

**RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**Ministère De L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université SAAD DAHLAB – BLIDA 1**



**FACULTÉ DE MÉDECINE**  
**DÉPARTEMENT DE PHARMACIE**

**Thèse d'exercice de fin d'études**

**En vue de l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie**

**Intitulée**

**Modélisation moléculaire de potentiels inhibiteurs  
de c-Met et EGFR : Etude comparative  
bibliographique.**

**Présentée par :**

- **AZZOUZ Nourelhouda**
- **OULHAF Karima**

**Encadrée par :**

- **Dr. LACEB Lydia** : Maitre-Assistante en Chimie Thérapeutique

**Devant le jury :**

- **Président : Dr. DJELLOULI Salim** : Maitre-Assistant en Pharmacologie.
- **Examineur : Dr. BAGHLI Nacera Razia**: Maitre-assistante en Pharmacologie.

**Session Septembre 2022**



# REMERCIEMENTS

---

*Au nom d'Allah, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux.*

*D'après Abou Houreira (qu'Allah l'agrée), le Prophète (que la prière d'Allah et Son salut soient sur lui) a dit: « Celui qui ne remercie pas les gens n'a pas remercié Allah ».*

*(Rapporté par Abou Daoud dans ses Sounan n°4811 et authentifié par Cheikh Albani dans sa correction de Sounan Abi Daoud)*

*On remercie Dieu le Tout Puissant de nous avoir donné la santé, la force et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.*

*Tout d'abord, ce travail n'aurait jamais été aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de notre chère promotrice et encadrante Dr. LACEB Lydia, on la remercie infiniment pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant la réalisation de ce travail.*

*Nos remerciements s'adressent également à tout le corps professoral et doctoral et à l'équipe administrative du département de Pharmacie à l'université de Saad Dahlab Blida, pour leur générosité et la grande patience dont ils ont su faire preuve le long de notre parcours universitaire.*

# DÉDICACE

---

*Je dédie ce travail*

*A toute ma famille qui m'a soutenu et encouragé durant mes années d'études.*

*Qu'elle trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance*

*A mes amis, mes collègues et ceux qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotions lors de la réalisation de ce travail. Ils m'ont chaleureusement supporté tout au long de mon parcours*

*A tous ceux que j'aime.*

**Azzouz Norelhouda**

## **Dédicace**

*Je dédie ce travail*

*A mes très chères parents **Ahmed et Zaineb***

*Qui n'ont jamais cessé de formuler les prières à mon égard ,de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs*

*A mes chères **frères** ,et à mes très chères **sœurs***

*Pour leurs soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études*

*A ma chère nièce **Chaimaa***

*A mes chères **amies***

*Pour leurs aides et supports dans les moments difficiles*

*A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment*

**Karima**

# TABLES DES MATIÈRES

---

---

REMERCIEMENTS.....	
TABLE DES MATIÈRES .....	
LISTE DES FIGURES.....	
LISTE D'ABREVIATION .....	
INTRODUCTION GENERALE.....	1

## CHAPITRE I : Cancer et Thérapie Ciblée

<b>I. Généralités sur le Cancer.....</b>	<b>5</b>
1. Définition .....	5
2. Le cancer à travers les siècles.....	5
3. Caractéristiques du cancer.....	6
4. Classification et différents types du cancer.....	8
4.1. Les différents types du cancer.....	8
4.2. Classification des tumeurs solides.....	9
4.3. Classification des cancers hématopoïétiques .....	10
5. Epidémiologie du cancer .....	10
5.1. Incidence et mortalité .....	10
5.2. Facteurs de risque.....	11
6. Mécanismes fondamentaux de la cancérogénèse .....	13
7. Traitements du cancer .....	16
7.1. La chirurgie.....	16
7.2. La radiothérapie .....	16
7.3. La chimiothérapie.....	16
7.4. L'hormonothérapie.....	17
7.5. Les traitements ciblés .....	17
7.6. L'immunothérapie.....	18
<b>II. Thérapie ciblée.....</b>	<b>19</b>
1. Définition .....	19

2. Importance de la thérapie ciblée .....	20
3. Biologie de la thérapie ciblée .....	20
4. Modes d'action .....	21
5. Modalités d'indication .....	22
6. Résistance aux traitements .....	23
7. Les effets indésirables .....	24
8. Perspectives .....	25
9. Les types de la thérapie ciblée .....	25
9.1. Les anticorps monoclonaux .....	26
9.2. Les inhibiteurs de la tyrosine kinase .....	28

## **CHAPITRE II : Protéines Kinases et leurs inhibiteurs**

<b>I. Introduction.....</b>	<b>30</b>
<b>II. Protéines Kinases.....</b>	<b>32</b>
1. Définition .....	32
2. Classification des PKs.....	33
2.1. Kinases classées par les acides aminés qu'elle phosphorylent.....	33
2.2. Kinases classés selon les séquences des domaines catalytiques.....	34
3. Structure des PKs.....	34
3.1. Structure 3D.....	35
3.2. Conformation des PK et mécanismes de régulation .....	35
3.3. Mécanisme de fixation de la molécule d'ATP .....	36
4. Signalisation cellulaire et protéines kinases.....	38
5. Implication des protéines kinases dans le cancer .....	39
6. Les inhibiteurs des protéines kinases .....	40
6.1. Ligand compétitif de l'ATP.....	40
6.2. Ligand compétitif du substrat .....	41
6.3. Développement d'un inhibiteur .....	41
6.3.1. Procédure d'identification d'un inhibiteur.....	41
6.3.2. Affinité d'un inhibiteur.....	42
6.3.3. Sélectivité d'un inhibiteur.....	42
<b>III. Lumière sur la famille des Protéines Tyrosine Kinase (PTKs).....</b>	<b>43</b>

1. Classification .....	43
1.1. Les tyrosines kinases cytosoliques .....	44
1.2. Les Tyrosine Kinases membranaires (RTKs) .....	45
2. Voies de signalisation transduites par les RTKs.....	46
2.1. La voie RAS/MAPK .....	47
2.2. La voie PI3K/PKB .....	48
3. Les inhibiteurs des tyrosines kinases .....	49
3.1. Mécanismes d'action des ITKs .....	49
3.2. Principales cibles thérapeutiques .....	50
3.3. Stratégie multicibles .....	53
3.4. Médicaments inhibiteurs des tyrosines kinases .....	54

### **CHAPITRE III : Généralités sur la Modélisation Moléculaire**

I. Introduction.....	58
II. La modélisation moléculaire .....	58
III. La mécanique quantique .....	59
1. L'équation de Schrödinger .....	59
IV. La mécanique moléculaire .....	60
1. Champ de force.....	61
2. Fonction d'énergie potentielle .....	62
3. Expressions des énergies d'interaction .....	62
3.1. Energie d'interaction entre atomes liés .....	62
3.2. Energie d'interaction entre atomes non liés .....	63
4. Quelques champs de force .....	63
5. Principe de minimisation d'énergie .....	65
V. Méthodes de la Modélisation Moléculaire .....	66
1. Méthode de reconnaissance de repliement « Threading » .....	68
2. Méthodes ab initio et de novo .....	69
3. Modélisation par homologie.....	70
4. Evaluation des méthodes et des modèles .....	71
VI. Molécules sur mesure : Criblage virtuel « <i>In silico</i> », Méthodes et alternatives .....	72
1. Généralités.....	72



2. Criblage virtuel « ligand-based ».....	73
2.1. Recherche de similarité .....	74
2.2. Modèle pharmacophorique « ligand-based ».....	74
2.3. QSAR : Modèle de relations quantitatives Structure-Activité .....	75
2.3.1. 3D-QSAR.....	77
3. Criblage virtuel « structure-based ».....	77
3.1. Les approches pharmacophoriques 3D.....	78
3.2. La conception de novo « novo design ».....	79
3.3. Docking moléculaire .....	80
3.3.1. Docking rigide.....	80
3.3.2. Docking ligand flexible .....	81
3.3.2.1. Les algorithmes de recherche .....	81
3.3.3. Docking ligand semi-flexible.....	86
3.3.4. Scoring .....	87

## **CHAPITRE IV: Etude comparative des potentiels inhibiteurs des kinases c-Met et EGFR**

<b>I.</b> Introduction.....	<b>89</b>
<b>II.</b> Etude comparative entre différents potentiels inhibiteurs de la c-Met .....	<b>90</b>
1. Matériels.....	90
2. Méthodes .....	90
2.1. Objectifs .....	90
2.2. Ligand.....	91
2.3. Dataset .....	91
2.4. Champ de force et minimisation d'énergie .....	92
2.5. L'alignement moléculaire et préparation des structures .....	92
2.6. La modélisation des résidus manquants .....	93
2.7. Docking moléculaire .....	93
2.8. Les analyses coMFA et coMSIA .....	94
2.9. Analyse des moindres carrés partiels (PLS).....	95
2.10. Validation du modèle QSAR.....	95
2.11. La simulation de la dynamique moléculaire.....	95
1.1. Calcul de l'énergie libre de liaison .....	96

