont son activité doit être restreinte aux cellules malignes (Druker et *al.*, 2006; Hantschel et *al.*, 2012; Paludetto, 2015). Les ITK sont classés en quatre types selon leur mode de liaison (Carofiglio et *al.*, 2020) :

- Les ITK de type I qui interagissent avec le site de liaison de l'ATP dans la conformation active appelé DFG-IN.
- Les ITK de type II qui occupent la poche de liaison dans la conformation dite DFG-OUT inactive.
- Les ITK de type III qui se lient à une poche allostérique près de la poche ATP.
- Les TKI de type IV qui peuvent être biaisés vers une poche éloignée de celle de l'ATP, mais toujours dans le domaine kinase (KD).

Cinq ITK sont approuvés pour traiter la LMC à différents stades, à savoir (Massimino et *al.*, 2020) :

### **8.1. Les ITK de première génération : Imatinib mésylate ou STI 571 (Glivec /Gleevec)**

L'imatinib est le premier ITK indiqué dans le traitement des patients atteints de LMC, leur interaction avec Bcr-Abl ne se fait que dans une conformation inactive et déphosphorylée de l'oncogène, empêchant la liaison de l'ATP (inhibiteur de type II). Il permet de stabiliser l'oncogène sous sa forme inactive et de bloquer ainsi l'autophosphorylation de l'enzyme puis la transmission du signal (Bennini, 2016; Nagar et *al.*, 2002).

### **8.2. Les ITK de seconde génération : Nicotinb, Dasatinib et Bosutinib**

Face aux résistances et aux échecs de l'imatinib, d'autres ITK plus puissants ou ayant un spectre kinasique plus large ont été développés (Kantarjian et *al.*, 2010).

#### ➤ **Nilotinib (Tasigna ®)**

Le Nilotinib est un puissant inhibiteur hautement sélectif des tyrosine-kinases Bcr-Abl de deuxième génération, qui empêche l'activité de la plupart des mutants de Bcr-Abl responsable de la résistance à l'Imatinib à l'exception des mutations T315I et E255V. Cet ITK ayant une

forte affinité pour le site d'ATP capables d'associer à la conformation inactive de l'oncogène (inhibiteur de type II) (Ciaffaglione et al., 2022; Kantarjian et al., 2007).

➤ **Dasatinib (Sprycel®)**

Le dasatinib est un inhibiteur de la tyrosine kinase Bcr-Abl qui présente un spectre d'action plus large d'environ 300 fois plus puissant *in vitro* que l'imatinib (Khoury et al., 2009). Il est développé sur la base d'une structure complètement différente de celle de l'Imatinib, permettant de lier à la forme active et inactive de l'oncoprotéine Bcr-Abl (Gagic et al., 2020). Comme le Nilotinib, il est actif contre la plupart des mutants de Bcr-Abl sauf T315I, insensible au Dasatinib constitue le mécanisme de résistance le plus fréquent. (Carofiglio et al., 2020; Demarquet et al., 2011).

• **Bosutinib (Bosulif®)**

Le Bosutinib (SKI-606) est une petite molécule, biodisponible par voie orale doté d'une puissante activité inhibitrice préclinique de Bcr-Abl dans les lignées cellulaires de LMC résistantes à l'imatinib (Puttini et al., 2006). Il affecte efficacement la majorité des mutations Bcr-Abl y compris les Y253F, E255K et D276G qui confèrent une résistance à la MI, à l'exception des mutations hautement résistantes T315I. (Levinson & Boxer, 2012; Melo & Chuah, 2008). Le Bosutinib présente un mécanisme d'action semblable au Dasatinib en se fixant sur l'oncogène Bcr-Abl en conformation active ou inactive (inhibiteur de type I) (Voisin, 2019).

**8.3. Les ITK de troisième génération : Ponatinib AP24534**

Le Ponatinib est un inhibiteur puissant du type II de gène Bcr-Abl disponible par voie orale, qui est actif contre l'Abl natif et le mutant T315I. Son activité sur ce mutant peut être due à la présence de la liaison l'acétylène inflexible propre à cette molécule (Cortes & Lang, 2021; He et al., 2020). Le Ponatinib devient extrêmement efficace pour sauver les patients atteints de LMC en différents stades de la maladie qui devaient résister à plusieurs autres ITK (Breccia et al., 2018; Zhao et al., 2014).

Plusieurs nouvelles ITK sont actuellement à l'étude dans différents essais cliniques et offrent une activité plus élevée contre l'oncogène Bcr-Abl, plus précisément la mutation T315I tel que (Carofiglio et al., 2020):

- **L'asciminib (ABL001)**

L'asciminib est un puissant inhibiteur allostérique Bcr-Abl de type IV biodisponible par voie orale (Manley et al., 2020). Il se lie au site myristoylé normalement occupé par le N-terminal myristoylé d'ABL1, qui joue le rôle de régulateur allostérique négatif. Cette inhibition autorégulatrice est perdue lors de la fusion. L'asciminib fournit l'effet de régulateur négatif perdu et restaure l'inhibition de l'activité kinase (De Santis et al., 2022; Massaro et al., 2018).

- **Rebastinib (DCC-2036)**

Le rebastinib est un puissant inhibiteur de contrôle conformationnel, conçu pour surmonter les mutations résistantes à Bcr-Abl1, principalement T315I (Zhong et al., 2021). Il se lie en tant qu'inhibiteur de type II à la poche de contrôle de commutation du domaine de la kinase ABL1, qui interviennent dans le passage de la conformation inactive à la conformation active (Cortes et al., 2017).

- **Radotinib (IY5511HCL)**

Le radotinib est un nouvel inhibiteur sélectif de la tyrosine kinase BCR-ABL1 qui présente une analogie structurelle avec le nilotinib (Eskazan et al., 2017). Le radotinib a montré une activité contre les mutations Bcr-Abl les plus courantes, sauf le T315I avec une efficacité supérieure à celle de l'imatinib. *In vitro*, le radotinib se lie à Bcr-Abl1 et réduit la phosphorylation de CrkL, une protéine cible de BCR-ABL1 (Heo et al., 2021; Massaro et al., 2018).

- **Olverembatinib (HQP1351)**

L'olverembatinib est un puissant inhibiteur de la tyrosine kinase Bcr-Abl oral de troisième génération. HQP1351 est un inhibiteur spécifique de site de liaison de l'ATP de la kinase Bcr-Abl 1 de type sauvage et d'un large spectre de mutants Bcr-Abl 1, notamment le mutant T315I (Dhillon, 2022; Shoukier et al., 2021).

## **9. Les substances naturelles ciblant la protéine de fusion Bcr-Abl**

Les produits naturels sont des composés chimiques ou des substances produites par des organismes vivants jouent un rôle important dans la découverte et le développement de nouveaux médicaments contre le cancer en raison de leur faible toxicité et de leur rentabilité (Khajapeer & Baskaran, 2016).

Parmi ces molécules, les alcaloïdes présentent une activité anti-tumoral importante dans la LMC. Les alcaloïdes sont des composés organiques naturels contenant un cycle hétérocyclique avec un atome d'azote. Ils possèdent plusieurs activités physiologiques comme les activités

antipaludiques, anti-asthmatiques, anticancéreuses, antibactériennes et antivirales (Khajapeer & Baskaran, 2016). Les alcaloïdes les plus importantes sont :

### 9.1. Berbérine (BBR)

La berbérine (7,8,13,13a-tétrahydro-9,10-diméthoxy-2,3-(méthylendioxyberberinium) est un alcaloïde isoquinoléine naturel dérivé de la plante *Berberis vulgaris*. C'est un composé cliniquement important grâce à ces multiples activités pharmacologiques, y compris les effets anticancéreux. Par conséquent, la BBR inhibe non seulement l'activité de la tyrosine kinase Bcr-Abl mais se lie également directement à l'Abl 1 qui induit à une dégradation autophagique de Bcr-Abl pour surmonter la résistance à l'imatinib (Yin et al., 2022).

### 9.2.Émodine

Émodine (1, 3, 8-trihydroxy- 6-méthlanthraquinone) est un dérivé naturel de l'antraquinone isolé de *Rheum palmatum L*, Des études pharmacologiques ont montré que l'émodine a une variété d'activités biologiques, telles que : anti-bactérienne, anti-inflammatoire, anti- cancer, et peut être utilisé comme inhibiteur de la protéine tyrosine kinase. Pour les cellules de la LMC, l'étude par RT-PCR et Western blot a montré que l'émodine peut réduire le niveau de Bcr-Abl indépendamment de la dose et obtenir l'effet de contrôler la LMC (Yin et al., 2019).

En raison de la faible biodisponibilité de ces produits naturels, des analogues structurellement similaires peuvent également avoir des actions et des activités biologiques nettement identiques à celle des molécules naturelles sur l'oncogène Bcr-Abl. Ces composés doivent respecter les 5 règles de Lipinski, à savoir (Kawakami et al., 2022; Li et al., 2020).

- Poids moléculaire inférieur ou égale 500 daltons
- Nombre d'accepteurs de liaisons H inférieur ou égale à 10
- Nombre de liaison H donneurs inférieur ou égale à 5
- Le caractère lipophile mesurer par le logarithme du coefficient de partage p :  
 $-2 < \log p < 5$
- La flexibilité de substrat inférieur ou égale à 5

Récemment, l'effet de la BBR et de ses 16 analogues ont été testés sur le microbiome intestinal humain *ex vivo* (Wu et al., 2022). Par ailleurs, l'étude d'amarrage moléculaire de Li et al., (2020), a montré que l'émodine interagissait avec le site actif d'une tyrosine kinase (AURORA) qui joue un rôle essentiel dans la prolifération des cellules malignes notamment dans le cancer de l'ovaire (Li et al., 2020). Dans ce travail nous allons évaluer l'effet des analogues de

berbérine et d'émodine sur l'oncoprotéine de fusion Bcr-Abl. Nous avons sélectionné 6 analogues provenant de la berbérine : Jatrorrhizine, Dihydroberberine, 13-methylberberine, Columbamine, Chelerythrine chloride et Palmatrubine ; et six autres à partir de l'émodine : Chrysofanol-8-O-glucoside, 8L-902, Isorhapontigenine, Rhapontine, Desoxyrhaponticine, Rhapontigenine 3'-O-glucosides (Bei et al., 2021; Li et al., 2020).

# *CHAPITRE II*

## Docking Moléculaire

## 1. Introduction

Les interactions entre les biomolécules sont fondamentales pour tous les processus biologiques. De ce fait, il est important de mieux comprendre et d'écrire ces interactions qui peuvent être réalisés par cristallographie aux rayons X ou résonance magnétique nucléaire (RMN). Toute fois chacune de ces méthodes a prouvé ses limitations et présentent des difficultés pour mieux comprendre ces interactions (Lavecchia & Di Giovanni, 2013).

Afin de résoudre ces problèmes, de nombreuses méthodes de criblage *in silico* ont été développées, y compris le Docking moléculaire (ancrage, amarrage ou arrimage en français). C'est une technique informatique qui facilite la prédiction de l'orientation de la liaison préférée d'une molécule à une autre pour former un complexe protéine - protéine ou protéine-ligand (Mukesh & Rakesh, 2011). En d'autres termes, c'est une procédure informatique qui anticipe l'orientation, la conformation, et la position d'une petite molécule (ligand) dans le site de fixation d'une macromolécule cible (récepteur), en estimant l'affinité et en déterminant les diverses interactions entre le ligand et son récepteur (Azam & Abbasi, 2013; Kaapro & Ojanen, 2002). Ainsi, l'amarrage moléculaire joué un rôle central dans le processus de conception et de découverte de médicaments (Azam & Abbasi, 2013).

## 2. Principe théorique

Le Docking moléculaire est l'une des méthodes *in silico* qui se base sur la structure 3D d'une cible d'intérêt en fonction de la complémentarité structurelle et électronique des ligands. L'objectif étant de prédire les interactions se produisant entre les molécules et leurs cibles moléculaires (Pinzi & Rastelli, 2019).

La méthode d'amarrage s'effectue en deux étapes complémentaires, tout d'abord, l'orientation adoptée par le ligand lors de l'amarrage au récepteur est explorée à travers des algorithmes de recherche. L'étape suivante consiste à évaluer ces conformations en calculant l'énergie libre d'association, ou leur affinité pour leurs récepteurs, à l'aide d'une fonction mathématique appelée fonction de score. Les résultats peuvent être interprétés qualitativement en examinant les interactions établies par les ligands avec les résidus du site actif, et quantitativement en manipulant les valeurs numériques dans la fonction de notation (Kitchen *et al.*, 2004; Merzoug & Chikhi, 2018; Sethi *et al.*, 2019).

### **3. Les outils de Docking moléculaire**

L'amarrage moléculaire est généralement effectué entre un (ou des) ligand(s) et un récepteur qui est une macromolécule de nature protéique (cible). Le terme Docking seul est souvent utilisé pour désigner un « Docking protéine-ligand » (Chaudhary & Mishra, 2016).

#### **3.1. Récepteur**

La sélection d'une conformation 3D appropriée de récepteur, est une étape critique dans la réalisation d'un amarrage moléculaire. Ces structures 3D des protéines sont obtenues principalement par des méthodes spectroscopiques telles que la cristallographie aux rayons X, la résonance magnétique nucléaire (RMN) et la Cryo-microscopie électronique. Elles sont par la suite stockées dans une base de données accessibles librement nommée « Protein Data Bank » (PDB) (Ferreira & Ricardo, 2015). Les techniques spectroscopiques ont été en mesure de résoudre plus de 100 000 structures protéiques tridimensionnelles, fournissant des informations structurelles vitales sur les principales cibles macromoléculaires (Spyrakis et al., 2003). La modélisation par l'homologie permet de déterminer les structures provisoires (structure inconnue) de ces protéines qui présentent une homologie de séquence élevée avec des structures connues (Agarwal & Mehrotra, 2016; Berman et al., 2002).

