



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Echahid Cheikh Larbi Tébessi –Tébessa-  
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie



Département : Biologie appliquée

Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie

# Mémoire

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de master LMD  
En : SCIENCES BIOLOGIQUES  
Spécialité : TOXICOLOGIE

Par : Lammouchi Salma

Sellat Hadjer

**Intitulée :**

Étude d'amarrage moléculaire, des propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques *in silico* de composés phytochimiques ciblant l'EGFR comme site thérapeutique pour le cancer.

**Devant le jury :**

M. Gasmi Salim	MCA	Université Echahid Cheikh Larbi Tébessi –Tébessa-	Président
Mm. Guedri Kamilia	MCA	Université Echahid Cheikh Larbi Tébessi –Tébessa-	Examinatrice
M. Benaïcha Brahim	MCB	Université Echahid Cheikh Larbi Tébessi –Tébessa-	Rapporteur

Date de soutenance : 04/06/2023

## **Résumé**

Le cancer représente la première cause de mortalité et constitue un problème important de santé publique dans le monde. La modélisation moléculaire, en particulier le Docking moléculaire, s'est rapidement introduite dans le domaine de la recherche pharmaceutique.

Notre étude se concentre sur le Docking moléculaire employé pour la recherche de nouveaux inhibiteurs de la tyrosine kinase EGFR. Pour cela nous avons fait appel à cette Technique, Cette étude a été assistée par le programme MOE pour comprendre le mode d'interaction de 70 molécules phytochimiques vis-à-vis le récepteur EGFR impliqué dans le développement du cancer.

Les résultats de Docking moléculaire montrent que 20 ligands, sont les meilleurs complexes sélectionnés qui donne la plus petite valeur des énergies par rapport au ligand de référence (AQ4), ce dernies dont le score est égal à -7.1933 kcal/mol. On utilise SwissADME et ProTox-II pour prédite et analyse les propriétés pharmacocinétiques et la toxicité.

Selon les résultats de Docking moléculaire, propriétés de ADME et la prédiction de toxicité le kampéferol pourrait le meilleur candidat de médicament.

**Mots Clés :** Cancer, EGFR, Docking moléculaire, ADME, kampéferol.

## **Abstract**

Cancer is the leading cause of death and is a major public health problem worldwide. Molecular modeling, in particular molecular docking, has rapidly entered the field of pharmaceutical research.

Our study focuses on molecular docking used for the search for new EGFR tyrosine kinase inhibitors. For this we used this technique, This study was assisted by the MOE program to understand the mode of interaction of 70 phytochemical molecules with respect to the EGFR receptor involved in the development of cancer.

Molecular docking results show that 20 ligands are the best selected complexes which give the smallest energy value compared to the reference ligand (AQ4), the latter whose score is equal to -7.1933 kcal/mol. SwissADME and ProTox-II are used to predict and analyze pharmacokinetic properties and toxicity.

According to the results of Molecular Docking, properties of ADME and the prediction of toxicity the kampéferol could be the best drug candidate.

**Keywords:** Cancer, EGFR, Molecular Docking, ADME, kampeferol.

## المخلص

السرطان هو السبب الرئيسي للوفاة وهو مشكلة صحية عامة رئيسية في جميع أنحاء العالم. دخلت النمذجة الجزيئية، ولا سيما الإرساء الجزيئي، بسرعة في مجال البحث الصيدلاني.

تركز دراستنا على الإرساء الجزيئي المستخدم للبحث عن مثبطات جديدة لـ EGFR tyrosine kinase. لهذا استخدمنا هذه التقنية، وقد ساعد في هذه الدراسة برنامج MOE لفهم طريقة تفاعل 70 جزيء كيميائي نباتي مقابل مستقبل EGFR المتضمن في تطور السرطان.

تُظهر نتائج الإرساء الجزيئي أن 20 مجمعًا هي أفضل المجمعات المختارة والتي تعطي أقل قيمة للطاقة مقارنةً بالرابط المرجعي (AQ4)، حيث تكون الدرجة الأخيرة مساوية لـ -7.9133 Kcal / mol. يتم استخدام SwissADME و ProTox-II للتنبؤ بخصائص الحرائك الدوائية والسمية وتحليلها.

وفقًا لنتائج الإرساء الجزيئي، خصائص ADME والتنبؤ بالسمية يعتبر kampéferol هو أفضل مرشح كدواء.

الكلمات المفتاحية: السرطان، EGFR، الإرساء الجزيئي، ADME، kampéferol.

## Remerciements

En premier lieu, je tiens à remercier notre dieu, qui m'a donné la force pour accomplir ce travail.

Nous remercions également le président **Dr Gasmi Salim** d'avoir présidé le jury, et l'examinatrice **Mm Guedri Kamilia** d'avoir accepté d'examiner notre mémoire, merci d'avoir accepté de juger notre travail.

Nous remercions sincèrement, mon encadreur, **Dr Benaïcha Brahim**, de m'avoir donné la possibilité de réaliser ce mémoire de Master, orienté, conseillé et encouragé tout au long de la réalisation de ce travail.

Enfin, nous remercions nos familles, nos amis et tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin à la réussite de ce travail et qui n'ont pas pu être cités.

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de toutes mes années des études tous d'abord :*

*A l'âme pure de mon grand-père, que dieu lui fasse miséricorde.*

*A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, et leurs prières tout au long de mes études, pour toute leur assistance et leur présence dans ma vie,*

*A mon grand-mère, qui m'encourage, je demande Dieu vous garde en bonne santé et vous procure une longue vie.*

*A mes frères et à ma sœurs, qui je le sais, ma réussite est très importante à leurs yeux, et aussi mes chères cousines, Pour leurs encouragements permanents et leur soutien moral.*

*A toute ma famille pour leur soutien.*

*A mes chères amies, Pour leurs aides et supports dans les moments difficiles.*

***Salma***

## **Dédicace**

*Je tiens c'est avec grande plaisir que je dédie ce Modest travail :*

*A l'être le plus cher de ma vie ma mère **MERYEM SELLAT***

*Que je fasse ou que je dise je ne serais point vous remercier comme il se doit, votre affection me couvre, votre surveillance me guide et vos prières été ma source de force pour affréter les obstacles*

*A celui qui mon fait de moi la femme plaine de morale et principes, vous êtes toujours à mes cotés pour me soutenir et m'encourager : à mon cher père **TAHAR***

*A la personne que j'aime beaucoup et qui m'a soutenu tout au long de mes études, mon mari : **Mohamed Amine Bouziane***

*A mes frères et mes soeurs, les mots ne suffisent pour exprimer l'attachement et l'affection que je porte pour vous, je vous aime beaucoup*

*A une amie de ma vie : **Bouchra Marrakchi**, et A ma tante **Khmissa**, qui ne m'a pas oublié dans ses prières*

*A mes grands mère **Om El khir**, et **Touness** que dieu vous protège et te préserve*

*A mes meilleurs amis (**Zohra, Kawtheur, Chourouk , Ahlem ,Douaa**) avec qui j'ai partagé de bons moments, que notre amitié dure plus longtemps que l'éternité.*

*Et enfin à ceux qui sont présents dans mon cœur, ceux qui j'aime et ceux qui m'aiment*

**Hadjer**

## Liste des abréviations

**2D** : 2- Dimension

**3D** : 3-Dimension

**Å** : Angström (unité de longueur)

**ATP** : Adénosine triphosphate

**ARN** : Acide Ribonucléique

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**DL<sub>50</sub>**: Dose létale 50

**EGF**: Epidermal Growth Factor

**EGFR**: Epidermal growth factor receptor

**EGFR-TK**: Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase

**ErbB1**: Eukaryotic Ribosome Biogenesis Protein 1

**ERBB2 et ERBB 3 et ERBB 4** : Homologues de la même famille d'EGFR

**FGF** : Facteur de croissance des fibroblastes

**FGFR** : Récepteur du facteur de croissance des fibroblastes (Fibroblast Growth Factor Receptor)

**FAT/CD36**: Fatty acid translocase\cluster of differentiation

**Her1**: Human epidermal growth factor receptor 1

**Log P** : Coefficient de partage Eau/Octanol

**MOE**: Molecular Operating Environment

**PDGF**: Platelet-derived growth factor

**PDB** : Protéine Data Bank (banque de donnée protéique)

**PTK** : Protéine Tyrosine Kinase

**RTK** : Récepteur tyrosine kinase

**RMN** : Résonance magnétique nucléaire

**RMSD** : Root Mean Square Deviation (écart quadratique moyen)



**TK:** Tyrosine Kinase

**TGF $\alpha$ :** Tumor Growth Factor- $\alpha$

**VEGF :** Vascular endothelial growth factor (Facteur de croissance de l'endothélial vasculaire)

**VEGFR :** vascular endothelial growth factor receptor (les récepteurs du facteur de croissance vasculaire)

## Liste des figures

<b>Figure N°</b>	<b>Titre de figure</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Incidence des cancers de l'enfant selon l'âge en France (Registre National des Hémopathies malignes de l'Enfant et Registre National des Tumeurs Solides de l'Enfant, 2000-2004)	<b>07</b>
<b>02</b>	Âge médian d'apparition des différents types de cancers de l'enfant en France (Registre National des Hémopathies malignes de l'Enfant et Registre National des Tumeurs Solides de l'Enfant, 2000-2004)	<b>08</b>
<b>03</b>	Caractéristiques des cellules cancéreuses	<b>10</b>
<b>04</b>	Étapes de la cancérogenèse	<b>11</b>
<b>05</b>	La signalisation dans le microenvironnement tumoral au cours de la progression maligne	<b>13</b>
<b>06</b>	Structure prototype du récepteur tyrosine kinase et mécanisme d'action	<b>16</b>
<b>07</b>	Organisation structurale des 20 familles de RTK	<b>18</b>
<b>08</b>	Représentation schématique de l'EGFR	<b>20</b>
<b>09</b>	Structure Interactions des récepteurs du facteur de croissance épidermique (EGF)	<b>23</b>
<b>10</b>	Rôles de l'EGFR dans le cancer pulmonaire non à petite cellule	<b>25</b>
<b>11</b>	Mutation dans la voie EGFR	<b>26</b>
<b>12</b>	Principe général d'un programme de Docking	<b>28</b>
<b>13</b>	Aperçu du criblage virtuel	<b>29</b>
<b>14</b>	La fenêtre de logiciel MOE	<b>35</b>
<b>15</b>	L'interface graphique du site web de pubchem	<b>36</b>
<b>16</b>	L'interface graphique du site web de base de données PDB	<b>37</b>
<b>17</b>	Page d'accueil du serveur SwissADME	<b>37</b>
<b>18</b>	Page d'accueil de serveur ProTox-II	<b>38</b>
<b>19</b>	Structure 3 D du complexe 1M17	<b>39</b>
<b>20</b>	La structure de la protéine après sa préparation	<b>40</b>
<b>21</b>	Protocole générale de calcul	<b>43</b>
<b>22</b>	Les interactions 2D, 3D de Curcumin dans le site actif	<b>47</b>
<b>23</b>	Les interactions 2D, 3D de L'acide ellagique dans le site actif	<b>48</b>
<b>24</b>	Les interactions 2D, 3D d'épicatéchine dans le site actif	<b>48</b>
<b>25</b>	Les interactions 2D, 3D d'eriodyctiol dans le site actif	<b>49</b>
<b>26</b>	Les interactions 2D, 3D de Fisétine dans le site actif	<b>49</b>
<b>27</b>	Les interactions 2D, 3D de Genkwanin dans le site actif	<b>50</b>

<b>28</b>	Les interactions 3D, 2D de Ginkgetin dans le site actif	<b>50</b>
<b>29</b>	Les interactions 3D, 2D de Kaempférol dans le site actif	<b>51</b>
<b>30</b>	Les interactions 3D, 2D de Licochalcone dans le site actif	<b>51</b>
<b>31</b>	Les interactions 3D, 2D de lutéoline dans le site actif	<b>52</b>
<b>32</b>	Les interactions 3D, 2D de podophyllotoxine dans le site actif	<b>52</b>
<b>33</b>	Les interactions 3D, 2D de Tylophorine dans le site actif	<b>53</b>
<b>34</b>	Les interactions 3D, 2D de yuanhuanin dans le site actif	<b>53</b>
<b>35</b>	Les interactions 3D, 2D de cathéchine dans le site actif	<b>54</b>
<b>36</b>	Les interactions 3D, 2D de capsaïcine dans le site actif	<b>54</b>
<b>37</b>	Les interactions 3D, 2D de Narciclasine dans le site actif	<b>55</b>
<b>38</b>	Les interactions 3D, 2D d'acide caféique dans le site actif	<b>55</b>
<b>39</b>	Les interactions 3D, 2D d'acide coumarique dans le site actif	<b>56</b>
<b>40</b>	Les interactions 3D, 2D d'acide férulique dans le site actif	<b>56</b>
<b>41</b>	Les interactions 3D, 2D d'acide sinapique dans le site actif	<b>57</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau N°</b>	<b>Titre de tableau</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Caractéristiques de la tumeur bénigne et de la tumeur maligne	<b>09</b>
<b>02</b>	Principaux programmes de Docking moléculaire	<b>31</b>
<b>03</b>	Les ligands utilisés dans l'étude	<b>42</b>
<b>04</b>	Résultats énergétiques de Docking moléculaire	<b>45</b>
<b>05</b>	Résultat de Filtrage ADME	<b>58</b>
<b>06</b>	Résultats de prédiction de la toxicité	<b>59</b>

## Sommaire

Résumé

Abstract

ملخص

Remerciements

Dédicace

Liste des abbreviations

Liste des figures

Liste des tableaux

## Partie bibliographique

**Introduction générale**.....01

### **Chapitre I : Cancer et tyrosine kinase**

1. Cancer.....	06
1.1 Définition.....	06
1.2 Epidémiologie.....	06
1.3 Caractéristique du cancer.....	08
1.4 Progression du cancer.....	11
1.4.1 Cancérogènes.....	11
1.4.2 Tumorigènes.....	12
1.5 Signalisation et cancer.....	12
1.6 Traitement du cancer.....	13
2. Tyrosine kinase.....	15
2.1 Généralité.....	15
2.2 Classification des TK.....	16
2.2.1 Les PTK cytosolique .....	16
2.2.2 Les PK membranaire ou Récepteur Tyrosine kinase (RTK).....	17
2.3 TK et cancer.....	18

## **Chapitre II : EGFR**

1. Généralité.....	20
2. Biologie moléculaire, cellulaire et structurale.....	21
2.1 Structure primaire et organisation .....	21
2.2 Structure tridimensionnelle.....	22
2.3 Rôles physiologiques.....	23
3. Mutation de L'EGFR.....	25

## **Chapitre III : Docking moléculaire**

1. Docking moléculaire (amarrage).....	28
2. Criblage virtuel.....	28
3. Les outils du Docking moléculaire.....	29
3.1 Les récepteurs.....	29
3.2 Les ligands.....	30
3.3 Le Docking Ligands-Protéine.....	30
3.4 Les programmes d'amarrage moléculaire.....	30

## **Partie Pratique**

### **I. Matériel et Méthode**

Introduction.....	34
1. Matériel.....	35
1.2 Microordinateur.....	35
1.2 Logiciel utilisé.....	35
1.2.1 MOE (Molecular Operating Environment).....	35
1.3 Les banques de données.....	36
1.3.1 Pubchem.....	36
1.3.2 La banque de données protéiques (PDB).....	36
1.4 Les serveurs en ligne .....	37
1.4.1. SwissADME.....	37
1.4.2. ProTox-II.....	38

2. Méthodologie des calculs .....	39
2.1 Préparation de protéine.....	39
2.2 Préparation des ligands.....	40
2.3 Docking moléculaire par logiciel MOE.....	42

## **II. Résultats et discussion**

1. Résultats du Docking moléculaire.....	45
2. Les interactions 2D, 3D des ligands .....	47
3. Filtrage ADME.....	57
4. Prédiction de toxicité.....	59

<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>61</b>
--	-----------

## **Références Bibliographique**

# *Introduction*



### **Introduction**

Le cancer est un groupe de maladies caractérisées par la croissance incontrôlée de cellules anormales formant un nodule au sein d'un tissu, c'est-à-dire une tumeur. Depuis 2015, les cancers représentent la deuxième cause de décès dans le monde, après les maladies cardiovasculaires. Le World Cancer Report estime qu'en 2008, 12,4 millions de nouveaux cas ont été rapportés au niveau mondial avec 7 millions de décès. Pour 2030, c'est une perspective de 26,4 millions de cas incidents mondiaux [1].

Les objectifs des traitements anticancéreux sont d'au mieux guérir les patients mais également de prolonger considérablement leur durée de vie avec la meilleure qualité possible. Il existe plusieurs types de traitement anticancéreux, prescrits seuls ou en association. Le choix de ces traitements se fait en fonction de la pathologie cancéreuse, de sa sévérité ainsi que de sa localisation. Les traitements classiques dits « locaux » sont la chirurgie et la radiothérapie, les traitements « généraux », quant à eux, incluent la chimiothérapie et l'hormonothérapie. La résection de la tumeur par chirurgie reste l'un des traitements les plus efficaces, à condition que la tumeur soit opérable et que la totalité de celle-ci soit enlevée pour limiter le risque de récurrence. Plus de 60% des patients atteints de cancer reçoivent un traitement par radiothérapie à une étape de leur parcours de soin [1].

Les inhibiteurs des tyrosines kinases (TK) sont des médicaments anti tumoraux largement utilisés. Parmi les récepteurs qui ont une activité tyrosine kinase, les récepteurs de la famille ERBB sont les plus impliqués dans la tumorigenèse de nombreux cancers épithéliaux : sein, poumon, côlon et tractus gastro-intestinal supérieur [2].

Plusieurs familles de récepteurs à activité tyrosine kinase sont considérées comme des cibles thérapeutiques potentielles pour concevoir de nouveaux composés anticancéreux. Notre travail a porté essentiellement sur le récepteur : l'EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) impliqué dans la prolifération cellulaire. Ceci démontre l'importance d'approfondir l'étude sur ce type de récepteur dans le but de mieux comprendre le mécanisme d'action et contribuer au développement de nouveaux inhibiteurs par les nouvelles approches de modélisation moléculaire.

## *Introduction*

Plus précisément le Docking moléculaire (plus souvent connu sous le terme amarrage moléculaire). Celui-ci consiste à prédire et à reproduire les interactions protéine-ligand [3-4].

L'objectif de notre travail consiste à effectuer un Docking moléculaire avec logiciel MOE, afin de sélectionner des molécules stables inhibant le récepteur EGFR. Ce manuscrit est composé de deux grandes parties :

Une recherche bibliographique : divisée en 3 chapitres :

- Le premier chapitre est une étude bibliographique se rapportant au cancer et tyrosine kinase.
- Par la suite, un deuxième chapitre dédié à la présentation de la cible EGFR et on termine par le troisième chapitre un aperçu bibliographique sur le Docking moléculaire.

Dans la partie pratique, nous avons présenté les différents matériels et méthodes utilisés dans cette étude, aux résultats obtenus et à leurs discussions.

- Enfin une conclusion générale résume l'ensemble du travail réalisé.

*Partie*  
*Bibliographique*

***Chapitre I :***  
***Cancer et tyrosine kinase***

## **1. Cancer**

### **1.1. Définition**

Le cancer est la transformation de la cellule normale en une cellule tumorale par un ensemble de mutations génétiques, toutes caractérisées par une multiplication cellulaire anarchique et incontrôlée [5].

Le cancer est une maladie du soi, au cours de laquelle des cellules normales se mettent à proliférer de manière anarchique suite à l'acquisition de mutations génétiques. Ces mutations peuvent être des mutations dites spontanées ou des mutations qui apparaissent suite à des « agressions » dues à certains facteurs environnementaux. Si l'organisme ne les élimine pas ou si elles échappent à la mort cellulaire programmée (apoptose), ces cellules vont pouvoir envahir l'organe dans lequel elles sont apparues puis l'organisme. Un cancer peut être issu de mutations génétiques apparues dans une cellule germinale mais aussi dans une cellule somatique ou une cellule souche [6].

### **1.2. Épidémiologie du cancer**

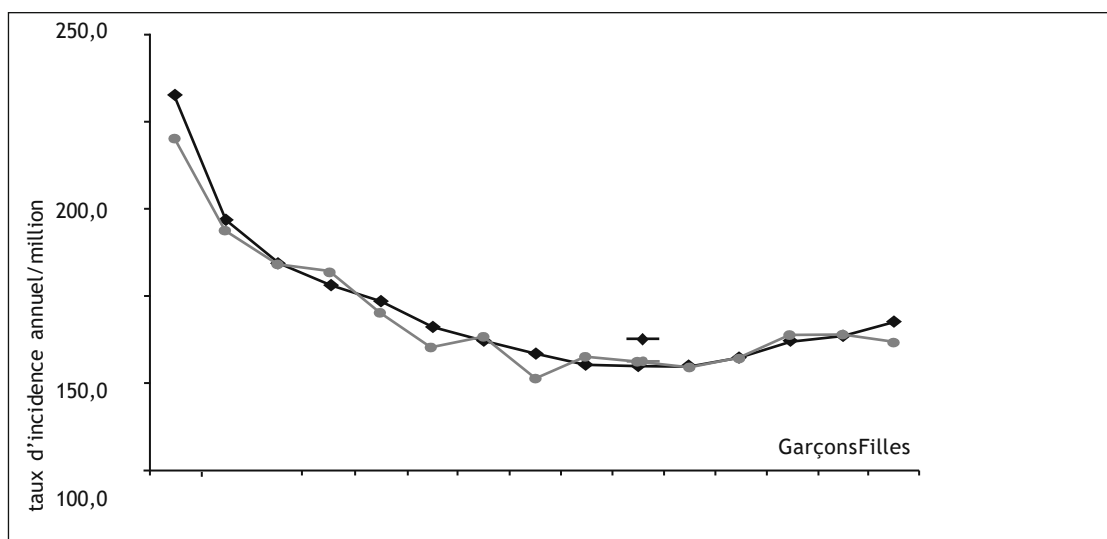
Le cancer est la principale cause de décès dans les pays économiquement développés et la deuxième cause de décès dans les pays en développement [7].