3. Résultats .....	96
3.1. Modèle 3D-QSAR et docking moléculaire .....	96
3.2. La simulation de la dynamique moléculaire.....	99
3.3. Résultat final.....	99
4. Discussion et commentaire.....	100
<b>III. Etude comparative entre différents potentiels inhibiteurs d'EGFR .....</b>	<b>101</b>
1. Matériels .....	101
2. Méthodes .....	101
2.1. Objectifs.....	101
2.2. Ligand.....	102
2.3. Dataset et données biologiques .....	103
2.4. Software.....	103
2.5. Champ de force .....	104
2.6. Génération du pharmacophores par QSAR 3D.....	104
2.7. Validation des modèles générés .....	105
2.8. L'alignement moléculaire.....	105
2.9. Génération du modèle pharmacophorique « structure-based » .....	105
2.10. Criblage virtuel .....	106
2.11. Docking moléculaire .....	106
2.12. Calcul d'énergie de liaison .....	107
3. Résultats .....	107
3.1. Génération du modèles pharmacophorique et 3D-QSAR .....	107
3.2. 2D-QSAR.....	109
3.3. Criblage virtuel basé sur le modèle pharmacophorique .....	109
3.4. Résultat final .....	111
<b>IV. Discussion et commentaire .....</b>	<b>112</b>
<b>CONCLUSION GENERALE.....</b>	<b>114</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>115</b>
<b>LES ANNEXES .....</b>	
<b>RESUME .....</b>	

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

---

**1D** : Uni-dimensionnel

**2D**: Bi -Dimensionnels

**3D**: Tri-Dimensionnels

**ABL**: Abelson murine leukemia viral oncogene

**Ac**: Anticorps

**AcMc** : Anticorps Monoclonaux

**ADCC**: Cytotoxicité Cellulaire Dépendante des Anticorps

**ADME** : Absorption, Distribution, Métabolisme et Elimination

**ADN** : Acide Desoxyribo Nucleique

**AGC** : Protéines kinases A, G et C

**AMBER**: Assisted Model Building with Energy Refinement

**ANSM** : Agence Nationale de Sécurité du Médicament

**ARN**: Acide Ribo Nucleique

**aPK** : Atypical Protein Kinase

**ATP**: Adénosine TriPhosphate

**BCR**: Breakpoint Cluster Region

**CAMK**: Calcium/calmodulin-dependent protein Kinase

**CASP**: Critical Assessment of Structure Prediction

**CBNPC** : Cancer Bronchique Non à Petites Cellules

**CK1**: Casein Kinase 1

**CPH**: Common Pharmacophore Hypothesis

**COMPASS**: Condensed-phase Optimized Molecular Potentials for Atomistic Simulation Studies

**CVFF:** Consistent Valence Force Field

**CoMFA :** Comparative Molecular Field Analysis

**CoMSIA:** Comparative Molecular Similarity Indices Analysis

**CMGC:** CDK, MAPK, GSK3, CLK

**c-KIT:** v-kit Hardy-Zuckerman 4 feline sarcoma viral oncogene homolog

**c-Met:** Mesenchymal-epithelial transition factor

**DYLOMMS:** Dynamic Lattice-Oriented Molecular Modeling System

**ePK :** Eukaryotic Protein Kinase

**EMA:** European Medicines Agency

**EMO:** Energy of Molecule

**FRET:** Fluorescence Resonance Energy Transfer

**FKHR:** Forkhead Homolog of Rhabdomyosarcoma

**FKHR:** Forkhead Homolog of Rhabdomyosarcoma

**Flt-3:** Fms Related Tyrosine Kinase 3

**GSK-3 :** glycogen synthase kinase-3

**GROMOS:** Groningen Molecular Simulation Program Package

**GIST :** Tumeur Stromale Gastro Intestinale

**GDT\_TS:** Global Distance Test Total Score

**HGF:** Hepatocyte Growth Factor

**HTS:** High-Throughput Screening/ Criblage Haut Débit

**HEGFR:** Human Epidermal Growth Factor Receptor

**HER:** Human Epidermal Receptor

**HTVS:** Haut Throughput virtual Screening / Criblage virtuel à haut debit

**INSP :** Institut National de Santé Publique

**INC:** Institut National du Cancer

**ITK:** Inhibiteurs Tyrosine Kinase

**IR:** InfraRouge

**IRS:** Insulin Receptor Substrate

**kNN-MFA:** k-nearest neighbour molecular field analysis

**LMC:** Leucémie Myéloïde Chronique

**LAL :** Leucémie Myéloïde Lymphoblastique

**LH-RH:** Luteinising Hormone-Releasing Hormone

**LFO:** Leave-Five-Out

**LOO:** Leave-One-Out

**MOE:** Molecular Operating Environment

**MLR :** Régression Linéaire Multiple

**MMGBSA :** Molecular Mechanics Generalized Born Surface Area

**mTOR :** mammalian Target Of Rapamycin

**nRTK:** Non-Récepteurs Tyrosine Kinases

**nM :** nanoMolle

**NK:** Natural Killer

**OMS :** Organisation Mondiale de la Santé

**ONC:** Nombre Optimal des Composants

**OPLS:** Optimal Potential for Liquid Simulation

**PK:** Protéine Kinase

**PH:** Pleckstrin homology

**PI:** Phosphatidylinositol

**PDK1:** Phosphoinositide-Dependent Kinase-1

**PTK:** Protéine Tyrosine Kinase

**PCA :** Principe Composant Analysis

**PDB:** Protein Data Bank

**PDGFR:** Platelet Derived Growth Factor Receptor

**PCR :** Régression en Composantes Principales

**PLS :** partielle des moindres carrés

**PBVS:** Pharmacophore based virtuel screening

**PLP:** Piecewise Linear pairwise Potential

**Ph:** Philadelphie

**QSAR :** Modèles de relations quantitatives structure-activité

**RTK :** Récepteurs Tyrosine Kinases

**RMSD:** Root Mean Square Deviation

**R&D :** Recherche et Développement

**RD-QSAR:** «Receptor Dependent » Modèles de relations quantitatives structure-activité

**RX :** Rayon X

**RMN:** Résonance Magnétique Nucléaire

**SH2:** SRC homology 2

**SH3:** SRC homology 3

**SPASIBA:** Spectroscopic Potential Algorithm for Simulating bimolecular Conformational  
Adaptability

**SCF :** Stem Cell Factor

**SP:** Standard Precision

**SAR :** Structure-Activity Relationship / relation structure-activité

**SBP:** Structure-Based Pharmacophore

**Ser/Thr:** Sérine/Thréonine

**TK:** Tyrosine Kinase

**TKL:** Tyrosine Kinase-Like

**TC:** Coefficient de Tanimotio

**TNM :** Tumor, Node, Mestastasis

**VEGFR:** Vascular Endothelial Growth Factor Receptor

**UV:** Ultra-Violet

**XP:** Extra Precision

# LISTE DES FIGURES

---

---

## CHAPITRE I

---

---

<b>Figure 1 :</b> Les six caractéristiques du cancer.....	<b>7</b>
<b>Figure 2 :</b> les caractéristiques émergentes et favorables du cancer.....	<b>8</b>
<b>Figure 3 :</b> Proportion des cancers liés aux principaux facteurs de risque.....	<b>13</b>
<b>Figure 4 :</b> Les étapes de la cancérisation .....	<b>15</b>
<b>Figure 5 :</b> Classification des médicaments anticancéreux et périmètre de la médecine de précision.....	<b>18</b>
<b>Figure 6 :</b> Mécanisme de la chimiothérapie .....	<b>21</b>
<b>Figure 7 :</b> Mécanisme de la thérapie ciblée .....	<b>21</b>
<b>Figure 8 :</b> Les différents niveaux de blocage des thérapies ciblées .....	<b>22</b>
<b>Figure 9 :</b> Résistance aux traitements de la thérapie ciblée .....	<b>23</b>
<b>Figure 10 :</b> Structure chimérique des anticorps monoclonaux (AcMc).....	<b>26</b>

## CHAPITRE II

---

---

<b>Figure 11 :</b> Représentation de l'ensemble du kinôme humain .....	<b>31</b>
<b>Figure 12 :</b> Le processus de phosphorylation des protéines kinases .....	<b>32</b>
<b>Figure 13 :</b> Les sept principales familles dans le kinôme humain.....	<b>34</b>
<b>Figure 14 :</b> Architecture d'une protéine kinase prototypique.....	<b>35</b>
<b>Figure 15 :</b> Le Modèle du site de liaison à l'ATP des protéines kinases.....	<b>38</b>



<b>Figure 16</b> : Représentation des familles de PTK cytosolique ou nRTK .....	<b>45</b>
<b>Figure 17</b> : Structure des différentes sous-familles de RTK connues chez l'homme .....	<b>46</b>
<b>Figure 18</b> : Voie des MAP kinases : activation intranucléaire, rôle dans la croissance et la différenciation.....	<b>47</b>
<b>Figure 19</b> : Voie de signalisation initiée par PI-3 K .....	<b>48</b>
<b>Figure 20</b> : Mode d'action des inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK) .....	<b>49</b>
<b>Figure 21</b> : Voies de signalisation en aval des récepteurs de la famille des HER.....	<b>51</b>
<b>Figure 22</b> : La distribution de molécules administrables oralement, ciblant des protéines kinases dans les différentes étapes de développement d'un médicament .....	<b>54</b>
<b>Figure 23</b> : La chronologie des découvertes importantes sur les protéines kinases et le développement d'inhibiteurs .....	<b>55</b>