#### **3.2. Ligand**

En Docking moléculaire, la structure chimique des composés actifs peut être obtenues à partir des bases de données, telle que ZINC, ChEMBL, DrugBank et PubChem (Naqvi et al., 2018). Des structures chimiques sont stockées dans les chimiothèques ou l'espace chimique qui cataloguent des substances chimiques disponibles dans le commerce. Elles peuvent également utiliser des ligands de PDB ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol, mol2...etc.) par des logiciels de construction moléculaire (Boukli-Hacene, 2016; Williams & Tkachenko, 2014).

#### **3.3. Les programmes de Docking moléculaire**

L'amarrage moléculaire peut être divisé en deux étapes distinctes : exploration de l'espace conformationnel du ligand dans la cavité de la liaison et estimation de l'énergie de liaison pour chaque conformation prédite. Les algorithmes utilisés pour chaque étape dépendent du programme de Docking utilisé (López-Vallejo et al., 2011). Actuellement, il existe plus de 60 programmes d'amarrage différents, qui ont été développés pour une utilisation à la fois académique et commerciale, tels que DOCK, AutoDock, FlexX, Surflex, GOLD, ICM, Glide,

Cdocking, LigandFit, MCDock, FRED, MOE-Dock, LeDock, AutoDock Vina, rDock, UCSF Chimera et bien d'autres (Pagadala et al., 2017).

#### **4. Les algorithmes de recherche**

Les applications d'amarrages peuvent être classées selon leurs algorithmes de recherche en deux grands groupes : l'amarrage à corps rigide et l'amarrage flexible (Dias et al., 2008)

##### **4.1. L'amarrage à corps rigide**

L'amarrage à corps rigide ne prend pas en considération la flexibilité des ligands ou des récepteurs, par conséquent la précision des résultats obtenus va être réduite. L'identification des sites de liaison de ligand pour plusieurs protéines différentes est possible même sans tenir compte de la flexibilité (Dias et al., 2008).

La simulation d'amarrage à corps rigide a été utilisée comme le moyen le plus rapide pour effectuer un criblage initial, Il a une précision relativement élevée pour les structures cristallographiques. L'obtention des meilleurs résultats de simulations d'amarrage à corps rigide avec une précision plus élevée est possible à l'aide d'une fonction de notation empirique. Généralement, des fonctions d'amarrage ou/et de notation flexibles ont été utilisées pour appliquer un raffinement plus spécifique et une optimisation des pistes après la procédure initiale d'amarrage à corps rigide. Toutes les simulations d'amarrage de corps rigides ont été réalisées avec ZDOCK (Dias et al., 2008)

##### **4.2. L'amarrage flexible**

Les méthodes d'amarrage flexibles peuvent considérer plusieurs conformations possibles de ligand ou de récepteur, ainsi que pour les deux molécules simultanément, avec un temps de calcul plus élevé. Les applications d'amarrage utilisent généralement une ou plusieurs des algorithmes de recherche suivants : Fast shape matching (SM), Incremental construction (IC), Monte Carlo (MC), Simulated annealing (SA), Distance geometry (DG), Evolutionary programming (EP), Genetic Algorithm (GA) et Tabu search (TS) (Brooijmans & Kuntz, 2003; Dias et al., 2008).

#### **5. Fonction de score**

La distinction des modes de liaison observés expérimentalement associé avec les valeurs d'énergie les plus faibles du paysage énergétique parmi tous les autres modes explorés par l'algorithme de recherche (prédiction de mode) est une tâche souvent coûteuse du point de vue informatique (Guedes, 2014). Les fonctions de score sont développées afin d'évaluer et classer les meilleurs complexes parmi ceux produits par un processus d'amarrage (Ain et al.,

2015). Les fonctions de notation peuvent être basées sur le champ de force, empirique et la connaissance « Knowledge-based » (Gagic et al., 2020)

### **5.1. Les fonctions de score basées sur le champ de force**

Les fonctions de notation basées sur le champ de force consistent d'une somme de termes d'énergie dérivées d'un champ de force. Ils considèrent généralement les énergies d'interaction du complexe protéine-ligand (termes non liés) et l'énergie interne du ligand (termes liés et non liés)(Ewing et al., 2001; Gagic et al., 2020) . Cependant, plusieurs variantes ont été développées pour surmonter les problèmes liés à l'utilisation de la fonction basée sur le champ de force, en particulier les collisions atomiques. Des termes supplémentaires ont été également inclus pour calculer d'autres propriétés telles que l'effet de solvation/ désolvation(Kulik, 2018; Thornton et al., 2016). GOLD, AutoDock et DockThor sont des programmes basés sur le champ de force (Santos et al., 2018).

### **5.2. Les fonctions de score empirique**

Des fonctions de notation empirique sont développées pour reproduire les données expérimentales d'affinité de liaison avec une grande précision. Ils sont basés sur les interactions intermoléculaires comme la liaison hydrogène, l'interaction ionique, l'effet hydrophobe et l'entropie de liaison (Gagic et al., 2020; Kadukova & Grudin, 2017). Les coefficients associés aux termes fonctionnels peuvent être obtenus par une analyse de régression en utilisant des données d'affinité de liaison connues de structures déterminées expérimentalement (Li et al., 2019). Les fonctions empiriques diffèrent principalement par le nombre et le type de termes considérés et les complexes protéine-ligand(Liu & Wang, 2015) . ChemScore, ID-Score, PLANTSHEMPLP, GlideScore et LUDI sont des logiciels basés sur les fonctions empiriques (Santos et al., 2018).

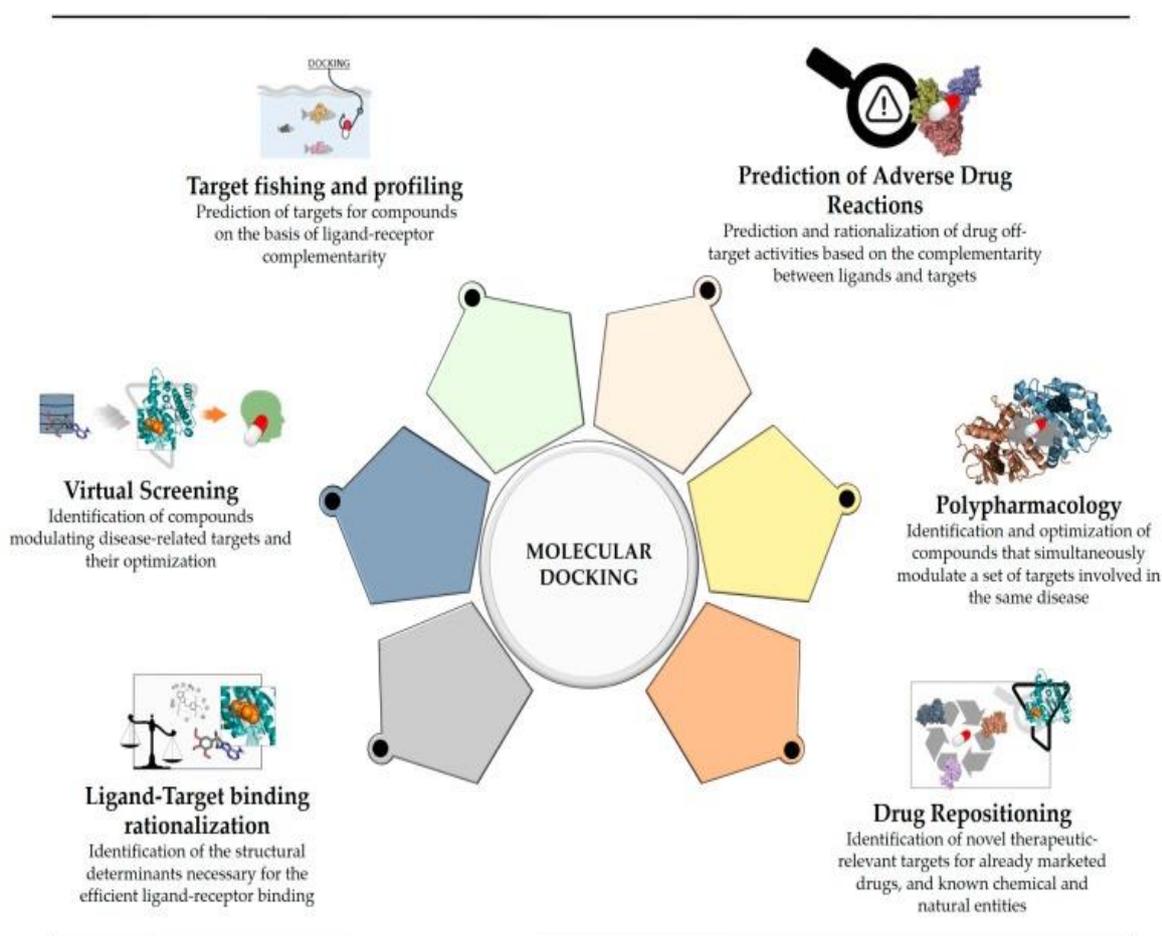
### **5.3. Les fonctions de score basées sur la connaissance « Knowledge-based »**

Les fonctions basées sur la connaissance sont développées sur la base de l'analyse statistique des paires d'atomes en interaction à partir de complexes protéine -ligands avec les structures tridimensionnelles disponibles. Ces données atomiques appariées sont transformées en un pseudo potentiel appelé potentiel de force moyenne, qui désigne les géométries préférées des paires d'atomes protéine-ligand(Li et al., 2019). Cette stratégie utilise la complexité physico-chimique de la liaison des effets plus spécifiques. Cependant, une fonction de score qui se base sur la connaissance est fortement dépendante du nombre et de la diversité des structures

expérimentales utilisées (Guedes et *al.*, 2014; Muegge, 2006) . Exemples des programmes basées sur les connaissances : DrugScore, PMF, SMOG et Bleep (Santos et *al.*, 2018)

## 6. Intérêt de Docking moléculaire

Le but et l'application de l'amarrage ont changé depuis sa première apparition. En fait, bien qu'il ait été développé à l'origine pour étudier la reconnaissance moléculaire entre les macromolécules et les petites molécules, il est maintenant également largement utilisé pour aider différentes tâches dans les programmes de découverte de médicaments, telles que le repositionnement de médicaments, l'identification de cibles, la conception et le repositionnement de ligands multi-cibles. De plus, l'amarrage aide à comprendre la relation entre différentes cibles moléculaires impliquées dans une maladie spécifique, ce qui est également très important pour la pharmacologie intégrative et la découverte de médicaments modernes (figure 8) (Pinzi & Rastelli, 2019).



**Figure 8:** Principales applications de l'amarrage moléculaire dans la découverte actuelle de médicaments (Pinzi & Rastelli, 2019).

# PARTIE II

## Partie expérimentale

# CHAPITRE III

## Matériel et méthodes

## 1. Matériel

### 1.1. Micro-ordinateur

Dans notre étude, nous avons utilisé un micro-ordinateur Hardware ayant un système d'exploitation linux avec une mémoire vive de 504 Go. Ce microordinateur possède un processeur Intel ® Core TM i5-7400 CPU @ 3.00 GHz\*4.

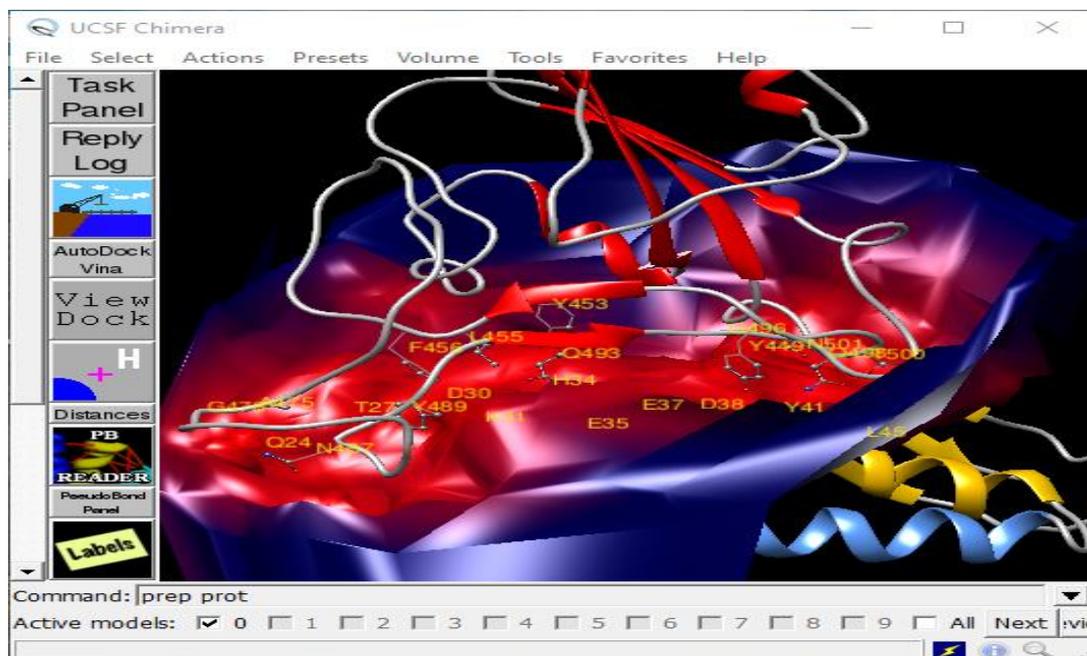
### 1.2. Les programmes

Les différents logiciels utilisés dans ce travail sont :

#### ➤ UCSF Chimera

UCSF Chimera version 1.4 est un programme pour réaliser l'amarrage moléculaire, développé par Resource for Biocomputing, Visualization, and Informatics (RBVI) de l'Université de Californie à San Francisco. Il permet de visualiser et d'analyser les cartes de densité, la microscopie 3D, les structures moléculaires et les données associées aux molécules étudiées (figure 9) (Butt et al., 2020).

