

N°Réf :.....

Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire préparé En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Thème :

Prédiction de nouveaux agents Antiangiogéniques à l'aide d'un criblage virtuel basé sur la structure de la cible.

Présenté par :

- HOUAMDI Safa
- KEBBABI Rayane

Devant le jury composé de :

-Présidente : MERZOUG Amina	M.C.B	Univ.A.Boussouf - Mila
-Rapporteur : BOUCHERIT Hanane	M.C.B	Univ.A.Boussouf - Mila
-Examinatrice: HADEF Sawsen	M.A.A	Univ.A.Boussouf - Mila

Année Universitaire : 2020/2021



Remerciement

Avant d'entamer ce travail, nous tenons à remercier dieu le tout de nous avoir muni de force et bonne volonté pour arriver à ce stade de nos cursus universitaire.

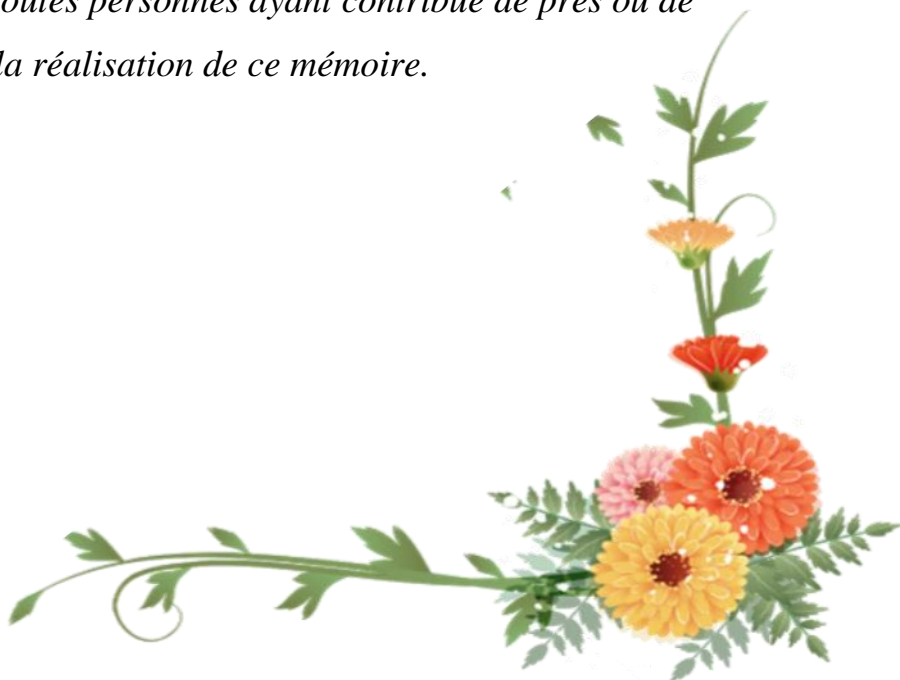
Un grand merci à notre parent pour leur contribution, leurs soutiens et leurs patiences, nous tenons à exprimer notre grande connaissance envers eux.

Nous tenons à remercier mon professeur tuteur Mme Boucherit Hanane qui a bien voulu accepter de suivre notre travail, nous diriger et qui n'a pas hésité à nous donner des précieux conseil, nous consacrer du temps et de nous écouter afin de mener ce travail à terme.

Nos profonds remerciements vont aussi à Mme HADEF Sawsen. professeur à l'Université Abdelhafid Boussouf Mila, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous tenons à exprimer toute reconnaissance à Mme MERZOUG Amina. de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.

Enfin, nous remercions toutes personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.



Dédicace

Je tiens à dédier ce modeste travail a

À ma formidable maman Samira: qui a œuvré pour ma réussite, de part par son amour, ses prières et son soutien, sa tendresse, tous les sacrifices consentis et ses conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.

À mon superbe père Maamar : qui peut être fière et trouver ici le résultat de longues années de ses sacrifices. Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi. Je suis très fière d'être votre fille et de pouvoir enfin réaliser ce que vous avez tant espéré.

À mes très chers frères Mostafa et Oussama pour leurs sacrifices leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.

À mes oncles, tantes, surtout ma princesse adorée tante « Fadila ».

À ma chère enseignante *Mme Boucherit Hanane* et mon binôme Rayane, qui n'a cessé de me soutenir et de m'aider tout le long de ce travail, un grand
MERCİ à vous.

À mes amies que j'ai vécues avec elles des bons moments : Ahlem, Chahrazed, Khadija, Khawla, Messouda, Lamyia et Yousra .

À mes amis (es) de la promotion biochimie appliquée 2021.

SAFA

The background features a delicate arrangement of purple flowers, possibly orchids, with long, thin stems and buds. A soft, flowing purple ribbon or leaf-like shape curves across the page, adding a sense of movement and elegance. The overall color palette is a range of purples, from light lavender to deep magenta, set against a pale, almost white background.

Dédicace

Je dédie ce travail Très particulièrement à mes parents

Je souhaite qu'ils soient à côté de moi. C'est grâce à eux que

je suis arrivé la aujourd'hui. A mes grandes mères.

Qui prient toujours pour moi A mes frères et ma seule chère

sœur Qui sont toujours à côté de moi. A mes oncles, tantes,

cousins et cousines. A toute ma famille, mes amies et mes

enseignants.

A toute personne. Ayant contribué de près ou de loin à

l'avancement De notre travail. Et dans toute ma vie.

Rayane

Thème : Prédiction de nouveaux agents Antiangiogénique à l'aide d'un criblage virtuel basé sur la structure de la cible.

Résumé

La découverte de l'importance de l'angiogenèse dans les mécanismes de croissance tumorale et notamment du facteur de croissance endothélial vasculaire, a permis le développement de nouvelles molécules qui sont utilisées dans la prise en charge de différents cancers. Parmi celles-ci, le but est toujours le même : bloquer la synthèse et la croissance de nouveaux vaisseaux sanguins via une action anti-VEGF, ce qui entraîne l'arrêt du développement de la tumeur cancéreuse.

De nos jours, les méthodes *in silico* sont de plus en plus employées dans les stratégies de découverte de nouvelles molécules à visée thérapeutique. Au cours de cette recherche, nous nous sommes appuyés sur le traitement de l'angiogenèse basé sur l'inhibition de la VEGFR-2 (récepteur 2 du facteur de croissance endothélial vasculaire). Une enzyme sert à l'inhibition d'angiogenèse et les problèmes de santé qui en découlent. Le programme de docking moléculaire Surfex-dock a été développé pour aider à la mise au point des molécules à activité thérapeutique. Avec un pourcentage de 85% des valeurs de RMSD inférieures ou égales à 2 Å, on peut dire que Surfex-dock est un logiciel fiable et qu'on peut l'utiliser en toute confiance pour prédire les interactions des inhibiteurs testés avec le site actif de la VEGFR-2.

Dans notre travail on s'intéresse à l'étude *in silico* de l'inhibition enzymatique par criblage virtuel avec Surfex-dock de la VEGFR-2. Cette approche permet de modéliser les interactions entre une protéine et des milliers de petits composés chimiques. En effet, une collection de 800 composés provenant à partir de la chimiothèque ZINC et une collection de 440 composés issus de la base de composés chimiques PubChem, ont été testées envers le site actif de la VEGFR-2. A l'issue de ce criblage, les composés ZINC000000001962 et CID123689476 avec des valeurs d'affinité égales à $6.91M^{-1}$ et $10.24M^{-1}$ respectivement, se présentent comme nouveaux inhibiteurs théoriquement plus actifs envers la VEGFR-2. Enfin, la prédiction *in silico* de la similitude médicamenteuse nous informe de manière positive sur les propriétés ADME-Tox de ces nouveaux composés proposés.

Mots clés : Angiogenèse, VEGFR, Criblage virtuel, Surfex-dock, RMSD, ADME-Tox.

Theme: Prediction of new antiangiogenic agents using structure based virtual screening

Abstract

The discovery of the importance of angiogenesis in the mechanisms of tumor growth, in particular of vascular endothelial growth factor, has enabled the development of new molecules which are used in the treatment of various cancers. Among these, the goal is always the same: to block the synthesis and growth of new blood vessels via anti-VEGF action, which stops the development of the cancerous tumor.

Nowadays, *in silico* methods are used more and more in the strategies for discovering new molecules for therapeutic purposes. During this research, we relied on the treatment of angiogenesis based on the inhibition of VEGFR-2 (vascular endothelial growth factor receptor 2). An enzyme used to inhibit angiogenesis. The molecular docking program Surflex-dock was developed to aid in the development of molecules with therapeutic activity. With a percentage of 85% of RMSD values less than or equal to 2 Å, it can be said that Surflex-dock is reliable software and can be used with confidence to predict the interactions of the inhibitors tested with the active site of VEGFR-2.

In our work we are interested in the *in silico* study of enzyme inhibition by virtual screening with Surflex-dock of VEGFR-2. This approach makes it possible to model the interactions between a protein and thousands of small chemical compounds. Indeed, a collection of 800 compounds originating from the ZINC chemical library and a collection of 440 compounds originating from PubChem, were tested against the active site of VEGFR-2. At the end of this screening, the compounds ZINC000000001962 and CID123689476 with affinity values equal to 6.91 M⁻¹ and 10.24 M⁻¹ respectively, appear as new inhibitors theoretically more active towards VEGFR-2. Finally, the *in silico* prediction of the similar drug positively informs us about the ADME-Tox properties of these new compounds.

Keywords: Angiogenesis, VEGFR, Virtual screening, Surflex-dock, RMSD, ADME-Tox.

الموضوع: توقع عوامل جديدة مضادة لتولد الأوعية باستخدام الفحص الافتراضي بناءً على البنية المستهدفة

الملخص

إن اكتشاف أهمية تولد الأوعية في آليات نمو الورم، و خاصة عامل نمو بطانة الأوعية الدموية قد مكن من تطور جزيئات جديدة تستخدم في علاج مختلف أنواع السرطان من بين هؤلاء، الهدف هو نفسه دائماً: منع تكوين و نمو أوعية دموية جديدة من خلال عمل مضاد لVEGF، مما يوقف تطور الورم السرطاني.

في الوقت الحاضر، يتم استخدام طرق السيليكو أكثر فأكثر في استراتيجيات اكتشاف جزيئات جديدة لأغراض علاجية. خلال هذا البحث، اعتمدنا على علاج تكوين الأوعية الدموية على أساس تثبيط VEGFR-2 مستقبل عامل النمو البطاني الوعائي 2. يستخدم إنزيم لتثبيط تولد الأوعية والمشاكل الصحية الناتجة عنه. تم تطوير برنامج الالتحام الجزيئي Surfex-dock للمساعدة في تطوير الجزيئات ذات النشاط العلاجي. مع نسبة 85% من قيم RMSD أقل من أو تساوي 2Å، يمكن القول أن Surfex-dock هو برنامج موثوق ويمكن استخدامه بثقة للتنبؤ بتفاعلات المثبطات التي تم اختبارها مع الموقع النشط ل VEGFR-2.

في عملنا، نحن مهتمون بدراسة السيليكو للتثبيط الإنزيمي عن طريق الفحص الافتراضي باستخدام Surfex-dock ل VEGFR-2. يسمح هذا النهج بنمذجة التفاعلات بين البروتين وآلاف المركبات الصغيرة. في الواقع، تم اختبار مجموعة من 800 مركب نشأت من المكتبة الكيميائية ZINC ومجموعة من 228 مركب نشأت من قاعدة مركبات Pubchem الكيميائية نحو الموقع النشط ل VEGFR2. في نهاية هذا الفحص، تظهر المركبات بقيم تقارب $6.91 \times 10^{-1} M^{-1}$ و $10.24 \times 10^{-1} M^{-1}$ على التوالي كمثبطات جديدة أكثر نشاطاً نظرياً تجاه ل VEGFR-2.

أخيراً، يُعلمنا التنبؤ في السيليكو للدواء المماثل بشكل إيجابي بخصائص ADME-Tox لهذه المركبات الجديدة المقترحة.

الكلمات المفتاحية: تكوين الأوعية الدموية، VEGFR، الفحص الافتراضي، Surfex-dock، RMSD، ADME-Tox.

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des graphes

Liste des abréviations

INTRODUCTION

CHAPITRE I: L'angiogenese

I. INTRODUCTION.....	4
II. Définition	4
III. Mécanismes de l'angiogenèse	4
III.1. Le bourgeonnement	5
III.2. L'intussusception	5
IV. Angiogenèse physiologique et tumoral	6
V. Activation de l'angiogenèse tumorale	7
VI. La régulation de l'angiogenèse.....	9
VI.1. Switch angiogénique.....	9
VII. Les facteurs anti-angiogéniques.....	10
VII.1. Inhibiteurs naturels de l'angiogenèse	10
VII.2. Inhibiteurs synthétiques de l'angiogenèse.....	10
VII.3. Autres facteurs inhibiteurs.....	11
VIII. Médicaments anti-angiogéniques	11
CHAPITRE II: Le Récepteur 2 du facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGFR2)	
I. Généralité	14
II. Définition	14
III. Structure de la VEGFR-2	15

IV. Mécanismes d'activation de la VEGFR-2.....	16
V. La structure 3D de la VEGFR-2	17
VI. VEGFR-2 Fonctions physiologiques et rôles pathologiques	20
VI.1. Fonctions physiologiques du VEGFR-2.....	20
VI.2. Rôles pathologiques du VEGFR-2 activé par la VEGF	20
VII. Inhibiteurs de la VEGFR-2	20

CHAPITRE III: Le criblage virtuel

I. Généralité	23
II. L'intérêt du criblage virtuel	25
III. Les logiciels du criblage virtuel.....	25
IV. Importance des chimiothèques dans la recherche de nouveaux candidats médicaments....	26
V. Les différentes stratégies du criblage virtuel	27
V.1. Criblage virtuel basé sur la structure de la cible « structure-based ».....	28
V.2. Criblage virtuel basé sur le ligand « ligand-based »	28
VI. Docking moléculaire	29
VII. Principaux programmes de docking moléculaire.....	31
VII.1. Les étapes de criblage virtuel par docking	31
VIII. Quelques succès du criblage virtuel par docking moléculaire.....	32

CHAPITRE IV: Matériel et méthodes

I. Matériel	35
I.1. Microordinateurs	35
I.2. Les bases de données.....	35
I.2.1. Protéine Data Bank	35
I.2.2. La chimiothèque ZINC	36
I.2.3. PubChem.....	37
I.3. Programmes	38
I.3.1. Le logiciel Surflex-dock	38

I.3.1.1. Définition	38
I.3.1.2. Etapes de docking.....	38
I.3.2. Open Babel.....	40
I.3.3. ViewerLite	40
I.3.4. SwissADME	41
I.3.5. PreADMET	43
II. Méthodes.....	44
II.1. Test de fiabilité de programme surflex-dock	44
II.1.1. Le RMSD.....	44
II.1.2. Analyse visuelle.....	44
II.2. Criblage virtuel.....	44
II.2.1. Préparation de la cible enzymatique	44
II.2.2. Préparation des ligands	45
II.2.3. Réalisation du criblage virtuel	45
II.3. Evaluation des propriétés ADME-Tox.....	45
II.3.1. Propriétés physico-chimiques.....	46
II.3.1.1. Règle de lipinski	46
II.3.1.2. Règle de veber.....	46
II.3.2. Propriétés pharmacocinétiques	47

CHAPITRE V: Résultats et discussions

I. Test de fiabilité du programme Surflex-dock	52
I.1. La précision du positionnement des composés.....	52
I.2. Analyse visuelle (La superposition des géométries du ligand)	56
II. Etude des interactions intervenant dans l'inhibition de la VEGFR2 par diverses molécules provenant de la PDB.....	59
II.1. Interaction 4ASD-BAX.....	64
II.1.1. Les acides aminés du site actif	64

II.1.2. Intérêt de la détermination du site actif	65
II.1.3. Analyse visuelle des interactions 4ASD-BAX.....	66
III. Criblage virtuel basé sur la structure de l'enzyme VEGFR2	68
III.1. Le protocole du criblage virtuel	68
III.2. Molécules sélectionnées.....	68
III.3. Prédiction du mode d'interaction des meilleurs composés.....	69
III.3.1. Interaction 4ASD- ZINC000000001962.....	69
III.3.2. Interaction 4ASD-CID123689476	71
III.3.3. Prédiction de la similarité médicamenteuse	73
III.4. Propriétés physicochimiques	73
III.5. Propriétés pharmacocinétiques	74
III.6. La toxicité	75
CONCLUSION	78
Annexes	89

Liste des tableaux

Tableau I.1. Différences entre angiogenèse physiologique et tumorale	7
Tableau I.2. Les médicaments anti-angiogéniques les plus couramment utilisés pour le traitement du cancer	11
Tableau II.1. Sites et motifs fonctionnels dans la VEGFR-2	18
Tableau III.1. Quelques exemples des logiciels de criblage virtuel	26
Tableau III.2. Les principaux programmes de docking moléculaire.....	31
Tableau III.3. Exemples de réussites de criblage virtuel de chimiothèques.....	33
Tableau V.1. Liste de 156 complexes utilisés pour calculer le RMSD.....	52
Tableau V.2. Valeurs de RMSD des trois complexes étudiés.....	56
Tableau V.3. Résultats de docking avec le programme Surflex-dock.	59
Tableau V.4. Données chimiques et structurales des composés sélectionnés comme candidats..	69
Tableau V.5. Critères de la règle de <i>Lipinski</i> pour les inhibiteurs à partir de serveurs swissADME	73
Tableau V.6. Propriétés pharmacocinétiques des inhibiteurs à partir de serveurs swissADME.	74
Tableau V.7. Le profil de toxicité relative des composés étudiés obtenus à partir de serveur preADME.....	75

Liste des figures

Figure I.1. Etapes principales de l'angiogenèse par bourgeonnement.....	5
Figure I.2. Etapes principales de l'angiogenèse par intussusception. Le procédé commence par l'avancée des deux parois opposées du lumen	6
Figure I.3. Principales étapes impliquées dans l'activation des cellules endothéliales lors de l'angiogenèse.....	8
Figure I.4. Interactions entre les activateurs et les inhibiteurs de l'angiogenèse.....	9
Figure II.1. La structure moléculaire du VEGF/VEGFR-2.	16
Figure II.2. Un modèle du récepteur VEGFR2 construit avec la modélisation d'homologie de la structure du Kit homologue.....	17
Figure II.3. Structures de certains inhibiteurs représentatifs du VEGFR-2.....	21
Figure III.1. Criblage virtuel in Silico	24
Figure III.2. Classification des méthodes de criblage virtuel	27
Figure III.3. Le criblage virtuel « structure-based ».....	28
Figure III.4. Le criblage virtuel « ligand-based ».....	29
Figure III.5. Docking protéine-ligand.....	30
Figure III.5. Principales étapes de docking	30
Figure III.7. Criblage virtuel par docking moléculaire.....	32
Figure IV.1. Interface de la Protein Data Bank.....	36
Figure IV.2. Interface de la chimiothèque ZINC	37
Figure IV.3. Interface de la PubChem	38
Figure IV.4. Capture d'écran du logiciel Open Babel.	40
Figure IV.5. Capture d'écran du logiciel ViewerLite.	41
Figure IV.6. Interface graphique du serveur SwissADME	42
Figure IV.7. Interface graphique de serveur PreADMET.....	43
Figure IV.8. Répartition de molécules métabolisées par les différentes iso-enzymes de CYP450	48

Figure IV.9. Schéma explicatif de test d'Ames	49
Figure V.1. Superposition du ligand 3IU9 donné par rayon-X (coloré en vert) et par docking moléculaire (coloré en rouge) avec Surfex-dock.	57
Figure V.2. Superposition du ligand 1C23donné par rayon-X (coloré en vert) et par docking moléculaire (coloré en rouge) avec Surfex-dock.	57
Figure V.3. Superposition du ligand 1EUS donné par rayon-X (coloré en vert) et par docking moléculaire (coloré en rouge) avec Surfex-dock.	58
Figure V.4. Action d'une enzyme	65
Figure V.5. Docking moléculaire de l'inhibiteur BAX. A : Complexe enzyme-inhibiteur (4ASD-BAX). B : Représentation de la cavité du site actif de la VEGFR avec l'inhibiteur BAX.	66
Figure V.6. Représentation des liaisons hydrogène formées par l'inhibiteur BAX dans le site actif de la VEGFR2.	67
Figure V.7. Représentation des interactions hydrophobiques formées par l'inhibiteur BAX.	68
Figure V.8. Représentation des interactions hydrophobiques formées par l'inhibiteur ZINC000000001962.....	70
Figure V.9. Représentation des liaisons hydrogène formées par l'inhibiteur ZINC000000001962.....	71
Figure V.10. Représentation des liaisons hydrogène formées par l'inhibiteur CID123689476....	72
Figure V.11. Représentation des liaisons hydrophobes formées par l'inhibiteur CID123689476.	72

Liste des graphes

Grappe V.1. Résultat en pourcentage du test RMSD à deux intervalles. 55

Grappe V.2. Résultats en % obtenu par Surfex-dock à diverse intervalles de RMSD (Å)..... 55

Liste des abréviations

aa: Acide Aminé.

ADME : Absorption, distribution, métabolisme et excrétion

ADME-Tox : Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion et de Toxicité

ATP: Adénosine triphosphate.

BFGF: Basic Fibroblast Growth Factor.

BHE : Barrière Hémato-Encéphalique.

CE : Cellules Endothéliales .

ECD : Domaine Extracellulaire domaine juxtamembranaire.

CD309 : antigen, recpteur de VEGF.

CTD : Un domaine C terminal flexible.

CYP : Cytochrome P450.

3D : Troidimension.

FGFR : Fibroblast Growth Factor Receptor.

Flk-1 : Foetal Kinase 1.

JMD : Domaine Juxtamembranaire.

hERG :The humun Ether-à-go-go-Related Gene

IgD2 : Immunoglobulin D 2.

IgD3 : Immunoglobulin D3.

KDR :Récepteur de domaine d'insertion de kinase.

KID : Le domaine d'insertion de kinase.

LBDD: Ligand-Based Drug Design.

Log P : Logarithme de Coefficient de Partage.

MEC : Matrice Extracellulaire.

MVD : Molegro virtuel Docker

NCK : Non catalytic region of tyrosine kinase.

PDGF : Platelet Derived Growth Factor.

PDGFR : Platelet Derived Growth Factor Receptor.

PDB: Protein Data Bank

PI3K : Phosphoinositide- Kinase Inhibitor.

PLC γ : Phospholipase C γ .

QSAR : Quantitative Structure-Activity Relationship: Relation quantitative structure-activité.

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire.

RMS : Root Mean Square: Moyenne quadratique.

RMSD : Root Mean Square Deviation: Ecart quadratique moyen.

RTK : Récepteurs Tyrosine Kinases.

R&D : Recherche et Développement.

SBDD : Structure-Based Drug Design.

SCK : Shc-like protein.

SHB : SH2 Domain Containing Adaptor Protein B.

SMILES : Simplified Molecular-Input Line-Entry System.

TIMP : Tissue Inhibitors of Metalloproteinases.

TKD : Domaine Catalytique de Tyrosine Kinas.

TKD1 : Le domaine de liaison ATP.

TKD2 : Le domaine de phosphotransférase.

TMD : Domaine Trans-membranaire.

VEFR : Vascular Endothelial Factor Receptor.

VEGFR : Vascular Endothelial Growth Factor Receptor.

VEGFR-1: Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 1.

VEGFR-2: Vascular Endothelial Growth Factor Receptor2.

VEGFR-3: Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 3.

VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor.

VEGF-A : Vascular Endothelial Growth Factor-A.

VEGF-C : Vascular Endothelial Growth Factor-C.

VEGF-D : Vascular Endothelial Growth Factor-D.

Introduction



INTRODUCTION

Malgré les innovations thérapeutiques réalisées dans le domaine de l'oncologie au cours des dernières décennies, le cancer reste la première cause de mortalité chez l'homme et la deuxième cause de mortalité chez la femme. Le cancer est donc une priorité en matière de santé publique comme l'illustre la mise en place du « Plan Cancer 2009-2013 » [1]. Une approche ciblée des cancers nous conduit indéniablement à nous poser la question de la différenciation d'une cellule saine d'une cellule tumorale. L'attention se tourne alors sur la capacité d'une tumeur à induire sa propre vascularisation par le processus d'angiogenèse. Il s'agit d'un mécanisme de formation de nouveaux vaisseaux sanguins à partir d'un réseau capillaire préexistant. Il est particulièrement important et indispensable au cours de nombreux processus physiologiques tels que le développement embryonnaire, l'implantation du placenta, la réparation des tissus endommagés...etc. Mais il intervient également au cours de certaines pathologies, en particulier lors de la croissance des tumeurs et le développement des métastases. Une révolution conceptuelle récente dans le traitement du cancer consiste à cibler le réseau vasculaire qui irrigue une tumeur [2].

En effet, l'angiogenèse est modulée par des facteurs de croissance qui vont interagir avec certains récepteurs surexprimés sur les cellules endothéliales des vaisseaux avoisinant la tumeur, ce qui permet de différencier les néovaisseaux tumoraux de la vascularisation quiescente. Le ciblage consiste alors à profiter de cette surexpression pour s'interposer entre le facteur et son récepteur pour inhiber le signal angiogénique. Un agent de ciblage anti-angiogénique a ainsi vu le jour, sous le nom de VEGFR ou le récepteur 2 du facteur de croissance endothélial vasculaire [2].

La VEGFR-2 est une enzyme clé de l'angiogenèse et l'un des deux récepteurs à tyrosine kinase. La VEGFR-2 est considéré comme le principal médiateur de plusieurs effets physiologiques et pathologique du VEGF ceux-ci inclue la prolifération, la survie, la migration et la perméabilité [3]. Par conséquent, l'inhibition de l'activité VEGFR-2 apparait comme une stratégie thérapeutique potentielle contre l'angiogenèse induite par la tumeur [4].

De nos jours, un nombre énorme de composés chimiques sont disponibles dans diverses bases de données pour aider à la découverte des médicaments via le criblage virtuel tel que la chimiothèque ZINC [5]. Le terme criblage virtuel ou "*virtual screening*" regroupe un ensemble de techniques computationnelles ayant pour objectif l'analyse de grandes bases de données de

composés chimiques afin d'identifier des candidats médicaments, ce qui est considéré comme une étape complémentaire des approches expérimentales [6, 7].

Notre recherche consiste à étudier le mode d'inhibition d'une enzyme impliquée dans l'angiogenèse, et plus précisément, la recherche de nouvelles molécules à potentiel thérapeutique ciblant la VEGFR-2 en appliquant la méthode de criblage virtuel basé sur la structure de la cible.

Nous faisons ce travail en cinq chapitres. Dans le premier chapitre nous avons effectué une recherche bibliographique représente un aperçu général sur l'angiogenèse et ses différents types. Le second chapitre sera consacré à la présentation de la cible VEGFR2. Le troisième chapitre est consacré à l'étude bibliographique de l'application du criblage virtuel, qui représente un moyen de plus en plus utilisé pour détecter *in silico* des inhibiteurs de cibles d'intérêt thérapeutique. Le quatrième chapitre présente les matériaux et les méthodes utilisés dans cette recherche. Enfin, le cinquième chapitre expose l'essentielle de nos résultats et discussions.

CHAPITRE I:

L'angiogenèse



I. INTRODUCTION

L'angiogenèse est caractérisée par la prolifération, la différenciation et la migration de cellules endothéliales (CE) sur la base de capillaires ou de veinules existants pour générer de nouveaux vaisseaux sanguins. Dans des circonstances normales, les vaisseaux sanguins sont régulés par de multiples facteurs angiogéniques qui favorisent ou inhibent l'angiogenèse pour maintenir l'homéostasie. Cependant, une prolifération active et un métabolisme énergétique accru sont des caractéristiques d'une tumeur. Le cancer primitif ou métastatique repose sur l'angiogenèse et la formation d'un riche réseau de vaisseaux sanguins. En réponse à sa propre nécrose cellulaire, les cellules tumorales régulent le microenvironnement en libérant des profacteurs ou en bloquant la libération de facteurs anti-angiogéniques. En activant le « commutateur d'angiogenèse » dans la tumeur, le système vasculaire est stimulé pour faire germer de nouveaux vaisseaux sanguins, afin d'obtenir plus d'énergie et d'oxygène, et de favoriser la prolifération de la tumeur. Pendant ce temps, les cellules tumorales se propagent et se métastasent dans d'autres parties du corps [8].

II. Définition

L'angiogenèse désigne un ensemble de processus conduisant à la formation de nouveaux vaisseaux sanguins à partir d'un réseau vasculaire préexistant. Ce phénomène est exploité par les tumeurs pour drainer vers elles l'oxygène et les nutriments nécessaires à leur croissance. Il constitue en cela une étape clé du développement de nombreux cancers et une cible d'intérêt pour la mise au point de traitements [9].

III. Mécanismes de l'angiogenèse

La connaissance des mécanismes moléculaires qui gouvernent l'angiogenèse est importante pour le développement de nouveaux moyens thérapeutiques ayant pour but d'empêcher ou de stimuler la formation de nouveaux vaisseaux sanguins selon les circonstances.

Trois mécanismes fondamentaux de l'angiogenèse ont été identifiés : l'angiogenèse par bourgeonnement (sprouting), l'intussusception (splitting) et la septation (bridging). Le dernier mécanisme se caractérise par la création de canaux vasculaires séparés à l'intérieur des vaisseaux suite à la croissance des cellules endothéliales, ce qui conduit à des ponts entre branches vasculaires [10]. Ce mécanisme étant encore mal connu, il ne sera pas davantage détaillé.

III.1. Le bourgeonnement

L'angiogenèse par bourgeonnement a été le premier mécanisme identifié. Au cours du sprouting, les cellules endothéliales (CE) sont tout d'abord activées par des facteurs de croissance liés à leurs récepteurs et vont libérer des enzymes (des protéases), ce qui conduit à la dégradation de la membrane basale et de la matrice extracellulaire (MEC). La migration orientée des CE à l'aide de molécules d'adhésion nommées intégrines est suivie d'une phase de prolifération dans la matrice environnante. Enfin, par différenciation et polarisation, les CE s'organise en structures tubulaires avec une nouvelle lame basale, des germes (sprouts) se connectent aux vaisseaux voisins et forment un lumen. Afin de stabiliser ces néovaisseaux immatures, les CE vont induire la mise en place de la paroi vasculaire et la MEC va se régénérer. Ce procédé est contrôlé par une balance de facteurs pro- et anti angiogénique[11].

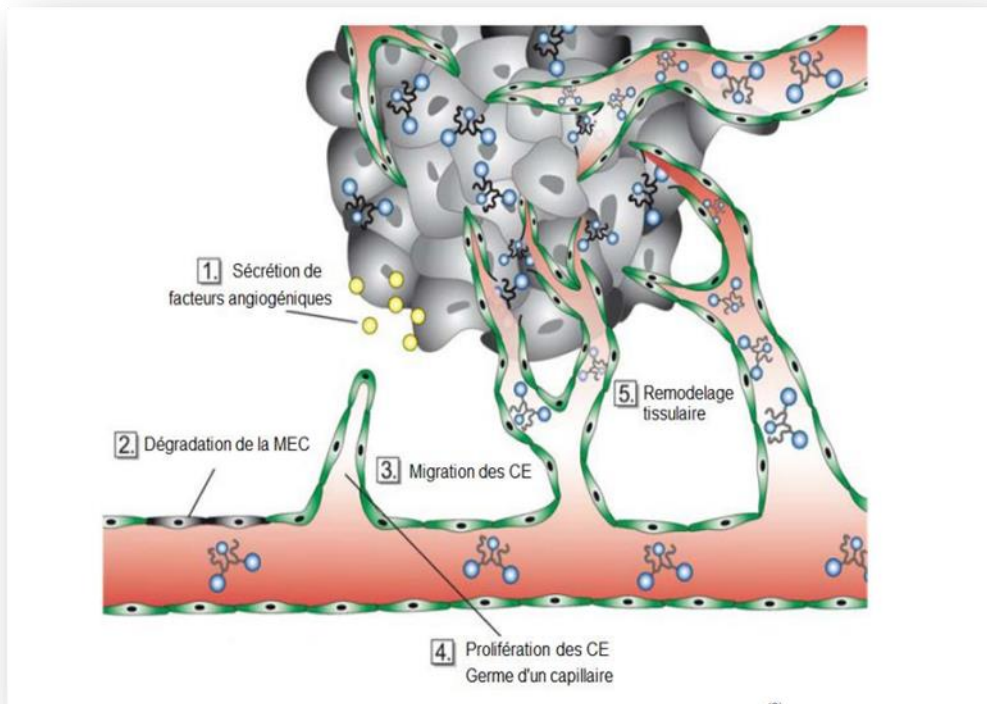


Figure I.1. Etapes principales de l'angiogenèse par bourgeonnement [12].

