

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AMAR TELIDJI -LAGHOUCAT
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Science de la nature et de la vie (S.N.V)

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie appliquée

Thème

**Prédiction *in silico* de l'effet inhibiteur de certains
triterpènes sur l'enzyme Bruton Tyrosine Kinase et Uréase
: traitement anti-cancéreux**

Présenté par :

- ❖ Mlle. DIMEH kheira
- ❖ Mlle. DJEKIDEL samah

Devant le jury composé de :

Présidente	Mme. ZAKHROUF. Zohra
Examineur	M. LINANI. Abderrahmane
Encadrant	M. BOUKEROUIS. Djoudi

Année Universitaire 2023-2024

Remerciement

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements et notre profonde reconnaissance à tous ceux et celles qui nous ont accompagnés et qui nous ont tant appris au cours de cette longue expérience avec gentillesse et amour.

Nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir donné le courage, la force et la patience d'achever ce modeste travail.

Nous tenons tout d'abord, à remercier :

- notre encadreur Pr. **BOUKEROUIS.D**, qui nous a accompagné durant toute la période de cette étude avec beaucoup de patience et de savoir-faire. Sa gentillesse, sa disponibilité et ses qualités humaines nous ont été d'une aide précieuse.*
- Mme. **ZAKHROUF.Z**, pour avoir accepté la charge de présider le jury de ce mémoire.*
- A M. **LINANI. A**, Pour avoir accepté de juger ce travail. Nous sommes honorés de le compter parmi les membres de ce jury.*
- Nous tenons aussi à remercier tous les enseignants qui nous ont transmis notre savoir actuel tout au long de notre cursus.*

Dédicace

Je dédie ce travail

À ma chère maman

À mon cher papa

Merci de toujours me soutenir, m'encourager, me rassurer

Que Dieu les préserve

À mes chers frères et sœurs

Aïcha, Sofiane, Khalil, Hadjer et Sife el islam

Merci de m'avoir supporté, aidé tout le long de ce travail

À mes trois neveux

Asmaa, Mohamed, Oussama

À mon cher oncle Belgacem

Qui m'a aidé tout au long de ce travail

À toutes les personnes que j'aime et qui m'aime

*À tous les enseignants qui ont contribué à ma
formation*

À toute Ma famille et Mes chères Amies

Kheira

Dédicace

Je dédie ce mémoire à :

Mes parons :

Ma mère,

Qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père

Qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

A mes frères

ZEHIR - ANAS - MEHAMMED

A mes sœurs

WIDAD - AMANI

Enfin pour tous les gens qui m'ont aimé et tout qui m'ont aidé de près ou loin à réaliser ce modeste travail.

Samah

Résumé

Le cancer ; la cause majeure des décès dans le monde ; est lié à plusieurs origines moléculaires. Les enzymes : Bruton tyrosine kinase (BTK) et l'uréase *Helicobacter pylori* (*H. Pylori*) sont derrière le développement de la leucémie lymphoïde chronique (LLC) et le cancer gastrique respectivement. Dans cette étude, ces enzymes sont sélectionnés comme cible moléculaire pour prédire, *in silico*, l'effet inhibiteur de dix-neuf triterpènes. 11 triterpènes ont montré une bonne affinité avec le site actif de l'enzyme BTK dont le mode d'action serait proche de celui des inhibiteurs de type II. Les triterpènes, qui ont montré les meilleures énergies de liaison dans ce site sont : l'acide boswellique (-9,3 Kcal/mol), l'acide maslinique (-9,5 Kcal/mol) et l'acide 11-oxo-ursolique (-9,5 Kcal/mol). Quant à l'uréase *H. Pylori*, c'est 14 molécules qui se sont fixées sur le site 2 (site actif) et les meilleurs ligands de ce site sont : l'acide corosolique (-8,6 Kcal/mol), l'acide fupenzique (-8,6 Kcal/mol) et l'acide 3-oxo-euscaphique (-8,2 Kcal/mol). Le reste des molécules (5 molécules) se sont liées, par ailleurs, sur des sites secondaires lions de site 2. Ces derniers sont supposés exercer un effet inhibiteur non compétitif sur l'uréase. Pour les résultats des propriétés pharmacocinétiques et physicochimiques, les triterpènes considérés dans cette étude répondent en majorité à tous les critères de l'analyse ADMET et la règle de Lipinski ce qui feraient d'elles de présumées substances médicamenteuses.

Mot clés : Cancer ; BTK ; Uréase d'*Helicobacter pylori* ; Triterpène ; Docking moléculaire ; Analyse ADMET

Abstract

Cancer, is a leading cause of death worldwide, has several molecular origins. The enzymes Bruton tyrosine kinase (BTK) and *Helicobacter pylori* (*H. Pylori*) urease are behind the development of chronic lymphocytic leukemia (CLL) and gastric cancer, respectively. In this study, we selected these enzymes as molecular targets to predict, *in silico*, the inhibitory effect of nineteen triterpenes. 11 triterpenes showed good affinity with the active site of the enzyme BTK, with a mode of action similar to that of type II inhibitors. The triterpenes with the highest binding energies in this site were boswellic acid (-9.3 Kcal/mol), maslinic acid (-9.5 Kcal/mol), and 11-oxo-ursolic acid (-9.5 Kcal/mol). In *H. Pylori* urease, 14 molecules bind to site 2 (the acid site), and the best ligands for this site are: corosolic acid (-8.6 Kcal/mol), fupenzic acid (-8.6 Kcal/mol), and 3-oxo-euscatic acid (-8.2 Kcal/mol). The rest of the molecules (5 molecules) were associated with secondary sites far from site 2. These are thought to exert a non-competitive inhibitory effect on urease. For the results of the pharmacokinetic and physicochemical properties, the majority of the triterpenes considered in this study met all the criteria of the ADMET analysis and Lipinski's rule, which would make them presumed drug substances.

Keywords: Cancer; BTK; *Helicobacter pylori* urease; Triterpene; Molecular docking; ADMET analysis

ملخص

السرطان، وهو السبب الرئيسي للوفاة في جميع أنحاء العالم، له عدة أصول جزيئية. وتقف إنزيمات بروتون تيروزين كيناز (BTK) وإنزيم اليوريز من *H. Pylori* وراء تطور سرطان الدم الليمفاوي المزمن وسرطان المعدة، على التوالي. في هذه الدراسة، تم اختيار هذه الإنزيمات كأهداف جزيئية للتنبؤ، *in silico*، بالتأثير المثبط لتسعة عشر من ثلاثي التربين. أظهر 11 ثلاثي التربين تقارباً جيداً مع الموقع النشط للإنزيم BTK، مع طريقة عمل مشابهة لطريقة عمل مثبطات النوع الثاني. كانت ثلاثيات التربين ذات أعلى طاقات الارتباط في هذا الموقع هي: *acide boswellique* (-9.3 كيلو سرعة حرارية/مول)، *l'acide maslinique* (-9.5 كيلو سرعة حرارية/مول)، و *l'acide 11-oxo-ursolique* (-9.5 كيلو سرعة حرارية/مول). في اليوريز من *H. Pylori*، يرتبط 14 جزيئاً بالموقع 2 (موقع الفعال)، وأفضل الروابط لهذا الموقع هي: *l'acide corosolique* (-8.6 كيلو سرعة حرارية/مول)، *l'acide fupenzique* (-8.6 كيلو كالوري/مول)، و *l'acide 3-oxo-euscaphique* (-8.2 كيلو سرعة حرارية/مول). ارتبطت بقية الجزيئات (5 جزيئات) بمواقع ثانوية بعيدة عن الموقع 2. ويُعتقد أن هذه الجزيئات تمارس تأثيراً مثبطاً غير تنافسي على اليوريز. بالنسبة لنتائج الخواص الحركية الدوائية والفيزيائية الكيميائية، فإن غالبية الترايبتيربينات التي تم النظر فيها في هذه الدراسة استوفت جميع معايير تحليل ADMET وقاعدة ليبينسكي، مما يجعلها مواد دوائية مفترضة.

كلمات مفتاحية: السرطان ; بروتون التيروزين كيناز ; يوريز الهليكوباكتر بيلوري ; ثلاثي التربينويد ; الالتحام الجزيئي ; تحليل

ADMET

Liste des abréviations

<i>A</i>		IP3	Inositol triphosphate
AA	Acide Aminée	<i>L</i>	
ADV	Auto Dock Vina	L. hydrogène	Liaison hydrogène
ADT	Auto Dock Tools	L. hydrogène (C-H)	Liaison hydrogène Carbonne -hydrogène
ATP	Adénosine Tri Phosphate	Log S	Solubilité
ADMET	Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination et Toxicité	Log P	Distribution Coefficient P
AH	Hélice Alpha (α)	<i>N</i>	
AM	Amarrage moléculaire	NFAT	Nuclear Factor of Activated T-cells
<i>B</i>		NF-κB	Nuclear Factor κB
BBB	Blood-Brain Barrier	<i>P</i>	
BCR	B-Cell Receptor	PDB	Protein Data Bank
BTK	Bruton tyrosine kinase	PDBQT	Protein Data Bank, Partial Charge (Q), Atom Type (T)
<i>C</i>		PPB	Plasma Protein Binding
CYP450	Cytochrome P450 enzymes	PIP3	Phosphatidylinositol(3,4,5)triPhosphate
<i>D</i>		PIP2	Phosphatidylinositol(4,5)triPhosphate
DSV	Discovery Visualizer	Studio S	
<i>E</i>		SH2	Src Homology 2
EC	Enzyme Commission	SH3	Src Homology 3
<i>H</i>		Skin Sen	Skin sensitization
HERG	Human Ether-a-go-go Related Gene channel	<i>T</i>	
H-HT	Human Hepatotoxicity	TEC	Tyrosine kinase exprimée dans le carcinome hépatocellulaire
HIA	Human Intestinal Absorption	T1/2	Temps de demi-vie (1/2)
<i>H. Pylori</i>	Helicobacter pylori	TH	Tec Homology
<i>I</i>			

Liste des figures

Figure 01: Schéma représentatif des domaines de BTK.....	5
Figure 02: Modèle d'activation de la BTK.	5
Figure 03: Schémas représente le mécanisme d'action de BTK.	6
Figure 04: Exemples des inhibiteurs de type 1 et leur mécanisme de fixation sur la BTK.....	7
Figure 05: Uréase d' H. Pylori ; mode réactionnel et problèmes causés.	8
Figure 06 : La structure d'Uréase H. pylori.....	9
Figure 07: Le mode catalytique d'uréase H. Pylori.....	9
Figure 08: Photo de la fenêtre d'accueil de l'interface d'ADT (version 1.5.6).....	13
Figure 09: Interface de la page d'accueil de RCSB PDB.....	14
Figure 10: Interface de la page d'accueil de Pubchem.....	15
Figure 11: Schémas représentatifs des propriétés physico-chimiques de la règle de Lipinski.....	16
Figure 12: Les structures 2D des ligands étudiés.....	18
Figure 13: Schémas représentatif l'enzyme BTK avant et après la préparation.....	19
Figure 14: Boîte de grille d'amarrage aléatoire.....	20
Figure 15: Schémas représentatif un Docking protéine -protéine de deux domaine kinase d'enzyme BTK.....	21
Figure 16: Les différents sites de fixation de ligand dans la protéine 6o8i.....	24
Figure 17: Schéma représentatif les acides aminés essentiel de site actif de BTK.....	25
Figure 18: Représentation 3D et 2D de mode d'action des ligands impliquant les interactions Vander Waals et liaisons hydrogène dans le site 1 de BTK.....	27
Figure 19: Représentation 3D et 2D de mode d'action des ligands impliquant les interactions Vander Waals dans le site 1 de BTK.....	28
Figure 20: Schema représentatif les régions principales de site 2.....	29
Figure 21: Représentation 3D et 2D de mode d'action des ligands impliquant les interactions Vander Waals, hydrophobe et des liaisons hydrogène dans le site 2 de BTK.....	31
Figure 22: schéma illustrant l'interaction entre les deux domaines kinase de BTK.....	32
Figure 23: Les acides aminés clés de la dimérisation des deux domaines de BTK selon PDB sum....	32
Figure 24: L'interaction entre le dimère d'enzyme et l'acide maslinique. A : le complexe dimère - ligand (l'acide maslinique), B : un zoom sur le site de liaison de dimère révèle la disposition particulière du ligand, C : interaction 2D entre l'acide maslinique et les résidus proches du site actif de 6o8i la (chaîne A) et le Tyr 551.....	33
Figure 25: Les différents sites de fixation de ligand dans la chaîne B de protéine 1e9y.....	34
Figure 26: Schéma représentatif de site 2.....	35
Figure 27: Représentation 3D et 2D de mode d'action des ligands impliquant les interactions Vander Waals et les liaisons hydrogène dans le site 2 d'uréase. Les interactions :.....	37
Figure 28: L'interaction des ligands avec leurs sites 1,3et 4.....	39

Liste des tableaux

Tableau 01: Les caractéristiques de 6o8i et de 1e9y	17
Tableau 02: Les résultats d'interactions des ligands avec le site 1 de BTK	26
Tableau 03: Les résultats d'interactions des ligands avec le site 2 de BTK	30
Tableau 04: les résultats d'interactions des ligands avec le site 2	35
Tableau 05: Les résultats d'interactions des ligands avec les sites 1,3 et 4	38
Tableau 06: Les propriétés pharmacocinétiques des ligands	41
Tableau 07: Résultats de la règle de Lipinski	42

Liste des annexes

Annexe 01: Résultats des propriétés pharmacocinétiques et physico-chimiques des six ligands	57
Annexe 02: Les résultats des propriétés pharmacocinétiques et physico-chimiques des ligands	58

Table des matières

Introduction	1
Synthèse bibliographique.....	3
I.1. Bruton tyrosine kinase.....	4
I.1.1. Généralité	4
I.1.2. La structure primaire	4
I.1.3. L'activation de BTK	5
I.1.4. Cascade de signalisation associée	6
I.1.5. Cancer associé à la BTK.....	6
I.1.6. Les différents types d'inhibiteurs de la BTK.....	7
I.2. Uréase d'<i>Helicobacter pylori</i>.....	8
I.2.1. Généralité	8
I.2.1.1. Structure	8
I.2.2. La localisation et distribution d'uréase.....	9
I.2.3. Le mode d'action.....	9
I.2.4. Les types de cancer lié à l'uréase d'<i>H. pylori</i>.....	10
I.2.5. Inhibiteurs de l'uréase d'<i>H. pylori</i>.....	10
Matériels et méthodes	12
II.1. Matériels.....	13
II.1.1. Microordinateur	13
II.1.2. Les logiciels	13
II.1.3. Les bases de données	14
II.1.4. Les serveurs de Docking protéine -protéine.....	15
II.1.5. Les serveurs de l'analyse pharmacocinétique <i>in silico</i>.....	16
II.1.6. Matériel biologique.....	17
II.2. Méthode.....	19
II.2.1. Préparation des protéines	19
II.2.2. Préparation des ligands pour l'amarrage	19
II.2.3. Docking moléculaire.....	20
II.2.3.1. Docking moléculaire protéine-ligand.....	20
II.2.3.2. Docking protéine-protéine	20
II.2.4. Paramètres ADMET	21
Résultats et discussion.....	23
III .1. Docking moléculaire protéine-ligand	24
III.1.1. Docking moléculaire de BTK-ligands	24

III.1.1.1. Analyse des sites de liaison des ligands	24
III.2. Docking protéine-protéine de BTK	32
III.3. Docking moléculaire d'uréase de <i>H. Pylori</i>-ligands	34
III.3.1. Analyse des sites de liaison des ligands	34
III.4. Analyses ADMET	40
III.5. La règle de Lipinski (règle des 5)	42
Conclusion et Perspectives	43
Références Bibliographiques	45
Annexes	56

Introduction

Le cancer est une maladie complexe caractérisée par une prolifération incontrôlée de cellules transformées (Brown *et al.*, 2023). À l'échelle mondiale, le cancer demeure l'une des principales causes de morbidité et de mortalité. Cette situation représente un problème majeur de ce siècle pour la santé publique, en raison des implications sociales et économiques engendrées (Jokhadze *et al.*, 2024). Parmi les différentes formes de tumeur, la leucémie lymphoïde chronique (LLC) et le cancer gastrique posent des défis importants en oncologie. Des approches innovantes telles que l'inhibition des enzymes Bruton Tyrosine Kinase (BTK) pour le traitement de la LLC (Woyach *et al.*, 2024) et le ciblage de l'uréase de *Helicobacter pylori* dans le traitement du cancer gastrique (Lee *et al.*, 2008) offrent des perspectives prometteuses pour la gestion de ces affections.

En effet, des traitements visant ces enzymes sont proposés pour lutter contre ces tumeurs, cependant leurs effets secondaires restent problématiques. D'ailleurs, c'est la raison pour laquelle, des recherches sont actuellement focalisées sur la découverte de nouveaux principes actifs contre ces deux formes de cancers et tant d'autres. Les plantes médicinales qui représentent un réservoir vaste de métabolites font l'objet de ces travaux pour découvrir de nouveaux principes. Le nombre des métabolites secondaires des plantes est très élevé et avec l'application des méthodes de traitement *in silico*, il est aujourd'hui possible de faire un criblage virtuel dans l'espoir de sélectionner certains principes actifs efficaces.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés sur dix-neuf molécules de la classe des triterpènes naturellement présentes dans des plantes médicinales pour prédire *in silico* leur effet inhibiteur sur l'enzyme kinase BTK et l'uréase *H. Pylori*.

Pour ce faire, nous avons appliqué l'amarrage moléculaire entre ligands et enzyme à l'aide des logiciels Auto Dock Vina et Discovery studio afin d'évaluer leur potentiel de liaison et prédire un effet inhibiteur sur ces enzymes. En outre, un amarrage protéine-protéine dans le cas de l'enzyme BTK a été exécuté dans le but de savoir si nos ligands empêchent la dimérisation de BTK à l'aide de GRAMM Docking et de PDB-sum. En fin, une étude ADMET a été menée sur les propriétés physico chimiques et pharmacocinétiques de ces triterpènes.

La présentation de ce travail est divisée en quatre parties : la première partie est consacrée à la synthèse bibliographique. La deuxième partie détaille le matériel et les méthodes utilisés dans cette étude *in silico*, et comprend une description détaillée des différentes méthodologies utilisées. La troisième partie comprend la présentation de tous les résultats et des discussions dérivées. Enfin, nous terminons par une conclusion détaillée et des perspectives.

Synthèse
bibliographique

I.1. Bruton tyrosine kinase

I.1.1. Généralité

La Bruton Tyrosine Kinase (BTK) (EC 2.7.10.2) est une enzyme protéolytique qui est codée par le gène BTK. Toutes les cellules hématopoïétiques expriment BTK, mais on la trouve principalement dans les lymphocytes B, où elle joue un rôle important dans la maturation, la différenciation et la survie, ainsi que dans la signalisation cellulaire (Liu *et al.*, 2021 ; Ringheim *et al.*, 2021). La production en quantité plus élevées que la normale de BTK provoque un développement de plusieurs types de cancers, notamment les lymphomes, les leucémies lymphoïdes chroniques (Basile *et al.*, 2019), en favorisant la survie et la prolifération des cellules cancéreuses. Les voies de signalisation liées à la croissance et à la survie des cellules cancéreuses impliquant l'enzyme BTK est considérée comme une cible thérapeutique importante et la recherche des inhibiteurs particuliers de BTK a montré des résultats intéressants tel que l'ibrutinib ; connu être doué par des effets anti tumoraux dans différents modèles expérimentaux de cancer (Watterson *et al.*, 2019).

I.1.2. La structure primaire

Elle est composée de 659 acides aminés et organisée en cinq domaines fonctionnels (Figure.01) qui sont cités ci-dessous de l'extrémité N-terminale vers l'extrémité C-terminale.

-Domaine Régulateur : composé d'un domaine d'homologie pleckstrine (PH) situé sur l'extrémité N-terminale et un domaine d'homologie Tec (TH) riche en proline ces deux domaines jouent un rôle essentiel dans la régulation de l'activité enzymatique de BTK et dans le ciblage de la protéine sur la membrane cellulaire (Watterson *et al.*, 2019).

-Domaine SH3 (Src Homology 3) : impliqué dans les interactions protéine-protéine et la régulation de l'activité enzymatique (Li *et al.*, 1995).