---

### CHAPITRE III

---

<b>Figure 24</b> : Représentation mécanique d'une structure moléculaire .....	<b>61</b>
<b>Figure 25</b> : Décomposition énergétique classique d'un champ de force .....	<b>63</b>
<b>Figure 26</b> : Représentation de conformations initiales et finales sur une hypersurface d'énergie potentielle.....	<b>66</b>
<b>Figure 27</b> : Méthodes de détermination de la structure 3D des protéines : identités de séquence requises avec les structures supports, niveaux de résolution et applications .....	<b>68</b>
<b>Figure 28</b> : Classification des méthodes de criblage virtuel « ligand-based » et « structure-based » .....	<b>73</b>
<b>Figure 29</b> : Schéma général des différentes étapes d'une étude QSAR .....	<b>76</b>
<b>Figure 30</b> : Principales étapes de l'élucidation d'un pharmacophore .....	<b>78</b>
<b>Figure 31</b> : Représentation schématique des étapes principales d'une conception de novo .....	<b>79</b>

<b>Figure 32</b> : Schéma illustrant le principe de « lock and key » d'Emile Fisher.....	<b>80</b>
<b>Figure 33</b> : Principe du docking rigide illustré par le logiciel Dock.....	<b>81</b>
<b>Figure 34</b> : Illustration de la méthode de recherche exhaustive employée par EUDOC	<b>82</b>
<b>Figure 35</b> : Schéma illustrant la méthode de Monte-Carlo.....	<b>84</b>
<b>Figure 36</b> : Schéma illustrant la méthode utilisant les algorithmes génétiques.....	<b>85</b>
<b>Figure 37</b> : Schéma illustrant la méthode de recherche tabou.....	<b>86</b>

---

## CHAPITRE IV

---

<b>Figure 38</b> : Alignement moléculaire basé sur les conformations de docking. A) Alignement dans la poche de liaison ; B) Résultats de l'alignement pour les 78 composés des ensembles d'apprentissage et de test .....	<b>97</b>
<b>Figure 39</b> : (A) La meilleure conformation dockée du ligand re-docké (vert) se superpose au ligand co-cristallin (magenta), (B) Résultats du docking de tous les composés de l'ensemble de données dans le site de liaison de c-Met.....	<b>98</b>
<b>Figure 40</b> : La représentation dockée du composé 32 le plus actif à l'intérieur de la poche de liaison de la c-Met.....	<b>98</b>
<b>Figure 41</b> : L'alignement des composés de l'ensemble d'entraînement basé sur un modèle pharmacophorique commun .....	<b>108</b>
<b>Figure 42</b> : Le modèle pharmacophore 3D QSAR Hypo1 des inhibiteurs de l'EGFR. (A) Caractéristiques pharmacophore du modèle Hypo1 (B) Le composé le plus actif BDBM3297 et le composé le plus inactif BDBM3269 mappés et mis en correspondance avec le modèle Hypo1 Le modèle pharmacophore 3D QSAR Hypo1 des inhibiteurs de l'EGFR. (A) Caractéristiques pharmacophore du modèle Hypo1 (B) Le composé le plus actif BDBM3297 et le composé le plus inactif BDBM3269 mappés et mis en correspondance avec le modèle Hypo.....	<b>109</b>
<b>Figure 43</b> :	
<b>Figure 44</b> : Stratégie de criblage virtuel réalisée dans cette etude .....	<b>110</b>

# INTRODUCTION GENERALE

---

Le corps est composé des milliers de milliards de cellules regroupées pour former les tissus et les organes. Les gènes présents dans le noyau de chaque cellule lui indiquent quand se développer, travailler, se diviser et mourir. En temps normal, nos cellules suivent ces directives et nous restons en santé. Mais lorsque notre ADN est modifié ou endommagé, un gène peut subir une mutation. Les gènes mutés ne fonctionnent pas correctement parce que les directives dans leur ADN sont confuses. Ainsi, les cellules qui devraient se reposer pourraient se diviser et croître de façon désordonnée, ce qui peut mener au cancer.

Le mot « cancer » est un terme générique désignant un large groupe de maladies pouvant toucher n'importe quelle partie de l'organisme. Il est à l'origine de près de 10 millions de décès en 2020. Le cancer est l'une des principales causes de mortalité dans le monde.

Avec la découverte des oncogènes et les progrès fulgurants de la génomique des cancers, les chercheurs ont avancé considérablement dans la compréhension des mécanismes à l'origine des cancers et ils ont pu développer les premières thérapies ciblées, la prise en charge des cancers a été bouleversée.

Depuis l'avènement, ces dernières années, des traitements dits personnalisés, une nouvelle ère contre le cancer s'est ouverte. Il s'agit de « la thérapie ciblée » qui désigne un groupe de médicaments relativement récents qui interviennent de manière sélective dans certains processus cellulaires tumoraux. Ces médicaments bloquent la croissance de la tumeur ou en ralentissent le métabolisme. Ils exploitent des caractéristiques particulières à l'intérieur ou à la surface des cellules cancéreuses qu'ils utilisent comme points d'attaque (*targets*) ; ils ne sont donc efficaces que si ces caractéristiques sont présentes dans les cellules cancéreuses de la personne traitée.

Les Tyrosine Kinases sont impliqués dans le dialogue au sein des tissus par la régulation de nombreuses réponses cellulaires dont la survie, la prolifération ou la mobilité. Dans les cancers, ces récepteurs sont fréquemment dérégulés notamment par des mutations activatrices.

Ainsi, la suractivation des RTKs induit la transformation cellulaire et la tumorigenèse en favorisant par exemple la survie cellulaire. Depuis le début des années 2000, le développement de molécules inhibitrices de l'activité tyrosine kinase (TKI) et d'anticorps bloquant l'interaction ligand/récepteur ont montré que les RTKs représentent des cibles thérapeutiques majeures dans le traitement des cancers (5) et c'est la deuxième classe de la thérapie ciblée après les anticorps monoclonaux.

Le médicament semble aussi vieux que l'humanité. L'homme a de tout temps cherché des moyens de se protéger de la souffrance et de la mort (6). Traditionnellement, les médicaments ont été découverts grâce à la recherche de produits naturels et les bibliothèques chimiques de molécules synthétiques biologiquement actives. Par conséquent, le processus de la découverte de médicaments est un processus long et coûteux. De nos jours et avec l'utilisation des méthodes informatiques dans ce domaine le processus de découverte de médicament réduit temps et coût.

Actuellement, La conception de médicament à l'aide d'un outil informatique connu sous le nom de la conception de médicament assisté par ordinateur ou en anglais Computer Aided Drug Design ou la conception « *in silico* », joue un rôle très important dans la conception des médicaments mise sur le marché et surtout dans les pays développés. Le domaine du « drug design » ou « conception de médicaments » peut être exploré par la modélisation moléculaire et la conception de nouvelles molécules à l'aide des outils informatiques.

La modélisation moléculaire implique l'utilisation de méthodes de calcul théoriques (mécanique moléculaire, dynamique moléculaire, mécanique quantique *ab initio* ou semi-empirique...) permettant de déterminer la représentation graphique de la géométrie ou de la configuration des atomes d'une molécule et d'évaluer les propriétés physico-chimiques associées. Les objectifs de la modélisation moléculaire sont principalement : la visualisation infographique et dessin des molécules à partir de données structurales, l'obtention d'informations sur les mouvements dynamiques des molécules et sur leurs énergies et la prédiction qualitative des propriétés des molécules.

Le principal objectif de cette étude est de comparer entre les résultats obtenus sur le développement de nouveaux inhibiteurs des tyrosines kinases c-Met et EGFR avec une meilleure activité et une sélectivité optimisée.

Ce manuscrit est constitué de quatre (4) chapitres :

Le premier chapitre sera consacré à une mise point sur le cancer et la thérapie ciblée. Nous aborderons en premier lieu des généralités sur le cancer, et dans la deuxième partie du chapitre, on étalera tout sur la thérapie ciblée : son importance, sa biologie, son mode d'action, sa modalité d'indication, sa résistance aux traitements, ses effets indésirables et enfin ses différents types.

Dans un second chapitre, on s'intéressera aux protéines kinases et particulièrement aux tyrosines kinases en présentant un aperçu théorique général et

Le troisième chapitre sera dédié aux différentes méthodes de la modélisation moléculaire ainsi qu'au criblage virtuel et les méthodes dites « *in silico* » qui sont les outils utilisés dans notre travail.

Quant au quatrième chapitre, il rapporte une étude comparative entre différentes études faites pour développer de nouveaux potentiels inhibiteurs des tyrosines kinases c-Met et EGFR que leur surexpression était manifestée dans plusieurs cancers humains.

Enfin, nous clôturons ce travail par une conclusion générale.