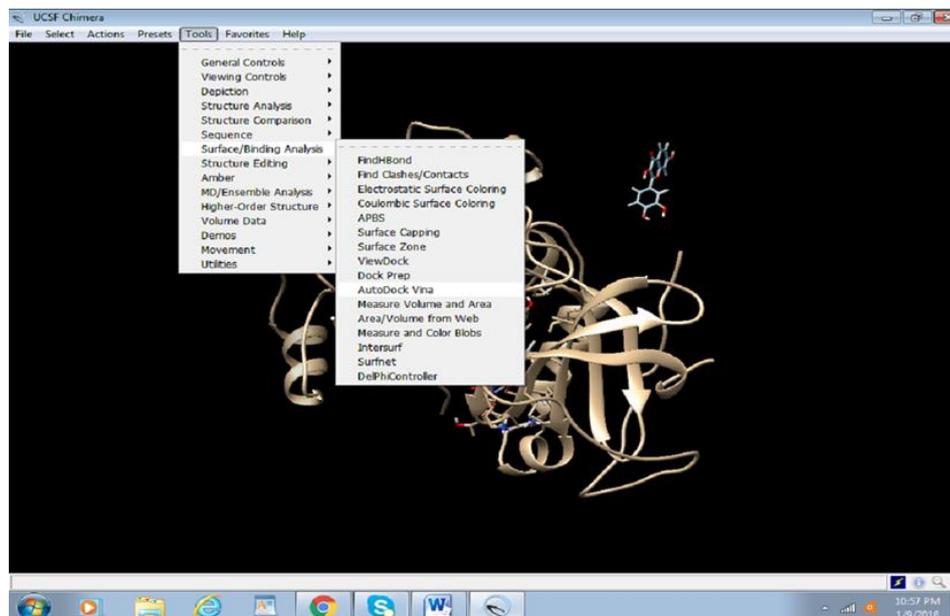
UCSF Chimera est disponible gratuitement pour une utilisation non commerciale sur : <http://www.rbvi.ucsf.edu/chimera/>



**Figure 9:** Processus d'amarrage moléculaire par UCSF Chimera.

➤ **AutoDock Vina**

AutoDock Vina version 1.1.2 est un logiciel open-source le plus largement utilisé pour la simulation d'amarrage moléculaire, Il a été conçu par [le Dr Oleg Trott](#) de l'Institut de Recherche Scripps aux États- Unis (laboratoire de graphisme moléculaire) (figure 10) AutoDock Vina accessible librement sur : <http://vina.scripps.edu>



**Figure 10:** L’interface d’accès au AutoDock vina dans UCSF chimera

➤ **Discovery Studio Visualizer (DSV)**

Le visualiseur Discovery Studio est un logiciel gratuit qui peut être utilisé pour présenter des données générées par d'autres logiciels. Il est conçu pour fournir un environnement interactif

permettant de visualiser et d'établir des structures moléculaires, des séquences, des données de réflexion des rayons X, des scripts et d'autres données (figure 11).



Figure 11: Interface de logiciel Discovery Studio Visualizer

## SwissADME

SwissADME est un outil web librement accessible sur <http://www.swissadme.ch>. Il permet de calculer les principaux descripteurs physicochimiques et d'estimer les paramètres ADME, les propriétés pharmacocinétiques des composés et la convivialité de la chimie médicinale d'une ou plusieurs petites molécules pour faciliter la découverte de médicaments (figure 12) (Daina et al., 2017).

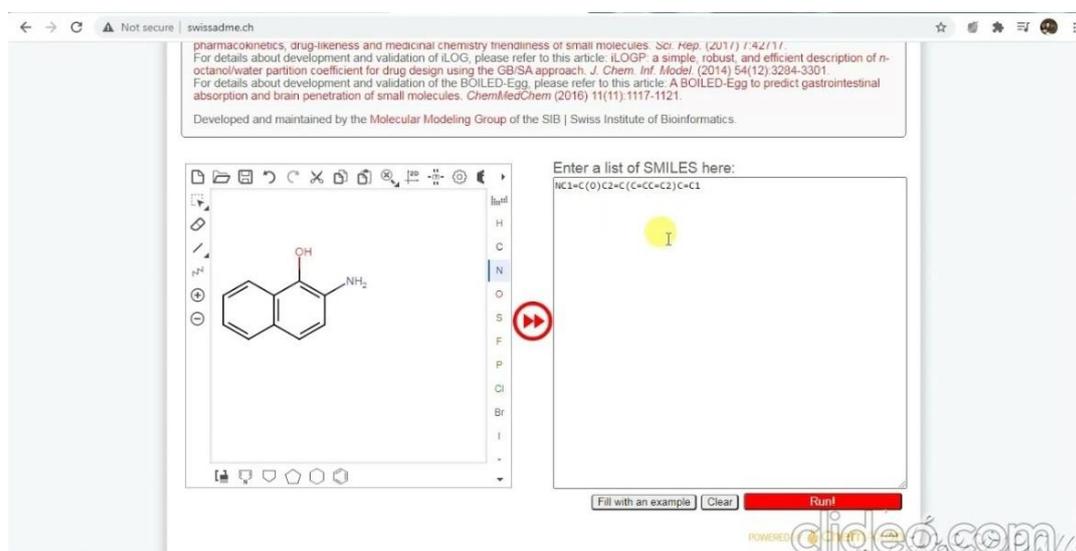
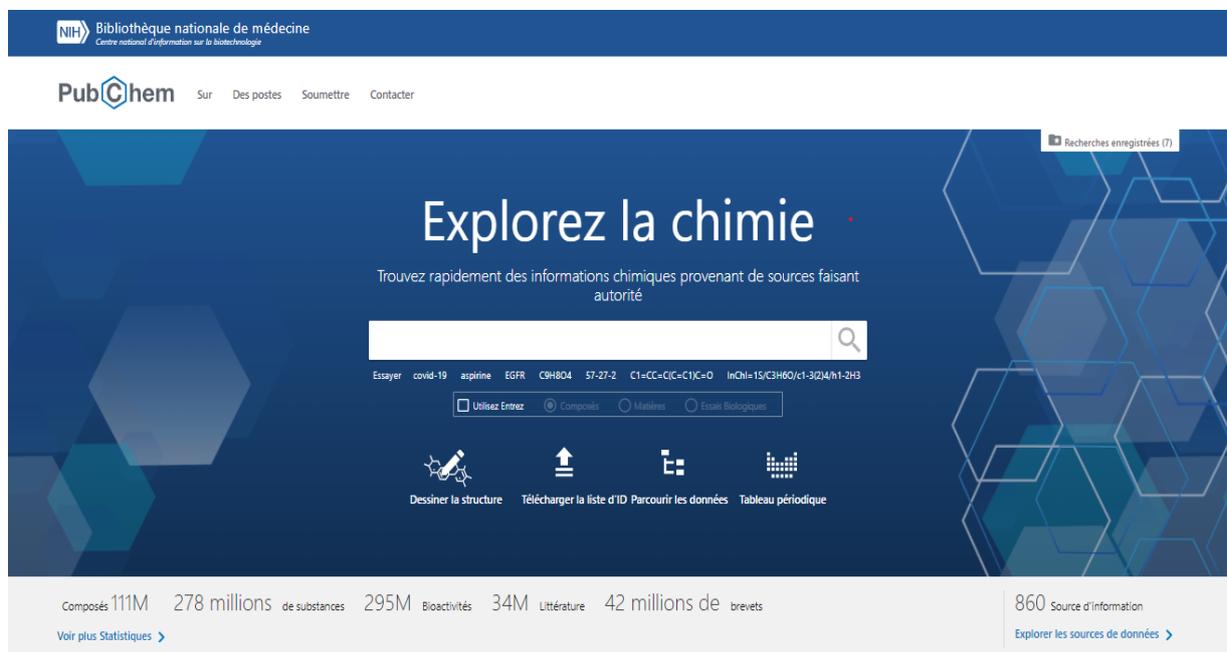


Figure 12: Interface de l'outil web SwissADME.



Plusieurs mises à jour ont été publiées en mars 2019 et qui sont nécessaires pour inclure toujours une nouvelle apparence pour la plupart des pages de contenu PubChem telles que des résumés de composés, des enregistrements de substances et d'essais biologiques, des vues de brevets (figure 14) (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).



The screenshot shows the PubChem website interface. At the top, there is a navigation bar with the NIH logo and the text 'Bibliothèque nationale de médecine' and 'Centre national d'information sur la biotechnologie'. Below this is the PubChem logo and navigation links: 'Sur', 'Des postes', 'Soumettre', and 'Contacter'. The main content area features a large heading 'Explorez la chimie' and a sub-heading 'Trouvez rapidement des informations chimiques provenant de sources faisant autorité'. A search bar is present with a magnifying glass icon. Below the search bar, there are several search suggestions: 'Essayer covid-19', 'aspirine', 'EGFR', 'C6H8O4', '57-27-2', 'C1=CC=CC=C1O=O', and 'InChI=1S/C3H8O/c1-3(2)/h1-2H3'. There are also radio buttons for 'Utilisez Entrez', 'Composés', 'Matières', and 'Essai Biologique'. Below these are four icons representing different functions: 'Dessiner la structure', 'Télécharger la liste d'ID', 'Parcourir les données', and 'Tableau périodique'. At the bottom, there is a statistics section with the following data: 'Composés 111M', '278 millions de substances', '295M Bioactivités', '34M Littérature', '42 millions de brevets', and '860 Source d'information'. There are also links for 'Voir plus Statistiques >' and 'Explorer les sources de données >'.

**Figure 14 :** Interface de la base de données PubChem avec les statistiques actuelles

## 2. Méthodes

### ➤ La préparation de la protéine cible pour l'amarrage

La protéine de fusion BCR-ABL sous sa forme tridimensionnelle été obtenue à partir de la base de données PDB. Dans notre cas, il n'existe aucune structure 3D de l'oncogène complète. De ce fait, nous avons utilisé que la structure du domaine kinase d'un mutant ABL résistant à l'imatinib en complexe avec l'inhibiteur de kinase Aurora VX-680. Enfin, le fichier du domaine kinase d'un mutant ABL préparée a été enregistré (tableau 1).

**Tableau 1:** Les données PDB de la protéine cible

ID PDB	Le poids total (KDa)	Résolution (Å)	Méthode
2F4J	33,64	1,91	Diffraction des rayons X

Après le téléchargement, on observe que la protéine Abl 1, possède uniquement une chaîne A monomérique. Cette dernière doit être modifiée par l'élimination des molécules d'eau et de l'inhibiteur (VX-680) pour obtenir une structure (2F4J) simplifiée.

Les étapes de la préparation du protéine cible :

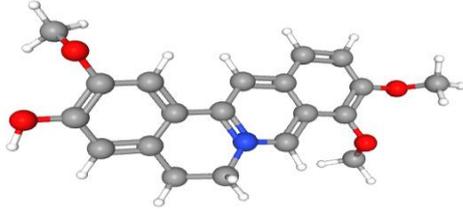
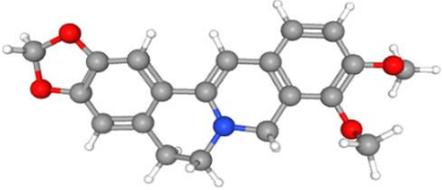
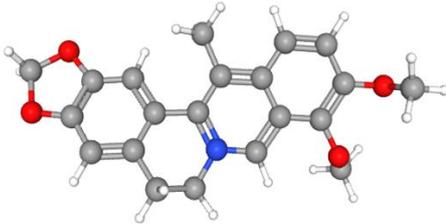
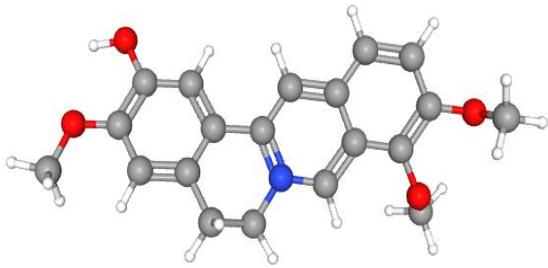
Afin de montrer le site actif de la protéine cible, l'inhibiteur doit être identifié en respectant les étapes suivantes :

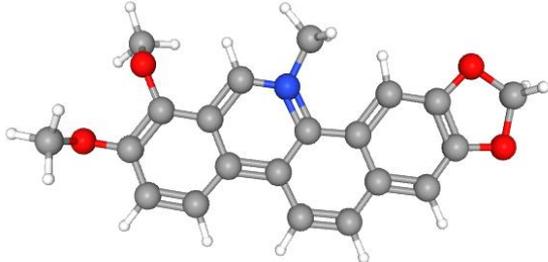
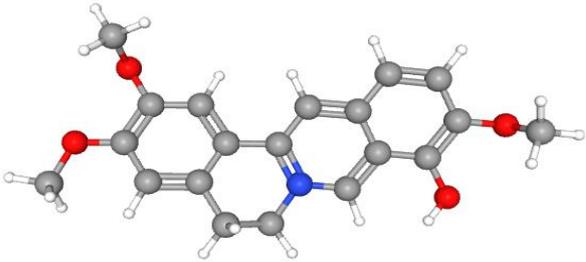
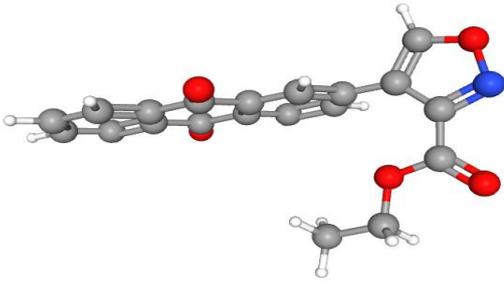
- Cliquer sur Select > Residue > all non standard > actions > atoms/bonds > Delete.
- Pour traiter la protéine étudiée cliquer sur Tools > surface/Binding Analysis > Dock Prep.
- Supprimer les molécules d'eau, ajouter les atomes d'hydrogènes, attribuer des charges partielles à la protéine et cliquer sur OK.
- Enregistrer le fichier sous forme PDB.