III.2. L'intussusception

L'intussusception désigne, en physiologie, le mode d'accroissement d'un organisme ou d'une cellule vivante, par la pénétration et l'incorporation de matériaux et/ou d'éléments nutritifs empruntés au monde extérieur. Contrairement à l'angiogenèse par bourgeonnement qui est un mécanisme bien défini, l'angiogenèse par intussusception (splitting) est un concept relativement

récent, découvert de manière fortuite par Peter H. Burri et son équipe en 1990 alors qu'ils travaillaient sur la transformation du réseau capillaire dans les poumons chez le rat et l'humain [13]. Elle est caractérisée par un élargissement et une séparation (split) des vaisseaux déjà formés. Elle ne nécessite pas une prolifération importante des CE mais plutôt un réarrangement des structures préformées. Elle se décompose en quatre étapes. Tout d'abord, les parois des deux capillaires opposés entrent en contact et forment un pont inter-endothélial d'environ 1 μm de diamètre. Il s'ensuit une réorganisation des jonctions intercellulaires de l'endothélium avec une perforation centrale de la bicouche endothéliale pour permettre aux facteurs de croissance et aux cellules de pénétrer dans le lumen. Puis, un cœur interstitiel appelé pilier est formé entre les deux nouveaux vaisseaux au niveau de la zone de contact qui est envahie par les péricytes et les myofibroblastes. Enfin, ces cellules se déposent en fibres de collagène afin de fournir une matrice extracellulaire pour le grossissement des capillaires sans qu'elles changent de structure. Ce mécanisme angiogénique prédomine par exemple dans les poumons qui contiennent des précurseurs endothéliaux intrinsèques qui sont initialement vascularisés par vasculogénèse. [14,15]

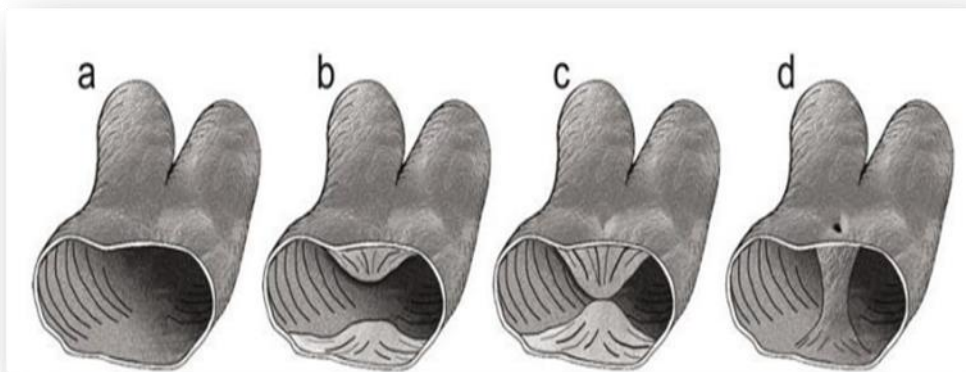


Figure I.2. Etapes principales de l'angiogenèse par intussusception. Le procédé commence par l'avancée des deux parois opposées du lumen (a-b). Après que le contact ait été établi (c), la bicouche endothéliale est perforée et un pilier est formé [16].

IV. Angiogenèse physiologique et tumeural

L'angiogenèse physiologique joue un rôle central au cours de développement embryonnaire et plus tard, dans la vie adulte, chez la femelle appareil reproducteur dans l'ovaire et dans l'utérus, pendant quelques jours chaque mois. L'angiogenèse dans une plaie est également de courte durée, ne dure généralement pas plus de 2 semaines. Par conséquent, deux caractéristiques de l'angiogenèse physiologique sont sa brièveté et le fait que de nombreux

nouveaux vaisseaux sanguins capillaires régresseront ou deviendront des microvaisseaux « établis ».

L'angiogenèse pathologique se produit dans la formation de tumeurs et dans l'inflammation chronique, et persiste sans relâche pendant des mois ou années. Les cellules endothéliales continuent de proliférer rapidement, les nouveaux vaisseaux sanguins sont à parois minces et pauvres en péricytes, et rarement régresser spontanément [17].

Tableau I.1. Différences entre angiogenèse physiologique et tumorale [18].

Vascularisation normale adulte	Néovascularisation tumorale
Quiescence	Remodelage permanent
Arborescence organisée, hiérarchisée	Réseau anarchique, excès de communicantes et d'anastomoses
Diamètre régulier	Diamètre irrégulier
Débit régulier, équilibre des échanges gazeux et ioniques	Débit turbulent, chaotique, présence de régions hypoxiques et hyperacides
Pression interstitielle faible	Pression intratumorale élevée
Vaisseaux matures	Vaisseaux immatures
Tonus vaso-actif régulé	Perte du tonus vaso-actif
Présence de péricytes organisés	Absence de péricytes
Endothélium continu, étanche	Endothélium fenestré, discontinu, perméable
Membrane basale continue	Membrane basale discontinue ou absente
Cellules endothéliales bien différenciées	Mosaïque de cellules endothéliales et de cellules tumorales
Jonctions interendothéliales serrées	Jonctions interendothéliales lâches
Autonomie de survie des cellules endothéliales	Survie dépendante du VEGF
Récepteurs au VEGF en nombre normal	Récepteurs au VEGF en nombre augmenté

V. Activation de l'angiogenèse tumorale

L'angiogenèse peut devenir pathologique lorsque la croissance des nouveaux capillaires devient incontrôlée. Les cellules endothéliales sont parmi les plus stables de l'organisme ; leur temps de renouvellement peut excéder 1000 jours, mais cette durée peut être réduite à seulement cinq jours lors de l'angiogenèse. Cette conversion des cellules endothéliales à un état actif implique plusieurs processus distincts mais interdépendants.

- Leur stimulation par différents facteurs angiogéniques, les plus couramment observés étant le BFGF (basic fibroblast growth factor) et le VEGF (vascular endothelial growth factor) ; ces facteurs sont sécrétés, soit directement par les cellules tumorales en

réponse à des conditions d'hypoxie ou à la suite d'une activation par certains oncogènes, soit indirectement par la stimulation de cellules inflammatoires ;

- La pénétration de la membrane basale de la matrice extracellulaire séparant les cellules endothéliales du tissu sous-jacent par la sécrétion d'enzymes protéolytiques tel l'activateur tissulaire du plasminogène, cette sécrétion étant induite par les facteurs monogéniques ;
- La migration des cellules endothéliales vers la source du stimulus angiogénique ;
- La prolifération des cellules endothéliales pour former les nouveaux vaisseaux ;
- La sécrétion de composants de la membrane basale qui contribuent au remodelage du tissu et à la formation d'un réseau de capillaires.

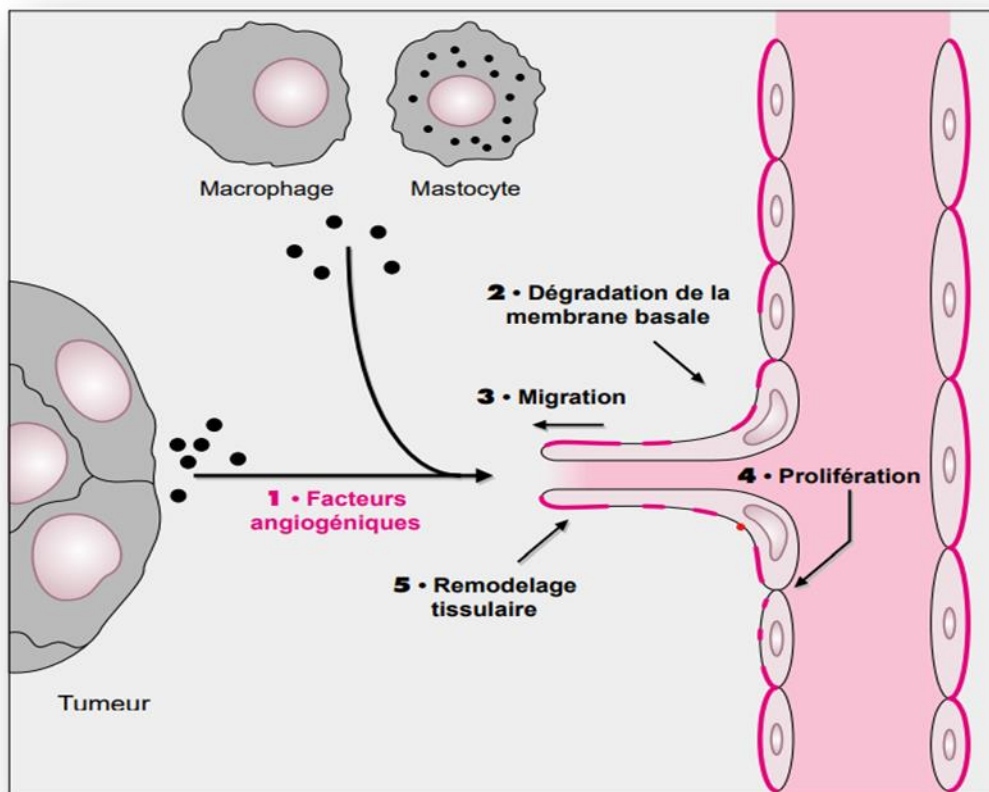


Figure I.3. Principales étapes impliquées dans l'activation des cellules endothéliales lors de l'angiogenèse [19].

La figure I.3 représente les principales étapes d'activation des CE lors de l'angiogenèse :

1. Les tumeurs sécrètent diverses molécules angiogéniques, comme le bFGF et le VEGF, qui sont exportées hors des cellules tumorales et diffusent à travers le tissu pour atteindre les vaisseaux.
2. Ces molécules angiogéniques stimulent la production de collagénases et de l'activateur du plasminogène par les cellules endothéliales, permettant la dégradation de la membrane basale entourant le vaisseau.
3. Les cellules endothéliales peuvent alors migrer vers la source du stimulus et amorcer le bourgeonnement du vaisseau parental.
4. Les cellules endothéliales prolifèrent rapidement pour permettre aux vaisseaux de prendre une expansion.
5. La synthèse de composantes de la matrice extracellulaire par les cellules composant les nouveaux vaisseaux permet le remodelage du réseau capillaire [19].

VI. La régulation de l'angiogenèse

VI.1. Switch angiogénique

Le passage de l'état de repos à l'état activé des vaisseaux (induction de l'angiogenèse, « angiogenic switch ») est déclenché par la rupture de l'équilibre relatif entre les facteurs activateurs et les facteurs inhibiteurs. Le statu vasculaire de repos est maintenu dans les tissus grâce à la prédominance des facteurs anti-angiogéniques sur les facteurs pro-angiogéniques. La diminution des inhibiteurs et/ou l'augmentation des activateurs entraîne un déplacement de l'équilibre en faveur des activateurs et induit par conséquent une néovascularisation [8].

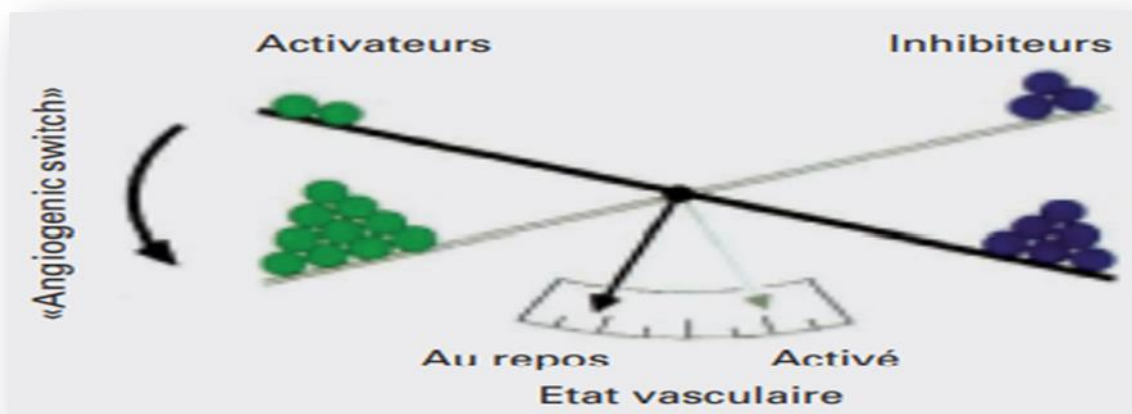


Figure I.4. Interactions entre les activateurs et les inhibiteurs de l'angiogenèse [19].

VII. Les facteurs anti-angiogéniques

VII.1. Inhibiteurs naturels de l'angiogenèse

➤ La trombospondine

Localisée surtout au niveau périvasculaire, la trombospondine est une protéine de la matrice extracellulaire. Elle bloque la prolifération, la migration et la différenciation des cellules endothéliales, ce qui entraîne la stabilisation des vaisseaux.

➤ Les interférons

Les interférons font partie des facteurs inhibant l'angiogenèse, cependant, ils ne sont pas capables de provoquer seuls la régression importante de l'angiogenèse. Ils empêchent la migration des cellules endothéliales et interviennent dans le blocage de la production ou de l'efficacité des facteurs angiogéniques.

➤ Les inhibiteurs des métalloprotéinases

Les inhibiteurs des métalloprotéinases de la matrice (TIMP) bloquent la dégradation de la matrice extracellulaire et inhibent ainsi l'angiogenèse. On les retrouve au niveau de nombreuses cellules et de nombreux tissus. Ils empêchent la prolifération et la migration des cellules tumorales et des cellules endothéliales.

➤ L'angiostatine

L'angiostatine est un petit peptide qui provient du clivage enzymatique du plasminogène circulant. Ce fragment du plasminogène inhibe spécifiquement la prolifération et la migration des cellules endothéliales.

➤ L'endostatine

Comme son précédent, l'endostatine est un petit peptide qui provient du clivage du collagène XVIII. Elle inhibe la prolifération des cellules endothéliales. De même que l'angiostatine, cette molécule dérivée des tumeurs induit l'apoptose des cellules endothéliales tumorales.

VII.2. Inhibiteurs synthétiques de l'angiogenèse

L'angiogenèse peut être inhibée par des anticorps anti-intégrines. Celles-ci sont impliquées notamment dans la migration et la prolifération cellulaire. Au même titre que les anticorps, des

antagonistes des intégrines provoqueront l'arrêt de la croissance des nouveaux vaisseaux. Les cellules endothéliales des vaisseaux matures préexistants ne seront quant à elles pas touchées.

VII.3. Autres facteurs inhibiteurs

La fumagilline, qui est antibiotique, inhibe la prolifération des cellules endothéliales. Des études sont en cours concernant la thalidomide, afin de mieux comprendre son activité anti-angiogénique [20].

VIII. Médicaments anti-angiogéniques

Dans le développement d'agents anti-angiogéniques, quatre stratégies principales sont utilisées : l'inhibition de facteurs endogènes qui favorisent la formation de vaisseaux sanguins, l'identification et l'application d'inhibiteurs naturels de l'angiogenèse, l'inhibition de molécules qui favorisent l'invasion des tissus environnants par vaisseaux sanguins tumoraux, et l'incapacité des cellules endothéliales proliférant activement. Parmi les médicaments anti-angiogéniques actuellement disponibles, le bevacizumab, le sunitinib, le pazopanib, l'endostar, le régorafénib, l'axitinib, le sorafenib, le ranibizumab et l'aflibercept sont les plus appliqués dans le traitement des divers types de cancer (tableau I.2)[21].

Tableau I.2. Les médicaments anti-angiogéniques les plus couramment utilisés pour le traitement du cancer [21].

Médicament anti-angiogénique	Cibles	Les usages	Effets secondaires
bevacizumab	Isoformes du VEGF A	glioblastome du cancer colorectal	Hypertension Protéinurie gastro-intestinal perforations saignement gastro-intestinal
sunitinib	VEGFR PDGFR récepteur de facteur de cellules souches Récepteur du facteur 1	carcinome à cellules rénales tumeurs stromales gastro-intestinales	la diarrhée Hypertension décoloration de la peau mucite

	stimulant les colonies récepteur tyrosine kinase de type fms récepteur du facteur neurotrophique		fatigue hypothyroïdie
pazopanib	VEGF PDGF FGFR récepteur de facteur de cellules souches Récepteur du facteur 1 stimulant les colonies Protéine spécifique aux lymphocytes récepteur tyrosine kinase	cancer du rein cancer épithélial de l'ovaire sarcome des tissus mous	hypertension artérielle repolarisation ventriculaire anormale

L'étude de l'angiogenèse au cours de la croissance des tumeurs constitue un secteur de recherche en pleine effervescence. Cet intérêt provient de résultats importants, tant au niveau fondamental que clinique, montrant que la progression tumorale est très étroitement liée au degré de néovascularisation intra tumorale. L'inhibition de cette néovascularisation par des composés perturbant certaines étapes moléculaires et cellulaires associées au développement des nouveaux vaisseaux est actuellement à l'étude dans plusieurs essais cliniques, et pourrait permettre le développement de traitements contrôlant la progression de métastases. C'ainsi qu'ont été développés des essais précliniques de substances anti-oncogéniques, artificielles ou naturelles, et agissant à plusieurs niveaux : l'inhibition de l'action des facteurs angiogéniques sur leurs récepteurs, l'inhibition du signal angiogéniques intracellulaires et l'altération de l'adhérence des cellules endothéliales à la matrice extracellulaire [19]. En ce qui concerne la synthèse d'inhibiteurs de l'angiogenèse, les cibles les plus approfondies sont celles du FGF (fibroblast growth facto) et du VEGF (vascular endothelial growth factor).

CHAPITRE II:

Le Récepteur 2 du facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGFR2)



I. Généralité

De nombreux facteurs de croissance et cytokines sont impliqués dans l'angiogenèse. Parmi toutes les molécules angiogéniques connues, le facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF) et ses récepteurs (VEGFR) sont des stimuli essentiels de l'angiogenèse physiologique et pathologique [22, 23]. Le VEGF se lie à des récepteurs transmembranaires spécifiques sur les cellules endothéliales (CE) et les vaisseaux lymphatiques et conduit à la phosphorylation de diverses protéines de transduction du signal [24]. Il existe cinq membres dans la famille des VEGFR et les principaux sous-types sont les VEGFR1–3, qui sont principalement situés à la surface des CE des tissus normaux et uniquement surexprimés au cours de l'angiogenèse embryonnaire et tumorale. Le VEGFR2 est l'effecteur majeur pour l'exécution de la prolifération cellulaire stimulée par le VEGF, la perméabilité vasculaire, la migration cellulaire et la survie cellulaire, conduisant à l'angiogenèse [23]. La production de VEGF est élevée de manière disproportionnée en raison de l'activation de l'oncogène [25], de la perte de la fonction suppresseur de tumeur [36, 27], ou des changements dans l'état de l'oxygène ou du glucose [28, 29]. Par conséquent, le VEGFR2 est fortement autophosphorylé dans les tumeurs par une expression élevée de VEGF.

II. Définition

Le récepteur 2 du facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGFR2) est une glycoprotéine de 210-230kda [30] qui est un récepteur tyrosine kinase de type V principalement connu pour être exprimé dans les cellules endothéliales vasculaires et codé par le gène KDR. Ce récepteur répond au signal de liaison au facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF), qui initie une cascade de phosphorylation qui implique finalement des cibles de régulation nucléaire entraînant une amélioration de la prolifération et de la migration endothéliales. La protéine VEGFR2 est également connue sous le nom de KDR (récepteur de domaine d'insertion de kinase), Flk-1 (foetal kinase 1) et CD309 [31], son ligand, le VEGF est puissant régulateur de l'angiogenèse identifié en premier lieu pour son activité sur la perméabilité vasculaire. C'est une molécule à action paracrine, c'est-à-dire qu'elle agit à distance du lieu où elle a été produite et sa présence doit être finement régulée dans l'espace, le temps et en nombre pour éviter les désordres vasculaires [32].

Le VEGFR-2 est principalement distribué dans les cellules endothéliales vasculaires, les cellules endothéliales lymphatiques et les cellules précurseurs embryonnaires, et peut se lier au VEGF-A, VEGF-C et VEGF-D. Le VEGF médie la prolifération, l'invasion et la migration des

cellules endothéliales, ainsi que la survie, et augmente la perméabilité vasculaire et la néovascularisation [33].

III. Structure de la VEGFR-2

Le VEGFR-2 de pleine longueur est composé de 1356 acides aminés dont un peptide signal (1~19 aa) et une protéine mature (20~1356 aa). En tant que protéine transmembranaire mature, le VEGFR-2 est divisé en domaine extracellulaire (ECD, 20~764 aa), domaine transmembranaire (TMD, 765~789 aa), domaine juxtamembranaire (JMD, 790~833 aa), domaine catalytique de tyrosine kinas (TKD, 834~1162 aa) comprenant le domaine de liaison ATP (TKD1, 834~930 aa), le domaine d'insertion de kinase (KID, 931~998 aa) et le domaine de phosphotransférase (TKD2, 999~1162 aa), et un domaine C terminal flexible (CTD, 1163~1356 aa) schématisé sur la figure II.1.

L'ECD est composé de 7 sous-domaines de type immunoglobuline, IgD1 (46~110 aa), IgD2 (141~207 aa), IgD3 (224~320 aa), IgD4(328~414 aa), IgD5 (421~548 aa) , IgD6 (551~660 aa) et IgD7 (667~753 aa) (figure II.1.A).Des recherches ont montré que l'IgD1 est impliquée dans la régulation de la liaison des récepteurs aux ligands ; tandis que l'IgD2 et l'IgD3 sont nécessaires pour une liaison étroite avec la dimérisation et l'activation du VEGF dimère et du VEGFR-2 induite par le VEGF ; les IgD2 et IgD4 peuvent affecter le taux de liaison du ligand ; les IgD5 et IgD6 peuvent être impliquées dans l'impact des molécules réceptrices en se déliant des ligands ; et l'IgD7 joue un rôle crucial dans la dimérisation et la régulation des récepteurs (figure II.1. B et C).

La TKD est la région la plus conservée parmi les VEGFR. Ce noyau de protéine kinase du VEGFR-2 a une structure spatiale à deux lobes qui forme le centre actif entre les deux lobes. À l'extrémité N-terminale du domaine tyrosine kinas intracellulaire, il y a une poche hydrophobe contenant une boucle de liaison phosphate ATP riche en glycine (GXGXXG, 841~846 aa) dans les structures en feuillets. Au TKD C-terminal, il existe plusieurs structures hélicoïdales, y compris une boucle catalytique (HRDLAARN, 1026~1033 aa) et une boucle d'activation (A-loop, 1045~1075 aa), qui jouent un rôle important dans l'activité catalytique de VEGFR-2 (figure II.1. A et D).

Dans le VEGFR-2 humain, il existe 18 sites de glycosylation liés à N, 15 sites de phosphorylation et de nombreux sites de liaison à l'ATP et sites de liaison au substrat, qui jouent un rôle important dans les modifications post-traductionnelles de VEGFR-2, le repliement des

protéines, l'activation des protéines et l'attachement cellulaire, et peut en outre moduler la fonction de VEGFR-2[33].

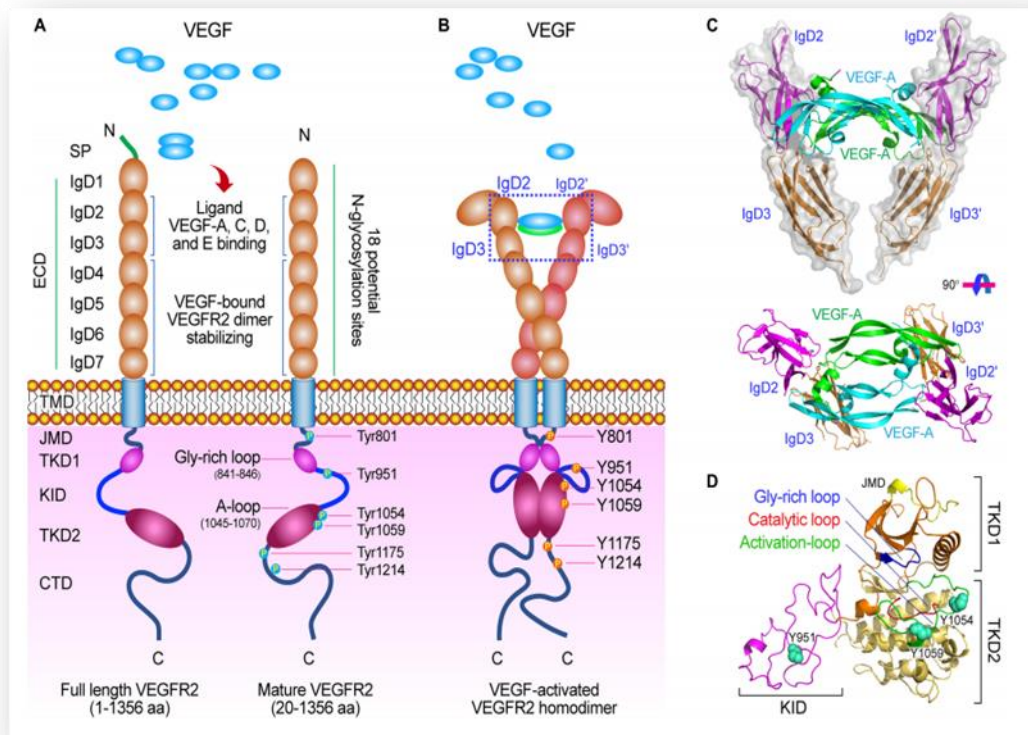


Figure II.1. La structure moléculaire du VEGF/VEGFR-2. (A) La structure de VEGFR-2.(B) Homodimère VEGFR-2 activé par le VEGF. Après la liaison des VEGF au VEGFR-2, les résidus tyrosine cruciaux sur le TKD ont été phosphorylés et sont impliqués dans la médiation des voies de signalisation en aval. (C) Structure moléculaire de VEGF-A se liant à IgD2 et IgD3 de VEGFR-2. (D) Structure moléculaire de TKD de VEGFR-2, y compris TKD1 (lobe N), KID et TKD2 (lobe C). Il existe trois motifs importants : la boucle riche en glycine (bleu, 841-846 aa), la boucle catalytique (rouge, 1026-1033 aa) et la boucle d'activation (vert, 1045-1075 aa) et trois sites de phosphorylation cruciaux (sphères) sur le TKD : Tyr951 sur le KID, et Tyr1054 et Tyr1059 sur le TKD2 [33].

IV. Mécanismes d'activation de la VEGFR-2

VEGFR-2 est activé par la liaison de VEGF-A, -C et -D à ses domaines de type Ig 2 et 3 (Figure II.1C). Semblable à d'autres récepteurs tyrosine kinases (RTK), la signalisation cellulaire médiée par VEGFR-2 est stimulée et initiée lors de la liaison de son dimère de ligand aux domaines 2 et 3 de type Ig du récepteur extracellulaire. Cette interaction ligand-récepteur provoque l'homodimérisation et l'hétérodimérisation du VEGFR-2 suivies de la phosphorylation de résidus

tyrosine spécifiques situés dans la région intracellulaire, y compris le domaine juxta membranaire, le domaine tyrosine kinase et le domaine carboxy-terminal. Par la suite, diverses molécules de signalisation sont recrutées dans les dimères de VEGFR-2 qui activent les voies de signalisation en aval et affectent finalement les caractéristiques physiologiques des cellules endothéliales et de l'ensemble de l'environnement vasculaire [33].

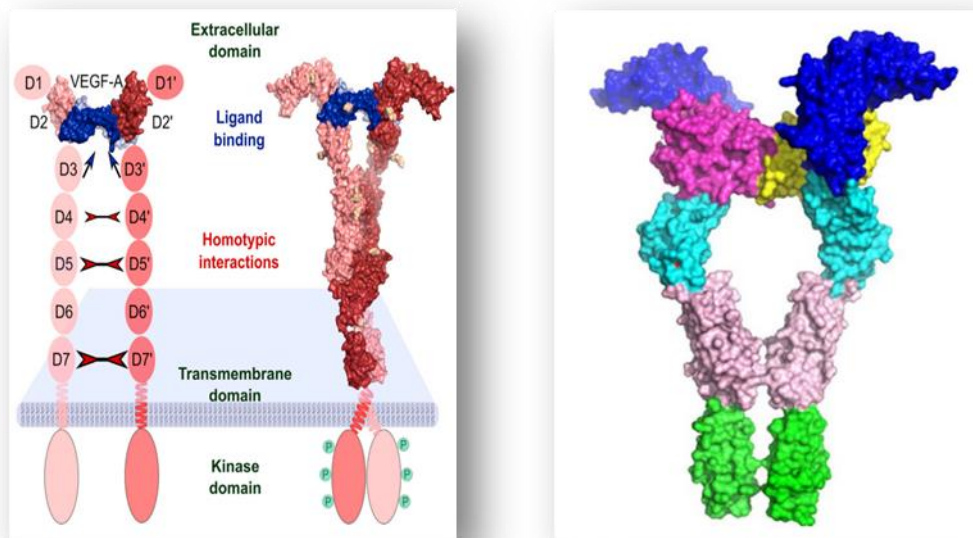


Figure II.2. Un modèle du récepteur VEGFR2 construit avec la modélisation d'homologie de la structure du Kit homologue [34.35].

V. La structure 3D de la VEGFR-2

Le complexe dimère VEGFR2-VEFR est représenté en surface, avec les différents domaines donnés en différentes couleurs. Le dimère VEGF est représenté en violet-jaune lié sur une interface sur les domaines de type Ig D2-D3 VEGFR2 (bleu-cyan). Le domaine D3 est représenté en cyan avec les D4 et D5 interagissant avec leurs homologues dans le dimère en rose et vert. Le point rouge en D3 montre la position de la mutation.

Tableau II.1. Sites et motifs fonctionnels dans la VEGFR-2[33].

Sites et motifs	Lieu	Fonction
Site de glycosylation liés en N : Asn46,66,96,143,158,245,318, 347,395,511,523,580,613,619, 631,675,704 et 721.	ECD	ces sites jouent un role central dans la liaison,le trafic,la stabilisation et la signalisation pro-angiogénique du ligand RTK dans des contextes physiologiques et patholo-gique.
Site de phosphorylation : Tyr80	JMD	Y801est crucial pour le taux d'autophosphorylation de VEGFR-2,etphosphorylé. Y801pertube l'interaction de JMD avec la boucle A favorise la réorientation de la boucle d'activation, et induit une conformation enzymatique active.
Tyr951	KID	Y951 est phosphorylé sur stimulation VEGFA, Y951phosphorylé à la TKD de VEGFR-2 peut se lier au TSA et Src, régulent ensuite la migration cellulaire et assurent la survie et la pérmabilité cellulaire.
Tyr1054	TKD2	les sites Y1054 et Y1059 sont situés dans la boucle A TKD2 et jouent un role crucial dans l'activité kinase, et Y1054 et Y1059 phosphorylés augmentent l'activité des kinases VEGFR-2
Tyr1059 Tyr1175	CTD	Y1175 et Y1214 sont essentiels pour l'activation et la signalisation cellulaire médiée par VEGFR-2 avec PLC γ , PI3K, et les protéines adaptatrices SHB et SCK et Y1214 phosphorylé médie la liaison de VEGFR-2 avec la protéine adaptatrice NCK, et les deux pY1175 et pY1214 activent finalement directement VEGFR-2 pour permettre la prolifération, migration et la pérmabilité des cellules endothéliales vasculaires. Ce sont des sites de phosphorylation et peuvent être impliqués dans l'activation de VEGFR-2 et la signalisation

<p>Tyr1214</p> <p>Autres sites de phosphorylation : Ser982, Ser984, et Try996</p> <p>Ser1231, Ser1235, et Thr1238 Tyr1305, Tyr1309, et Tyr1319</p> <p>Motifs fonctionnels : Riche en glycine (G841XGXXG) (841~846 aa)</p> <p>Bouche catalytique (H1026RDLAARN) (1026~1033 aa)</p>	<p>KID</p> <p>CTD CTD</p> <p>TKD1</p> <p>TKD2</p>	<p>le riche en glycine forme une boucle de liaison au phosphate ATP fonctionnellement importante, qui est un segment flexible dont la position diffère parmi les structures de kinase dans divers états activés et ligandés</p> <p>la boucle catalytique contient un résidu d'acide aspartique invariant (D1028) qui est essentiel pour la catalyse de la réaction de phosphotransférase. la boucle catalytique est hautement conservée parmi les protéines tyrosine kinase.</p>
<p>Boucle d'activation (boucle A) (1045~1075 aa)</p>	<p>TKD2</p>	<p>La boucle d'activation est une grande boucle flexible dans les protéines kinases et contient deux tyrosines Y1054 et Y1059, dont la conformation est postulée pour réguler la kinase activité.</p>

VI. VEGFR-2 Fonctions physiologiques et rôles pathologiques

VI.1. Fonctions physiologiques du VEGFR-2

Les principales fonctions physiologiques du VEGF sur cellules endothéliales sont presque toutes atteintes en activant la VEGFR 2, notamment la stimulation de la prolifération des cellules endothéliales, l'augmentation de la perméabilité vasculaire et la chimiotaxie des cellules endothéliales, etc. Les investigations ont montré que la VEGFR-2 est le principal récepteur de médiation de l'augmentation de la perméabilité vasculaire par la VEGF. De plus, la VEGFR2 joue un rôle très important dans le développement embryonnaire. La VEGFR2 activé par la VEGF stimule la prolifération des cellules endothéliales et est crucial pour le développement du système vasculaire embryonnaire et du système hématopoïétiques [33].