## *CHAPITRE I*

### *Cancer et thérapie ciblée*

*Il ne sert à rien de dire ‘ Nous avons fait de notre mieux’. Il faut réussir à faire ce qui est nécessaire.*

**-Winston Churchill-**

## I. Généralités sur le Cancer

### 1. Définition

Le cancer, appelé également néoplasme ou tumeur maligne est défini par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme : « un grand groupe de maladies pouvant toucher n'importe quelle partie de l'organisme ». Le cancer est provoqué par la transformation de cellules qui deviennent anormales et prolifèrent de façon excessive. Le processus durant lequel une cellule normale développe les caractéristiques d'une cellule cancéreuse est appelée cancérogenèse. Il s'agit d'un processus multi-étapes et progressif, qui s'étend sur plusieurs années, voire décennies avant d'être détectable cliniquement (1).

Ces cellules finissent par former une masse appelée tumeur, celle-ci peut être cancéreuse – tumeur maligne – ou non – tumeur bénigne. Des cellules peuvent se détacher de la tumeur, migrer par l'intermédiaire des vaisseaux sanguins et lymphatiques, puis envahir les tissus voisins et essaimer dans d'autres organes. On parlera alors de métastases. Chaque catégorie de cancer a ses caractéristiques propres (1).

### 2. Le cancer à travers les siècles

Les maladies cancéreuses existaient déjà il y a 4 000 à 5 000 ans, comme en témoignent les travaux réalisés sur les momies de l'Egypte pharaonique (2). On parle également du cancer sur des tablettes recouvertes de caractères cunéiformes de la bibliothèque de Ninive. On le rencontre encore lors de la découverte de monuments funéraires étrusques ou sur des momies péruviennes (3).

On peut dater de la fin du V<sup>e</sup> siècle avant le Christ les premières notions de cancérologie. Elles sont dues à Hippocrate (2). Il a été le premier à comparer le cancer à un crabe par analogie à l'aspect des tumeurs du sein lorsqu'elles s'étendent sur la peau. En effet, la tumeur est centrée par une formation arrondie entourée de prolongements en rayons semblables aux pattes d'un crabe (2).

Pour Hippocrate le cancer est une maladie systémique due à un déséquilibre des humeurs dans le corps. Galien a poussé cette théorie plus avant en écrivant que le cancer était lié à un excès de bile noire qui ne s'évacuait pas (4).

Au milieu du XIXe siècle, l'étude des cancers prend un nouveau tournant. La conception de la maladie évolue et le cancer commence à être perçu comme relevant d'une multiplication désordonnée des cellules. Deux courants s'opposent, l'un prônant des méthodes palliatives, l'autre des mesures curatives. La chirurgie était alors l'intervention curative principale, mais cependant, malgré l'utilisation de la chirurgie, certains cancers récidivaient (1).

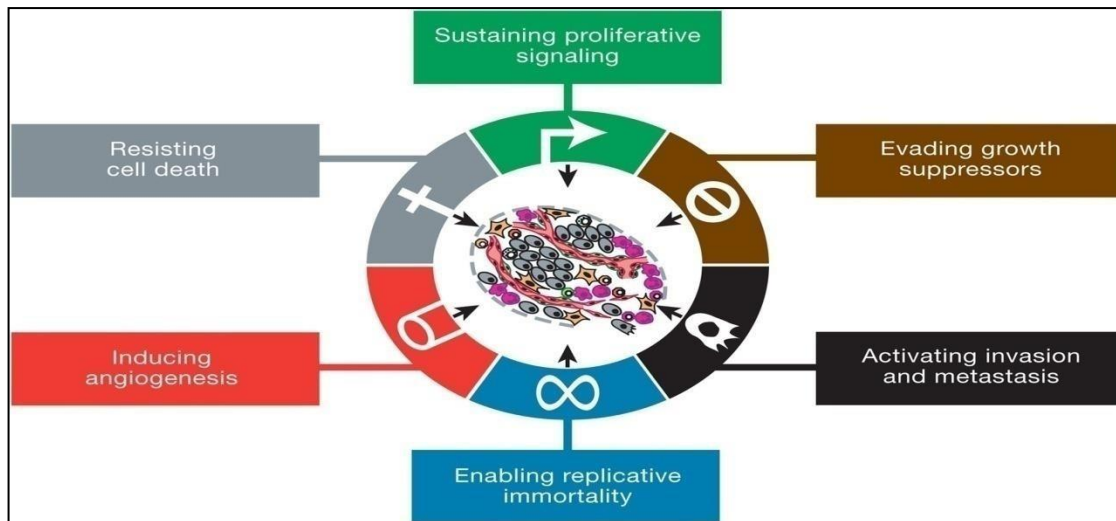
### 3. Caractéristiques du cancer

L'enjeu majeur de la recherche sur le cancer est de comprendre comment neutraliser les mécanismes de survenue des cancers et de les déjouer. Après des longues années de recherche, il s'est avéré que tous les cancers sont constitués de cellules ayant pratiquement les mêmes caractéristiques essentielles, bien qu'ils proviennent de différents types de tissus et de cellules (5).

Ces caractéristiques comprennent six capacités biologiques acquises au cours du développement multi-étape des tumeurs humaines, en constituant un principe d'organisation permettant de rationaliser la complexité de cette maladie néoplasique. Ils comprennent (5,6) :

- La génération des signaux de croissance ;
- L'insensibilité aux signaux anti-croissance ;
- L'immortalité répliquative non contrôlée ;
- La suppression de l'apoptose ;
- L'induction de l'angiogénèse ;
- L'évasion de la prédation immunitaire et l'invasion des tissus.





**Figure 1** : Les six caractéristiques du cancer (6).

En effet, l'invasion tissulaire locale (organe siège du cancer), locorégionale (les organes avoisinants) permet la croissance de la masse cancéreuse. La dissémination des cellules cancéreuses par voie hématogène (sanguine) conduit à des métastases. La niche écologique de tous ces cancers est celle d'un «parasite endogène», qui signifie des cellules parasites dérivées de cellules normales, qui est rapidement devenu l'un des rares cadres d'organisation à imposer l'ordre sur la diversité déconcertante du cancer (7).

Les progrès conceptuels réalisés par Hanahan et Weinberg, au cours de la dernière décennie, ont permis d'ajouter à la liste précédente deux nouvelles caractéristiques émergentes potentiellement impliquée dans la pathogenèse du cancer. La première implique la capacité de modifier, ou de reprogrammer, le métabolisme cellulaire afin de soutenir plus efficacement la prolifération néoplasique : c'est la déréglementation du métabolisme énergétique cellulaire. Quant à la deuxième caractéristique, c'est la panne de la destruction immunitaire (5).

En outre, deux caractéristiques conséquentes de la néoplasie facilitent l'acquisition des caractéristiques principales et émergentes, il s'agit de (5) :

- L'instabilité génomique et donc la mutabilité confèrent aux cellules cancéreuses des altérations génétiques qui favorisent la progression tumorale ;
- Inflammation favorisée par une tumeur.

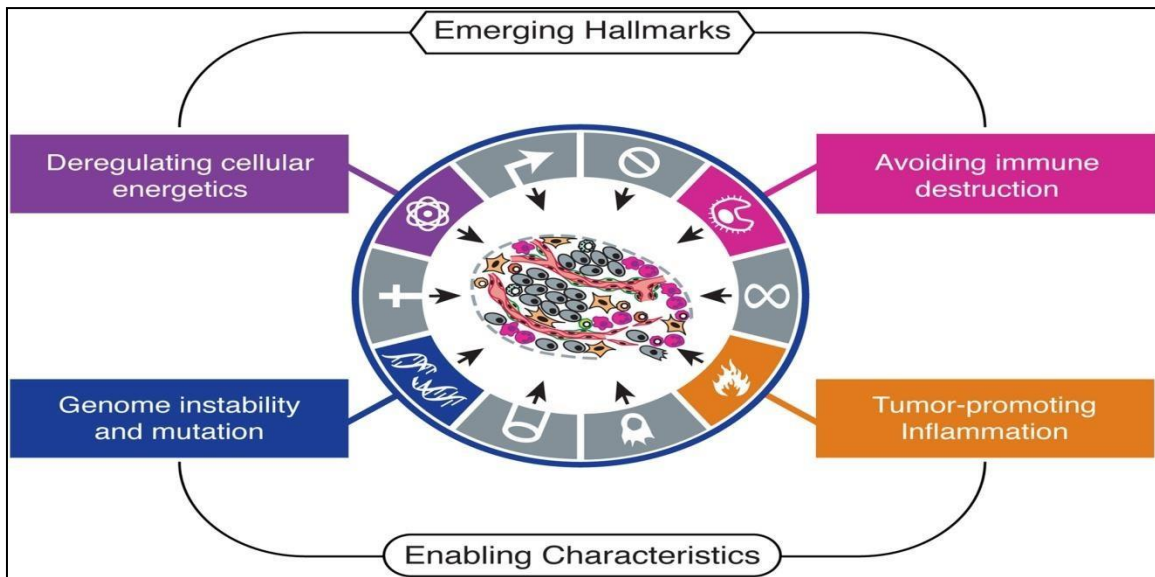


Figure 2 : les caractéristiques émergentes et favorables du cancer (5).

#### 4. Classification et différents types du Cancer

##### 4.1. Les différents types du cancer

Sur le plan médical, le mot « cancer » désigne un groupe de maladies très différentes les unes des autres. C'est pourquoi on ne devrait pas parler du cancer, mais des cancers, au pluriel. Il existe plusieurs types de cancer (8).