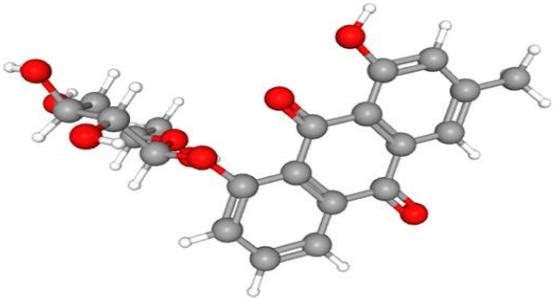
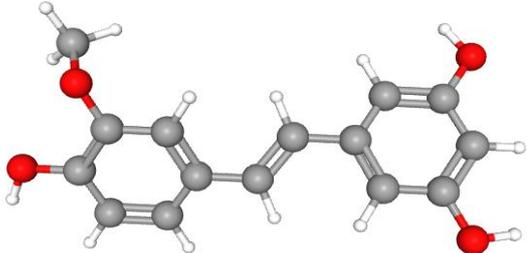
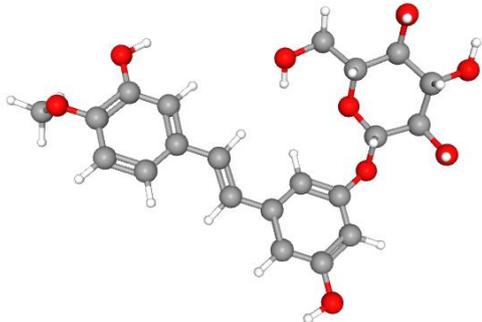
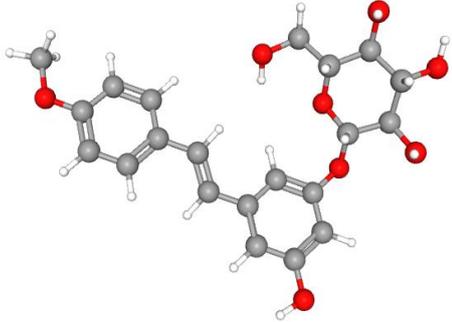
➤ **Préparations des inhibiteurs**

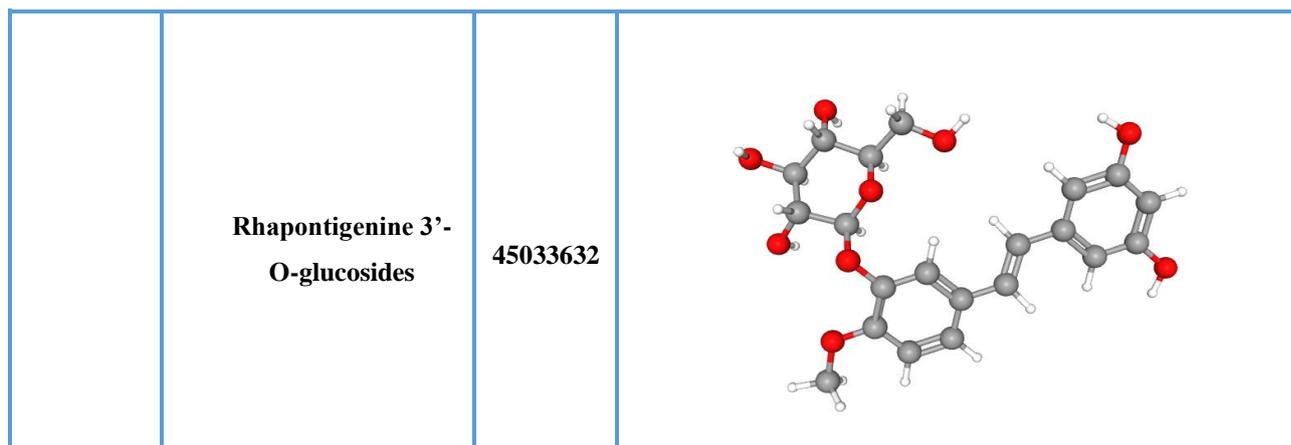
Les structures tridimensionnelles des inhibiteurs utilisés dans notre travail sont téléchargées à partir de la base de données PubChem sous format SDF (tableau 2). Ils sont classés dans le tableau suivant :

**Tableau 2:** Représentation des structure 3Ddes inhibiteurs étudié dans ce travail

	Noms	Code	Structure 3D
Berbérine	Jatrorrhizine (JATZ)	72323	
	Dihydroberberine (DHBBR)	10217	
	13-methylberberine (13MBBR)	148262	
	Columbamine (COBA)	72310	

	<b>Chelerythrine chloride (CLTR)</b>	<b>72311</b>	
	<b>Palmatrubine (PMTB)</b>	<b>10547386</b>	
<b>Emodine</b>	<b>8L -902</b>	<b>3352253</b>	

<b>Chrysofanol-8-O-glucoside</b>	<b>442731</b>	
<b>Isorhapontigenine</b>	<b>5318650</b>	
<b>Rhapontine</b>	<b>637213</b>	
<b>Desoxyrhaponticine</b>	<b>5316606</b>	



### 3. Le Docking moléculaire

Le but d'amarrage moléculaire est de déterminer le mode d'interaction entre la tyrosine kinase ABL 1 et ces inhibiteurs *via UCSF Chemira* et son champ de force AMBER ff03.r1 destiné principalement à la visualisation et l'analyse des structures moléculaires, en association avec l'interface AutoDock vina. Selon les étapes suivantes :

- Ouvrir le fichier de la protéine qui a été préparée par UCSF chemira. En cliquant sur file > open > pour sélectionner le fichier contenant le ligand.
- Cliquer sur Tools > surface binding analysis > AutoDock Vina > une boîte de dialogue qui s'ouvre pour sélectionner le nom de fichier, le récepteur, le ligand et remplir les dimensions de la grille (tableau 3).

**Tableau 3:** Taille et position du centre de la grille.

<b>Centre</b>	-0.045	-7.26	-23.2
<b>Taille</b>	18	18.7	22

Les résultats de l'amarrage sont enregistrés dans un fichier PDB pour la visualisation tridimensionnelle des interactions moléculaires entre la protéine cible et les ligands via le logiciel « Discovery Studio Visualizer ».

# **CHAPITRE IV**

## Résultats et discussion

Dans ce présent travail, nous nous sommes intéressés à l'étude des interactions moléculaires entre la protéine tyrosine kinase ABL 1 et douze analogues par Docking moléculaire en utilisant UCSF Chimera, pour mieux comprendre le mécanisme d'inhibition de ces enzymes. Ensuite, une analyse visuelle de ces composés naturels est réalisée à l'aide de DSV. Enfin, nous avons étudié les propriétés ADME pour sélectionner les meilleurs candidats.

### 1. Résultats de docking moléculaire

Nous avons analysé les interactions moléculaires entre un domaine kinase d'un mutant ABL 1 résistant à l'imatinib (2F4J) pour chaque analogue d'origine naturel afin d'indiquer la meilleure conformation générée par AutoDock Vina. Les résultats obtenus sont classés par ordre d'énergie de liaison dans le tableau suivant (tableau 4) :

**Tableau 4:** Résultats de docking moléculaire pour les 12 analogues.

	Nom	$\Delta G^\circ$ (Kcal/mol)
Berbérine	<b>Chelerythrine chloride (CLTR)</b>	<b>-10.7</b>
	<b>13-methylberberine (13MBBR)</b>	<b>-10.5</b>
	<b>Dihydroberberine (DHBBR)</b>	<b>-9.9</b>
	<b>Columbamine (COBA)</b>	<b>-9.3</b>
	<b>Palmatrubine (PMTB)</b>	<b>-9.2</b>
	<b>Jatrorrhizine (JATZ)</b>	<b>-9.1</b>
Emodine	<b>Chrysofanol-8-O-glucoside Rhapontine</b>	<b>-9.9</b>
	<b>Rhapontigenine 3'-O-glucosides</b>	<b>-9.5</b>
	<b>Rhapontine</b>	<b>-9.1</b>
	<b>Desoxyrhaponticine</b>	<b>-8.9</b>
	<b>Isorhapontigenine</b>	<b>-8.5</b>
	<b>8L-902</b>	<b>-8.2</b>

Plus l'énergie de liaison est réduite, plus la force de la liaison est élevée, conduisant en une inhibition accrue. Les meilleurs composés dont le  $\Delta G^\circ$  est le plus élevé sont résumés dans les tableaux 5 et 6.

**Tableau 5:** Les résultats de docking moléculaire pour les meilleurs analogues de la berbérine

Nom	Formule	Poids moléculaire	$\Delta G^\circ$ (Kcal/mol)
<b>Chelerythrine chloride (CLTR)</b>	<b>C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>ClNO<sub>4</sub></b>	<b>383.8 g/mol</b>	<b>-10.7</b>
<b>13-methylberberine (13MBBR)</b>	<b>C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	<b>350.4g/mol</b>	<b>-10.5</b>
<b>Columbamine (COBA)</b>	<b>C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	<b>338.4g/mol</b>	<b>-9.3</b>

**Tableau 6:** Les résultats de docking moléculaire pour les meilleurs analogues de l'émodine

Nom	Formule	Poids moléculaire	$\Delta G^\circ$ (Kcal/mol)
<b>Chrysofanol-8-O-glucoside</b>	<b>C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>9</sub></b>	<b>416.4g/mol</b>	<b>-9.9</b>
<b>Rhapontigenine 3'-O-glucosides</b>	<b>C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>O<sub>9</sub></b>	<b>420.4g/mol</b>	<b>-9.5</b>
<b>Rhapontine</b>	<b>C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>O<sub>9</sub></b>	<b>420.4g/mol</b>	<b>-9.1</b>

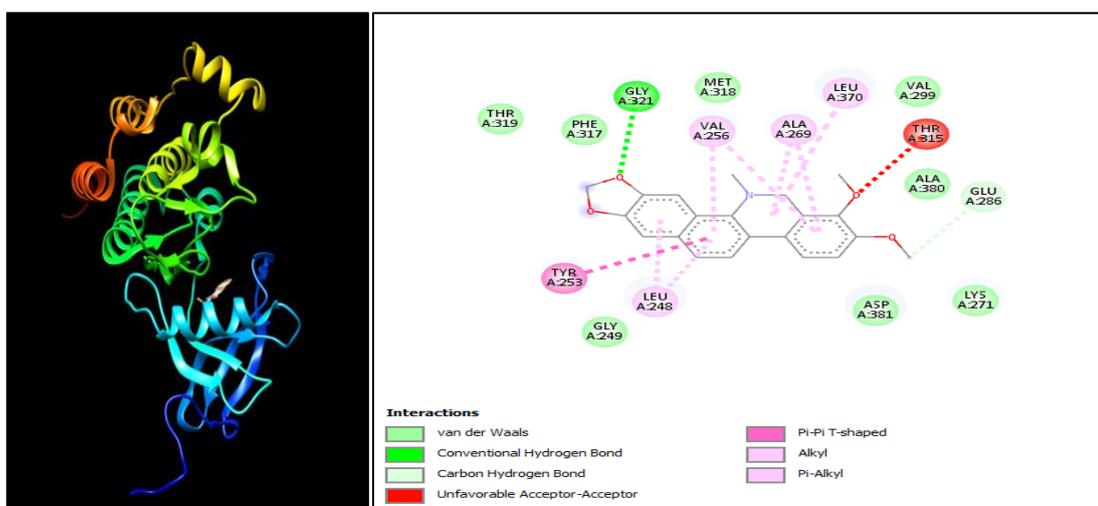
D'après les valeurs de  $\Delta G^\circ$  obtenue (tableau 4), la Chelerythrine chloride présente une meilleure affinité avec la tyrosine kinase d'Abl 1 (-10.7), suivi par 13-methylberberine (-10.5), Chrysofanol-8-O-glucoside et Dihydroberberine dont les deux derniers ayant la même valeur de  $\Delta G^\circ$  (-9.9) exprimant une interaction similaire avec la protéine cible. La Desoxyrhaponticine, l'Isorhapontigenine et la 8L-902 montrent les affinités les plus faibles avec les valeurs de -8.9, -8.5, -8.2, respectivement.

## 2. Les interactions moléculaires

Les interactions des meilleurs résultats obtenus par l'outil DSV lors des expériences de docking sont présentées ci-dessous.