- Domaine SH2 (Src Homology 2) : impliqué dans la reconnaissance et la liaison de résidus tyrosine phosphorylés spécifiques dans les protéines cibles (Buti *et al.*, 2023).

-Domaine kinase : son activation est due à la phosphorylation de certains résidus de tyrosine, notamment le tyrosine-551 et une fois activée, BTK peut à son tour s'autophosphoryler sur le résidu de tyrosine-223 dans son domaine SH3 (Figure.01) et assure ainsi la phosphorylation des substrats spécifiques de la protéine (Hata *et al.*, 1998).

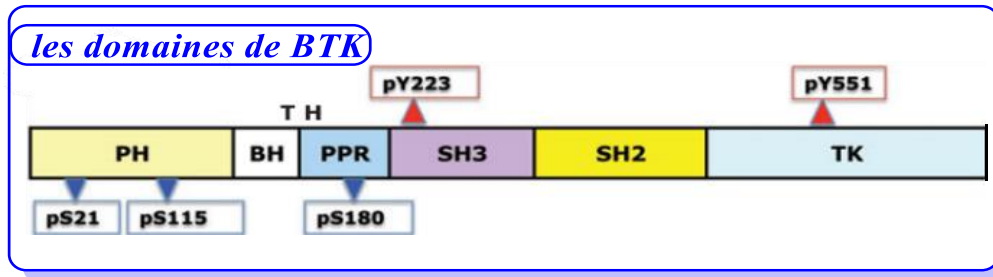


Figure 01: Schéma représentatif des domaines de BTK (Mohamed *et al.*, 2009).

I.1.3. L'activation de BTK

sans stimulation des récepteurs BCR, BTK se trouve à l'état inactif sous deux formes ou conformations structurales distinctes ; une conçue par l'interaction stable entre les domaines SH2/SH3 (L390) et N-lobe kinase (W421 et Y461) (Figure.02.a) formant ainsi une conformation complètement inactive et l'autre conformation est obtenue par l'interaction de domaine PH/TH (Y134) avec N-lobe kinase (W421 et Y461) (Figure.02.b) qui donne une conformation inactive mais capable de se transloquer vers la membrane en se liant, grâce à PH/TH, avec Phosphatidylinositol (3,4,5)-triphosphate (PIP₃) (Mohamed *et al.*, 2009) formé suite à l'activation de PI3-Kinase après la formation de complexe BCR-antigène. Une fois recrutée, les monomères de BTK se dimérisent et adoptent une conformation sous l'effet de forces de répulsion de la membrane qui fait rapprocher les domaines kinases (Figure.02.c). A ce stade ; ces derniers, subissent une Trans-autophosphorylation sur les résidus tyrosine 551 suivie par une autophosphorylation (Figure.02.d) sur les résidus tyrosine 223 appartenant au domaine SH3 (Lin *et al.*, 2009; Lin *et al.*, 2024).

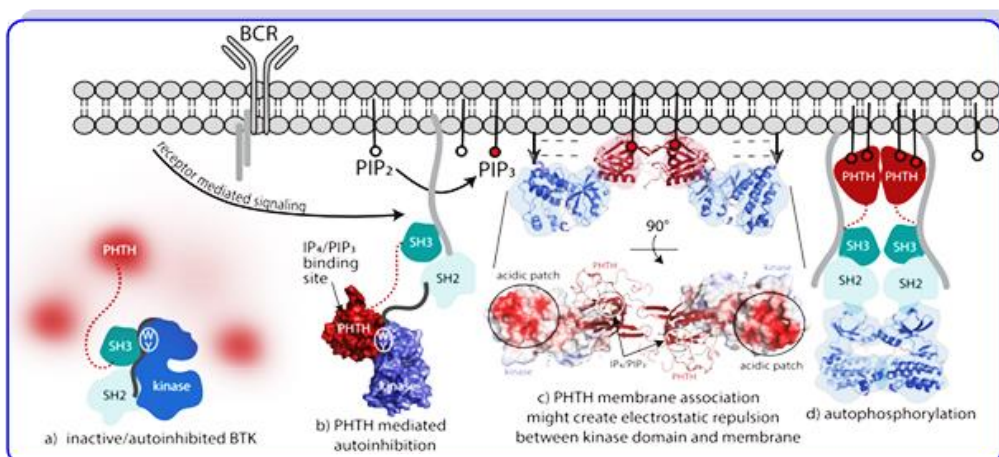


Figure 02: Modèle d'activation de la BTK (Lin *et al.*, 2024).

I.1.4. Cascade de signalisation associée

La BTK active favorise la phosphorylation de la phospholipase C γ 2, qui à son tour hydrolyse le phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PIP₂) en deux seconds messagers : l'inositol 1,4,5-trisphosphate (IP₃) et le diacylglycérol (DAG) (Rezaei *et al.*, 2022). IP₃ active les canaux calciques, permettant au facteur nucléaire des cellules T activées (NFAT) de pénétrer dans le noyau, et DAG active la protéine kinase C β (PKC β), qui stimule le facteur nucléaire NF- κ B. NFAT et NF- κ B sont importants pour la survie, la prolifération, la production de chimiokines et de cytokines des cellules B (García-Merino, 2021).

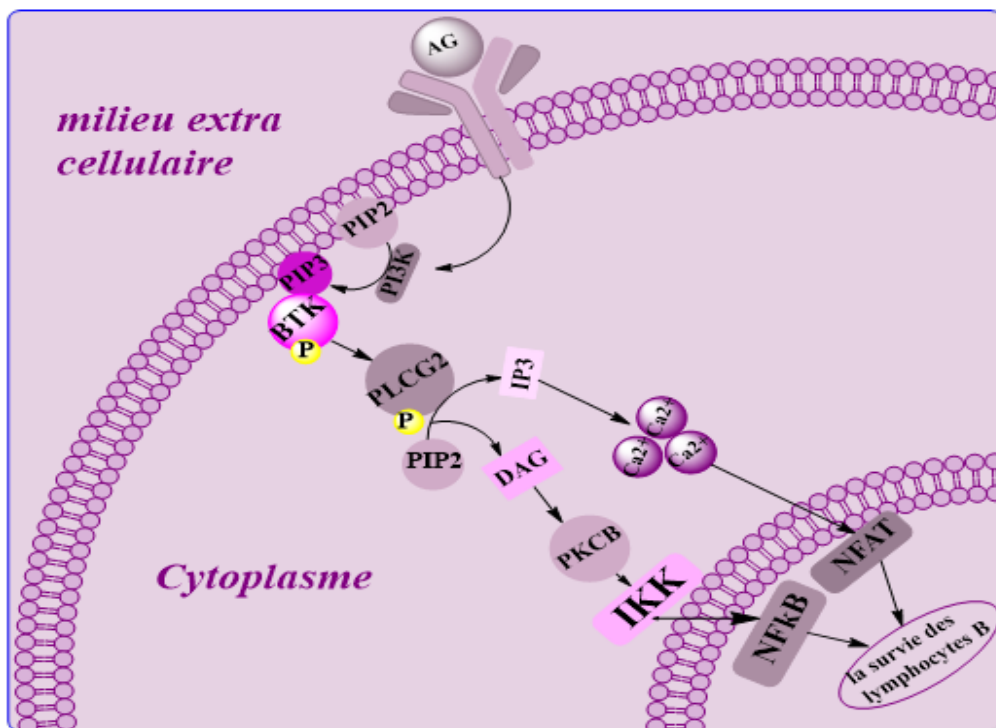


Figure 03: Schémas représente le mécanisme d'action de BTK selon (Mohamed *et al.*, 2009).

I.1.5. Cancer associé à la BTK

Une activation anormale de la BTK joue un rôle majeur dans le développement de différents cancers notamment la Leucémie Lymphoïde Chronique (LLC) qui est un cancer du sang caractérisé par une prolifération anormale de lymphocytes B matures. Dans la LLC, des anomalies génétiques seraient à l'origine d'un fonctionnement anormale de la voie de signalisation de la BTK, favorisant la survie et la prolifération des cellules leucémiques (Basile *et al.*, 2019).

I.1.6. Les différents types d'inhibiteurs de la BTK

Les inhibiteurs de type 1 :

Il y a divers inhibiteurs de BTK tels que : Ibrutinib, Zanubrutinib et Acalabrutinib, qui sont des médicaments employés pour traiter les cancers et les maladies auto-immunes liés à la BTK. Ces inhibiteurs de type 1 agissent par liaison covalente entre le fragment accepteur Michael à la cystéine 481 (C481) située près de la poche de liaison ATP dans le site actif de BTK. Comme indiqué sur la (figure.04) (Voice *et al.*, 2021). Cela entraîne une inhibition permanente de l'activité de cette enzyme provoquant ainsi l'apoptose et retardent la progression des maladies qui en sont liées (Burger *et al.*, 2015; Joseph *et al.*, 2020).

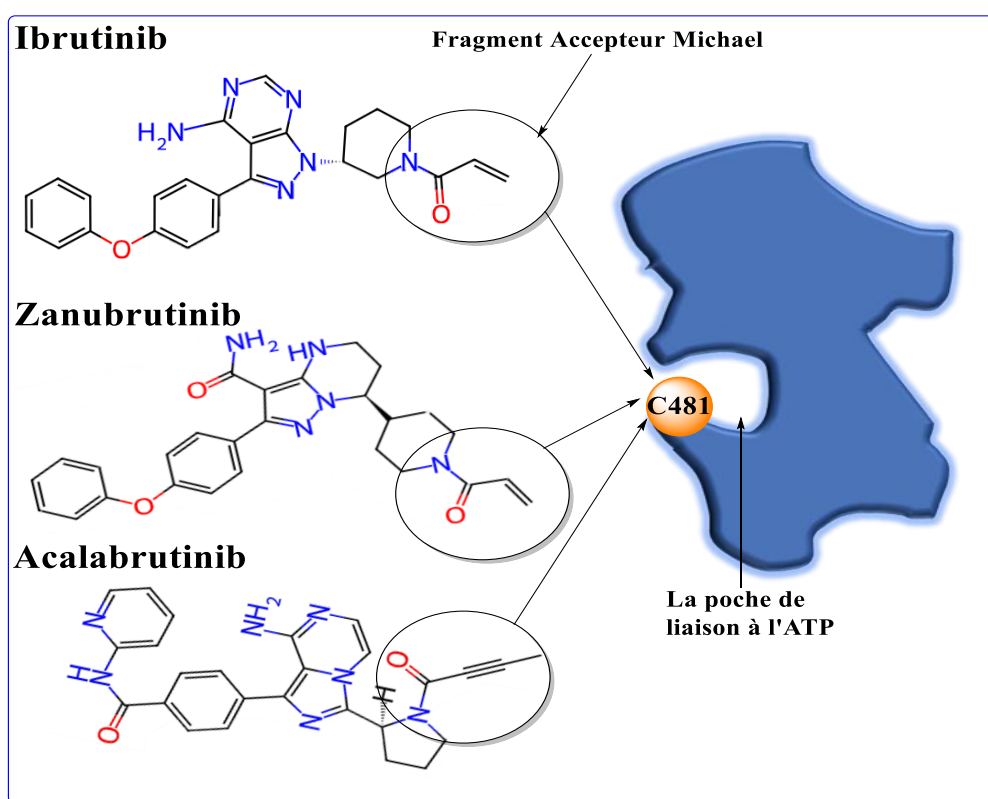


Figure 04: Exemples des inhibiteurs de type 1 et leur mécanisme de fixation sur la BTK

Les inhibiteurs de type 2 :

Ce sont des inhibiteurs qui se lient d'une façon non covalente ou réversible grâce à des liaisons hydrogènes avec des acides aminés clés proche de site actif de l'enzyme BTK (Lewis & Cheah, 2021). La caractéristique importante de ces molécules est leur haute sélectivité. Des études précliniques ont montré l'efficacité de ces inhibiteurs contre le type sauvage BTK et mutant C481 (Hou *et al.*, 2021). A titre d'exemple, Fénébrutinib agit en formant des liaisons hydrogène avec K430, M477 et D539 au lieu de liaisons covalentes avec le résidu C481 et est donc utile chez les individus porteurs d'une mutation C481 (Lewis & Cheah, 2021).

I.2. Uréase d'*Helicobacter pylori*

I.2.1. Généralité

Helicobacter pylori (*H. pylori*) est une bactérie Gram négatif en forme de spirale qui colonise la muqueuse de l'estomac humain (Gupta & Bajaj, 2017). Cette bactérie est capable de survivre dans l'environnement acide de l'estomac grâce à la production d'une grande quantité d'une enzyme appelée uréase (Mégraud, 2008). Cette enzyme (EC3.5.1.5) (Li *et al.*, 2020) est une hydrolase sécrétée par cette bactérie, qui essentiellement catalyse la dégradation de l'urée pour donner l'ammoniac et bicarbonate. Dans l'estomac, l'ammoniac neutralise l'acide gastrique environnant, ce qui crée un environnement moins acide favorisant la survie de la bactérie en produisant une grande quantité de cette enzyme (Mégraud, 2008). La bactérie *H. pylori*, grâce à cette enzyme, s'adapte au milieu gastrique et provoque des affections gastro-intestinales telles que la gastrite, les ulcères gastriques, voire le cancer gastrique. L'inhibition de l'uréase de *H. pylori* peut perturber la capacité de la bactérie à neutraliser l'acide gastrique, ce qui peut éventuellement contribuer à la régulation ou à l'élimination de l'infection causée par cette bactérie (Golbabaei *et al.*, 2013).

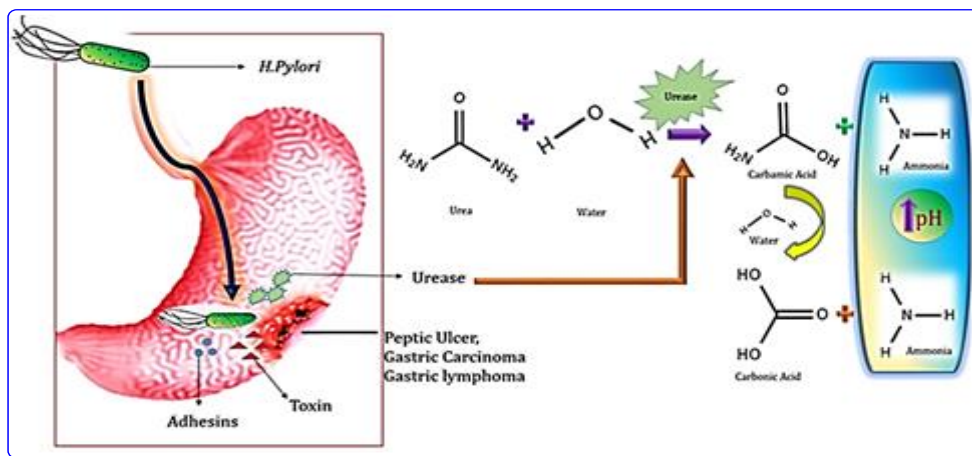


Figure 05: Uréase d' *H. Pylori* ; mode réactionnel et problèmes causés (Keya, 2018).

I.2.1.1. Structure

L'uréase d'*H. pylori* est un assemblage sphérique de 1,1 MDa de 12 unités catalytiques (Figure.6.a) , chacune est composée d'un monomère avec deux sous-unités (figure.6.b) (Ha *et al.*, 2001).

La sous-unité a (chaîne : A) : la chaîne A s'agit d'une subdivision qui renferme 238 acides aminés (figure.6. b)

La sous-unité b (chaîne : B) : la chaîne B est composée de 569 acides aminés (figure.6.b) (Golbabaei *et al.*, 2013).

Cet assemblage supramoléculaire joue un rôle essentiel dans l'activité de l'enzyme, qui reste inchangée jusqu'à pH 3

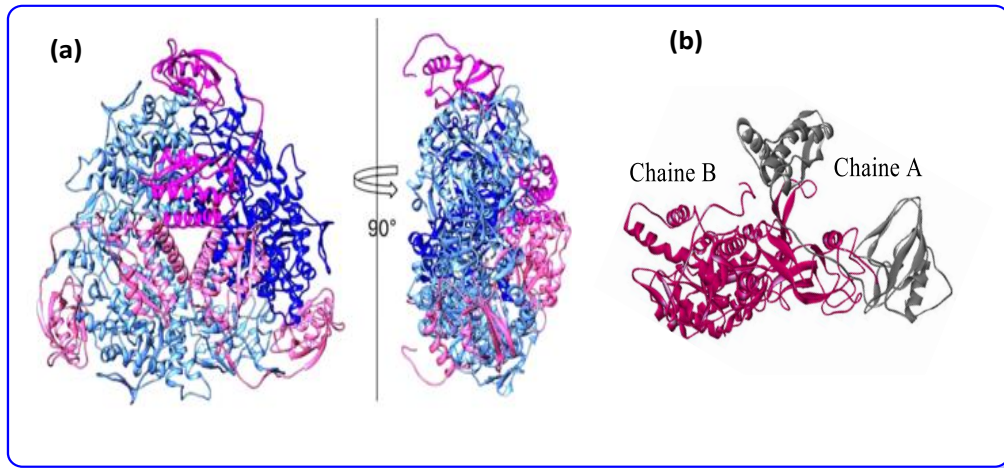


Figure 06 :La structure d'Uréase *H. pylori*(Cunha *et al.*, 2021).

I.2.2. La localisation et distribution d'uréase

À la différence d'autres bactéries qui possèdent une uréase cytoplasmique, celle de *H. pylori* se trouve dans le cytoplasme, le périplasme et à la surface de la bactérie. Grâce à cette localisation non spécifique, l'uréase favorise fortement la colonisation bactérienne de la muqueuse gastrique (Backert, 2023).

I.2.3. Le mode d'action

Le mode d'action de l'uréase se déroule en deux grandes étapes :

La dégradation de l'urée : la dégradation de l'urée, un composé de l'estomac, en ammoniac et en dioxyde de carbone est catalysé par l'uréase. La réaction chimique (Figure 07) se produit : Urée → Ammoniac + Carbone dioxyde (Rehman *et al.*, 2019).

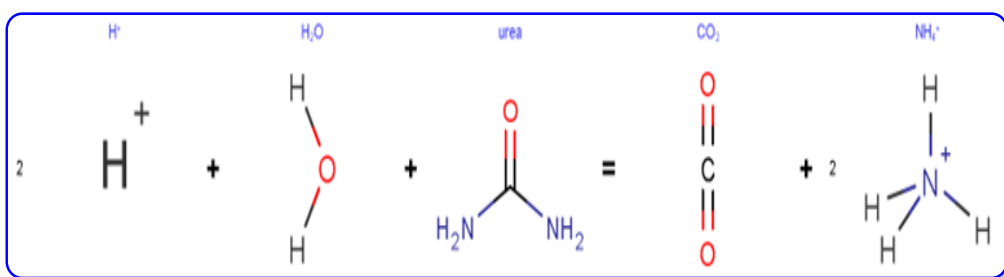


Figure 07: Le mode catalytique d'uréase *H. Pylori* (<http://www.uniprot.org/>).

Neutralisation de milieu acide : l'ammoniac, résultant de la dégradation de l'urée, réagit avec l'acide chlorhydrique (HCL) de l'estomac pour donner des ions ammonium (NH₄⁺) qui à son tour augmente le pH. Cette réaction permet ainsi de neutraliser l'acidité de l'estomac ce qui permet à *H. pylori* de survivre et de coloniser la muqueuse gastrique (Varon & Mégraud, 2013; Quy *et al.*, 2022).

I.2.4. Les types de cancer lié à l'uréase d'*H. pylori*

La bactérie *H. pylori* est associée à plusieurs affections telles que la gastrite et les ulcères gastriques, qui peuvent être des prédictors de cancer gastrique. Ainsi l'infection par *H. pylori* peut entraîner des complications graves, y compris des affections tumorales, notamment le cancer de l'estomac, aussi connu sous le nom de cancer gastrique, qui constitue la seconde cause de mortalité par cancer dans le monde (Van Leeuwen *et al.*, 2017).

L'infection par *H. pylori* est liée au cancer gastrique, avec deux types principaux :

Les adénocarcinomes intestinaux : qui résultent d'une inflammation chronique du mucus gastrique due à une infection de longue durée (Varon & Mégraud, 2013).

Les adénocarcinomes diffus : qui sont moins fréquents mais peuvent également être liés à une infection de longue durée (Varon & Mégraud, 2013).