Les différents types de cancers sont déterminés en fonction de l'histologie, autrement dit la nature du tissu dans lequel ils se développent.

Ainsi, on distingue (8) :

- **Les carcinomes** : les cellules cancéreuses apparaissent dans un épithélium, c'est-à-dire un tissu recouvrant les surfaces internes (tissu de revêtement des organes) ou externes (épiderme, par exemple) ;
- **Les sarcomes** : les cellules cancéreuses apparaissent dans un tissu « de support » comme les os, la graisse ou les muscles. On parle d'ostéosarcomes (sarcomes

des os), de liposarcomes (sarcomes des tissus graisseux) et de rhabdomyosarcomes (sarcomes des muscles striés) ;

- **Les cancers hématopoïétiques** : les cellules cancéreuses apparaissent dans la moelle osseuse qui fabrique les cellules du sang (globules rouges et blancs et plaquettes) et leurs précurseurs. Elles peuvent également apparaître dans les autres organes lymphoïdes (thymus, ganglions lymphatiques, rate, amygdales...). Il existe trois familles de cancers hématologiques : les leucémies, les myélomes et les lymphomes.

### 4.2. Classification des tumeurs solides

Pour déterminer le stade du cancer, les médecins s'appuient le plus souvent sur un **système international de classification appelé TNM** (Tumor, Node, Mestastasis), fondé sur :  
(8)

- La taille de la tumeur (T) ;
- l'atteinte ou non des ganglions lymphatiques par des cellules cancéreuses (N, de l'anglais Node qui signifie ganglion) ;
- La présence ou non de métastases dans d'autres parties du corps (M).

Il existe 5 stades différents, numérotés de 0 à IV. La détermination des stades varie selon le type de cancer. On distingue (8) :

- le stade 0 qui correspond à une tumeur dite *in situ* ;
- le stade 1 qui correspond à une tumeur unique et de petite taille ;
- le stade 2 qui correspond à un volume local plus important ;
- le stade 3 qui correspond à un envahissement des ganglions lymphatiques ou des tissus avoisinants ;
- le stade 4 qui correspond à une extension plus large dans l'organisme sous forme de métastases.

### 4.3. Classification des cancers hématopoiétiques

Pour ces cancers, chaque type de cancer a sa propre classification. Par exemple, pour le myélome multiple, c'est la classification de Durie-Salmon qui est utilisée. Elle détermine 2 stades, A et B, en fonction du dosage de certains éléments dans le sang et des radiographies du squelette. (8)

## 5. Epidémiologie du Cancer

Le cancer est un problème de santé publique en nette progression à travers le monde. Toutes les catégories de la population sont touchées quelque soit l'âge, le sexe, ou le niveau socio-économique. Il figure donc parmi les principales causes de morbidité et de mortalité dans le monde et représente le plus important obstacle à l'augmentation de l'espérance de vie dans tous les pays du monde au 21<sup>ème</sup> siècle (9).

### 5.1. Incidence et mortalité

#### A. Dans le monde

Le cancer est un problème de santé publique majeur dans le monde. Avec une incidence de 19 millions cas et de 10 millions de décès en 2020, il représente la deuxième cause de mortalité dans le monde (10). 70 % de ces décès surviennent dans les pays à revenu faible ou intermédiaire, et près d'un tiers est dû au tabagisme qui est le principal facteur de risque de survenue d'un cancer ; à un environnement malsain, à un indice élevé de masse corporelle, à une consommation d'alcool, à une faible consommation de fruits et légumes, ou à un manque d'exercice physique (11).

C'est la première cause de décès chez l'homme et la deuxième chez la femme après les maladies cardio-vasculaires (12).

En 2020, les hommes étaient les plus touchés par le cancer à travers le monde avec une incidence standardisée par l'âge de 222/100 000 habitants contre 186/100 000 habitants pour les femmes. Le risque de développer un cancer avant l'âge de 75 ans est de 22,6 pour les hommes et de 18,6 pour les femmes (13).

A l'horizon 2030, il est prévu que le nombre de décès par cancer dans le monde s'élève à 13.1 millions (14).

### **B. En Algérie**

L'Algérie connaît depuis 1990, une transition démographique et épidémiologique importante marquée par un vieillissement progressif de la population et une augmentation des incidences de maladies non transmissibles tel que le cancer qui est passé de 27 775 cas en 2000 à 48 000 cas en 2013 (14), pour atteindre une incidence de 58 418 nouveaux cas en 2020 (13).

L'enquête nationale réalisée en 2004 par l'institut national de santé publique (INSP) sur l'incidence et la prévalence des cancers relevait que seul un tiers des cancers était diagnostiqué à un stade précoce, les deux tiers restants l'étant à des stades invasifs et métastatiques (14).

Selon les données épidémiologiques du réseau de l'Est et du Sud-est Algérien (2014-2017), la répartition par sexe montre que : chez la femme, le taux brut d'incidence de cancers est de 162,9 pour 100 000 habitants, avec un taux standardisé de 195,4 pour 100 000 habitants, le cancer du sein occupe la première place, suivi du cancer colorectal, du cancer de la thyroïde, de l'estomac et du col utérin. Chez l'homme le taux brut d'incidence est de 123,6 pour 100 000 habitants, avec un taux standardisé de 159,8 pour 100 000 habitants. Les cancers dont l'incidence est la plus élevée chez l'homme sont les cancers du poumon, les cancers du côlon-rectum, les cancers de la prostate et de la vessie (15).

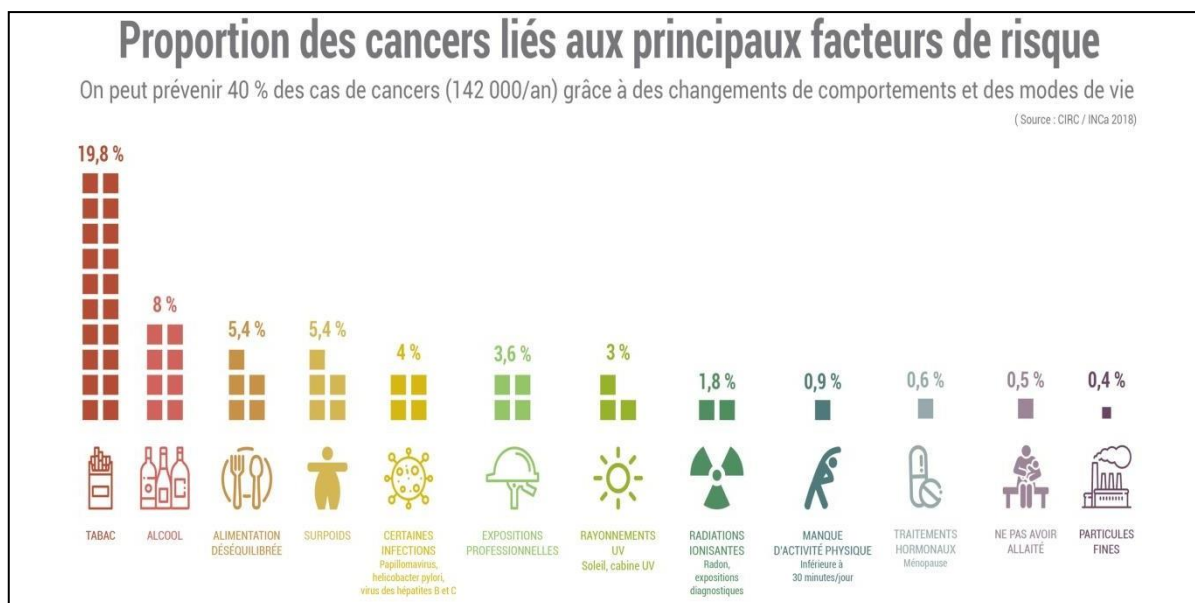
En Algérie, selon l'analyse des données des registres de cancers entre 2015 et 2017, l'âge médian de survenue des cancers est de 64 ans chez l'homme et de 54 ans chez la femme. Cet écart de 10 ans, retrouvé par tous les registres de cancer, est une conséquence de l'impact du cancer du sein sur l'occurrence des cancers féminins (16).

### **5.2. Facteurs de risque**

La transformation d'une cellule normale en une cellule cancéreuse peut être induite

par de nombreux facteurs liés aux modes de vie, à l'environnement ou encore à notre patrimoine génétique. Les cancers sont des maladies multifactorielles. L'étude des mécanismes biologiques qui sont à l'origine des cancers (ou cancérogenèse) a permis d'identifier un certain nombre de facteurs qui augmentent le risque de cancer. On distingue :

- **Facteurs de risque génétique** : Si une prédisposition familiale est fréquente, une transmission génétique n'est authentifiée que dans 5 % des cancers. La connaissance de facteurs génétiques, qu'il s'agisse de vrais gènes de prédisposition ou l'existence de polymorphismes génétiques peut permettre d'envisager un dépistage de populations à risque dans un cadre de prévention secondaire voire dans certains cas des actions de prévention primaire (chimio-prévention, chirurgie prophylactique) (17).
- **Facteurs de risque comportementaux** : Environ 43 % des cancers et 35 % des décès par cancer résulteraient de l'exposition à des facteurs de risque évitables : tabac, alcool, alimentation et activités physiques et les rayonnements solaires. Le tabac est le facteur carcinogène identifié à l'origine du plus grand nombre de décès par cancer dans le monde : 4 millions de morts par an, soit 5 % de la mortalité totale (17).
- **Facteurs de risque environnementaux** : Les agents physiques (rayonnements, ondes..), les agents chimiques (métaux, pesticides..) et les agents biologiques (toxines, virus) (17).
- **Facteurs liés à l'individu** : l'âge, les hormones, alimentation déséquilibrée, surpoids, traitements...