VI.2. Rôles pathologiques du VEGFR-2 activé par la VEGF

La VEGFR2 activé par la VEGF joue un rôle important dans la médiation de la formation de nouveaux vaisseaux sanguins dans diverses conditions et processus pathologiques, notamment la cicatrisation des plaies et le cancer. La VEGFR2 est également impliquée dans l'angiogenèse tumorale et le développement lymphatique via le recrutement de cellules endothéliales.

La VEGFR2 est une cible importante de l'angiogenèse anti-tumorale. La VEGF sécrété par les cellules tumorales active son récepteur VEGFR2, et ils favorisent ensuite la croissance vasculaire et fournissent l'oxygène et la nutrition dans les zones hypoxiques des tissus tumoraux [33].

VII. Inhibiteurs de la VEGFR-2

Les récepteurs du facteur de croissance vasculaire VEGFR (Vascular Endothelial Growth Factor) sont des acteurs très importants pour l'angiogenèse et constituent une cible très intéressante pour le traitement des tumeurs solides. De plus, dans un grand nombre de tumeurs, ils sont surexprimés.

Les inhibiteurs de la VEGFR-2 sont classés en trois types. Les inhibiteurs de type I, également connus sous le nom d'inhibiteurs compétitifs de l'ATP, se lient à la région qui est logée par le cycle adénine de l'ATP. Les inhibiteurs de type I forment une à trois liaisons hydrogène au site actif du récepteur. Le sunitinib est l'un des exemples d'inhibiteurs de type I. Les inhibiteurs de type II induisent une activation inactive de la conformation DFG-out de la

boucle d'activation ; ces inhibiteurs ne sont pas capables de se lier au site de liaison à l'adénine mais se lient à côté de la poche hydrophobe [36]. Le sorafénib est l'un des exemples d'inhibiteurs de type II. Les inhibiteurs de type III sont des inhibiteurs covalents ; ces inhibiteurs se lient de manière covalente au résidu d'acide aminé cystéine et empêchent la liaison de l'ATP au site de liaison. Le vatalanib est un exemple d'inhibiteurs de type III [37, 38].

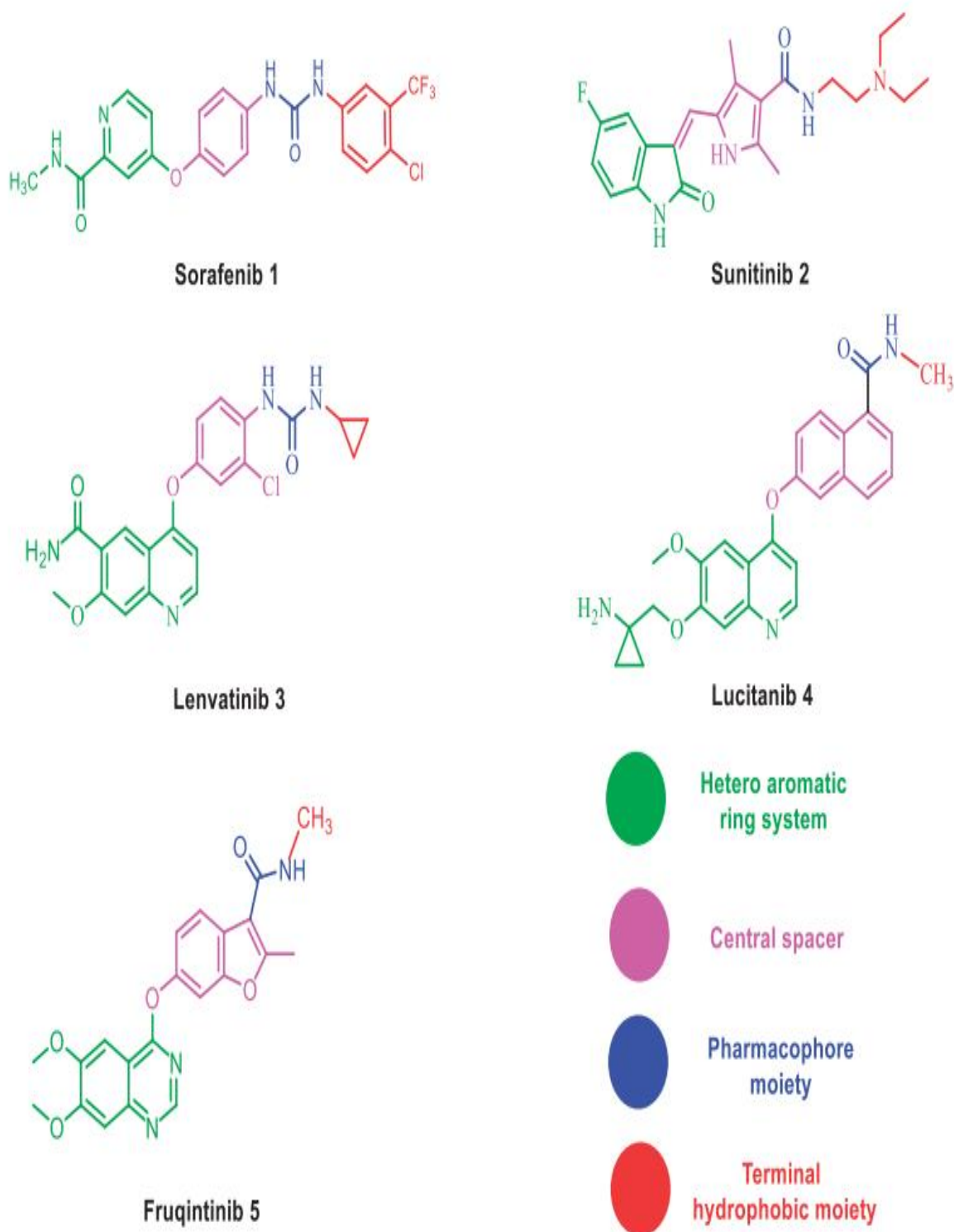


Figure II.3. Structures de certains inhibiteurs représentatifs du VEGFR-2[38].

CHAPITRE III:

Le criblage virtuel



I. Généralité

Le cycle de vie d'un médicament est encadré par de nombreuses réglementations marquant ainsi les différentes étapes portant du développement de la molécule active jusqu'à la distribution du médicament sur le marché. Sur 10 000 molécules testées, une seule sera commercialisée. C'est donc un processus extrêmement long et coûteux : il faut compter minimum 15 ans de recherche pour un coût total avoisinant le milliard d'euros [39].

L'étape de recherche et développement du médicament s'étend sur une durée de 8 à 10 ans. Cette phase est caractérisée par trois étapes : la première concerne la recherche de molécules potentiellement candidat-médicaments pour une maladie donnée. Ces molécules sont le résultat des avancées de la recherche fondamentale (ex : nouvelles cibles, molécules analogues, techniques de criblage et d'optimisation). Ainsi sur 10000 molécules testées, 100 candidats médicaments sont sélectionnés. La deuxième phase concerne les tests précliniques. Les molécules sélectionnées sont testées *in vitro* et sur des modèles animaux afin d'évaluer leurs activités biologiques, leurs toxicologies et leurs pharmacocinétiques. La faisabilité technique du médicament est aussi évaluée, c'est-à-dire les différentes méthodes nécessaires pour tester ces molécules sont déterminées et les moyens financiers à mettre en œuvre sont définis. A la fin de cette étape, seules 10 molécules candidates sont retenues. Enfin, ces molécules rentrent en phase de développement clinique [39].

Aujourd'hui, l'enjeu consiste à amortir les dépenses de recherche de plus en plus importantes sur des médicaments de plus en plus ciblés avec des périodes de protection brevetaires de plus en plus courtes.

Pour trouver une molécule capable d'interagir avec la maladie étudiée, il est nécessaire dans un premier temps, d'identifier une « tête de série » c'est-à-dire un composé possédant l'activité pharmacologique désirée. Une nouvelle « tête de série » peut être découverte par sérendipité, à partir des ressources naturelles, en utilisant les méthodes de criblage *in silico*, ou en s'inspirant de médicaments déjà existants [39].

Le terme criblage regroupe un ensemble de techniques computationnelles ayant pour l'objectif d'exploitation de bases de composés à la recherche de molécule d'intérêt thérapeutique. Ce que lui permet de pris une importance croissante dans les processus de conception de médicaments largement appuyé par les progrès en informatique et en bioinformatique. Les méthode criblage virtuel ont été développées pour diminuer le cout et le

temps considérable nécessaire au processus de la recherche et le développement de nouveau médicament en permettant de réduire le nombre considérable de molécules à tester expérimentalement et pour guider la sélection des composés les plus prometteurs, que ce soit lors des phases d'identification des hits ou d'optimisation des leads [40].

Le criblage virtuel peut schématiquement être assimilé à un entonnoir dans lequel on verse un grand nombre (généralement entre cent mille et dix millions) de composés (voir figure III.1), constituant la chimiothèque à cribler, pour obtenir, à l'aide d'un algorithme de criblage, un plus faible nombre (quelques dizaines à quelques milliers) de composés qui seront ensuite testés expérimentalement [41].

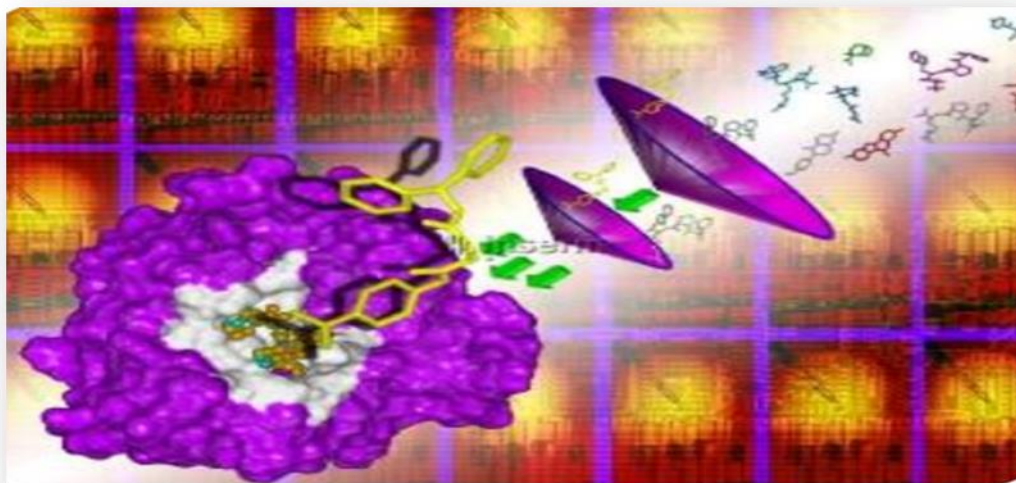


Figure III.1. Criblage virtuel in Silico [42].

Le criblage virtuel comporte trois phases [43] :

- La phase de préparation de la chimiothèque incluant la mise à disposition (ou pas) de vrais actifs/inactifs dans le cas d'un apprentissage supervisé ;
- La phase d'exécution proprement dite qui varie en fonction de la taille de la chimiothèque et de la connaissance de la structure 3D d'une protéine cible ;
- La phase d'analyse des résultats conduisant à la définition de touches.

II. L'intérêt du criblage virtuel

Les méthodes de criblage virtuel ont rapidement montré leur efficacité et leur utilité dès 1990 en guidant les scientifiques sur les molécules les plus actives parmi de grandes bibliothèques de composés [39].

Le criblage virtuel permet l'exploration de larges chimiothèques à la recherche de composés actifs vis-à-vis d'une cible thérapeutique donnée. Ce processus vise à réduire de façon significative la chimiothèque de départ à une liste limitée de composés jugés les plus prometteurs. Cette approche conduit souvent à une nette amélioration de la concentration de molécules actives pour la cible, tandis qu'une sélection aléatoire de molécules de la chimiothèque ne saurait fournir un tel enrichissement [44]. Les molécules doivent également avoir les propriétés physicochimiques comme la biodisponibilité et les propriétés ADME (Absorption, distribution, métabolisme et excrétion) caractérisant un médicament. Pour cela, des règles élémentaires permettent de filtrer rapidement des chimiothèques et éliminer toutes les molécules qui ne répondant pas à ces règles ; les plus connues sont celles de Lipinski, et de Veber [40]. Ainsi, le temps aussi bien que les coûts de l'identification de nouvelles touches peuvent être réduits de façon significative. Plus précisément, le recours au criblage *in silico*, en préalable à un criblage biologique à plus petite échelle, permet d'ajuster au mieux le nombre de tests expérimentaux en fonction des contraintes budgétaires et temporelles. Quand les conditions le permettent, le criblage biologique peut être employé en parallèle au criblage virtuel, afin d'évaluer l'efficacité de ce dernier et de pouvoir améliorer les paramètres des programmes informatiques utilisés [44].

III. Les logiciels du criblage virtuel

De nombreuses publications ont proposé des expériences parallèles menées avec un bon nombre de programmes de criblage virtuel (qui sont commercialisés ou non). Les plus fréquemment utilisés sont : AutoDock Vina, Gold, Flex X, Glide et Surflex-dock (voir tableau III.1.). Ces programmes reposent sur l'ajustement de fragments, commençant par construire un modèle du site actif dit « protomol » dans le cas du programme Surflex-dock. Ce modèle est constitué par le volume accessible du site et les points d'interaction tels que les sites de liaison hydrogène, les charges ou les sites lipophiles. Ces algorithmes sont dits aussi de fragmentation / reconstruction car, dans un premier temps, la molécule est découpée en parties rigides et en liaisons flexibles. Par la suite, les parties rigides sont positionnées en premier et le ligand est reconstruit de proche en proche, explorant diverses conformations lors de la mise en place des

liaisons flexibles. Cette approche permet un criblage rapide de vastes bibliothèques de composés [45].

Tableau III.1. Quelques exemples des logiciels de criblage virtuel [45].

Programme	Algorithme de recherche	Fonction de score
FlexX	Fragmentation /reconstruction	Basée sur les connaissances
Glide	Monte Carlo	Empirique
Gold	Génétique	Basée sur les champs de force
Surflex-Dock	Hammerhead modifié	Empirique

IV. Importance des chimiothèques dans la recherche de nouveaux candidats médicaments.

Le criblage virtuel est une technique puissante pour identifier des molécules dite "hits" en tant que points de départ pour la chimie médicinale. Pour garantir la réussite d'un criblage virtuel, une attention très précise doit être apportée à la chimiothèque utilisée, sa taille, composition, diversité, les caractéristiques des molécules qu'elle regroupe et de nombreux autres facteurs.

Le fait que le nombre de bases de données de petites molécules commerciales et publiques, ont considérablement augmenté ces dernières années témoigne de la pertinence élevée de ces types de collections de données pour la découverte et le développement de médicaments. Ces bases de données peuvent être uniquement des collections de structures, telles que des échantillons de criblage disponibles dans le commerce, ou fournir des données supplémentaires telles que la bioactivité mesurée des composés et de leurs cibles protéiques, ainsi que des maladies ciblées. Un bon nombre de ces bases de données (par exemple, ChEMBL) tentent de relier des données de petites molécules avec des informations sur leurs cibles biologiques ainsi que les données de test disponibles.

Ces chimiothèques contiennent des molécules directement achetables auprès de différents fournisseurs. La quantité, la qualité, la disponibilité et le prix de chaque produit sont disponibles, permettant une commande groupée des différents produits souhaités. A cela s'ajoutent

généralement des fichiers informatiques regroupant les structures des différents composés et facilitant leur utilisation par les bioinformaticiens. Il existe plusieurs formats électroniques pour représenter les petites molécules. Les plus utilisés pour les chimiothèques sont SMILES, SDF, MOL2 ou PDB [46].

V. Les différentes stratégies du criblage virtuel

Le criblage virtuel nécessite des informations sur les propriétés physico-chimique et/ou géométrique des composés actifs et sur la structure 3D de la cible. Selon la disponibilité ou non de ces informations, différentes méthodes de criblage *in silico* peuvent être utilisées. Les méthodes basées sur les ligands « *ligand-based Drug Design LBDD* » utilisent les ligands connus comme guides pour définir les propriétés responsables de leur affinité. Les méthodes basées sur la structure « *structure-based Drug Design SBDD* » sont utilisées lorsque les données sur la structure 3D de la cible biologique sont disponibles. Elles permettent d'évaluer le potentiel d'interaction entre les composés criblés et le site d'interaction de la cible. Au sein de ces deux grandes familles, différentes méthodes ont été développées (Figure III.2.).

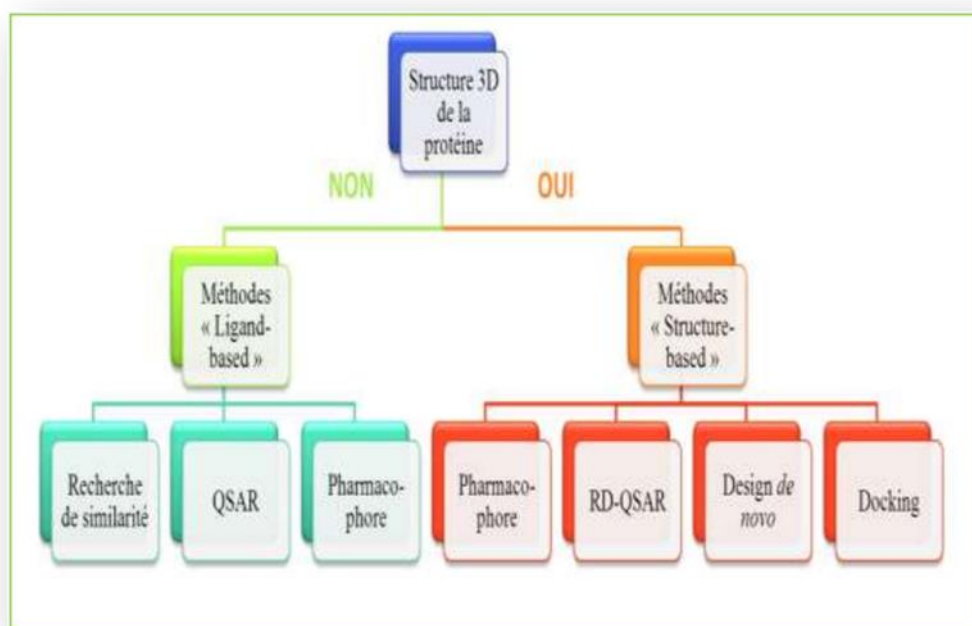


Figure III.2. Classification des méthodes de criblage virtuel [40].

V.1. Criblage virtuel basé sur la structure de la cible « *structure-based* »

Conception de médicaments basée sur la structure utilise les interactions perçues au sein des complexes récepteurs-ligand pour générer des modèles de liaison et les utiliser dans la découverte et l'optimisation de nouveaux ligands bioactifs. Le criblage virtuel « *structure-based* » est considéré comme un équivalent *in silico* d'un test expérimental étudiant la liaison ligand-cible biomoléculaire. Cependant, il repose essentiellement sur la disponibilité de la structure 3D de la cible thérapeutique qui obtenue par des méthodes expérimentales telles que la cristallographie par rayons X et la spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN) dans des bases de données (tel que la *Protein Data Bank*). Par contre, pour toutes les structures non déterminées expérimentalement, des méthodes de prédiction de la structure 3D par homologie de séquence peuvent être mises en œuvre. Basée sur la structure expérimentale d'un protéine proche (même famille) [47].

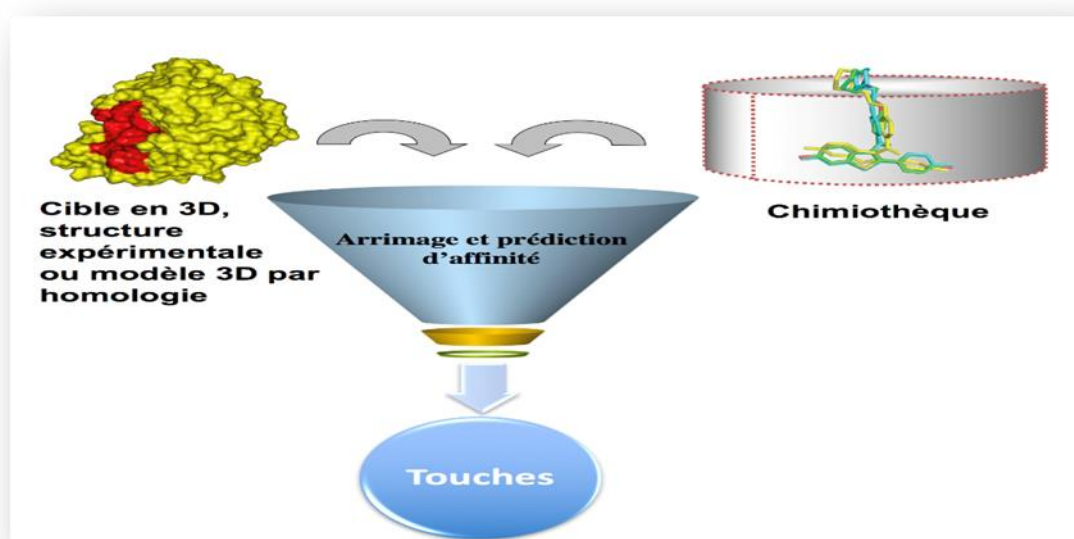


Figure III.3. Le criblage virtuel « *structure-based* » [47].

V.2. Criblage virtuel basé sur le ligand « *ligand-based* »

Les méthodes de criblage « *ligand-based* » reposent sur la connaissance préalable de ligands ayant une activité sur la cible thérapeutique connue. Il sera ainsi possible d'utiliser ces ligands comme une première base de « hits » afin d'identifier d'autres composés similaires, présentant des caractéristiques d'activité commune. L'hypothèse que les molécules similaires vont avoir tendance à présenter des profils d'activités très proches à similaires est le principe de base de toutes les méthodes « *ligand-based* ». Différents types de descripteurs moléculaires

pourront être calculés pour quantifier la similitude entre les composées. Ces méthodes présentent l'avantage d'être un protocole de découverte de médicament viable, même en l'absence de structure expérimentale tridimensionnelle (3D) du récepteur ciblé. Suivant le nombre de ligands connus de la cible thérapeutique, plusieurs méthodes peuvent être employées : la recherche de la similarité, le criblage de pharmacophores et les approches QSAR. Ces deux dernières méthodes sont les outils les plus importants et largement utilisées dans la conception de médicaments à base de ligands [40].

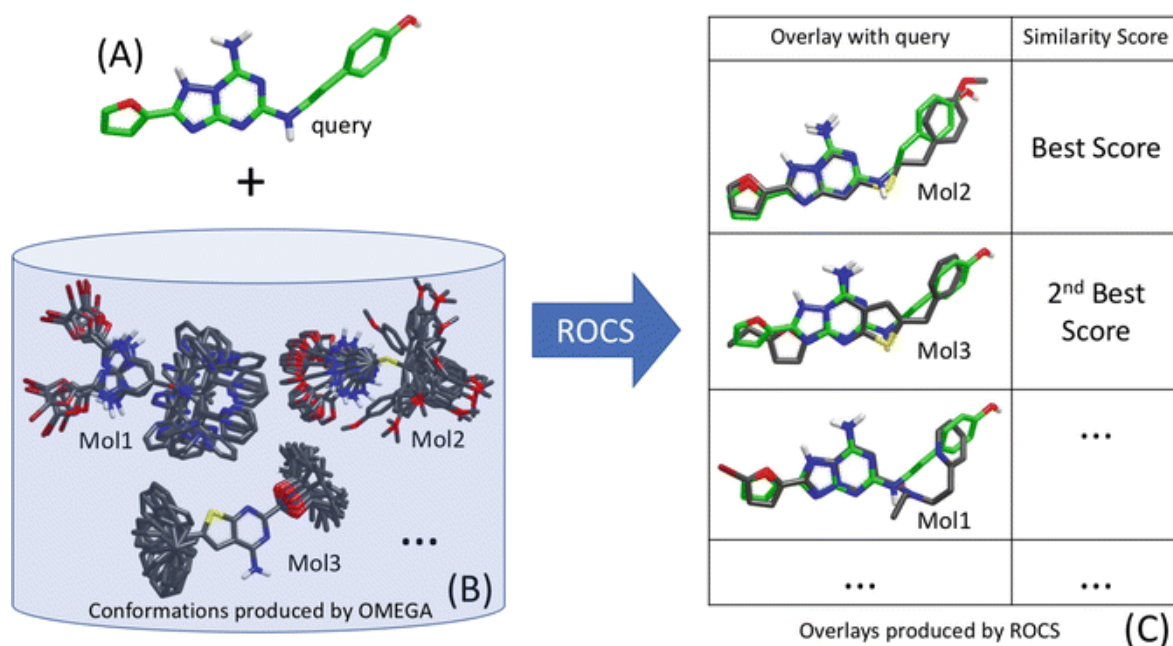


Figure III.4. Le criblage virtuel « *ligand-based* ». Schéma de base de la recherche de similarité de forme basée sur un ligand 3D : une molécule de requête (A) dans une ou plusieurs 3D conformations est comparé à chaque conformère de chaque molécule dans une base de données pré-générée de conformations (B). La superposition optimisée entre le meilleur conformère unique de chaque molécule de base de données et chaque la conformation de la requête est rapportée avec un score de similarité (C) [48].

VI. Docking moléculaire

Le docking moléculaire (figure IV.5) est une technique informatique qui prédit la conformation (position et orientation relatives) la plus favorable de deux molécules en interaction et formant un complexe stable. La connaissance de cette conformation préférentielle permet par la suite l'estimation de la force d'association (affinité de liaison) entre ces deux molécules.

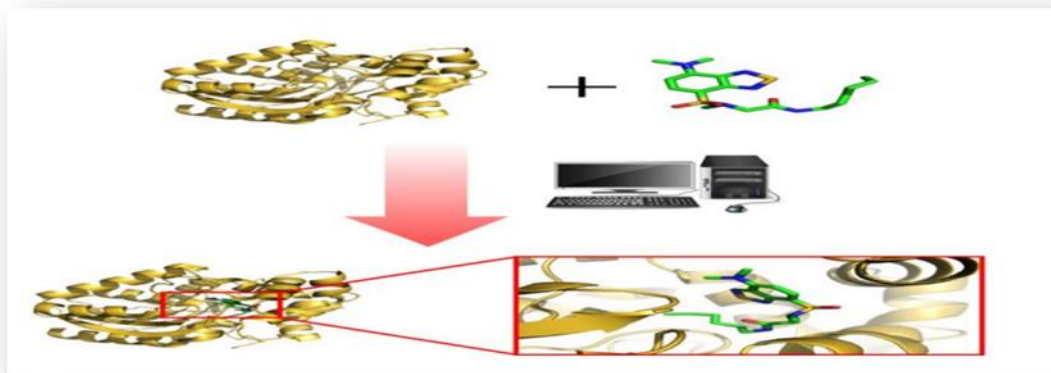


Figure III.5. Docking protéine-ligand [46].

En principe, un programme de docking doit être capable de générer les modes de liaison attendus pour des ligands dont la position adoptée au sein du site actif est connue dans un temps raisonnable. Pour cela, leur protocole est composé de deux étapes distinctes :

- La première (le docking) est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interactions les plus favorables.
- La deuxième (le scoring) est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées [46].

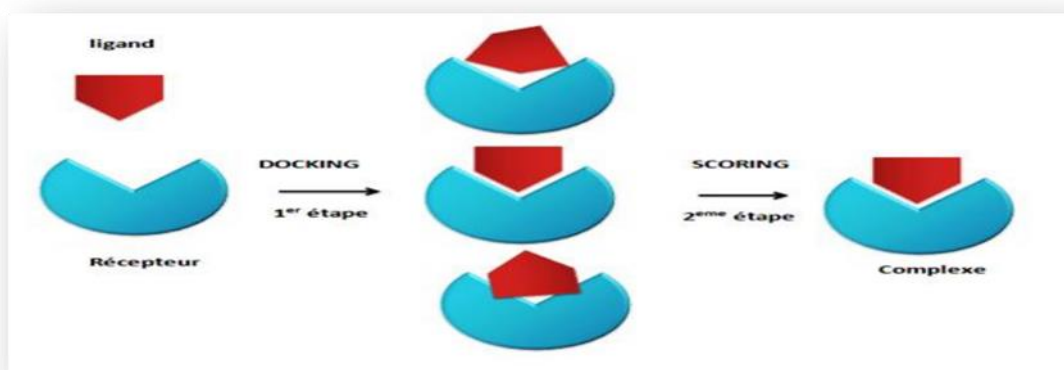


Figure III.6. Principales étapes de docking [46].

VII. Principaux programmes de docking moléculaire

Le docking moléculaire a pour objectif essentielle de prédire la conformation la plus favorable du ligand au sein de son récepteur. Initié au début des années 1980, ce domaine s'est développé pour devenir, de nos jours, un outil incontournable dans la recherche de produits biologiquement actifs.

A l'heure actuelle, plus de 30 programmes de docking moléculaires (commerciaux ou non) sont disponibles. Les plus fréquemment cités sont respectivement : AutoDock, GOLD, FlexX, DOCK et Molegro virtuel Docker (MVD). Les principaux programmes de docking moléculaire sont résumés ci-dessous (tableau III.2.)[49].

Tableau III.2. Les principaux programmes de docking moléculaire [49].

Nom Editeur	Site Internet
AutoDock Scripps	http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodock/
FlexX BioSolveIT	http://www.eyesopen.com/products/applications/fred.html
Fred OpenEyes	http://www.eyesopen.com/products/applications/fred.html
Dock UCSF	http://dock.compbio.ucsf.edu/
Glide Schrödinger	http://www.schrodinger.com/Products/glide.html
Gold CCDC	http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/
ICM Molsoft	http://www.molsoft.com/products.html
LigandFit Accelrys	http://www.accelrys.com/cerius2/c2ligandfit.html
Surflex Biopharmics	http://www.biopharmics.com/products.html

VII.1. Les étapes de criblage virtuel par docking

La figure III.7 suivante présente les étapes d'un criblage virtuel d'une chimiothèque par docking moléculaire.

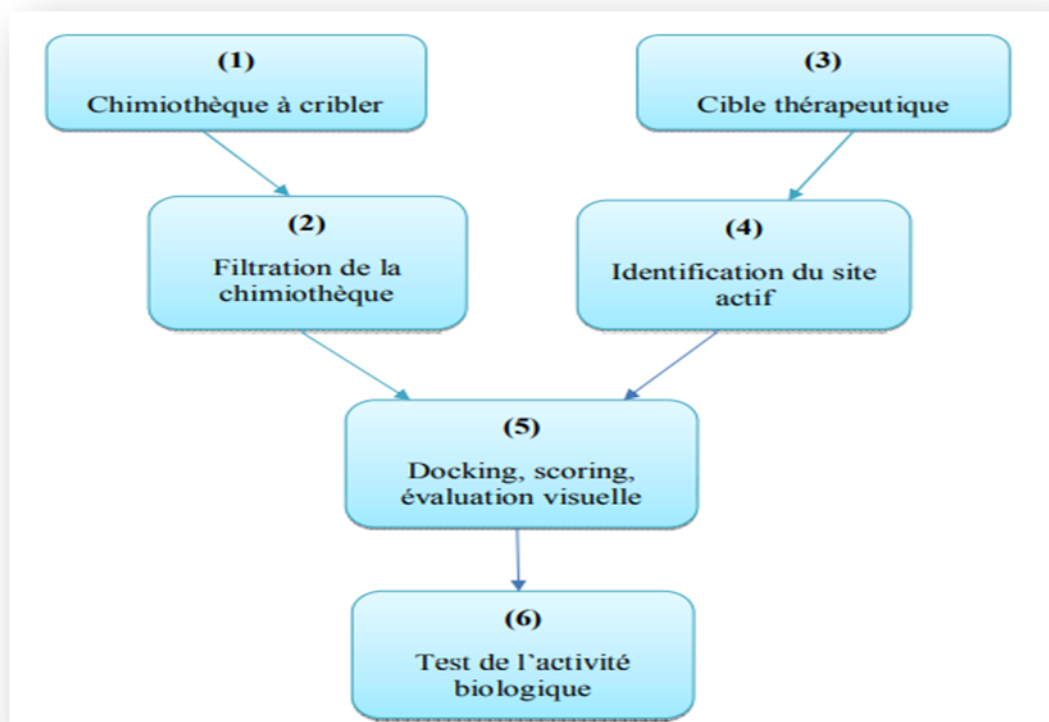


Figure III.7. Criblage virtuel par docking moléculaire [50].