I.2.5. Inhibiteurs de l'uréase d'*H. pylori*

L'activité inhibitrice sur l'uréase d' *H. pylori* a été démontré par certains composés naturels présents dans les plantes, tels que les polyphénols, les flavonoïdes les terpènes, les alcaloïdes ou les composés soufrés (Quy *et al.*, 2022) et des composés synthétique tel que l'acide acétohydroxamique (AHA) (Zhou *et al.*, 2017). Ces inhibiteurs exercent leur effet via distincts modes d'inhibition, cités ci-dessous :

- **Le mode compétitif** : avec ce mode, l'inhibiteur se fixe au site actif de l'uréase et rivalise avec le substrat naturel (l'urée), empêchant ainsi l'accès de l'urée à son site de liaison au niveau de l'enzyme (Amtul *et al.*, 2004).

- **Le mode non compétitif** : contrairement aux inhibiteurs compétitifs, les inhibiteurs non compétitifs se fixent sur un site différent du site actif de l'enzyme. La structure de l'enzyme est altérée et sa capacité à catalyser la décomposition de l'urée est inhibée (Mohammed *et al.*, 2022).

- **Le mode mixte** : l'inhibition mixte est assurées par des molécules qui ont la capacité de se fixer à la fois sur le site actif et sur d'autres sites de l'enzyme, ce qui entraîne une modulation complexe de l'activité de l'uréase (Quy *et al.*, 2022).

Matériels et méthodes

II.1. Matériels

II.1.1. Microordinateur

Dans notre étude, nous avons utilisé un micro-ordinateur de marque HP sous le système d'exploitation Windows 10 ; processeur : Intel(R) Celeron (R) N4020 CPU sur lequel sont installés les programmes suivants : Discovery Studio 2021 Cléon, Auto Dock Tools, Auto Dock Vina et Chemdraw 3DViewer Professional v16.0.

II.1.2. Les logiciels

Dans cette étude, nous avons utilisé les logiciels suivants :

AutoDockTools-1.5.6. (ADT)

ADT est une interface graphique utilisée pour préparer, lancer et analyser les Docking générés par Auto Dock vina. Cette interface dispose de plusieurs fonctionnalités telles que les charges atomiques, l'ajout d'hydrogènes, la préparation du ligand et de la cible dans un format pratique PDBQT compatible avec auto Dock vina (El-Hachem *et al.*, 2017).

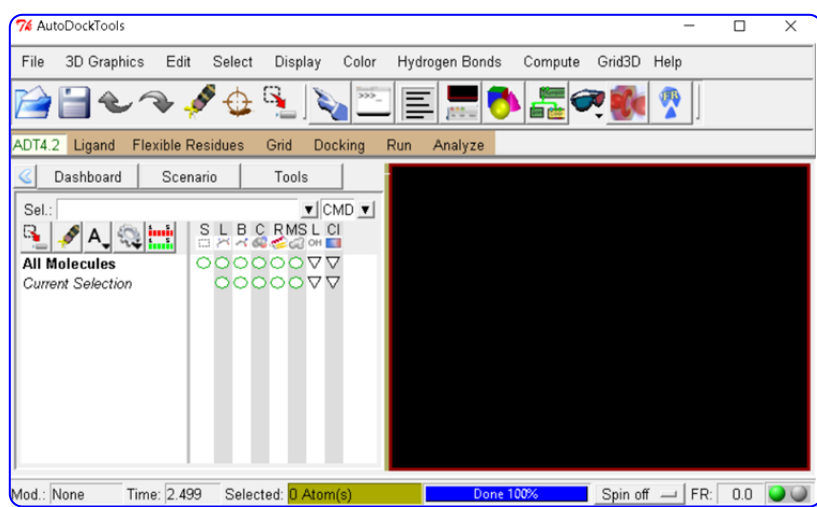


Figure 08: Photo de la fenêtre d'accueil de l'interface d'ADT (version 1.5.6)

Auto Dock Vina (ADV).

Auto Dock Vina est le logiciel d'amarrage moléculaire qui prédit les interactions entre petites molécules et macromolécules, en utilisant des algorithmes d'optimisation avancés pour améliorer le processus d'amarrage (Seeliger & De Groot, 2010).

Chemdraw

Il s'agit d'un logiciel largement reconnu et utilisé pour la création et l'édition de structures chimiques. Il offre une interface conviviale et une gamme complète d'outils de dessin

et d'édition. Il facilite la création de structures 2D de composés chimiques, avec en plus des options de personnalisation permettant d'attribuer des couleurs à des éléments spécifiques tels que l'oxygène et l'azote. En outre, Chemdraw offre des options pratiques pour exporter et sauvegarder les dessins dans une variété de formats couramment utilisés, y compris PNG, MDL et SVG (Gupta., 2023).

Discovery Studio 2021 Client (DVS)

Discovery Studio est une suite logicielle complète pour la modélisation et la simulation moléculaires. Il est largement utilisé dans le domaine de la conception de médicaments *in silico*, permettant aux chercheurs de visualiser et d'analyser leurs structures et leurs interactions sur leur sites de liaisons, ce qui en fait un outil puissant pour accélérer le processus de découverte de médicaments (Rao *et al.*, 2023).

II.1.3. Les bases de données

Durant cette étude, nous avons consulté deux bases de données :

Protéine Data Bank (pdb)

Cette base est consultable sur le lien suivant : <https://www.rcsb.org>. Elle est la principale source de données en biologie structurale, qui offre notamment la possibilité d'accéder à des structures tridimensionnelles de protéines téléchargeable sous différents formats tel que le format PDB qu'on a exploité dans cette présente étude (Burley *et al.*, 2019). Jusqu'à nos jours, PDB comporte plus de 220000 structures qui ont été déterminées expérimentalement.



Figure 09: Interface de la page d'accueil de RCSB PDB

Pubchem

C'est une banque très riche en petites molécules, elle offre l'accès à plusieurs millions de compositions identifiées jusqu'à présent et donne des informations essentielles sur ces produits, telles que leurs caractéristiques structurales et biologiques (Kim *et al.*, 2016). Cette chimiothèque est consultée gratuitement via le lien web suivant : <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>

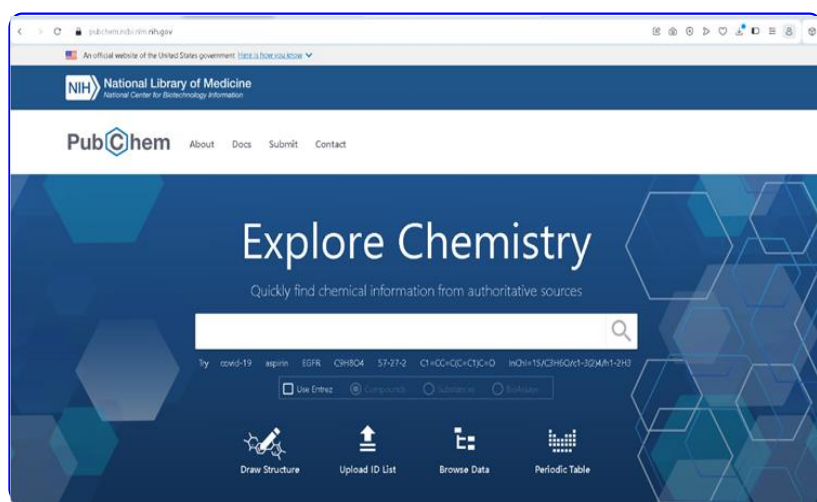


Figure 10: Interface de la page d'accueil de Pubchem

II.1.4. Les serveurs de Docking protéine -protéine

GRAMM Docking : <https://gramm.compbio.ku.edu/> (Global RAnge Molecular Matching) est un programme d'amarrage de protéine-protéine, qui ne nécessite que les coordonnées atomiques (PDB) de deux macromolécules pour prédire une structure complexe de dimérisation des protéines. Il effectue une recherche exhaustive en 6 conformations possibles en utilisant des translations et des rotations, et peut être utilisé pour des molécules à haute résolution et faible résolution (Tovchigrechko & Vakser, 2006).

PDBsum : (<http://www.ebi.ac.uk/pdbsum>) Parmi les caractéristiques les plus récentes, de ce serveur, on peut citer l'identification des séquences de protéines humaines avec leurs variantes naturelles d'acides aminés, les graphiques dynamiques qui illustrent les relations entre les configurations de domaines protéiques apparentés, les évaluations des groupes de liaisons de ligands à travers différentes déterminations expérimentales de la même protéine, les évaluations des tunnels dans les protéines, ainsi que les nouvelles possibilités de recherche (Laskowski, 2022). Dans notre étude, on a exploité ce serveur pour analyser les résultats de docking protéine-protéine qu'on a obtenus suite à l'exécution de serveur GRAMM Docking.

II.1.5. Les serveurs de l'analyse pharmacocinétique *in silico*

Les serveurs cités ci-dessous sont exploités pour nous renseigner sur l'absorption, la distribution le métabolisme, l'élimination et la toxicité des ligands. La possible nature médicamenteuse des ligands est vérifiée aussi suivant la règle de Lipinski (Jose *et al.*, 2022).

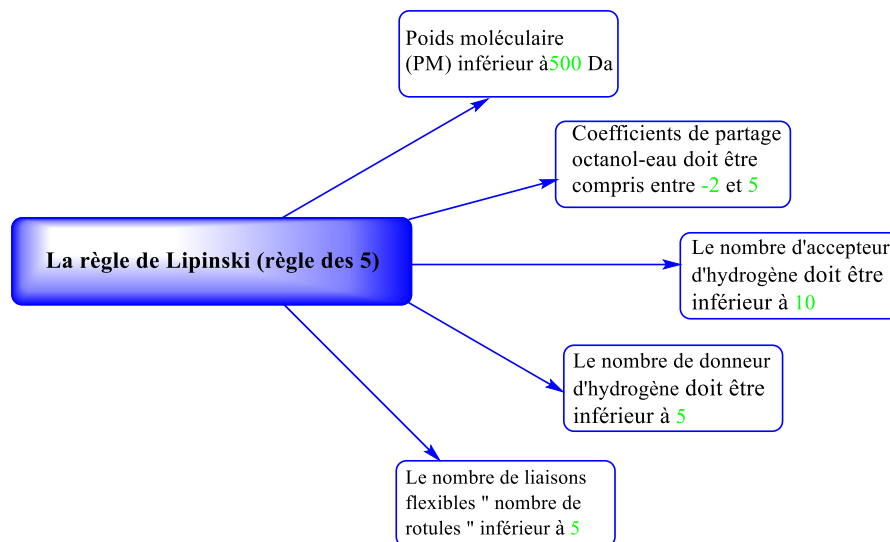


Figure 11: Schémas représentatifs des propriétés physico-chimiques de la règle de Lipinski (Mokrani *et al.*, 2012).

SwissADME : <http://www.swissadme.ch>

SwissADME est un outil web gratuit utilisé pour prédire les descripteurs physicochimiques, les paramètres ADME, les propriétés pharmacocinétiques, la similarité et la compatibilité des médicaments avec les petites molécules (Daina *et al.*, 2017).

ADMET lab. 0.2: <https://admet.scbdd.com>

C'est un site Web gratuit très répandu pour anticiper les effets pharmacologiques et toxicologiques des substances chimiques (Xiong *et al.*, 2021).

II.1.6. Matériel biologique

Les protéines

Les enzymes cibles auxquelles nous nous sommes intéressés sont : BTK et Uréase d'*H. Pylori*. Nous avons obtenu la structure cristalline de la BTK humain (2.7.10.2) de code pdb (6o8i) et de l'uréase de *H. Pylori* (3.5.1.5) de code pdb (1e9y) à partir de la base de données des protéines RCSB (<https://www.rcsb.org>). Dans le tableau suivant les paramètres de la structure des protéines sont présentés.

Tableau 01: Les caractéristiques de 6o8i et de 1e9y

Propriétés	BTK	L'uréase de <i>Helicobacter pylori</i>
PDB ID	6o8i	1e9y
Nombre des chaînes	A (1)	A (1), B (2)
Nombre des acides aminés	269	238 et 569
Poids théorique	31.8 KDa	88.53KDa
Résolution	1.42 Å	3.00 Å
Ligands	LTJ	HAE : (ACIDEACÉTOHYDROXAMIQUE)
Source biologique	Homo sapiens(humain)	<i>Helicobacter pylori</i>
Classification	Transférase/ inhibiteur	Hydrolase
Système d'expression	/	<i>Escherichia coli</i>
Site actif	Ala428, Thr474, Glu475, Tyr476 Met477, Ala478, Gly480, Cys481, Asn484, Val546, Leu547	His136, His138, Ala169, His221, His248, His274, Gly279, Asn362, Ala365

Les ligands

Les ligands que nous avons choisis dans cette étude appartiennent à la famille des triterpènes, qui se divise en dérivés suivants ; les dérivés d'acide ursolique, les dérivés d'acide oleanolique et les dérivés d'acide alphitolique. Leurs sources sont multiples et parmi elles, on peut citer, par exemple, les racines de *Pulsatilla koreana* (Li *et al.*, 2013) les feuilles et les fruits de *Crataegus azarolus L* (aubépine) (Abu-Gharbieh & Shehab, 2017) ; de plus, l'écorce de bouleau blanc (*Betula papyrifera*) (Gauthier, 2008). Les structures de ces ligands sont présentées dans la figure ci-dessous.

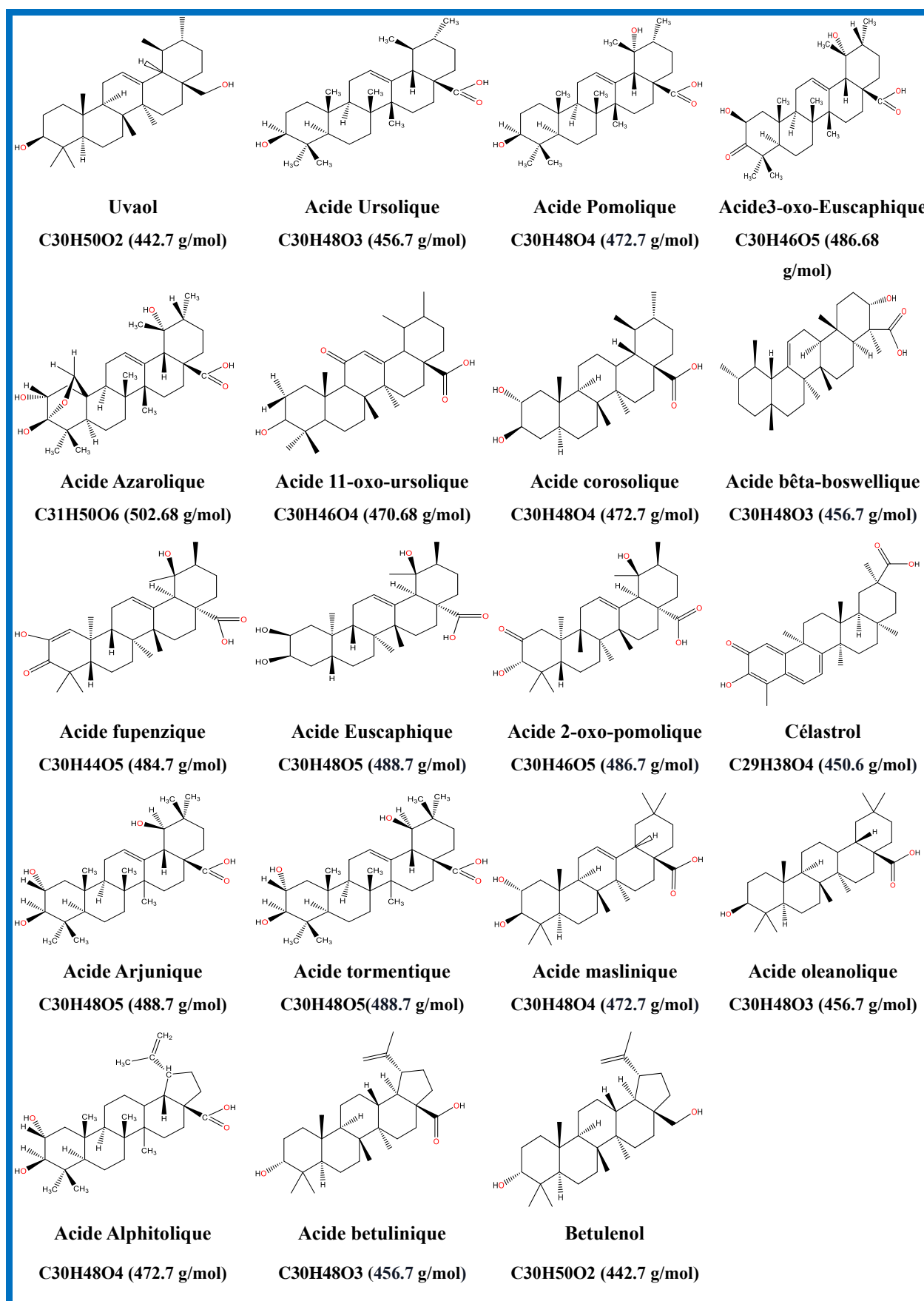


Figure 12: Les structures 2D des ligands étudiés

II.2. Méthode

II.2.1. Préparation des protéines

Après téléchargement de la structure des protéines en format (PDB), on a suivi les étapes suivantes pour leur préparation dans le but d'examiner leur relation avec les ligands.

- La première étape comprend l'élimination de toutes les molécules inutiles telles que les molécules d'eau, les hétéroatomes à l'aide de Discovery studio (Figure.13).

- La deuxième étape consiste à ajouter des hydrogènes polaires et des charges partielles avec l'ADT. Après ces modifications, les structures PDB sont ainsi sauvegardées en format PDBQT.

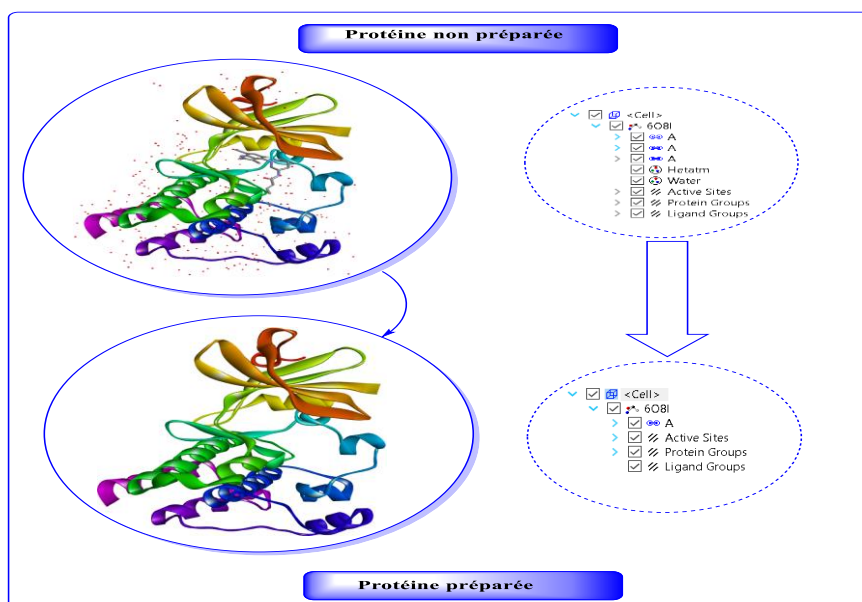


Figure 13: Schémas représentatif l'enzyme BTK avant et après la préparation

II.2.2. Préparation des ligands pour l'amarrage

Les structures chimiques des ligands étudiés (les triterpène), ont été téléchargées à partir de base de données PubChem sous forme de fichier SDF-3D, puis sauvegardés en format PDB à l'aide du logiciel Discovery Studio Visualiser. A la fin de la préparation nous avons enregistré les ligands sous le format PDBQT avec les outils auto Dock (ADT), qui correspond à la version d'exécution de l'amarrage moléculaire avec l'auto Dock Vina.

II.2.3. Docking moléculaire

Dans ce travail, nous avons utilisé la méthode de l'amarrage moléculaire protéine-ligand et l'amarrage moléculaire protéine-protéine dans le cas de l'enzyme BTK en particulier.

II.2.3.1. Docking moléculaire protéine-ligand

Après avoir défini la grille (Figure.14), l'amarrage moléculaire a été effectué par le programme ADV. Nous devons préciser que tous les paramètres sont utilisés par défaut, après sélectionne de toute la protéine BTK qui correspond aux coordonnées x, y et z suivantes ($x=42$ $y=64$, et $z=48$) et espacement (1 \AA), et pour l'Uréase de *H. Pylori* ($x=62$ $y=86$, et $z=64$) et espacement (1 \AA).