**Figure 3 : Proportion des cancers liés aux principaux facteurs de risque (22).**

## 6. Mécanismes fondamentaux de la cancérogénèse

Le processus tumoral s'explique par un dérèglement du programme génétique de la cellule qui acquiert la capacité à se diviser de manière anarchique pour aboutir au phénomène d'hyperplasie. Puis, ces cellules anormales subissent une anomalie de développement conduisant au phénomène de dysplasie amenant une différenciation fonctionnelle et structurale. On parle alors de processus tumoral caractérisé par l'apparition de tumeurs : (18)

- **les tumeurs bénignes** : qui restent localisées et n'affectent pas les tissus avoisinants (tumeur in situ ou cancer pré-invasif) ;
- **les tumeurs malignes** : qui envahissent les tissus avoisinants et forment des métastases (le cancer est dit invasif). Les cellules anormales acquièrent des fonctions et des spécificités en détournant certains processus de l'organisme à leur profit. Elles atteignent alors la circulation sanguine et se propagent dans des régions bien précises de l'organisme suivant le type de cancer.

Le mécanisme de la carcinogénèse se caractérise par l'implication de trois types de gènes : les oncogènes (ou proto-oncogènes), les gènes suppresseurs de tumeurs (ou anti-oncogènes) et les gènes de maintien de l'intégrité. Une centaine d'oncogènes, tels que le gène

ras, et une dizaine de gènes suppresseurs de tumeurs, tels que le gène p53, sont répertoriés et ceci implique la multiplicité des types de cancer : (18)

- **Les oncogènes** : ces gènes augmentent l'activité proliférative. Ils codent pour des protéines impliquées dans le processus de prolifération cellulaire (facteurs de croissance, récepteurs membranaires,...). Lors du processus de carcinogenèse, ces oncogènes subissent des modifications génétiques (mutation, amplification ou translocation chromosomique) ce qui Chapitre 1 : Généralités sur le cancer -7- conduit à leur hyperactivation et de ce fait à une stimulation ininterrompue de la division cellulaire ;
- **Les gènes suppresseurs de tumeurs** : ce sont des régulateurs négatifs de la multiplication cellulaire. Certains anti-oncogènes, comme le p53, favorise l'apoptose (la mort cellulaire programmée) par l'arrêt du cycle cellulaire. Lors du processus tumoral, ces gènes perdent leur fonction (par altération ou mutation ponctuelle chromosomique) et favorisent ainsi la transformation et la prolifération cellulaire ;
- **Les gènes de réparation** : qui codent pour un complexe multifonctionnel capable de réparer des anomalies de l'ADN. En cas d'échec, la cellule lésée est amenée à une mort cellulaire programmée. Lors du processus cancéreux, ces gènes sont moins exprimés et/ou inactivés ce qui conduit à une prolifération des cellules anormales.

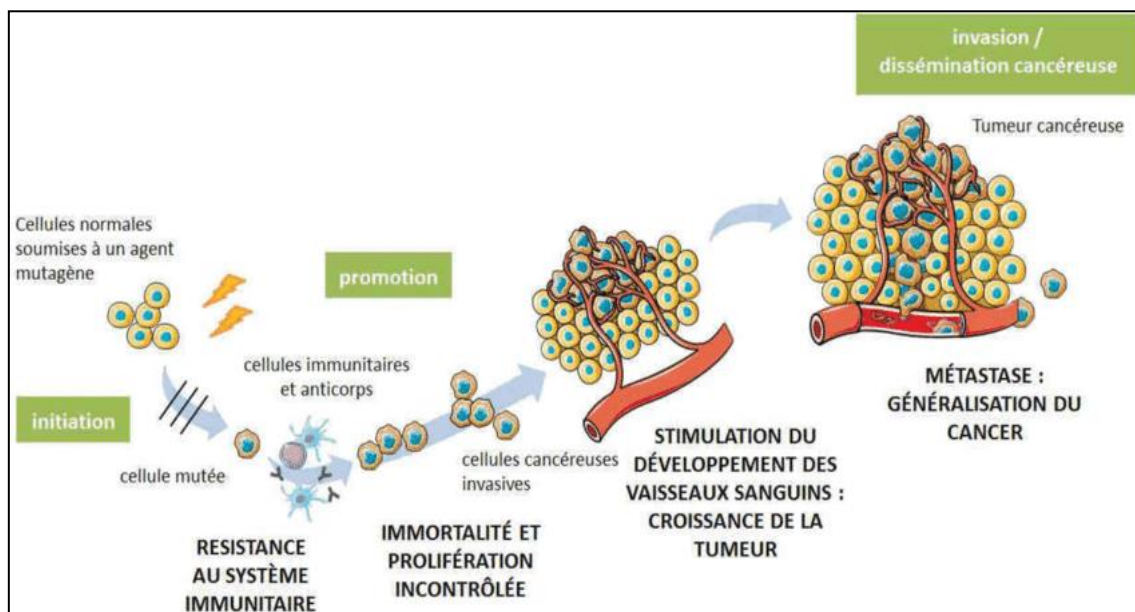
La cancérogénèse déroule en Trois grandes étapes : (18)

- **Une phase d'initiation** : qui se traduit par une lésion rapide et irréversible de l'ADN après exposition à un carcinogène (physique, chimique, viral,...) : mutation d'une ou plusieurs paires de base de la double hélice d'ADN, insertion, délétion, amplification de gènes ;
- **Une phase de promotion** : qui permet d'entretenir et de stabiliser cette lésion par une exposition prolongée, répétée et continue à des agents carcinogènes tels que le tabac, l'alcool, les radiations ionisantes (rayons UV, rayons X,...), des facteurs nutritionnels (nitrosamines, alimentation riche en graisses,...), des facteurs professionnels (benzène, amiante,...), des médicaments (dérivés de l'arsenic, amphétamines,...),...;



- **une phase de propagation** : qui se résume par l'acquisition de nouvelles fonctions non contrôlées telles que l'indépendance, la perte de la différenciation suivies de l'invasion locale et métastatique.

Le potentiel de prolifération des cellules cancéreuses est illimité ; à l'inverse des cellules saines, les cellules tumorales sont potentiellement immortelles et ont la particularité d'échapper aux défenses immunitaires. De ce fait, leur propagation dans l'organisme est très rapide. Pour permettre l'accroissement de ces cellules anormales, et de ce fait la généralisation du cancer par leur envahissement progressif des tissus adjacents puis des organes à distance, la vascularisation de la tumeur est essentielle. Ce processus invasif s'effectue par le mécanisme de l'angiogenèse assurant la survie de la tumeur par son alimentation en oxygène et en nutriments. L'intervention de facteurs dits angiogéniques contraignent alors les tissus avoisinants à former de nouveaux vaisseaux sanguins pour approvisionner la tumeur. Une fois en surnombre, ces cellules tumorales sont en mesure de quitter leur tissu d'origine et de coloniser par voie sanguine ou lymphatique d'autres tissus pour former les métastases. (18)



**Figure 4** : Les étapes de la cancérisation (19).

### 7. Traitements du Cancer

Les principaux traitements contre le cancer sont la chirurgie, la radiothérapie, la chimiothérapie, l'hormonothérapie, les traitements ciblés et l'immunothérapie. Ils sont utilisés soit en monothérapie, soit en combinaison pour éliminer les cellules cancéreuses plus efficacement. Le type de traitement choisi dépend de chaque individu, du type de cancer, de son évolution et de l'état général de l'individu.

#### 7.1. La chirurgie

Elle s'effectue dans le cas où les tumeurs sont rapidement diagnostiquées et peuvent alors subir une ablation partielle ou totale appelée prostatectomie. En éliminant la tumeur mère, on soulage les organes et tissus avoisinants et on évite ainsi la formation de métastases. La chirurgie s'accompagne le plus souvent d'une autre thérapie telle que la radiothérapie ou la chimiothérapie afin d'éliminer toute trace de cellules cancéreuses présentes dans la circulation sanguine. Des effets secondaires sont rencontrés suivant les individus et suivant l'acte chirurgical (infections, troubles sexuels). (18)

#### 7.2. La radiothérapie

Ce traitement a pour but de détruire les cellules malades de la prostate par ionisation de rayons X et rayons  $\gamma$  du cobalt 60, c'est à dire d'altérer la composition génétique par une émission de radiation. Le matériel génétique contenu sous forme d'ADN subit des transformations qui rendent la cellule incapable de se reproduire et ainsi elles diminuent la prolifération anarchique. Les cellules saines peuvent également subir des dommages et ceci peut entraîner des effets secondaires (fatigue, nausée, vomissement).