Il se décompose en plusieurs étapes : la première est le choix de la chimiothèque (1), la deuxième est sa filtration pour sélectionner selon le projet de recherche les composés à cribler (2). En ce qui concerne la protéine ciblée, il faut choisir une structure 3D de haute qualité, avec une bonne résolution (3). La quatrième étape consiste à déterminer les résidus d'acides aminés du site actif (4), qui intervient dans le processus de reconnaissance de ligand. La dernière étape est le docking moléculaire de composés sélectionnés avec le site actif de la protéine cible et le classement de ces composés en fonction de leurs affinités (5) pour prédire les molécules les plus actives pour la cible. Les résultats obtenus *in silico* doivent être confirmés grâce aux tests expérimentaux (6) [50].

VIII. Quelques succès du criblage virtuel par docking moléculaire

De nombreux exemples de criblage virtuel réussi ont été décrits ces dernières années (Tableau III.3). A partir de structures protéiques cristallographiques à haute résolution, et à partir de banques de données chimiques préalablement filtrées, de taille et diversité variables [50].

Tableau III.3. Exemples de réussites de criblage virtuel de chimiothèques [50]

Cible biologique	Chimiothèque	Référence
Lymphome B	NCI	(Enyedy et al, 2001)
Carbonique anhydrase II	Maybridge/Leadquest	(Grüneberg et al, 2001)
glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	Comb.Lib	(Bressi et al, 2001)
protein tyrosine phosphatase-1B	Pharmacia	(Doman et al, 2002)
β -Lactamase	ACD	(Powers et al, 2002)
tyrosine kinase	Chemdiv	(Peng et al, 2003)
protéine de l'apoptose	Chinese Nat.Lib	(Nikolovska-Coleska et al, 2004)
Aldose reductase	ACD	(Kraemer et al, 2004)
Ribosomal A-site	Collection Vernalis	(Foloppe et al, 2004)
sarco/endoplasmic reticulum calcium ATPase (SERCA)	Cactus compound collection	(Elam et al, 2011)
tyrosine kinase	PubChem and MDDR	(Han et al, 2012)
thymidine monophosphate kinase	ZINC	(Koseki et al, 2013)
HIV-protease	NCIn	(Islam et Pillay, 2014)
rhamnose-GlcNAc disaccharide	Diverses chimiothèques	(Renet al, 2015)
Phosphodiesterase 4	NCI, Specs, et ChemDiv	(Gangwal et al, 2015)
penicillin binding protein	NCI, CAP et ZINC	(Sarangi et al, 2015)
Sirtuin humaine	ZINC	(Kokkonen et al, 2015)
protein kinase	Namiki shoji Co	(Nakanishi et al, 2015)
3-dehydroquinate hydratase	Asinex	(Petersen et al, 2015)
Ligase	ZINC	(Samal et al, 2015)

CHAPITRE IV:

Matériel et méthodes



I. Matériel

I.1. Microordinateurs

Afin de réaliser notre étude concernant le criblage virtuel d'une chimiothèque, nous avons utilisé deux microordinateurs Asus et Acer avec une mémoire vive de 8.00 Go pour le premier et 4.00 Go pour le second, avec un processeur Intel(R) Pentium(R) CPU 4417U @ 2.30 GHz et Intel(R) Celeron(R) CPU 2957U @ 1.40 GHz respectivement. Les programmes utilisés sont installés sous le système d'exploitation Windows 64bits version 2010 et 2007.

I.2. Les bases de données

I.2.1. Protéine Data Bank

La Protein Data Bank (PDB) est une base de données pour les données structurales tridimensionnelles des macromolécules biologiques, y compris les protéines et les acides nucléiques. La PDB a été créée aux Brookhaven National Laboratory en 1971 en tant qu'archive pour les structures cristallines macromoléculaires biologiques. Les données, généralement obtenues par cristallographie aux rayons X, spectroscopie RMN ou microscopie électronique, et soumises par des scientifiques, sont librement accessibles. La PDB fournit des informations utiles et fondamentales sur des milliers de protéines. Pour de nombreuses protéines, il existe des dizaines voire des centaines de structures disponibles réalisées dans des conditions variables, y compris la présence de différents partenaires de liaison tels que des inhibiteurs, des acides nucléiques ou d'autres protéines, ou avec des mutations et des modifications post-traductionnelles [51].



Figure IV.1. Interface de la Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org>)[52].

I.2.2. La chimiothèque ZINC

ZINC(zinc.docking.org) est une base de données d'accès public et un ensemble d'outils, initialement développés pour permettre un accès facile aux composés pour le criblage virtuel, qui est devenu de plus en plus largement utilisé pour le dépistage virtuel, découverte de ligands, écrans pharmacophores, référencement, et le développement du champ de force. Cette base de données contient plus de vingt millions de molécules disponibles dans le commerce dans des représentations biologiquement pertinentes. Chaque molécule de la chimiothèque ZINC est stockée dans plusieurs formats de fichiers courants, notamment SMILES, mol2, sdf, décrivant notamment les types d'atomes, leurs charges, leur connectivité, les types de liaisons et la stéréochimie [53].

ZINC permet également des recherches par structure, activité biologique, propriété physique, vendeur, catalogue, nom et numéro CAS. De petits sous-ensembles personnalisés peuvent être créés, édités, partagés, ancrés, téléchargés et transmis à un vendeur pour l'achat. De plus, cette base de données est maintenue et organisée pour un taux de réussite d'achat élevé et est disponible gratuitement [54].

The screenshot shows the ZINC15 website interface. At the top, there is a navigation bar with the following items: ZINC, Substances, Catalogs, Tranches, Biological, More, and About. The main content area is titled "ZINC15" and contains the following sections:

- Getting Started:**
 - Getting Started
 - What's New
 - About ZINC 15 Resources
 - Current Status / In Progress
 - Why are ZINC results "estimates"?
- Explore Resources:**
 - Chemistry
 - Tranches, Substances, 3D
 - Representations, Rings, Patterns
 - And More
- Ask Questions:**

You can use ZINC for **general** questions such as

 - How many substances in current clinical trials have PAINS patterns? (150)
 - How many natural products have names in ZINC and are not for sale? (9296) get them as SMILES, names and calculated logP
 - How many endogenous human metabolites are there? (47319) and how many of these can I buy? (8271) How many are FDA approved drugs? (94)
 - How many compounds known to aggregate are in current clinical trials? (60)
 - How many epigenetic targets have compounds known? (53) and Which of these substances can I buy? (278)
- ZINC15 News:**
 - 2018-02-14 - ZINC reaches 213,235,528 purchasable leadlike 3D!
 - 2018-02-13 - ZINC reaches 736,001,654 purchasable molecules 2D!
 - 2018-01-14 - Klara Anu is born! Welcome Klara Anu, sister to Lisa!
 - 2018-01-01 - Chinzol Dandar joins our team. Welcome Chinzol! Follow us on twitter @chem4biology. Known limitations What's new
- Caveat Emptor:** We do not guarantee the quality of any molecule for any purpose and take no responsibility for errors arising from the use of this

Figure IV.2. Interface de la chimiothèque ZINC (<http://zinc.docking.org>)[55].

I.2.3. PubChem

La PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) est une base de données chimique publique de la National Library of Medicine (NLM), un institut des National Institutes of Health (NIH) des États-Unis. Elle collecte des informations chimiques à partir de plus de 750 sources de données et les diffuse gratuitement au public. Avec plus de quatre millions d'utilisateurs interactifs uniques par mois aux heures de pointe, PubChem est l'un des sites Web de chimie les plus visités au monde. PubChem sert de ressource d'information chimique clé pour les communautés de recherche biomédicale dans de nombreux domaines tels que la chimie, la biologie chimique, la chimie médicinale et la découverte de médicaments. PubChem organise ses données en trois bases de données: Substance, Compound et BioAssay. La base de données des substances est un référentiel où les données chimiques fournies par le déposant sont archivées. La base de données des composés stocke les structures chimiques uniques extraites de la base de données des substances. La base de données BioAssay stocke les descriptions des tests biologiques. En outre, PubChem fournit également des vues alternatives via des pages Web qui présentent les données relatives à un gène, une protéine, une voie et un brevet spécifiques [56].

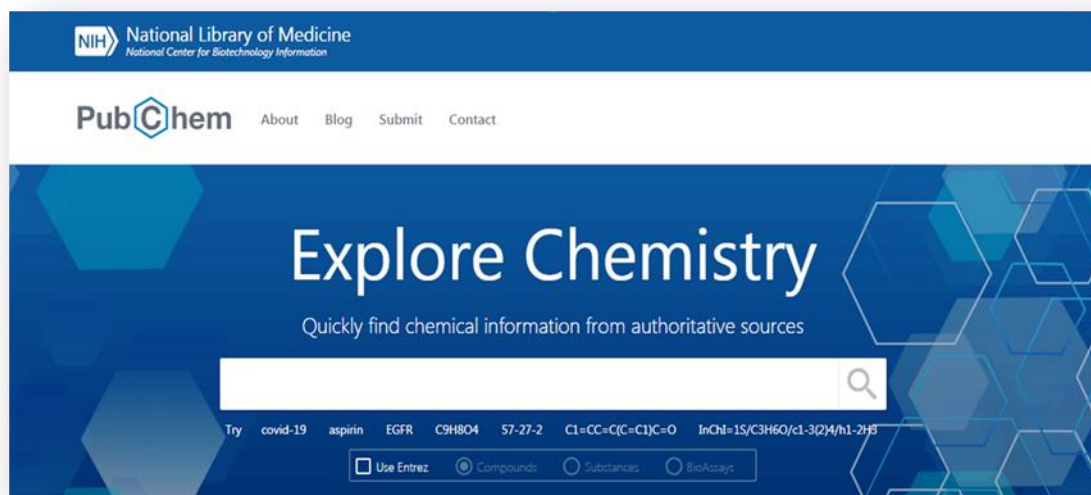


Figure IV.3. Interface de la PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) [57].

I.3. Programmes

I.3.1. Le logiciel Surflex-dock

I.3.1.1. Définition

Pour étudier les interactions protéines-ligands, nous avons choisi le programme de docking moléculaire Surflex-dock qui utilise une méthode incrémentielle. Surflex-dock (1.3, 2005) est un algorithme de docking rapide capable d'arrimer les ligands dans un environnement constitué d'acides aminés avec une bonne précision. Les paramètres standards de Surflex-dock ont été utilisés par défaut dans cette étude [58].

Le docking par ce logiciel est réalisé en 3 étapes :

- Le choix de la manière d'identifier le site actif soit à partir d'un ligand soit à partir du récepteur ;
- Construire une pseudo-molécule (protomol) qui va servir de cible aux différents ligands ;
- Arrimage moléculaire d'un ou de plusieurs ligands dans le protomol.

I.3.1.2. Etapes de docking

- **La génération de Protomol**

L'identification du site actif par la construction d'une pseudo-molécule appelée « protomol » idéale pour interagir avec le site de liaison étudié. Pour cela, trois types de fragments (CH₄, C=O et N-H) sont placés dans de multiples positions dans le site actif et optimisés pour permettre l'établissement des interactions avec le site de liaison étudié. Les fragments les mieux scorés sont assemblés pour former le protomol qui couvre l'intégralité du site actif. Pour générer le protomol, nous avons utilisé la chaîne A du code 4ASD sous format .mol2 et le ligand BAX sous format .mol2 étape réalisée par la commande suivante :

Surflex-dock proto ligand.mol2 protéine.mol2 pl

- **Arrimage d'un ou plusieurs ligands**

Cette étape nécessite la disponibilité de la protéine format .mol2, le protomol généré dans l'étape précédente et les ligands sous format .mol2. Le docking moléculaire par Surflex-dock permet d'avoir dix (10) meilleures positions (conformations) de chaque ligand au sein du site actif étudié, classées par leur score (Final-0, Final-1.....Final-9). Cette étape a été réalisée en utilisant la commande suivante :

Surflex-dock dock ligand.mol2 pl-protomol.mol2 Protéine.mol2

- **Calcul du RMSD**

Le RMSD permet la précision du positionnement des composés. Cette étape a été réalisée en utilisant la commande suivante :

Surflex-dock rms final-0.mol2ligand.mol2

- **Optimisation du RMSD**

Cette étape est supplémentaire pour optimiser les valeurs du RMSD. Cette étape a été réalisée en utilisant la commande suivante :

Surflex-dock oprms final-0.mol2 ligand.mol2

• Visualisation des résultats

Nous avons utilisé le programme viewerLite afin de visualiser les différentes interactions formées entre les inhibiteurs étudiés et le site actif de la VEGFR2.

I.3.2. Open Babel

Open Babel est une boîte à outils chimique conçue pour parler des nombreuses langues des données chimiques. Il s'agit d'un projet collaboratif ouvert permettant à quiconque de rechercher, convertir, analyser ou stocker des données issues de la modélisation moléculaire, de la chimie, des matériaux à l'état solide et de la biochimie. Les formats de fichier que Open Babel prend en charge comprennent : PDB, MOL, MOL2, SDF, XYZ, PC, SMI...etc[59].

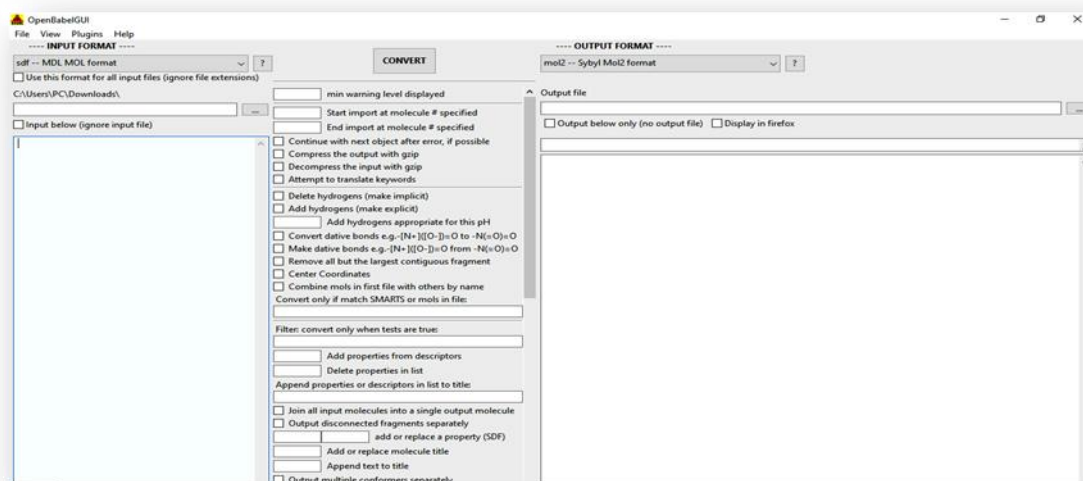


Figure IV.4. Capture d'écran du logiciel Open Babel.

I.3.3. ViewerLite

ViewerLite (4.2, 2001) est un outil gratuit de visualisation, qui permet un affichage 3D d'une structure de molécule biologique. Il lit plusieurs formats de fichier dont le format *pdb* qui est le format le plus courant pour visualiser la structure des protéines ou des petites molécules.

ViewerLite propose plusieurs fonctions telles que : la présentation des liaisons chimiques (liaison hydrogène), la mesure de distances interatomiques, l'annotation des acides aminés (nom, numéro), créations de surfaces, choix de couleur (selon les atomes, les structures...), la capacité de cacher et puis afficher à nouveau les différentes molécules [58].

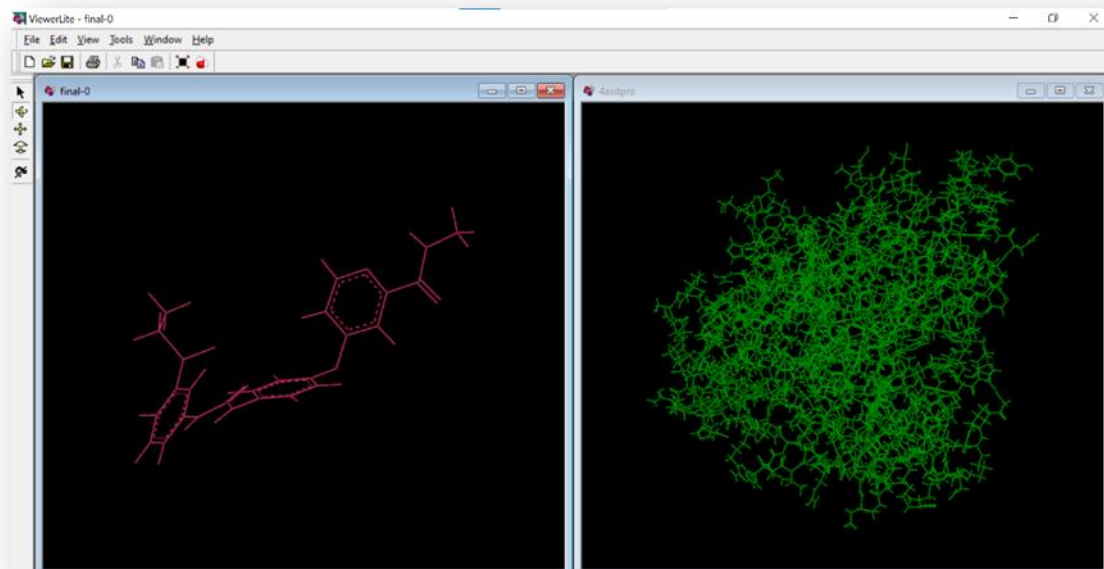


Figure IV.5. Capture d'écran du logiciel ViewerLite.

I.3.4. SwissADME

Le serveur web SwissADME permet de calculer des descripteurs physicochimiques ainsi que de prédire les paramètres ADME, les propriétés pharmacocinétiques, la nature médicamenteuse et la convivialité de la chimie médicinale d'une ou plusieurs petites molécules pour soutenir la découverte de médicaments [60].

The screenshot shows the SwissADME web interface. Callouts on the left side include: 'SwissDrugDesign toolbar', 'Molecular sketcher: draw, edit, import, open molecular structures from file', and 'Transfer sketched structure to SMILES list (active only if the sketcher is not empty)'. Callouts on the right side include: 'SwissADME toolbar: Home, FAQ, Help and Disclaimer', 'SMILES list: one molecule per line and (optional) name separated by space', and 'Run calculations (active only if the list is not empty)'. Below the main interface is a 'Bioavailability Radar' chart with callouts for 'Molecule name or identifier', 'Submit this molecule to other SwissDrugDesign tools', 'Bioavailability Radar', and 'Contextual Help'. A large red arrow points from the Bioavailability Radar section towards the detailed data table below.

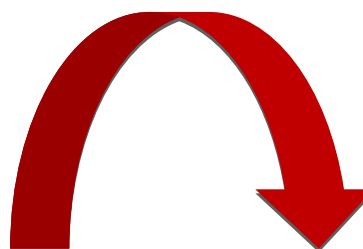
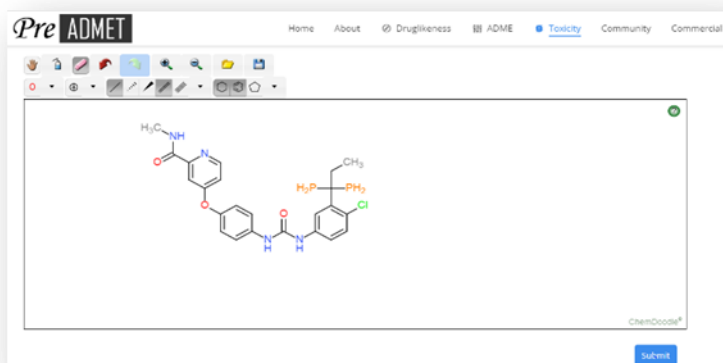
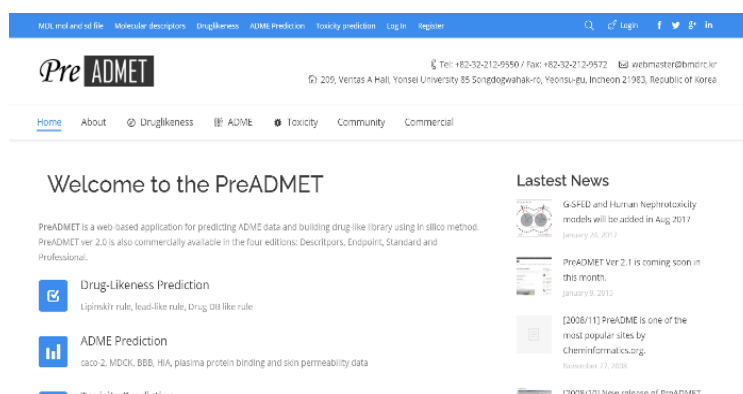
Physicochemical Properties		Pharmacokinetics	
SMILES	<chem>CNC(=O)c1nccc(c1)Oc1ccc(cc1)NC(=O)Nc1ccc(c(c1)(CC)(F)F)Cl</chem>	GI absorption	Low
Formula	C23H21ClF2N4O3	BBB permeant	No
Molecular weight	474.89 g/mol	P-gp substrate	No
Num. heavy atoms	33	CYP1A2 inhibitor	Yes
Num. arom. heavy atoms	18	CYP2C19 inhibitor	Yes
Fraction Csp3	0.17	CYP2C9 inhibitor	Yes
Num. rotatable bonds	10	CYP2D6 inhibitor	Yes
Num. H-bond acceptors	6	CYP3A4 inhibitor	Yes
Num. H-bond donors	3	Log K_p (skin permeation)	-5.99 cm/s
Molar Refractivity	122.05	Druglikeness	
TPSA	92.35 Å²	Lipinski	Yes; 0 violation
Lipophilicity		Ghose	No; 1 violation: WLOGP>5.6
Log P_{ow} (ILOGP)	3.73	Veber	Yes
Log P_{ow} (XLOGP3)	4.52	Egan	No; 1 violation: WLOGP>5.88
Log P_{ow} (WLOGP)	6.38	Muegge	Yes
Log P_{ow} (MLOGP)	3.22	Bioavailability Score	0.55
Log P_{ow} (SILICOS-IT)	4.28	Medicinal Chemistry	
		PAINS	0 alert

Figure IV.6. Interface graphique du serveur SwissADME[61].

I.3.5. PreADMET

PreADMET est une application Web permettant de prédire les données ADME-Tox et de créer une bibliothèque de type médicament à l'aide de la méthode *in silico*. PreADMET permet un accès à plusieurs modèles pour prédire:

- ✚ Les propriétés physicochimiques (Druglikeness),
- ✚ Quelques comportements pharmacocinétiques,
- ✚ La toxicité des composés.



ID	Value
algar_at	0.00146914
Ames_tmd	non-mutagen
Carcino_Mouse	positive
Carcino_Rat	negative
daphnia_at	0.00125914
hERG_inhibition	medium_risk
medska_at	5.21631e-006
minnow_at	3.07254e-005
TA100_10RL	negative
TA100_NA	negative
TA1535_10RL	negative
TA1535_NA	negative
ID	Value

Figure IV.7. Interface graphique de serveur PreADMET.

II. Méthodes

II.1. Test de fiabilité de programme surflex-dock

Il est important d'étudier la fiabilité des logiciels d'ancrage moléculaire afin de valoriser les résultats fournis le long de notre travail. Pour cela, nous avons appliqué deux tests pour affirmer la performance de notre logiciel de docking.

II.1.1. Le RMSD

Le test de RMSD ou Root Mean Square Deviation est une mesure de distance exprimant la différence de conformation et de position entre une pose et une molécule de référence. Le RMSD a été calculé pour comparer la conformation et position des poses, soit entre elles, soit par rapport à un ligand expérimental. Globalement, une pose a été considérée comme reproduisant le mode d'interaction natif si son RMSD présentait une valeur inférieure ou égale à 2Å. Ce seuil correspond à une valeur standard couramment utilisée dans les applications de docking protéine-ligand [62, 63].

II.1.2. Analyse visuelle

L'analyse visuelle faisant suite au test RMSD est aussi une étape essentielle pour vérifier d'avantage la performance du programme de docking. Elle permet de visualiser les résultats décrits par la valeur numérique RMSD [64].

II.2. Criblage virtuel

Au cours de ce travail, nous avons testé théoriquement par criblage virtuel l'affinité d'une collection de 1028 molécules vis-à-vis du site actif de la VEGFR-2. Les ligands retenus suite au criblage virtuel sont ensuite soumis à une analyse de leurs propriétés ADME-Tox.

II.2.1. Préparation de la cible enzymatique

La structure 3D de la cible étudiée (VEGFR-2) a été tirée de la banque de donnée PDB qu'on retrouve sous le code 4ASD. Il s'agit d'une structure cristallographique de la VEGFR-2 en complexe avec un inhibiteur définie à haute résolution 2.05 Å. Afin de réaliser correctement le criblage par docking moléculaire des différents inhibiteurs retenus dans cette étude par le programme Surfex-dock qui exige le format .mol2, il est essentiel de séparer au préalable le complexe 4ASD.pdb de son ligand initial à l'aide de logiciel viewerLite. Les molécules d'eau et

les autres composés de cristallisation sont retirés de la structure de la protéine. Enfin, par l'intermédiaire du programme Open Babel la protéine est transformée au format .mol2.

II.2.2. Préparation des ligands

Dans le but de contribuer au développement de nouveaux inhibiteurs de la VEGFR-2, nous avons étudié, dans un premier temps, le mécanisme d'interaction mis en jeu par les différents inhibiteurs du VEGFR-2 existant au niveau de la PDB. Seuls, les inhibiteurs présentant les meilleures énergies d'interaction vis-à-vis du site actif de la 4ASD nous ont servis comme point de départ pour la recherche de nouveaux inhibiteurs encore plus affins de la VEGFR-2. En faisant appel au criblage virtuel par docking avec Surflex-dock, nous avons testé 800 composés provenant de la chimiotèque ZINC et 228 des similaires disponibles dans la banque de donnée PubChem. Ces molécules ont été téléchargées sous le format .sdf et puis convertis au format .mol2 à l'aide de programme Open Babel.

II.2.3. Réalisation du criblage virtuel

Au cours de ce travail, nous nous sommes intéressés au criblage virtuel basé sur la structure de la cible protéique dans le but de découvrir de nouveaux inhibiteurs plus puissants de la VEGFR-2. De ce fait, à partir des composés téléchargés à partir de deux chimiothèques, le criblage virtuel a été réalisé à l'aide du logiciel Surflex-dock. La visualisation des interactions ainsi que le positionnement de ces inhibiteurs dans le site actif nous permettra de sélectionner les meilleurs composés pouvant inhiber sélectivement notre cible enzymatique.

II.3. Evaluation des propriétés ADME-Tox

Dans les années 1990, les échecs dans le développement de médicaments étaient principalement la conséquence de mauvaises performances pharmacocinétiques. Ce problème a été en grande partie résolu grâce à l'utilisation d'un filtrage précédant l'utilisation des chimiothèques, réduisant les taux d'échec dans les phases de développement. Les filtres de type ADME-Tox (Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination et Toxicité) sont rapidement devenus populaires. Ils reposent sur plusieurs critères déterminant les propriétés pharmacocinétiques potentielles des molécules et sont désormais largement utilisés pour réduire le nombre de composés d'une chimiothèque en sélectionnant les plus aptes à devenir des candidats médicaments, avant tout processus de criblage. L'utilisation de ces filtres a donné de très bons résultats, réduisant le taux d'échec imputable à une cause pharmacocinétique de 40% à moins de 10% en 10 ans. Désormais, la toxicité et le manque d'efficacité des candidats

médicaments sont les deux plus grandes causes d'échecs dans le développement d'un médicament [65].

II.3.1. Propriétés physico-chimiques

Il existe de différentes règles pour prédire une bonne biodisponibilité et l'une des plus connues est la règle de Lipinski. La règle se rapporte aux propriétés moléculaires importantes pour la pharmacocinétique du médicament dans le corps humain, à savoir : absorption, distribution, métabolisme et excrétion. Une règle supplémentaire a été proposée par Veber qui comparait la biodisponibilité orale du composé et la perméabilité du composé à la flexibilité moléculaire.

II.3.1.1. Règle de lipinski

Lipinski[66] a défini un ensemble de règles permettant d'estimer la biodisponibilité d'un composé par voie orale à partir de sa structure bidimensionnelle (2D). Ces règles concernant les propriétés physico-chimiques ont été définies après l'analyse de 2245 médicaments commercialisés ou en phase finale de développement :

- Le poids moléculaire du composé ne doit pas être supérieur à 500 daltons (Da).
- Le logarithme décimal du coefficient de partage eau / 1-octanol, noté logP, doit être inférieur ou égale à 5 ; Le nombre de donneurs de liaisons hydrogène doit être inférieur ou égale à 5 ;
- Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène doit être inférieur ou égale à 10

Les composés dont les propriétés physico-chimiques ne satisfont pas au moins 2 des règles sont fortement susceptibles de présenter des problèmes d'absorption ou de perméabilité.

II.3.1.2. Règle de veber

De plus, Veber [67] a introduit deux critères supplémentaires à ce qui est aujourd'hui communément appelé "la règle des 5". D'après l'étude de 1100 composés candidats médicaments, la surface polaire (PSA, polar surface area) du composé doit être inférieure ou égale à 140 \AA^2 et le nombre de liaisons de rotation ("rotatable bonds" en anglais) doit être inférieur ou égale à 10 pour une bonne biodisponibilité par voie orale [68].

II.3.2. Propriétés pharmacocinétiques

L'échec des candidats médicaments lors des phases cliniques était principalement imputable à de mauvaises performances pharmacocinétiques et de biodisponibilité. Il est alors apparu nécessaire de prendre en compte ces critères dès les phases précoces de la recherche et Développement de nouveau médicament pour tenter de diminuer le taux d'échec des candidats-médicaments. La mise en place de filtres ADME (Absorption Distribution Métabolisme et Elimination) des chimiothèques avant tout processus de criblage a donné d'excellents résultats [64].

- **Solubilité**

La solubilité aqueuse, elle reflète la biodisponibilité orale d'un composé. La solubilité des médicaments dans l'eau affecte de près leur activité biologique. Elle est l'un des paramètres importants pour atteindre une concentration précise de médicament dans la circulation systémique pour la réponse pharmacologique attendue [69].

- **Absorption**

L'absorption est le processus par lequel le médicament passe de son site d'administration à la circulation générale. Un médicament doit traverser plusieurs membranes cellulaires avant d'atteindre la circulation sanguine. Les membranes cellulaires sont des barrières biologiques qui interdisent sélectivement le passage des molécules. Les médicaments peuvent traverser les membranes cellulaires par trois types de transport : actif, passif, et endocytose.

L'absorption gastro-intestinale (GI) est un modèle pour prédire *in silico* l'absorption des candidats-médicaments [46].

- **La perméabilité BBB**

La barrière hémato-encéphalique (BHE) est un élément important de la régulation de l'environnement interne du cerveau. Les médicaments agissant dans le système nerveux central doivent traverser le BHE. Les paramètres moléculaires «règle de cinq» ont été conçus pour faciliter les prédictions de la pénétration à la BHE. Ils participent à la détermination de la capacité des molécules à traverser la BHE [69].