En France, comme dans les autres pays industrialisés, environ un enfant sur 500 est atteint d'un cancer avant l'âge de 15 ans. Le Registre National des Hémopathies malignes de l'Enfant (RNHE) et le Registre National des Tumeurs Solides de l'Enfant (RNTSE) recensent chaque année 1 700 nouveaux cas de cancers dans la population des enfants de moins de 15 ans domiciliés en France métropolitaine, estimée par l'INSEE à 11,2 millions d'enfants en 2006. Ces cancers représentent environ 0,5 % des 320 000 nouveaux cas de cancers diagnostiqués chaque année dans l'ensemble de la population française, tous âges confondus. Bien que rares, ils constituent la deuxième cause de mortalité entre 1 et 14 ans après les accidents, avec 20 % des décès [8].

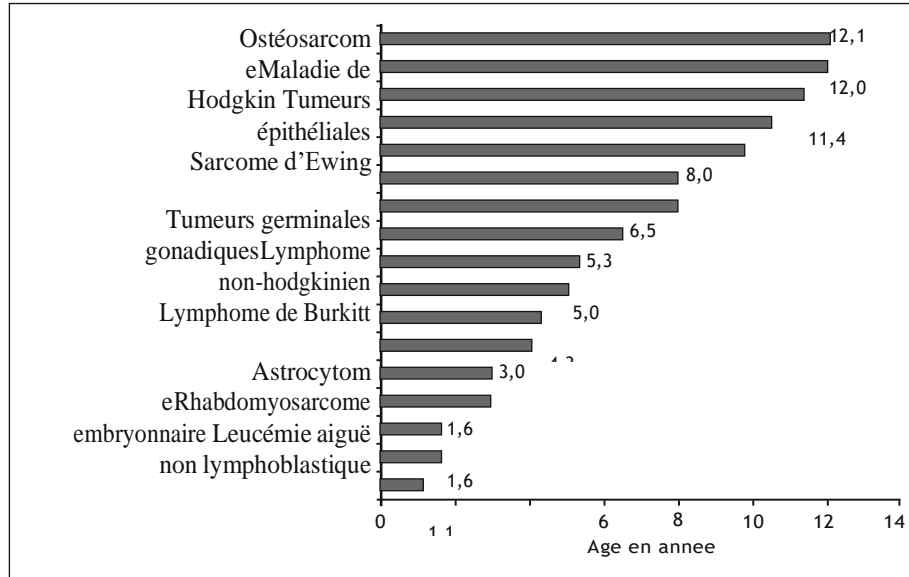
Sur la période 2000 à 2004, les deux registres nationaux pédiatriques ont référencé 8 473 nouveaux cas de cancers de l'enfant de moins de 15 ans [8].

Les cancers les plus fréquents sont les leucémies (29 % des cas), les tumeurs du système nerveux central (SNC) (23 %) et les lymphomes (12 %). Le sex ratio est en moyenne de 1,2 garçons pour 1 fille, mais il varie selon le type de cancer : les lymphomes (surtout les lymphomes de Burkitt), les médulloblastomes, les sarcomes des tissus mous et les tumeurs osseuses prédominent nettement chez les garçons, alors que les tumeurs germinales et les tumeurs épithéliales (mélanomes, carcinomes thyroïdiens) sont plus fréquentes chez les filles[8].

Le taux d'incidence varie avec l'âge (fig. 1), la moitié des cancers de l'enfant survient avant l'âge de 5 ans. Les tumeurs embryonnaires sont particulièrement précoces alors que les lymphomes, les tumeurs osseuses et les tumeurs épithéliales surviennent essentiellement après 5 ans (fig. 2) [8].



**Figure 1 :** Incidence des cancers de l'enfant selon l'âge en France (Registre National des Hémopathies malignes de l'Enfant et Registre National des Tumeurs Solides de l'Enfant, 2000-2004) [8].



**Figure 2 :** Âge médian d'apparition des différents types de cancers de l'enfant en France (Registre National des Hémopathies malignes de l'Enfant et Registre National des Tumeurs Solides de l'Enfant, 2000-2004) [8].

### 1.3 Caractéristiques du cancer

Lorsque les cellules normales évoluent progressivement vers un état néoplasique, elles acquièrent une succession de ces capacités caractéristiques, et que le processus en plusieurs étapes de la pathogenèse des tumeurs humaines pourrait être rationalisé par le besoin des cellules cancéreuses naissantes d'acquies les caractéristiques qui leur permettent de devenir tumoro-gènes et finalement malignes [7].

Selon les caractéristiques originales du cancer, six capacités différentes conduisent au développement et à la progression des cancers [7].

Même si elles diffèrent d'une forme de cancer à l'autre, toutes les cellules cancéreuses ont des caractéristiques communes en ce qui a trait à leur membrane et à leur noyau, à la fréquence des mitoses, à leur rythme de croissance et à la présence de protéines spéciales et d'anomalies des chromosomes. La membrane de ces cellules est altérée, ce qui modifie les échanges hydriques entre les espaces intracellulaire et extracellulaire. La membrane est aussi le siège d'antigène spécifique de tumeur (AST) tels que l'antigène carcinoembryonnaire, l'antigène prostatique

spécifique, le BRCA-1 et le BRCA-2. Ces antigènes sont des protéines qui apparaissent à la surface des cellules au fur et à mesure que celles-ci se différencient. Ils permettent de distinguer les cellules cancéreuses des cellules non cancéreuses provenant du même type de tissu. Ils peuvent servir à déterminer la gravité de l'atteinte tumorale et à surveiller la progression de la maladie pendant le traitement ou lors d'une récurrence [9].

**Tableau 1** : caractéristiques de la tumeur bénigne et de la tumeur maligne [9].

Caractéristiques	Tumeur bénigne	Tumeur maligne
Caractéristiques cytologiques	Les cellules sont bien différenciées et ressemblent aux cellules normales du tissu où s'est formée la tumeur	Les cellules sont indifférenciées et ressemblent habituellement peu aux cellules normales du tissu où s'est formée la tumeur
Mode de croissance	La tumeur croît par expansion sans envahir les tissus voisins. Elle est généralement encapsulée	La tumeur s'étend en périphérie, puis envahit et détruit les tissus voisins.
Rythme de croissance	Le rythme de croissance est généralement lent.	Le rythme de croissance varie selon le degré de différenciation. Plus la tumeur est anaplasique, plus sa croissance est rapide.
Métastases	La tumeur ne se répand pas par métastase.	La tumeur atteint la circulation sanguine et les vaisseaux lymphatiques et dissémine des métastases dans d'autres parties du corps.
Effets globaux	Les effets sont généralement localisés ; sauf si la tumeur perturbe une fonction vitale en raison de son emplacement.	La tumeur provoque souvent une atteinte de l'état général : anémie, faiblesse, fatigue ou perte de poids.
Létalité	La tumeur n'entraîne généralement pas la mort, sauf si elle perturbe une fonction vitale	La tumeur entraîne généralement la mort si sa croissance n'est pas contrôlée.



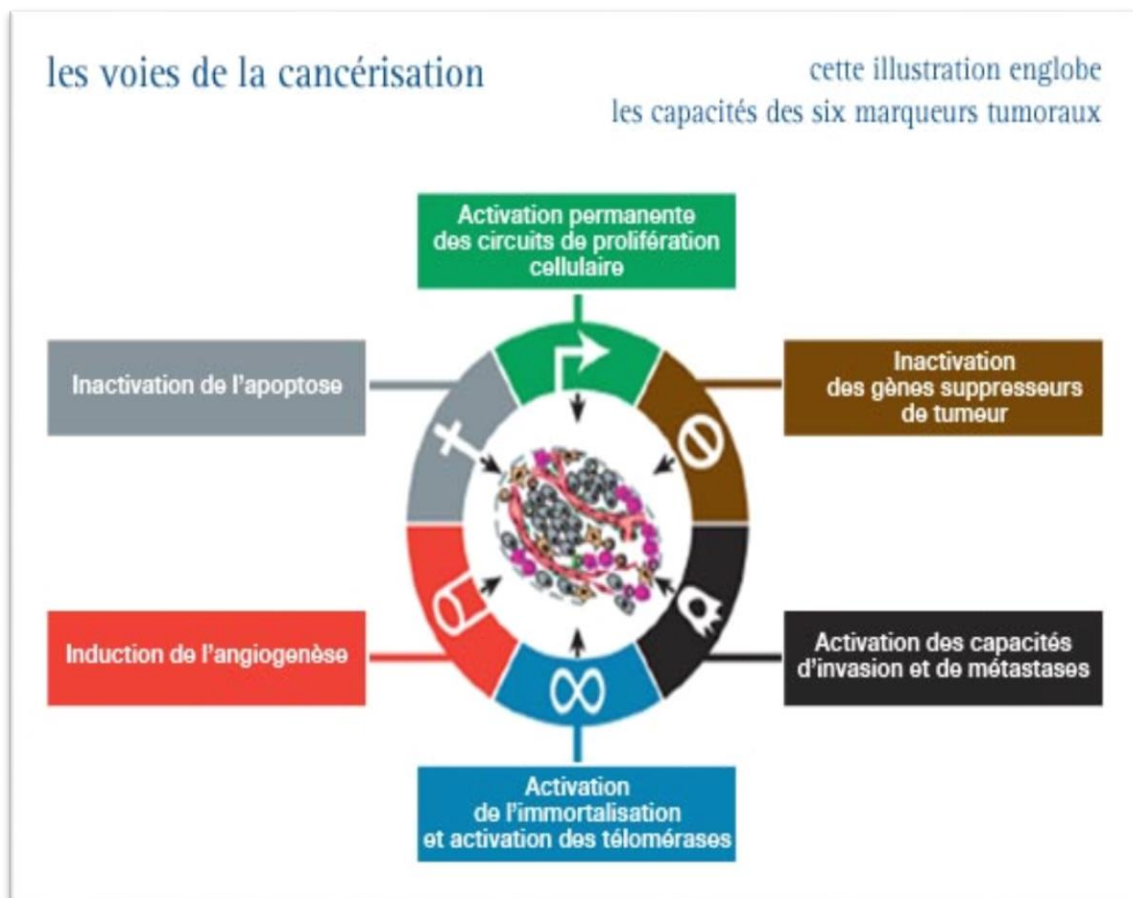
---

en raison de son emplacement.

---

La membrane des cellules malignes contient moins de fibrinoctine . celle-ci intervient dans l'adhésion des cellules entre elles et dans le processus de coagulation , d'où une moindre cohésion de ces cellules et une perte d'adhérence avec les cellules voisines [9].

Les cellules cancéreuses ont habituellement un gros noyau de forme irrégulière . les nucléoles – corpuscules qui jouent un rôle essentiel dans la synthèse de l'acide ribonucléique ( ARN) à l'intérieur du noyau – sont plus gros et plus nombreux , peut – être en raison d'une accélération de la synthèse de l'ARN . l'examen des cellules cancéreuses révèle souvent des chromosomes fragiles et porteurs d'anomalies ( translocations , deletions ou additions ) [9].

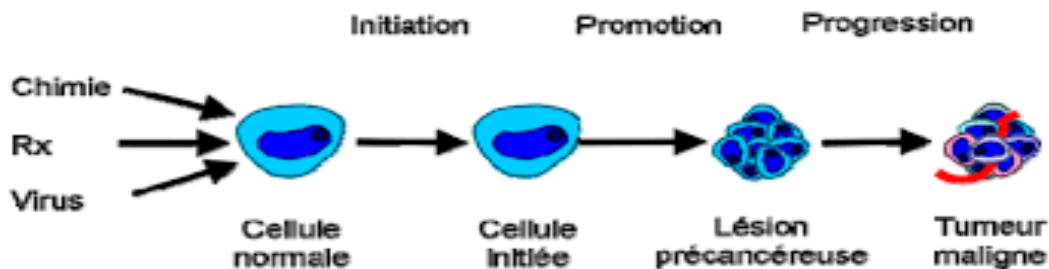


**Figure 3** : caractéristiques des cellules cancéreuses [9].

## 1.4. Progression du cancer

### 1.4.1 Cancérogène

Il semble que la transformation d'une cellule normale en cellule maligne-la cancérogène comporte de trois phases distinctes : l'initiation, la promotion et la progression [11].



**Figure 4 :** Étapes de la cancérogenèse [10].

Au cours de la phase d'initiation, la structure génétique de l'ADN de la cellule est modifiée sous l'effet d'agents cancérogène chimiques, physique ou biologique. Normalement les mécanismes intrinsèques de réparation de l'ADN annulent ces changements ou ceux-ci déclenchent l'apoptose (ou suicide) cellulaire. Il arrive cependant que des cellules porteuses de mutations échappent à ces mécanismes de protection et que la mutation devienne irréversible. (Ces changements ont généralement peu de conséquences sur les cellules avant l'étape suivante de la carcinogenèse.) [11].

Pendant la phase de promotion, correspond à la prolifération clonale des cellules initiées. L'exposition répétée de la cellule à des agents promoteur (ouocarcinogènes) tels que les hormones, l'inflammation chronique et des facteurs de croissance, entraîne l'expression de gènes anormaux ou mutants, même après une longue période de latence. L'adurée de cette période de latence varie selon la nature de l'agent promoteur et l'intensité ou la fréquence de l'exposition. Elle dépend aussi caractéristiques de la cellule cible [11].

Au cours de la progression, la troisième étape de la carcinogenèse, les changements survenus lors des phases d'initiation et de promotion prennent un caractère malin de plus en plus

prononce. Les cellules mutantes ont alors une propension à envahir les tissus adjacents et à produire de métastases. On qualifie de cancérogènes les agents qui provoquent ou favorisent la transformation maligne [11].

#### **1.4.2. Tumorogènes**

La principale cause de mortalité associée au cancer est la métastase tumorale. Au cours d'une dissémination réussie, les cellules tumorales envahissent les tissus environnants de la tumeur primaire, pénètrent dans les vaisseaux sanguins et lymphatiques, transfèrent vers des tissus distants, extravasent, s'adaptent au nouveau microenvironnement et finissent par ensemençer, proliférer et coloniser pour former des métastases. Étant donné que la dissémination se produit principalement par le sang, les cellules tumorales circulantes (CTC) qui ont été éliminées dans le système vasculaire et peuvent être en route vers des sites métastatiques potentiels présentent un intérêt évident [12].

#### **1.5. Signalisation et cancer**

La cellule cancéreuse est une cellule génétiquement instable, capable d'explorer les fonctions de l'ensemble du génome et de mettre à profit tout avantage prolifératif ou migratoire pour le sélectionner et le transmettre à sa descendance. Une tumeur est une néoformation nécessitant une multiplication cellulaire toujours active ; le support de la malignité des cancers est lié à leur aptitude à disséminer dans l'organisme ; la capacité de survie est une nécessité pour les cellules tumorales. Toutes les voies de signalisation impliquées dans la prolifération et la différenciation, dans l'adhésion et la migration, dans la survie et la mort, pourront servir de support à des altérations oncogéniques. On a pu dire ainsi que le cancer était une maladie de la signalisation cellulaire [14].

La voie de signalisation choisie est impliquée dans la prolifération cellulaire et est située en aval de l'activation de récepteurs de facteurs de croissance ; on la connaît sous le nom de la « voie des MAP kinases ». Des facteurs de croissance jusqu'aux facteurs de transcription stimulés par l'arrivée d'un message de prolifération, bien des altérations oncogéniques peuvent survenir et bien des cibles thérapeutiques potentielles peuvent être identifiées [14].

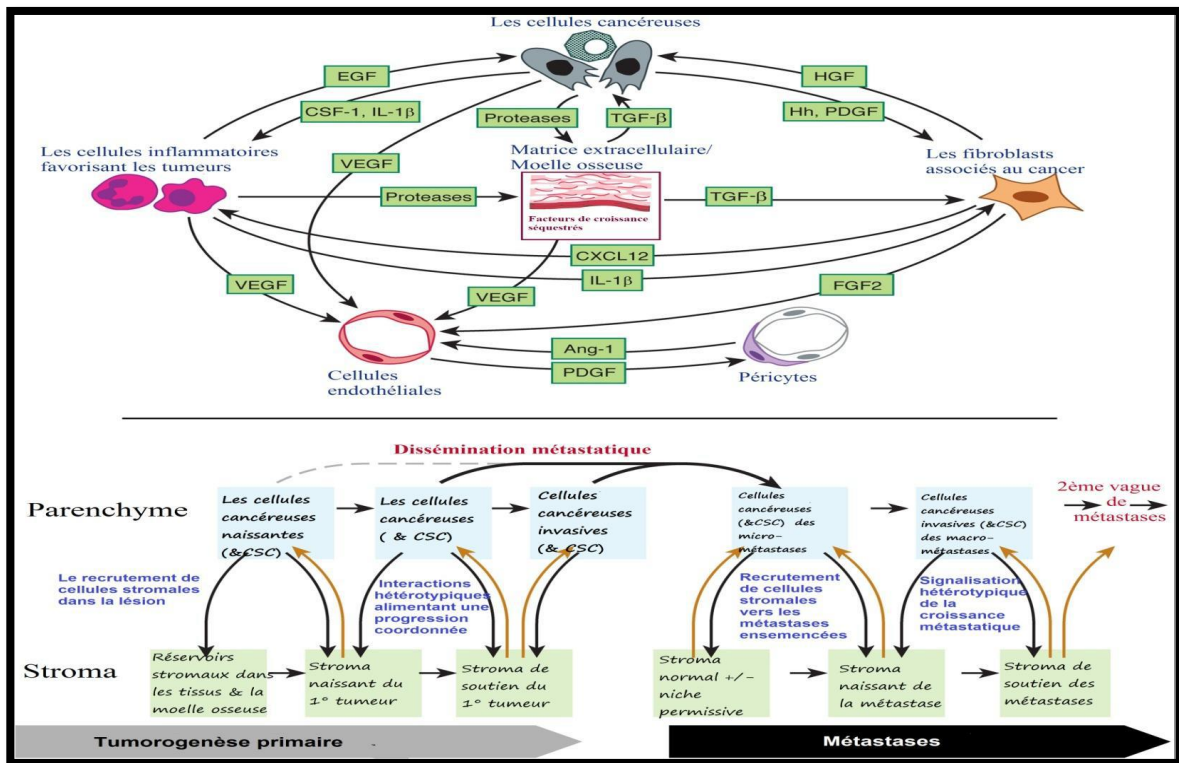


Figure 5 : La signalisation dans le microenvironnement tumoral au cours de la progression maligne [13].

## 1.6. Traitement

Pour traiter le cancer, on fait souvent appel à divers modes de thérapies [15]. Le traitement du cancer est adapté en fonction de chaque situation. En effet, chaque patient atteint d'un cancer est un cas particulier et demande une prise en charge appropriée..... [16]

Le choix d'un traitement ou d'une combinaison de traitements dépend de plusieurs facteurs dont les plus importants sont :

- le type de cancer
- le degré d'extension du cancer
- la présence d'éventuelles autres maladies
- l'âge de la personne
- L'état général de la personne [16]

### **1.6.1. La chirurgie**

Le traitement des cancers par chirurgie consiste à retirer la tumeur. On parle d'exérèse ou de résection. Elle est utilisée dans environ 80 % des cas et reste donc le principal traitement du cancer. Sa visée est curative (lorsqu'elle permet de retirer 100 % des cellules tumorales). Mais elle peut également être réalisée à visée diagnostique (le tissu retiré est analysé pour préciser la nature de la lésion et faciliter le choix de traitements curatifs complémentaires) ou à visée palliative (pour soulager la douleur liée à la taille de la tumeur, pour faciliter le fonctionnement de l'organe atteint...) [16].

### **1.6.2. La Radiothérapie**

La radiothérapie est l'un des traitements les plus fréquemment employés dans la prise en charge des cancers. Plus de la moitié des personnes atteintes d'un cancer reçoivent ce type de traitement [16].

Le type et la quantité de rayons prescrits par votre médecin ainsi que le nombre de séances sont notamment déterminés en fonction du type de cancer dont vous êtes atteint, de la taille de la tumeur et de sa localisation dans votre corps. La radiothérapie peut être associée à de la chimiothérapie [16].

### **1.6.3. Chimiothérapie**

La chimiothérapie est le type de traitement généralisé le plus répandu. Elle consiste en l'administration systémique d'une molécule pour bloquer la croissance ou induire la mort des cellules cancéreuses. Les traitements de chimiothérapie peuvent donc atteindre et potentiellement affecter toutes les cellules du corps. Il en existe plusieurs catégories en fonction de leur cible. Ils sont divisés en deux grandes classes, soit les agents cytotoxiques et les agents ciblés. Ces composés peuvent être de petites molécules synthétiques ou d'origine naturelle, comme certains antibiotiques de la famille des anthracyclines. Des anticorps sont aussi utilisés pour cibler une protéine spécifique [16].