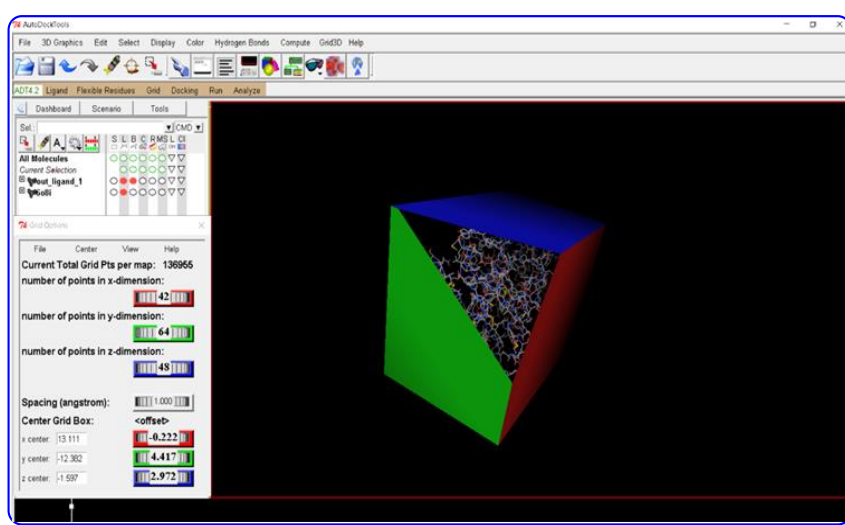


Figure 14: Boîte de grille d'amarrage aléatoire

II.2.3.2. Docking protéine-protéine

Pour effectuer ce Docking, on a introduit deux protéines BTK en format PDB sur le serveur GRAMM Docking. Dans notre cas, le résultat obtenu est reçu sous forme de 6 conformations possibles consultables sur Discovery Studio. La première conformation et la meilleure parmi les 6 proposées est analysée avec le serveur PDB sum afin de mettre en évidence les résidus impliqués dans l'interaction des deux monomères de BTK. Une interférence possible de nos ligands entre les deux monomères supposerait une déstabilisation de dimère et atténuation de l'activité des protéines BTK à l'intérieur des cellules.

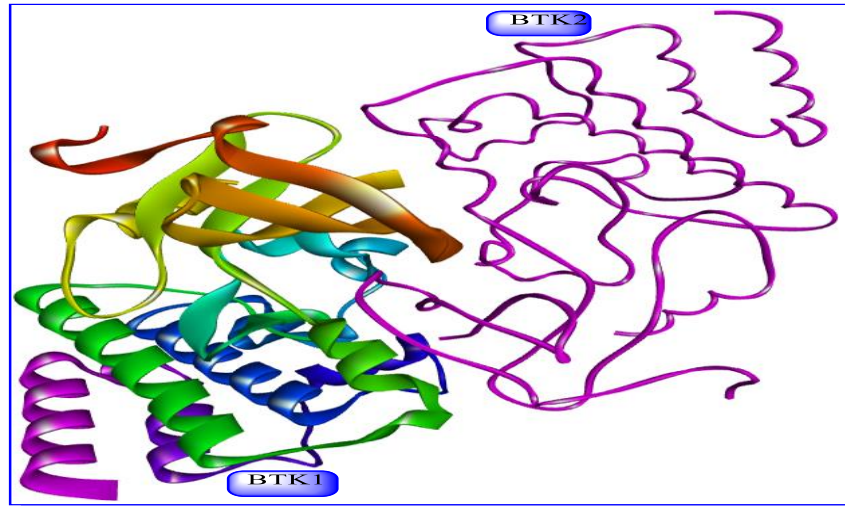


Figure 15: Schémas représentatif un Docking protéine -protéine de deux domaine kinase d'enzyme BTK

II.2.4. Paramètres ADMET

Absorption

-Absorption intestinale humaine HIA (%): $\geq 30\%$: HIA+ ; $< 30\%$: HIA- se référant par ADMET lab. 0.2.

-Perméabilité des cellules Caco-2 (cm/s): > -5.15 cm/s se référant par ADMET lab. 0.2.

-Substrat de la P-glycoprotéine: oui /non se référant par SwissADME.

Distribution :

-PPB (liaison aux protéines plasmatiques) : 90% se référant par ADMET lab. 0.2.

-BBB (barrière hémato-encéphalique) : oui /non se référant par SwissADME.

Métabolisme :

La biotransformation des ligands a été prédite par SwissADME sur les enzymes du cytochrome P450 (CYP3A4, CYP2D6, CYP2C9), produites pour la plupart dans le foie (Lagorce *et al.*, 2017).

Élimination :

L'élimination est examinée en prenant en compte les paramètres suivants :

-T 1/2 (demi-vie) : > 0.5 h selon le serveur ADMET lab. 0.2.

Toxicité

Un des principaux facteurs qui contribuent à l'échec du développement des médicaments est la toxicité, qui se réfère à la capacité d'un médicament à causer des dommages à un organisme, un tissu ou une cellule (Lagorce *et al.*, 2017). Dans cette étude, la toxicité des

ligands a été testée avec le serveur ADMET lab. 0.2 en prenant en considération les paramètres suivants

- HERG (bloqueurs hERG) :-/+
- H-HT (hépatotoxicité humaine) : :-/+
- AMES (Mutagénicité d'Ames) : - inactif /+
- Skin Sen (sensibilisation cutanée) :-/+

*Résultats et
discussion*

III .1. Docking moléculaire protéine-ligand

Dans cette partie, nous avons présenté les résultats de l'amarrage moléculaire (AM) obtenus sous forme de l'énergie de stabilité entre les triterpènes et leurs sites de fixation sur la protéine ; BTK et uréase d'*H. pylori*, grâce au logiciel ADV. En outre, les résultats sont visualisés en montrant la conformation des ligands dans leurs sites cibles grâce au logiciel DSV.

III.1.1. Docking moléculaire de BTK-ligands

III.1.1.1. Analyse des sites de liaison des ligands

Dans ce contexte, nous avons opté pour un Docking moléculaire protéine-ligand de type aléatoire pour découvrir les lieux d'attachement des triterpènes sur la protéine BTK. Les résultats montrent 2 sites potentiels de liaison de nos ligands sur la protéine comme il est indiqué sur la figure suivante :

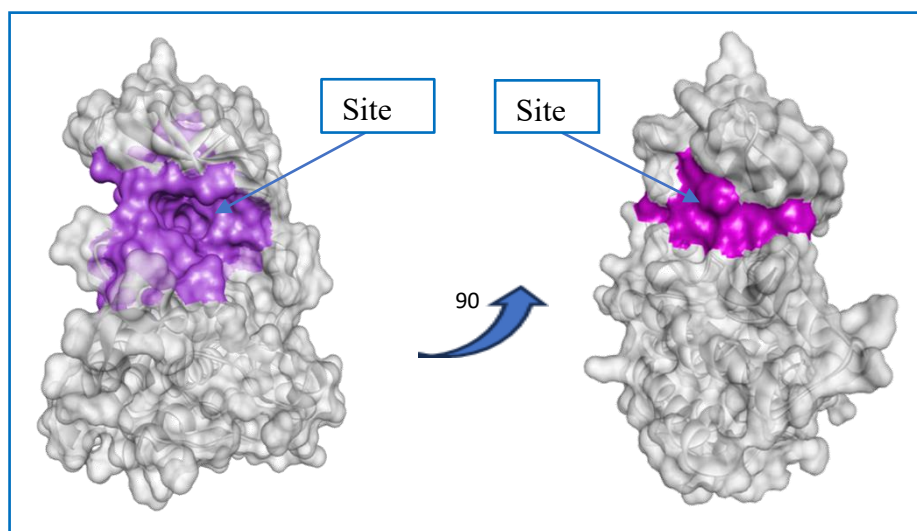


Figure 16: Les différents sites de fixation de ligand dans la protéine 6o8i

➤ Caractérisation du site 1

Après auscultation des deux sites, il s'est avéré que le site 1 correspondrait au site actif de BTK sur lequel se fixe le ligand standard LTJ. Les acides aminés clés de ce site sont : Ala428, Thr474, Glu475, Tyr476, **Met477**, Ala478, Gly480, **Cys481**, Asn484, Val546, Leu547. Les acides aminés Val546, Leu547 appartiennent à la boucle d'activation (**acides aminés : 542-554**) composée de **AH1 : 542-547** et **AH2 : 548-554**) en se référant à Cowan-Jacob *et al.* (2009). La **Met477**, par contre, appartient à la région **Hinge (acides aminés : 474-478)** définie par Kuglstatter *et al* (2011). En plus de ces régions, Kuglstatter *et al* (2011) ont défini d'autres éléments importants appartenant à ce site à savoir : **l'hélice C : 439-452** où le résidu Glu 445 détermine son état ouvert (hélice C in : Glu 445 liaison avec Lys 430) ou fermé (hélice C out) ;

la partie DFG : Asp 539, Phe 540 et Gly 541 qui peut se présenter en position active (DFG in) ou inactive (DFG out). Ce site est connu comme cible principale des inhibiteurs de type I et II. Les inhibiteurs de type I comme l'ibrutinib, Zanubrutinib et Acalabrutinib interagissent d'une façon irréversible avec la Cys481 grâce à l'interaction Michael (Voice *et al.*, 2021). Et les inhibiteurs de type II interagissent de façon réversible avec différents acides aminés de ce site tel que la Met477 dans le cas de Fénébrutinib (Lewis & Cheah, 2021).

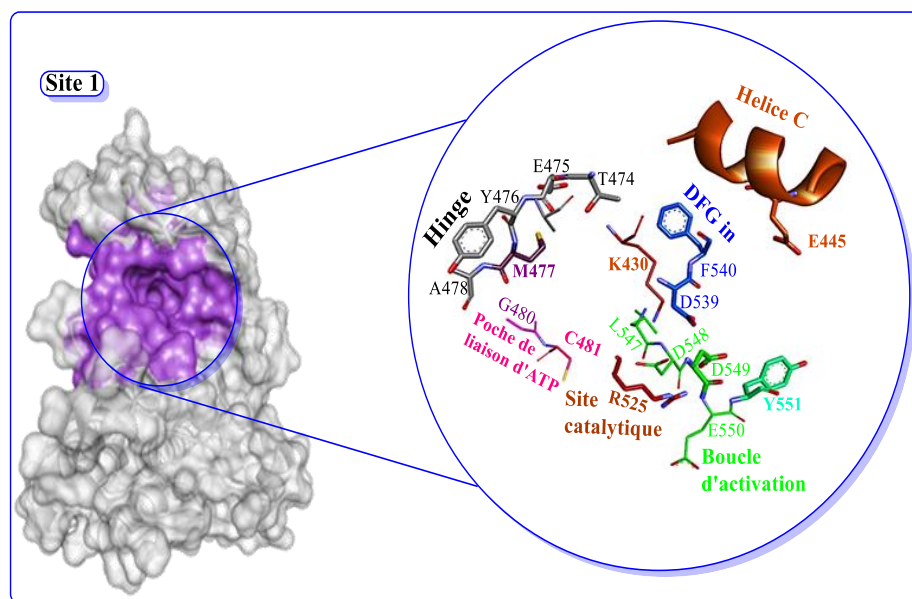


Figure 17: Schéma représentatif des acides aminés essentiels du site actif de BTK.

Sur l'ensemble de 19 triterpènes, on a trouvé 11 molécules, appartenant aux différentes familles de dérivés (voir tableau.02), qui se sont fixés préférentiellement sur le site 1. Tous ces ligands ont montré une bonne affinité avec le site 1. Quatre ligands à savoir ; l'acide betulinique, betulenol, l'acide oleanolique et l'acide pomolique, seraient stables dans ce site grâce à des interactions Vander Waals touchant les acides aminés appartenant essentiellement à la boucle d'activation (tableau. 02). Le reste des ligands, en revanche, sont marqués par un mode de liaison qui fait impliquer, en plus des interactions Vander Waals, des liaisons hydrogènes soit avec la boucle d'activation ou la région Hinge (tableau. 02). Parmi ces derniers, il y a quatre ligands qui ont montré les meilleures énergies de liaison (≤ -9 Kcal/mol) avec le site 1. En effet, ces molécules sont : l'acide boswellique (-9.3 Kcal/mol), l'acide corosolique (-9.5 Kcal/mol), l'acide maslinique (-9.5 Kcal/mol) et l'acide 11-oxo-ursolique (-9.5 Kcal/mol). Ces quatre derniers ligands ont des énergies de liaison très proches, voire similaires, au résultat du ligand de référence qui est de -9,3 kcal/mol. Leurs énergies de liaison peuvent donc être considérées comme bonnes par rapport à celle du ligand de référence.

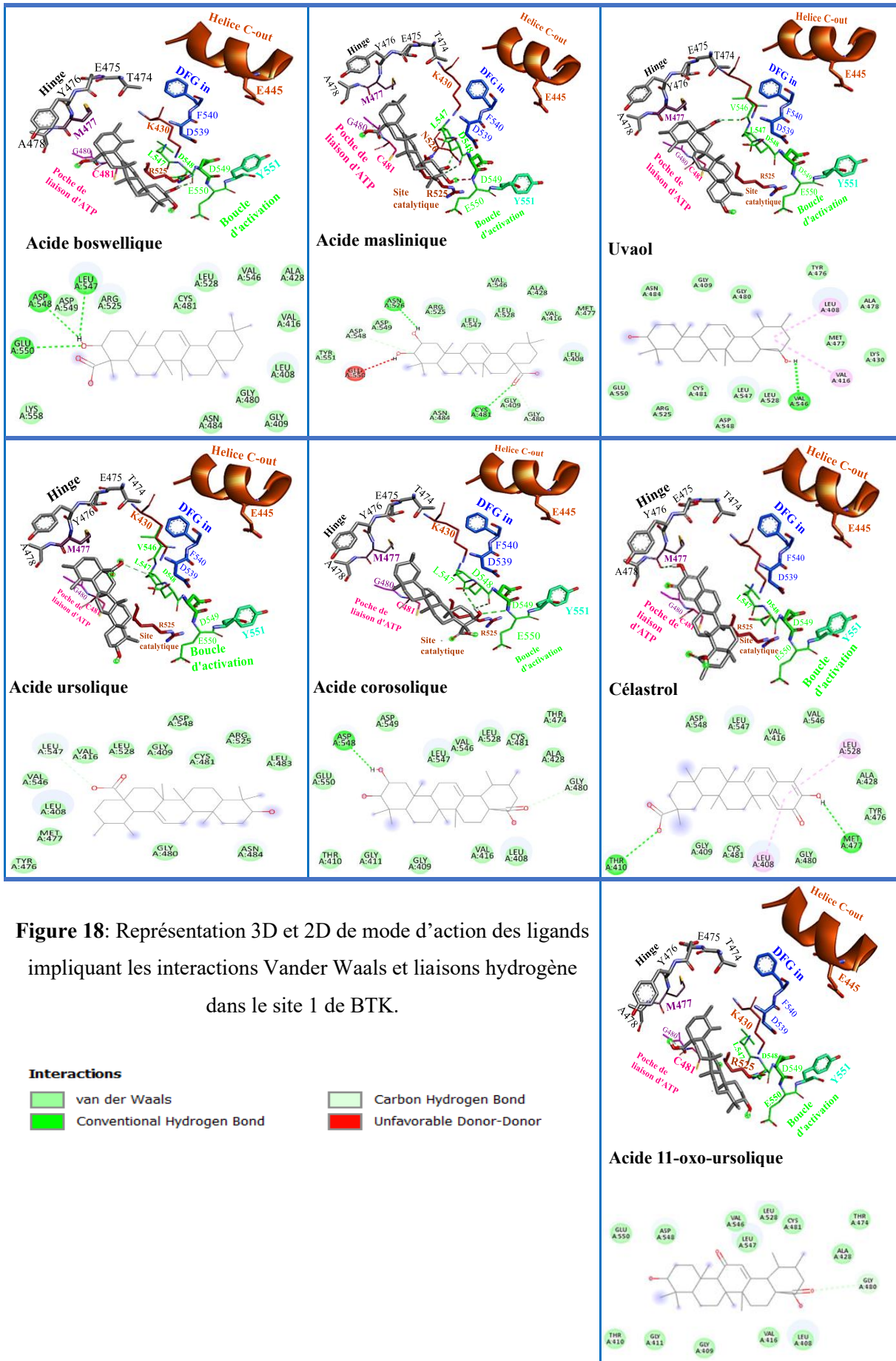
Tableau 02: Les résultats d'interactions des ligands avec le site 1 de BTK

Les ligands	L'Energie (Kcal/mol)	AA Impliqués	Type d'interaction	Distance (Å)
Fénébrutinib	-9,3	Met477 ^a , Asn484	L. hydrogène (C-H)	3.10, 3.50
		Leu547 ^b , Val 546 ^b	L. hydrogène (C-H)	3.37, 3.69
		Cys481 ^d	L. hydrogène	3.03
		Gly480 ^d	Vander Waals	
Acide boswellique	-9,3	Leu 547 ^b	L. hydrogène	2,84
		Asp 548 ^b	L. hydrogène	2,73
		Glu 550 ^b	L. hydrogène	3,10
		Arg525 ^c , Gly480 ^d , Cys481 ^d , Asn484, Asp549 ^b	Vander Waals	
Acide maslinique	-9,5	Gly 480 ^d	L. hydrogène (C-H)	3,16,
		Cys 481 ^d , Asp 548 ^b	L. hydrogène	3,10,3,80
		Glu 550 ^b	L. hydrogène	2,59
		Met477 ^a , Asn484, Arg525 ^c , Val546 ^b , Leu547 ^b , Asp549 ^b , tyr551 ^b ,	Vander Waals	
Uvaol	-8,1	Val 546 ^b	L. hydrogène	2,35
		Tyr 476 ^a , Met477 ^a , Ala 478 ^a , Gly480 ^d , Cys481 ^d , Asn484, Leu547 ^b , Glu 550 ^b .	Vander Waals	
Acide ursolique	-8,2	Leu 547 ^b	L'hydrogène (C-H)	3.44
		Tyr 476 ^a , Met 477 ^a , Gly 480 ^d , Asn 484, Cys 481 ^d , Val 546 ^b .	Vander Waals	
Acide corosolique	-9,5	Asp 548 ^b	L. hydrogène	3.19
		Gly 480 ^d	L. hydrogène (C-H)	2,03
		Ala 428, Thr474 ^a , Cys 481 ^d , Val546 ^b , Leu 547 ^b , Asp549 ^b , Glu550 ^b .	Vander Waals	
Acide betulinique	-7,2	Ala 428, Met 477 ^a , Gly 480 ^d , Cys 481 ^d , Asn 484, Val 546 ^b , Leu 547 ^b , Asp 548 ^b , Glu 550 ^b ,	Vander Waals	
Betulenol	-8,2	Ala 428, Met 477 ^a , Gly 480 ^d , Cys 481 ^d , 484, Val 546 ^b , Asp548 ^b ,	Asn Vander Waals	
Célastrol	-8,3	Met 477 ^a	L. hydrogène	2.96
		Ala 428, Tyr 476 ^a , Gly 480 ^d , Cys 481 ^d , Val 546 ^b , Leu 547 ^b , Asp 548 ^b ,	Vander Waals	
Acide pomolique	-7,9	Thr474, Met 477 ^a , Gly480 ^d , Cys481 ^d , Asn484, Val546 ^b , Leu547 ^b , Asp548 ^b ,	Vander Waals	
Acide oleanolique	-8,6	Ala 428, Tyr 476 ^a , Met 477 ^a , Gly 480 ^d , 481 ^d , Asn 484, Val 546 ^b , Leu 547 ^b , Asp 548 ^b , Glu 550 ^b ,	Cys Vander Waals	
Acide 11-oxo-ursolique	-9,5	Gly 480 ^d	L. hydrogène (C-H)	3.20
		Ala 428, Thr474 ^a , Cys 481 ^d , Val 546 ^b , 547 ^b , Asp 548 ^b , Glu 550 ^b ,	Leu Vander Waals	

^a : région Hinge ; ^b : boucle d'activation ; ^c : site catalytique ; ^d : poche d'ATP ;

➤ Relation structure activité : ligand-site1

Après analyse des différents modes de liaison (figure.18) de nos ligands avec le site 1 de BTK, il s'est avéré que ces derniers sont dépendants de la structure et certains groupements fonctionnelles des ligands. Les groupements hydroxyles des ligands sélectionnés sont impliqués en générale dans l'établissement des liaisons hydrogènes avec les résidus de la boucle d'activation (figure.18) ; exceptionnellement, pour de l'acide ursolique, c'est le groupement carboxyle qui est responsable de cette liaison. Par ailleurs, pour les ligands ; acide maslinique, acide corosolique et l'acide 11-oxo-ursolique leur fonction carboxyle est derrière les liaisons hydrogènes avec les résidus Gly 480 et Cys 481 de la poche d'ATP.