#### 7.3. La chimiothérapie

Lorsque certaines cellules cancéreuses migrent à distance et forment des métastases, l'utilisation de la chimiothérapie est primordiale. Ce traitement consiste à injecter, le plus souvent par voie intraveineuse, des agents chimiques anticancéreux. Il a pour but d'enrayer ou de ralentir l'évolution de la prolifération des cellules tumorales en agissant sur l'ADN, l'ARN

ou les protéines de ces cellules. Les produits utilisés sont divers suivant la cible thérapeutique. Il s'agit d'agents alkylants, d'antimétabolites, d'agents intercalants ou d'inhibiteurs de topoisomérases. Ce traitement est très efficace mais il implique de nombreux effets indésirables suite à la destruction de cellules saines. De nouvelles thérapies plus ciblées ont été développées (les inhibiteurs des voies de transduction, régulateurs du cycle cellulaire,...) mais aucune ne cible le cancer de la prostate. L'utilisation d'un traitement de chimiothérapie peut entraîner l'apparition d'une phase dite hormono-résistante. De ce fait, l'association avec la chirurgie ou la radiothérapie, mais également avec d'autres agents chimiothérapeutiques, permet d'augmenter la probabilité de guérison (19).

### **7.4. L'hormonothérapie**

Ce traitement agit spécifiquement sur le système endocrinien en supprimant la production et/ou l'activation des hormones sexuelles de type androgène, produits par les testicules et les glandes surrénales. Il s'effectue soit par castration chirurgicale (peu pratiquée), soit par l'administration d'œstrogènes ou d'analogues de la LH-RH (Luteinising Hormone-Releasing Hormone) ou soit par l'utilisation d'anti-androgènes (19).

### **7.5. Les traitements ciblés**

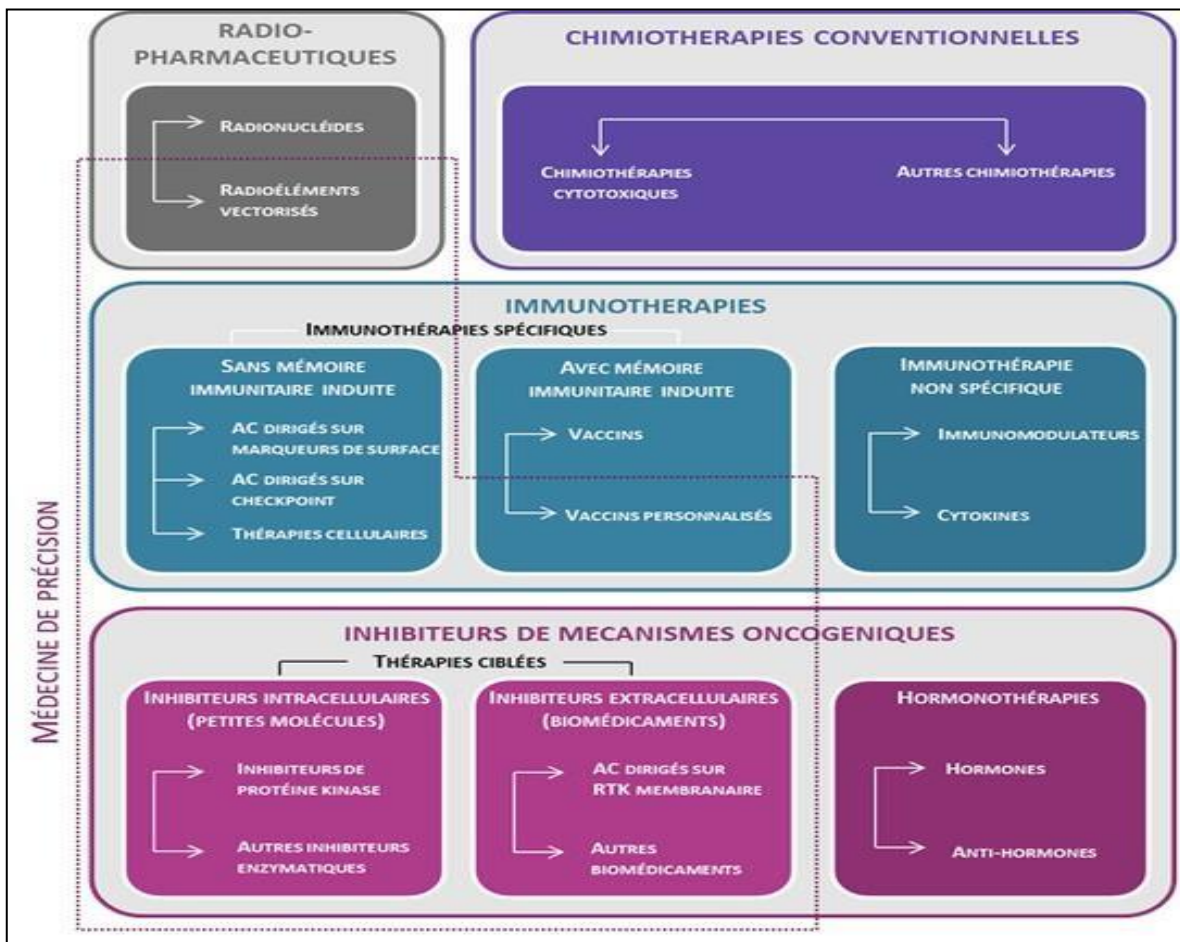
Les traitements ciblés sont de nouveaux traitements possibles pour lutter contre le cancer ; ils se sont développés suite à une meilleure connaissance des mécanismes de fonctionnement des cellules cancéreuses. Ce type de traitement est plus efficace que la chimiothérapie classique en provoquant moins d'effets secondaires car il cible des molécules exprimées uniquement par les cellules tumorales ou hyperactives dans le cancer, sans trop affecter les cellules saines. (19)

Les traitements actuels agissent principalement sur les signaux permettant la multiplication des cellules, présents dans la voie des tyrosines kinases, sur les signaux permettant d'échapper à l'apoptose et sur les signaux permettant la vascularisation de la tumeur. La thérapie ciblée utilise soit des anticorps monoclonaux se liant à un ligand ou à un récepteur accessible à l'extérieur des cellules et impliqué dans la prolifération tumorale, soit des agents de chimiothérapie ciblée qui sont le plus souvent des inhibiteurs de kinases actives

à l'intérieur des cellules tumorales), soit des inhibiteurs de l'angiogénèse (anticorps et produits de synthèse). La thérapie ciblée sera détaillée dans la partie suivante. (19)

### 7.6. L'immunothérapie

L'immunothérapie est une thérapie relativement nouvelle, elle vise à éliminer les cellules tumorales en stimulant le propre système immunitaire du patient cancéreux. En effet, les cellules tumorales sont des cellules du soi et de ce fait peu antigéniques ou pas reconnues par le système immunitaire d'où la nécessité de renforcer ce dernier pour qu'il détecte plus efficacement les cellules tumorales à détruire. Il existe différents types d'immunothérapies : l'immunothérapie passive et l'immunothérapie active (19).



**Figure 5:** Classification des médicaments anticancéreux et périmètre de la médecine de précision (20).

### II. Thérapie ciblée

Grace aux progrès accomplis par la recherche, les chercheurs ont pu développer des nouvelles stratégies thérapeutiques pour lutter contre le cancer et compléter l'arsenal thérapeutique existant, représenté en grande partie par la classe des chimiothérapies conventionnelles (cytotoxiques). Parmi ces nouvelles options thérapeutiques, il existe un ensemble de traitement qui s'intègre dans une stratégie thérapeutique dite « de précision », en s'attaquant spécifiquement à certaines protéines, elle bloque spécifiquement un processus tumoral ou, au contraire, activer un mécanisme participant au contrôle de la tumeur, c'est la **thérapie ciblée**.

En 2015, d'après l'Institut National du Cancer, un médicament anti-cancer sur quatre est une thérapie ciblée (20).

C'est dans les années 2000 que les premières thérapies ciblées sont autorisées dans le traitement de certains cancers du sang puis du sein et Le **Trastuzumab** a été la première thérapie ciblée autorisée, dans le traitement des cancers du sein métastatiques HER2 positifs. Quinze ans plus tard, 43 thérapies ciblées sont désormais autorisées par les agences de santé du médicament (E<sup>1</sup>MA et A<sup>2</sup>NSM) dans le traitement des cancers (20).

#### 1. Définition

Les thérapies ciblées anticancéreuses sont des médicaments qui visent à bloquer la croissance et/ou la propagation des cellules tumorales en s'attaquant spécifiquement à certaines de leurs anomalies. Leur mode d'action principal passe par une inhibition des mécanismes mêmes de l'oncogenèse avec une spécificité importante pour les cellules cancéreuses ou leur microenvironnement. Il peut s'agir d'inhibiteurs intracellulaires (ce sont des petites molécules chimiques, notamment des inhibiteurs de protéine kinase) ou d'inhibiteurs extracellulaires (ce sont des médicaments biologiques, notamment des anticorps monoclonaux) (20).