#### **1.6.4. Immunothérapie**

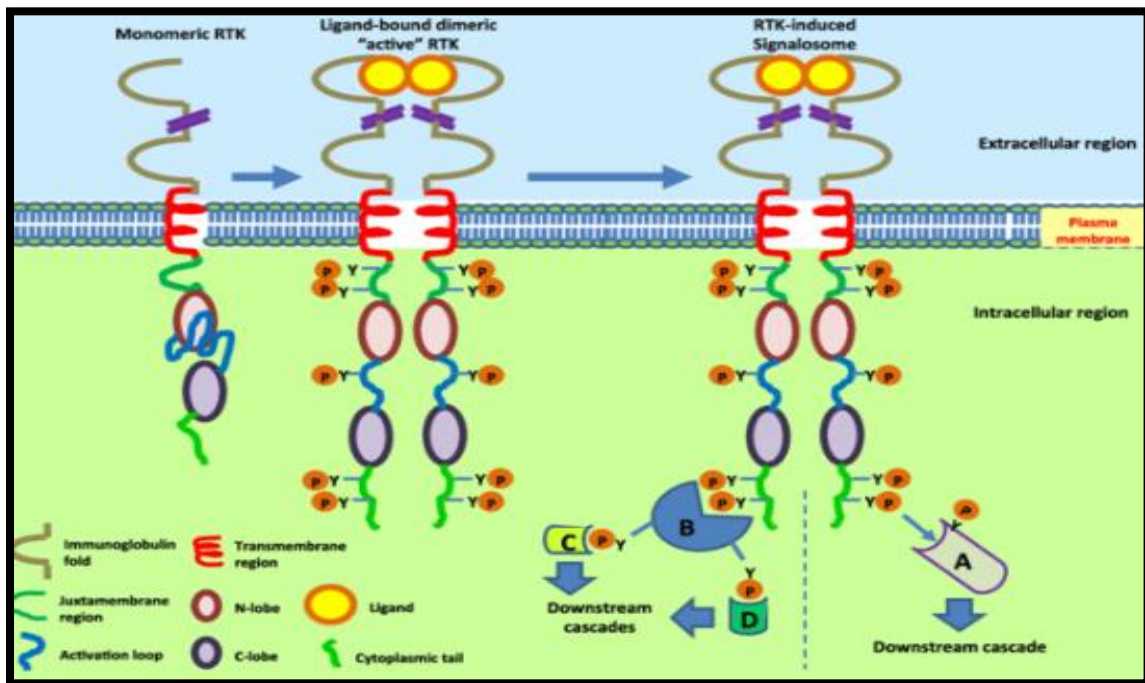
Il s'agit d'un traitement qui vise à stimuler les propres défenses immunitaires de l'organisme contre les cellules cancéreuses. Aujourd'hui, de nouveaux médicaments d'immunothérapie spécifique ont fait leur apparition : Les inhibiteurs de points de contrôle (anti-PD-1, anti-PD-L1 et anti-CTLA-4) : leur rôle est de stopper les « freins de l'immunité » et ainsi relancer le système immunitaire pour que le corps puisse combattre plus efficacement les cellules cancéreuses [16].

## **2. Tyrosine Kinase**

### **2.1. Généralité**

Les tyrosines kinases sont des enzymes qui phosphorylent sélectivement les résidus de tyrosine dans différents substrats. Par la liaison du ligand à son récepteur de domaine extracellulaire, les tyrosine kinase sont activées. Les ligands sont des molécules de signal extracellulaires (par exemple EGF, PDGF, etc.) qui induisent la dimérisation des récepteurs (à l'exception du récepteur de l'insuline). Différents ligands utilisent différentes stratégies par lesquelles ils obtiennent la conformation dimère stable. Un ligand peut se lier à deux molécules réceptrices pour former un complexe 1:2 ligand : récepteur, par ex. l'hormone de croissance et le récepteur de l'hormone de croissance, tandis que dans d'autres cas, deux ligands se lient simultanément à deux récepteurs complexe ligand-récepteur 2: 2 et fournissent le mécanisme le plus simple de dimérisation des récepteurs, par ex. VEGF et VEGFR. La dimérisation des récepteurs est également stabilisée par les interactions récepteur-récepteur. Certains récepteurs de ligand ne sont pas suffisants pour certains complexes et sont stabilisés par des molécules accessoires, par ex. Les FGF sont incapables d'activer le complexe FGFR et sont stabilisés par les protéoglycanes de sulfate d'héparine (HSPG). La liaison du ligand au domaine extracellulaire

Extracellulaire stabilise la formation de gradateurs actifs et par conséquent l'activation de la protéine tyrosine kinase [16].



**Figure 6** :structure prototype de récepteur tyrosine kinase et mécanisme d'action [18].

## 2.2. Classification des TK

### 2.2.1. Les PTK cytosoliques (CTK)

Dans les plaquettes humaines, l'activation du FAT/CD36 par la thrombine induit la phosphorylation de plusieurs protéines sur les résidus tyrosine. Les protéines tyrosines kinases (PTKs) responsables de ces événements de phosphorylation ont été recherchées. Des PTKs reliées à Src (pp60SRC, pp60FYN, pp62YES, pp61HCK) et deux produits Lyn correspondant à 54 et 58 KDa ont été détectés dans ces plaquettes (Huang et al.1991). Il a été montré que le CD36, une glycoprotéine majeure des plaquettes, formait un complexe protéique avec les protéines Fyn, Yes et Lyn. Des associations similaires ont été observées dans les cellules melanomiales C32 et les cellules Hela. Les PTKs sont impliquées dans les couplages protéiques au niveau de la membrane plasmique en réponse à des stimuli. Ces résultats suggèrent que les interactions des récepteurs avec les ligands pourraient activer les voies de signalisations qui sont générées par la phosphorylation des tyrosines. Les Src sont activées par l'action d'une phosphatase, ou par le changement de conformation suite à une interaction avec une autre molécule [17].

2.2.2 Les PK membranaires ou récepteur tyrosine kinase (RTK)

Les RTKs sont des glycoprotéines transmembranaires composées d'une région extracellulaire, comportant le site de liaison pour son ligand, une région transmembranaire de 20 acides aminés permettant leur ancrage dans la membrane plasmique et une région cytoplasmique comprenant le domaine à activité tyrosine kinase. La région extracellulaire est très variable entre les RTKs. On peut y retrouver par exemple, des domaines riches en cystéine ou en leucine, des domaines Immunoglobulin-like (Ig) ou encore des domaines fibronectine de type III. Ce sont ces différents domaines qui vont conférer aux RTKs leur spécificité de liaison au ligand. La région cytoplasmique contient quant à elle un domaine kinase très conservé entre les RTKs. Après liaison avec leur ligand, les RTKs vont se dimériser, et s'autophosphoryler entraînant un changement conformationnel responsable de leur activation. C'est dans cette nouvelle forme active qu'ils vont pouvoir initier l'activation de différentes voies de signalisation comme la voie des MAPK (mitogene-activated protein kinase), PI3K (phosphoinositide-3 kinase) et SRC (sarcome proto-oncogene). L'activation de ces voies leur permet d'induire de nombreux processus cellulaires comme la survie, la prolifération, la mobilité ou encore la différenciation (Lemmon and Schlessinger, 2010). Un ligand peut activer un ou plusieurs RTKs. Par exemple l'hépatocyte growth factor/Scatter factor (HGF/SF) est spécifique du récepteur MET alors que le VEGF-A peut activer plusieurs membres de la famille VEGFR (Lemmon and Schlessinger, 2010). Les ligands des RTKs sont des molécules extracellulaires diverses regroupant les facteurs de croissance, les facteurs neurotrophiques, les cytokines ou encore les hormones [19].

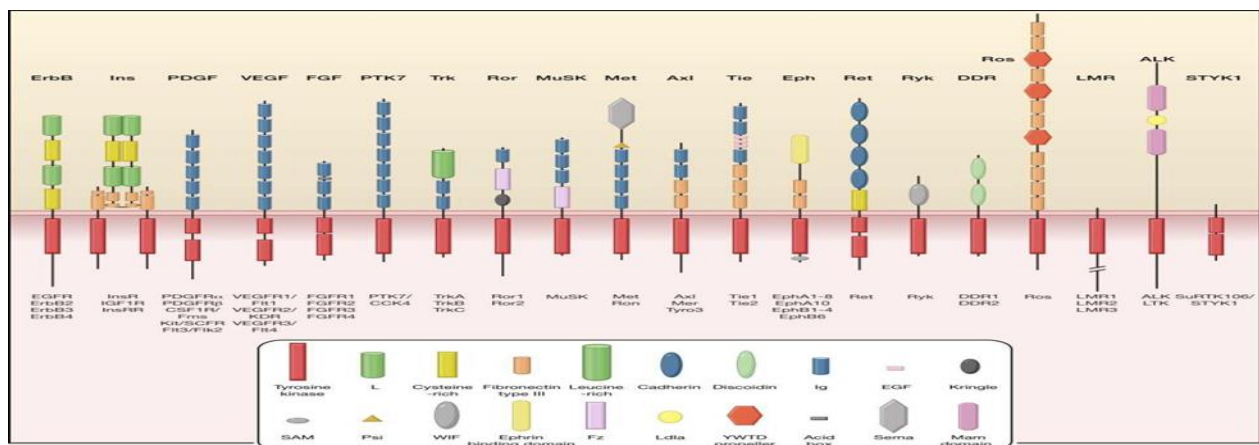


Figure 7 : Organisation structurale des 20 familles de RTK [19].



### **2.3. Tyrosine kinase et cancer**

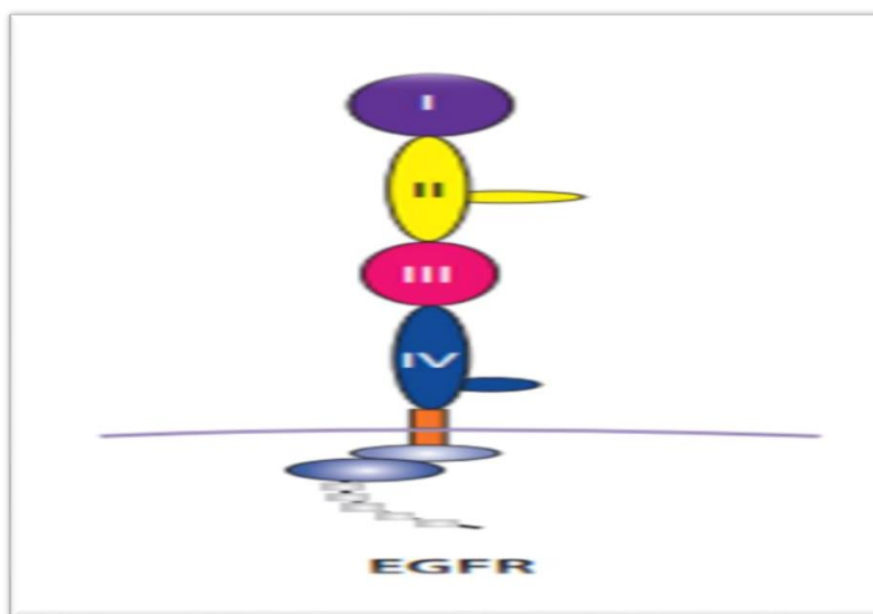
Les tyrosines kinases sont des médiateurs importants de la cascade de signalisation, déterminant des rôles clés dans divers processus biologiques tels que la croissance, la différenciation, le métabolisme et l'apoptose en réponse à des stimuli externes et internes. Des progrès récents ont impliqué le rôle des tyrosine kinases dans la physiopathologie du cancer. Bien que leur activité soit étroitement régulée dans les cellules normales, elles peuvent acquérir des fonctions de transformation en raison de mutation(s), de surexpression et de stimulation paracrine autocrine, conduisant à une malignité. L'activation oncogénique constitutive dans les cellules cancéreuses peut être bloquée par des inhibiteurs sélectifs de la tyrosine kinase et donc considérée comme une approche prometteuse pour des thérapies innovantes basées sur le génome. Les modes d'activation oncogénique et les différentes approches d'inhibition de la tyrosine kinase, comme les inhibiteurs à petites molécules, les anticorps monoclonaux, les protéines de choc thermique, les immunoconjugués, les médicaments antisens et peptidiques sont passés en revue à la lumière des molécules importantes. Comme l'angiogenèse est un événement majeur dans la croissance et la prolifération du cancer, les inhibiteurs de la tyrosine kinase en tant que cible pour l'anti-angiogenèse peuvent être appliqués de manière appropriée en tant que nouveau mode de traitement du cancer [20].

***Chapitre II :***  
***EGFR***

## 1. Généralité

Le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR), connue sous le nom de Her1 ou ErbB1, est une glycoprotéine tyrosine kinase transmembranaire, qui contrôle les voies de signalisation clés associées à la croissance cellulaire et survie. Les kinases EGFR sont devenues l'une des principales cibles de anticancéreuses en raison de la régulation anormale de l'EGFR activité kinase dans de nombreux cancers humains, tels que la tête, le cou, le sein, cancers de la vessie, de la prostate, du rein, du gliome, de l'ovaire et du poumon non à petites cellules [21].

L'EGFR appartient à la famille des ErbB, constituée de 4 récepteurs transmembranaires : (1) EGFR/ErbB1, (2) ErbB2/HER2/Neu, (3) ErbB3/HER3 et (4) ErbB4/HER4. Les récepteurs de cette famille contiennent tous un domaine extracellulaire sur lequel peut venir se fixer un ligand, un domaine transmembranaire ancré dans la membrane plasmique et un domaine intracellulaire. Celui-ci contient un segment responsable de l'activité kinase du récepteur. En plus des récepteurs liés à la membrane, des formes solubles des ErbB sont retrouvées et n'ont ni domaine transmembranaire ni domaine intracellulaire [22].



**Figure 8** : Représentation schématique de l'EGFR [23].

## **2. Biologie moléculaire, cellulaire et structurale**

### **2.1 Structure primaire et organisation**

L'EGF et son récepteur sont les prototypes de familles de protéines qui ont fait l'objet de duplications et de diversification au cours de l'évolution animale. Chez l'homme, on trouve quatre récepteurs homologues et onze ligands. Les ligands de la famille de l'EGF peuvent être classés en fonction de leur sélectivité pour les récepteurs. Tous ces ligands sont des petites protéines solubles qui dérivent par protéolyse de précurseurs membranaires. Leur structure tridimensionnelle est caractérisée par la conservation de l'existence de trois ponts disulfures. Le clivage des précurseurs membranaires de ces facteurs de croissance est dû à l'activation de métalloprotéases appartenant aux familles ADAM et matricielles, en réponse à divers stimuli, en particulier à l'activation de récepteurs couplés aux protéines G [24].

Ce phénomène d'activation indirecte, semble jouer un rôle important dans le pouvoir oncogénique de ces récepteurs. Ils jouent un rôle très important dans la croissance, la différenciation et le contrôle du métabolisme cellulaire. Les récepteurs ErbB partagent une forte homologie de structure primaire (40-45 %) qui se traduit par une organisation structurale commune caractéristique (Figure 10): la région extracellulaire ou ectodomaine est composée de quatre sous-domaines (I à IV) répétés deux à deux et se succédant en alternance. Les domaines I et III (L1 et L2) sont très semblables et analogues à un domaine du récepteur de l'IGF1 (insulin-like growth factor I), un autre récepteur à activité tyrosine kinase. Les domaines II et IV sont, eux, caractérisés par leur abondance en résidus cystéines, d'où leur appellation CR1 et 2 (CR : cysteine-rich). La région extracellulaire est suivie du domaine trans membranaire, courte séquence de 23-24 acides aminés, principalement caractérisée par la très grande hydrophobie des acides aminés la composant [24].

Cette séquence d'ancrage membranaire est suivie du côté cytoplasmique par un domaine juxta membranaire dont le rôle n'est pas entièrement élucidé, un domaine à activité tyrosine kinase, très conservé aussi bien pour la famille des récepteurs à tyrosine kinase que pour les tyrosines kinases solubles et les protéines, et lipides-kinases en général. Enfin, on décrit un domaine Cterminal, riche en sites de phosphorylation, très important pour la transduction du signal « EGF » [24].

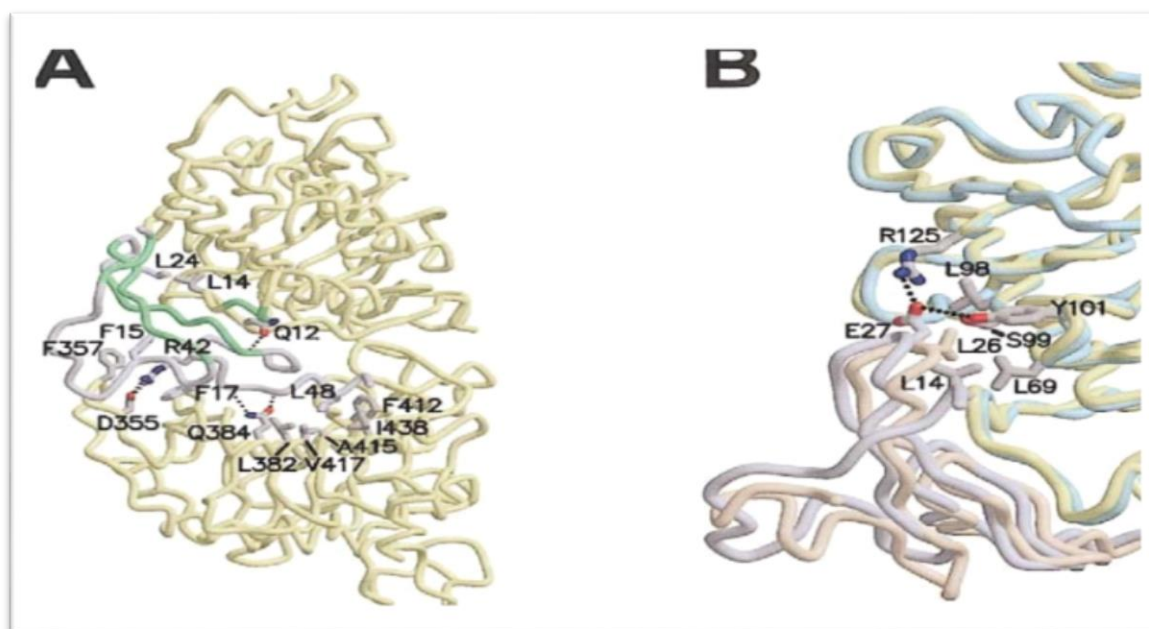
## 2.2 Structure tridimensionnelle

Les structures tridimensionnelles des fragments d'ectodomaine de l'EGF liés à l'EGF et au TGF $\alpha$  montrent que l'EGF et le TGF $\alpha$  se lient à l'EGFR selon le même mode. Chaque ligand lié interagit avec les domaines L1 et L2 d'une molécule d'EGFR donnée. Le résidu EGF Gln43 O et Arg45 N (Glu 44 O et Ala 44 N, respectivement, de TGF $\alpha$ ) (Fig. 4A). La chaîne latérale de Leu 47 (Leu 48 dans TGF $\alpha$ ) se projette dans une poche hydrophobe constituée de Leu 382, Phe 412 et Ile 438 avec la chaîne latérale d'Ala 415 à sa base. F conservé Arg 41 (Arg 42 dans TGF $\alpha$ ) établit des liaisons hydrogène bidentées avec Asp 355. Arg 41 est entouré de Tyr 13 et Leu 15 (Phe 15 et Phe 17, respectivement, dans TGF $\alpha$ ), orientant le résidu arginine et protégeant l'interaction pont de sel à partir des molécules d'eau. Tyr 13 interagit également avec Phe 357 du récepteur (Fig. 4A). La chaîne latérale de Gln 384 de l'EGFR forme deux liaisons hydrogène avec les atomes de la chaîne principale de l'E6 [25].

Les résidus EGFR L1 Gln 16 et Gly 18 contribuent à trois liaisons hydrogène de chaîne principale à chaîne principale à Cys 31 et Cys 33 d'EGF (Cys 32 et Cys 34 dans TGF $\alpha$ ), ainsi Les deux plus grandes feuilles prolongent le  $\beta$ -ligand dans le récepteur (en vert sur la figure 4A). La chaîne latérale du résidu EGFR Asn 12 établit également une liaison hydrogène avec l'atome d'azote de la chaîne principale de Gly 40 du TGF $\alpha$ , Chaîne latérale aliphatique de l'Ile 23 d'EGF et Leu 24 de TGF $\alpha$  interagissant avec la chaîne réceptrice Leu 14[25].