On peut également observer sur la figure 18 que l'acide boswellique, l'acide maslinique et l'acide ursolique ont la même orientation dans ce site. Par contre, l'acide corosolique et l'acide 11-oxo-ursolique sont orientés d'une autre manière (voir figure.18).

Le reste des ligands à savoir ; l'acide betulinique, le betulinol, l'acide pomolique, l'acide oleanolique ; sont stables dans le site 1 par des interactions Vander Waals, comme il est montré dans la figure ci-dessous. A noter aussi que leur orientation dans le site de liaison est similaire entre eux.

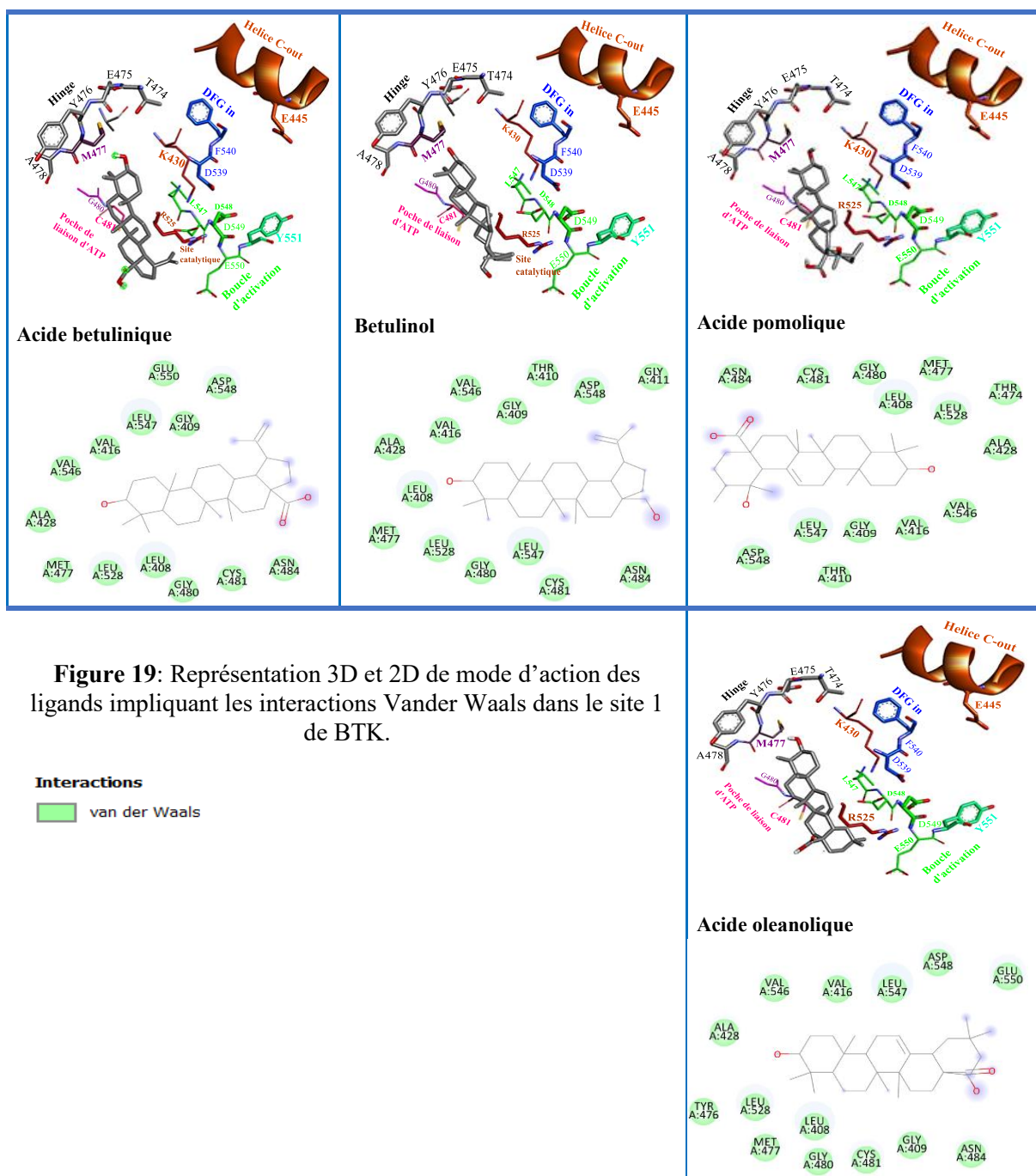


Figure 19: Représentation 3D et 2D de mode d'action des ligands impliquant les interactions Vander Waals dans le site 1 de BTK.

➤ Caractérisation du site 2

Le site 2 est également très important car il partage une zone commune avec le site actif, notamment la région **Hinge (acides aminés : 474-478)** et la partie **WEI** constituée des AA : Trp395, Glu396 et Ile397 (Figure.20) (Kuglstatter *et al.*, 2011; Marcotte *et al.*, 2010). le Trp 395 de WEI est cité comme élément contrôlant les modifications de conformation de BTK et l'interaction de cet acide aminé avec les inhibiteurs provoquerait l'inactivation de BTK en la stabilisant et la maintenant dans sa conformation inactive (Joseph *et al.*, 2020). Sur ce site, huit molécules seulement, y se sont fixées en montrant une affinité importante allant de -7.5 à -8.2 Kcal/mol. D'une façon intéressante, on a constaté que la majorité de ces molécules ont manifesté une interaction avec le résidu Trp 395 (Tableau. 03) connu comme élément clé de la partie **WEI**. L'acide 3oxo-euscafique a exprimé relativement la plus basse énergie de liaison (-8.2 Kcal/mol) dans le site 2.

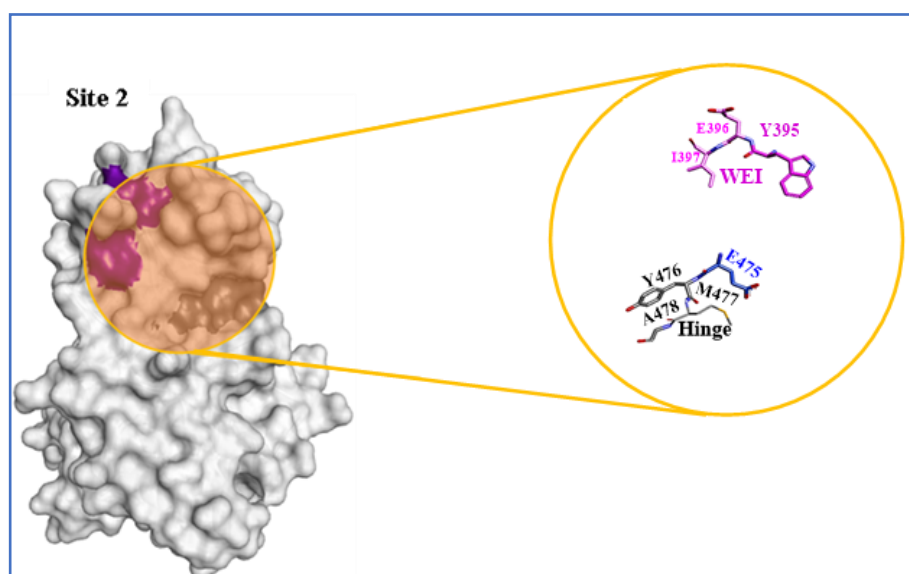


Figure 20: Schéma représentatif des régions principales de site 2

Plus de détails sur les éléments d'interaction entre les ligands et le site 2 sont présentés dans le tableau (03).

Tableau 03: Les résultats d'interactions des ligands avec le site 2 de BTK

Les ligands	L'Energie (Kcal/mol)	AA Impliqués	Type d'interaction	Distance (Å)
Acide azarolique	-7,5	Trp 395 ^b	Vander Waals	
Acide euscafique	-8	Trp 395 ^b Glu 475 ^a	Hydrophobe (Pi-sigma) Vander Waals	3,99
Acide arjunique	-7,6	Glu 475 ^a	Vander Waals	
Acide alphaltolique	-7,6	Trp 395 ^b Glu 475 ^a	Hydrophobe (pi-sigma) L. hydrogène	3.95 2.90
Acide 3oxoeuscafique	-8,2	Trp395 ^b , Glu 475 ^a .	Vander Waals	
Acide 2-oxo-pomolique	-8	Trp 395 ^b , Glu 475 ^a	Vander Waals	
Acide fupenzique	-7.9	Trp 395 ^b Glu 475 ^a	Hydrophobe (pi-sigma) Vander Waals	3.83 ;3.82 3.75
Acide tormentique	-8,1	Trp 395 ^b	Hydrophobe (pi-sigma)	3.87

^a : région Hinge ; ^b :WEI;

➤ Relation structure activité : ligand-site2

D'après la figure 21, il est noté que les huit ligands interagissent dans le site 2 par divers modes de liaison incluant des liaisons hydrogènes, des interactions de type Vander Waals et hydrophobe de type Pi-Sigma. L'acide 3oxo-euscafique, le ligand qui a montré la meilleure affinité avec le site 2, est marqué par des interactions Vander Waals, qui seraient importantes dans le mécanisme d'action des ligands sur ce site. Les interactions de type Pi-sigma seraient aussi importantes car ces dernières sont établies notamment dans le cas de d'acide euscafique, acide alphaltolique acide fupenzique et acide tormentique avec le résidu Trp 395 du motif WEI actif qui très important dans le mode de fonctionnement de l'enzyme BTK. Par ailleurs, le résidu Glu 475 de la région Hinge était dans la plupart des cas occupé par les ligands grâce à des intéactions Vander Waal, à l'exception de l'acide alphaltolique où la liaison hydrogène est impliquée. On peut également observer sur la figure 21 que l'acide 3-oxo-euscafique et l'acide euscafique l'acide alphaltolique, acide 2-oxo-pomolique, acide fupenzique et acide tormentique se trouvent dans une position similaire dont la fonction carboxyle de cycle C est toujours proche des résidus Ser394 et Trp 421.

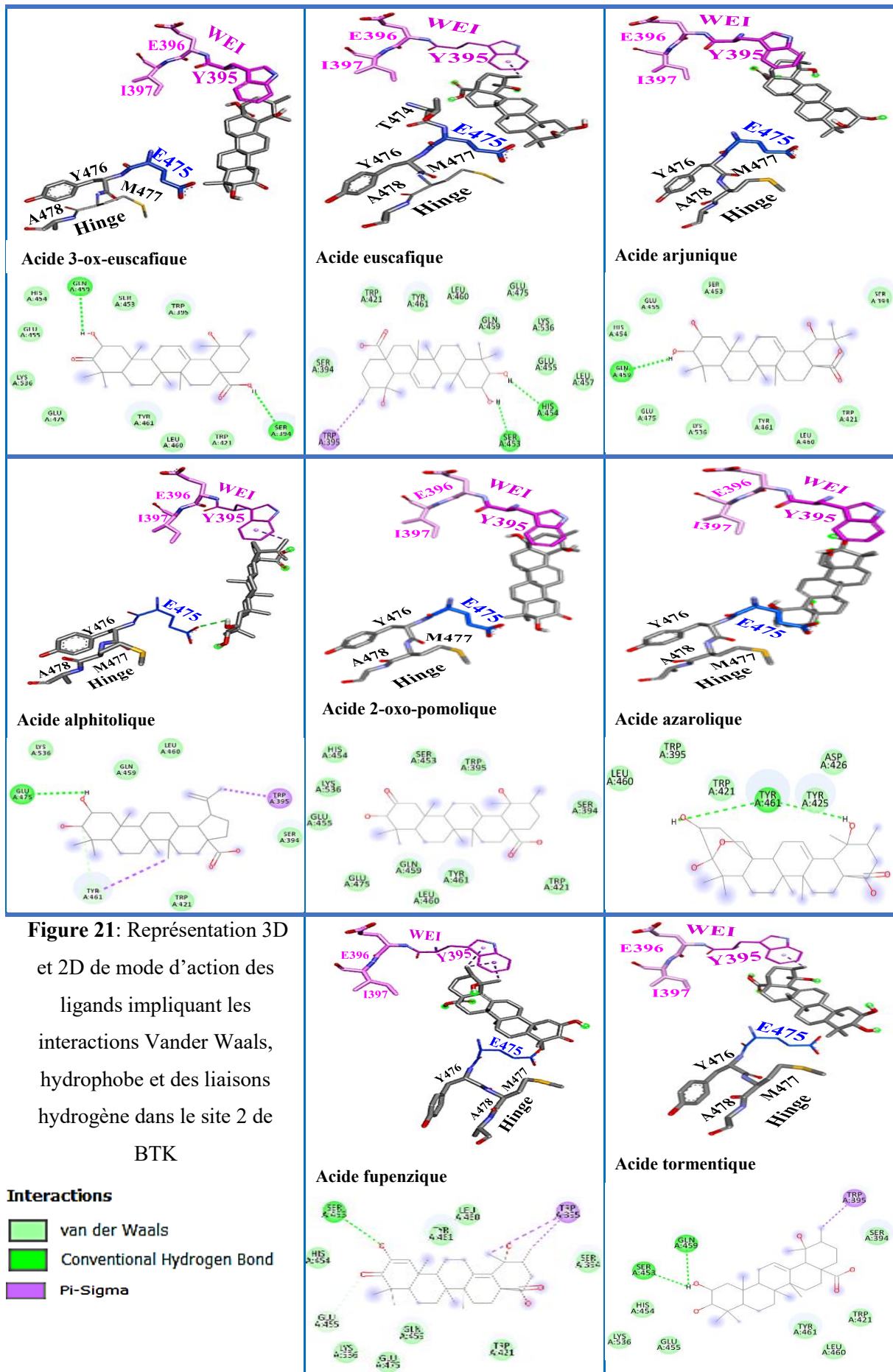


Figure 21: Représentation 3D et 2D de mode d'action des ligands impliquant les interactions Vander Waals, hydrophobe et des liaisons hydrogène dans le site 2 de BTK

III.2. Docking protéine-protéine de BTK

Les interactions protéine-protéine sont essentielles pour comprendre la structure et la fonction des cellules, telles que le contrôle métabolique, la transmission des signaux et la régulation des gènes. La dimérisation des domaine kinase de BTK est primordiale pour son activation et transduction du signal. Dans cette section, nous avons établi un Docking protéine-protéine de BTK par le programme GRAMM Docking dans le but de savoir si nos molécules agissent sur l'enzyme BTK en interférant avec des résidus clés de la dimérisation en empêchant cette dernière. Ces résultats ont été analysés par pdb sum.

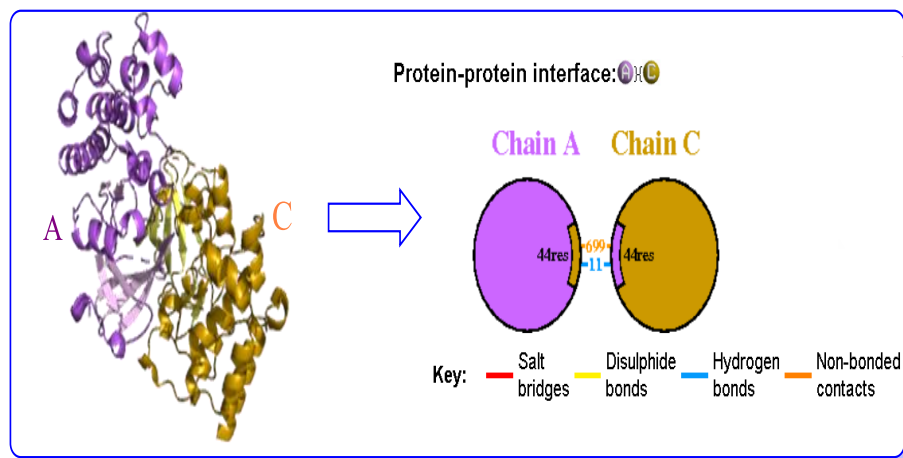


Figure 22: schéma illustrant l'interaction entre les deux domaines kinase de BTK

- Les données de PDB sum indiquent qu'il existe 699 contacts sans liaison entre les deux enzymes et 11 liaisons hydrogène.

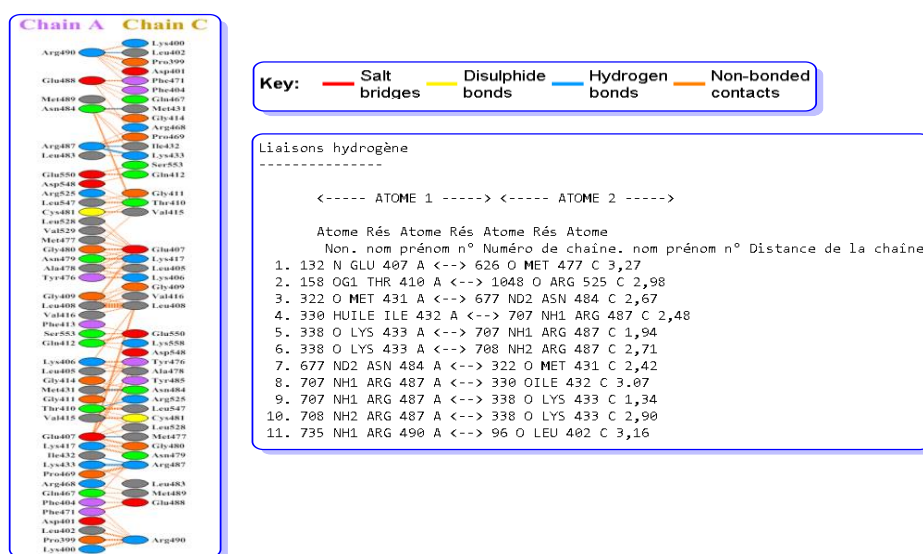


Figure 23: Les acides aminés clés de la dimérisation des deux domaines de BTK selon PDB sum

Les résultats indiqués dans la (Figure.22 et 23) montrent que les domaines kinases de BTK se sont assemblés en juxtaposition afin de permettre la trans-autophosphorylation. Des acides aminés connus sont révélés avoir joué un rôle dans le contact des deux domaines kinases grâce à des liaisons hydrogènes. A titre d'exemple, le résidu **Met477 C de la région Hinge** est en liaison avec **Glu407** de la chaîne A avec une distance de 3.27 Å. De la même manière, le résidu **Arg 525** sur la chaîne C appartenant à la boucle catalytique est lié avec la **Thr410 A** avec une distance de 2.42 Å.

En associant les résultats obtenus dans cette section avec ceux de docking protéine-ligand de site 1, on remarque que certains triterpènes interfèrent avec les acides aminés qui se trouvent dans la zone de contact entre les domaines kinases. Ces résultats montrent que ces triterpènes peuvent empêcher la dimérisation et par conséquent la transphosphorylation des deux domaines kinases. Parmi ces ligands, on en trouve l'acide boswilique qui interagit avec l'Arg 525 (figure.18) de la boucle catalytique et empêche ce dernier d'être en contact avec la Thr410 de l'autre chaîne. D'autre part, on suppose que la majorité des ligands de site 1 peuvent avoir un mode d'action à part, en plus de celui de l'occupation de site actif. En effet, ces derniers, sont suspectés d'avoir perturbé l'association des dimères de l'enzyme BTK en occupant le résidu Met477 déjà cité pour son rôle lors de la dimérisation.

En outre, l'acide maslinique qui interagit avec le résidu Tyr 551 peut empêcher sa trans-autophosphorylation lors de la dimérisation.