- **Inhibition CYP450**

Le cytochrome P450 (CYP) est une superfamille d'enzymes responsables du métabolisme des médicaments, des substances xénobiotiques et des composés endogènes. Il a été estimé qu'environ 75 % des médicaments commercialisés sont métabolisés par les CYP, les principales isoformes de CYP étant 1A2, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6 et 3A4. Ces enzymes détachent l'organisme de divers xénobiotiques et activent certains pro médicaments par oxydation. L'inhibition du CYP est un processus complexe car il peut correspondre à une inhibition compétitive dans le site actif, une modification du flux de substrat ou de métabolite entre le site actif et l'extérieur de l'enzyme ou encore une inhibition par un médicament lui-même ou par ses métabolites conduisant alors à des interactions médicamenteuses indésirables [70].

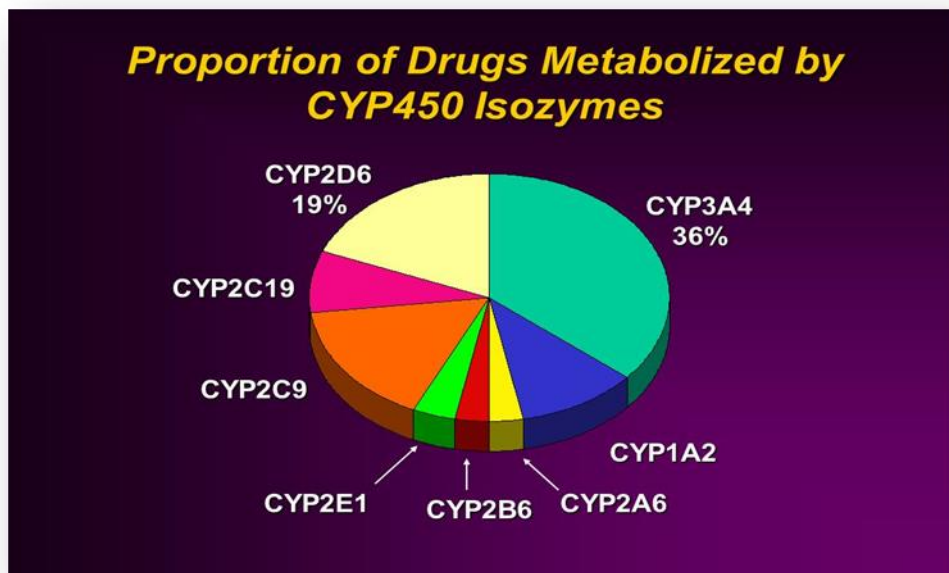


Figure IV.8. Répartition de molécules métabolisées par les différentes iso-enzymes de CYP450 [71].

- **Toxicité**

La toxicité d'un candidat-médicament est l'un des paramètres les plus redoutés par les développeurs, surtout lorsqu'il entre en phases cliniques. En effet, un candidat-médicament présentant des effets secondaires graves lors des phases cliniques est immédiatement abandonné, et ce généralement de manière définitive. Il est donc très important de tenter de prédire la toxicité d'un composé à partir de sa structure lors des phases précoces de développement de nouveau médicament. La toxicité peut être classifiée selon l'organe affecté (hépatotoxicité, néphrotoxicité,

cardiotoxicité, ...) ou selon le mécanisme de toxicité (génotoxicité, mutagénicité, carcinogénicité, ...) [72].

- **Mutagénicité par le test Ames**

Le test d'Ames est un test de mutation génique. Il consiste à examiner si une substance chimique est capable d'induire des mutations chez une bactérie. Les souches de *Salmonella typhimurium* sont porteuses d'une mutation sur l'un des gènes gouvernant pour la synthèse de l'acide aminé histidine. Cette mutation 'his-' rend les souches incapables de se développer sur milieu de culture dépourvu d'histidine. Avec une fréquence propre à chaque souche, ces mutations 'his-' peuvent réverter spontanément vers 'his*'. Les bactéries porteuses de cette mutation réverse, peuvent alors pousser sur milieu dépourvu de cet acide aminé. La fréquence de ces mutations réverses peut être considérablement augmentée en exposant les bactéries à un agent mutagène [73].

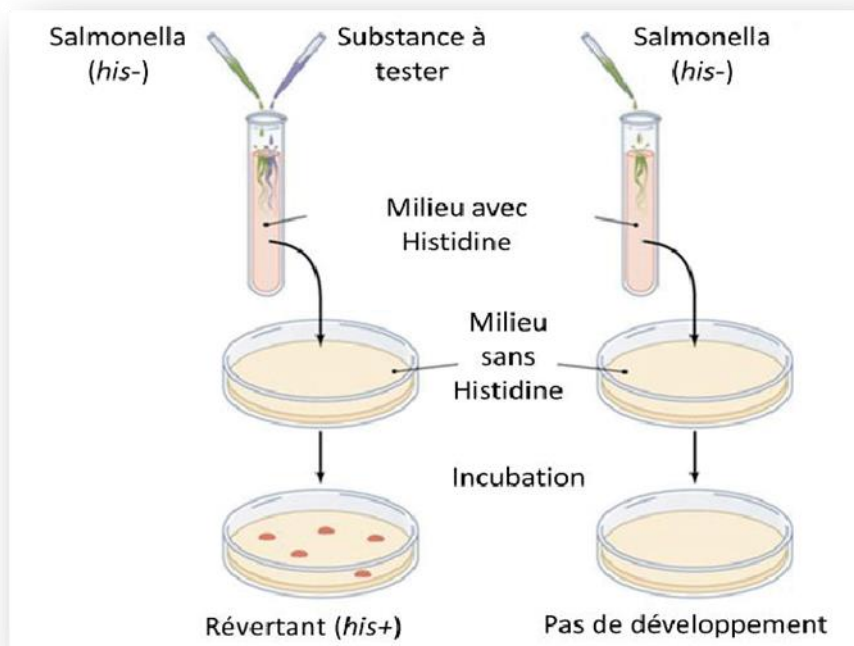


Figure IV.9. Schéma explicatif de test d'Ames [74].

- **Cancérogénicité**

L'objectif de ces études est de définir le potentiel cancérigène d'une substance chez l'animal afin d'évaluer le risque chez l'homme. Ces études sont nécessaires lors d'une utilisation clinique prolongée de la substance chez l'homme (au moins 6 mois) ou lors d'une administration

répétée sur plusieurs cycles. Le schéma de base de ces études est une administration prolongée chez le rongeur (24 à 30 mois chez le rat et 18 à 24 mois chez la souris) [75].

- **Inhibition de HERG**

Le canal potassique voltage-dépendant codé par hERG porte un courant potassique rectifiant retardé (IKr) sous-jacent à la repolarisation du potentiel d'action cardiaque. Le blocage pharmacologique du canal hERG entraîne un ralentissement de la repolarisation et donc une prolongation de la durée du potentiel d'action et une augmentation de l'intervalle QT mesuré sur un électrocardiogramme. Celles-ci sont susceptibles de provoquer une mort subite, entraînant le retrait de nombreux médicaments, ce qui est la raison du dépistage hERG [76].

- **Toxicité aiguë**

Ces tests permettent d'évaluer le degré auquel une molécule peut nuire à un organisme vivant. Ces tests se font habituellement sur différents organismes aquatiques telle que les algues (*algae*), les crustacés (*daphnia*) et les poissons (*medaka* et *minnow*).

CHAPITRE V:
Résultats et discussions



Notre travail a été effectué autour de deux buts. Le premier traite la performance de programme de criblage virtuel utilisé. Le deuxième expose le criblage de la chimiothèque ZINC, pour découvrir de nouveaux inhibiteurs de la VEGFR2 par la méthode de docking moléculaire, et étudier le mode d'interaction entre notre cible thérapeutique et les différents inhibiteurs proposés.

I. Test de fiabilité du programme Surflex-dock

La performance de programme Surflex-dock est jugée au moyen de deux critères :

✚ Ecart quadratique moyen ou RMSD.

✚ Analyse visuelle.

I.1. La précision du positionnement des composés

La capacité d'un programme à réussir ce travail est habituellement jugé au moyen de la déviation quadratique moyenne ou RMSD de la position du ligand calculé par le logiciel par rapport au ligand de référence existant au niveau de la PDB. Un bon RMSD est celui inférieur ou égal à 2 angströms [77]. Ce test a été réalisé sur 156 complexes protéine-ligand tirés de façon aléatoire de la PDB. Les complexes sont téléchargés au format PDB après introduction dans la PDB le code ID correspondant à chaque complexe. Une fois la reconstruction du complexe protéine-ligand est réalisée par la méthode de docking moléculaire, surflex-dock calcule le RMSD en comparant la géométrie du meilleur conformère (final-0) avec le ligand d'origine issu directement de la PDB. La liste des complexes protéine-ligand étudiés est représentée dans le tableau V.1 suivant.

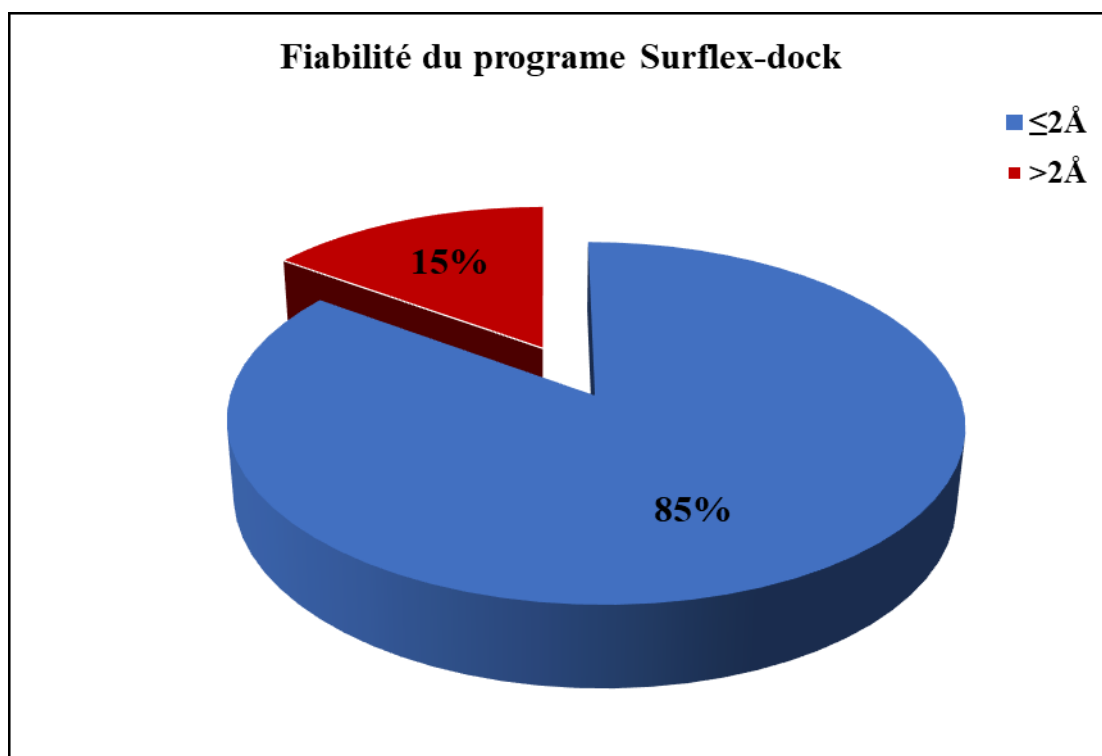
Tableau V.1. Liste de 156 complexes utilisés pour calculer le RMSD

Numéro	Code PDB	Ligand	RMSD Å	Numéro	Code PDB	Ligand	RMSD Å
1	1B9V	RA2	0.449	9	3K2P	JTH	0.054
2	3FHR	P4O	0.068	10	4Y2J	49G	1.430
3	3FHE	28P	1.324	11	5AKK	1P8	1.080
4	1B9S	FDI	1.088	12	4LAY	I63	1.545
5	3FMM	XI2	0.807	13	5AIC	TGX	0.049
6	3QKV	QKV	4.28	14	3WZD	LEV	3.310
7	3KWF	B1Q	0.059	15	5AKL	6N8	1.355
8	3LN1	CEL	4.258	16	4Y2T	49Q	1.133

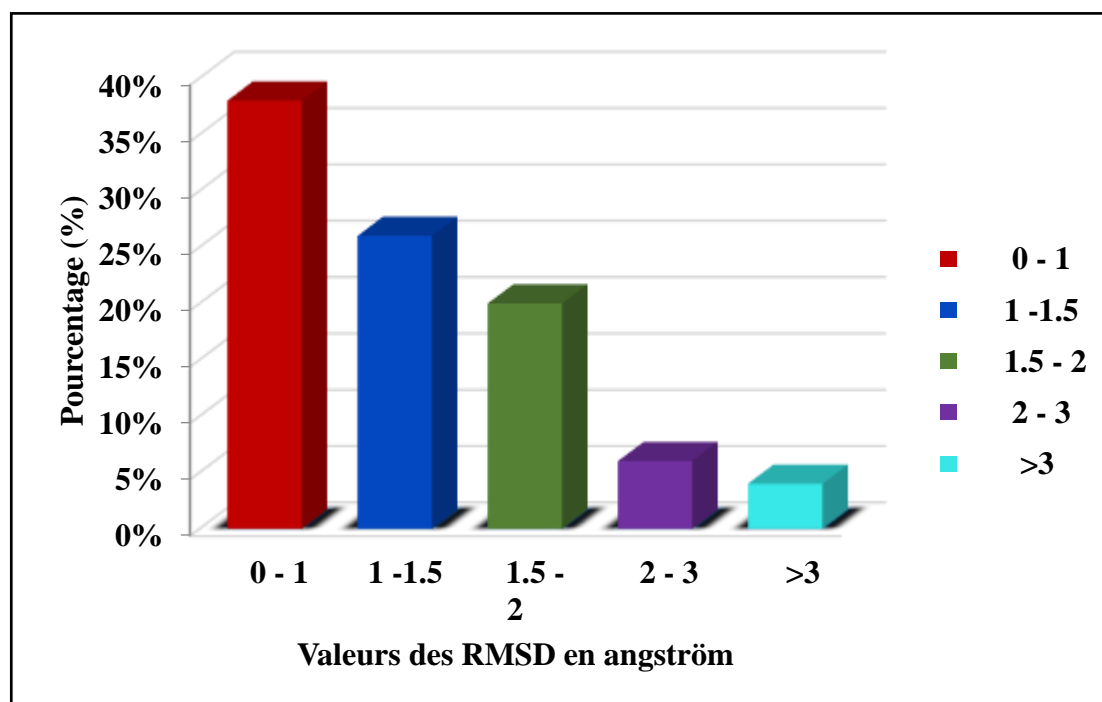
17	4Y2S	49P	0.084	65	3VHK	BPK	1.618
18	5JF1	BB2	1.197	66	3VTW	11X	1.076
19	2GG9	U16	1.371	67	3VHE	42Q	0.824
20	6HGX	G3T	2.200	68	3FTV	11X	1.072
21	4CRJ	APC	1.047	69	3FTU	RE2	1.811
22	6CPA	ZAF	1.372	70	3FTS	STL	0.153
23	2WJ2	OL1	1.901	71	4CPA	GLY	4.570
24	3PD2	A3S	0.315	72	3MAX	LLX	0.120
25	3K84	K84	0.900	73	5EW3	5T2	1.15
26	1BQN	HBV	5.583	74	3L4Y	NR4	1.422
27	6I5G	PTG	0.491	75	3GC8	B45	2.465
28	3FUJ	00G	1.150	76	3L4Z	SSD	1.185
29	3FU6	80G	0.071	77	4DBN	OJA	1.861
30	6END	BGK	0.151	78	3L4W	NAG	0.582
31	3FU3	92G	0.078	79	3L4V	KTL	1.534
32	4JNC	1LF	2.351	80	3VNT	OJA	3.249
33	4DQ2	BTX	0.840	81	3L4X	NR3	1.422
34	3FTY	3IP	0.611	82	3I4U	DSK	1.209
35	3FTX	BES	1.413	83	3L4T	BJ1	1.740
36	3PD3	AT3	0.898	84	1A4G	IMR	2.146
37	3KED	DAB	5.978	85	3CTT	NAG	1.014
38	3FU0	22F	0.271	86	3CHQ	4BQ	0.879
39	1EUS	DAN	6.148	87	3IU7	FCD	0.195
40	4CHP	IMV	1.263	88	1E8V	DAN	1.541
41	3PKC	Y08	1.575	89	3HNV	TBO	0.068
42	4CWB	APC	1.171	90	3IU9	T07	0.089
43	4CTC	J99	2.627	91	1Y6B	AAX	1.797
44	4CLI	5P8	0.116	92	1C1C	616	0.574
45	4CLJ	5P8	0.065	93	3L8X	N4D	1.097
46	4D2S	DYK	1.539	94	4Y2U	49R	1.153
47	4CMO	YPW	1.862	95	1BSJ	MLN	1.970
48	5ALO	A0J	2.702	96	1FK9	EFZ	0.251
49	4D2W	NF5	0.250	97	1FKO	EFZ	0.058
50	4CMT	GWH	0.581	98	1AQN	IPA	4.040
51	4D8E	E64	1.190	99	3LQL	LDT	0.635
52	4CMU	IV7	1.927	100	3LAK	KR1	0.203
53	4D58	BI9	1.976	101	3IU8	T03	0.568
54	4DE7	UDP	0.062	102	3FH8	27P	1.374
55	4CQG	OT5	1.610	103	3CHR	4BS	0.657

56	5AI5	BSU	2.366	104	3K6L	2BB	0.783
57	4CSV	STI	0.488	105	4CIG	X0P	1.543
58	4DGG	I76	0.350	106	3G0I	VPR	0.483
59	4CTB	KVC	1.887	107	4CJ5	4VW	1.367
60	2RJS	296	1.548	108	4PD4	AG3	3.377
61	2RJR	295	1.548	109	2QTB	474	1.348
62	1C27	NLP	0.720	110	1FT7	PLU	0.445
63	1YWN	LIF	0.213	111	2OPH	277	1.844
64	1C23	MPH	2.669	112	3CHP	4BO	1.873
113	1O86	LPR	1.484	135	2VJ8	HA2	1.684
114	4JE7	BB2	0.461	136	3GCU	R48	1.938
115	2ZOQ	5ID	0.765	137	4FL6	UWN	1.723
116	6ENC	BGW	2.569	138	4DRK	I63	1.735
117	3CHO	4BG	1.772	139	1N5N	GOL	0.513
118	4CJ4	S3G	0.138	140	3EIO	AJH	0.727
119	4DID	GDP	3.419	141	3FU5	492	2.127
120	2CTC	HFA	0.147	142	4DRP	0MD	1.483
121	4Y2Q	49N	0.724	143	4DEC	UDP	0.887
122	2EVO	CT0	0.234	144	5ALK	WMR	1.108
123	3F51	MES	0.568	145	3ANT	S82	1.15
124	3IU9	T07	0.089	146	4J03	FVS	1.929
125	1EP4	S11	1.347	147	1CR6	CPU	0.248
126	4Y2P	3C5	1.204	148	3F5J	MES	0.301
127	1BS4	2PE	1.358	149	1QWU	NAG	1.763
128	1BSK	MLN	1.973	150	3VW8	DF6	0.589
129	5ALU	HD2	1.739	151	5ALZ	XQ9	0.375
130	1F8B	DAN	0.482	152	7CPA	FVF	0.809
131	1DTT	FTC	1.713	153	4KXB	BES	0.204
132	3GCQ	1BU	1.739	154	3CHS	4BU	1.162
133	3GCP	SB2	1.904	155	3L03	4OH	1.127
134	1B9T	RAI	6.916	156	1A4G	ZMR	0.585

Les deux graphes suivants montrent les résultats obtenus lors de l'évaluation du logiciel Surfex-dock. Les résultats sont montrés en pourcent (%), à divers intervalles de RMSD et représentés par différentes couleurs.



Graphe V.1. Résultat en pourcentage du test RMSD à deux intervalles.



Graphe V.2. Résultats en % obtenu par Surfex-dock à diverse intervalles de RMSD (Å).

Le graphe V.1 apparaît clairement que le programme Surfex-dock est suffisamment performant puisqu'il reproduit bien les résultats expérimentaux. Effectivement, 85% des valeurs de la déviation quadratique moyenne du modèle conçu par le logiciel vis-à-vis de la structure du

cristal sont inférieures ou égales à 2 Å et que seulement 15% des résultats sont supérieurs à 2 Å. D'après le graphe V.2, le RMSD minimum dans l'ensemble est de 0.04 Å alors que le maximum est de 6 Å. La majorité des résultats positifs se situe dans l'intervalle 0 -1 Å avec un pourcentage de 38%.

Conformément aux travaux de Chikhi A et Bensegueni A (2008), où le pourcentage de RMSD inférieur ou égale à 2 Å était de 63 % pour le logiciel Surflex-dock. Notre résultat est comparable aussi à ceux rapportés par Teniou S (2012) et Boucherit H et *al* (2014), où 85.8 % pour le premier et 66% pour le second des valeurs RMSD calculés par le programme Surflex-dock sont inférieurs ou égale à 2 Å. Ceci est également cohérent avec les résultats obtenus par Zaheer-ul-Haq et *al* (2010), où six programmes de docking ont été utilisés: FRED, GOLD, MOE, AutoDock, FlexX et Surflex-dock, pour une étude comparative. Le calcul du RMSD montre que les meilleurs résultats sont été obtenus par Surflex-dock et GOLD. Ces résultats montrent clairement que le logiciel Surflex-dock est un outil de modélisation par docking moléculaire hautement performant [78, 79, 80, 81].

Pour confirmer les résultats de ce test, une analyse visuelle de la superposition des géométries des ligands a été réalisée.

I.2. Analyse visuelle (La superposition des géométries du ligand)

La visualisation des résultats de docking moléculaire faisant suite au test RMSD est aussi une étape importante pour juger la fiabilité du programme Surflex-dock. Elle permet de visualiser les résultats décrite par les valeurs numériques de RMSD. La comparaison de la conformation expérimentale des trois complexes tirés de façon aléatoire de la PDB (colorées en vert) : le 3IU9 (le meilleur), le 1C23 (l'intermédiaire) et le 1EUS (le mauvais) avec les conformations des ligands dockés par le logiciel Surflex-dock (colorées en rouge), est montrée dans le Tableau V.2 et les figures V.1, V.2 et V.3 suivants.

Tableau V.2. Valeurs de RMSD des trois complexes étudiés.

Code du complexe	Code du ligand	RMSD(Å)
3IU9	T07	0.089
1C23	MPH	2.669
1EUS	DAN	6.148

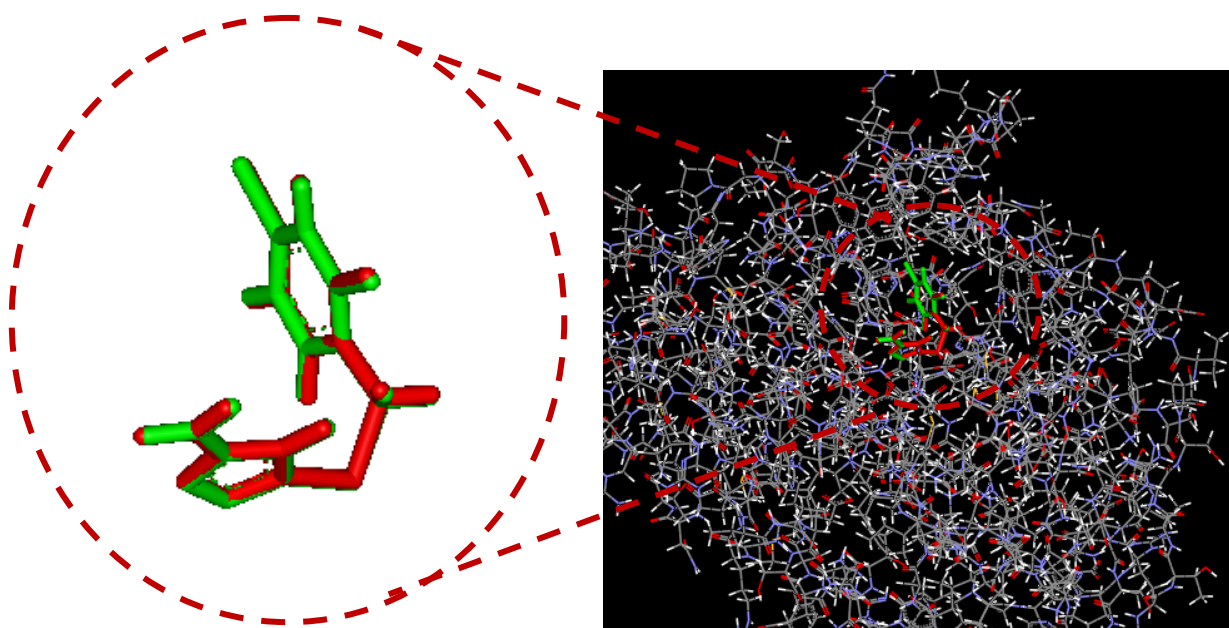


Figure V.1. Superposition du ligand 3IU9 donné par rayon-X (coloré en vert) et par docking moléculaire (coloré en rouge) avec Surfex-dock.

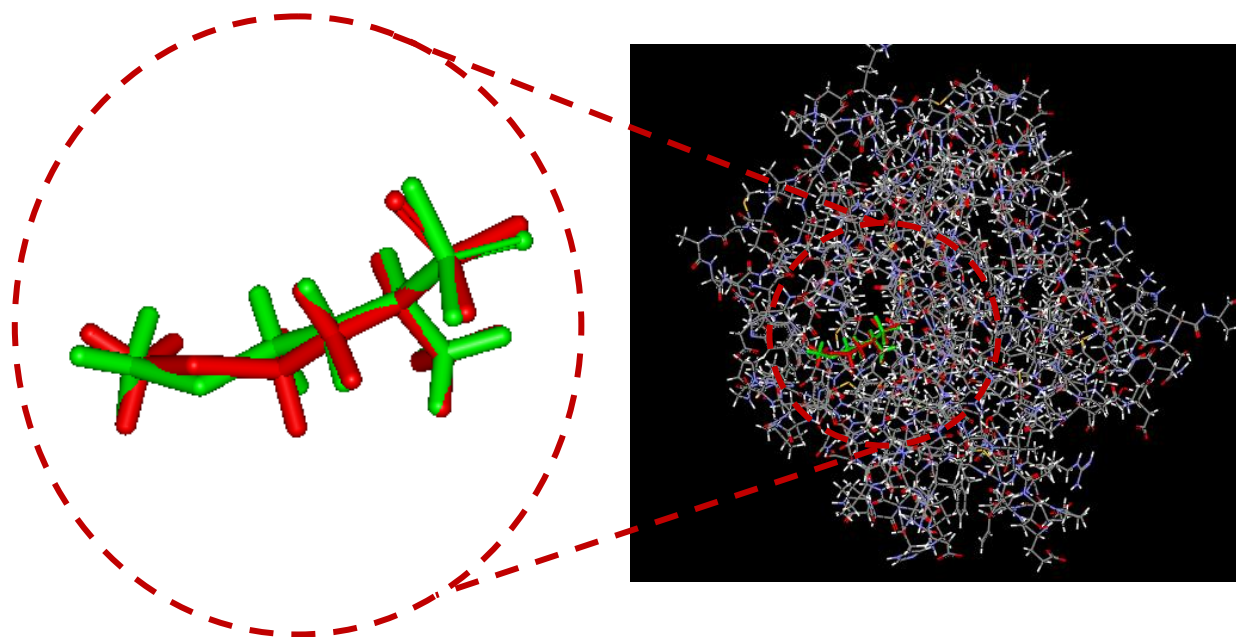


Figure V.2. Superposition du ligand 1C23 donné par rayon-X (coloré en vert) et par docking moléculaire (coloré en rouge) avec Surfex-dock.

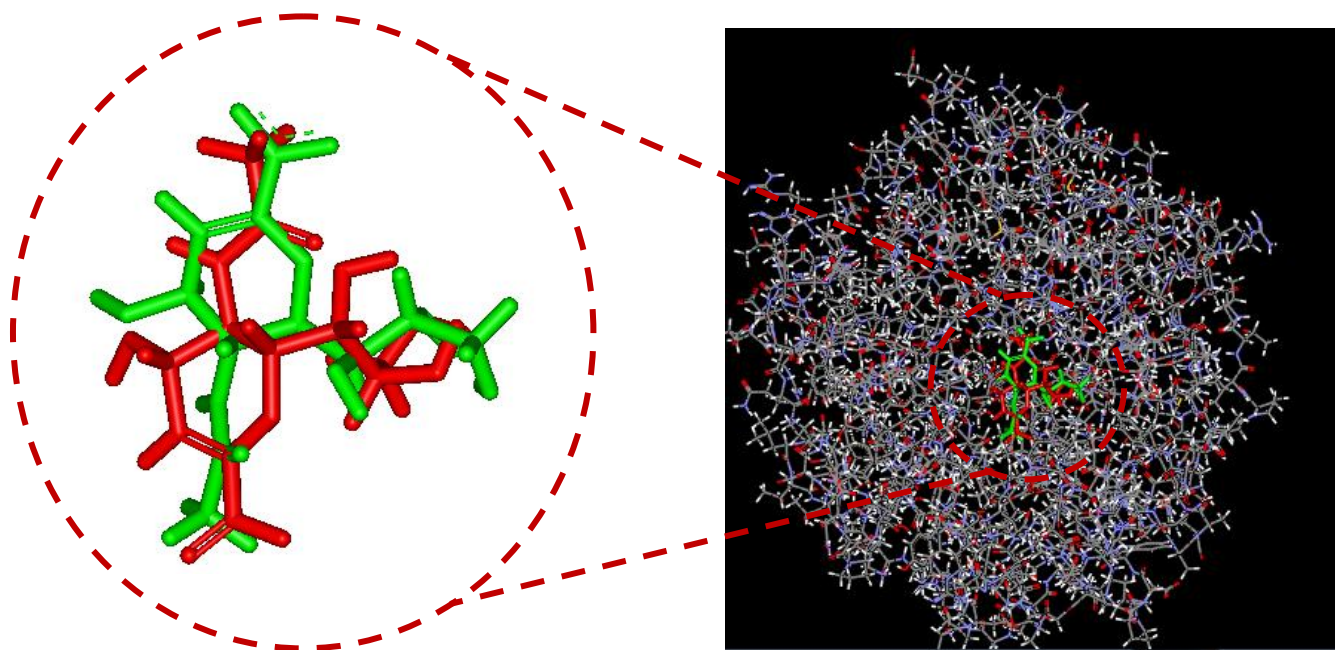


Figure V.3. Superposition du ligand 1EUS donné par rayon-X (coloré en vert) et par docking moléculaire (coloré en rouge) avec Surflex-dock.

D'après les résultats de docking par Surflrx-dock :

- ✓ Dans le cas du ligand T07, avec un RMSD de 0.089 Å. On obtient une bonne superposition de solution du docking avec les coordonnées de structure observées expérimentalement. De ce fait la superposition est presque parfaite ;
- ✓ Dans le cas du ligand MPH, avec un RMSD de 2.669 Å. La superposition de conformation est moindre que dans le cas du premier ;
- ✓ Dans le cas de ligand DAN, avec un RMSD de 6.148 Å. Elle est mauvaise, c'est-à-dire le ligand arrimé est éloigné de ligand de référence.