Il existe des différences compensatoires qui caractérisent l'association des liens individuels. Le pont salin entre le résidu TGF $\alpha$  Glu 27 et Arg 125 du récepteur n'est pas répliqué dans le récepteur de liaison à l'EGF. Le résidu EGF correspondant est Leu 26, qui est situé dans un Position similaire et interaction avec Leu 14, Leu 69, Leu 98 et Ser 99. De toute évidence, les résidus acides ou aliphatiques peuvent être logés dans cette position de liaison, comme le peuvent d'autres ligands connus de l'EGFR. L'examen des structures liées au lieu de l'EGF et du TGF $\alpha$  indique qu'en plus de la cystéine conservée Les résidus, Gly 18, Gly 39 et Tyr 38 (qui peuvent remplacer Phe) sont nécessaires pour former ou maintenir la conformation de liaison [5]. D'autres résidus de ligand sont également conservés ou partiellement conservés dans la famille EGF et soutiennent l'idée que tous les ligands adoptent la même méthode de repliement et d'épissage que C'est pour EGF et TGF $\alpha$ . Le résidu EGF Arg 41 est complètement conservé et ses résidus

proches Tyr 13 et Tyr 15 peuvent être utilisés avec des résidus avec des résidus aromatiques et aromatiques/aliphatiques, respectivement [5]. Ile 23 correspond aux résidus aliphatiques dans tous les autres ligands ErbB à l'exception du lieu faiblement lié, l'épigène. Les résidus EGFR Leu 14, Glu 355 et Phe 357 sont conservés dans les quatre ErbB et les résidus Gln 384 et Asn 12 sont conservés dans ErbB3 et ErbB4. La conservation de ces résidus soutient également l'idée qu'ErbB3 et ErbB4 ont la même liaison. Une méthode de liaison telle que celle utilisée par EGF et TGF $\alpha$  à EGFR [25].



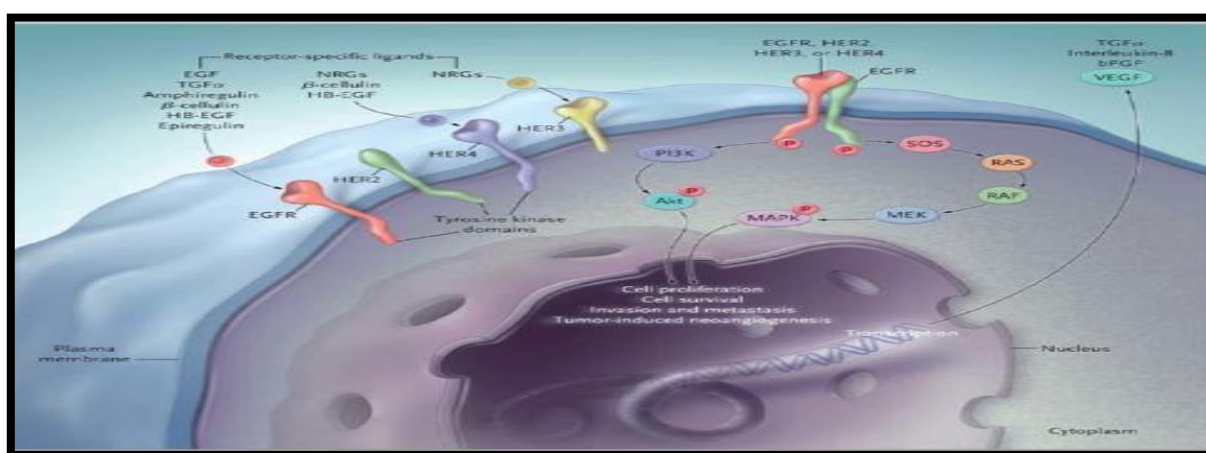
**Figure 9 :** structure Interactions des récepteurs du facteur de croissance épidermique (EGF) [25].

### 2.3 Rôles physiologiques

EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) est une protéine transmembranaire qu'agit comme un récepteur de facteur de croissance épidermique (EGF), qui joue un rôle important dans la signalisation cellulaires la prolifération cellulaire, il est impliqué un rôle physiologique préférentiel dans le développement des tissus d'origine épithéliale. Activation du récepteur nécessite sa dimérisation (homodimérisation ou hétérodimérisation), consécutive à la fixation du ligand. La fixation des ligands au récepteur a pour conséquence la stabilisation du domaine extracellulaire dans une conformation favorable à sa dimérisation avec un second. Cette activation est définitive ; sans mécanisme de déphosphorylation actuellement connu, l'activité

tyrosine-kinase du récepteur peut se poursuivre indéfiniment. Le récepteur peut être internalisé et être dégradé par la voie lysosomiale ou recyclé et réexprimé à la surface membranaire. Cette dimérisation permet la transphosphorylation du domaine kinase intracellulaire au niveau de résidus tyrosine, permettant ainsi le recrutement de molécules de signalisation et l'activation des voies de signalisation. IL peut s'agir d'une homo- ou d'une hétérodimérisation, activant [26].

Le rôle du gène EGFR comme proto-oncogène a été reconnu lorsque l'oncogène viral v-erb et l'EGFR ont pu être assimilés. Chez l'homme, le rôle oncogénique de l'EGFR ne passe pas par un virus ; les altérations rencontrées sont d'ordre quantitatif ou qualitatif [27]. Il est d'abord impliqué de façon majeure dans l'oncogenèse de nombreux types de cancers d'origine épithéliale : cancers du sein, du colon, du poumon, des voies aérodigestives supérieures, du pancréas, glioblastomes, etc. Il offre au thérapeute deux angles d'attaque opposés peut-être complémentaires : sa partie extracellulaire, qui reçoit les signaux de prolifération, au premier rang desquels l'EGFR lui-même, mais aussi le TGF $\alpha$  et quelques autres facteurs de croissance apparentés. Sa partie intracellulaire, qui porte l'activité catalytique de tyrosine kinase permettant la transduction des messages de prolifération [27]. D'ores et déjà, deux classes de thérapie ciblées sont disponibles dans le traitement des cancers pour lesquels l'EGFR joue un rôle d'oncogène : des anticorps reconnaissant la partie extracellulaire et interférant avec la reconnaissance des signaux et les inhibiteurs de tyrosine kinase prenant la place du substrat (l'ATP) et interférant avec la transduction du message [27].

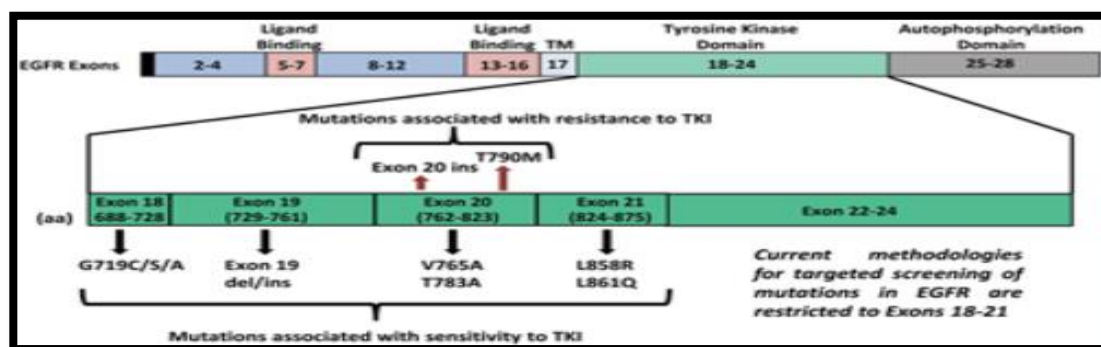


**Figure 10 :** Rôles de l'EGFR dans le cancer pulmonaire non à petite cellule [28].

### 3. Mutation de L'EGFR

Les récepteurs du facteur de croissance épidermique se trouvent à la surface des cellules tumorales et leur rôle consiste à envoyer un signal de croissance au noyau de la cellule. Certaines tumeurs cancéreuses du poumon peuvent contenir dans leur ADN une mutation touchant l'EGFR. On dit alors que la tumeur est « positive pour les mutations de l'EGFR ». Une mutation de l'EGFR est associée à une croissance tumorale incontrôlée, ce qui peut accélérer la progression du cancer. Les cellules tumorales porteuses de mutations de l'EGFR sont très sensibles aux traitements anticancéreux appelés « Thérapies ciblées » ou « Inhibiteurs de la tyrosine kinase de l'EGFR » [29]

La mutation de l'EGFR, retrouvées dans les tumeurs solides en particulier les cancers du sein prolifération l'angiogenèse ainsi que l'invasion des cellules tumorales, ces mutations de l'EGFR sont importantes car elles sont des cibles thérapeutiques pour les inhibiteurs de la tyrosine kinase, que sont des médicaments utilisés dans le traitement du cancer du poumon non à petites cellules, de la tête et du cou, du colon, cérébraux et les cancers bronchiques non à petites cellules. Ces altérations jouent un rôle clé dans le développement des cancers [30].



**Figure 11 :** Mutation dans la voie EGFR [31].

Également noter qu'une altération quantitative des ligands de l'EGFR (EGF, TGF- $\alpha$ , amphiréguline) est susceptible de concourir à l'oncogenèse en stimulant les voies de signalisation qui partent de l'EGFR : comme lors d'altération oncogénique du récepteur lui-même. Le ciblage du récepteur peut constituer une démarche thérapeutique [32]. Certaines mutations de l'EGFR confèrent une résistance aux EGFR-Tkis. Elles sont rarement retrouvées d'emblée, mais le plus souvent sélectionnées au cours du traitement par un EGFR-TKi [33].



***Chapitre III :***  
***Docking moléculaire***

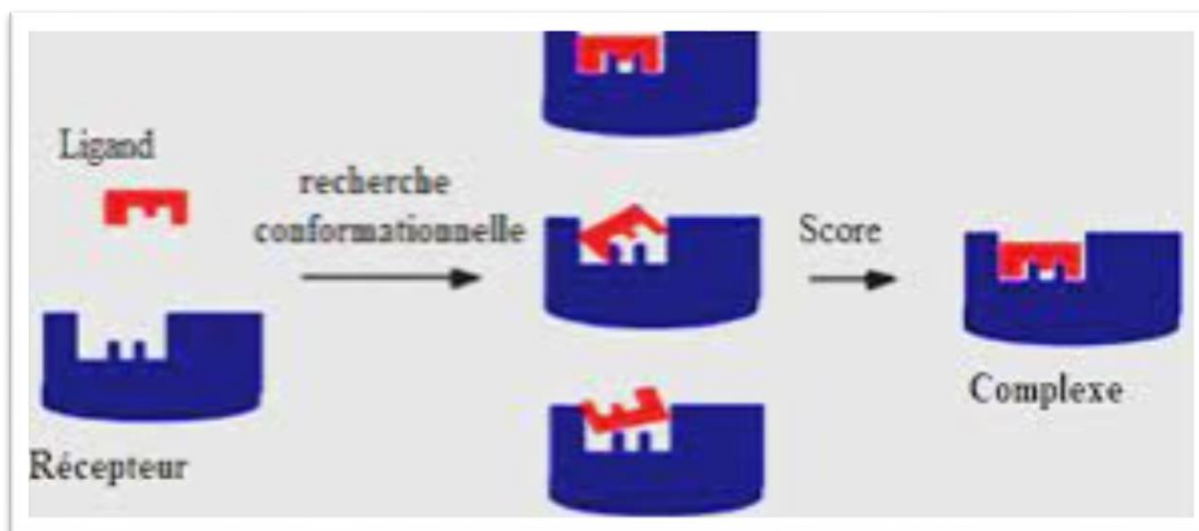
### 1. Docking moléculaire (amarrage)

Le Docking moléculaire est une technique informatique qui permet de prédire les interactions probables entre des ligands (substrat, activateur ou inhibiteur) et les acides aminés composant la structure d'une protéine [34]. Il se déroule en deux étapes:

- Une étape de positionnement du ligand dans le site choisi de la protéine.
- Une étape d'évaluation des interactions énergétiques potentielles entre le ligand et la protéine.

Les méthodes utilisées pour ces deux étapes diffèrent en fonction du programme de Docking utilisé [34].

Le « Docking » moléculaire consiste à prédire la ou les structures des complexes formés entre une molécule active et une protéine, possibles pour trouver « la meilleure façon d'insérer » la molécule dans une protéine (au niveau du récepteur ou du site actif) [3].



**Figure 12 :** Principe général d'un programme de Docking [34].

## 2. Criblage virtuel

Le criblage virtuel par Docking moléculaire est une nouvelle approche visant à simuler et prédire l'affinité d'un très grand nombre de ligands pour le site actif d'une cible thérapeutique donnée, ce qui est assez facile à mettre en place, plus rapide, pour un coût bien moindre que les criblages expérimentaux. Initié au début des années 1980, cette démarche s'est développée pour devenir, de nos jours, un outil incontournable dans la recherche de nouvelles molécules bioactives [36], Par criblage virtuel, on entend tout procédé de recherche électronique dans des banques de données moléculaires permettant la sélection de molécules. La requête peut être effectuée sous différents types de contraintes (descripteurs physicochimiques, pharmacophore, topologie d'un site actif) et doit aboutir à la sélection d'un faible pourcentage (1-2%) de molécules présentes dans la chimio thèque (banque de données de ligands) de départ [37].

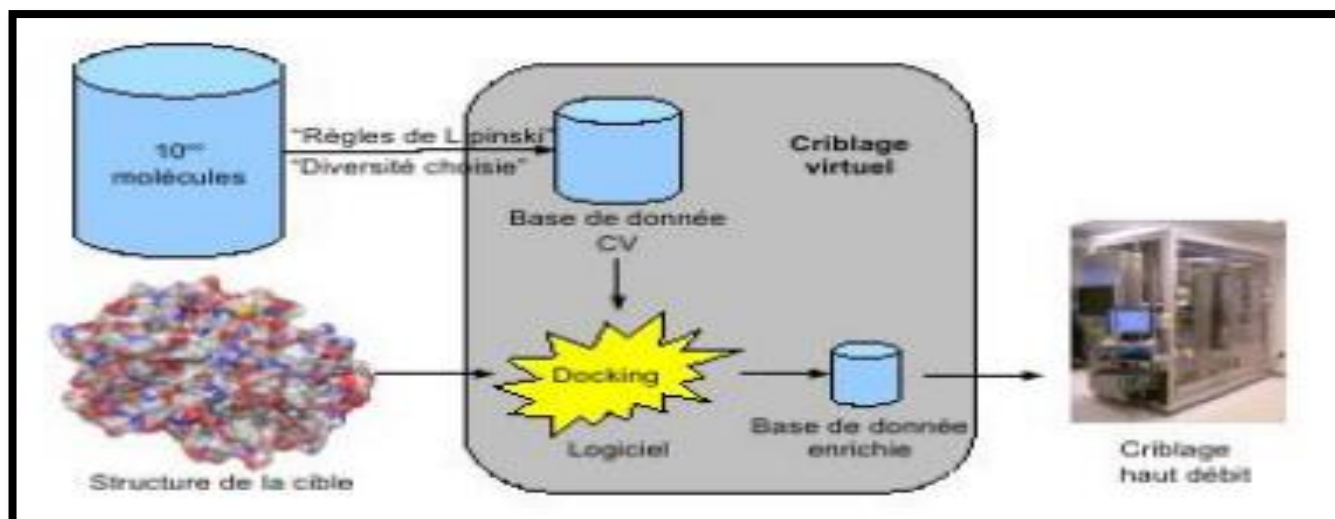


Figure13 : Aperçu du criblage virtuel [37].

## 3. Les outils du Docking moléculaire

### 3.1 Les récepteur

Le récepteur est une macromoléculaire, le plus souvent, une protéine, Il s'agit d'une grande archive de données structurales de macromolécules biologiques : protéines et acides nucléiques (ADN, ARN) [38]. En général, les sources d'information de ces structures

proviennent majoritairement de la cristallographie aux rayons X et de la RMN. Cette technique est responsable de la majorité des structures issues d'une base de données de structures accessibles gratuitement appelée la « Protéine Data Bank » [39].

En 2018, la PDB a compté plus de 141616 structures de bio-macromolécules. Les différentes conformations tridimensionnelles sont téléchargeables sous extension pdb lisibles par les logiciels de Docking et contenant diverses informations sur la protéine en question. Par exemple : le nom du récepteur, l'équipe qui a résolu la structure, la méthode expérimentale, ...etc. Certaines informations sur la structure primaire, les hétéroatomes, la structure secondaire et les coordonnées atomiques X, Y et Z, qui déterminent la position exacte de chaque atome dans une conformation donnée, peuvent s'y trouver. Si la cible n'est pas encore déposée au niveau de la banque, et cette dernière contient une protéine avec des séquences similaires, la modélisation par homologie intervient afin de reconstruire la structure 3D de la cible souhaitée [40].

### **3.2 Les ligands**

En ce qui concerne Docking moléculaire, le choix du ligand est une étape importante. Ce choix doit être pertinent en raison de la spécificité du site actif de la cible évitant de tester inutilement des molécules [41].

Pour obtenir la structure chimique tridimensionnelle d'un ligand, il existe deux méthodes : La première souvent d'aspect commercial, est constituée de bases de données de structures chimiques appelées chimiothèques ou espaces chimiques. Le second moyen consiste à utiliser des ligands de la PDB ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol, mol2...etc.) grâce à des logiciels de construction moléculaire tels que chemDraw, Arguslab, Titan ou Sybyl...etc[42].

### **3.3. Le Docking Ligand-protéine**

Les méthodes informatiques pour prédire la structure des complexes ligand-protéine ou les algorithmes d'amarrage ont une application à la fois dans la conception à la fois dans la conception de médicaments et dans l'élucidation des voies biochimiques [43].

### 3.4. Les programmes d'amarrage moléculaire

Au fil des années, on note l'apparition d'un nombre important de programmes de Docking moléculaire avec une grande diversité des algorithmes de recherche et des fonctions de score (Tableau 2) [44].

**Tableau 2 :** Principaux programmes de Docking moléculaire [45].

Nom	Editeur	Site Internet
<b>Auto Dock</b>	Scripps	<a href="http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodock">http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodock</a>
<b>Gold</b>	CCDC	<a href="http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/">http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/</a>
<b>FlexX</b>	BioSolveIT	<a href="http://www.biosolveit.de/FlexX/">http://www.biosolveit.de/FlexX/</a>
<b>Fred</b>	OpenEyes	<a href="http://www.eyesopen.com/products/applications/fred.html">http://www.eyesopen.com/products/applications/fred.html</a>
<b>Glide</b>	Schrödinger	<a href="http://www.schrodinger.com/products/glide.html">http://www.schrodinger.com/products/glide.html</a>
<b>Dock</b>	UCSF	<a href="http://dock.comphio.uscf.edu/">http://dock.comphio.uscf.edu/</a>
<b>ICM</b>	Molsoft	<a href="http://www.molsoft.com/products.html">http://www.molsoft.com/products.html</a>
<b>LigandFit</b>	Accelrys	<a href="http://www.accelrys.com/cerius2/c2ligandfit.html">http://www.accelrys.com/cerius2/c2ligandfit.html</a>
<b>Surflex</b>	Biopharmics	<a href="http://www.biopharmics.com/products.html">http://www.biopharmics.com/products.html</a>

# *Partie Pratique*

# *Matériels et méthodes*

## **Introduction**

Le Docking moléculaire est un domaine de recherche fondamental, et appliqué particulièrement dans le domaine de la recherche pharmaceutique. Pour cette raison, différentes approches et algorithmes ont été développés pour améliorer cette technique. Le processus de Docking moléculaire implique plusieurs étapes :

- Préparation des ligands
- Préparation de protéine
- Positionner le ligand dans le site actif choisi de la protéine.
- Évaluation des interactions énergétiques potentielles entre le ligand et la protéine



## 1. Matériels

### 1.1 Microordinateur

Dans cette étude, nous avons utilisé deux micro-ordinateurs la marque (**HP**), ayant les caractères suivants :

**Tableau 3** : Les micro-ordinateurs utilisés dans cette étude et leurs caractéristiques.

	Micro-ordinateur A	Micro-ordinateur B
Mémoire (RAM)	4Go	4Go
Type du système	Système d'exploitation 64 bits	Système d'exploitation 64 bits
Processeur	Intel(R) Celeron(R) N4020 à 1,10 GHz	Intel(R) core(TM) i3-3110M CPU@ 2.40GHZ
Système d'exploitation	Windows 10 Pro	Windows 8.1 pro

### 1.2 Logiciel utilisé

#### 1.2.1 MOE (Molecular Operating Environment)

MOE, « Molecular Operating Environment » est un package c'est-à-dire un ensemble de plusieurs logiciels destinés à la découverte et à la conception assistée par ordinateur de molécules biologiquement actives. Celui-ci permet d'effectuer plusieurs tâches pendant un temps très réduit. Il permet de dessiner les molécules, et les minimiser pour avoir les meilleures conformations de ces molécules. Il permet également de dockner plusieurs ligands rassemblés dans une base de données dans le site actif d'une protéine de manière successive [46-47].



**Figure14** : La fenêtre de logiciel MOE.

## 1.3 Les banques de données

### 1.3.1 Pubchem

PubChem est un référentiel public d'informations sur les substances chimiques et leurs activités biologiques, lancé en 2004 dans le cadre des initiatives de la feuille de route des bibliothèques moléculaires des National Institutes of Health des États-Unis (NIH) [48]. Actuellement, il contient plus de 25 millions de structures chimiques uniques et 90 millions de résultats de bios activités associées à plusieurs milliers de cibles macromoléculaires [49].