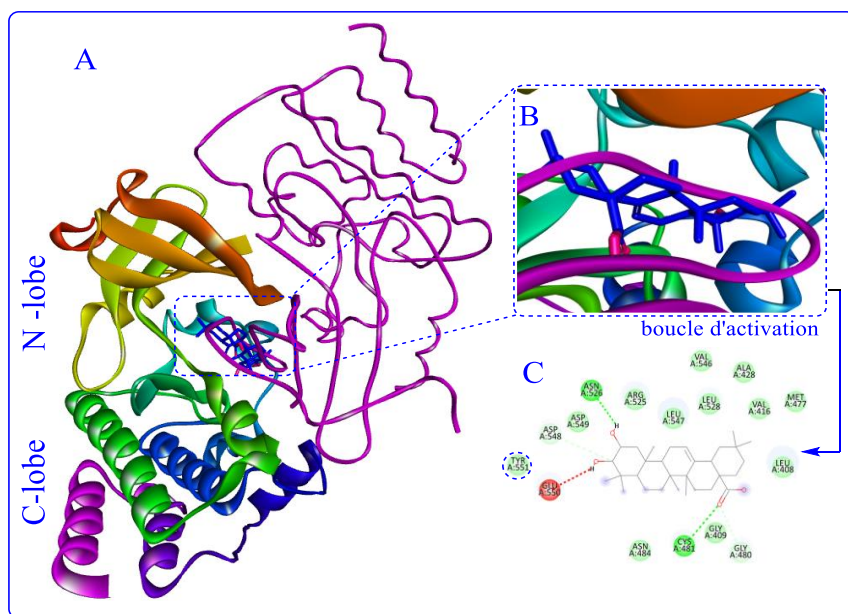


Figure 24: L'interaction entre le dimère d'enzyme et l'acide maslinique. A : le complexe dimère - ligand (l'acide maslinique), B : un zoom sur le site de liaison de dimère révèle la disposition particulière du ligand, C : interaction 2D entre l'acide maslinique et les résidus proches du site actif de 6o8i la (chaîne A) et le Tyr 551.

III.3. Docking moléculaire d'uréase de *H. Pylori*-ligands

III.3.1. Analyse des sites de liaison des ligands

Les résultats de l'AM ont montré 4 sites de liaisons possibles pour les ligands testés. Ces sites énumérés de 1 à 4 sont présentés sur la figure (25). Les résultats sont exprimés aussi par les valeurs d'énergie de liaison pour les dix-neuf ligands. Les valeurs de docking score qu'on a obtenu sont compris entre -7,3 et -8,6 Kcal/mol.

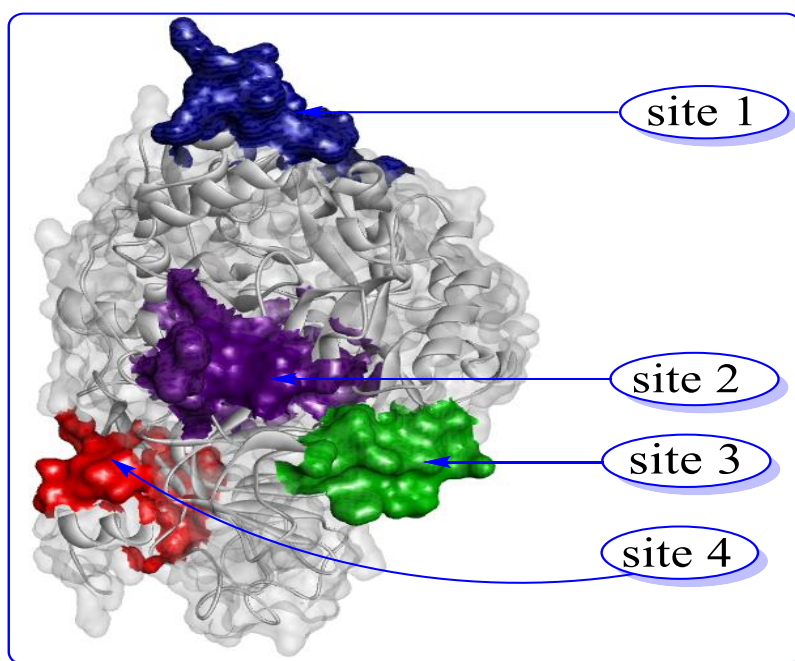


Figure 25: Les différents sites de fixation de ligand dans la chaîne B de protéine 1e9y

➤ Caractérisation du site 2

L'observation, de plus près, de site 2, (figure. 26) montre qu'il partage avec la poche de site actif d'Uréase de *H. Pylori* certains acides aminés tels que : Thr 374, Leu457 définis par Andleeb *et al.*, (2016), et avec les résidus de site actif Ser567, Ile568, Phe569, Lys445, Ala 150, Try 474 et Try 475 définie par Golbabaei *et al.*, (2013).

Les résultats, ont révélé que sur les 19 molécules, nous en avons trouvé 14 triterpènes qui se sont fixés sur le site 2 et parmi celles-ci, nous avons constaté que : l'acide corosolique, l'acide fupenzique et l'acide 3-oxo-euscafique se lient avec une bonne affinité en exprimant des valeurs de -8.6, -8.6, et -8.2 Kcal/mol respectivement.

Tous les résultats sont résumés dans le tableau 04

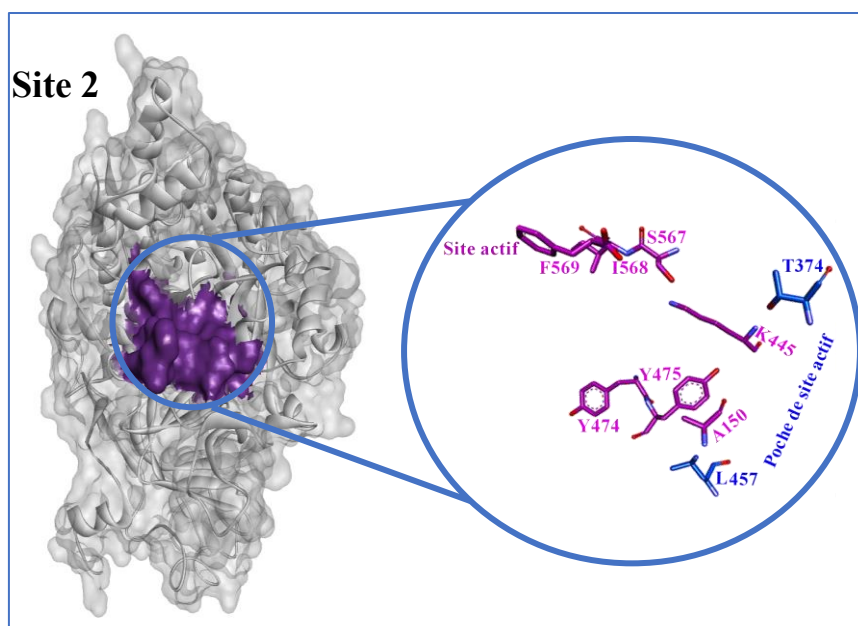


Figure 26: Schéma représentatif de site 2

Tableau 04: les résultats d'interactions des ligands avec le site 2

Les ligands	L'Energie (Kcal/mol)	AA Impliquées	Type d'interaction	Distance (Å)
Acide corosolique	-8,6	Thr 374 ^a , Lys445 ^b , Tyr474 ^b , Tyr 475 ^b , Ser567 ^b , Phe569 ^b	L.hydrogène Vander Waals	2.34
Acide fupenzique	-8,6	Tyr 475 ^b , Phe 569 ^b , Pro146, Ala150 ^b , Thr374 ^a , Lys445 ^b , Leu457 ^a , Ser567 ^b	L.hydrogène L.hydrogène Vander Waals	2.33 2.48
Acide 3oxoeuscafique	-8,2	Ser 567 ^b , Ala 150 ^b , Lys 445 ^b , Pro472, Val473, Tyr474 ^b , Tyr475 ^b , Ile568 ^b	L.hydrogène Vander Waals	2.24
Acide boswellique	-8,1	Ala 150 ^b , Tyr474 ^b , Tyr475 ^b , Ser567 ^b , Ile568 ^b	Vander Waals	
Betulenol	-7,3	Pro146, Ala150 ^b , Lys 445 ^b , Leu457 ^a , Tyr474 ^b , Tyr475 ^b	Vander Waals	
Acide arjunique	-7,6	Ser567 ^b , Lys445 ^b , Tyr475 ^b	L.hydrogène L'hydrogène Vander Waals	2.71 3.26
Acide alphaltolique	-7,5	Pro146, Ala150 ^b , Lys445 ^b , Leu457 ^a	Vander Waals	
Acide betulinique	-7,5	Ser567 ^b , Ala150 ^b , Lys 445 ^b , Tyr475 ^b	L.hydrogène Vander Waals	1.97
Acide maslinique	-7,9	Pro146, Ala150 ^b , Lys445 ^b , Tyr474 ^b , Tyr 475 ^b , Ser567 ^b	Vander Waals	
Acide oleanolique	-7,6	Ala 150 ^b , Lys445 ^b , Tyr 474 ^b , Tyr 475 ^b , Ser567 ^b , Ile 568 ^b , Phe569 ^b	Vander Waals	
Acide tormentique	-7,4	Pro146, Ala 150 ^b , Tyr 475 ^b , Lys445 ^b , Ser567 ^b	Vander Waals	
Acide ursolique	-7,7	Pro146, Ala 150 ^b , Thr374 ^a , Lys 445 ^b , Phe 569 ^b , Ser567 ^b	L.hydrogène Vander Waals	
Acide11-oxo-ursolique	-7,6	Ala 150 ^b , Pro146, Lys 445 ^b , Tyr 474 ^b , Tyr 475 ^b	Vander Waals	
Uvaol	-7,5	Pro146, Ala 150 ^b , Thr374, Lys 445 ^b , Tyr 475 ^b , Ser567 ^b , Ile 568 ^b , Phe 569 ^b	L.hydrogène Vander Waals	3.59

^a:poche de site actif ;^b:site actif

➤ Relation structure activité : ligand-site2

Après analyse des modes de liaison (figure.27) de nos ligands avec le site 2 d'uréase et comparaison avec leurs énergies de liaisons correspondante ; il a été constaté qu'il existe une relation structure activité très remarquable entre les ligands et le site actif. Cette relation est dépendant de certains groupements fonctionnels des ligands, tels que la fonction carboxyle et les groupements hydroxyle et la nature des acides aminés constitutifs de site actif. En effet, les ligands qui ont montré les meilleurs énergies de liaison à savoir l'acide corosolique (-8,6 Kcal/mol), l'acide fupenzique (-8,6 Kcal/mol) et l'acide 3-oxo-euscafique (-8,2 Kcal/mol) sont marqués communément par un mécanisme d'action via des liaisons hydrogènes entre la fonction carboxyle ou la fonction hydroxyle de cycle E de ligand et l'acide aminé Ser151. A noter que pour l'acide corosolique il existe une liaison hydrogène de plus avec la Thr374 ; un acide aminé déjà cité comme élément clé de la poche de site actif. De même pour l'acide fupenzique on remarque aussi des liaisons hydrogènes avec Tyr474 et Phe569 qui sont des résidus clés de site actif. Concernant, l'acide 3-oxo-euscafique sa stabilité sur le site semble être favorisée, d'autre part, grâce à la liaison hydrogène entre sa fonction hydroxyle de cycle E et la Ser567, connu comme résidu appartenant au site actif. Les ligands : l'acide arjunique (-7,6 Kcal/mol), l'acide betulinique (-7,5 Kcal/mol), l'acide boswellique (-8,1 Kcal/mol) et l'acide 11-oxo-ursolique (-7,7 Kcal/mol) sont marqués par une liaison hydrogène grâce à leurs fonctions carboxyle de cycle E avec des résidus Ser151 ou 567.

En revanche, les quatre ligands suivants : l'acide alphaltolique (-7,5 Kcal/mol), l'acide maslinique (-7,9 Kcal/mol) acide oleanolique (-7,6 Kcal/mol) et l'acide tormentique (-7,4 Kcal/mol) ont en commun une liaison hydrogène avec notamment la Ser151 grâce à leurs groupements hydroxyles appartenant au cycle A.

En fin, les ligands : le betulenol, l'acide ursolique et uvaol quant à eux, ils se sont stabilisés d'une manière relativement faible sur le site 2 grâce à des liaisons en majorité de type Vander Waals. En effet, le betulenol, qui en fait partie, serait le plus instable sur ce site en manifestant l'énergie de liaison la plus élevée (-7.3 Kcal/mol). A la lumière de ces résultats, il est supposé que les liaisons hydrogènes jouent un rôle important dans la fixation et la stabilisation de nos ligands sur le site 2.

Par ailleurs, il est supposé que ces ligands agissent selon un mode compétitif sachant que les acides aminés qui étaient dans les sites de liaisons de nos ligands font partie de site actif de cet enzyme, et par conséquent nos ligands peuvent fort probablement inhiber l'uréase.

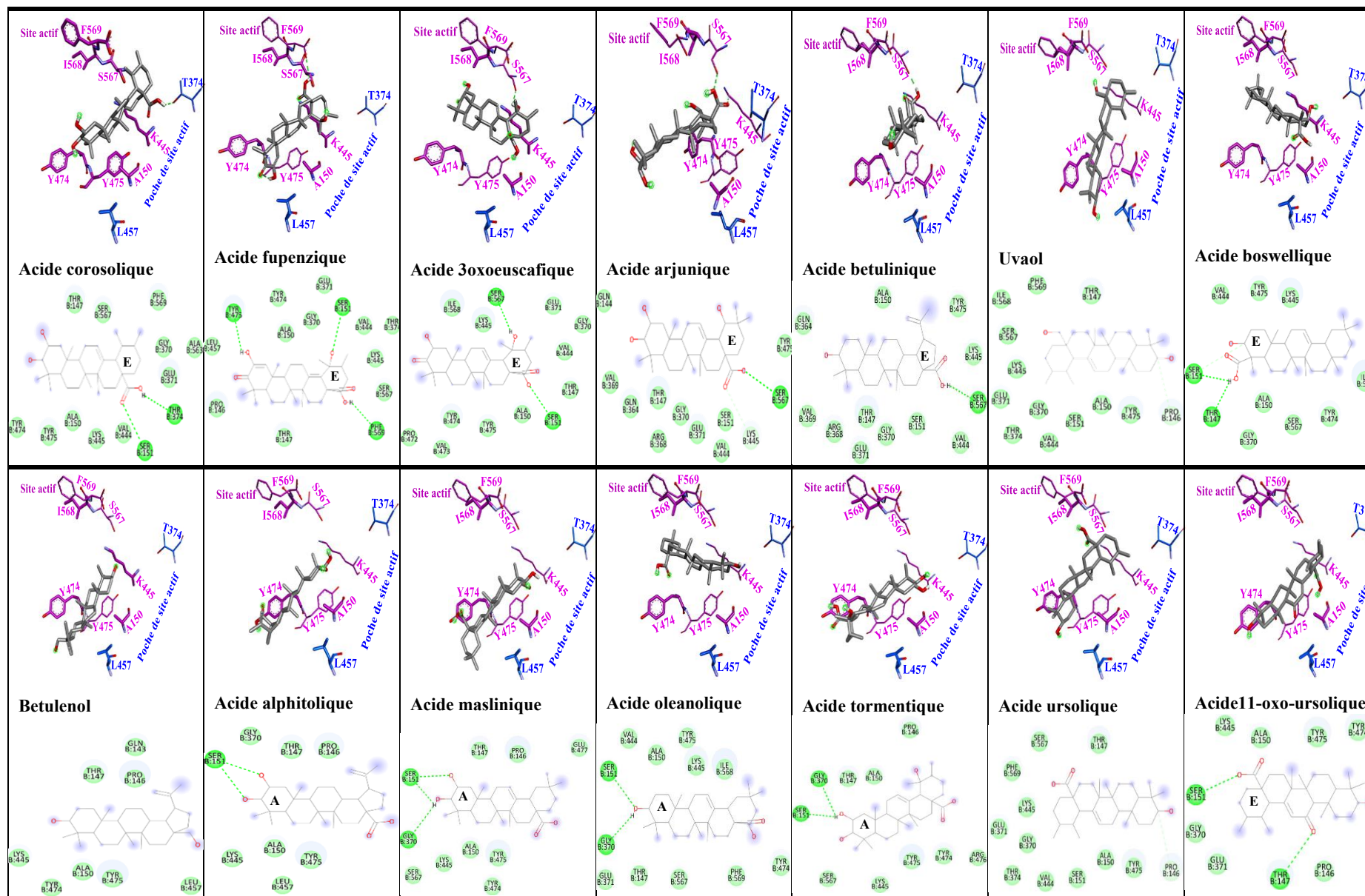


Figure 27: Représentation 3D et 2D de mode d'action des ligands impliquant les interactions Vander Waals et les liaisons hydrogène dans le site 2 d'uréase. Les interactions : ■ Conventional Hydrogen Bond ■ van der Waals ■ Carbon Hydrogen Bond

➤ Caractérisation des site 1, 3 et 4

En plus de site 2 caractérisé ci-dessus, on a aussi révélé trois sites supplémentaires à savoir le site 1, 3 et 4. En effet, les ligands qui n'ont pas accès au site 2 se sont retrouvés sur ces derniers.

L'occupation de ces sites par des ligands peut entraîner une inhibition non compétitive vu qu'ils se fixent sur des sites différents du site actif d'uréase. Cette propriété, d'après Mohammed *et al.*, (2022), entraîne une modulation assez importante sur l'activité de l'uréase.

Les énergies de liaisons de ces ligands sur ces sites respectifs sont montrées sur le tableau (05).

Tableau 05: Les résultats d'interactions des ligands avec les sites 1,3 et 4

Les ligands	L'Energie (Kcal/mol)	AA impliquées	Type d'interaction	Distance (Å)
Célastral		Phe 334	L. hydrophobe (pi-sigma)	3.97
-site 1	-7,6	Lys324	L. hydrogène conventionnelle	3.17
		Leu 252	L. hydrophobe (pi-Alkyl)	5.25
Acide Euscafique		Lys 484	L. hydrogène conventionnelle	3.17
-site 3	-7,5	Asp 90	L'hydrogène (C-H)	3.66
Acide azarolique		Phe 454	L. hydrophobe (pi-sigma)	3.82
-site 3	-7,5			
Acide2-oxo- pomolique-site 4	-8,1	Arg 6, Lys 7, Val 10, Asp19, Pro 15, Lys20, Val21, Gly125, Pro439	Vander Waals	
Acide pomolique		Arg 6, Lys 7, Val 10, Asp19, Pro 15, Lys20, Val21, Gly125, Pro439	Vander Waals	
-site 4	-7,3			

Les différents modes de liaisons des ligands sur leurs sites respectifs sont détaillés dans la figure ci-dessous. D'après les résultats, le célastral s'est fixé sur le site 1 ; l'acide euscafique et l'acide azarolique sur le site 3 et l'acide2-oxo-pomolique et l'acide pomolique sur le site 4.