➤ CLTR présente la valeur de score d'interaction la plus élevée de -10,7 Kcal/mol, cela indique que ce composé est bien placé dans le site actif de la PTK à travers 16 résidus d'acides aminés (figure 15) :

- Asp 381, Lys 271, Ala 380, Val 299, Met 318, Phe317, Thr 319 et Gly 249 interagissent par des interactions de Van der Waals.
- Ala 269, Val 256 et Leu 370 présentent des interactions alkyle et pi-alkyle et une interaction alkyle pour la Leu 248.
- Une seule interaction pi-pi une forme T pour Tyr 253.
- Gly 321 interagit par une liaison hydrogène conventionnelle plus une interaction de type accepteur -accepteur pour Thr 315.
- Glu 286 avec une liaison carbone hydrogène.

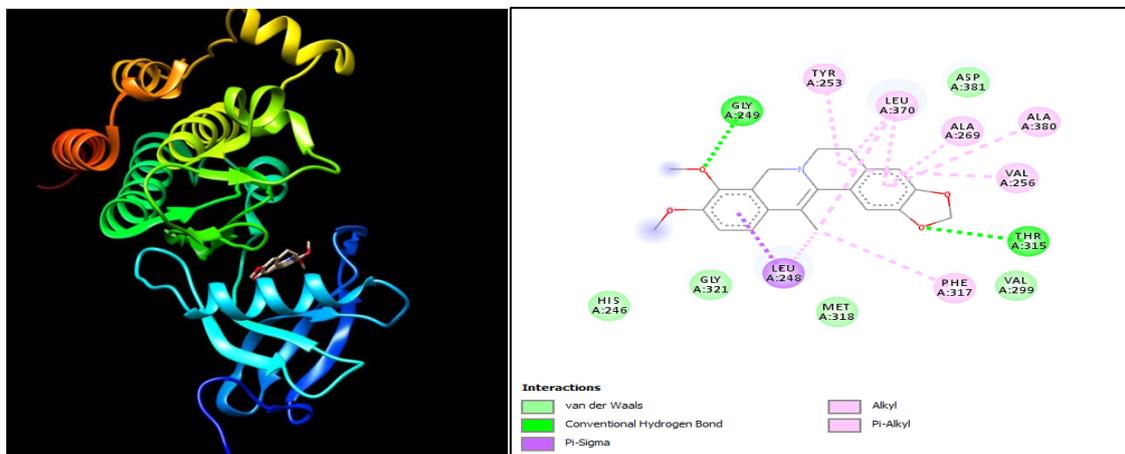


**Figure 15 :** Interaction de Chelerythrine chloride avec l'Abl1

➤ 13MBBR présente un score de liaison égale -10,5 Kcal/mol, cela indique que ce composé est bien placé dans le site actif de la PTK par 15 résidus d'acides aminés (figure 16) :

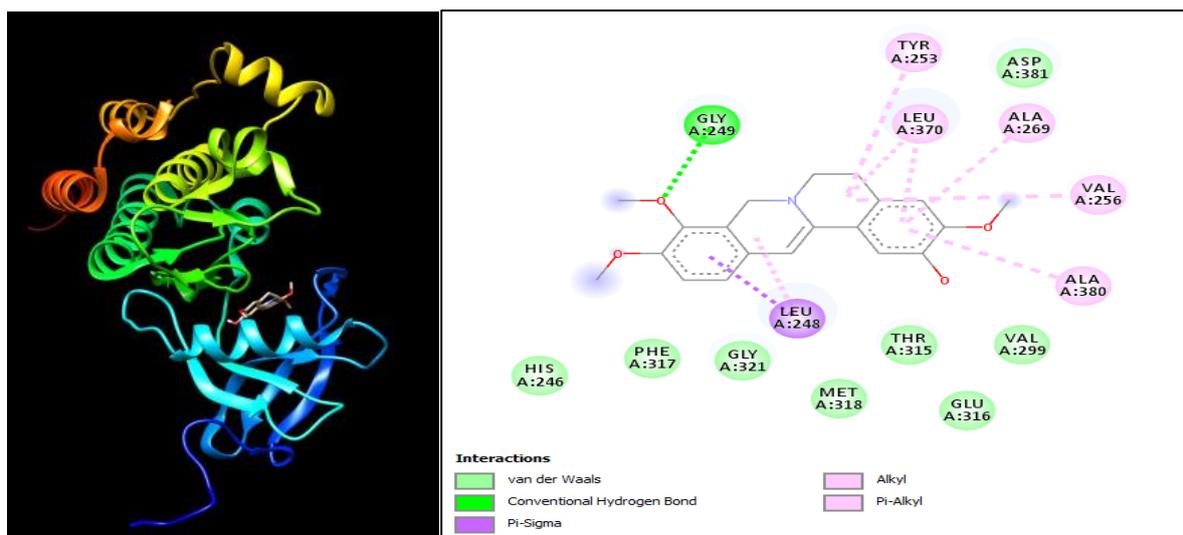
- Ala 380, Ala 269 pour une interaction hydrophobe de type pi-alkyle et Leu 370 lié avec deux interactions hydrophobes différentes : pi- alkyle et alkyle.

- Une seule interaction hydrophobe de type alkyle pour Phe 217, Val 356, Tyr 353 alors que leu 248 présente une interaction alkyle et une interaction électrostatique de type pi-Sigma.
- Des liaisons de Van der Waals pour Val 299, Met 318, Gly 321, His 346 et Asp 381.
- Gly 249 et Thr 315 associés par des liaisons hydrogènes conventionnelles.



**Figure 16 :** Interaction de 13-methylberberine avec l'Abl1

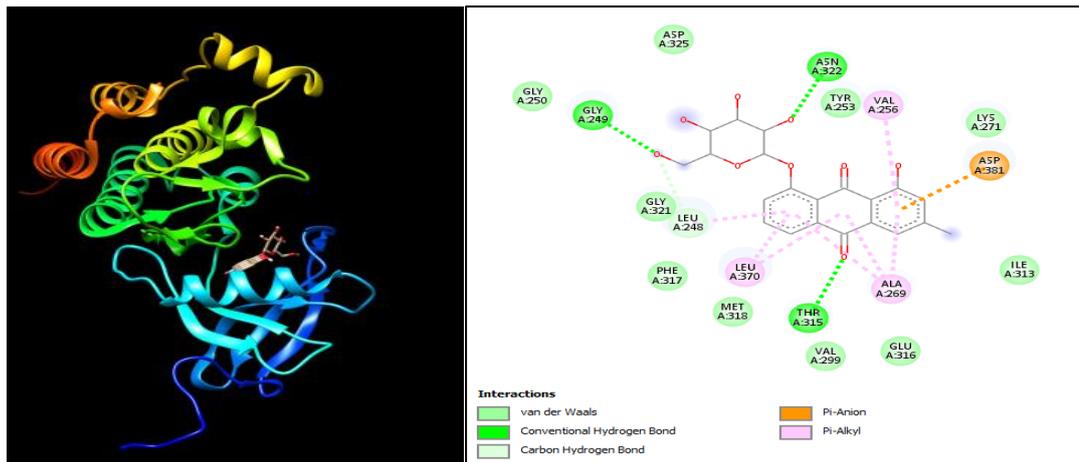
- Columbamine présente un score de liaison égale  $-9,3$  Kcal/mol, cela montre que ce composé est stable dans le site actif de la PTK à travers 15 résidus d'acides aminés (figure 17) :
- Val 299, Glu 316, Thr 315, Met 318, Gly 321, Phe 317, His 246 et Asp 381 présentent des interactions de Van der Waals.
- Trois interactions hydrophobes de type pi-alkyle pour Ala 381, Val 256 et Ala 269.
- Leu 370 présente plus de l'interaction alkyle, une interaction hydrophobe de type pi-alkyle et une interaction alkyle pour Tyr 253.
- Gly 249 interagit par une liaison hydrogène conventionnelle
- Leu 248 avec deux interactions hydrophobes de types différentes : alkyle et pi-sigma



**Figure 17:** Interaction de *Columbamine* avec l'Abl1

➤ Chrysofanol-8-O-glucoside présente un score de liaison égale - 9,9 Kcal/mol similaire à celle de la DHBBR, cela montre que ce composé est bien placé dans le site actif de la PTK de la même manière que DHBBR au moyen de 16 résidus d'acides aminés, Chrysofanol-8-O-glucoside interagit *via* 18 résidus d'acides aminés (figure 18) :

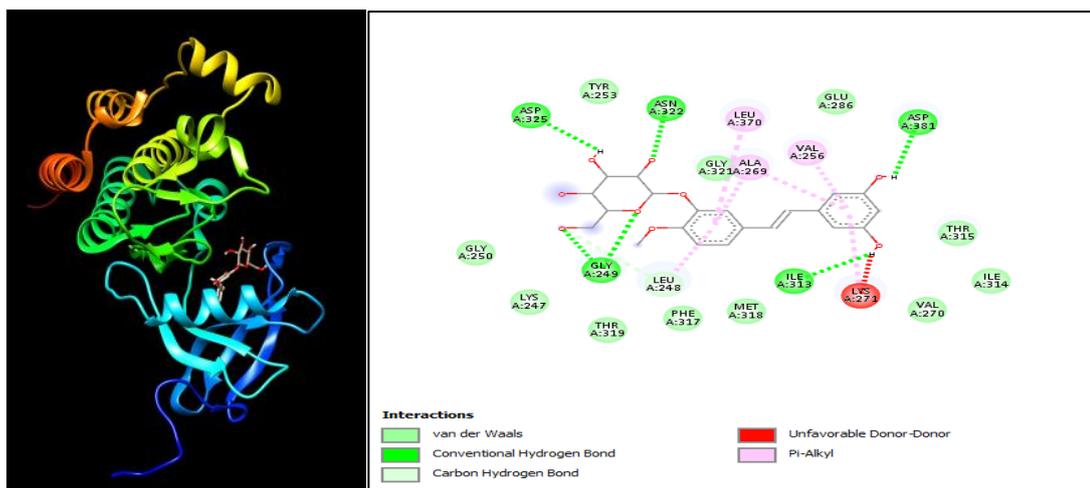
- Lys 271, Tyr 253, Asp 325, Gly 250, Gly 321, Phe 317, Met 318, Val 299, Glu 316 et Ile 313 avec 10 liaisons de Van der Waals.
- Une seule interaction pi-alkyle pour Val 256, trois pour Ala 269 et deux interactions pour la Leu 370.
- La Gly 249, Asn 322 et Thr 315 avec 3 liaisons hydrogènes conventionnelles.
- La Leu 248 avec une liaison carbone hydrogène plus une interaction électrostatique de type pi-anion



**Figure 18:** Interaction de la Chrysofanol-8-O-glucoside avec l'Abl1

➤ Rhapontigenine 3'-O-glucosides présente un score de liaison égale -9,5 Kcal/mol, cela montre que ce composé est bien placé dans le site actif de la PTK par 21 résidus d'acides aminés (figure 19) :

- Il existe 11 acide aminé avec des interaction de Van der Waals ainsi que d'autres comme l'Asp. 325, Asn 322, Asp 381, Ile 313 et la Gly249 interagit avec des liaisons hydrogènes conventionnelles.
- La Lys 271 avec une interaction de type donneur -donneur, la Leu 248 avec une liaison de types pi-alkyle et une liaison de type carbone hydrogène
- Une seule interaction pi-alkyle pour la Leu 370 et Val 256 et deux pour l'Ala 269.



**Figure 19:** Interaction de la Rhapontigenine 3'-O-glucosides avec l'Abl1

- Rhapontine présente un score de liaison de -9,1 Kcal/mol similaire à celle de la JATZ, cela indique que ce composé est stable dans le site actif de la PTK de la même manière que JATZ par 22 résidus d'acides aminés (figure 20) :
- Gly 250, Lys 247, Met 318, Phe 382, Ile 313, Thr 315, Lys 271, Val 256, Gly 321, Tyr 253 et Asp 325 avec des interactions de Van der Waals
- Une seule interaction hydrophobe de type pi-alkyle pour Val 299, Ala 380, Leu 248, Leu 370 et deux interaction pi-alkyle pour Ala 269.
- Glu 286 pour une liaison carbone hydrogène et Phe 317 avec une interaction hydrogène de type pi-donneur.
- Une liaison hydrogène conventionnelle avec une interaction donneur-donneur défavorable et une liaison hydrogène conventionnelle pour Asn 322.
- Met 290 présente une interaction de type pi-sulfure et Asp 381 pour une liaison hydrogène conventionnelle avec une interaction électrostatique de type pi-anion.