Conclusion

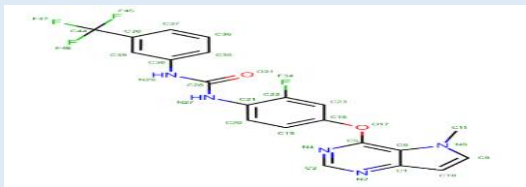
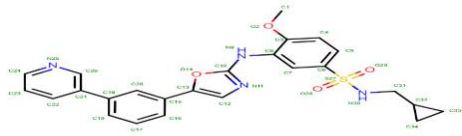
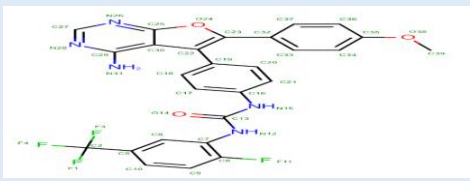
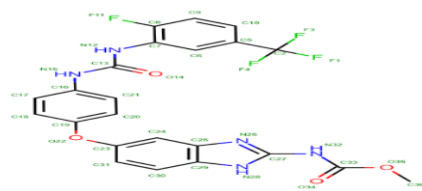
Afin de nous assurer que le programme Surflex-dock peut être utilisé sans trop de risque d'erreurs dans notre travail sur le VEGFR2 (cible enzymatique), nous avons appliqué le test RMSD qui nous permet de conclure, que le logiciel surflex-dock peut être utilisé pour prédire les interactions enzyme-inhibiteurs. Il est généralement plus efficace en présence de petites molécules de ligand. L'analyse visuelle montre que les conformations des ligands simulés par Surflex-dock sont correctement orientées dans le site d'interaction de la protéine cible. Il n'y a

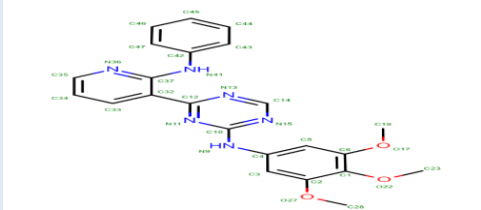
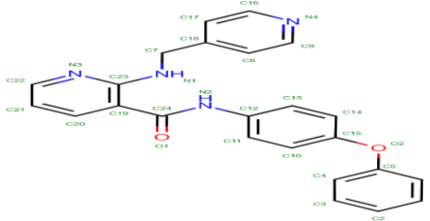
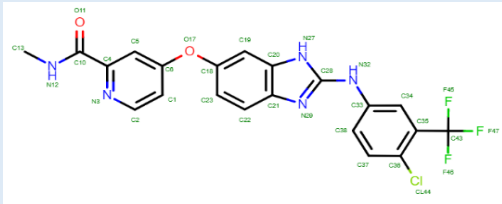
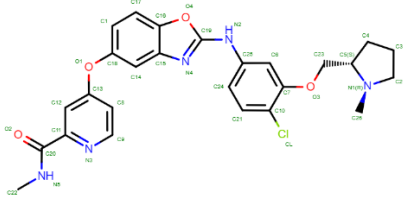
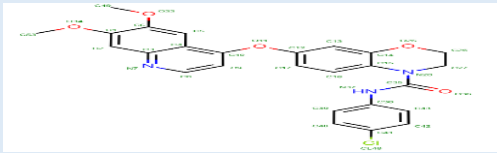
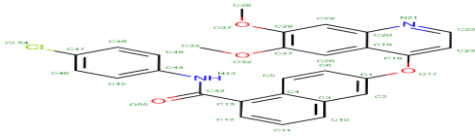
pas une différence significative entre la pose du ligand générée par le docking et sa conformation déterminée expérimentalement.

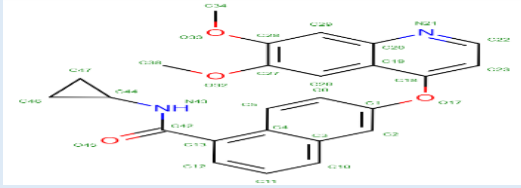
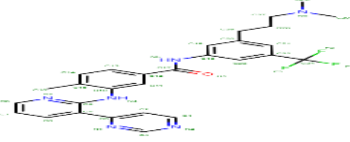
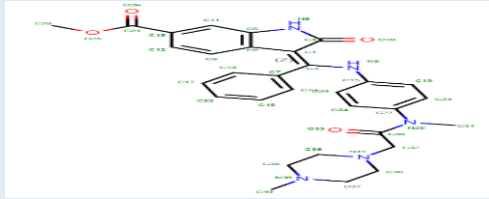
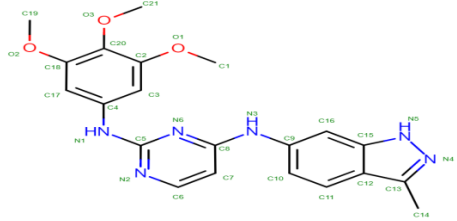
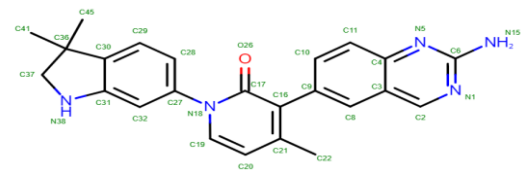
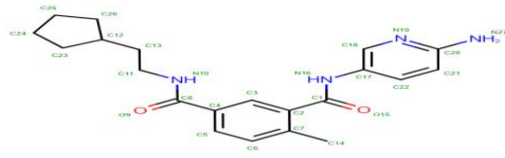
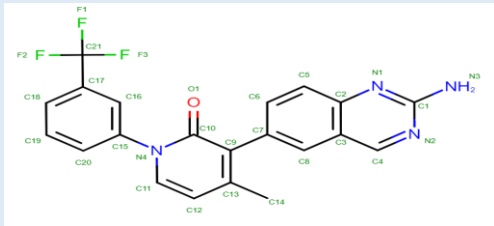
II. Etude des interactions intervenant dans l'inhibition de la VEGFR2 par diverses molécules provenant de la PDB

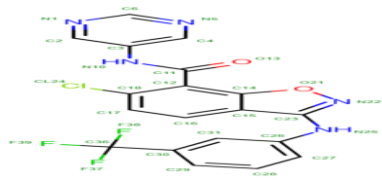
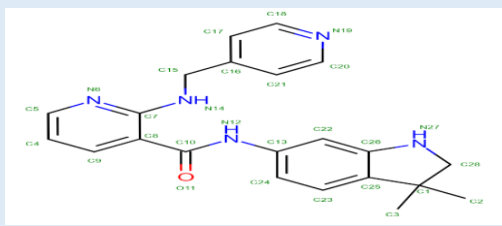
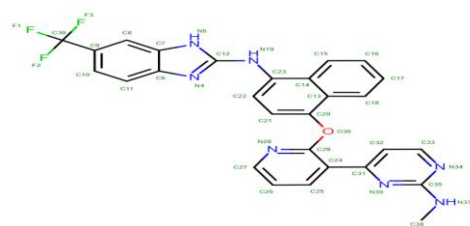
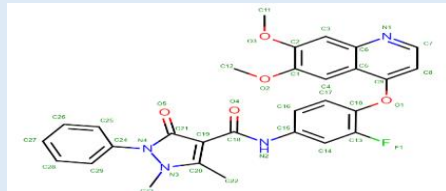
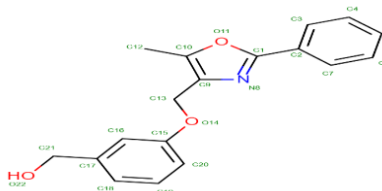
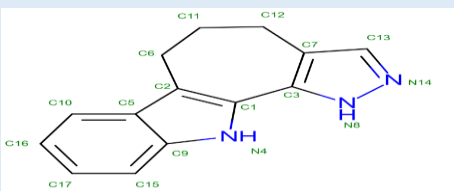
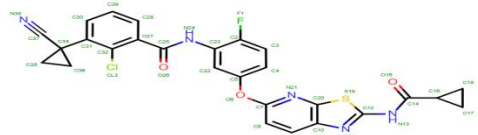
Notre démarche consiste d'abord d'étudier, en premier lieu, le mécanisme d'inhibition mis en place par des inhibiteurs qu'on retrouve au niveau de la PDB contre notre cible enzymatique VEGFR2. Les structures et les résultats de la simulation par Surflex-dock de ces inhibiteurs sont représentés dans le tableau V.3 ci-dessous.

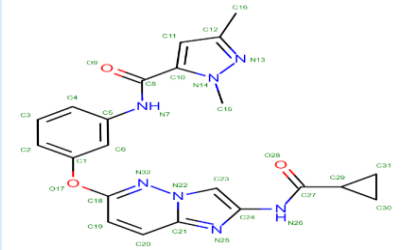
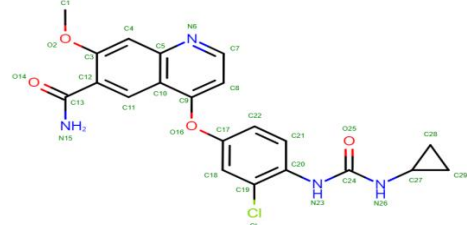
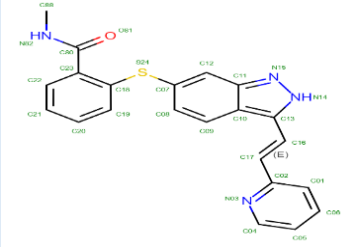
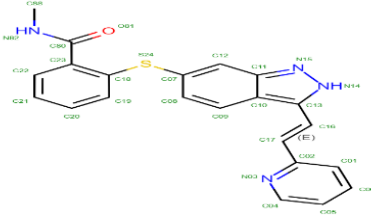
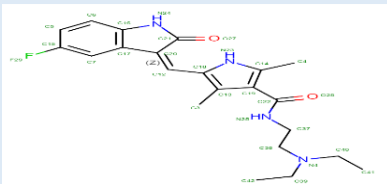
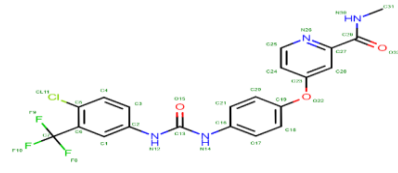
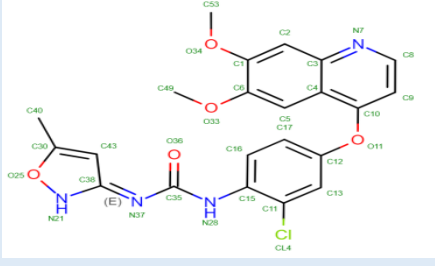
Tableau V.3. Résultats de docking avec le programme Surflex-dock.

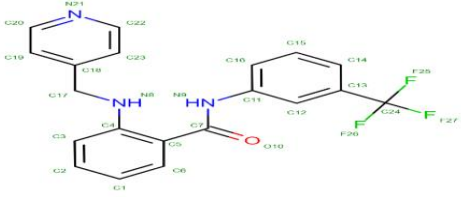
Numéro	Code PDB	ligand	Structure du ligand	Final-0 (Affinité M ⁻¹)
1	3VHE	42Q		5.68
2	1Y6B	AAX		8.20
3	1YWN	LIF		10.76
4	2OH4	GIG		8.23

5	2P2H	994		5.14
6	2P2I	608		4.88
7	2QU5	276		7.33
8	2QU6	857		5.81
9	2RL5	2RL		9.30
10	3B8Q	900		9.26

11	3B8R	887		9.64
12	3BE2	RAJ		9.93
13	3C7Q	XIN		7.03
14	3CJF	SAV		3.95
15	3CP9	C19		10.47
16	3CPB	C92		10.70
17	3CPC	C52		6.65

18	3DTW	A96		10.27
19	3EFL	706		8.24
20	3EWH	K11		6.84
21	3U6J	03X		9.60
22	3VHK	BPK		4.87
23	3VID	4TT		5.57
24	3VNT	OJA		3.90

25	3VO3	OKF		10.82
26	3WZD	LEV		5.11
27	4AG8	AXI		7.86
28	4AGC	B49		6.84
29	4AGD	B49		9.61
30	4ASD	BAX		11.16
31	4ASE	AV9		4.03

32	5EW3	5T2		8.17
----	------	-----	--	------

Parmi les 32 inhibiteurs dockés dans le site actif de notre cible enzymatique VEGFR2, le composé BAX (4{4[({[4CHLORO (TRIFLUOROMETHYL) PHENYL] AMINO} CARBONYL) AMINO] PHENOXY}-N-METHYLPYRIDINE-2-CARBOXAMIDE) avec une affinité égale à 11.16M^{-1} possède le meilleur score d'inhibition. C'est-à-dire BAX présente une activité inhibitrice non négligeable sur la VEGFR2. De ce fait, le meilleur inhibiteur issu de cette recherche, est ensuite choisi comme modèle de référence dans le but d'identifier à partir des chimiothèques de composés de nouveaux inhibiteurs de la cible enzymatique VEGFR2.

II.1. Interaction 4ASD-BAX

Dans la perspective de proposer de nouveaux inhibiteurs de la VEGFR2 par la méthode de criblage virtuelle basé sur la structure de la cible enzymatique, il nous a semblé judicieux d'étudier, en premier lieu, le mécanisme d'inhibition mis en place par le meilleur inhibiteur de notre cible. Il s'agit de la molécule BAX issue de la PDB dont l'affinité égale à 11.16M^{-1} . La visualisation des interactions de ce composé au sein du site actif a été réalisée à l'aide de programme ViewerLite 4.2.

II.1.1. Les acides aminés du site actif

La détermination des résidus d'acides aminés de site actif de notre cible pouvant intervenir dans le processus de reconnaissance du ligand est cruciale pour pouvoir réaliser un criblage virtuel *in silico*. De ce fait, les acides aminés du site actif sont :

Leu840, Gly841, Val848, Glu850, Val865, Ala866, Val867, Lys868, Glu885, Ileu888, Leu889, Ileu892, Asn897, Val898, Val899, Val914, Val916, Glu917, Phe918, Cyc919, Lys920, Phe921, Gly922, Asn923, Met1016, Leu1019, Cys1024, Ileu1025, His1026, Asn1033, Leu1035, Leu1036, Lys1043, Ileu1044, Cyc1045, Asp1046, Phe1047, Gly1048, Ala1050.

II.1.2. Intérêt de la détermination du site actif

La fonction des enzymes est liée à la présence dans leur structure d'un site particulier appelé le site actif. Schématiquement, il a la forme d'une cavité ou d'un sillon [82]. Les molécules ou ligands sur lesquelles agit une enzyme sont définies comme les substrats de la réaction enzymatique [83]. Elles se fixent dans le site actif de l'enzyme en formant des interactions avec la surface de la cavité du site actif. Ces interactions permettent en particulier d'orienter le substrat pour favoriser la réaction. Les groupements fonctionnels de certains des résidus d'acides aminés qui forment la cavité du site actif peuvent alors participer à la réaction. On parle de résidus catalytiques ou de résidus du site actif [84]. Le site actif est subdivisé en deux parties : le site de liaison/fixation/reconnaissance qui reconnaît la complémentarité de forme avec un substrat spécifique à l'enzyme et le site catalytique qui permet la réaction transformant le substrat en produit [82].

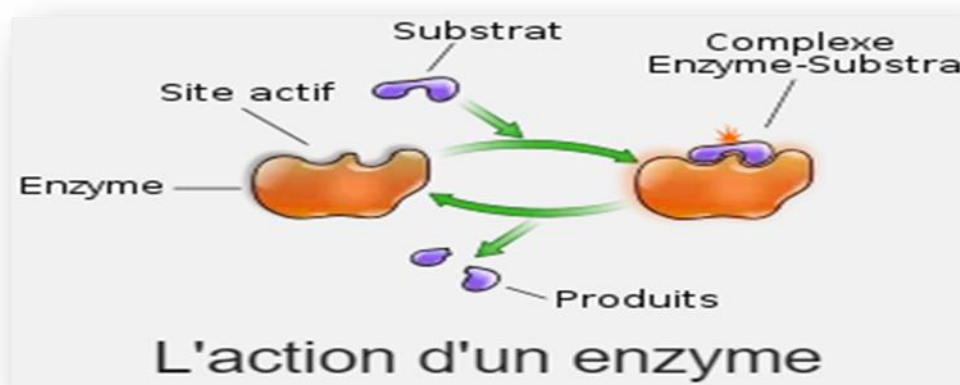


Figure V.4. Action d'une enzyme [82].

La figure V.5 suivante montre le site actif de la VEGFR2 complexée avec l'inhibiteur BAX(4{4[({[4CHLORO(TRIFLUOROMETHYL)PHENYL]AMINO}CARBONYL)AMINO]PHENOXY}-N-METHYLPYRIDINE-2-CARBOXAMIDE). L'inhibiteur BAX est bien centré dans la cavité du site actif de notre enzyme.

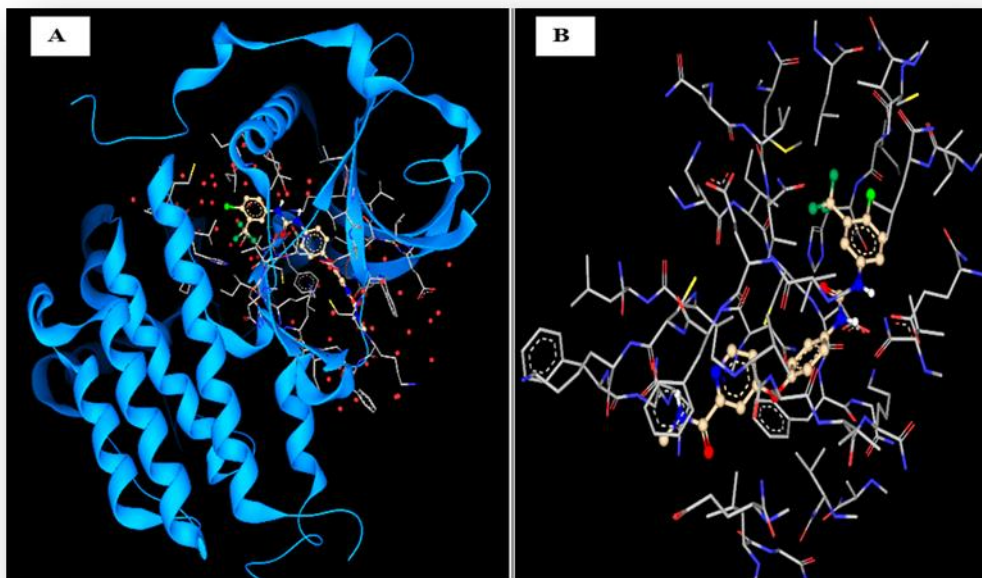


Figure V.5. Docking moléculaire de l'inhibiteur BAX. A : Complexe enzyme-inhibiteur (4ASD-BAX). B : Représentation de la cavité du site actif de la VEGFR avec l'inhibiteur BAX.

II.1.3. Analyse visuelle des interactions 4ASD-BAX

La figure V.6 suivante montre le site actif de la VEGFR complexée avec l'inhibiteur BAX. L'analyse visuelle montre que ce complexe est stabilisé par la formation de quatre liaisons hydrogène.

- ✚ La 1^{ère} liaison est formée entre l'hydrogène (H) de l'azote de l'inhibiteur et oxygène (O_{E2}) du résidu Glu 885.
- ✚ La 2^{ème} liaison est formée entre hydrogène de l'azote de l'inhibiteur et l'oxygène du résidu Cys 919.
- ✚ La 3^{ème} liaison est établit entre l'azote (N) de l'inhibiteur, et l'hydrogène (H12) de l'azote (N) du résidu Cys 919.
- ✚ La 4^{ème} liaison formée entre oxygène de l'inhibiteur et l'hydrogène (H16) de l'azote du résidu Asp 1046.

Figure V.7. Représentation des interactions hydrophobiques formées par l'inhibiteur BAX.

III. Criblage virtuel basé sur la structure de l'enzyme VEGFR2

III.1. Le protocole du criblage virtuel

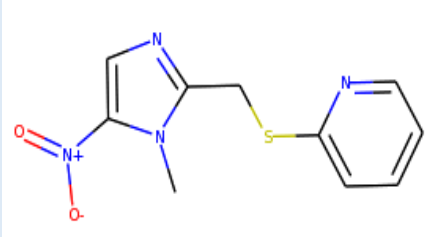
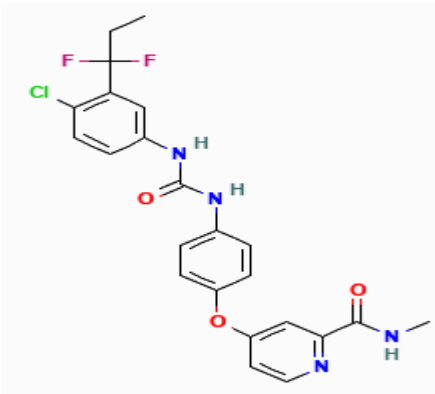
Le criblage virtuel est de plus en plus employé afin de sélectionner au sein de vastes chimiothèque de molécules un nombre restreint de composés à cribler expérimentalement [85].

- Dans le but d'identifier de nouveaux candidats médicaments pour la cible enzymatique VEGFR2 ; nous avons appliqué deux criblage virtuel basé sur la structure de la protéine. Dans le premier criblage, nous avons réalisé un docking moléculaire par le logiciel Surflex-dock d'une collection de 800 molécules appartenant à la catégorie « Lead Like in stock » de la chimiothèque ZINC ou ils sont sélectionnés par similarité. Alor que, dans le second, nous avons réalisé un docking d'une collection de 440 similaires de l'inhibiteur BAX avec 90 % de similarité. Ces composés chimiques sont téléchargés à partir de la banque de donnée PubChem. Finalement, nous avons comparé le score de docking de ces inhibiteurs (Affinité) à celui de l'inhibiteur de référence (voir tableaux V.2) et proposé les meilleurs vis-à-vis de l'enzyme VEGFR2. Les résultats de docking par Surflex-dock sont présentés dans l'annexe 1 et 2.

III.2. Molécules sélectionnées

Notre travail de master s'inscrit dans la contribution à la découverte de nouveaux inhibiteurs de la VEGFR2 en faisant recours au criblage virtuel d'une collection de molécules appartenant à la chimiothèque ZINC et la basse de donnés Pubchem. Ce criblage fait ressortir des composés présentés dans le tableau V.4 suivant comme nouveaux inhibiteurs théoriquement puissants envers notre cible enzymatique.

Tableau V.4. Données chimiques et structurales des composés sélectionnés comme candidats.

Code de l'inhibiteur	Structure	Nom chimique	Affinité (M ⁻¹)
ZINC000000 001962		2-(((1-méthyl-5-nitro-1H-imidazol-2-yl)méthyl)sulfanyl)pyridine	6.91
CID1236894 76		[4-[4-[[4-chloro-3-(1,1-difluoropropyl)phényl]carbamoylamino]phénoxy]-N-méthylpyridine-2-carboxamide]	10.24

III.3. Prédiction du mode d'interaction des meilleurs composés

La visualisation des différentes interactions ainsi que le positionnement des inhibiteurs au sein du site actif de la VEGFR2 a été réalisée à l'aide des programmes ViewerLite 4.2.

III.3.1. Interaction 4ASD- ZINC000000001962

Le score de docking calculé par le programme Surflex-dock est traduit par la formation de différentes liaisons (hydrogène et hydrophobique) entre l'enzyme et cet inhibiteur. Le complexe 4ASD-ZINC000000001962 est stabilisé par la formation des interactions hydrophobiques entre l'inhibiteur et les acides aminés de site actif suivants : Leu840, Phe1047, Val916, Val848, Gly922, Ala866 et Leu 1035. Les liaisons de type hydrophobique observées lors de l'interaction sont représentées dans la figure V. 8 ci-dessous.

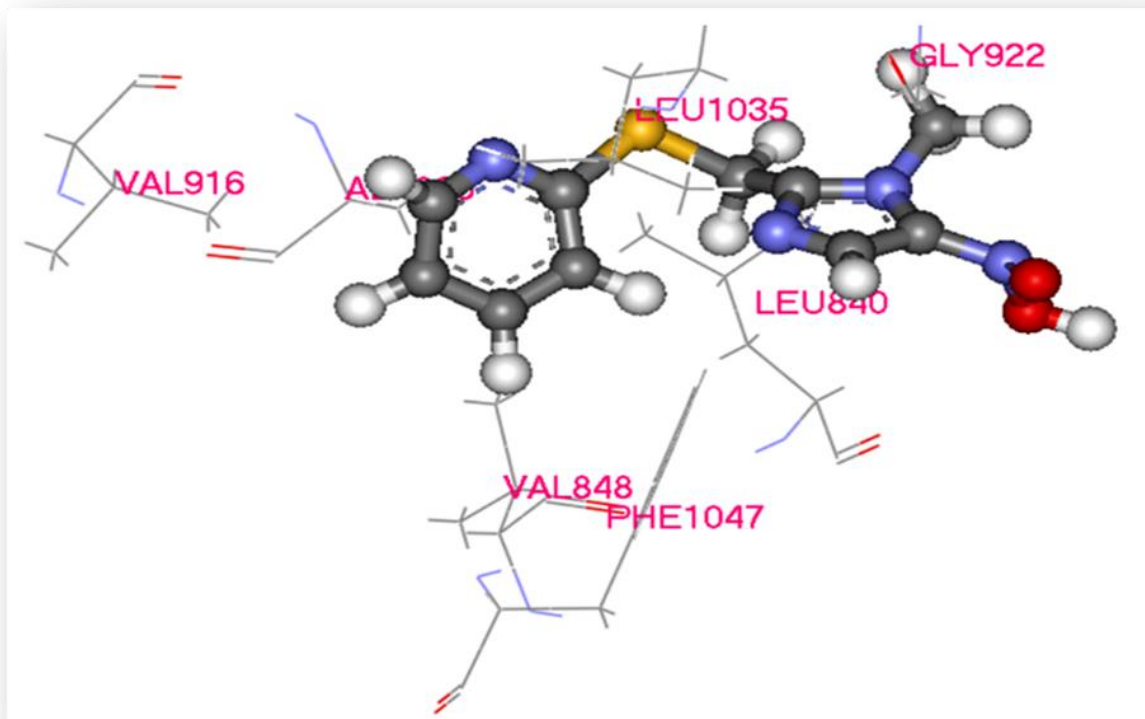


Figure V.8. Représentation des interactions hydrophobiques formées par l'inhibiteur ZINC000000001962.

De plus, l'analyse visuelle montre la présence de deux liaisons hydrogène :

- La 1^{ère} liaison est établie entre l'hydrogène de l'azote (N) du résidu Asn923 et l'oxygène de l'inhibiteur.
- La 2^{ème} liaison est formée entre l'hydrogène (H26) du résidu Asn923 et l'oxygène de l'inhibiteur.

Dans la figure V.9 suivante nous avons résumé les paires d'atomes interagissant dans les différentes interactions.

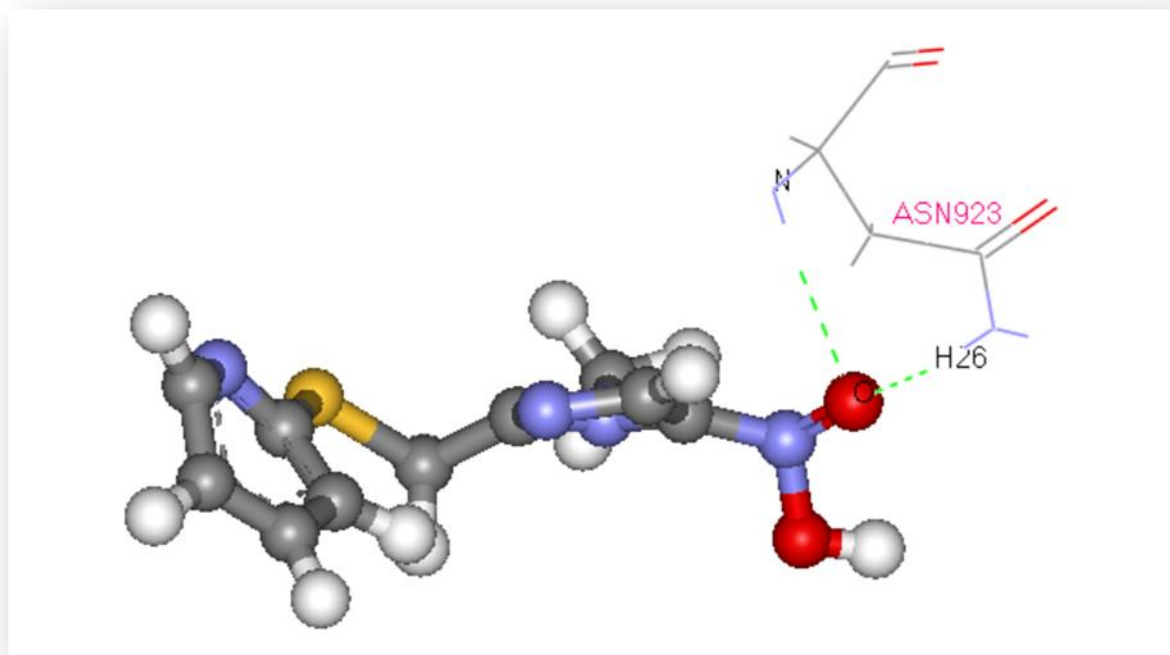


Figure V.9. Représentation des liaisons hydrogène formées par l'inhibiteur ZINC000000001962.

III.3.2. Interaction 4ASD-CID123689476

À la lumière des résultats obtenus dans l'annexe 1 et 2, l'inhibiteur dont le code ID est CID123689476, donne la meilleure affinité ($10.24M^{-1}$), ainsi qu'une bonne pénétration au niveau du site actif. L'analyse visuelle des interactions entre ce composé et l'enzyme est représentée dans la figure V.10 suivante.

Cet inhibiteur forme quatre liaisons hydrogène avec les acides aminés suivants.

- Les deux premières liaisons sont formées entre l'oxygène (OE2) du résidu Glu885 et l'hydrogène de l'inhibiteur ;
- La 2^{ème} liaison est établie entre l'azote (N) du résidu Asp1046 et l'oxygène de l'inhibiteur ;
- La 3^{ème} liaison est formée entre l'azote (N) du résidu Cyc919 et l'azote de l'inhibiteur ;
- Enfin, la 4^{ème} liaison entre l'oxygène du résidu Cyc919 et l'hydrogène de l'inhibiteur.

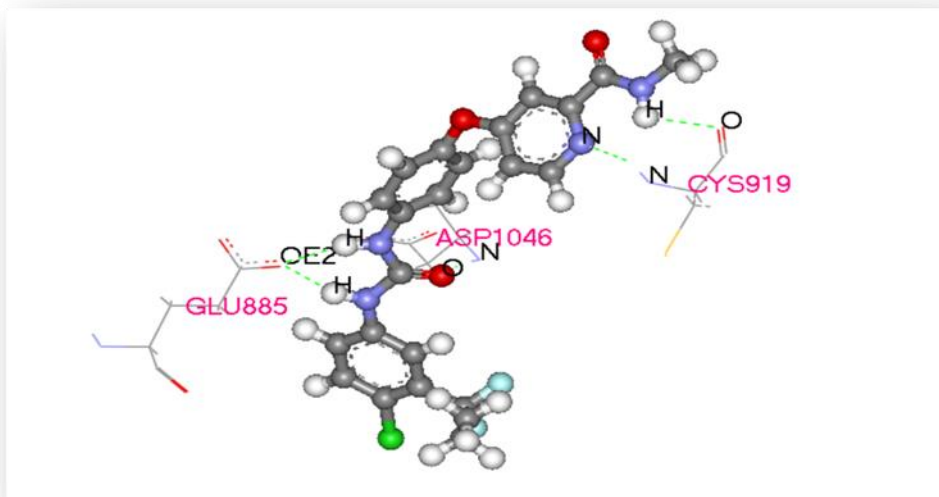


Figure V.10. Représentation des liaisons hydrogène formées par l'inhibiteur CID123689476.

De plus, la visualisation des résultats du docking montre que l'inhibiteur CID123689476 forme avec le site actif de la VEGFR2 plusieurs interactions hydrophobes avec les résidus Ileu 888, Ileu 892, Leu 889, Leu 1019, Glu 885, Ileu 1044, Val 848, Lys 868, Leu 840, Phe 918, Leu 1035, Phe 1047, Val 899, Val 916 et Cys 919. Ces interactions sont représentées dans la figure V.11 ci-dessous.

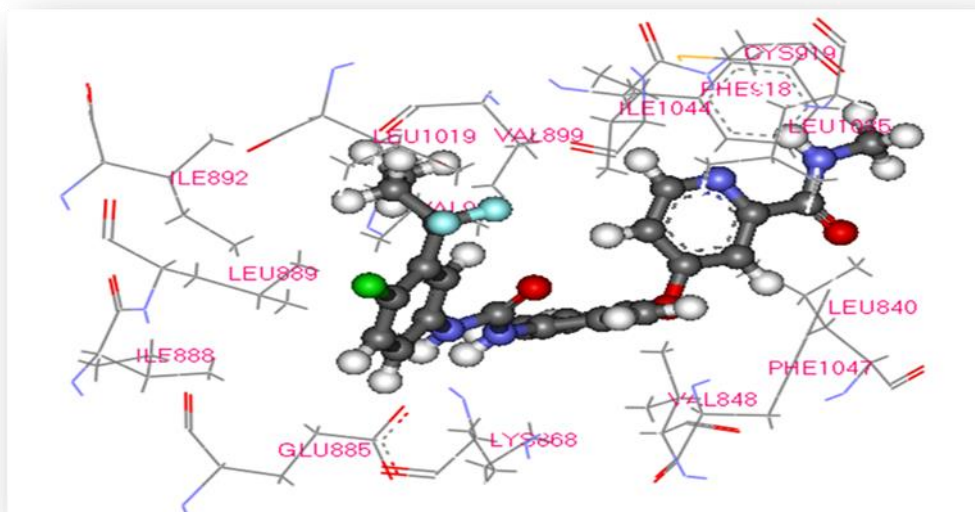


Figure V.11. Représentation des liaisons hydrophobes formées par l'inhibiteur CID123689476.