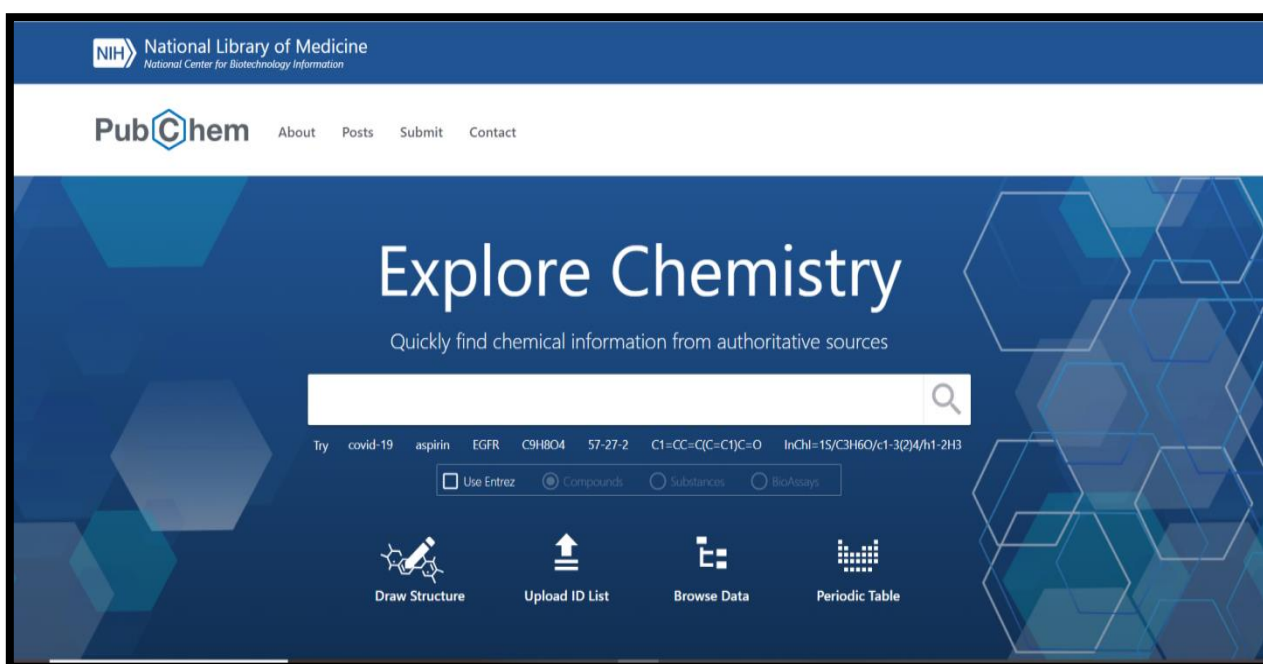


Figure 15: L'interface graphique du site web de pubchem.

### 1.3.2 La banque de données protéiques (PDB)

La banque de données protéiques (Protein Data Bank) c'est une collection mondiale de données sur la structure tridimensionnelle (structure 3D) des macromolécules biologiques : protéines essentiellement, et acides nucléiques. Ces structures sont essentiellement déterminées par cristallographie aux rayons X ou par spectroscopie RMN [50].



Figure 16 : L'interface graphique du site web de base de données PDB.

## 1.4 Les serveurs en ligne

### 1.4.1. SwissADME

Ce site web vous permet de calculer des descripteurs physicochimiques ainsi que de prédire les paramètres ADME, les propriétés pharmacocinétiques, la nature médicamenteuse et la compatibilité avec la chimie médicinale d'une ou plusieurs petites molécules pour soutenir la découverte de médicaments [51].

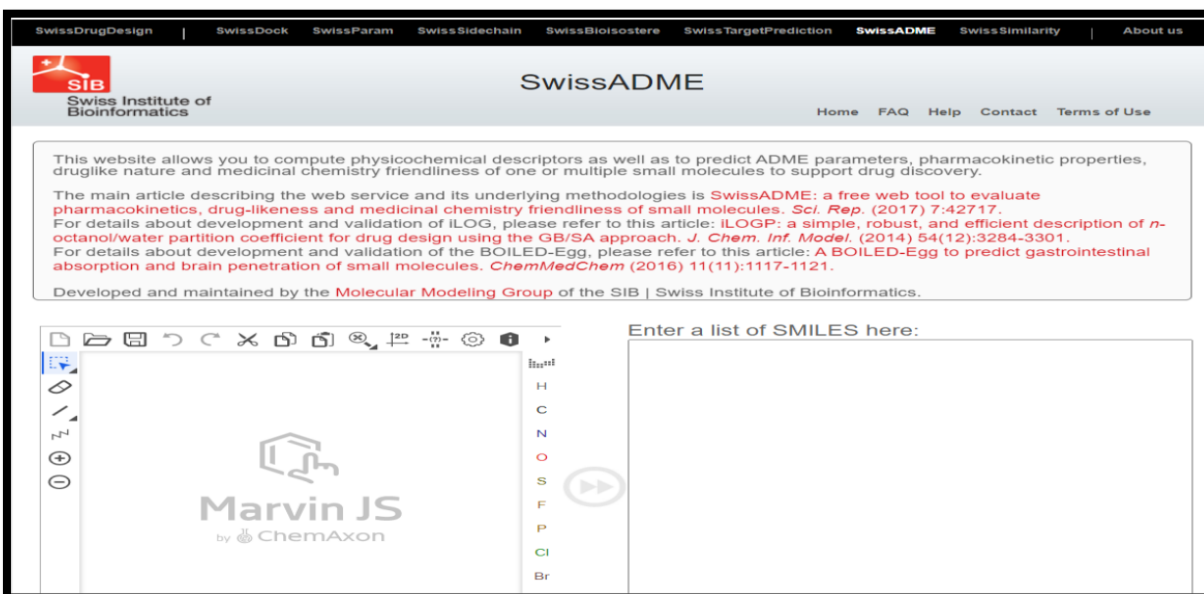


Figure17 : Page d'accueil du serveur SwissADME.

### 1.4.2. ProTox-II

ProTox-II est un laboratoire de toxicité virtuel accessible aux utilisateurs académiques et non commerciaux via un serveur Web, pour la prédiction de plusieurs paramètres toxicologiques liés à une structure chimique. ProTox-II contient des modèles informatiques formés sur des données réelles (*in vitro* ou *in vivo*) pour prédire le potentiel toxique des composés existants et virtuels. La classe de toxicité aiguë ainsi que différents critères d'évaluation sont calculés pour un composé d'entrée en fonction des similitudes chimiques avec les composés toxiques et des modèles d'apprentissage automatique entraînés. ProTox-II s'envisage comme une plate-forme informatique complète disponible gratuitement pour la prédiction de la toxicité *in silico* pour les toxicologues, les agences de réglementation, les chimistes informatiques et les chimistes médicaux [52].

The screenshot displays the ProTox-II web interface. At the top, there is a navigation bar with icons for PROTOX HOME, TOX PREDICTION, F A Q, MODEL INFO, STATISTICS, CONTACT, and LINKS/DOWNLOAD. Below this is a 'Tox-Prediction' header. The main content area is divided into two sections. The first section, titled 'Here you can search for an input compound via pubchem:', contains two input fields: 'Pubchem-Name:' with a 'search' button and 'Canonical Smiles:' with a 'smiles' button. Examples are provided for both. The second section, titled 'Here you can get a tox-prediction for any input compound:', features a list of checkboxes for selecting additional models to predict. The selected molecule is Tamoxifen, and its chemical structure is displayed on the right side of the interface.

Selected molecule : Tamoxifen

To load a molecule click . The deletes clicked atoms and deletes everything on the canvas.

Please select any additional models to predict:  
(Acute Toxicity is always computed, further models can take ~10s time each)

Organ Toxicity

- Hepatotoxicity

Toxicity end points

- Carcinogenicity
- Immunotoxicity
- Mutagenicity
- Cytotoxicity

Tox21 Nuclear receptor signalling pathways

- Aryl hydrocarbon Receptor (AhR)
- Androgen Receptor (AR)
- Androgen Receptor Ligand Binding Domain (AR-LBD)
- Aromatase
- Estrogen Receptor Alpha (ER)
- Estrogen Receptor Ligand Binding Domain (ER-LBD)
- Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma (PPAR-Gamma)

Tox21 Stress response pathways

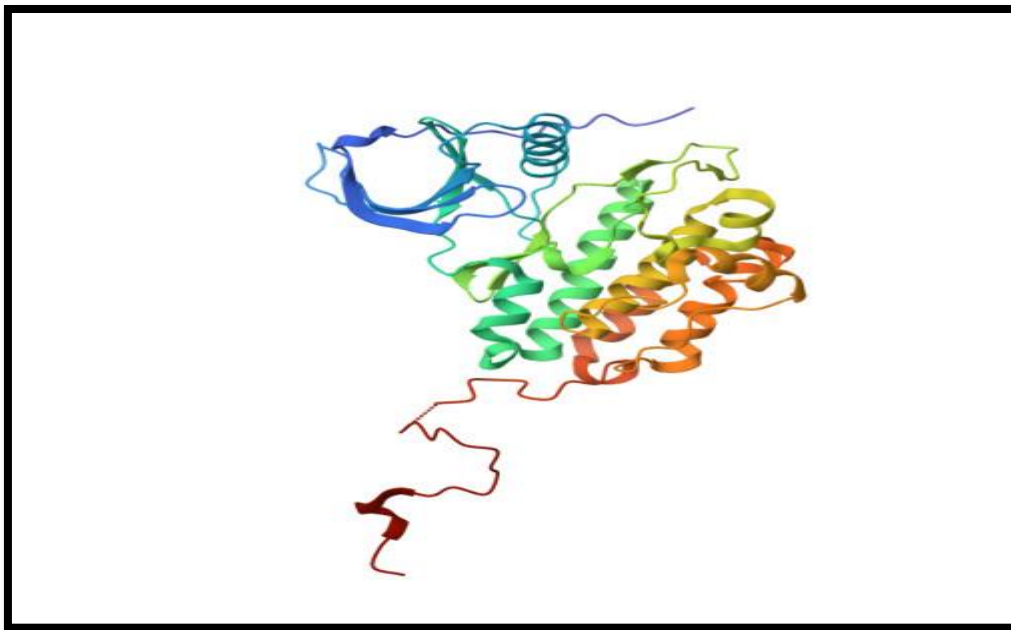
Figure 18: Page d'accueil de serveur ProTox-II.

## 2. Méthodologie des calculs

### 2.1 Préparation de protéine

Le téléchargement de la protéine a été fait à partir de la base de données Protéine Data Bank ([www.rcsb.org/pdb](http://www.rcsb.org/pdb)).

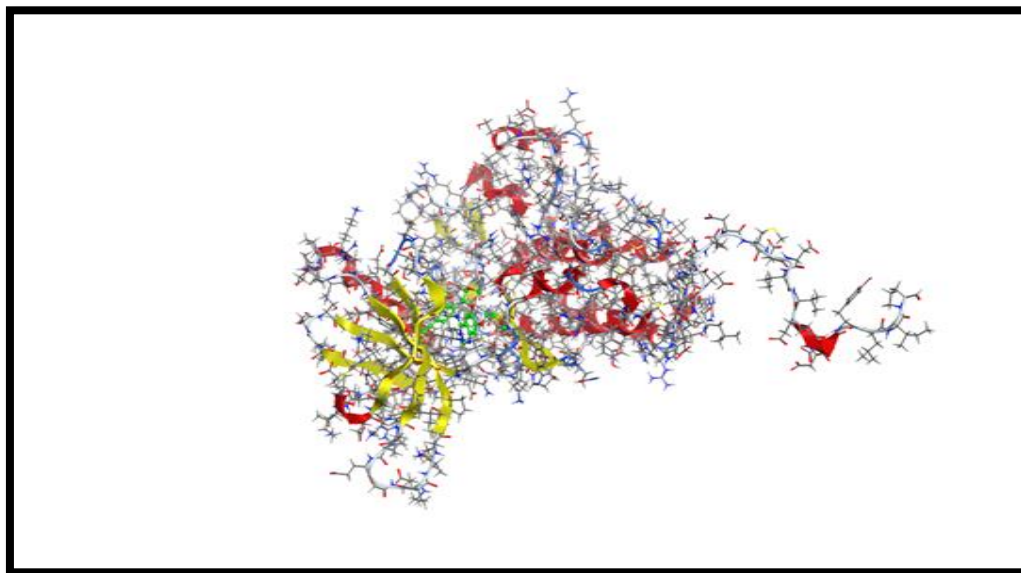
La structure tridimensionnelle de la protéine tyrosine kinase EGFR est identifiée par le code 1M17 a été obtenue par diffraction aux rayons X à haute résolution (2,60 Å).



**Figure 19 :** Structure 3 D du complexe 1M17.

Après le téléchargement du récepteur, nous avons optimisé le récepteur à l'aide de MOE de manière à avoir la meilleure conformation, par les étapes suivantes :

- Eliminer les molécules d'eau (Déshydratation) et les cofacteurs,
- Ajouter les molécules d'hydrogène
- Ajouter une correction
- La fixation du potentiel des atomes récepteurs



**Figure 20 :** La structure de la protéine après sa préparation.

Après avoir terminé la préparation de protéine, on a séparé le site actif de Docking (ligand Pocket).

## 2.2 Préparation des ligands

Soixante-dix composés bioactifs provenant de différentes sources végétales rassemblés à partir d'une base de données publique et d'articles de recherche publiés [53-54-55], à partir de Pubchem est obtenue Canonical Smiles de ces ligands et inséré dans le logiciel MOE, pour initier l'optimisation des ligands, version professionnelle pour détermine la conformation la plus stable par les 3 étapes suivantes :

- Ajouter les molécules d'hydrogène
- Correction de la charge partielle des atomes constituée le récepteur
- Minimisations d'énergie

Tableau 3 : les ligands utilisés dans l'étude.

N° des ligands	Ligand	N° des ligands	Ligand
1	6-Shogaol	17	Décursinol
2	Alpha-Zingiberène	18	L'acide ellagique
3	Apigénine	19	Émodine
4	Acide basique	20	Épicatéchine
5	zibigirène	21	Épigallocatechine
6	L'acide linoléique	22	Ériodyctiol
7	Berbérine	23	Étoposide
8	L'acide chlorogénique	24	Eugénol
9	Chrysine	25	Fisétine
10	Colchicine	26	Genkwanin
11	Corydine	27	Ginkgetin
12	Crocétine	28	Isorhamnetin
13	Curcumin	29	Kaempférol
14	Curdione	30	Licochalcone
15	Cyanidine	31	Lutéoline
16	Aloïne	32	Hispiduline
33	Nectandrine	52	Catéchine
34	Niaziminine	53	Naringine
35	Nimbolide	54	Capsaïcine
36	Oléanolique	55	Psychotrine
37	Panaxadiol	56	Acide sarginique
38	Panaxatriol	57	Plicamine
39	Plumbagin	58	Narciclasine
40	Podophyllotoxine	59	Hydroxyjasmonic acid
41	Quercétine	60	lycoricidine
42	Salvicine	61	Acidcaféique
43	Silibinine	62	Cordioside

44	Tétrandrine	63	Acide coumarique
45	Théaflavine	64	Acide caftarique
46	Tylophorine	65	Menthol
47	Acide ursolique	66	Acide férulique
48	Withaférine A	67	Acide rosmarinique
49	Yuanhuanin	68	Acide sinapique
50	Hécogénine	69	Acide caféique
51	Acide gallique	70	Chrysophanol

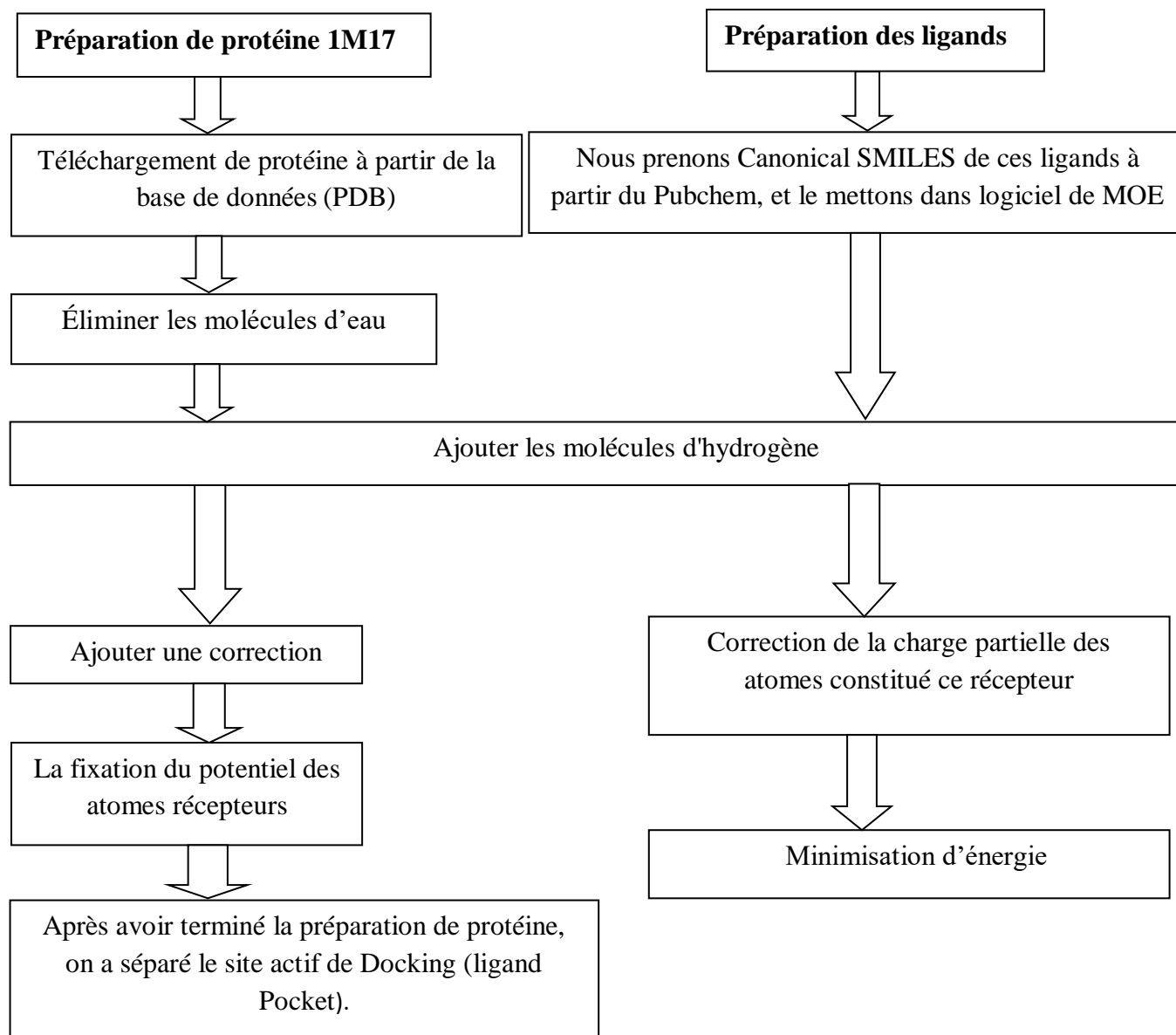
### 2.3 Docking moléculaire par logiciel MOE

Le Docking moléculaire est une approche numérique de modélisation moléculaire. Elle cherche à identifier la meilleure orientation entre deux molécules, que permet dans notre étude d'avoir la meilleure position de chaque ligand dans le site actif a été réalisé en utilisant logiciel MOE, a deux étapes :

- Docker la molécule de référence (Géfitinib) sous le code AQ4 dans le site actif (ligand Pocket) : afin d'être une référence en terme des valeurs (RMSD, score, et les interactions avec acides aminés clés).
- Docker les 70 ligands dans le site actif (ligand Pocket) : le Docking moléculaire, nous permet de générer la meilleure position de chaque ligand étudié au sein du site actif, selon leur (RMSD, score, et les interactions avec acides aminés clés). Une fois que le complexe ligand-récepteur est formé, celui-ci va adapter la conformation la plus stable, c'est-à-dire avec le niveau énergétique le plus faible. Les résultats dans le tableau 4.