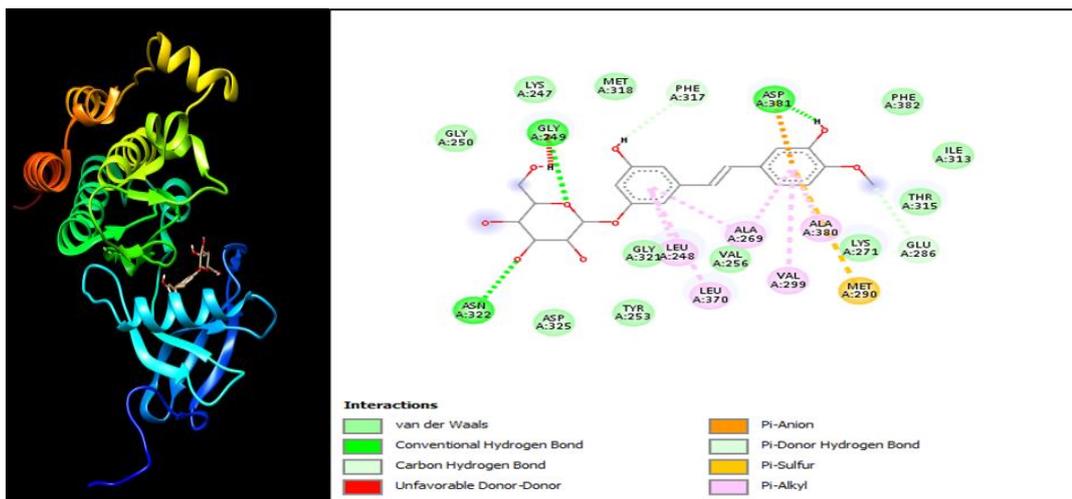


Figure 20: Interaction de Rhapontine avec l'Abl1

### 3. L'évaluation des propriétés pharmacologiques :

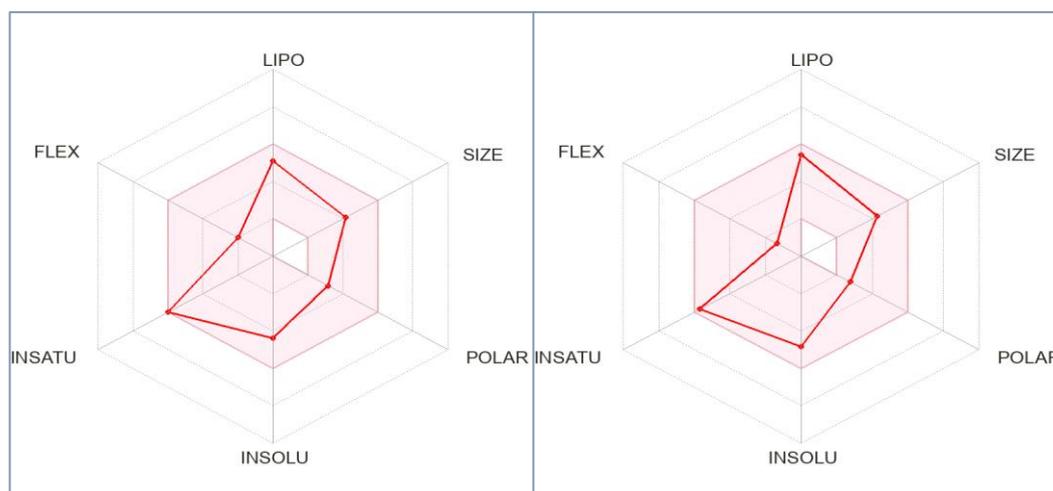
Pour être efficace en tant que médicament, une petite molécule doit posséder une activité élevée envers la cible, en plus des propriétés ADMET compatibles avec une application biologique. De ce fait, nous avons évalué les propriétés pharmacocinétiques (ADME) des 6 principaux composés par le serveur SwissADME en vue de déterminer le potentiel pharmacologique de chacun de ces composés selon la règle des cinq de Lipinski.

La zone rose du serveur SwissADME représente la gamme optimale pour chaque propriété pharmacologique (lipophilie, la taille, polarité, l'insolubilité, l'instauration et la flexibilité) (tableau 7).

**Tableau 7:** Profil ADMET des meilleurs inhibiteurs obtenus par le serveur SwissADME

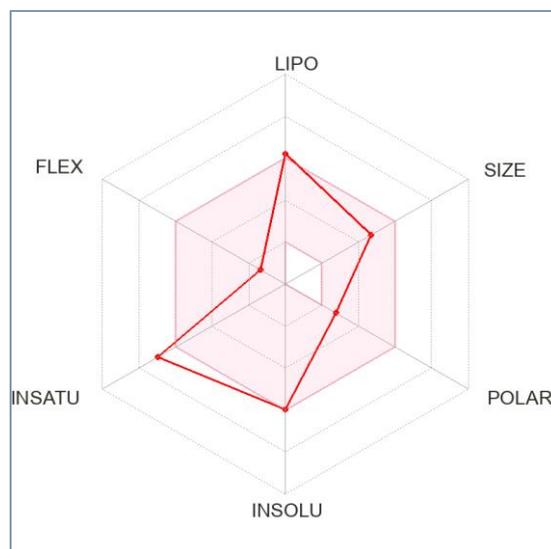
L'origine naturelle	Les inhibiteurs	Lipophile (XLOG3)	Polarité Å	Flexibilité	Instauration (Fraction Csp3)	Insolubilité LogS (ISOL)	Absorption Gastro Intestinale
Berbérine	Chelerythrine chloride	5,38	40,80	2	0,19	-5,97	Haute
	13methylberberine	3,98	40,80	2	0,25	-4,84	Haute
	Columbamine	3,42	15,80	3	0,25	-4,37	Haute
Emodine	Chrysofanol-8-O-glucoside	1,27	153,5	3	0,33	-3,32	Bas
	Rhapontigenine 3'-O-glucosides	0,52	149,07	6	0,33	-2,67	Bas
	Rhapontine	0,52	149,07	6	0,33	-2,67	Bas

Columbamine et 13-methylberberine désignent approximativement le même radar de biodisponibilité sans passer la gamme optimale, quel que soit la différence de la flexibilité (tableau 7). De plus, ces composés étudiés répandent parfaitement à la règle de cinq de Lipinski (0 violation). C'est pour cela, ils sont susceptibles d'utilisé comme des inhibiteurs de la PTK biodisponible par voie orale (figure 21).



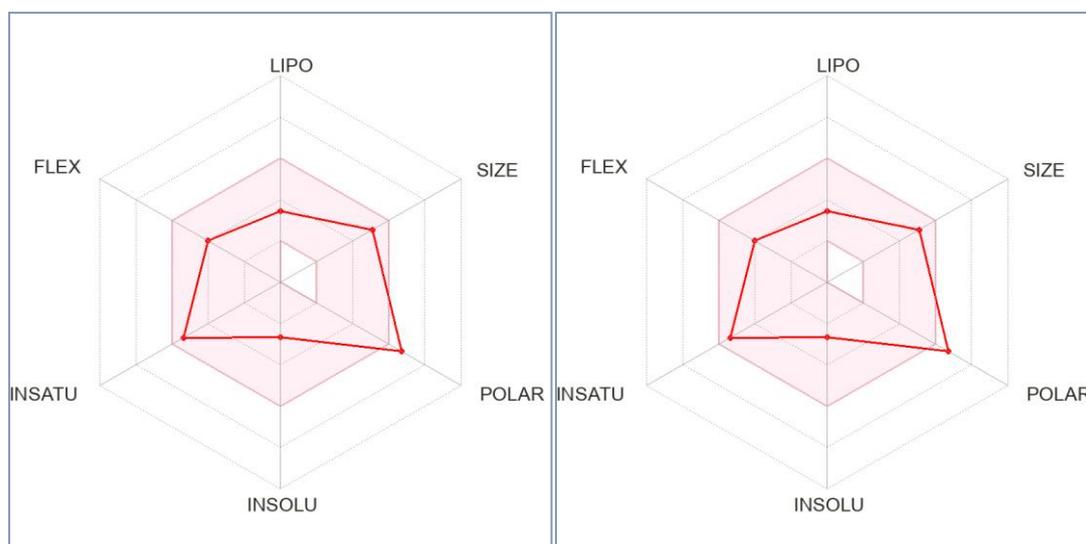
**Figure 21:** Radar de biodisponibilité de Columbamine et 13-methylberberine

Chelerythrine chloride présente la meilleure affinité pour la PTK parmi tous les inhibiteurs testés, mais reste non biodisponible par voie orale en raison de faible taux d'instauration malgré la détection de 0 violation à la règle de cinq de Lipinski (tableau 7) (figure 22).



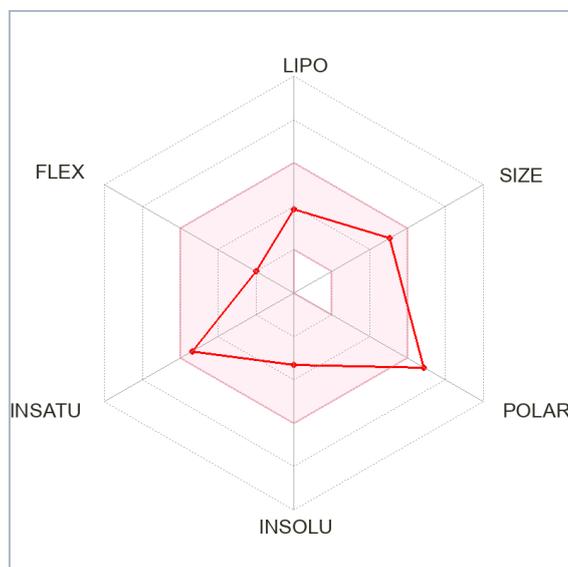
**Figure 22:** Radar de biodisponibilité de Chelerythrine chloride

Rhapontine et Rhapontigénine 3'-O-glucosides partagent le même radar de biodisponibilité, où ils dépassent la gamme optimale par un taux de polarité similaire (tableau 7), donc sont non biodisponibles par voie orale suite à la présence de deux violations à la règle de cinq de Lipinski (figure 23).



**Figure 23 :** Radar de biodisponibilité de Rhapontine et Rhapontigénine 3'-O-glucosides

Chrysofanol-8-O-glucoside répond parfaitement aux règles de cinq de Lipinski, ainsi qu'il présente un taux de polarité très élevée par rapport à l'intervalle des propriétés physico-chimiques (tableau 7), donc prédit comme non biodisponible par voie orale (figure 24).



**Figure 24:** Radar de biodisponibilité de Chrysofanol-8-O-glucoside

Parmi les six meilleurs inhibiteurs testés dans ce travail, seulement Columbamine et 13-méthylberberine respectent tous les paramètres pharmacocinétique et les règles de biodisponibilité, donc ils sont capables d'être utilisés comme des médicaments biodisponibles par voie orale.

# Conclusion

La présente étude avait pour but de réaliser l'inhibition de la protéine tyrosine kinase responsable de la leucémie myéloïde chronique ; par des composés naturels en faisant appel à l'approche *in silico*. Pour cela, nous avons choisi le Docking moléculaire qui présente la principale méthode bio-informatique utilisé pour prédire le mode d'interaction des inhibiteurs avec la protéine tyrosine kinase oncogénique.

Afin de réaliser l'amarrage moléculaire par UCSF Chimera, douze inhibiteurs d'origine naturelle ont été sélectionné dont Jatrorrhizine, Dihydroberberine, 13-méthylberberine, Columbamine , Chelerythrine chloride et Palmatrubine provenant de la berbérine isolée de plantes *Berberis vulgaris*; et six autres inhibiteurs qui sont: Chrysofanol-8-O-glucoside, 8L-902, Isorhapontigenine, Rhapontine, Desoxyrhaponticine, Rhapontigenine 3'-O-glucosides arrachés à partir de l'émodyne, un dérivé de la plantes *Rheum palmatum* .

Par la suite, une analyse des interactions de tyrosine kinase avec les inhibiteurs *via* logiciel DSV a été effectuée. Enfin, les propriétés physico-chimiques de la molécule testée ont été étudié par SwissADME pour qu'elles deviennent biodisponibles par voie orale.

D'après les résultats obtenus par logiciel DSV, nous n'avons choisi que les trois meilleurs analogues structuraux de chaque inhibiteur naturel, en raison de la forte interaction avec la PTK en comparant les valeurs d'énergie de liaison. Ensuite, une analyse des propriétés pharmacologiques permet de prédire la Columbamine et le 13-méthylberberine comme des inhibiteurs biodisponible par voie orale.

Il convient dans les perspectives d'avenir, de poursuivre cette étude en recherchant d'autres inhibiteurs naturels contre la PTK et de confirmer ces résultats théoriques en réalisant des études expérimentales *in vitro* et/ou *in vivo*.