III.3.3. Prédiction de la similarité médicamenteuse

Il était très important de compléter cette étude par l'application de la méthode de filtrage ADME-Tox. Pour cette raison, nous avons prédit les paramètres physicochimiques, pharmacocinétiques et de toxicité des meilleurs inhibiteurs de la VEGFR2 en utilisant les serveurs SwissADME (<http://www.swissadme.ch>) et PreADMET (<https://preadmet.bmdrc.kr>). Les valeurs des propriétés observées sont montrées dans les tableaux qui suivent.

III.4. Propriétés physicochimiques

Nous avons prédit les paramètres physicochimiques des meilleurs inhibiteurs de la VEGFR2 en utilisant le serveur SwissADME.

Tableau V.5. Critères de la règle de *Lipinski* pour les inhibiteurs à partir de serveurs swissADME

Code ID Propriété	BAX	ZINC000000001962	CID123689476
Poids moléculaire (g/mol)	464.82	271.35	474.89
Nombres donneurs de liaison H	3	1	3
Nombre d'accepteurs de liaison H	7	3	6
LogP	4.11	2.61	4.43
Nombre de liaison de rotation	9	0	10
TPSA(Å ²)	92.35	32.70	92.35

Le tableau V.5 ci-dessus nous éclaire que les trois composés étudiés sont répondus à la règle de *Lipinski* ainsi que celle de *Veber*. Pour la règle de *lipinski*, les trois composés possèdent un poids moléculaire inférieurs de 500 Da et un coefficient de partage positive et inférieur à 5. Concernant la règle de *Veber*, la surface polaire de ces composés est moins de 140 Å². Ainsi que, un nombre inférieur ou égale à 10 de liaisons rotables pour les inhibiteurs BAX et CID123689476 et l'absence de ces liaisons pour l'inhibiteur ZINC000000001962.

Donc on peut dire, que les résultats de ce tableau montrent que les trois molécules étudiées s'inscrivent parfaitement dans la marge de ces critères.

III.5. Propriétés pharmacocinétiques

Un bon candidat médicament doit être rapidement et complètement absorbé par voie gastrointestinale, distribué spécifiquement vers son site d'action dans le corps, métabolisé d'une manière à ne pas altérer les fonctions de l'organisme, et éliminé de manière appropriée sans causer des dommages. Nous avons prédit les paramètres pharmacocinétiques afin d'affirmer notre sélection et d'aller vers le composé ayant le plus de chance d'être un candidat médicament.

Tableau V.6. Propriétés pharmacocinétiques des inhibiteurs à partir de serveurs swissADME.

Code ID Propriété	BAX	ZINC000000001962	CID123689476
BBB perméabilité	Non	Oui	Non
GI absorption	faible	Haute	Faible
CYP1A2 inhibition	positive	négative	positive
CYP2C19 inhibition	positive	négative	positive
CYP2C9 inhibition	positive	négative	positive
CYP2D6 inhibition	positive	positive	positive
CYP3A4 inhibition	positive	négative	positive

Les résultats du tableau V.6 montre que la barrière hémato-encéphalique est imperméable à tous les composés à l'exception de l'inhibiteur ZINC000000001962. Nous avons également noté que tous les composés ont montré une faible possibilité d'absorption gastro-intestinale à l'exception de l'inhibiteur ZINC000000001962 qui possède une absorption gastro-intestinale élevée ce qui lui permet de traverser la barrière gastro-intestinale pour arriver au sang. De plus, SwissADME permet de prédire si un composé chimique est un inhibiteur ou non des isoenzymes du cytochrome P450. Nous avons constaté que le composé ZINC000000001962 n'est pas un inhibiteur pour les isoenzymes cytochrome P450, contrairement au reste des molécules qui inhibent tous les CYP.

III.6. La toxicité

Dans le but de vérifier la toxicité des inhibiteurs de la VEGFR2, plusieurs paramètres ont été déterminés *in silico*. Dans le tableau V.7 ci-dessous nous avons résumé ces résultats.

Tableau V.7. Le profil de toxicité relative des composés étudiés obtenus à partir de serveur preADME.

Code ID Paramètre	BAX	ZINC000000001962	CID123689476
Carcino_souris	positive	positive	positive
Carcino_Rat	négative	négative	négative
Test d'Ames	Non mutagène	Mutagène	Non mutagène
HERG_inhibition	Risque medium	Risque faible	Risque medium
algues_at	0.00826001	0,0689149	0.00146914
daphnia_at	0.0122038	0.509767	0.00125914
medaka_at	0.000382177	0.32832	5.21631
minnow_at	0.00065499	0.252007	3.07254

La prédiction de la toxicité montre que :

- ✚ Le pouvoir carcinogène des trois composés pour les rats est négatif. Par contre, il est positif pour les souris.
- ✚ L'inhibiteur ZINC000000001962 a un effet mutagène, ayant la capacité de changer la structure chromosomique et pouvant donc induire des modifications génétiques et provoque des mutations directes sur l'ADN contrairement au reste de composés.
- ✚ Concernant le test d'inhibition du gène hERG, nous avons noté un bon résultat pour les trois composés. Il a été prouvé que l'inhibition du gène hERG prolonge le potentiel d'action cardiaque.
- ✚ Concernant les tests utilisant les espèces aquatiques, un bon résultat a été démontré pour la totalité des composés.

En conclusion, Parmi les 1028 composés testés, seul les molécules ZINC000000001962 et CID123689476 (voir annexe 1 et 2) établit une interaction proche de celle de notre inhibiteur de référence (BAX), qui reste, cependant, le meilleur inhibiteur de la VEGFR2 avec une affinité de 11.16 M^{-1} et un ensemble de 4 liaisons hydrogène (figure V.6). De plus, malgré que l'inhibiteur ZINC000000001962 établisse moins de liaisons hydrogène avec la VEGFR2 que le BAX avec seulement un total de 2 liaisons hydrogène (figure V.9), ce composé possède des propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et de toxicité plus intéressantes que le BAX.

A partir de ces remarques, on peut proposer les composés ZINC000000001962 et CID123689476 comme des autres inhibiteurs de la VEGFR2. Il serait également intéressant de faire des substitutions sur ces derniers pour faire augmenter d'avantage son affinité.

Conclusion



CONCLUSION

Les approches théoriques permettant la prédiction du mode d'interaction d'un ligand avec son récepteur sont complémentaires des approches expérimentales et permettent parfois leur interprétation. Elles nous renseignent de façon significative sur les interactions au niveau moléculaire et sont, de ce fait, le socle à partir duquel une conception ou une optimisation rationnelle de molécules actives, prenant en compte des critères structuraux, peut être envisagée. La synergie entre les approches théoriques et expérimentales est cruciale pour une évolution optimale des connaissances en biologie, pharmacie et médecine. Un tel environnement de recherche est très certainement l'une des clés vers un chemin de plus en plus court pour l'identification d'un besoin thérapeutique.

Ce mémoire de master avait pour but d'acquérir des compétences en simulation informatique, pour découvrir *in silico* de nouvelles molécules agissant comme inhibiteurs très puissants de la VEGFR2 (récepteur 2 du facteur de croissance endothélial vasculaire). C'est une cible thérapeutique potentielle intéressante pour développer de nouveaux anti-angiogéniques. Le criblage virtuel par Surfex-dock nous a permis d'étudier les interactions intervenant dans l'inhibition de la VEGFR2 par divers inhibiteurs en s'appuyant sur des composés provenant de deux chimiothèques ZINC et PubChem.

Dans la première partie, nous avons testé la fiabilité du programme Surfex-dock. C'est à dire, la capacité à prédire l'emplacement correct d'un ligand au niveau de son récepteur.

- Le premier test consiste de calculer le RMSD pour permettre de comparer la déviation de la géométrie du ligand simulé par Surfex-dock avec celle déterminée expérimentalement. Sur les 156 complexes pris de la PDB, 85% ont présenté un RMSD inférieur ou égal à 2Å.
- Le deuxième test est l'analyse visuelle par viewerLite. C'est une étape essentielle pour confirmer les résultats du RMSD, montre une superposition maximale de la conformation optimale du ligand calculé par Surfex-dock et la géométrie du même ligand pris initialement de la PDB.

Ces tests nous apportent la preuve que le logiciel Surfex-dock est hautement performant et peut être utilisé en toute fiabilité pour prédire les interactions des composés testés avec le site actif de notre cible enzymatique.

Dans la deuxième partie, nous avons réalisés un criblage virtuel de 800 molécules issus de la base de données ZINC et une collection de 440 des similaires téléchargés à partir de la PubChem envers le site actif de la VEGFR2. Après un protocole de docking-scoring nous avons proposé deux composés ZINC000000001962 et CID 123689476 comme nouveaux inhibiteurs potentiel pour la VEGFR2. Il était très important de compléter cette étude par l'application de la méthode de filtrage ADME-Tox afin de nous renseigner sur les propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et de toxicité des molécules proposées. L'évaluation des différentes propriétés a montré que les inhibiteurs ZINC000000001962 et CID123689476 possèdent un bon profil ADME-Tox. De ce fait, on peut dire que les résultats obtenus sont encourageants et peuvent contribuer au développement de nouveaux agents anti-angiogéniques.

Comme perspectives d'avenir, des tests *in vitro* et *in vivo* de l'activité biologique des inhibiteurs ZINC000000001962 et CID123689476 sont recommandés pour compléter les résultats théoriques et vérifier l'efficacité de l'approche *in silico*.

Références bibliographiques



Références bibliographiques

- [1] Bénédicte H. 2012. Les thérapies ciblées par voie orale dans la prise en charge du cancer du rein métastatique : importance du lien ville / hôpital pour le patient dans la gestion de son traitement et des effets secondaires. Exemple de l'institut de Cancérologie de l'Ouest Paul Papin. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de UFR science pharmaceutiques et ingénierie de la santé Angers . France. 184p.
- [2] Saillard M. 2014. Traitements anti-angiogéniques dans le cancer du sein : place de l'Avastin®. Sciences pharmaceutiques. Thèse de doctorat en pharmacie Université de UFR de médecine et pharmacie. Rouen. France. 307p.
- [3] Croix M.J., Dixelius J., Matsumoto T., Claesson-Welsh L. 2003. transduction du signal du récepteur VEGF. *Tendances Biochem Sci.* **28**: 488-494.
- [4] Kang D., Pang X., Lian W., Xu L., Wang J., Jia H., Zhang B ., Liu A and Du G. 2018. Discovery of VEGFR2 inhibitors by integrating naïve Bayesian classification, molecular docking and drug screening approaches. *RSC Adv.* **8** : 5286-5297.
- [5] Irwin J.J., Sterling T., Mysinger M.M., Bolstad E.S et Coleman R.G. 2012. ZINC : un outil gratuit pour découvrir la chimie pour la biologie. *Journal of Chemical Information and Modeling.* **52** (7) : 1757-1768.
- [6] Walters W. P., Stahl M.T., Murcko M. A. 1998. A virtual screening: an overview. *Drug Discovery Today.* **3**: 160-178.
- [7] Hou T., Xu X. 2004. Recent Development and Application of Virtual Screening in Drug Discovery: An Overview. *Current Pharmaceutical Design.* **10** : 1011-1033.
- [8] Jiang S., Fu R., Shi J., Wu H., Mai J., Hua X., Chen H., Liu J., Lu M et Li N . 2021. CircRNA-Mediated Regulation of Angiogenesis : A New Chapter in Cancer Biology. *Front. Oncol.* **11**:553706.
- [9] Vivre, le magazine contre le cancer Antiangiogénique : une révolution ? https://www.ligue-cancer.net/vivre/article/26494_antiangiogeniques-une-revolution. Consulté le: [02 /06/2021].

- [10] Carmeliet P. 2000. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nature Medicine*. **6**: 389- 395.
- [11] Hillen F and Griffioen A. 2007. Tumour vascularization: sprouting *angiogenesis and beyond*. *Cancer and Metastasis Reviews*. **26**:489-502.
- [12] Satchi-Fainaro R., Duncan R., Barnes C. 2006. Polymer therapeutics for cancer: *current status and future challenges*. *Advances in Polymer Science*. **193**: 1-65.
- [13] Burri P. H and Tarek M. R. 1990. A novel mechanism of capillary growth in the rat pulmonary microcirculation. *The Anatomical Record*. **228**: 35-45.
- [14] Patan S., Munn L. L., Jain R. K. 1996. Intussusceptive microvascular growth in a human colon adenocarcinoma xenograft: A novel mechanism of tumor angiogenesis. *Microvascular Research*. **51** (2): 260-72.
- [15] Patan S., Alvarez M. J., Schittny J. C., Burri P. H. 1992. Intussusceptive microvascular growth: A common alternative to capillary sprouting. *Archives of histology and cytology*. **55**: 65-75.
- [16] Djonov V., Baum O., Burri P. H. 2003. Vascular remodeling by intussusceptive angiogenesis. *Cell and Tissue Research*. **314** (1):107-17.
- [17] Ribatti D. 2013. Angiogenesis. *Brenner's Encyclopedia of Genetics*. **1**:66–73.
- [18] Tobelem G. 2008. Angiogenèse physiologique et tumorale. *Journal de Chirurgie*. **145** :4-7.
- [19] Gingras D., Béliveau R. 1997. L'angiogenèse tumorale: une nouvelle cible thérapeutique anticancéreuse. *médecine/sciences*. **13**: 1428-35.
- [20] Saillard M. 2014. Traitements anti-angiogéniques dans le cancer du sein : place de l'Avastin. Thèse de Doctorat en pharmacie. Université de Rouen UFR de Médecine et de pharmacie. France. 307p.
- [21] Teleanu R. I., Chircov C., Grumezescu A. M., Teleanu D. M. 2020. Tumor Angiogenesis and Anti-Angiogenic Strategies for Cancer Treatment. *J. Clin.* **9**(1): 84.
- [22] Ferrara N. 2002. VEGF et la quête des facteurs d'angiogenèse tumorale. *Nat. Rev. Cancer* **2** : 795-803.

- [23] Ivy S. P., Wick J. Y., Kaufman B. M. Un aperçu des inhibiteurs à petites molécules de la signalisation VEGFR . *Nat. Rev. Clin. Oncol.* **6** , 569-579.
- [24] Wiesmann C., Fuh G., Christinger H. W., Eigenbrot C., Wells J. A., de Vos A. M.1997. Structure cristalline à 1,7 de résolution du VEGF en complexe avec le domaine 2 du récepteur Flt-1. *Cellule.* **91** : 695-704.
- [25] Rak J., Mitsuhashi Y., Bayko L., Filmus J., Shirasawa S., Sasazuki T., Kerbel R.S.1995. Les oncogènes ras mutants régulent positivement l'expression du VEGF/VPF : implications pour l'induction et l'inhibition de l'angiogenèse tumorale . *Cancer Rés.* **55**: 4575-4580.
- [26] Mukhopadhyay D., Knebelmann B., Cohen H. T., Ananth S., Sukhatme V. P. 1997. Le produit du gène suppresseur de tumeur von Hippel-Lindau interagit avec Sp1 pour réprimer l'activité du promoteur du facteur de croissance endothélial vasculaire. *Mol. Cellule. Biol.* **17** : 5629-5639.
- [27] Zhou Y.J., Xiong Y. X., Wu X. T., Shi D., Fan W., Zhou T., Li Y. C., Huang X. 2004. Inactivation of PTEN is associated with increased angiogenesis and VEGF overexpression in gastric cancer. *Monde J. Gastroenterol.* **10**: 3225-3229.
- [28] Shweiki D., Neeman M., Itin A., Keshet E. 1995. Induction de l'expression du facteur de croissance endothélial vasculaire par hypoxie et par déficit en glucose dans les sphéroïdes multicellulaires: implications pour l'angiogenèse tumorale. *Proc. Natl. Acad. Sci. États-Unis.* **92** : 768-772.
- [29] Wedge S. R., Kendrew J., Hennequin L.F., Valentine P.J., Barry ST., Brave S.R., Smith N.R., James N.H., Dukes M., Curwen J.O., Chester R., Jackson J.A., Boffey S.J., Kilburn L.L., Barnett S., Richmond G.H., Wadsworth P.F., Walker M., Bigley A.L., Taylor S.T., Cooper L., Beck S., Jürgensmeier J.M., Ogilvie D.J.2005. AZD2171 : un inhibiteur de la tyrosine kinase du récepteur 2 du facteur de croissance endothélial vasculaire très puissant, biodisponible par voie orale, pour le traitement du cancer. *Cancer Rés.* **65**: 4389-4400.
- [30] Koch S., Tugues S., Li X., Gualandi L., Claesson-Welsh L.2011. Signal transduction by vascular endothelial growth factor receptors. *Biochem. J.* **437**: 169-183.
- [31] Shibuya M. 2006. Vascular endothelial growth factor (VEGF)-receptor 2: its biological functions, major signaling pathway, and specific ligand VEGF-E. *Endothelium.* **13**:63-69.

- [32] Yancopoulos G. D., Davis S., Gale N. W., Rudge J. S., Wiegand S. J., and Holash J. 2000. Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature*. **407**: 242-248.
- [33] Wang X., Bove A. M., Simone G and Ma B.2020.Molecular Bases of VEGFR-2-Mediated Physiological Function and Pathological Role. *Front. Cell Dev. Biol.* **8**:599281.
- [34] Sandra M. M., Edward S., Mayanka A., Kaisa K., Guido C., Kurt B.H.2017.Structure of Full-length VEGFR-1 Extracellular Domain in Complex with VEGF-A. *Structure*. **25**: 341-352.
- [35] Matalliotaki C., Eliopoulos E., Matalliotakis M., Kalogiannidis I., Matalliotakis I., Spandidos D.A., Goulielmos G.N., Zervou M.I. 2019. Implication of VEGFR2 in endometriosis: A structural biological and genetic approach. *World Academy of Sciences Journal*. **1**: 283-289.
- [36] Liu Y., Gray N.S. 2006. Rational design of inhibitors that bind to inactive kinase conformations. *Nat Chem Biol*. **2**: 358.
- [37] Kwak E.L., Sordella R., Bell D.W., Godin Heymann N., Okimoto R.A., Brannigan B.W. 2005. Irreversible inhibitors of the EGF receptor may circumvent acquired resistance to gefitinib. *Proc Natl Acad Sci*. **102**: 7665-7670.
- [38] Ghorab M.M., Alsaïd M.S., Soliman A.M. 2017. RagabVEGFR-2 inhibitors and apoptosis inducers: synthesis and molecular design of new benzo [g] quinazolin bearing benzenesulfonamide moiety. *J Enzyme Inhib Med Chem*. **32**: 893-907.
- [39] Rayar A.M. 2017. In silico drug design et chimie médicinale : développement de nouvelles molécules coumariniques, sélectives de la cyclooxygénase-2. Thèse de doctorat en Conservatoire national des arts et métiers – CNAM :Bioinformatique. École Doctorale Science Des Metiers De L'ingénieur. France.402p.
- [40] Zerroug E. 2020. Analyse in silico de plusieurs séries de pharmaco molécules hétérocycliques appliquée à la conception de médicaments. Thèse de doctorat en chimie moléculaire. Université Mouhamed Khider – Biskra. Algérie. 151p.
- [41] Lagarde N. 2014. Méthodes de criblage virtuel in silico : importance de l'évaluation et application à la recherche de nouveaux inhibiteurs de l'interleukine 6. Thèse de doctorat du Conservatoire National des Arts et Métiers : bioinformatique. Paris. France. 284p.

- [42] Louacheni F. 2013. Développement d'un portail web pour le criblage virtuel sur la grille de calcul. Mémoire de Master en: informatique. *Vietnam. Hanoi*.65p.
- [43] Rognan D.2014. Méthode de criblage in silico de chimiothèques.<https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/biomedical-pharma-th15/chimie-pharmaceutique-42609210/methodes-de-criblage-in-silico-de-chimiotheques-pha1020/methodes-de-criblage-virtuelpha1020niv10002.html>. Consulté le: [17 /09/2021].
- [44] Beautrait A. 2008. Développement et validation de la plateforme de criblage virtuel VSM-G et étude du domaine FAT de la kinase d'adhérence focale FAK.Thèse de doctorat en Chimie Informatique et Théorique Informatique. Université Henri Poincaré - Nancy I. France.242p.
- [45] Mokrani E. H. 2012. Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation informatique. Mémoire de magister en Technologie des explorations biochimiques. Université Mentouri Constantine I. Algérie. 75p
- [46] Boucherit H. 2020. Recherche in silico de nouveaux composés bioactifs et applications à l'inhibition de la méthionine aminopeptidase. Thèse de doctorat en Biochimie Appliquée. Université Frères Mentouri – Constantine I. Algérie. 210p.
- [47] Villoutreix B. 2020. Concevoir des candidats médicaments sur Internet (1/2).*CultureSciences-Chimie*.<https://culturesciences.chimie.ens.fr/thematiques/chimie-organique/chimie-pharmaceutique/concevoir-des-candidats-medicaments-sur-internet>. Consulté le: [19 /09/2021].
- [48] Hawkins P.C.D., Stahl G. 2018. Ligand-Based Methods in GPCR Computer-Aided Drug Design. In: Heifetz A. (eds) Computational Methods for GPCR Drug Discovery. Methods in Molecular Biology. *Humana Press, New York, NY*. vol 1705
- [49] Bouchagra S. 2018. Modélisation des interactions protéine-petites molécules : Etude de la relation structure-fonction dans le cas des lipases. Thèse de doctorat en chimie organique et bioorganique. Université Badji Mokhtar- Annaba. Algérie. 145p.
- [50] Merzoug A.2018.Recherche de Nouvelles molécules bioactive par criblage virtuel at application à inhibition de la peptide déformylase. Thèse de doctorat en Biochimie appliquée. Université Frères Mentouri – Constantine I. Algérie. 193p.

- [51] Faezov B., Dunbrack R. L. 2021. PDBrenum: A webserver and program providing Protein Data Bank files renumbered according to their UniProt sequences. *PLOS ONE*. **16**(7): e0253411.
- [53] Irwin J.J., Sterling T. 2015. ZINC 15 – Ligand Discovery for Everyone. *J. Chem. Inf. Model.* **55**: 2324-2337
- [54] Irwin J. J., Sterling T., Mysinger M .M., Bolstad E. S., Coleman R. G. 2012. ZINC: a free tool to discover chemistry for biology. *J Chem Inf Model.* **52**(7): 1757-1768.
- [56] Kim S., Chen J., Cheng T., Gindulyte A., He J., He S., Li Q., Shoemaker B. A., Thiessen P. A., Yu B., Zaslavsky L., Zhang J and Bolton E. E. 2021. PubChem in 2021: new data content and improved web interfaces. *Nucleic Acids Research.* **49**: D1388–D1395.
- [58] Boucherit H. 2012. Etude théorique des interactions intervenant dans l'inhibition de la méthionine aminopeptidase de *Mycobacterium tuberculosis* par diverses molécules. Mémoire de magistère en biologie cellulaire et moléculaire. Université Mentouri Constantine I. Algérie. 110p
- [62] Kufareva I., Abagyan R. 2012. Methods of protein structure comparison. *Methods Mol Biol.* **857**:231–257.
- [63] Chevrollier N.2019. Développement et application d'une approche de docking par fragments pour modéliser les interactions entre protéines et ARN simple-brin. Thèse de doctorat en Biologie structurale. Université Paris-Saclay. France. 197p.
- [64] Kola I., Landis J. 2004. Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates? *Nat Rev Drug Discov.* **3**(8): 711-5.
- [65] Empereur-Mot C. 2017. Développement d'outils statistiques d'évaluation de méthodes de criblage virtuel : courbes de prédictivité & Screening Explorer. Thèse de doctorat en Bioinformatique, Biochimie et biologie moléculaire. Conservatoire national des arts et métiers – CNAM. France. 209p.
- [66] Lipinski C. A., Lombardo F., Dominy B. W., Feeney P. J. 2001. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews.* **46**: 3-26.

- [67] Veber D. F., Johnson S. R., Cheng H. Y., Smith B. R., Ward K.W., Kopple K. D. 2002. *Journal of Medicinal Chemistry*. **45**: 2615-2623.
- [68] Corinne H. 2008. Recherche d'inhibiteurs de haute affinité de l'ADN polymérase beta par criblage virtuel et RMN. Thèse de doctorat en Biologie structurale. Université Toulouse III - Paul Sabatier. France. 254p.
- [69] Allam L. 2020. Conception et évaluation des molécules anticancéreuses par approches in silico inhibiteurs des kinases AKT1 et LMTK3. Thèse de doctorat en biotechnologie et biologie moléculaire. Université Mohammed V Faculté de Médecine et de Pharmacie. Rabat. Maroc. 202p.
- [70] Martiny V.Y., Carbonell P., Chevillard F., Moroy G., Arnaud B. N., Vayer P., Villoutreix B. O., Miteva M. A. 2015. Integrated structure- and ligand-based in silico approach to predict inhibition of cytochrome P450. *Bioinformatics* . **31**(24) : Pa3930–3937.
- [72]Lagarde N. 2014. Méthodes de criblage virtuel in silico : importance de l'évaluation et application à la recherche de nouveaux inhibiteurs de l'interleukine 6. Thèse de doctorat en Bioinformatique et Biologie Systémique. Conservatoire national des arts et metiers – CNAM. École Doctorale Abbé Grégoire. Français. 316p.
- [73] Godet F.1993. Performances des tests d'Ames et micronoyaux triton appliqués à l'étude de la génotoxicité d'effluents complexes et des interactions entre polluants. Thèse de doctorat en Toxicologie de L'environnement. Université Paul Verlaine - Metz. France. 100p.
- [74] Goujon E. 2015. Etude de la toxicité de la sulcotrione et de ses produits de photo dégradation. Thèse de doctorat en Physiologie et Génétique Moléculaires. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II. France. 153p.
- [75] Thibaut B. 2016. Approche toxicologique lors du développement d'un médicament radiopharmaceutique, application à une étude préclinique d'un nouveau traceur de la plaque d'athérome vulnérable. Thèse de doctorat en Sciences pharmaceutiques. Grenoble. France. 129p.
- [76] Jing Y., Easter A., Peters D., Kim N., Enyedy I. J. 2015. In silico prediction of hERG inhibition. *Future Med Chem*. **7**(5): 571-86.

[77] Verdonk M. L., Cole J. C., Hartshorn M.J., Murray C.W., Taylor R.D.2003. Improved protein–ligand docking using GOLD. *Proteins*. **52**: 609-623.

[78] Chikhi A., Bensegueni A. 2008. Comparative Study of the Efficiency of Three Protein-Ligand Docking Program. *Journal of Proteomics and Bioinformatics*.**1**:161-165.

[79] Teniou S.2012. Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de la topoisomérase I de cellules cancéreuses. Mémoire de magistère en biochimie. Université Mentouri Constantine I. Algérie. 103p.

[80] Boucherit H., Chikhi A., Bensegueni A., Merzoug A., Hioual K., Mokrani E. H. 2014. Theoretical study of the interactions involved in the inhibition of *Mycobacterium tuberculosis* methionine aminopeptidase by several molecules. *Computational Biology and Bioinformatics*. **2**:63-73.

[81] Zaheer-ul-Haq., Halim S. A., Uddin R., Madura J. D. 2010. Benchmarking docking and scoring protocol for the identification of potential acetyl cholinesterase inhibitors. *J Mol Graph Model*. **28**:870-882.

[85] Kumar V., Krishna S., Siddiqi M. I. 2015. Virtual screening strategies: Recent advances in the identification and design of anti-cancer agents. *Methods*. **71**: 64-70.

Site web

[52] <https://www.rcsb.org>

[55] ZINC <http://zinc.docking.org>

[57] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>

[59] <https://atomsk.univ-lille.fr/doc/fr/othercodes.html>

[60] <http://www.swissadme.ch/>

[61] <https://www.nature.com/articles/srep42717>

[71] <https://slideplayer.com/slide/7374694/>

[82] <https://www.techno-science.net/glossaire-definition/Enzyme.html>

[83] http://www.chimiegenerale.com/site_actif.php

[84] https://fr.wikipedia.org/wiki/Site_actif

Annexes

Annexe1. Scores obtenus par Surfex-dock des composés téléchargés à partir de la banque de données ZINC dans le site actif de la VEGFR2.