Nous avons calculé l'interaction après le protocole suivant :



**Figure 21** : Protocole générale de calcul.

## *Résultats et discussion*

## Résultats et Discussion

## 1. Résultats du Docking moléculaire

Tableau 4 : Résultats énergétiques de Docking moléculaire

N° de ligand	Ligand	Score (Kcal/mol)	RMSD
1	6-Shogaol	-6.32	3.16
2	$\alpha$ -Zingiberène	-5.8046	2.3302
3	Apigénine	-6.1831	1.0636
4	Acide basique	-5.8895	2.4620
5	zinbigiréne	-6.2002	1.0968
6	L'acide linoléique	-6.2727	1.0841
7	Berbérine	-6.8996	0.6185
8	L'acide chlorogénique	-6.8314	1.5887
9	Chrysine	-5.9193	0.9302
10	Colchicine	-7.3196	1.2463
11	Corydine	-6.9244	1.5936
12	Crocétine	-6.4208	2.1516
<b>13</b>	<b>Curcumine</b>	<b>-7.4542</b>	<b>2.1029</b>
14	Curdione	-5.5586	1.2961
15	Cyanidine	-5.9928	4.5505
16	Aloïne	-6.77730	0.9545
17	Décursinol	-5.5976	2.0145
<b>18</b>	<b>L'acide ellagique</b>	<b>-5.4636</b>	<b>1.0787</b>
19	Émodine	-5.2807	1.11158
<b>20</b>	<b>Épicatéchine</b>	<b>-6.2276</b>	<b>2.3518</b>
21	Épigallocalatéchine	-6.5052	0.8821
<b>22</b>	<b>Ériodyctiol</b>	<b>-6.3752</b>	<b>1.3631</b>
23	Étoposide	-7.6770	1.8318
24	Eugénol	-4.9176	0.7222
<b>25</b>	<b>Fiséatine</b>	<b>-6.0557</b>	<b>1.2992</b>

---

<b>26</b>	<b>Genkwanin</b>	<b>-5.9676</b>	<b>2.0518</b>
<b>27</b>	<b>Ginkgetin</b>	<b>-7.6133</b>	<b>1.5182</b>
28	Isorhamnetin	-6.1218	3.6775
<b>29</b>	<b>Kaempférol</b>	<b>-5.8485</b>	<b>1.0555</b>
<b>30</b>	<b>Licochalcone</b>	<b>-6.6689</b>	<b>1.4467</b>
<b>31</b>	<b>Lutéoline</b>	<b>-5.6169</b>	<b>0.8388</b>
32	Hispiduline	-5.8667	1.6976
33	Nectandrine	-6.5045	1.2627
34	Niaziminine	-7.1093	1.9156
35	Nimbolide	-6.8788	1.6260
36	Oléanolique	-5.5734	1.4703
37	Panaxadiol	-6.2918	1.4144
38	Panaxatriol	-6.2889	1.3264
39	Plumbagin	-4.9387	3.2597
<b>40</b>	<b>Podophyllotoxine</b>	<b>-7.5129</b>	<b>2.0425</b>
41	Quercétine	-6.1020	1.5357
42	Salvicine	-6.8868	0.9742
43	Silbinine	-7.0379	1.3828
44	Tétrandrine	-7.1687	3.8381
45	Théaflavine	-8.3169	1.1747
<b>46</b>	<b>Tylophorine</b>	<b>-6.7870</b>	<b>1.6247</b>
47	Acide ursolique	-6.2989	1.3040
48	Withaférin A	-7.0544	1.3205
<b>49</b>	<b>Yuanhuanin</b>	<b>-7.7828</b>	<b>1.3292</b>
50	Hécogénine	-6.7843	0.7047
51	Acidgalique	-4.9445	1.6343
<b>52</b>	<b>Catéchine</b>	<b>-6.2645</b>	<b>1.4100</b>
53	Naringine	-8.4192	1.3944
<b>54</b>	<b>Capsaïcine</b>	<b>-6.7142</b>	<b>1.0974</b>
55	Psychotrine	-7.3088	1.4161

56	Acide sarginique	-4,5467	3,4567
57	Plicamine	-8.0920	1.3469
<b>58</b>	<b>Narciclasine</b>	<b>-5.8933</b>	<b>1.1174</b>
59	Hydroxyjasmonic acid	-5,7896	3,5687
60	Lycoricidine	-6.7745	0.8424
<b>61</b>	<b>Acide caféique</b>	-6.2014	<b>1.5223</b>
62	Cordioside	-6.7999	1.3230
<b>63</b>	<b>Acide coumarique</b>	<b>-4.5638</b>	<b>1.1891</b>
64	Acide caftarique	-3,6785	2,6488
65	Menthol	-5.1233	0.7827
<b>66</b>	<b>Acide férulique</b>	<b>-4.8136</b>	<b>0.8005</b>
67	Acide rosmarinique	-6.8351	1.2473
<b>68</b>	<b>Acide sinapique</b>	<b>-5.1825</b>	<b>1.1062</b>
69	Acide caféique	-3,5342	2,4557
70	Chrysophanol	-5.3635	1.6242

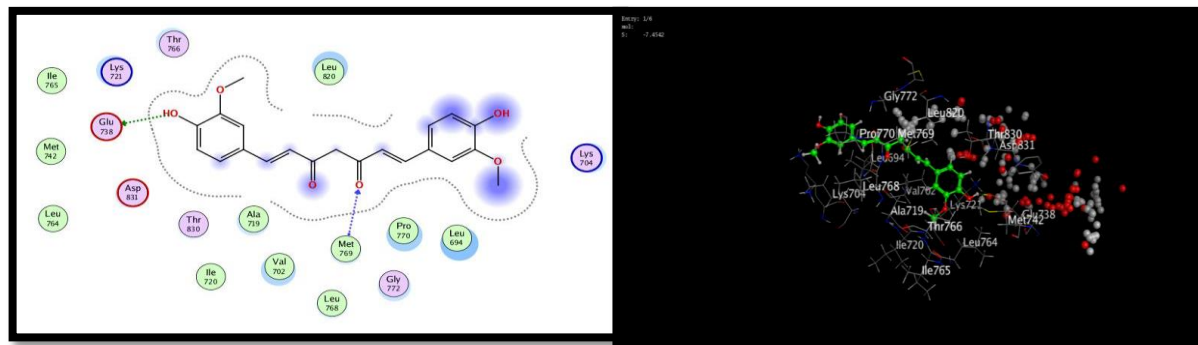
Nous avons sélectionné 20 molécules qui présentent l'énergie de score et la valeur RMSD les plus bas par rapport aux autres ligands et le ligand de référence, avec interactions aux les acides aminés clés (Gln 767, Met769), ceci montre que ces complexes sont plus stables.

## 2. Les interactions 2D, 3D des ligands

### 1. Curcumin

Numéro 13 dans la liste des ligands, score -7.4542, RMSD 2.1029

Interaction de ligand : Met769 Glu738

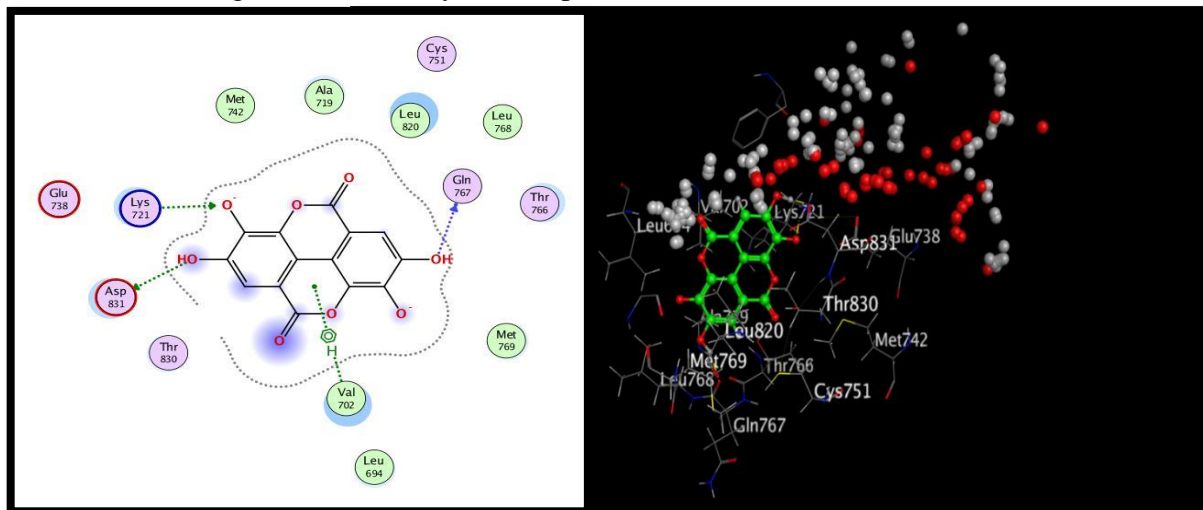


**Figure 22** : Les interactions 2D, 3D de Curcumin dans le site actif

## 2. L'acide ellagique

Numéro 18 dans la liste des ligands, score -5.4636, RMSD 1.0787

Interaction de ligand : Gln767 Lys721 Asp831 Val70

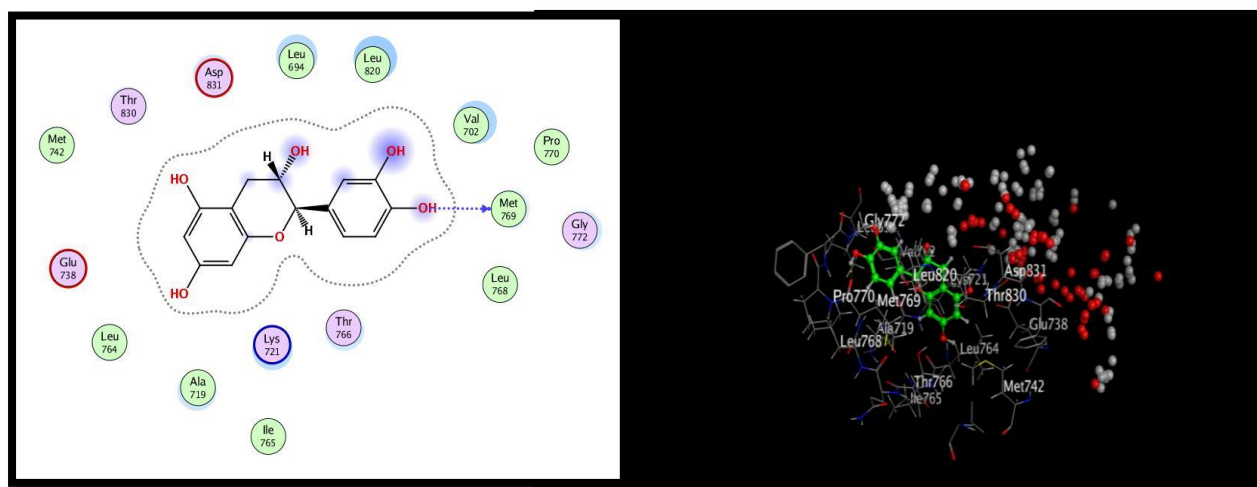


**Figure 23** : Les interactions 2D, 3D de L'acide ellagique dans le site actif.

## 3. Epicatechine

Numéro 20 dans la liste des ligands, score -6.2276, RMSD 2.3518

Interaction de ligand : Met769

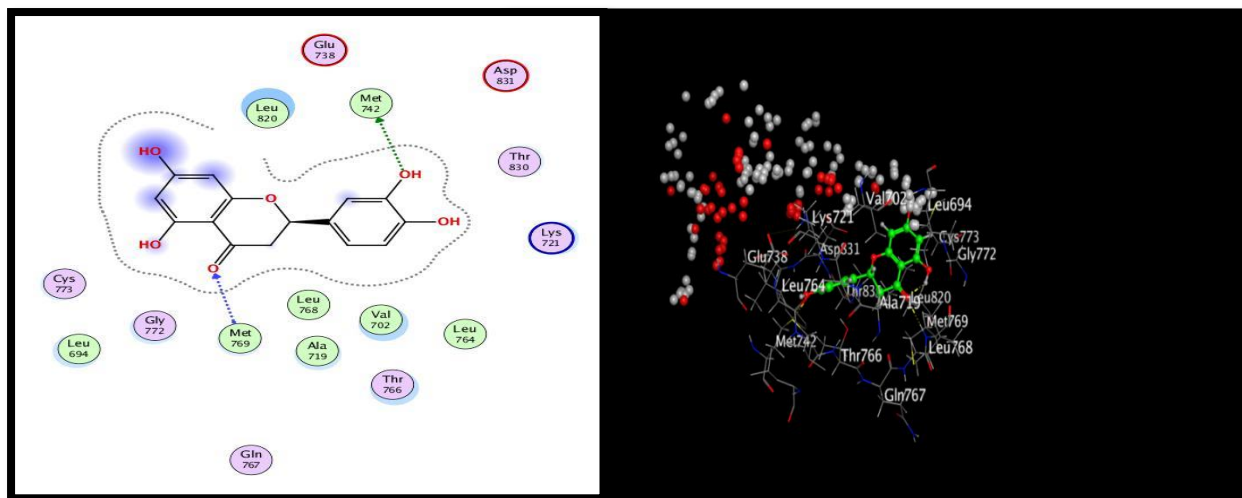


**Figure 24** : Les interactions 2D, 3D d'epicatechine dans le site actif.

#### 4. Eriodyctiol

Numéro 22 dans la liste des ligands, score-6.3752, RMSD1.3631

Interaction de ligand : Met769 Met742

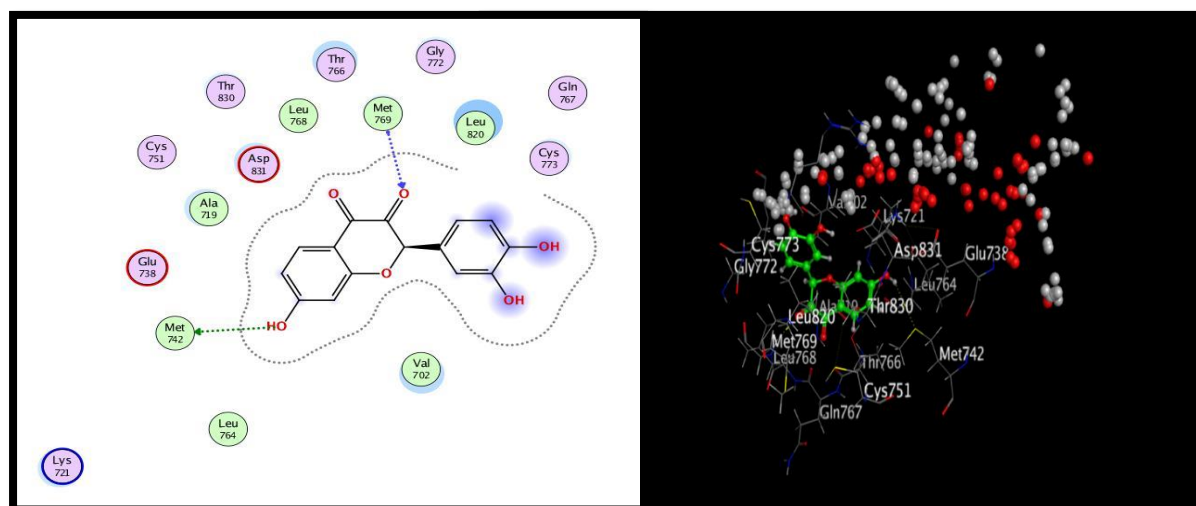


**Figure 25** : Les interactions 2D, 3D d'eriodyctiol dans le site actif.

#### 5. Fisétine

Numéro 25 dans la liste des ligands, score-6.0557, RMSD 1.2992

Interaction de ligand : Met769 Met742

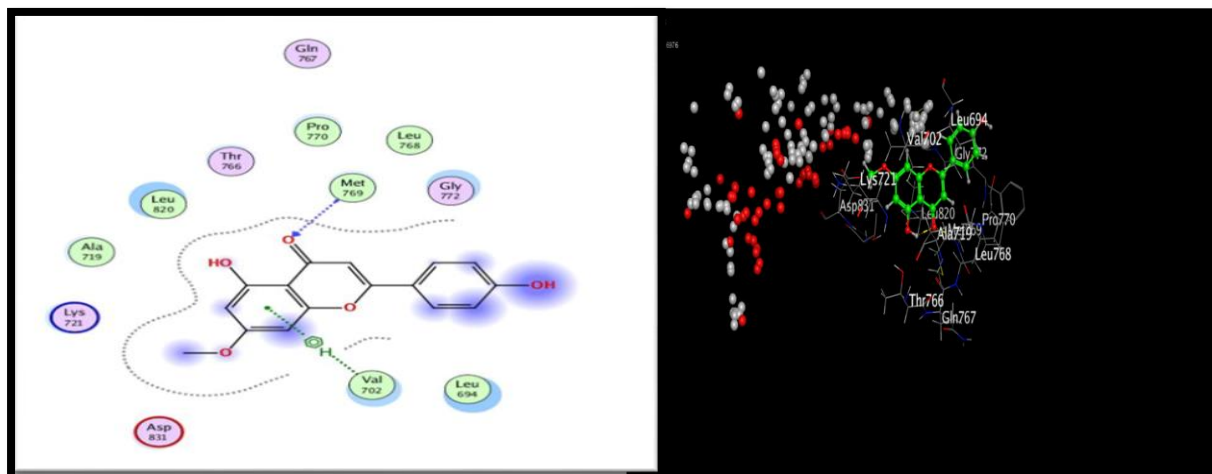


**Figure 26** : Les interactions 2D, 3D de Fisétine dans le site actif.

## 6. Genkwanin

Numéro 26 dans la liste des ligands, score -5.9676, RMSD 2.0518

Interaction de ligand : Met769 Val702

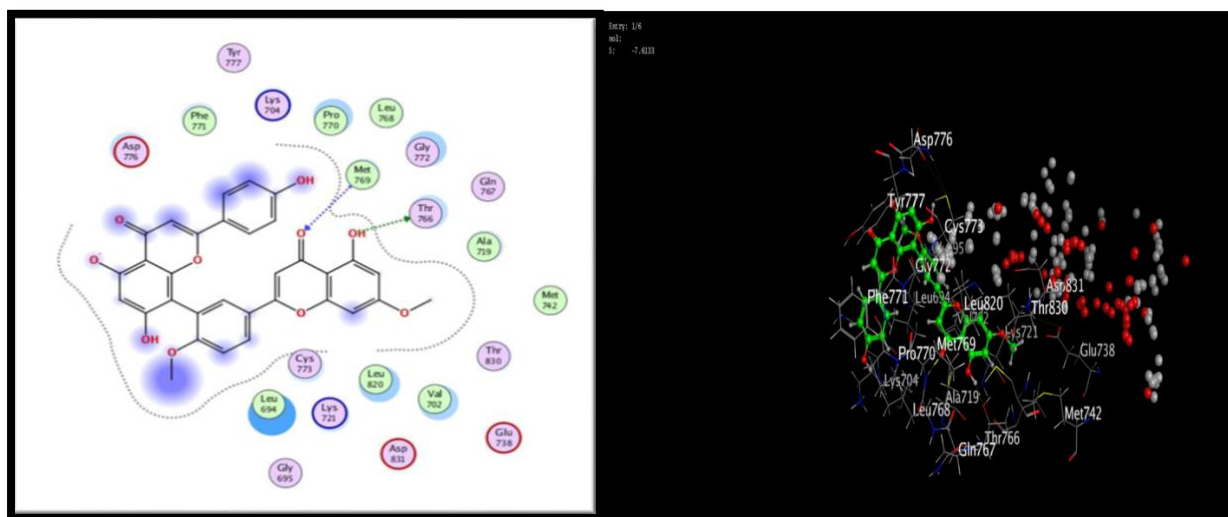


**Figure 27** : Les interactions 2D, 3D de Genkwanin dans le site actif.

## 7. Ginkgetin

Numéro 27 dans la liste des ligands, score -7.6133, RMSD 1.5182

Interaction de ligand : Met769 Thr766



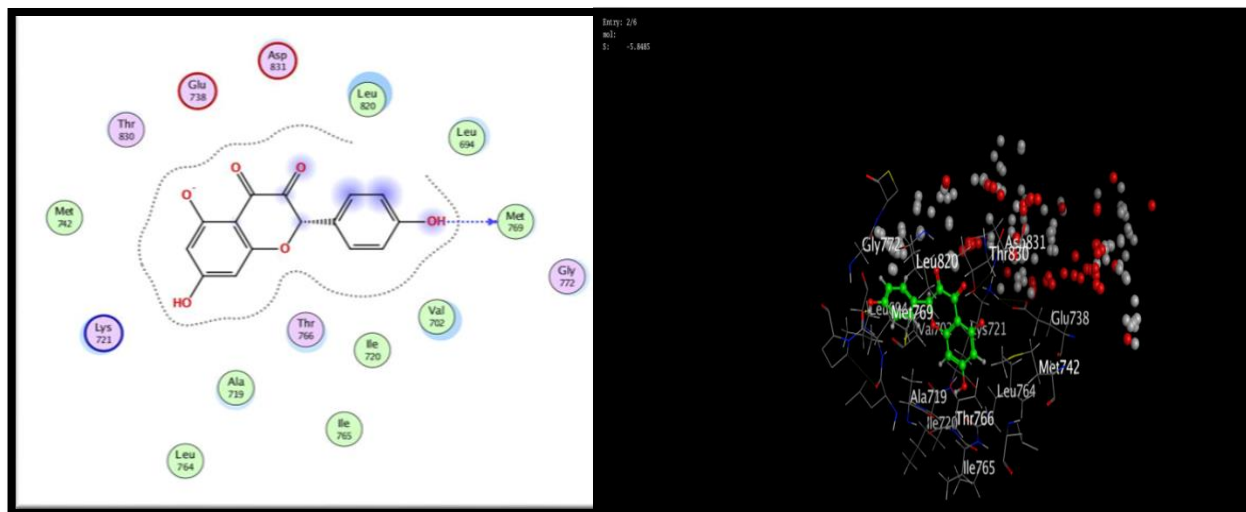
**Figure 28** : Les interactions 2D, 3D de Ginkgetin dans le site actif.