# **Références Bibliographiques**

- Agarwal, S., & Mehrotra, R. (2016). An overview of molecular docking. *JSM chem*, 4(2), 1024-1028.
- Ain, Q. U., Aleksandrova, A., Roessler, F. D., & Ballester, P. J. (2015). Machine-learning scoring functions to improve structure-based binding affinity prediction and virtual screening. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 5(6), 405-424.
- Allain. (2007). Retrieved 15-05 from
- Amarante-Mendes, G. P., Rana, A., Datoguia, T. S., Hamerschlag, N., & Brumatti, G. (2022). BCR-ABL1 Tyrosine kinase complex signaling transduction: Challenges to overcome resistance in chronic myeloid leukemia. *Pharmaceutics*, 14(1), 215.
- Ardito, F., Giuliani, M., Perrone, D., Troiano, G., & Lo Muzio, L. (2017). The crucial role of protein phosphorylation in cell signaling and its use as targeted therapy (Review). *Int J Mol Med*, 40(2), 271-280. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2017.3036>
- Azam, S. S., & Abbasi, S. W. (2013). Molecular docking studies for the identification of novel melatonergic inhibitors for acetylserotonin-O-methyltransferase using different docking routines. *Theoretical Biology and Medical Modelling*, 10(1), 1-16.
- Azevedo, A., Silva, S., & Rueff, J. (2019). Non-receptor Tyrosine Kinases Role and Significance in Hematological Malignancies. *Tyrosine Kinases as Druggable Targets in Cancer*.
- Bei, Y., Tia, B., Li, Y., Guo, Y., Deng, S., Huang, R., . . . Dai, J. (2021). Anti-influenza A Virus Effects and Mechanisms of Emodin and Its Analogs via Regulating PPAR $\alpha$ / $\gamma$ -AMPK-SIRT1 Pathway and Fatty Acid Metabolism. *BioMed research international*, 2021.
- Benchikh, S., Bousfiha, A., El Hamouchi, A., Soro, S. G. C., Malki, A., & Nassereddine, S. (2022). Chronic myeloid leukemia: cytogenetics and molecular biology's part in the comprehension and management of the pathology and treatment evolution. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, 23(1), 1-13.
- BENNINI. (2016). *Les inhibiteurs de la Tyrosine kinase dans la leucémie myéloïde chronique* . [Thèse du Doctorat en medecine et de pharmacie:, Universite mohammed V – Rabat. Maroc ].
- Berman, H. M., Battistuz, T., Bhat, T. N., Bluhm, W. F., Bourne, P. E., Burkhardt, K., . . . Jain, S. (2002). The protein data bank. *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*, 58(6), 899-907.
- BOUCHERIT, H., CHIKHI, A., BENSEGUENI, A., MERZOUG, A., HIOUAL, K., & MOKRANI, E. (2013). L'AMARRAGE MOLECULAIRE: UNE NOUVELLE

- APPROCHE POUR LUTTER CONTRE LE DEVELOPPEMENT DE LA TUBERCULOSE. *Review of Industrial Microbiology Sanitary and Environnemental*, 7(2), 133-149.
- Boukli-Hacene. (2016). *Etude de l'interaction de quelques sels de métaux avec les sucres en solution aqueuse par modélisation moléculaire*.
- Breccia, M., Efficace, F., Iurlo, A., Luciano, L., Abruzzese, E., Gozzini, A., . . . Minotti, G. (2018). Intolerance to tyrosine kinase inhibitors in chronic myeloid leukemia: the possible role of ponatinib. *Expert Opinion on Drug Safety*, 17(6), 623-628.
- Brooijmans, N., & Kuntz, I. D. (2003). Molecular recognition and docking algorithms. *Annual review of biophysics and biomolecular structure*, 32(1), 335-373.
- Burley, S. K., Bhikadiya, C., Bi, C., Bittrich, S., Chen, L., Crichlow, G. V., . . . Feng, Z. (2022). RCSB Protein Data Bank: Celebrating 50 years of the PDB with new tools for understanding and visualizing biological macromolecules in 3D. *Protein Science*, 31(1), 187-208.
- Butt, S. S., Badshah, Y., Shabbir, M., & Rafiq, M. (2020). Molecular docking using chimera and autodock vina software for nonbioinformaticians. *JMIR Bioinformatics and Biotechnology*, 1(1), e14232.
- Carofiglio, F., Trisciuzzi, D., Gambacorta, N., Leonetti, F., Stefanachi, A., & Nicolotti, O. (2020). Bcr-Abl allosteric inhibitors: Where we are and where we are going to. *Molecules*, 25(18), 4210.
- Chaudhary, K. K., & Mishra, N. (2016). A review on molecular docking: novel tool for drug discovery. *databases*, 3(4), 1029.
- Chomel, J.-C., Sorel, N., Mayeur-Rousse, C., & Turhan, A. (2009). Les syndromes myéloprolifératifs. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée - IMMUNO-ANAL BIOL SPEC*, 24, 69-85. <https://doi.org/10.1016/j.immbio.2008.10.007>
- Ciaffaglione, V., Consoli, V., Intagliata, S., Marrazzo, A., Romeo, G., Pittalà, V., . . . Rescifina, A. (2022). Novel Tyrosine Kinase Inhibitors to Target Chronic Myeloid Leukemia. *Molecules*, 27(10), 3220.
- Cortes, J., & Kantarjian, H. (2012). How I treat newly diagnosed chronic phase CML. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 120(7), 1390-1397.
- Cortes, J., & Lang, F. (2021). Third-line therapy for chronic myeloid leukemia: current status and future directions. *Journal of Hematology & Oncology*, 14(1), 1-18.

- Cortes, J., Talpaz, M., Smith, H. P., Snyder, D. S., Khoury, J., Bhalla, K. N., . . . Wise, S. C. (2017). Phase 1 dose-finding study of rebastinib (DCC-2036) in patients with relapsed chronic myeloid leukemia and acute myeloid leukemia. *haematologica*, 102(3), 519.
- Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific reports*, 7(1), 1-13.
- De Santis, S., Monaldi, C., Mancini, M., Bruno, S., Cavo, M., & Soverini, S. (2022). Overcoming Resistance to Kinase Inhibitors: The Paradigm of Chronic Myeloid Leukemia. *OncoTargets and therapy*, 15, 103.
- Deininger, M. W., Shah, N. P., Altman, J. K., Berman, E., Bhatia, R., Bhatnagar, B., . . . Sundar, H. (2020). Chronic Myeloid Leukemia, Version 2.2021, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw*, 18(10), 1385-1415. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2020.0047>
- Demarquet, M., Labussière-Wallet, H., Nicolas-Virelizier, E., & Nicolini, F.-E. (2011). Une innovation thérapeutique: les inhibiteurs de tyrosine kinase de deuxième génération (ITK 2) dans le traitement de la LMC. *Bulletin du cancer*, 98(8), 859-866.
- Dhillon, S. (2022). Olverembatinib: first approval. *Drugs*, 1-7.
- Dias, R., Macedo Timmers, L. F. S., Caceres, R. A., de Azevedo, J., & Filgueira, W. (2008). Evaluation of molecular docking using polynomial empirical scoring functions. *Current drug targets*, 9(12), 1062-1070.
- Dine, G., Rehn, Y., Brahimi, S., Ammar, N. A., Gaillard, B., Bocq, Y., & Fumagalli, G. (2013). Maladie résiduelle et leucémie myéloïde chronique. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 28(4), 201-206.
- Dricu, A., Purcaru, S. O., Budiu, R., Ola, R., Tache, D. E., & Vlad, A. (2012). Epigenetic Alteration of Receptor Tyrosine Kinases in Cancer. *DNA Methylation—From Genomics To Technology*, 303.
- Druker, B. J., Guilhot, F., O'Brien, S. G., Gathmann, I., Kantarjian, H., Gattermann, N., . . . Stone, R. M. (2006). Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia. *New England Journal of Medicine*, 355(23), 2408-2417.
- Du, Z., & Lovly, C. M. (2018). Mechanisms of receptor tyrosine kinase activation in cancer. *Mol Cancer*, 17(1), 58. <https://doi.org/10.1186/s12943-018-0782-4>
- Dustin, C. M., Heppner, D. E., Lin, M. J., & van der Vliet, A. (2020). Redox regulation of tyrosine kinase signalling: more than meets the eye. *J Biochem*, 167(2), 151-163. <https://doi.org/10.1093/jb/mvz085>

- Eskazan, A. E., Sadri, S., Keskin, D., Ayer, M., Kantarcioglu, B., Demirel, N., . . . Ozunal, I. E. (2017). Outcomes of chronic myeloid leukemia patients with early molecular response at 3 and 6 months: a comparative analysis of generic imatinib and glivec. *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia*, 17(12), 804-811.
- Ewing, T. J., Makino, S., Skillman, A. G., & Kuntz, I. D. (2001). DOCK 4.0: search strategies for automated molecular docking of flexible molecule databases. *J Comput Aided Mol Des*, 15(5), 411-428. <https://doi.org/10.1023/a:1011115820450>
- Faderl, S., Talpaz, M., Estrov, Z., O'Brien, S., Kurzrock, R., & Kantarjian, H. M. (1999). The biology of chronic myeloid leukemia. *New England Journal of Medicine*, 341(3), 164-172.
- Ferreira, L. G., & Ricardo, N. (2015). Dos Santos, Glaucius Oliva, and Adriano D. Andricopulo. *Molecules*, 20, 13384-13421.
- Gagic, Z., Ruzic, D., Djokovic, N., Djikic, T., & Nikolic, K. (2020). In silico methods for design of kinase inhibitors as anticancer drugs. *Frontiers in chemistry*, 7, 873.
- Gocek, E., Moulas, A. N., & Studzinski, G. P. (2014). Non-receptor protein tyrosine kinases signaling pathways in normal and cancer cells. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*, 51(3), 125-137.
- Guedes, I. A. (2014). Magalhães CS, Dardenne LE. *Biophys Rev*, 6(1), 75.
- Guedes, I. A., de Magalhães, C. S., & Dardenne, L. E. (2014). Receptor–ligand molecular docking. *Biophysical reviews*, 6(1), 75-87.
- Hantschel, O., Grebien, F., & Superti-Furga, G. (2012). The growing arsenal of ATP-competitive and allosteric inhibitors of BCR-ABL. *Cancer Res*, 72(19), 4890-4895. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-12-1276>
- He, J. B., Zhang, X., Guo, Z. W., Liu, M. M., Xu, N., Huang, F., . . . Lin, S. H. (2020). Ponatinib therapy in recurrent Philadelphia chromosome-positive central nervous system leukemia with T315I mutation after Allo-HSCT. *International Journal of Cancer*, 147(4), 1071-1077.
- Heo, S.-K., Noh, E.-K., Kim, J. Y., Yu, H.-M., Sung, J. Y., Ju, L. J., . . . Cheon, J. (2021). The c-Abl inhibitor, radotinib induces apoptosis in multiple myeloma cells via mitochondrial-dependent pathway. *Scientific reports*, 11(1), 1-13.
- Herlet, S. (2010). *Les inhibiteurs de tyrosine kinase dans le traitement de la leucémie myeloïde chronique chez l'adulte: Du Glivec® aux traitements de deuxième génération. Conséquence de la sortie de la réserve hospitalière pour le pharmacien d'officine UHP- Université Henri Poincaré*].

- Huang, Y., Yoon, M. K., Otieno, S., Lelli, M., & Kriwacki, R. W. (2015). The activity and stability of the intrinsically disordered Cip/Kip protein family are regulated by non-receptor tyrosine kinases. *J Mol Biol*, 427(2), 371-386. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2014.11.011>
- Hubbard, S. R. (1999). Structural analysis of receptor tyrosine kinases. *Progress in biophysics and molecular biology*, 71(3-4), 343-358.
- Hubbard, S. R., & Till, J. H. (2000). Protein tyrosine kinase structure and function. *Annual review of biochemistry*, 69(1), 373-398.
- Jabbour, E., & Kantarjian, H. (2020). Chronic myeloid leukemia: 2020 update on diagnosis, therapy and monitoring. *Am J Hematol*, 95(6), 691-709. <https://doi.org/10.1002/ajh.25792>
- K. Bhanumathy, K., Balagopal, A., Vizeacoumar, F. S., Vizeacoumar, F. J., Freywald, A., & Giambra, V. (2021). Protein tyrosine kinases: their roles and their targeting in leukemia. *Cancers*, 13(2), 184.
- Kaapro, A., & Ojanen, J. (2002). Protein docking. URL <http://www.ice.hut.fi/teaching/S-114.500/k2002/Protdock.pdf>.
- Kadukova, M., & Grudin, S. (2017). Convex-PL: a novel knowledge-based potential for protein-ligand interactions deduced from structural databases using convex optimization. *Journal of computer-aided molecular design*, 31(10), 943-958.
- Kantarjian, H., Shah, N. P., Hochhaus, A., Cortes, J., Shah, S., Ayala, M., . . . Pasquini, R. (2010). Dasatinib versus imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *New England Journal of Medicine*, 362(24), 2260-2270.
- Kantarjian, H. M., Giles, F., Gattermann, N., Bhalla, K., Alimena, G., Palandri, F., . . . Litzow, M. (2007). Nilotinib (formerly AMN107), a highly selective BCR-ABL tyrosine kinase inhibitor, is effective in patients with Philadelphia chromosome–positive chronic myelogenous leukemia in chronic phase following imatinib resistance and intolerance. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 110(10), 3540-3546.
- Kawakami, S., Tsuma-Kaneko, M., Sawanobori, M., Uno, T., Nakamura, Y., Matsuzawa, H., . . . Naka, K. (2022). Pterostilbene downregulates BCR/ABL and induces apoptosis of T315I-mutated BCR/ABL-positive leukemic cells. *Scientific reports*, 12(1), 1-11.
- Khajapeer, K. V., & Baskaran, R. (2016). Natural products for treatment of chronic myeloid leukemia. *Anti-cancer drug nature, synthesis and cell.(1st edn)*, Intech publications, Croatia, 1-48.

- Khoury, H. J., Guilhot, F., Hughes, T. P., Kim, D. W., & Cortes, J. E. (2009). Dasatinib treatment for Philadelphia chromosome-positive leukemias: practical considerations. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*, *115*(7), 1381-1394.
- Kim, M., Baek, M., & Kim, D. J. (2017). Protein Tyrosine Signaling and its Potential Therapeutic Implications in Carcinogenesis. *Curr Pharm Des*, *23*(29), 4226-4246. <https://doi.org/10.2174/1381612823666170616082125>
- Kitchen, D. B., Decornez, H., Furr, J. R., & Bajorath, J. (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nature Reviews Drug Discovery*, *3*(11), 935-949. <https://doi.org/10.1038/nrd1549>
- Knighton, D. R., Zheng, J., Ten Eyck, L. F., Ashford, V. A., Xuong, N.-H., Taylor, S. S., & Sowadski, J. M. (1991). Crystal structure of the catalytic subunit of cyclic adenosine monophosphate-dependent protein kinase. *Science*, *253*(5018), 407-414.
- Kobe, B., & Kemp, B. E. (2010). Principles of Kinase Regulation. In *Handbook of Cell Signaling* (pp. 559-563). Elsevier.
- Kolibaba, K. S., & Druker, B. J. (1997). Protein tyrosine kinases and cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*, *1333*(3), F217-F248.
- Kulik, H. J. (2018). Large-scale QM/MM free energy simulations of enzyme catalysis reveal the influence of charge transfer. *Physical Chemistry Chemical Physics*, *20*(31), 20650-20660.
- Kumar, R., & Krause, D. S. (2021). Recent advances in understanding chronic myeloid leukemia: where do we stand? *Fac Rev*, *10*, 35. <https://doi.org/10.12703/r/10-35>
- Lavecchia, A., & Di Giovanni, C. (2013). Virtual screening strategies in drug discovery: a critical review. *Current medicinal chemistry*, *20*(23), 2839-2860.
- Lee, S. J. (2000). Chronic myelogenous leukaemia. *British journal of haematology*, *111*(4), 993-1009.
- Levinson, N. M., & Boxer, S. G. (2012). Structural and spectroscopic analysis of the kinase inhibitor bosutinib and an isomer of bosutinib binding to the Abl tyrosine kinase domain. *PLoS One*, *7*(4), e29828.
- Li, J., Fu, A., & Zhang, L. (2019). An overview of scoring functions used for protein–ligand interactions in molecular docking. *Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences*, *11*(2), 320-328.