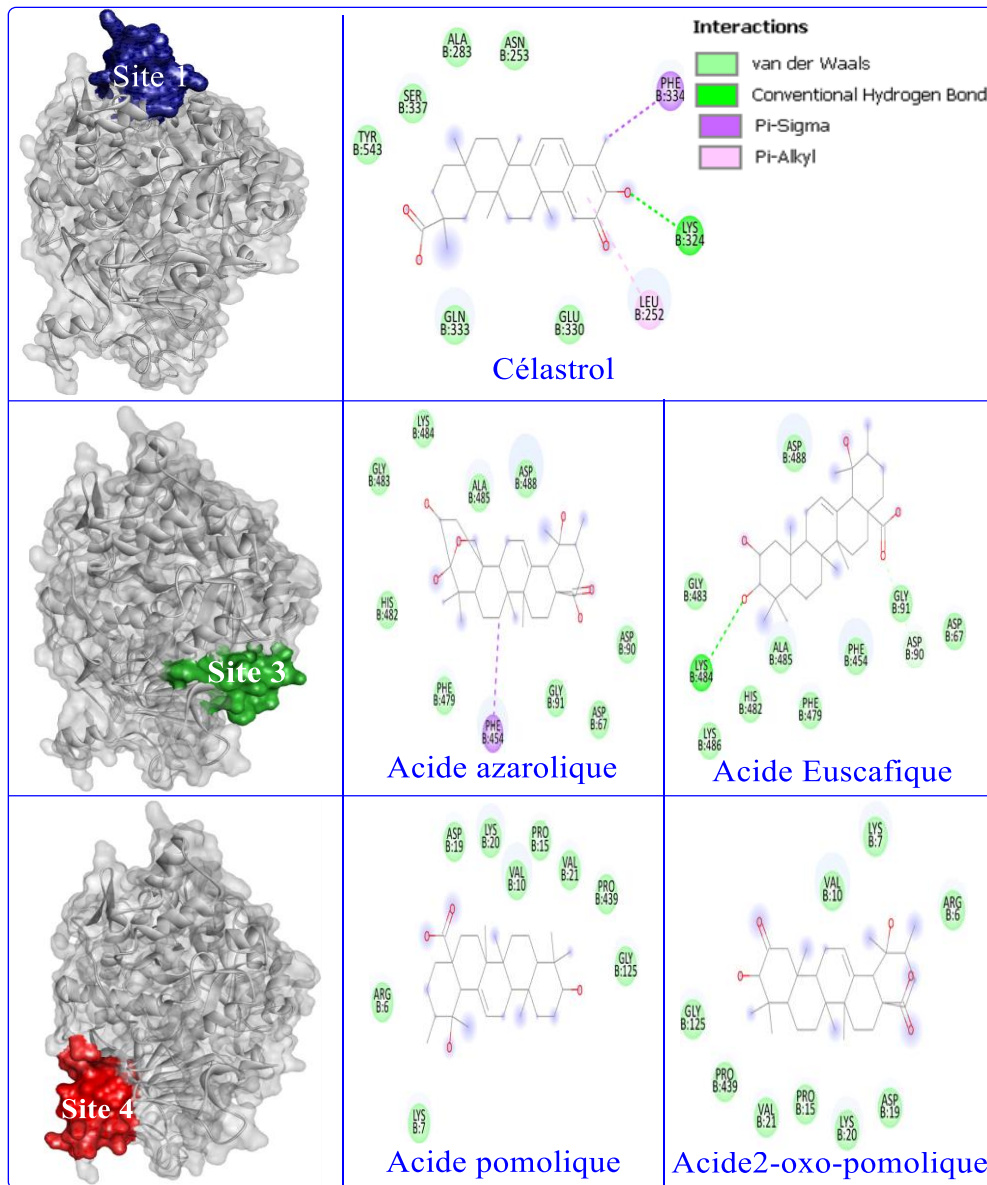


Figure 28: L'interaction des ligands avec leurs sites 1,3 et 4

III.4. Analyses ADMET

L'analyse ADMET est très importante comme étape dans l'étude *in silico* car elle nous renseigne sur plusieurs paramètres selon lesquels les ligands seront classés parmi les drogues tolérées par le corps ou le contraire. Dans cette section plusieurs propriétés (voir tableau. 06) sont prises en considération grâce l'exécution de Swiss-ADME et ADMET-lab.0.2. Les résultats sont présentés en générale pour toutes les molécules en étant favorable ou non selon la règle standard de chaque paramètre. Comme il est montré dans le tableau, les propriétés physicochimiques considérées par la mesure de log S (valeur > -4 log mol/L : solubilité dans le milieu aqueux) ; et Log P (valeur < 00 perméabilité élevée à travers la bicouche lipidique) indiquent que nos ligands, sans exception, ont une solubilité faible dans la solution aqueuse et une bonne perméabilité à travers la bicouche lipidique (voir annexe). Pour l'absorption, tous les triterpènes ont une bonne absorption intestinale (HIA :100%), cependant selon le modèle Papp (38% favorable) on remarque une absorption sélective entre les triterpènes. Le résultat de la distribution des molécules s'est montré positif pour toutes les molécules car ces dernières ne passe pas à travers la barrière hémato-céphalique mais leur distribution grâce aux protéines plasmatiques n'est pas favorables pour 84% des ligands. Le paramètre de métabolisme et élimination quant à eux se sont montrés favorable pour la plupart des molécules ce qui indique qu'ils sont facilement éliminés par notre corps.

De même pour la toxicité, tous les triterpènes semblent ne pas avoir d'effet toxique en se référant aux résultats obtenus selon le modèle d'inhibition du canal du gène lié à l'éther-a-go-go humain, l'hépatotoxicité humaine, le test de AMES et sensibilité de la peau (toujours voir tableau.06).

En générale nos résultats indiquent que ces composés ne présentent pas un sérieux danger et peuvent être pris par voie orale.

Tableau 06: Les propriétés pharmacocinétiques des ligands

	Propriété favorable	Propriété défavorable
Propriété physico-chimique		
Log S log mol/L	00%	100%
Log P	00%	100%
Absorption		
Papp(perméabilitéCaco2) (cm/s)	32%	68%
Substrat de Pgp	58%	42%
HIA	100%	00%
Distribution		
PPB (%)	16%	84%
BBB	00%	100%
Métabolisme		
Inhibiteur P450 duCYP1A2	100%	00%
Inhibiteur P450 duCYP3A4	95%	5%
Inhibiteur P450 duCYP2C9	84%	16%
Élimination		
T 1/2 (demi-vie) (heur)	100%	00%
Toxicité		
HERG	100%	00%
H-HT	100%	00%
AMES	100%	00%
Skin Sen	100%	00%

Log S : Solubilité ; **Log P** : lipophilie ; **HERG inhibition** : Inhibition du canal du gène lié à l'éther-a-go-go humain ; **Caco-2** : carcinome colorectal humain ; **H-HT** : Hépatotoxicité humaine ; **Skin Sen** : Sensibilité de la peau ; **PPB** : Liaison avec les protéines plasmatiques ; **Substrat de Pgp** : Substrat de la glycoprotéine P ; **BBB** : barrière hémato-encéphalique ; **T1/2** : temps de demi-vie ; **HIA** : Absorption intestinale chez l'homme.

III.5. La règle de Lipinski (règle des 5)

Cette règle nous donne des informations sur la classification des substances en tant que médicaments. Les substances qui ne répondent pas à trois des cinq critères suivants (voir tableau. 07) ont une probabilité accrue d'avoir des difficultés lors de leur administration orale (L'Exact, 2023). Il est intéressant de noter que tous les composés de cette étude respectent la règle de Lipinski, ce qui suggère une grande probabilité de biodisponibilité orale.

Tableau 07: Résultats de la règle de Lipinski

Les ligands	Poids moléculaire (PM)	Coefficients de partage octanol-eau	Le nombre d'accepteur d'hydrogène	Le nombre de donneur d'hydrogène	Le nombre de liaisons flexibles	Le nombre de violation
Acide boswellique	456.711	7.09	2	2	1	1/5
Acide corosolique	472.71	6.06	3	3	1	1/5
Acide maslinique	472.71	6.204	3	3	1	1/5
Acide11-oxo-ursolique	470.694	6.269	3	2	1	1/5
Acide fupenzique	484.677	6.074	4	3	1	1/5
Acide 3oxo-euscaphique	486.693	5.383	4	3	1	1/5
Uvaol	442.728	6.997	2	2	1	1/5
Acide ursolique	456.711	7.09	2	2	1	1/5
Acide betulinique	456.711	7.09	2	2	2	1/5
Betulenol	442.728	6.997	2	2	2	1/5
Célastrol	450.619	6.698	3	2	1	1/5
Acide pomolique	472.71	6.204	3	3	1	1/5
Acide 2-oxo-pomolique	486.693	5.383	4	3	1	1/5
Acide oleanolique	456.711	7.234	2	2	1	1/5
Acide azarolique	ND	ND	ND	ND	ND	/
Acide euscaphique	488.709	5.175	4	4	1	1/5
Acide arjunique	488.7	5.175	4	4	1	1/5
Acide alphaltolique	472.71	6.06	3	3	2	1/5
Acide tormentique	488.709	5.175	4	4	1	1/5

*Conclusion et
Perspectives*

Les progrès scientifiques ont permis d'établir de nouveaux outils pour accélérer la recherche de nouveaux médicaments afin de traiter plusieurs types de cancer, parmi lesquels on peut citer l'analyse *in silico* (Docking moléculaire). Dans notre travail, nous avons choisi 19 molécules de type triterpènes et on les a testés pour leur affinité et inhibition de la protéine BTK, dans le but de traiter la leucémie lymphoïde chronique (LLC), les lymphomes. Et inhibition de la protéine l'uréase de *H. Pylori* afin de traiter les ulcères et le cancer gastrique. Cette analyse *in silico* a été réalisée par l'exécution de programme auto dock vina.

Le résultat de docking sur l'enzyme BTK a montré que 11 molécules se fixent préférentiellement sur le site actif (site1). Les meilleurs ligands de ce site, selon leur énergie de liaison, sont : l'acide boswellique (-9.3 Kcal/mol), l'acide corosolique (-9.5 Kcal/mol), l'acide maslinique (-9.5 Kcal/mol) et l'acide11-oxo-ursolique (-9.5 Kcal/mol). L'analyse de mode d'action des 11 ligands de site 1 montre qu'il ressemble à celui des inhibiteurs de type II connu pour leur fixation réversible sur le site actif. Les résultats obtenus montrent aussi que le mode de liaison est dépendant de certains groupements fonctionnels des ligands et certains résidus clés de site actif de cette enzyme.

Quant à l'enzyme *H. Pylori*, on a trouvé 14 molécules qui se sont fixées sur le site 2 (site actif) et parmi les meilleurs qui ont affiché les plus basses valeurs de docking score, on cite : l'acide corosolique (-8,6 Kcal/mol), l'acide fupenziqique (-8,6 Kcal/mol) et l'acide 3-oxo-euscafiqique (-8,2 Kcal/mol). Le reste des molécules (5 molécules) se sont liées, par ailleurs, sur des sites secondaires loin de site 2. Ces derniers sont supposés exercer un effet inhibiteur non compétitif.

Par ailleurs, les résultats des propriétés pharmacocinétiques et physicochimiques ont montré que les triterpènes testés dans cette étude répondent en majorité à tous les critères de l'analyse ADMET et la règle de Lipinski.

Nous en concluons que ces molécules pourraient devenir des médicaments candidats pour inhiber la BTK et l'uréase *H. Pylori*.

Et comme perspective, il est souhaité poursuivre notre travail, notamment sur la protéine BTK, par d'autres études *in vitro* et *in vivo* et aussi développer des dérivés semi synthétiques doués avec plus d'effet inhibiteur et une spécificité meilleure que celle de l'ibrutinib.

Références

Bibliographiques

- Abu-Gharbieh, E., & Shehab, N. G. (2017). Therapeutic potentials of *Crataegus azarolus* var. *Eu-azarolus* Maire leaves and its isolated compounds. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, *17*(1), 218. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1729-9>
- Amtul, Z., Rasheed, M., Choudhary, M. I., Rosanna, S., Khan, K. M., & Atta-ur-Rahman. (2004). Kinetics of novel competitive inhibitors of urease enzymes by a focused library of oxadiazoles/thiadiazoles and triazoles. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *319*(3), 1053-1063. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.05.036>
- Andleeb, S., Imtiaz-ud-Din, I.-D., Rauf, M. K., Azam, S. S., Badshah, A., Sadaf, H., Raheel, A., Tahir, M. N., & Raza, S. (2016). A one-pot multicomponent facile synthesis of dihydropyrimidin-2(1H)-thione derivatives using triphenylgermane as a catalyst and its binding pattern validation. *RSC Advances*, *6*(83), 79651-79661. <https://doi.org/10.1039/C6RA19162B>
- Backert, S. (Éd.). (2023). *Helicobacter pylori and Gastric Cancer* (Vol. 444). Springer Nature Switzerland. <https://doi.org/10.1007/978-3-031-47331-9>
- Basile, D., Gerratana, L., Buonadonna, A., Garattini, S., Perin, T., Grassilli, E., Miolo, G., Cerrito, M., Belluco, C., Bertola, G., De Paoli, A., Cannizzaro, R., Lavitrano, M., Puglisi, F., & Canzonieri, V. (2019). Role of Bruton's Tyrosine Kinase in Stage III Colorectal Cancer. *Cancers*, *11*(6), 880. <https://doi.org/10.3390/cancers11060880>
- Brown, J. S., Amend, S. R., Austin, R. H., Gatenby, R. A., Hammarlund, E. U., & Pienta, K. J. (2023). Updating the Definition of Cancer. *Molecular Cancer Research*, *21*(11), 1142-1147. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-23-0411>
- Burger, J. A., Tedeschi, A., Barr, P. M., Robak, T., Owen, C., Ghia, P., Bairey, O., Hillmen, P., Bartlett, N. L., Li, J., Simpson, D., Grosicki, S., Devereux, S., McCarthy, H., Coutre, S., Quach, H., Gaidano, G., Maslyak, Z., Stevens, D. A., ... Kipps, T. J. (2015).

- Ibrutinib as Initial Therapy for Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia. *New England Journal of Medicine*, 373(25), 2425-2437.
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1509388>
- Burley, S. K., Berman, H. M., Bhikadiya, C., Bi, C., Chen, L., Di Costanzo, L., Christie, C., Dalenberg, K., Duarte, J. M., Dutta, S., Feng, Z., Ghosh, S., Goodsell, D. S., Green, R. K., Guranović, V., Guzenko, D., Hudson, B. P., Kalro, T., Liang, Y., ... Zardecki, C. (2019). RCSB Protein Data Bank : Biological macromolecular structures enabling research and education in fundamental biology, biomedicine, biotechnology and energy. *Nucleic Acids Research*, 47(D1), D464-D474.
<https://doi.org/10.1093/nar/gky1004>
- Buti, S., Tommasi, C., Scartabellati, G., De Giorgi, U., Brighi, N., Rebuzzi, S. E., Puglisi, S., Caffo, O., Kinspergher, S., Mennitto, A., Cattrini, C., Santoni, M., Verzoni, E., Rametta, A., Stellato, M., Malgeri, A., Roviello, G., De Filippo, M., Cortellini, A., & Bersanelli, M. (2023). The impact of proton-pump inhibitors administered with tyrosine kinase inhibitors in patients with metastatic renal cell carcinoma. *Anti-Cancer Drugs*, 34(1), 178-186. <https://doi.org/10.1097/CAD.0000000000001356>
- Campbell, R., Chong, G., & Hawkes, E. A. (2018). Novel indications for Bruton's tyrosine kinase inhibitors, beyond hematological malignancies. *Journal of clinical medicine*, 7(4), 62.
- Cowan-Jacob, S. W., Möbitz, H., & Fabbro, D. (2009). Structural biology contributions to tyrosine kinase drug discovery. *Current Opinion in Cell Biology*, 21(2), 280-287.
<https://doi.org/10.1016/j.ceb.2009.01.012>
- Cunha, E. S., Chen, X., Sanz-Gaitero, M., Mills, D. J., & Luecke, H. (2021). Cryo-EM structure of *Helicobacter pylori* urease with an inhibitor in the active site at 2.0 Å

- resolution. *Nature Communications*, 12(1), 230. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20485-6>
- 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), 42717. <https://doi.org/10.1038/srep42717>
- El-Hachem, N., Haibe-Kains, B., Khalil, A., Kobeissy, F. H., & Nemer, G. (2017). AutoDock and AutoDockTools for Protein-Ligand Docking : Beta-Site Amyloid Precursor Protein Cleaving Enzyme 1(BACE1) as a Case Study. In F. H. Kobeissy & S. M. Stevens, (Éds.), *Neuroproteomics* (Vol. 1598, p. 391-403). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6952-4_20
- García-Merino, A. (2021). Bruton's Tyrosine Kinase Inhibitors : A New Generation of Promising Agents for Multiple Sclerosis Therapy. *Cells*, 10(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/cells10102560>
- Gauthier, C. (2008). *Amélioration du comportement biopharmaceutique de triterpènes naturels anticancéreux par synthèse de saponines mono- et bidesmosidiques /*. Université du Québec à Chicoutimi. <https://doi.org/10.1522/030084148>
- Golbabaee, S., Bazl, R., Golestanian, S., Nabati, F., Omrany, Z. B., Yousefi, B., Hajiaghaee, R., Rezazadeh, S., & Amanlou, M. (2013). Urease inhibitory activities of β -boswellic acid derivatives. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 21(1), 2. <https://doi.org/10.1186/2008-2231-21-2>
- Gupta, M. (s. d.). *ICT TOOLS FOR TEACHING AND RESEARCH IN CHEMISTRY*. Consulté 8 avril 2024, à l'adresse https://www.irjmets.com/uploadedfiles/paper/issue_1_january_2023/32852/final/fin_irjmets1673277537.pdf

- Gupta, S., & Bajaj, A. (2017). MOLECULAR MODELING STUDIES OF N, N - DISUBSTITUTED DERIVATIVES AS POTENT UREASE INHIBITORS. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 7(7), Article 7.
<https://doi.org/10.22270/jddt.v7i7.1619>
- Ha, N.-C., Oh, S.-T., Sung, J. Y., Cha, K. A., Lee, M. H., & Oh, B.-H. (2001). Supramolecular assembly and acid resistance of Helicobacter pylori urease. *Nature Structural Biology*, 8(6).
- Hata, D., Kawakami, Y., Inagaki, N., Lantz, C. S., Kitamura, T., Khan, W. N., Maeda-Yamamoto, M., Miura, T., Han, W., Hartman, S. E., Yao, L., Nagai, H., Goldfeld, A. E., Alt, F. W., Galli, S. J., Witte, O. N., & Kawakami, T. (1998). Involvement of Bruton's Tyrosine Kinase in FcεRI-dependent Mast Cell Degranulation and Cytokine Production. *The Journal of Experimental Medicine*, 187(8), 1235-1247.
<https://doi.org/10.1084/jem.187.8.1235>
- Hou, J.-Z., Ye, J. C., Pu, J. J., Liu, H., Ding, W., Zheng, H., & Liu, D. (2021). Novel agents and regimens for hematological malignancies : Recent updates from 2020 ASH annual meeting. *Journal of Hematology & Oncology*, 14(1), 66.
<https://doi.org/10.1186/s13045-021-01077-3>
- Jokhadze, N., Das, A., & Dizon, D. S. (2024). Global cancer statistics : A healthy population relies on population health. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 74(3), 224-226.
<https://doi.org/10.3322/caac.21838>
- Jose, S., Gupta, M., Sharma, U., Quintero-Saumeth, J., & Dwivedi, M. (2022). Potential of phytocompounds from Brassica oleracea targeting S2-domain of SARS-CoV-2 spike glycoproteins : Structural and molecular insights. *Journal of Molecular Structure*, 1254, 132369. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.132369>

- Joseph, R. E., Amatya, N., Fulton, D. B., Engen, J. R., Wales, T. E., & Andreotti, A. (2020). Differential impact of BTK active site inhibitors on the conformational state of full-length BTK. *eLife*, 9, e60470. <https://doi.org/10.7554/eLife.60470>
- Keya, C. A. (2018). Urease : The Ultimate Therapeutic Target for Helicobacter Pylori. *International Journal of Cell Science & Molecular Biology*, 3(5). <https://doi.org/10.19080/IJCSMB.2018.04.555625>
- Kim, S., Thiessen, P. A., Bolton, E. E., Chen, J., Fu, G., Gindulyte, A., Han, L., He, J., He, S., Shoemaker, B. A., Wang, J., Yu, B., Zhang, J., & Bryant, S. H. (2016). PubChem Substance and Compound databases. *Nucleic Acids Research*, 44(D1), D1202-D1213. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv951>
- Kuglstatter, A., Wong, A., Tsing, S., Lee, S. W., Lou, Y., Villaseñor, A. G., Bradshaw, J. M., Shaw, D., Barnett, J. W., & Browner, M. F. (2011). Insights into the conformational flexibility of Bruton's tyrosine kinase from multiple ligand complex structures. *Protein Science*, 20(2), 428-436. <https://doi.org/10.1002/pro.575>
- Kunwittaya, S., Nantasenamat, C., Treeratanapiboon, L., Srisarin, A., Isarankura-Na-Ayudhya, C., & Prachayasittikul, V. (2013). Influence of logBB cut-off on the prediction of blood-brain barrier permeability. *Biomedical and Applied Technology Journal*, 1, 16-34.
- Lagorce, D., Douguet, D., Miteva, M. A., & Villoutreix, B. O. (2017). Computational analysis of calculated physicochemical and ADMET properties of protein-protein interaction inhibitors. *Scientific Reports*, 7(1), 46277. <https://doi.org/10.1038/srep46277>
- Laskowski, R. A. (2022). PDBsum1 : A standalone program for generating PDBsum analyses. *Protein Science*, 31(12), e4473. <https://doi.org/10.1002/pro.4473>