Code	A(M ⁻¹)	Code	A(M ⁻¹)	Code	A(M ⁻¹)
ZINC000000000024	2.25	ZINC000000001718	1.61	ZINC000000002783	2.46
ZINC000000000113	4.17	ZINC000000001734	1.35	ZINC000000002784	3.45
ZINC000000000235	2.00	ZINC000000001804	4.55	ZINC000000002786	3.00
ZINC000000000288	-3.41	ZINC000000001805	4.02	ZINC000000002787	2.88
ZINC000000000344	0.37	ZINC000000001901	2.00	ZINC000000002835	5.86
ZINC000000000465	1.25	ZINC000000001990	2.92	ZINC000000002887	-0.71
ZINC000000000542	4.86	ZINC000000002092	3.92	ZINC000000003110	1.87
ZINC000000000630	2.80	ZINC000000002097	4.49	ZINC000000003281	2.64
ZINC000000000686	3.80	ZINC000000002099	3.03	ZINC000000003282	2.89
ZINC000000000699	3.16	ZINC000000002104	3.91	ZINC000000003283	2.98
ZINC000000000720	-0.90	ZINC000000002117	3.26	ZINC000000003310	5.18
ZINC000000000732	2.84	ZINC000000002119	2.70	ZINC000000003362	3.40
ZINC000000000766	-0.23	ZINC000000002124	5.38	ZINC000000003393	3.49
ZINC000000000831	2.10	ZINC000000002152	2.47	ZINC000000003396	1.93
ZINC000000000884	2.90	ZINC000000002235	3.27	ZINC000000003654	-1.18
ZINC000000000889	3.17	ZINC000000002310	3.05	ZINC000000003689	2.31
ZINC000000000892	3.37	ZINC000000002358	4.09	ZINC000000003746	3.29
ZINC000000000935	0.89	ZINC000000002431	2.76	ZINC000000003747	4.57
ZINC000000000954	1.09	ZINC000000002472	4.44	ZINC000000003791	-0.65
ZINC000000001097	4.26	ZINC000000002562	2.94	ZINC000000003885	3.72
ZINC000000001120	4.32	ZINC000000002570	-2.55	ZINC000000003916	4.28
ZINC000000001272	2.35	ZINC000000002657	3.62	ZINC000000003963	2.54
ZINC000000001489	4.76	ZINC000000002703	3.10	ZINC000000004000	-11.91
ZINC000000001618	2.75	ZINC000000002753	2.98	ZINC000000004021	5.66
ZINC000000004038	2.16	ZINC000000000873	2.91	ZINC000000001823	1.62
ZINC000000004039	0.37	ZINC000000000913	5.00	ZINC000000001851	3.12
ZINC000000004181	2.04	ZINC000000000992	3.92	ZINC000000001853	3.56
ZINC000000004240	1.85	ZINC000000000994	3.16	ZINC000000001875	0.57
ZINC000000004257	2.16	ZINC000000001005	2.23	ZINC000000001914	5.26
ZINC000000004287	5.96	ZINC000000001022	5.52	ZINC000000001943	3.81
ZINC000000004392	2.09	ZINC000000001164	2.88	ZINC000000002024	0.99
ZINC000000004397	2.30	ZINC000000001165	2.58	ZINC000000002046	4.22
ZINC000000004451	-0.53	ZINC000000001213	2.18	ZINC000000002091	3.34
ZINC000000004505	2.48	ZINC000000001224	-1.29	ZINC000000002093	3.26
ZINC000000004522	3.86	ZINC000000001233	-3.48	ZINC000000002095	3.46
ZINC000000004630	6.17	ZINC000000002102	2.46	ZINC000000002098	5.35
ZINC000000004647	2.87	ZINC000000002107	3.25	ZINC000000002471	3.87
ZINC000000004879	2.77	ZINC000000002110	3.36	ZINC000000000012	4.27
ZINC000000004960	4.45	ZINC000000002113	5.48	ZINC000000000043	1.90
ZINC000000005130	2.54	ZINC000000002160	3.66	ZINC000000000050	6.50
ZINC000000005194	4.59	ZINC000000002196	5.29	ZINC000000000063	2.98

ZINC000000005281	4.93	ZINC000000002242	3.45	ZINC000000000092	2.54
ZINC000000002571	0.57	ZINC000000002259	2.91	ZINC000000000093	2.41
ZINC000000002573	0.08	ZINC000000005351	3.27	ZINC000000000115	4.30
ZINC000000005417	2.57	ZINC000000005373	3.19	ZINC000000002262	0.66
ZINC000000005668	1.20	ZINC000000000017	3.78	ZINC000000002270	1.81
ZINC000000005695	1.92	ZINC000000000056	3.45	ZINC000000002305	4.58
ZINC000000005760	1.22	ZINC000000000073	5.18	ZINC000000002306	2.87
ZINC000000005827	2.85	ZINC000000000098	1.33	ZINC000000002308	1.74
ZINC000000003839	-4.24	ZINC000000000124	2.51	ZINC000000002341	3.27
ZINC000000000133	-1.12	ZINC000000000128	-1.66	ZINC000000002342	3.30
ZINC000000000150	4.00	ZINC000000000367	3.66	ZINC000000002373	0.44
ZINC000000000201	3.07	ZINC000000000458	4.73	ZINC000000002374	4.27
ZINC000000000257	5.15	ZINC000000000498	4.97	ZINC000000002375	3.97
ZINC000000000503	1.46	ZINC000000000499	1.73	ZINC000000002382	4.43
ZINC000000000517	3.18	ZINC000000001298	0.25	ZINC000000002385	4.11
ZINC000000000534	2.84	ZINC000000001337	2.03	ZINC000000002389	2.03
ZINC000000000540	3.13	ZINC000000001369	5.36	ZINC000000002429	1.10
ZINC000000000555	3.44	ZINC000000001380	3.27	ZINC000000002432	3.00
ZINC000000000562	0.89	ZINC000000001441	3.36	ZINC000000002451	4.39
ZINC000000000570	2.66	ZINC000000001466	3.34	ZINC000000002470	5.41
ZINC000000000583	1.79	ZINC000000001540	3.32	ZINC000000002474	3.53
ZINC000000000628	2.54	ZINC000000001544	2.64	ZINC000000002475	3.42
ZINC000000000648	1.81	ZINC000000001560	2.61	ZINC000000000984	5.32
ZINC000000000652	5.81	ZINC000000001607	4.29	ZINC000000001018	4.55
ZINC000000000700	2.33	ZINC000000001635	2.51	ZINC000000001050	1.19
ZINC000000000704	4.63	ZINC000000001696	3.80	ZINC000000001211	-1.46
ZINC000000000811	2.89	ZINC000000001713	1.94	ZINC000000001262	4.48
ZINC000000000814	2.53	ZINC000000001729	2.27	ZINC000000001276	2.25
ZINC000000000817	0.48	ZINC000000001749	3.72	ZINC000000001296	4.03
ZINC000000000827	4.65	ZINC000000001808	4.68	ZINC000000001379	5.00
ZINC000000000869	3.54	ZINC000000001822	4.57	ZINC000000001414	3.25
ZINC000000001436	3.02	ZINC000000002361	2.16	ZINC000000000304	0.43
ZINC000000001445	3.49	ZINC000000002387	4.04	ZINC000000000941	1.13
ZINC000000001450	6.80	ZINC000000002401	3.27	ZINC000000000950	4.78
ZINC000000001482	5.41	ZINC000000002483	5.58	ZINC000000000961	2.21
ZINC000000001518	3.83	ZINC000000002484	3.17	ZINC000000001000	4.23
ZINC000000001547	5.40	ZINC000000002489	2.41	ZINC000000001024	1.48
ZINC000000001551	4.92	ZINC000000002532	4.37	ZINC000000001030	2.56
ZINC000000001556	4.77	ZINC000000002547	2.99	ZINC000000001083	4.33
ZINC000000001595	4.78	ZINC000000002548	4.22	ZINC000000001136	2.40
ZINC000000001722	2.82	ZINC000000002594	6.39	ZINC000000001241	1.79
ZINC000000001867	4.54	ZINC000000002629	5.27	ZINC000000001266	2.03
ZINC000000001962	6.91	ZINC000000002645	2.04	ZINC000000001268	-3.76
ZINC000000001975	1.71	ZINC000000002648	2.47	ZINC000000001275	3.85
ZINC000000001982	0.24	ZINC000000002676	1.63	ZINC000000001323	0.99
ZINC000000002033	2.74	ZINC000000002679	2.53	ZINC000000001325	3.76
ZINC000000002035	4.67	ZINC000000002733	4.06	ZINC000000001360	2.51

ZINC000000002062	4.04	ZINC000000002734	4.86	ZINC000000001373	3.94
ZINC000000002079	5.30	ZINC000000002736	4.54	ZINC000000001434	2.04
ZINC000000002182	3.15	ZINC000000002194	2.87	ZINC000000002743	3.15
ZINC000000002191	3.93	ZINC000000002195	4.24	ZINC000000002769	3.50
ZINC000000000183	4.49	ZINC000000002800	-3.70	ZINC000000000308	5.11
ZINC000000000196	-2.04	ZINC000000002808	4.03	ZINC000000000312	-7.58
ZINC000000000245	0.71	ZINC000000002809	3.76	ZINC000000000324	1.70
ZINC000000000315	3.34	ZINC000000002857	4.52	ZINC000000000348	5.16
ZINC000000000368	2.10	ZINC000000002862	4.08	ZINC000000000410	0.90
ZINC000000000383	4.61	ZINC000000002863	3.77	ZINC000000000440	3.12
ZINC000000000509	3.72	ZINC000000002864	3.56	ZINC000000000446	3.38
ZINC000000000569	-0.02	ZINC000000002881	4.57	ZINC000000000505	1.08
ZINC000000000575	1.08	ZINC000000002902	1.71	ZINC000000000519	-1.06
ZINC000000000636	3.29	ZINC000000002981	0.13	ZINC000000000521	0.81
ZINC000000000778	5.54	ZINC000000002999	5.94	ZINC000000000578	3.21
ZINC000000000781	4.49	ZINC000000003007	3.14	ZINC000000000580	3.59
ZINC000000000813	3.19	ZINC000000000007	3.62	ZINC000000000601	5.71
ZINC000000000844	4.09	ZINC000000000030	-1.66	ZINC000000000614	3.15
ZINC000000000909	3.40	ZINC000000000106	3.74	ZINC000000000646	1.51
ZINC000000000969	3.21	ZINC000000000109	2.59	ZINC000000000654	3.23
ZINC000000000970	3.78	ZINC000000000130	-0.62	ZINC000000000668	5.63
ZINC000000000974	4.86	ZINC000000000145	2.16	ZINC000000000671	-1.89
ZINC000000001020	3.58	ZINC000000000148	2.29	ZINC000000000748	1.50
ZINC000000001049	4.87	ZINC000000000166	-1.76	ZINC000000000804	1.30
ZINC000000002197	1.99	ZINC000000000173	2.40	ZINC000000000810	1.48
ZINC000000002203	2.98	ZINC000000000242	0.50	ZINC000000000838	3.08
ZINC000000002261	4.87	ZINC000000000249	4.44	ZINC000000000853	0.08
ZINC000000002279	3.22	ZINC000000000252	2.57	ZINC000000000858	4.19
ZINC000000002322	3.48	ZINC000000000268	1.12	ZINC000000000865	5.49
ZINC000000002329	3.79	ZINC000000000270	2.83	ZINC000000000867	2.72
ZINC000000002359	0.63	ZINC000000000283	4.15	ZINC000000000883	3.84
ZINC000000002360	4.03	ZINC000000000299	1.89	ZINC000000000893	1.31
ZINC000000000928	1.77	ZINC000000002806	6.67	ZINC0000000009742	3.07
ZINC000000001935	1.66	ZINC000000003060	4.27	ZINC0000000009752	4.09
ZINC000000001937	1.11	ZINC000000003901	3.31	ZINC0000000009755	3.14
ZINC000000001954	3.64	ZINC000000003975	4.20	ZINC0000000009964	2.41
ZINC000000001991	1.98	ZINC000000003988	-4.12	ZINC0000000010268	4.28
ZINC000000002000	2.61	ZINC000000004009	2.92	ZINC0000000010668	-0.21
ZINC000000002015	4.04	ZINC000000004701	0.18	ZINC0000000010671	-3.02
ZINC000000002022	2.64	ZINC000000004932	0.43	ZINC0000000010793	1.75
ZINC000000002041	1.77	ZINC000000005060	3.94	ZINC0000000010819	-1.48
ZINC000000002042	2.65	ZINC000000005465	2.10	ZINC0000000010820	0.06
ZINC000000002044	3.21	ZINC000000005662	4.85	ZINC0000000010893	1.19
ZINC000000002149	4.03	ZINC000000005748	2.06	ZINC0000000010900	-0.82
ZINC000000002200	0.11	ZINC000000005765	1.59	ZINC0000000010975	2.65
ZINC000000002214	3.08	ZINC000000005769	1.17	ZINC0000000011142	0.35
ZINC000000002257	4.71	ZINC000000005783	3.47	ZINC0000000011670	-1.54

ZINC000000002263	1.26	ZINC000000005816	4.99	ZINC0000000011684	-2.90
ZINC000000002266	2.06	ZINC000000005830	5.89	ZINC0000000011856	3.59
ZINC000000002276	3.26	ZINC000000005916	3.05	ZINC0000000011861	5.30
ZINC000000001448	4.42	ZINC000000002330	2.55	ZINC0000000005943	-1.62
ZINC000000001512	2.67	ZINC000000006107	4.04	ZINC0000000005992	2.67
ZINC000000001514	3.46	ZINC000000006262	4.21	ZINC0000000012049	2.58
ZINC000000001543	3.58	ZINC000000006530	3.55	ZINC0000000012380	4.08
ZINC000000001708	2.60	ZINC000000006591	3.47	ZINC0000000012478	2.55
ZINC000000001723	2.50	ZINC000000006657	3.72	ZINC0000000012620	5.32
ZINC000000001764	6.82	ZINC000000006658	4.42	ZINC0000000012737	2.92
ZINC000000001778	4.59	ZINC000000006690	3.05	ZINC0000000012743	2.10
ZINC000000001785	2.58	ZINC000000006724	2.38	ZINC0000000013256	-1.77
ZINC000000001862	1.36	ZINC000000006799	3.25	ZINC0000000013257	-1.48
ZINC000000001884	5.05	ZINC000000007008	2.81	ZINC0000000013443	3.14
ZINC000000001928	2.89	ZINC000000007044	-2.35	ZINC0000000013916	3.34
ZINC000000002343	0.91	ZINC000000007259	-1.05	ZINC0000000014032	0.85
ZINC000000002344	3.62	ZINC000000007555	-0.09	ZINC0000000014093	3.00
ZINC000000002461	3.27	ZINC000000007695	2.87	ZINC0000000014451	-2.92
ZINC000000002551	4.11	ZINC000000008061	1.26	ZINC0000000014582	4.01
ZINC000000002579	6.57	ZINC000000008234	2.76	ZINC0000000014608	1.51
ZINC000000002605	0.33	ZINC000000008283	5.05	ZINC0000000014849	3.37
ZINC000000002641	5.10	ZINC000000008460	1.73	ZINC0000000015067	3.90
ZINC000000000131	3.91	ZINC000000008892	4.24	ZINC0000000015132	-1.11
ZINC000000000953	2.35	ZINC000000008949	4.66	ZINC0000000015894	4.36
ZINC000000001301	3.82	ZINC000000009008	4.07	ZINC0000000016038	3.69
ZINC000000001539	2.85	ZINC000000009082	2.43	ZINC0000000000011	3.52
ZINC000000001575	1.42	ZINC000000009121	5.32	ZINC0000000000031	0.18
ZINC000000001880	2.89	ZINC000000009250	4.03	ZINC0000000000058	-0.26
ZINC000000002094	3.61	ZINC000000009333	3.63	ZINC0000000000182	0.11
ZINC000000002100	4.25	ZINC000000009437	3.66	ZINC0000000000211	4.05
ZINC000000002176	-3.82	ZINC000000009559	0.57	ZINC0000000000263	1.50
ZINC000000002480	3.98	ZINC000000009631	3.59	ZINC0000000000408	4.12
ZINC000000002782	2.92	ZINC000000009668	5.10	ZINC0000000000419	1.81
ZINC000000000462	0.54	ZINC000000003036	3.24	ZINC0000000000212	0.04
ZINC000000000466	3.21	ZINC000000003211	1.95	ZINC0000000000346	1.69
ZINC000000000515	-3.08	ZINC000000003383	3.48	ZINC0000000000347	3.36
ZINC000000000586	4.45	ZINC000000003390	5.41	ZINC0000000000429	2.12
ZINC000000000729	2.38	ZINC000000003395	3.14	ZINC0000000000494	4.77
ZINC000000000744	-11.48	ZINC000000003600	2.04	ZINC0000000000740	2.80
ZINC000000000848	2.19	ZINC000000003742	3.79	ZINC0000000000749	3.02
ZINC000000000862	6.07	ZINC000000003753	0.69	ZINC0000000000975	-0.33
ZINC000000000895	4.51	ZINC000000003898	4.03	ZINC0000000000989	1.23
ZINC000000000960	4.08	ZINC000000003927	3.83	ZINC0000000001017	1.28
ZINC000000001096	2.45	ZINC000000003959	3.91	ZINC0000000001034	4.28
ZINC000000001109	3.47	ZINC000000003961	1.46	ZINC0000000001112	6.81
ZINC000000001133	0.78	ZINC000000003981	3.31	ZINC0000000001180	3.04
ZINC000000001212	-3.01	ZINC000000003985	-0.06	ZINC0000000001356	3.09

ZINC000000001235	0.91	ZINC000000004169	1.63	ZINC000000001511	5.27
ZINC000000001295	4.88	ZINC000000004191	-3.00	ZINC000000001582	2.15
ZINC000000001335	1.55	ZINC000000004231	-3.21	ZINC000000001654	1.65
ZINC000000001391	2.34	ZINC000000004283	-1.03	ZINC000000001819	1.56
ZINC0000000011862	3.17	ZINC000000001396	3.66	ZINC000000004360	3.97
ZINC0000000011868	3.02	ZINC000000001464	3.74	ZINC000000004391	0.89
ZINC000000001578	2.52	ZINC000000001513	3.49	ZINC00000000C4467	-2.96
ZINC000000001661	2.91	ZINC000000004484	2.79	ZINC000000002334	4.02
ZINC000000001673	1.84	ZINC000000001578	2.52	ZINC000000002345	3.88
ZINC000000001709	2.65	ZINC000000001661	2.91	ZINC000000002379	2.36
ZINC000000001719	3.74	ZINC000000004671	3.17	ZINC000000002430	1.89
ZINC000000001756	6.74	ZINC000000004698	3.09	ZINC000000002481	3.76
ZINC000000001771	-0.65	ZINC000000004725	6.08	ZINC000000002519	4.17
ZINC000000001951	0.99	ZINC000000004755	3.71	ZINC000000002595	1.88
ZINC000000002108	3.99	ZINC000000004782	4.68	ZINC000000002690	2.97
ZINC000000002111	3.21	ZINC000000004868	5.60	ZINC000000002692	3.54
ZINC000000002114	1.53	ZINC000000004908	-4.14	ZINC000000002702	2.22
ZINC000000002180	2.24	ZINC000000004913	3.40	ZINC000000002879	4.03
ZINC000000002198	1.44	ZINC000000004936	4.33	ZINC000000002893	3.50
ZINC000000002229	1.57	ZINC000000004972	3.99	ZINC000000003037	2.96
ZINC000000002381	4.70	ZINC000000005108	0.88	ZINC000000003058	2.18
ZINC000000002383	4.74	ZINC000000005112	3.66	ZINC000000003062	-1.32
ZINC000000002384	2.67	ZINC000000005144	1.64	ZINC000000003105	3.31
ZINC000000002424	4.36	ZINC000000005148	-1.01	ZINC000000003115	2.01
ZINC000000002520	4.10	ZINC000000005156	-1.59	ZINC000000003120	4.03
ZINC000000002565	-0.38	ZINC000000005174	2.99	ZINC000000003201	-2.80
ZINC000000002567	5.45	ZINC000000005176	3.80	ZINC000000003209	1.31
ZINC000000002568	1.65	ZINC000000005186	1.37	ZINC000000003238	4.84
ZINC000000002601	4.59	ZINC000000005314	2.59	ZINC000000003244	4.57
ZINC000000002700	-0.56	ZINC000000000027	3.92	ZINC000000003309	2.39
ZINC000000002781	3.34	ZINC000000000055	3.99	ZINC000000003322	4.01
ZINC000000002859	1.64	ZINC000000000100	5.29	ZINC000000003336	4.11
ZINC000000002867	6.85	ZINC000000000101	-0.95	ZINC000000003428	3.52
ZINC000000003015	2.20	ZINC000000000139	2.11	ZINC000000003480	2.99
ZINC000000003495	0.34	ZINC000000000407	2.65	ZINC000000002667	5.09
ZINC000000003591	2.16	ZINC000000000544	3.36	ZINC000000002688	3.30
ZINC000000003594	0.42	ZINC000000000561	5.28	ZINC000000002712	3.63
ZINC000000003627	3.01	ZINC000000000655	3.49	ZINC000000002843	4.54
ZINC000000003644	3.19	ZINC000000000672	6.05	ZINC000000002878	5.70
ZINC000000003677	3.88	ZINC000000000694	2.91	ZINC000000002880	4.14
ZINC000000003748	5.80	ZINC000000000735	5.74	ZINC000000002916	2.41
ZINC000000003795	0.54	ZINC000000000769	1.39	ZINC000000002917	0.94
ZINC000000003814	4.30	ZINC000000000775	1.02	ZINC000000002930	4.74
ZINC000000003819	4.42	ZINC000000000816	1.08	ZINC000000003035	3.30
ZINC000000003945	4.26	ZINC000000000911	3.03	ZINC000000003040	2.49
ZINC000000003995	4.01	ZINC000000001003	5.64	ZINC000000003043	5.76
ZINC000000004057	2.87	ZINC000000001051	1.04	ZINC000000003064	-3.99

ZINC000000004074	2.39	ZINC000000001078	0.02	ZINC000000003065	-2.97
ZINC000000004268	3.93	ZINC000000001121	3.15	ZINC000000003079	2.33
ZINC000000004315	5.64	ZINC000000001294	4.19	ZINC000000003091	2.45
ZINC000000004382	-0.13	ZINC000000001320	3.17	ZINC000000003096	2.96
ZINC000000004389	3.79	ZINC000000001362	1.27	ZINC000000003102	2.56
ZINC000000001934	3.38	ZINC000000004402	3.54	ZINC000000001473	4.65
ZINC000000002056	3.95	ZINC000000004407	3.21	ZINC000000001515	6.04
ZINC000000002065	5.34	ZINC000000004431	1.41	ZINC000000001529	2.91
ZINC000000002090	4.08	ZINC000000004436	1.12	ZINC000000001584	2.39
ZINC000000002106	4.91	ZINC000000004516	3.90	ZINC000000001598	4.27
ZINC000000004521	-4.82	ZINC000000001758	2.06	ZINC000000001634	1.99
ZINC000000004528	3.65	ZINC000000001871	2.99	ZINC000000001682	1.75
ZINC000000004544	0.91	ZINC000000002010	2.33	ZINC000000003221	2.72
ZINC000000004580	2.67	ZINC000000002063	3.62	ZINC000000003242	4.35
ZINC000000004583	-0.59	ZINC000000002074	2.83	ZINC000000003256	-1.24
ZINC000000004589	1.71	ZINC000000002089	3.90	ZINC000000003369	1.45
ZINC000000004633	2.47	ZINC000000002122	3.28	ZINC000000003370	0.08
ZINC000000004753	2.11	ZINC000000002208	3.93	ZINC000000003391	2.88
ZINC000000004881	4.97	ZINC000000002252	5.47	ZINC000000003453	3.31
ZINC000000004890	4.39	ZINC000000002285	1.13	ZINC000000003473	3.16
ZINC000000004909	0.13	ZINC000000002293	4.44	ZINC000000003475	1.07
ZINC000000005014	4.18	ZINC000000002309	3.52	ZINC000000003481	3.16
ZINC000000005023	5.35	ZINC000000002311	-2.85	ZINC000000003601	4.68
ZINC000000005031	3.16	ZINC000000002316	4.45	ZINC000000003103	-0.01
ZINC000000005068	2.41	ZINC000000002323	-0.68	ZINC000000003152	1.23
ZINC000000005095	2.01	ZINC000000002335	4.13	ZINC000000003159	2.88
ZINC000000005201	3.09	ZINC000000002339	3.16	ZINC000000003194	4.26
ZINC000000005213	1.75	ZINC000000002363	5.64	ZINC000000003195	5.91
ZINC000000005349	0.21	ZINC000000002386	4.38	ZINC000000003197	4.28
ZINC000000005377	4.84	ZINC000000002516	3.17	ZINC000000003218	3.08
ZINC000000005397	2.35	ZINC000000002589	5.53	ZINC000000003602	4.55
ZINC000000005403	2.94	ZINC000000002592	3.93	ZINC000000003687	-0.93
ZINC000000001112	2.25	ZINC000000002593	5.07	ZINC000000003719	5.91
ZINC000000000259	3.06	ZINC000000002630	4.91	ZINC000000003732	0.64
ZINC000000000363	2.43	ZINC000000002632	6.16	ZINC000000003733	5.92
ZINC000000003772	5.29	ZINC000000003911	3.43	ZINC000000003972	3.51
ZINC000000003863	3.35	ZINC000000003912	0.96	ZINC000000003989	4.61

Annexe2. Scores obtenus par Surfex-dock des similaires téléchargés à partir de la banque de données PubChem dans le site actif de la VEGFR2.

Code	A(M ⁻¹)	Code	A(M ⁻¹)	Code	A(M ⁻¹)
CID9826472	7.81	CID46213004	8.61	CID123471236	3.23
CID9869078	8.07	CID46213005	8.74	CID123689476	10.24
CID10151557	6.08	CID46213006	8.60	CID123841424	4.28
CID10152022	5.07	CID46213066	8.76	CID147951561	4.26
CID10195599	6.93	CID131708754	7.31	CID148066235	5.05
CID10217682	7.99	CID132072226	6.11	CID132199517	3.17
CID10288613	7.47	CID46842497	3.56	CID134274675	5.08
CID11167602	9.06	CID49822400	5.18	CID135209756	4.68
CID11294150	6.42	CID49849305	8.98	CID135390163	9.12
CID11843539	9.36	CID51355075	8.73	CID135390413	7.33
CID11843540	9.36	CID52918302	8.98	CID138467345	2.74
CID25062452	7.21	CID53464300	8.47	CID138743231	4.14
CID25071284	0.91	CID53464301	7.60	CID140029569	8.05
CID25071285	9.21	CID53491672	4.62	CID140029570	8.43
CID25073471	9.04	CID57484481	6.73	CID141350503	8.84
CID25191001	8.35	CID57675688	6.13	CID141370050	7.13
CID25222476	8.32	CID57909190	8.46	CID141600265	5.20
CID25222477	8.60	CID58917169	6.22	CID142274752	7.46
CID25222580	7.43	CID60150671	7.35	CID142712013	6.97
CID25222581	4.94	CID60196844	1.85	CID142886602	4.81
CID25222582	9.06	CID66770385	4.97	CID142944383	6.69
CID44241263	8.55	CID67424139	8.56	CID142963374	7.84
CID44420332	8.93	CID68036204	8.12	CID142993531	8.85
CID44565731	4.17	CID68168496	4.63	CID143452348	8.65
CID46213892	8.98	CID70685910	4.97	CID143453790	7.09
CID46213893	8.98	CID70694277	2.55	CID143465720	4.60
CID44623945	8.41	CID71682347	7.04	CID145477747	8.73
CID44814648	8.62	CID76973993	8.75	CID145477748	8.29
CID44814649	8.98	CID76974621	8.61	CID145744676	8.61
CID44814650	7.84	CID88532745	5.32	CID145926675	2.85
CID44814840	8.96	CID88567311	9.00	CID145926779	8.52
CID44814841	8.47	CID88567312	8.79	CID146270506	7.21
CID44814842	8.30	CID88567313	8.60	CID146573784	7.14
CID44814843	8.50	CID89350079	8.96	CID146573785	8.57
CID44814844	8.40	CID89579037	8.65	CID146580274	4.88
CID44815013	8.35	CID90466803	8.28	CID146580446	8.64
CID44815014	8.96	CID90466804	8.81	CID146602682	8.84
CID44815015	8.89	CID90466953	8.39	CID146602683	5.29
CID44815016	8.33	CID91971838	6.77	CID146602684	6.85
CID44815017	8.47	CID91971843	6.98	CID146602685	8.97

CID44815177	8.41	CID117626814	5.23	CID146723990	3.58
CID46212940	8.74	CID118518769	0.51	CID147361691	5.32
CID46212941	9.07	CID118703724	9.45	CID147421852	0.27
CID46212942	8.97	CID118738053	4.37	CID147477772	7.47
CID46213002	8.21	CID122581492	2.88	CID147511899	3.77
CID46213003	7.93	CID123438277	6.59	CID147709417	3.70
CID147758661	6.21	CID53389704	6.52	CID46213066	8.76
CID147799535	6.06	CID71542471	8.52	CID46213006	8.60
CID71584802	7.45	CID69636103	2.11	CID46213005	8.74
CID71576011	4.50	CID53464300	8.47	CID46213004	8.61
CID148412841	5.72	CID69635811	3.56	CID46212943	8.58
CID148688169	2.20	CID69084509	3.82	CID46212942	8.97
CID123346795	4.75	CID69008440	8.99	CID46212941	9.07
CID123268832	5.55	CID69007815	7.44	CID46212940	8.74
CID122581492	2.88	CID68810251	8.27	CID46212939	8.73
CID118593158	8.29	CID68778052	8.08	CID25165137	5.47
CID118518769	0.51	CID68778049	4.17	CID25164531	2.77
CID118402232	8.30	CID68629965	4.94	CID25071590	3.70
CID118002068	4.99	CID68169843	1.88	CID11843540	9.36
CID216239	9.36	CID68168496	4.63	CID11503491	7.43
CID117626814	5.23	CID68036204	8.12	CID11294150	6.42
CID90982306	7.13	CID68036202	2.44	CID10480901	5.60
CID90794886	7.76	CID68036190	8.82	CID10459870	1.72
CID90467261	7.13	CID67968095	5.00	CID10289112	8.76
CID90467260	9.17	CID66770385	3.65	CID10152023	8.32
CID90145047	4.55	CID59803541	8.48	CID9957323	8.51
CID90145026	2.16	CID59772957	9.25	CID9849533	5.46
CID90144940	-0.59	CID59772917	9.68	CID10174440	8.58
CID89773851	5.23	CID59772888	4.34	CID10196579	4.08
CID89703519	6.38	CID59772862	8.78	CID10196580	3.24
CID89579037	8.65	CID59283584	9.45	CID11843541	7.73
CID89424947	8.76	CID58968810	5.58	CID11843670	8.40
CID89413758	2.82	CID58917169	6.22	CID11843673	7.73
CID89402801	9.63	CID58756532	9.14	CID25222476	8.32
CID89367975	8.64	CID58729833	-0.58	CID25222477	8.60
CID89350091	3.68	CID58729830	5.30	CID25222580	7.43
CID87579211	3.67	CID58729824	6.55	CID25222581	4.94
CID89350079	8.96	CID58729802	4.32	CID25222582	9.06
CID89350074	3.48	CID57909190	8.46	CID44241317	8.63
CID89096956	8.75	CID57839505	5.22	CID74539667	4.53
CID89096955	8.49	CID57839481	4.92	CID44623945	8.41
CID88567308	8.83	CID57839445	3.04	CID44814648	8.62
CID88258958	-74.22	CID57839440	9.08	CID44814649	8.98
CID87945197	7.37	CID57839432	2.19	CID44814650	7.84
CID87775074	3.48	CID57839339	3.00	CID148922520	2.69
CID75306509	3.59	CID57839305	4.17	CID149031014	7.08
CID74539521	7.56	CID57675688	6.13	CID149072059	8.26

CID74539519	9.25	CID57614500	3.53	CID149135661	5.37
CID74539518	8.00	CID57541654	7.15	CID149148871	5.11
CID74539445	4.17	CID57525781	6.77	CID53465159	8.31
CID74539443	5.10	CID57525771	3.50	CID53464301	7.60
CID74538904	3.28	CID53491674	5.83	CID44814840	8.96
CID74424477	4.29	CID46213893	8.98	CID44814841	8.47
CID53389724	8.77	CID46213892	8.98	CID44814842	8.30
CID44814843	8.50	CID49822321	8.65	CID152785823	1.13
CID44814844	8.40	CID49822322	9.21	CID149148871	5.11
CID44815013	8.35	CID49822401	9.11	CID149443140	2.78
CID44815014	8.96	CID49822402	5.60	CID149530729	8.51
CID44815015	8.89	CID49822404	4.15	CID149839625	2.22
CID44815016	8.33	CID49855629	3.70	CID151392071	4.27
CID44815017	8.47	CID9855630	5.18	CID151454037	4.62
CID44815177	8.41	CID49855631	5.49	CID151804255	8.87
CID46213002	8.21	CID49822400	5.18	CID151833794	9.45
CID46213003	7.93	CID66551861	5.98	CID151868670	6.33
CID49784044	7.66	CID68062144	9.49	CID152886860	8.13
CID49822244	5.76	CID70701956	6.01	CID152933225	9.73
CID49822245	8.97	CID53491672	4.62	CID153489303	7.33
CID49822313	9.12	CID71584801	7.91	CID153629020	8.61
CID49822314	8.97	CID74539444	7.52	CID153914959	8.79
CID49822315	5.33	CID74539595	6.11	CID154542156	2.03
CID49822318	9.11	CID74539597	6.73	CID154633273	3.64
CID49822319	5.33	CID74539598	7.23	CID154633279	2.89
CID49822320	3.34	CID152695284	3.67	CID154677776	8.42

Thème :

Prédiction de nouveaux agents Antiangiogéniques à l'aide d'un criblage virtuel basé sur la structure de la cible**Résumé**

La découverte de l'importance de l'angiogénèse dans les mécanismes de croissance tumorale et notamment du VEGF, a permis le développement de nouvelles molécules qui sont utilisées dans la prise en charge de différents cancers. Parmi celles-ci, le but est toujours le même : bloquer la synthèse et la croissance de nouveaux vaisseaux sanguins via une action anti-VEGF, ce qui entraîne l'arrêt du développement de la tumeur cancéreuse.

De nos jours, les méthodes *in silico* sont de plus en plus employées dans les stratégies de découverte de nouvelles molécules à visée thérapeutique. Au cours de cette recherche, nous nous sommes appuyés sur le traitement de l'angiogénèse basé sur l'inhibition de la VEGFR2 (récepteur 2 du facteur de croissance endothélial vasculaire). Une enzyme sert à l'inhibition d'angiogénèse et les problèmes de santé qui en découlent. Le programme de docking moléculaire Surflex-dock a été développé pour aider à la mise au point des molécules à activité thérapeutique. Avec un pourcentage de 85% des valeurs de RMSD inférieures ou égales à 2 Å, on peut dire que Surflex-dock est un logiciel fiable et qu'on peut l'utiliser en toute confiance pour prédire les interactions des inhibiteurs testés avec le site actif de la VEGFR2.

Dans notre travail on s'intéresse à l'étude *in silico* de l'inhibition enzymatique par criblage virtuel avec Surflex-dock de la VEGFR2. Cette approche permet de modéliser les interactions entre une protéine et des milliers de petits composés chimiques. En effet, une collection de 800 composés provenant à partir de la chimiothèque ZINC et une collection de 228 composés issus de la base de composés chimiques PubChem, ont été testées envers le site actif de la VEGFR2. A l'issue de ce criblage, les composés ZINC000000001962 et CID123689476 avec des valeurs d'affinité égale à 6.91 M^{-1} et 10.24 M^{-1} respectivement, se présentent comme nouveaux inhibiteurs théoriquement plus actifs envers la VEGFR2. Enfin, la prédiction *in silico* de la similaire médicamenteuse nous informe de manière positive sur les propriétés ADME-Tox de ces nouveaux composés proposés.

Mots clés: Angiogénèse, VEGFR, Criblage virtuel, Surflex-dock, RMSD, ADME-Tox.

Devant le jury :

Présidente : MERZOUG Amina	M.C.B	Centre.Univ.A.Boussouf - Mila
Promotrice : BOUCHERIT Hanane	M.C.B	Centre.Univ.A.Boussouf - Mila
Examinatrice : HadeF Sawsen	M.A.A	Centre.Univ.A.Boussouf - Mila