- Li, L., Chang, L., Zhang, X., Ning, Z., Mayne, J., Ye, Y., . . . Figeys, D. (2020). Berberine and its structural analogs have differing effects on functional profiles of individual gut microbiomes. *Gut microbes*, *11*(5), 1348-1361.
- Liu, J., & Wang, R. (2015). Classification of current scoring functions. *Journal of chemical information and modeling*, *55*(3), 475-482.
- López-Vallejo, F., Caulfield, T., Martínez-Mayorga, K., A Giulianotti, M., Nefzi, A., A Houghten, R., & L Medina-Franco, J. (2011). Integrating virtual screening and combinatorial chemistry for accelerated drug discovery. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, *14*(6), 475-487.
- Manley, P. W., Barys, L., & Cowan-Jacob, S. W. (2020). The specificity of asciminib, a potential treatment for chronic myeloid leukemia, as a myristate-pocket binding ABL inhibitor and analysis of its interactions with mutant forms of BCR-ABL1 kinase. *Leuk Res*, *98*, 106458. <https://doi.org/10.1016/j.leukres.2020.106458>
- Massaro, F., Colafigli, G., Molica, M., & Breccia, M. (2018). Novel tyrosine-kinase inhibitors for the treatment of chronic myeloid leukemia: safety and efficacy. *Expert Review of Hematology*, *11*(4), 301-306.
- Massimino, M., Stella, S., Tirro, E., Pennisi, M. S., Vitale, S. R., Puma, A., . . . Di Raimondo, F. (2020). ABL1-directed inhibitors for CML: efficacy, resistance and future perspectives. *Anticancer Research*, *40*(5), 2457-2465.
- Melo, J. V., & Chuah, C. (2008). Novel agents in CML therapy: tyrosine kinase inhibitors and beyond. *ASH Education Program Book*, *2008*(1), 427-435.
- Merzoug, A., & Chikhi, A. (2018). *Recherche de nouvelles molécules bioactives par criblage virtuel et applications à l'inhibition de la peptide déformylase* [جامعة الإخوة منتوري قسنطينة].
- Meunier, C., Rozières, A., Duclaux-Loras, R., Gay, C., Faure, M., Flourié, B., . . . Boschetti, G. (2019). Implication de la voie JAK-STAT dans la pathogénie des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. *Hépatogastro & Oncologie Digestive*, *26*(9), 937-946.
- Minciacchi, V. R., Kumar, R., & Krause, D. S. (2021). Chronic myeloid leukemia: A model disease of the past, present and future. *Cells*, *10*(1), 117.
- Modi, V., & Dunbrack Jr, R. L. (2019). Defining a new nomenclature for the structures of active and inactive kinases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *116*(14), 6818-6827.
- Muegge, I. (2006). PMF scoring revisited. *Journal of medicinal chemistry*, *49*(20), 5895-5902.

- Mukesh, B., & Rakesh, K. (2011). Molecular docking: a review. *Int J Res Ayurveda Pharm*, 2(6), 1746-1751.
- Nagar, B., Bornmann, W. G., Pellicena, P., Schindler, T., Veach, D. R., Miller, W. T., . . . Kuriyan, J. (2002). Crystal structures of the kinase domain of c-Abl in complex with the small molecule inhibitors PD173955 and imatinib (STI-571). *Cancer research*, 62(15), 4236-4243.
- Naqvi, A. A., Mohammad, T., Hasan, G. M., & Hassan, M. (2018). Advancements in docking and molecular dynamics simulations towards ligand-receptor interactions and structure-function relationships. *Current topics in medicinal chemistry*, 18(20), 1755-1768.
- Neet, K., & Hunter, T. (1996). Vertebrate non-receptor protein-tyrosine kinase families. *Genes to Cells*, 1(2), 147-169.
- Nowell, P. C. (2007). Discovery of the Philadelphia chromosome: a personal perspective. *The Journal of clinical investigation*, 117(8), 2033-2035.
- Pagadala, N. S., Syed, K., & Tuszynski, J. (2017). Software for molecular docking: a review. *Biophysical reviews*, 9(2), 91-102.
- Paludetto. (2015). *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].
- Panjarian, S., Iacob, R. E., Chen, S., Engen, J. R., & Smithgall, T. E. (2013). Structure and dynamic regulation of Abl kinases. *Journal of Biological Chemistry*, 288(8), 5443-5450.
- Paul, M. K., & Mukhopadhyay, A. K. (2004). Tyrosine kinase—role and significance in cancer. *International journal of medical sciences*, 1(2), 101.
- Peiris, M. N., Li, F., & Donoghue, D. J. (2019). BCR: a promiscuous fusion partner in hematopoietic disorders. *Oncotarget*, 10(28), 2738.
- Pharmacorama Connaissance des médicaments* Retrieved 12/04/2022 from
- Phillippe, M., Sweet, L. M., Bradley, D. F., & Engle, D. (2009). Role of Nonreceptor Protein Tyrosine Kinases During Phospholipase C- $\gamma$ 1-related Uterine Contractions in the Rat. *Reproductive Sciences*, 16(3), 265-273.
- Pinzi, L., & Rastelli, G. (2019). Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery. *Int J Mol Sci*, 20(18). <https://doi.org/10.3390/ijms20184331>
- Pophali, P. A., & Patnaik, M. M. (2016). The role of new tyrosine kinase inhibitors in chronic myeloid leukemia. *Cancer journal (Sudbury, Mass.)*, 22(1), 40.

- Price, K. E., Saleem, N., Lee, G., & Steinberg, M. (2013). Potential of ponatinib to treat chronic myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia. *OncoTargets and therapy*, 6, 1111.
- Puttini, M., Coluccia, A. M., Boschelli, F., Cleris, L., Marchesi, E., Donella-Deana, A., . . . Gambacorti-Passerini, C. (2006). In vitro and in vivo activity of SKI-606, a novel Src-Abl inhibitor, against imatinib-resistant Bcr-Abl+ neoplastic cells. *Cancer Res*, 66(23), 11314-11322. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-06-1199>
- Qawoogha, S. S., & Shahiwala, A. (2020). Identification of potential anticancer phytochemicals against colorectal cancer by structure-based docking studies. *Journal of Receptors and Signal Transduction*, 40(1), 67-76.
- Robert, J. (2010a). La voie de la phosphatidylinositol-3-kinase. In *Signalisation cellulaire et cancer: Un manuel pour les étudiants et les oncologues* (pp. 59-69). Springer Paris. [https://doi.org/10.1007/978-2-8178-0028-8\\_4](https://doi.org/10.1007/978-2-8178-0028-8_4)
- Robert, J. (2010b). La voie des MAP kinases. In *Signalisation cellulaire et cancer: Un manuel pour les étudiants et les oncologues* (pp. 45-58). Springer Paris. [https://doi.org/10.1007/978-2-8178-0028-8\\_3](https://doi.org/10.1007/978-2-8178-0028-8_3)
- Robinson, D. R., Wu, Y.-M., & Lin, S.-F. (2000). The protein tyrosine kinase family of the human genome. *Oncogene*, 19(49), 5548-5557.
- Santos, R. N. d., Ferreira, L. G., & Andricopulo, A. D. (2018). Practices in molecular docking and structure-based virtual screening. In *Computational drug discovery and design* (pp. 31-50). Springer.
- Sawyers, C. L. (1999). Chronic myeloid leukemia. *New England Journal of Medicine*, 340(17), 1330-1340.
- Sethi, A., Joshi, K., Sasikala, K., & Alvala, M. (2019). Molecular docking in modern drug discovery: Principles and recent applications. *Drug discovery and development-new advances*, 2, 1-21.
- Shah, N. P., Kim, D.-W., Kantarjian, H., Rousselot, P., Llacer, P. E. D., Enrico, A., . . . Müller, M. C. (2010). Potent, transient inhibition of BCR-ABL with dasatinib 100 mg daily achieves rapid and durable cytogenetic responses and high transformation-free survival rates in chronic phase chronic myeloid leukemia patients with resistance, suboptimal response or intolerance to imatinib. *haematologica*, 95(2), 232.
- Shoukier, M., Kubiak, M., & Cortes, J. (2021). Review of new-generation tyrosine kinase inhibitors for chronic myeloid leukemia. *Current oncology reports*, 23(8), 1-8.

- Siveen, K. S., Prabhu, K. S., Achkar, I. W., Kuttikrishnan, S., Shyam, S., Khan, A. Q., . . . Uddin, S. (2018). Role of non receptor tyrosine kinases in hematological malignances and its targeting by natural products. *Mol Cancer*, *17*(1), 1-21.
- Solouki, S., August, A., & Huang, W. (2019). Non-receptor tyrosine kinase signaling in autoimmunity and therapeutic implications. *Pharmacol Ther*, *201*, 39-50. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2019.05.008>
- Soumana, O. S. (2007). *Dimérisation du domaine transmembranaire des récepteurs de la famille ErbB/HER. Etude par simulations de dynamique moléculaire* [Université d'Orléans].
- Spyrakakis, F., Cozzini, P., & Kellogg, G. E. (2003). Docking and scoring in drug discovery. *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery*, 601-684.
- Thijssen, S., Schuurhuis, G., Van Oostveen, J., & Ossenkoppele, G. (1999). Chronic myeloid leukemia from basics to bedside. *Leukemia*, *13*(11), 1646-1674.
- Thomson, R. J., Moshirfar, M., & Ronquillo, Y. (2022). Tyrosine Kinase Inhibitors. In *StatPearls*. StatPearls Publishing
- Copyright © 2022, StatPearls Publishing LLC.
- Thornton, B. F., Wik, M., & Crill, P. M. (2016). Double-counting challenges the accuracy of high-latitude methane inventories. *Geophysical Research Letters*, *43*(24), 12,569-512,577.
- Tsygankov, A. Y. (2003). Non-receptor protein tyrosine kinases. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, *8*(6), 595-635.
- Tullett, M. (2017). Mohammad Vasef, Aaron Auerbach *Diagnostic Pathology: Molecular Oncology* Elsevier, Philadelphia, 2016, Hardcover and Expert consult access. ISBN 978-0-323-37678-5. Price£ 190.79 hardcover,£ 181.25 for online edition. In: Wiley Online Library.
- Voisin, T. (2019). État des lieux des Leucémies Myéloïdes Chroniques pédiatriques suivies au CHU de Bordeaux depuis 1993.
- Williams, A., & Tkachenko, V. (2014). The Royal Society of Chemistry and the delivery of chemistry data repositories for the community. *Journal of computer-aided molecular design*, *28*(10), 1023-1030.
- Wu, F. L., Chu, P. Y., Chen, G. Y., Wang, K., Hsu, W. Y., Ahmed, A., . . . Yang, J. C. (2022). Natural anthraquinone compound emodin as a novel inhibitor of aurora A kinase: A pilot study. *Chemical Biology & Drug Design*, *99*(1), 126-135.

- Yin, B., Fang, D.-M., Zhou, X.-L., & Gao, F. (2019). Natural products as important tyrosine kinase inhibitors. *European journal of medicinal chemistry*, *182*, 111664.
- Yin, Z., Zou, Y., Wang, D., Huang, X., Xiong, S., Cao, L., . . . Zhang, N. (2022). Regulation of the Tec family of non-receptor tyrosine kinases in cardiovascular disease. *Cell death discovery*, *8*(1), 1-8.
- Yurttaş, N. Ö., & Eşkazan, A. E. (2020). Novel therapeutic approaches in chronic myeloid leukemia. *Leukemia Research*, *91*, 106337.
- Zhao, Z., Wu, H., Wang, L., Liu, Y., Knapp, S., Liu, Q., & Gray, N. S. (2014). Exploration of type II binding mode: A privileged approach for kinase inhibitor focused drug discovery? *ACS chemical biology*, *9*(6), 1230-1241.
- Zhong, L., Li, Y., Xiong, L., Wang, W., Wu, M., Yuan, T., . . . Wang, T. (2021). Small molecules in targeted cancer therapy: Advances, challenges, and future perspectives. *Signal transduction and targeted therapy*, *6*(1), 1-48.
- Zwaan, C. M., Rizzari, C., Mechinaud, F., Lancaster, D. L., Lehrnbecher, T., van der Velden, V. H., . . . Kearns, P. R. (2013). Dasatinib in children and adolescents with relapsed or refractory leukemia: results of the CA180-018 phase I dose-escalation study of the Innovative Therapies for Children with Cancer Consortium. *J Clin Oncol*, *31*(19), 2460-2468. <https://doi.org/10.1200/jco.2012.46.8280>