- Lee, C.-W., Rickman, B., Rogers, A. B., Ge, Z., Wang, T. C., & Fox, J. G. (2008). Helicobacter pylori eradication prevents progression of gastric cancer in hypergastrinemic INS-GAS mice. *Cancer research*, 68(9), 3540-3548.
- Lewis, K. L., & Cheah, C. Y. (2021). Non-Covalent BTK Inhibitors—The New BTKids on the Block for B-Cell Malignancies. *Journal of Personalized Medicine*, 11(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/jpm11080764>
- L'Exact, M. (2023). *Étude de la relation structure-perméabilité de macrocycles semi-peptidiques au-delà de la règle des 5 de Lipinski* [PhD Thesis, Université Laval]. https://savoirs.usherbrooke.ca/bitstream/handle/11143/20348/1_exact_marion_PhD_2023.pdf?sequence=8
- Li, T., Tsukada, S., Satterthwaite, A., Havlik, M. H., Park, H., Takatsu, K., & Witte, O. N. (1995). Activation of bruton's tyrosine kinase (BTK) by a point mutation in its pleckstrin homology (PH) domain. *Immunity*, 2(5), 451-460. [https://doi.org/10.1016/1074-7613\(95\)90026-8](https://doi.org/10.1016/1074-7613(95)90026-8)
- Li, W., Sun, Y. N., Yan, X. T., Yang, S. Y., Lee, S. J., Byun, H. J., Moon, C. S., Han, B. S., & Kim, Y. H. (2013). Isolation of Nematicidal Triterpenoid Saponins from Pulsatilla koreana Root and Their Activities against Meloidogyne incognita. *Molecules*, 18(5), 5306-5316. <https://doi.org/10.3390/molecules18055306>
- Li, W.-Y., Ni, W.-W., Ye, Y.-X., Fang, H.-L., Pan, X.-M., He, J.-L., Zhou, T.-L., Yi, J., Liu, S.-S., Zhou, M., Xiao, Z.-P., & Zhu, H.-L. (2020). N -monoarylacetothioureas as potent urease inhibitors : Synthesis, SAR, and biological evaluation. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 35(1), 404-413. <https://doi.org/10.1080/14756366.2019.1706503>

- Lin, D. Y., Kueffer, L. E., Juneja, P., Wales, T. E., Engen, J. R., & Andreotti, A. H. (2024). Conformational heterogeneity of the BTK PHTH domain drives multiple regulatory states. *eLife*, *12*, RP89489. <https://doi.org/10.7554/eLife.89489>
- Lin, L., Czerwinski, R., Kelleher, K., Siegel, M. M., Wu, P., Kriz, R., Aulabaugh, A., & Stahl, M. (2009). Activation Loop Phosphorylation Modulates Bruton's Tyrosine Kinase (Btk) Kinase Domain Activity. *Biochemistry*, *48*(9), 2021-2032. <https://doi.org/10.1021/bi8019756>
- Liu, J., Chen, C., Wang, D., Zhang, J., & Zhang, T. (2021). Emerging small-molecule inhibitors of the Bruton's tyrosine kinase (BTK) : Current development. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *217*, 113329. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113329>
- Marcotte, D. J., Liu, Y., Arduini, R. M., Hession, C. A., Miatkowski, K., Wildes, C. P., Cullen, P. F., Hong, V., Hopkins, B. T., Mertsching, E., Jenkins, T. J., Romanowski, M. J., Baker, D. P., & Silvian, L. F. (2010). Structures of human Bruton's tyrosine kinase in active and inactive conformations suggest a mechanism of activation for TEC family kinases. *Protein Science*, *19*(3), 429-439. <https://doi.org/10.1002/pro.321>
- Mégraud, F. (2008). Helicobacter pylori : Caractères bactériologiques, méthodes diagnostiques et sensibilité aux antibiotiques. *La Presse Médicale*, *37*(3), 507-512. <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2007.07.033>
- Mohamed, A. J., Yu, L., Bäckesjö, C., Vargas, L., Faryal, R., Aints, A., Christensson, B., Berglöf, A., Vihinen, M., Nore, B. F., & Edvard Smith, C. I. (2009). Bruton's tyrosine kinase (Btk) : Function, regulation, and transformation with special emphasis on the PH domain. *Immunological Reviews*, *228*(1), 58-73. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2008.00741.x>

- Mohammed, S. O., El Ashry, S. H. E., Khalid, A., Amer, M. R., Metwaly, A. M., Eissa, I. H., Elkaeed, E. B., Elshobaky, A., & Hafez, E. E. (2022). Expression, Purification, and Comparative Inhibition of *Helicobacter pylori* Urease by Regio-Selectively Alkylated Benzimidazole 2-Thione Derivatives. *Molecules*, 27(3), 865.
<https://doi.org/10.3390/molecules27030865>
- Mokrani, E. H., Bensegueni, A., Chikhi, A., Teniou, S., Merabti, B., & Boucherit, H. (2012). Mise en évidence par criblage virtuel d'un nouveau inhibiteur xanthinique de la DPP4 pour le traitement du diabète de type 2. *Les technologies de laboratoire*, 7(27), Article 27. <https://doi.org/10.34874/PRSM.teclab-vol7iss27.581>
- Quy, P. T., Du, L. N. H., Triet, N. T., Bui, T. Q., Hai, N. T. T., Thang, L. Q., Cuong, T. D., Van Chen, T., & Nhung, N. T. A. (2022). *In silico* study on inhibitability of **flavonoidal derivatives** against *Helicobacter pylori* and their pharmacological potentiality. *Vietnam Journal of Chemistry*, 60(4), 435-450.
<https://doi.org/10.1002/vjch.202100170>
- Rao, C. M. P. (2023). Insights from the molecular docking and simulation analysis of P38 MAPK phytochemical inhibitor complexes. *Bioinformation*, 19(3), 323-330.
<https://doi.org/10.6026/97320630019323>
- Rehman, N. U., Khan, A., Al-Harrasi, A., Khiat, M., Hussain, H., Wadood, A., & Riaz, M. (2019). Natural urease inhibitors from Aloe vera resin and Lycium shawii and their structural-activity relationship and molecular docking study. *Bioorganic Chemistry*, 88, 102955. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.102955>
- Rezaei, M., Barati, S., Babamahmoodi, A., Dastan, F., & Marjani, M. (2022). The Possible Role of Bruton Tyrosine Kinase Inhibitors in the Treatment of COVID-19 : A Review. *Current Therapeutic Research*, 96, 100658.
<https://doi.org/10.1016/j.curtheres.2021.100658>

- Ringheim, G. E., Wampole, M., & Oberoi, K. (2021). Bruton's Tyrosine Kinase (BTK) Inhibitors and Autoimmune Diseases : Making Sense of BTK Inhibitor Specificity Profiles and Recent Clinical Trial Successes and Failures. *Frontiers in Immunology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.662223>
- Seeliger, D., & De Groot, B. L. (2010). Ligand docking and binding site analysis with PyMOL and Autodock/Vina. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 24(5), 417-422. <https://doi.org/10.1007/s10822-010-9352-6>
- Tovchigrechko, A., & Vakser, I. A. (2006). GRAMM-X public web server for protein-protein docking. *Nucleic Acids Research*, 34(suppl_2), W310-W314. <https://doi.org/10.1093/nar/gkl206>
- Voice, A. T., Tresadern, G., M. Twidale, R., Vlijmen, H. van, & J. Mulholland, A. (2021). Mechanism of covalent binding of ibrutinib to Bruton's tyrosine kinase revealed by QM/MM calculations. *Chemical Science*, 12(15), 5511-5516. <https://doi.org/10.1039/D0SC06122K>
- Van Leeuwen, R. W. F., Jansman, F. G. A., Hunfeld, N. G., Peric, R., Reyners, A. K. L., Imholz, A. L. T., Brouwers, J. R. B. J., Aerts, J. G., Van Gelder, T., & Mathijssen, R. H. J. (2017). Tyrosine Kinase Inhibitors and Proton Pump Inhibitors : An Evaluation of Treatment Options. *Clinical Pharmacokinetics*, 56(7), 683-688. <https://doi.org/10.1007/s40262-016-0503-3>
- Varon, C., & Mégraud, F. (2013). Infection à Helicobacter pylori et cancer gastrique. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2013(456), 67-76. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(13\)72225-1](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(13)72225-1)
- Von Raußendorf, F., De Ruiter, A., & Leonard, T. A. (2017). A switch in nucleotide affinity governs activation of the Src and Tec family kinases. *Scientific Reports*, 7(1), 17405. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17703-5>

- Wang, N.-N., Huang, C., Dong, J., Yao, Z.-J., Zhu, M.-F., Deng, Z.-K., Lv, B., Lu, A.-P., Chen, A. F., & Cao, D.-S. (2017). Predicting human intestinal absorption with modified random forest approach : A comprehensive evaluation of molecular representation, unbalanced data, and applicability domain issues. *RSC Advances*, 7(31), 19007-19018. <https://doi.org/10.1039/C6RA28442F>
- Watterson, S. H., Liu, Q., Beaudoin Bertrand, M., Batt, D. G., Li, L., Pattoli, M. A., Skala, S., Cheng, L., Obermeier, M. T., Moore, R., Yang, Z., Vickery, R., Elzinga, P. A., Discenza, L., D'Arienzo, C., Gillooly, K. M., Taylor, T. L., Pulicicchio, C., Zhang, Y., ... Tino, J. A. (2019). Discovery of Branebrutinib (BMS-986195) : A Strategy for Identifying a Highly Potent and Selective Covalent Inhibitor Providing Rapid in Vivo Inactivation of Bruton's Tyrosine Kinase (BTK). *Journal of Medicinal Chemistry*, 62(7), 3228-3250. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b00167>
- Woyach, J. A., Stephens, D. M., Flinn, I. W., Bhat, S. A., Savage, R. E., Chai, F., Eathiraj, S., Reiff, S. D., Muhowski, E. M., & Granlund, L. (2024). First-in-Human Study of the Reversible BTK Inhibitor Nemtabrutinib in Patients with Relapsed/Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia and B-Cell Non-Hodgkin Lymphoma. *Cancer discovery*, 14(1), 66-75.
- Xiong, G., Wu, Z., Yi, J., Fu, L., Yang, Z., Hsieh, C., Yin, M., Zeng, X., Wu, C., Lu, A., Chen, X., Hou, T., & Cao, D. (2021). ADMETlab 2.0 : An integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties. *Nucleic Acids Research*, 49(W1), W5-W14. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab255>
- Zhou, J.-T., Li, C.-L., Tan, L.-H., Xu, Y.-F., Liu, Y.-H., Mo, Z.-Z., Dou, Y.-X., Su, R., Su, Z.-R., Huang, P., & Xie, J.-H. (2017). Inhibition of Helicobacter pylori and Its Associated Urease by Palmatine : Investigation on the Potential Mechanism. *PLoS ONE*, 12(1), e0168944. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168944>

Annexes

Annexe 01: Résultats des propriétés pharmacocinétiques et physico-chimiques des six ligands

	Acide boswellique	Acide corosolique	Acide maslinique	Acide 11-oxoursolique	Acide fupenzique	Acide 3-oxo-euscafique
Propriété physico-chimique						
Log S log mol/L	-6.257	-6.056	-6.053	-6.068	-5.786	-5.904
Log P	7.09	6.06	6.204	6.269	6.074	5.383
Absorption						
Papp(perméabilitéCaco2) (cm/s)	-5.457	-5.25	-5.248	-5.499	-5.165	-5.141
Substrat de PGP	NON	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
HIA	++	+	+	++	++	++
Distribution						
PPB (%)	84.233	86.482	85.743	88.304	90.767	93.227
BBB	NON	NON	NON	NON	NON	NON
Métabolisme						
Inhibiteur P450 duCYP1A2	NON	NON	NON	NON	NON	NON
Inhibiteur P450 duCYP3A4	NON	NON	NON	NON	NON	NON
Inhibiteur P450 duCYP2C9	OUI	NON	NON	NON	NON	NON
Élimination						
T 1/2 (demi-vie) (heur)	1.903	1.746	1.693	1.751	1.877	1.75
Toxicité						
HERG	-	-	-	-	-	-
H-HT	---	---	---	-	-	-
AMES	---	---	---	---	---	---
Skin Sen	-	-	-	-	-	-

Annexe 02: Les résultats des propriétés pharmacocinétiques et physico-chimiques des ligands

	Uvaol	Acide ursolique	Acide betulinique	Betuleno I	Célastral	Acide pomolique	Acide oleanolique	Acide azarolique	Acide euscaphique	Acide arjunique	Acide alphaltolique	Acide 2-oxo-pomolique	Acide tormentique
Propriété physico-chimique													
Log S log mol/L	-6.432	-6.387	-6.567	-6.59	-5.902	-6.041	-6.394	ND	-5.853	-5.818	-6.27	-5.904	-5.853
Log P	6.997	7.09	7.09	6.997	6.698	6.204	7.234	ND	5.175	5.175	6.06	5.383	5.175
Absorption													
Papp(perméabilitéCaco2) (cm/s)	-5.446	-5.446	-5.375	-5.071	-5.347	-5.253	-5.43	ND	-5.009	-5	-5.166	-5.143	-5.009
Substrat de PGP	NON	NON	NON	NON	NON	OUI	NON	ND	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
HIA	++	++	++	++	++	++	++	ND	+	+	+	++	+
Distribution													
PPB (%)	83.406	83.406	84.924	83.335	88.284	87.539	82.319	ND	88.47	88.088	87.422	92.915	88.47
BBB	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	ND	NON	NON	NON	NON	NON
Métabolisme													
Inhibiteur P450 duCYP1A2	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	ND	NON	NON	NON	NON	NON
Inhibiteur P450 duCYP3A4	NON	NON	NON	NON	OUI	NON	NON	ND	NON	NON	NON	NON	NON
Inhibiteur P450 duCYP2C9	NON	NON	OUI	NON	OUI	NON	NON	ND	NON	NON	NON	NON	NON
Élimination													
T 1/2 (demi-vie) (heur)	1.819	1.754	1.798	1.82	2.118	1.752	1.735	ND	1.743	1.743	1.744	1.783	1.743
Toxicité													
HERG	-	-	-	-	-	-	-	ND	-	-	-	-	-
H-HT	---	---	---	---	-	---	---	ND	---	---	---	-	---
AMES	---	---	---	---	---	---	---	ND	---	---	---	---	-
Skin Sen	-	-	-	-	---	-	-	ND	-	-	-	-	-

Vert : bon / **Jaune** : moyen / **Rouge** : hors limites

Log S : Solubilité ; **Log P** : lipophilie ; **HERG inhibition** : Inhibition du canal du gène lié à l'éther-a-go-go humain ; **Caco-2** : carcinome colorectal humain ; **H-HT** : Hépatotoxicité humaine ; **Skin Sen** : Sensibilisation de la peau ; **PPB** : Liaison avec les protéines plasmatiques ; **Substrat de Pgp** : Substrat de la glycoprotéine P ; **BBB** : barrière hémato-encéphalique ; **T1/2** : temps de demi-vie ; **HIA** : Absorption intestinale chez l'homme.

Résumé

Le cancer ; la cause majeure des décès dans le monde ; est lié à plusieurs origines moléculaires. Les enzymes : Bruton tyrosine kinase (BTK) et l'uréase *Helicobacter pylori* (*H. Pylori*) sont derrière le développement de la leucémie lymphoïde chronique (LLC) et le cancer gastrique respectivement. Dans cette étude, ces enzymes sont sélectionnés comme cible moléculaire pour prédire, *in silico*, l'effet inhibiteur de dix-neuf triterpènes. 11 triterpènes ont montré une bonne affinité avec le site actif de l'enzyme BTK dont le mode d'action serait proche de celui des inhibiteurs de type II. Les triterpènes, qui ont montré les meilleures énergies de liaison dans ce site sont : l'acide boswellique (-9,3 Kcal/mol), l'acide maslinique (-9,5 Kcal/mol) et l'acide 11-oxo-ursolique (-9,5 Kcal/mol). Quant à l'uréase *H. Pylori*, c'est 14 molécules qui se sont fixées sur le site 2 (site actif) et les meilleurs ligands de ce site sont : l'acide corosolique (-8,6 Kcal/mol), l'acide fupenzique (-8,6 Kcal/mol) et l'acide 3-oxo-euscafique (-8,2 Kcal/mol). Le reste des molécules (5 molécules) se sont liées, par ailleurs, sur des sites secondaires lions de site 2. Ces derniers sont supposés exercer un effet inhibiteur non compétitif sur l'uréase. Pour les résultats des propriétés pharmacocinétiques et physicochimiques, les triterpènes considérés dans cette étude répondent en majorité à tous les critères de l'analyse ADMET et la règle de Lipinski ce qui feraient d'elles de présumées substances médicamenteuses.

Mot clés : Cancer ; BTK ; Uréase d'*Helicobacter pylori* ; Triterpène ; Docking moléculaire ; Analyse ADMET

Abstract

Cancer, is a leading cause of death worldwide, has several molecular origins. The enzymes Bruton tyrosine kinase (BTK) and *Helicobacter pylori* (*H. Pylori*) urease are behind the development of chronic lymphocytic leukemia (CLL) and gastric cancer, respectively. In this study, we selected these enzymes as molecular targets to predict, *in silico*, the inhibitory effect of nineteen triterpenes. 11 triterpenes showed good affinity with the active site of the enzyme BTK, with a mode of action similar to that of type II inhibitors. The triterpenes with the highest binding energies in this site were boswellic acid (-9.3 Kcal/mol), maslinic acid (-9.5 Kcal/mol), and 11-oxo-ursolic acid (-9.5 Kcal/mol). In *H. Pylori* urease, 14 molecules bind to site 2 (the acif site), and the best ligands for this site are: corosolic acid (-8.6 Kcal/mol), fupenzic acid (-8.6 Kcal/mol), and 3-oxo-euscafic acid (-8.2 Kcal/mol). The rest of the molecules (5 molecules) were associated with secondary sites far from site 2. These are thought to exert a non-competitive inhibitory effect on urease. For the results of the pharmacokinetic and physicochemical properties, the majority of the triterpenes considered in this study met all the criteria of the ADMET analysis and Lipinski's rule, which would make them presumed drug substances.

Keywords: Cancer; BTK; *Helicobacter pylori* urease; Triterpene; Molecular docking ; ADMET analysis

ملخص

السرطان، وهو السبب الرئيسي للوفاة في جميع أنحاء العالم، له عدة أصول جزيئية. وتقف إنزيمات بروتون تيروزين كيناز (BTK) وإنزيم اليوريز من *H. Pylori* وراء تطور سرطان الدم الليمفاوي المزمن وسرطان المعدة، على التوالي. في هذه الدراسة، تم اختيار هذه الإنزيمات كأهداف جزيئية للتنبؤ، *in silico*، بالتأثير المثبط لتسعة عشر من ثلاثي التربين. أظهر 11 ثلاثي التربين تقارباً جيداً مع الموقع النشط للإنزيم BTK، مع طريقة عمل مشابهة لطريقة عمل مثبطات النوع الثاني. كانت ثلاثيات التربين ذات أعلى طاقات الارتباط في هذا الموقع هي : l'acide boswellique (-9.3 كيلو سرعة حرارية/مول)، l'acide maslinique (-9.5 كيلو سرعة حرارية/مول)، و l'acide 11-oxo-ursolique (-9.5 كيلو سرعة حرارية/مول). في اليوريز من *H. Pylori*، يرتبط 14 جزيئاً بالموقع 2 (موقع الفعال)، وأفضل الروابط لهذا الموقع هي: l'acide corosolique (-8.6 كيلو سرعة حرارية/مول)، l'acide fupenzique (-8.6 كيلو سرعة حرارية/مول)، و l'acide 3-oxo-euscafique (-8.2 كيلو سرعة حرارية/مول). ارتبطت بقية الجزيئات (5 جزيئات) بمواقع ثانوية بعيدة عن الموقع 2. ويُعتقد أن هذه الجزيئات تمارس تأثيراً مثبطاً غير تنافسي على اليوريز. بالنسبة لنتائج الخواص الحركية الدوائية والفيزيائية الكيميائية، فإن غالبية الترابنترينات التي تم النظر فيها في هذه الدراسة استوفت جميع معايير تحليل ADMET وقاعدة ليبينسكي، مما يجعلها مواد دوائية مفترضة.

كلمات مفتاحية: السرطان ; بروتون تيروزين كيناز ; يوريز الهيليكوباكتر بيلوري ; ثلاثي التربينويد ; الالتحام الجزيئي ; تحليل ADMET