## 8. Kaempférol

Numéro 29 dans la liste des ligands, score -5.8485, RMSD 1.0555

Interaction de ligand : Met76

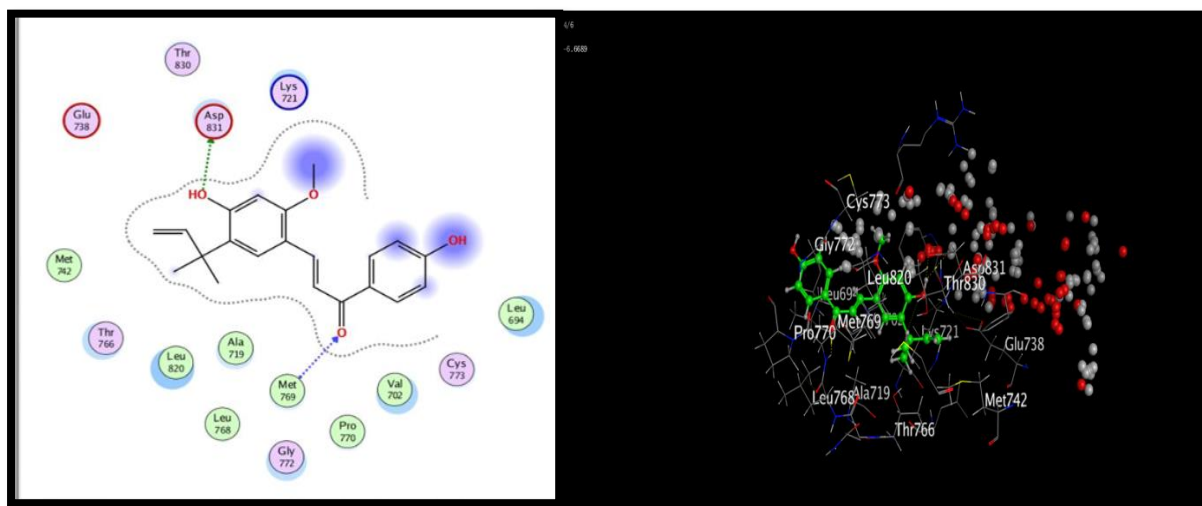


**Figure 29** : Les interactions 2D, 3D de Kaempférol dans le site actif.

## 9. Licochalcone

Numéro 30 dans la liste des ligands, score -6.6689, RMSD 1.4467

Interaction de ligand : Met 769

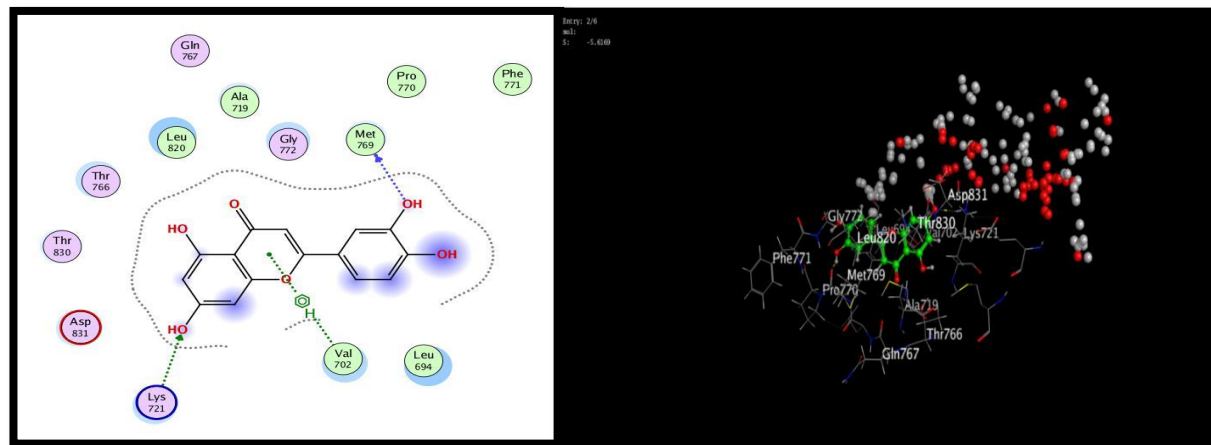


**Figure 30** : Les interactions 2D, 3D de Licochalcone dans le site actif.

## 10. Lutéoline

Numéro 31 dans la liste des ligands, score -5.6169, RMSD 0.8388

Interaction de ligand : Met769 Val702 Lys721

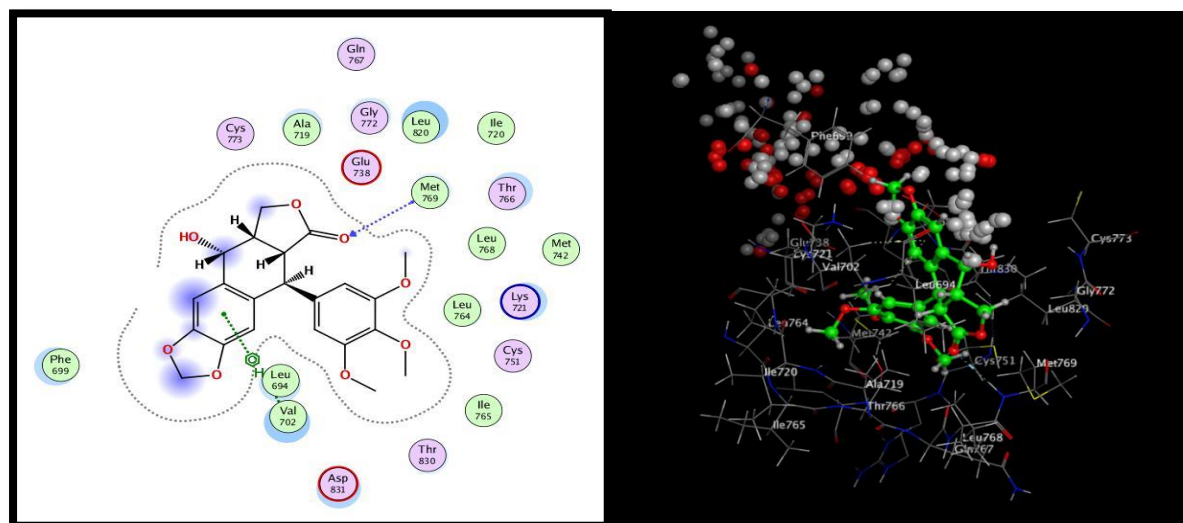


**Figure 31** : Les interactions 2D,3D de lutéoline dans le site actif

## 11. Podophyllotoxine

Numéro 40 dans la liste des ligands, score -7.5129, RMSD 2.0424

Interaction de ligand : Met 769, Leu 694, Val 702



**Figure 32** : Les interactions 2D, 3D de podophyllotoxine dans le site actif.

## 12. Tylophorine

Numéro 46 dans la liste des ligands, score -6.9930, RMSD 1.6247

Interaction de ligand : Met769, Lys 721

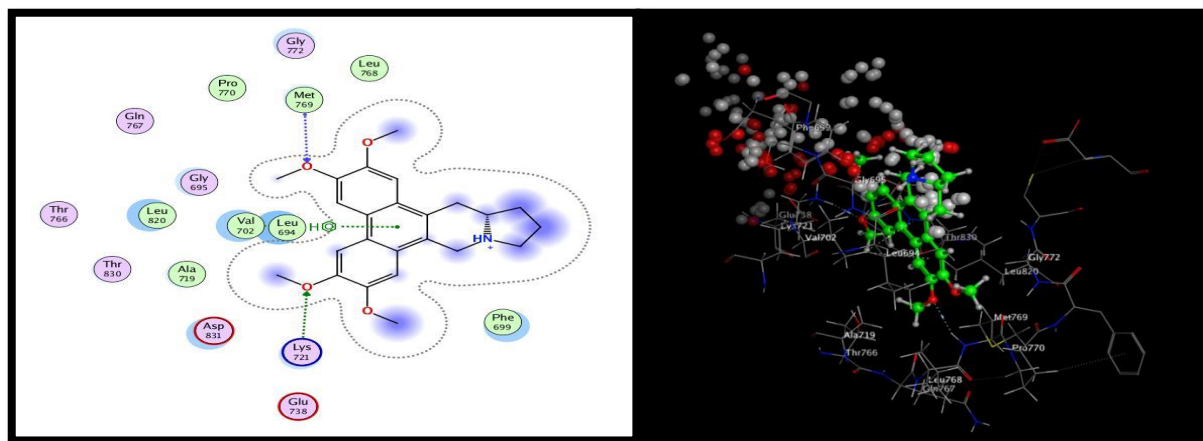


Figure 33 : Les interactions 2D, 3D de Tylophorine dans le site actif.

## 13. Yuanhuanin

Numéro 49 dans la liste des ligands, score -7.7828, RMSD 1.3205

Interaction de ligand : Met 769, Met 742, Val 702, Asp 831, Lys 721

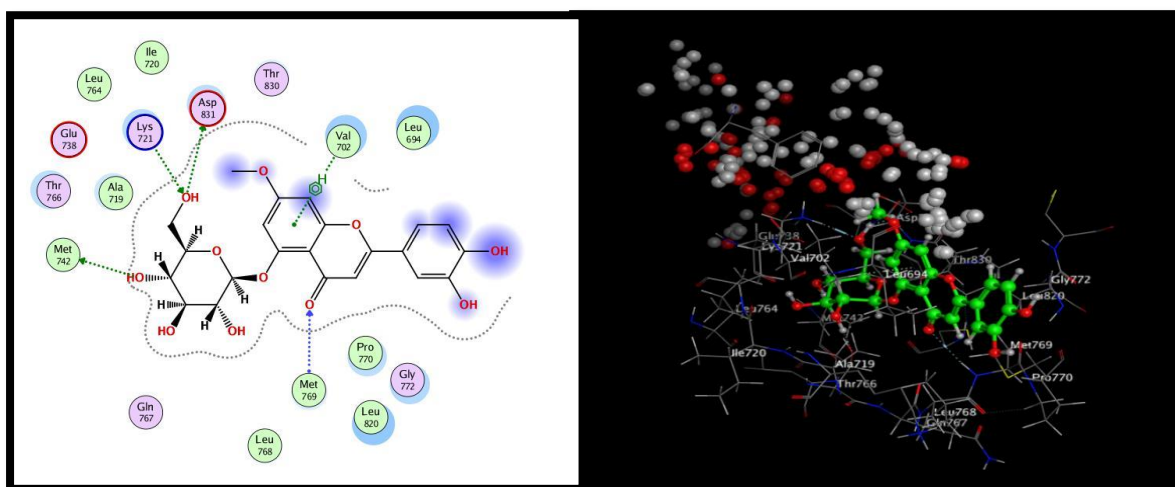
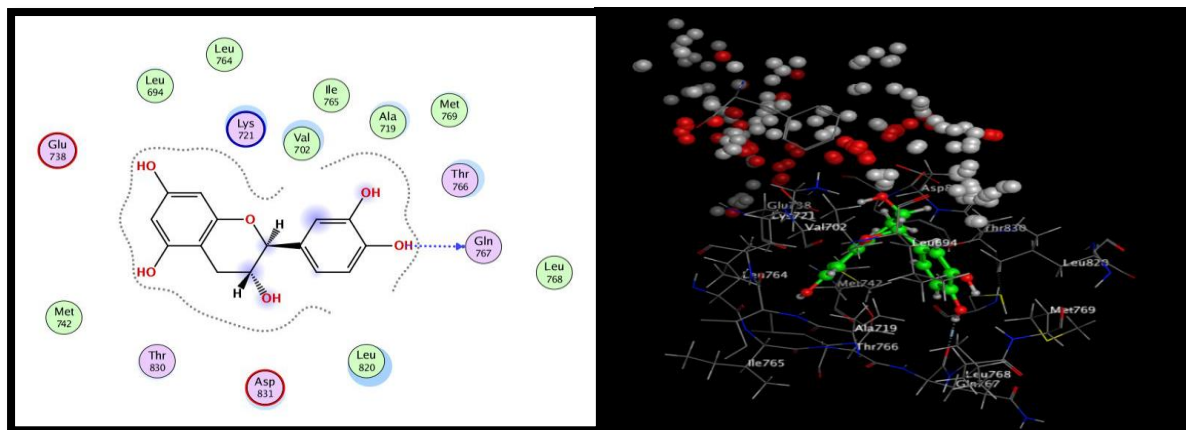


Figure 34 : Les interactions 2D, 3D de yuanhuanin dans le site actif.

## 14. Cathéchine

Numéro 52 dans la liste des ligands, score -6.2645, RMSD 1.410

Interaction de ligand : Gln 767

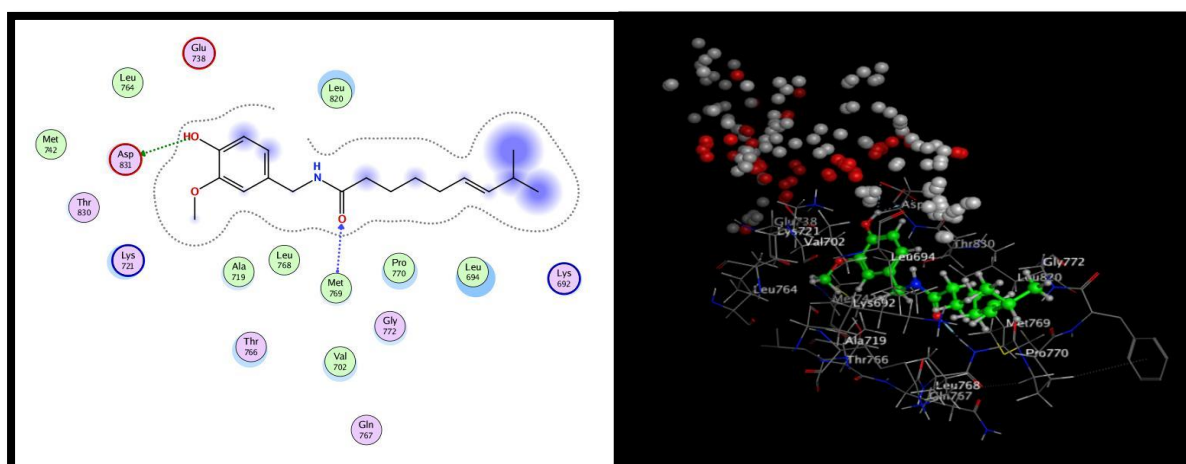


**Figure 35 :** Les interactions 2D, 3D de cathéchine dans le site actif.

## 15. Capsaïcine

Numéro 54 dans la liste des ligands, score -6.2645, RMSD 1.4210

Interaction de ligand : Met 769, Asp 831

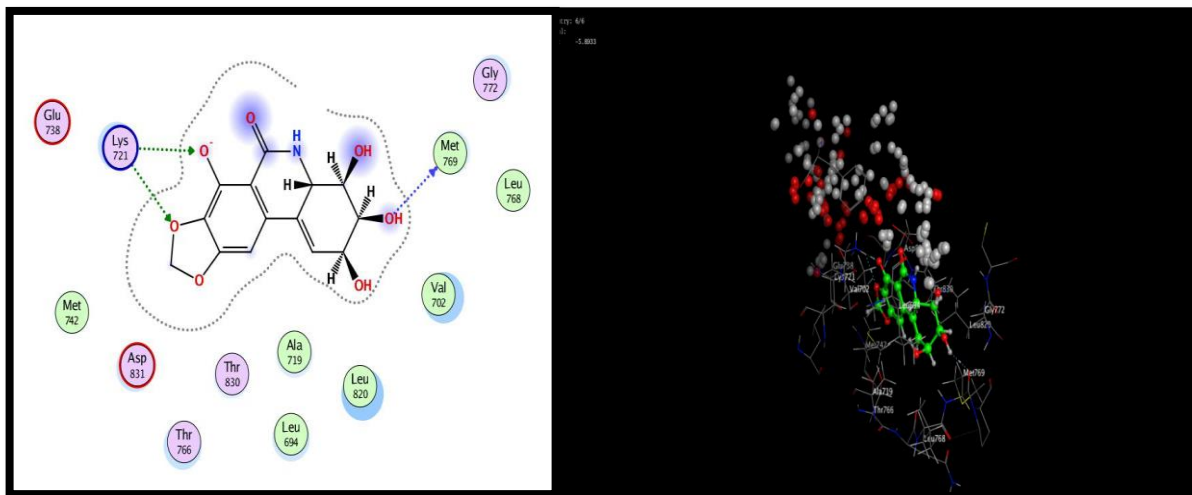


**Figure 36 :** Les interactions 2D, 3D de capsaïcine dans le site actif.

## 16. Narciclasine

Numéro 58 dans la liste des ligands, score -5.8933, RMSD 1.1174

Interaction de ligand : Met 769, Lys 721

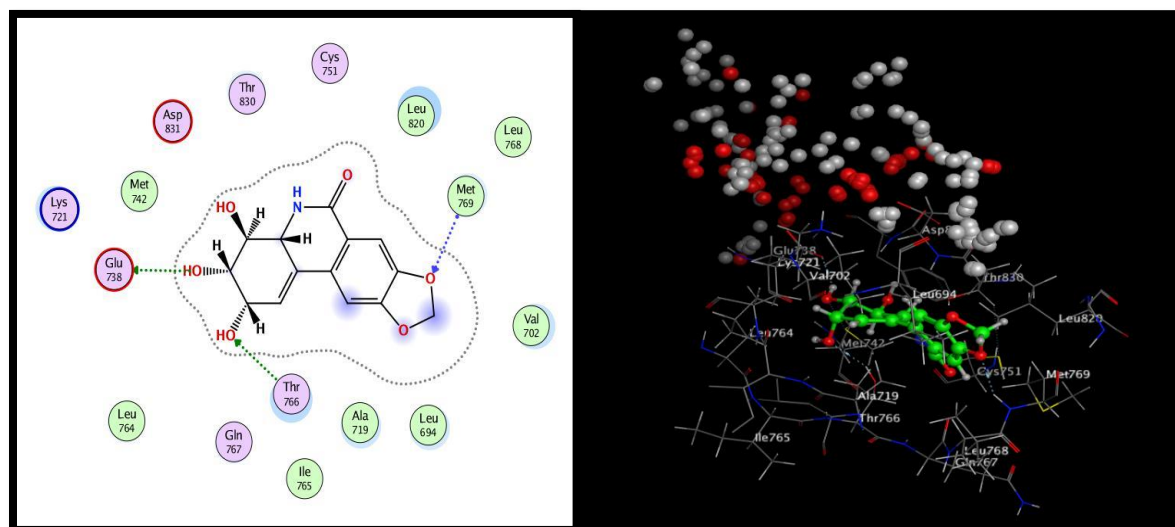


**Figure 37** : Les interactions 2D, 3D de Narciclasine dans le site actif.

## 17. Acide caféique

Numéro 61 dans la liste des ligands, score -5.8933, RMSD 1.1174

Interaction de ligand : Met 769, Glu 738

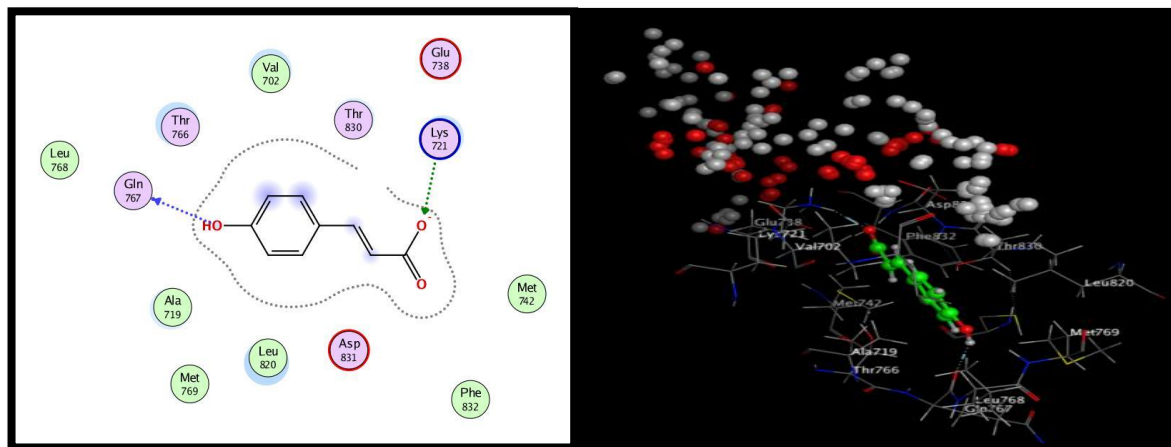


**Figure 38** : Les interactions 2D, 3D d'acide caféique dans le site actif.

### 18. Acide coumarique

Numéro 63 dans la liste des ligands score -4.5638, RMSD 1.1891

Interaction de ligand : Lys 721, Gln 767

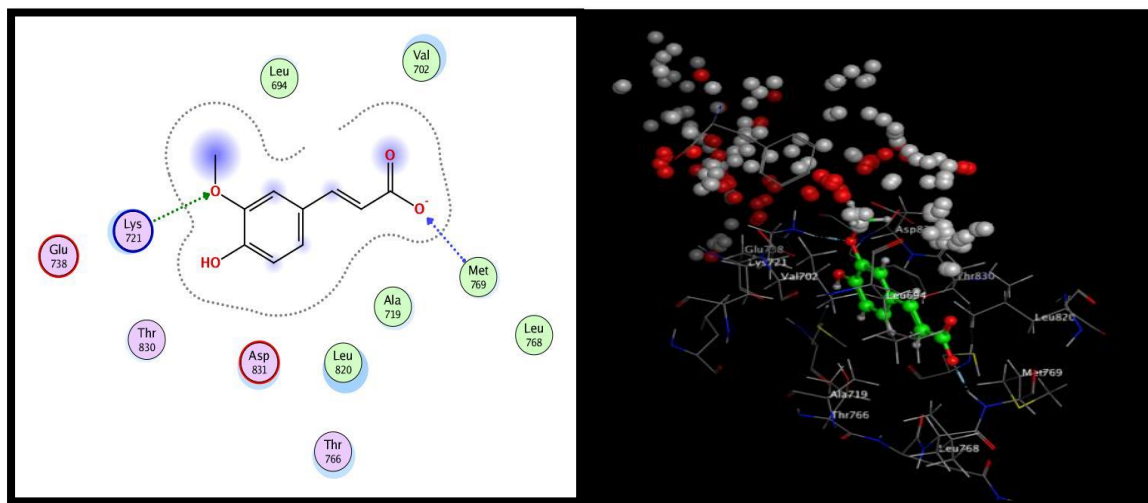


**Figure 39** : Les interactions 2D,3D d'actions coumarique dans le site actif

### 19. Acide férulique

Numéro 66 dans la liste des ligands, score -4.8136, RMSD 0.8005

Interaction de ligand : Met 769, Lys 721

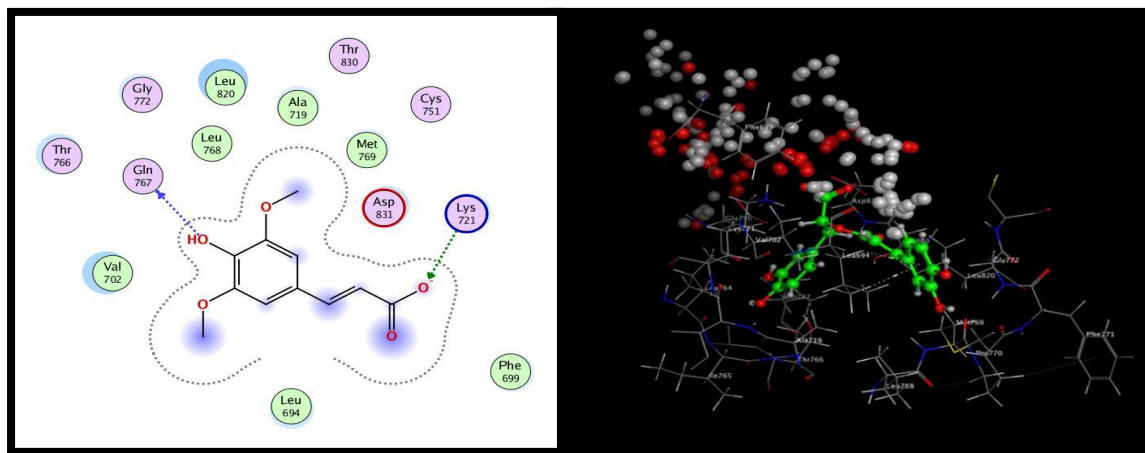


**Figure 40** : Les interactions 2D, 3D d'acide férulique dans le site actif.

## 20. Acide sinapique

Numéro 68 dans la liste des ligands, score -5.1825, RMSD 1.1062

Interaction de ligand : Gln 767, Lys 721



**Figure 41** : Les interactions 2D, 3D d'acide sinapique dans le site actif.

### 3. Filtrage ADME

Après avoir sélectionné de 20 ligands qui répondent aux critères requis dans le Docking moléculaire, nous les soumettons au site SwissADME afin de vérifier leur conformité avec la règle de Lipinski, également connue sous le nom de règle de 5.

Chaque médicament a des critères auxquels il doit répondre, tels son faible coût de production, être soluble, stable. À leur tour, ils doivent se conformer à ses propriétés pharmacologiques comprennent l'absorption, la distribution le métabolisme, l'excrétion et la toxicité, selon la règle de Lipinski, qui détecte si un composé chimique a des propriétés pharmacologiques, pour la règle, un composé a une chance d'être disponible par voie orale s'il répond aux cinq critères suivants :

- La masse moléculaire (MW)  $\leq 500$
- Un coefficient de partition (log P)  $\leq 5$
- Liaison hydrogène donneurs, atomes d'azote ou oxygène avec un ou plusieurs atomes d'hydrogènes (NH ou OH)  $\leq 5$

- Liaison hydrogène accepteurs, atomes d'azote ou oxygène Ni O)  $\leq 10$
- Le nombre de fonctions rotatives (flexibles et linéaires)  $\leq 15$

Parmi les 20 ligands que nous avons examinés dans notre étude, nous avons constaté que 15 d'entre eux respectent les conditions de la règle de Lipinski.

**Tableau 5 : résultat de filtrage ADME**

N°	Ligand	Score	PM (g/mol) ( $\leq 500$ )	Log P ( $\leq 5$ )	Noh.NH ( $\leq 5$ )	nH.N( $\leq 10$ )	Nrotb( $\leq 15$ )
13	Curcumine	-7.4542	368.38.	3.27	2	6	8
18	L'Acide ellagique	-5.4636	302.19	0.79	4	8	0
20	Epigallocatechine	-6.2276	290.27	1.47	5	6	1
22	Eriodyctiol	-6.3752	288.25	1.62	4	6	1
25	Fisetine	-6.0557	286.24	1.50	4	6	1
26	Genkwanin	-5.9676	284.26	2.84	2	5	2
27	Ginkgetin	-7.6133	566.51	3.94	4	10	5
29	Kaempferol	-5.8485	286.24	1.70	4	6	1
30	LicochalconeA	-6.6689	338.40	2.70	2	4	6
31	Luteolin	-5.6169	286.24	1.86	4	6	1
40	Pdophyllotoxine	-7.5129	414.41	2.97	1	8	4
46	Tylophorine	-6.7870	393.48	4	0	5	4
49	Yuanhuanin	-7.7828	462.40	2.25	6	11	5
52	Catechine	-6.7358	290.27	1.33	5	6	1
54	Capsaicine	-7.1500	305.41	3.15	2	3	10
58	Naciclasine	-5.8933	307.26	1.47	5	7	0
61	Acide caféique	-6.2014	180.16	0.97	3	4	2
63	Cordioside	-4.5638	164.16	0.95	2	3	2
66	Acide férulique	-4.8136	194.18	1.62	2	4	3
68	Acide sinapique	-5.1825	224.21	1.63	2	5	4



#### 4. Prédiction de toxicité

Après avoir effectué la prédiction de toxicité pour les 15 molécules sélectionnées suite au filtrage ADME, nous avons choisi la molécule **kaempférol**. Cette décision a été prise en raison de sa  $DL_{50}$  élevée (3919) par rapport à la molécule de référence (Géfitinib). Comme on le sait, plus la  $DL_{50}$  est élevée, moins il y a de toxicité. De plus, cette molécule ne présente aucune forme de toxicité, telle que (l'hépatotoxicité, la cancérogénicité, l'immunotoxicité, la mutagénicité ou la cytotoxicité) (Tableau5). Contrairement aux autres molécules, après avoir comparé le **kaempférol** avec la molécule de référence (Géfitinib) AQ4, nous concluons que la molécule **kaempférol** est meilleure et plus puissant que le géfitinib.

**Tableau 5** : Résultats de prédiction de la toxicité.

N°	Ligand	DL50	Classe	Hépatotoxicité	Cancérogénicité	Immunotoxicité	Mutagénicité	Cytotoxicité
13	Curcumin	2000	4	inactive	inactive	active	inactive	inactive
18	L'acide ellagique	2991	4	inactive	active	inactive	inactive	inactive
22	Eriodyctiol	2000	4	inactive	active	inactive	inactive	inactive
25	Fisétine	159	3	inactive	active	inactive	inactive	inactive
26	Genkwanin	3919	5	inactive	active	inactive	active	inactive
<b>29</b>	<b>kaempférol</b>	<b>3919</b>	<b>5</b>	<b>Inactive</b>	<b>inactive</b>	<b>inactive</b>	<b>inactive</b>	<b>inactive</b>
30	Licochalcone	1000	4	Inactive	Inactive	active	Inactive	Inactive
31	Lutéolin	3919	5	Inactive	active	Inactive	active	Inactive
40	Podophyllotoxin	100	3	inactive	active	active	inactive	active
46	Tylophorine	100	3	inactive	active	active	inactive	active
54	Capsaïcin	47	2	inactive	active	active	active	inactive
61	Acide caféïqie	2980	5	inactive	active	inactive	inactive	inactive
63	Acide coumarique	2850	5	inactive	active	inactive	inactive	inactive
66	Acide rosmorique	1772	4	inactive	inactive	active	inactive	inactive
68	Acide sinapique	1772	4	inactive	inactive	active	inactive	inactive
<b>M.R</b>	<b>AQ4</b>	<b>2000</b>	<b>4</b>	<b>inactive</b>	<b>inactive</b>	<b>active</b>	<b>active</b>	<b>inactive</b>

*M.R : molécule de référence*

*DL<sub>50</sub> en mg/kg*

# *Conclusion et Perspectives*

### Conclusion et perspectives

Les traitements restent très limités en termes de bénéfice à long terme. L'analyse des modifications génétiques et cellulaires de la cellule tumorale devrait améliorer nos connaissances sur la biologie de ce cancer et ouvrir de nouvelles voies pour le développement de stratégies thérapeutiques.

Notre étude avait pour le but essentiel de mettre en évidence des nouveaux inhibiteurs de L'EGFR-TK, utilisant une approche *in silico* par Docking moléculaire, pour cela nous avons choisi le logiciel de MOE.

Dans un premier temps, nous avons réalisé le Docking sur 70 ligands en utilisant le logiciel MOE. Les résultats obtenus nous ont permis de déterminer la meilleure molécule stable formée en appliquant des critères de sélection spécifiques tels que le meilleur score, le RMSD et l'interaction avec les acides aminés clés. Les résultats indiquent que vingt ligands remplissent les conditions requises en termes de score, de RMSD et d'interaction avec les acides aminés clés.

Dans un deuxième temps, nous avons appliqué la règle de Lipinski en utilisant le serveur en ligne SwissADME pour vérifier les propriétés physico-chimiques et les paramètres pharmacocinétiques. Nous avons identifié quinze ligands conformes aux critères de la règle de Lipinski.

Enfin, nous avons effectué des prédictions de toxicité et avons identifié le ligand **Kaempférole** parmi les quinze ligands sélectionnés, qui ne présentent aucun problème de leur utilisation. Cependant, il convient de noter que cette étape représente une phase préliminaire et sera suivie d'une étude expérimentale *in vitro* et/ou *in vivo* pour valider les résultats obtenus *in silico*.

# *Références Bibliographiques*

## *Références Bibliographiques*

### **Références Bibliographiques**

[1] Manon Perez. Les nanomédicaments en oncologie, nouvelles perspectives de traitement et limitations toxicologiques. Sciences pharmaceutiques. Thèse pour le diplôme de docteur en pharmacie, université de Rouen NORMANDIE. Page 7-8.**2020**.

[2] ABDELLI Khadidja, AGOUDJIL Naoufel, BOURENANE Amina. Conception in silico de nouveaux inhibiteurs anti-EGFR en vue d'une application anticancéreuse. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Docteur en Pharmacie, Université Saleh Boubnider Constantine III. Algérie. P1.**2021**.

[3] Okines, Alicia, David Cunningham, and Ian Chau, Targeting the human EGFR family in esophagogastric cancer. Nature reviews Clinical oncology. P492 .**2011**.

[4] Hynes, Nancy E, and Gwen MacDonald. ErbB receptors and signaling pathways in cancer. Current opinion in cell biology. P 177-184. **2009**.

[5] patrick Nicolas. La participation de Dominique Abeillé-pharmacologie et soins infirmiers.p 261.**2007**.

[6] Mélanie Mahé. Caractérisation des voies de signalisation des oncogènes FGFR3 muté et FGFR3-TACC3 dans les carcinomes de vessie. Thèse de Doctorat. Ecole doctorale 418 : de cancérologie. Université paris sud. P 2.**2015**

[7] Hanahan D, Weinberg RA. The Hallmarks of Cancer. Cell. P57-70.**2000**.

[8] Lacour, B). Incidence globale. Épidémiologie Des Cancers de L'enfant. p 31–47.**2009**.

[9] Suzanne c.Smeltzer et Brenda G.Bare. Soins infirmiers Médecine et chirurgie. 5<sup>e</sup>édition p 411.**16 /6/2011**

[10] Bensegueni. A. Mécanismes de la cancérogenèse .Alger.p8.**2009**.

[11] Sharon L.Lwis,Shannon R. Soins infirmiers Médecine et chirurgie, 2<sup>e</sup>édition.France. p 412.**2010**

[12] William C. Hahn, M.D., Ph.D., and Robert A. Weinberg, Ph.D.Rules for Making Human Tumor Cells. **2003**.

[13] Cohen S.Dev Biol. The stimulation of epidermal proliferation by a specific protein (EGF)..**2012**.

[14] Cremoux P, Robert J. Signalisation cellulaire et cancer : caractérisation de cibles thérapeutiques. Pathol Biol. Vol 60 - N° 4. P 218. **03/08/2012**.

[15] BRUNER ET SUDDARTH, Suzannec. Smeltzer et BrendaG. Bare.soins infirmiers Médecine et chirurgie. volume1p418.**2011**.

[17] Manash K. Paul and Anup K. Mukhopadhyay. Tyrosine kinase – Role and significance in Cancer.p 102 . **2004**.

[18] Dhiraj Kumar. Tyrosine kinase and mechanism of activation Receptor.323257819. **2018**.

## *Références Bibliographiques*

- [19] Leslie DUPLAQUET. Implication du récepteur à activité tyrosine kinase (RTK) MET sur la balance survie/apoptose et identification de nouvelles mutations de RTKs dans les cancers colorectaux métastatiques. Thèse de doctorat. Université de Lille .Ecole Doctorale Biologie .santé Institut de Biologie de Lille, UMR8161, Institut pasteur de Lille.2018. P 23. **2018.**
- [20] Manash K. Paul, Anup K. Mukhopadhyay. Tyrosine kinase – Role and significance in Cancer. p 101. **2004.**
- [21] Morad Mustafa, Amar Mirza, and Natarajan Kannan. Conformational regulation of the EGFR kinase core by the juxtamembrane and C-terminal tail: A molecular dynamics study. P 99.**2010.**
- [22] Rachelle Franzen. ETUDE DU ROLE DE L'EGFR DANS LA RÉGULATION DU MÉTABOLISME LIPIDIQUE DES CELLULES DU CANCER DU SEIN TRIPLE NEGATIF. Mémoire de master : en Sciences Biomédicales. Université de Liège. Faculté de médecine.France.p10-11.**2020.**
- [23] SEHIL Medjda, BENABDALLAH Ahlem. Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de la tyrosine kinase EGFR. Mémoire de master : chimie pharmaceutique. Biskra: Université Mohamed Khider de Biskra .p14.**2021.**
- [25] Robert N. Jorissen, Francesca Walker, Normand Pouliot, Thomas P.J. Garrett, Colin W. Ward, and Antony W. Burgess, Epidermal growth factor receptor: mechanisms of activation and signaling. P33.**2003.**
- [26] Jorissen RN, Walker F, Pouliot N, Garrett TPJ, Ward CW, Burgess AW. Epidermal growth factor receptor: mechanisms of activation and signalling. *Exp Cell Res.* 284(1):31-53.**2008.**
- [27] Jean-Yves Blay, les cibles membranaires de la cellule tumorale 1<sup>er</sup> partie . p4-10.**2009.**
- [28] Solange Peters Daniel C. Betticher. Rôle de l'EGFR dans le cancer pulmonaire non à petites cellules. **2009.**
- [30] Brooks, B.R., Bruccoleri, R.E., Olafson, B. D., States, D. J., Swaminathan, S. and Karplus, M. (1983) CHARMM: A program for macromolecular energy minimization and dynamics calculations. *Journal of Computational Chemistry* .**2012.**
- [31] Honey V. Reddi, PhD. Mutations in the EGFR Pathway. *Clinical Laboratory News*.**2013.**
- [32] Jean-yves Blay. Les cibles membranaires de la cellule tumorale. 1<sup>ère</sup> partie.France.p8. **2010.**
- [33] A.-M. Rupperta, M. Wislez, V. Poulot, R. Lacave, M. Antoine, J. Cadranel . Un regard simple sur la biologie du cancer bronchique : EGFR.france.volume 28.p570.**2011.**
- [34] François Martz. Développement d'une nouvelle méthode de docking basée sur les mécanismes enzymatiques et guidée par des groupes prosthétiques. Thèse de doctorat de l'université de Paris Sud. Paris.p31-32 .**2015.**
- [35] Trouillas P. Chapitre 4 - Modélisation Moléculaire et Biologie. Thèse de doctorat en biophysique. Université de Lille. France. 17p.**2009.**

## *Références Bibliographiques*

- [37] Spyraakis F, Cozzini P, Kellogg G. E Docking and Scoring in drug Discovery. *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery*. 2010;48: 601-684.**2010**.
- [38] El Hadji Said K. Contribution à l'étude de l'inhibition d'enzyme par des Tripodes pyrazoliques par modélisation moléculaire. Thèse de Master : Chimie. Tlemcen : université de TLEMCEM. Algérie. p50.**2016**.
- [39] Hamil O., Kara A. Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de la tyrosinase pour le traitement de l'hyperpigmentation de la peau. Mémoire de master en biochimie appliquée, Université des Frères Mentouri, Constantine. Algérie. p12.**2018**.
- [40] Mokrani, E. H. Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation informatique. Thèse de magister d'université : Technologie des explorations biochimiques. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie. p 75.**2012**.
- [41] Bensegueni A. Etude théorique des métabolites secondaires des végétaux et des composés de synthèse sur le plan de l'activité biologique : simulation par docking (arrimage) moléculaire sur la lipoxigénase et la cyclooxygénase. Thèse de doctorat d'université : Biochimie appliquée. Constantine : Université Mentouri de Constantine. Algérie. p76.**2007**.
- [42] SAYEH MEDDOUR Iméne, BENMAGHSOULA Yacine, Modélisation moléculaire et docking moléculaire de l'inhibiteur double COX/LOX.These de master : Bioinformatique. Constantine: Université Frères Mentouri – Constantine 1.Algérie.p5.**2020**.
- [43] Brendan J. McConkey, Vladimir Sobolev and Marvin EdelmanCurrent Science, journal article,The performance of current methods in ligand–protein docking. p845.**2002**.
- [44] Merzoug A. Recherche de nouvelles molécules bioactives par criblage virtuel et applications à l'inhibition du peptide déformylase. Thèse de doctorat, université des frères mentouri, Constantine. Algérie. p 20.**2018**.
- [45] MEGUENANI KARIMA, ZEBILA ASMA. Inhibition in silico de la shikimate 5-Déshydrogénase (aroE) de Helicobacter pylori pour combattre l'ulcère. Master en Biochimie Moléculaire santé. Université Constantine 1. Algérie. 20p.**2014**.
- [46] Thomas W. Shattuck. Colby College Molecular Mechanics Exercises MOE (Molecular Operating Environment) Exercises. P3. **2011**.
- [48] Sunghwan Kim, Paul A. Thiessen, Evan E. Bolton, PubChem Substance and Compound databases,. P 1202–1213.**2016**.
- [49] Qingliang Li, Tiejun Cheng, Yanli Wang, Stephen H. Bryant.PubChem as a public resource for drug discovery.P 1052-1057.**2010**.
- [50] Roumisa NAGHAG, Zoubida NOUIDJI. Activités biologiques de Taxol. MÉMOIRE DE MASTER. Biochimie Appliquée. Université de Biskra. p18.**2021**.
- [53] S. Hemalatha, Molecular Docking of Phytochemicals Targeting GFRs as Therapeutic Sites for Cancer: An in-Silico Study.p218. **2022**.

## *Références Bibliographiques*

[54] N. Latha, in silico studies reveals potential antiviral activity of phytochemicals from medicinal plants for the treatment of COVID-19 infection. p 29. **2020**.

[55] Ayat Ahmed Alrasheid, Mazin Yousif Babiker, Talal Ahmed Awad, Evaluation of certain medicinal plants compounds as new potential inhibitors of novel corona virus (COVID-19) using molecular docking analysis. p2. **2020**.



## *Références Bibliographiques*

### **Site Web**

[16] Disponible sur : [https://www.ca,cer.be/traitement-du\\_cancer](https://www.ca,cer.be/traitement-du_cancer). Consulter le: [03-02-2023].

[24] Disponible sur : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12648469/>.consulté le : [04-03\_2023].

[29] Disponible sur : <https://www. Roche.fr/fr/patients/info-patients-cancer/diagnostic-cancer/diagnostic-cancer-poumon/mutation-egfr.html>.consulté le : [14-03-2023].

[36] Disponible sur : <https://revues.imist.ma/index.php/technolab/article/view/581>. Consulté le: [27-01-2023].

[47] Disponible sur : <https://en.lbsite.org/molecular-operating-environment-moe-v2022-02-x64-2019-102-win-macos/>. Consulter le: [15-04-2023].

[51] Disponible sur : <http://www.swissadme.ch/>.2023. Consulté le : [28-04-2023].

[52] Disponible sur : [https://tox-new.charite.de/prottox\\_II/index.php?site=compound\\_input](https://tox-new.charite.de/prottox_II/index.php?site=compound_input).consulté le [28-04-2023].