---

<sup>1</sup> EMA : European Medicines Agency

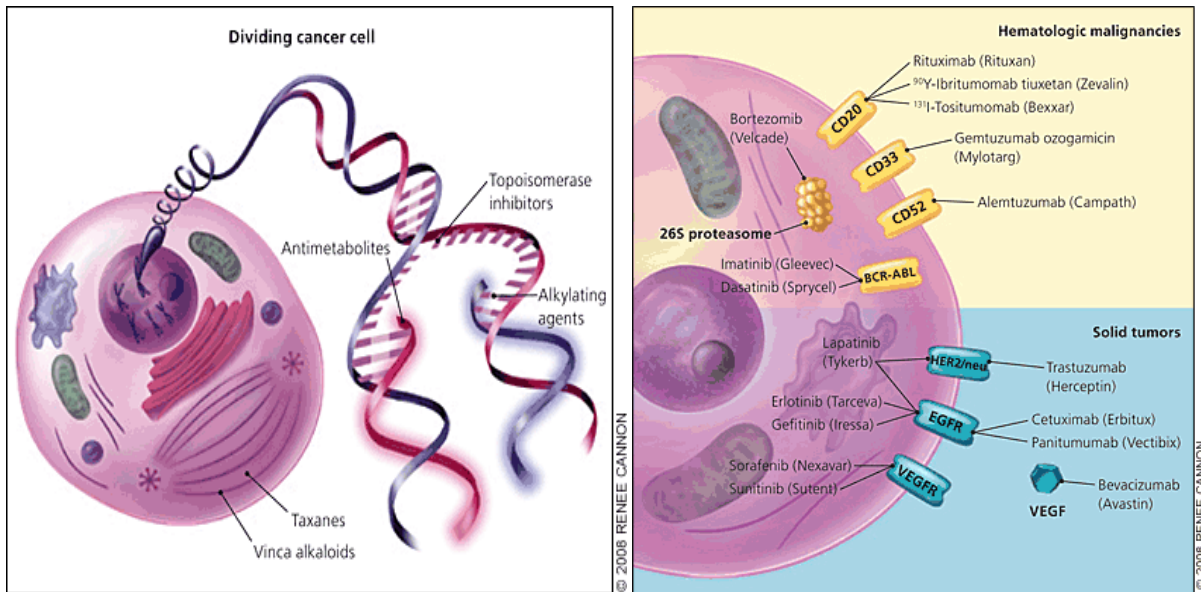
<sup>2</sup> ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament

### 2. Importance de la thérapie ciblée

La thérapie ciblée a révolutionné la conduite thérapeutique en oncologie. Ces traitements visent une “anomalie moléculaire” particulière qui n’est pas spécifique qu’un type de cancer, mais qui n’est pas systématiquement présente. Ainsi, un même médicament pourra être prescrit dans différents cancers, mais il ne sera pas forcément efficace pour tous les patients. Ce qui permet de dire que cette thérapie ciblée fait partie de ce qu’on appelle la « médecine de précision ». Ce terme fait référence à une médecine qui repose sur des traitements développés sur les bases d'une meilleure connaissance des mécanismes biologiques conduisant à l'apparition et au développement des tumeurs. En très peu de temps, un changement de paradigme dans la prise en charge des cancers a été observé en cancérologie, passant d'une cancérologie « d'organe » à une cancérologie « stratifiée » et qui pourrait demain devenir une cancérologie « personnalisée » (20).

### 3. Biologie de la thérapie ciblée

La chimiothérapie conventionnelle agit principalement sur l’inhibition de la division cellulaire. En plus des cellules cancéreuses, d'autres cellules à division rapide (par exemple, les cheveux, l'épithélium gastro-intestinal, la moelle osseuse) sont affectées par ces médicaments. En revanche, la thérapie ciblée bloque la prolifération des cellules cancéreuses en interférant avec des molécules spécifiques nécessaires au développement et à la croissance de la tumeur (Figures 6,7). Certaines de ces molécules peuvent être présentes dans les tissus normaux, mais elles sont souvent mutées ou surexprimées dans les tumeurs (21).



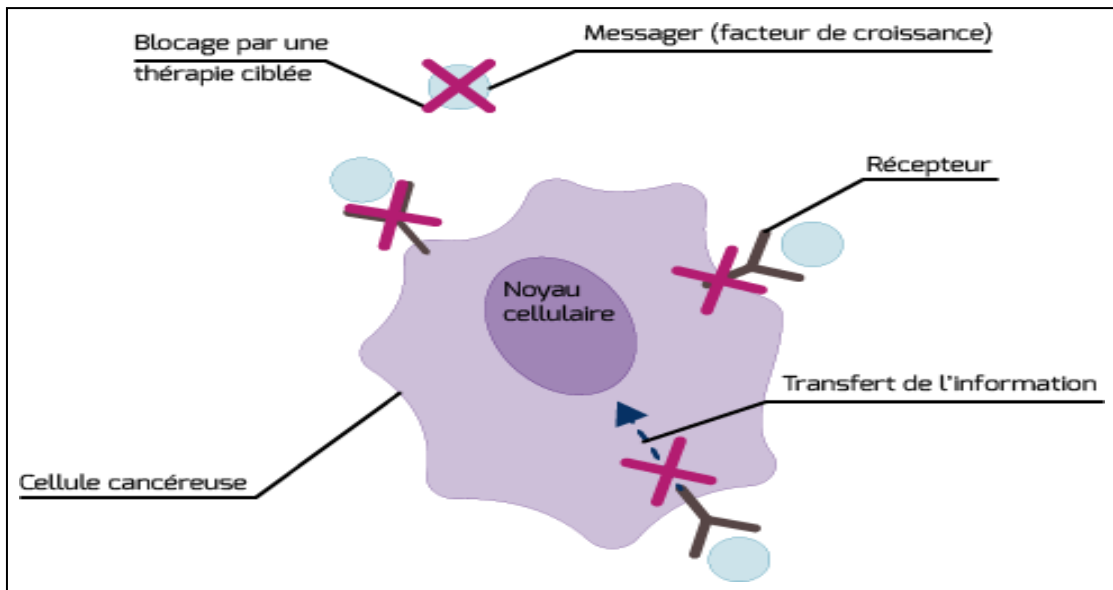
**Figure 6 : Mécanisme de la chimiothérapie(22).** **Figure 7 : Mécanisme de la thérapie ciblée.**

#### 4. Modes d'action

Les thérapies dites ciblées cherchent à atteindre les mécanismes mêmes de l'oncogénèse, en inhibant les processus qui conduisent à la mise en route aberrante, inappropriée, de la multiplication des cellules. Elles ont pour cible les différents acteurs des voies qui contrôlent ces processus. Elle agit par (22) :

- la formation de nouveaux vaisseaux sanguins autour de la tumeur, à partir de vaisseaux existants : c'est l'angiogénèse. Les thérapies ciblées empêchent alors la tumeur de se développer et de former des métastases ;
- bloquer ou interrompre la croissance ou la prolifération des cellules cancéreuse ;
- les empêcher de se diviser, de se développer ou de se disséminer ;
- stopper la formation de vaisseaux sanguins qui alimentent la tumeur.





**Figure 8:** Les différents niveaux de blocage des thérapies ciblées (22).

### 5. Modalités d'indication

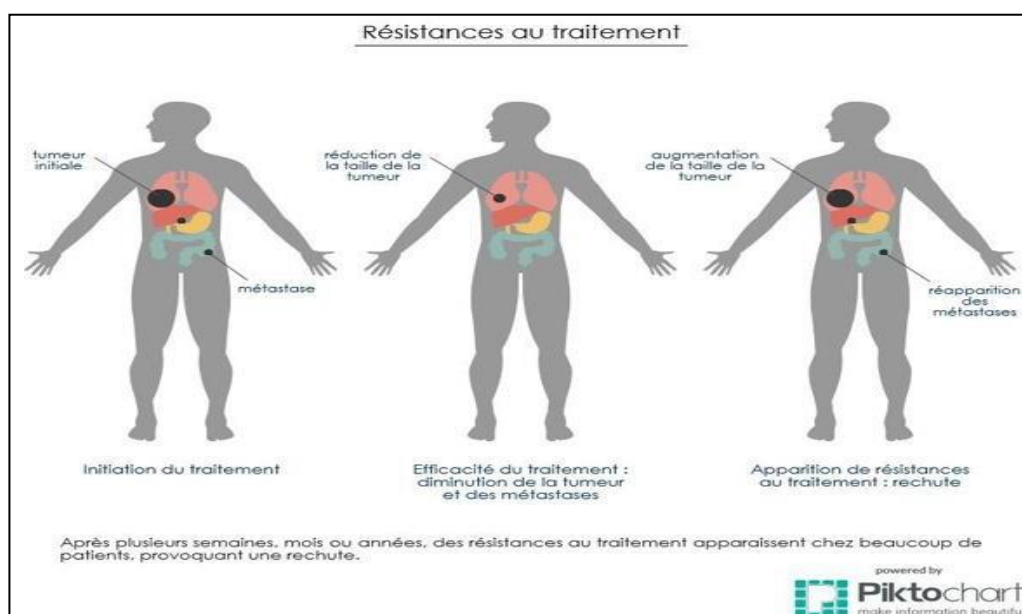
Bien que la thérapie ciblée est majoritairement indiquée en monothérapie comme conduite thérapeutique principale, particulièrement les inhibiteurs de la tyrosine kinase, elle peut également être prescrite en thérapie adjuvante, pour les patients dont le traitement classique (chimiothérapie, radiothérapie, chirurgie) s'est avéré insuffisant ou quand l'ajout de la thérapie ciblée démontre une efficacité supérieure. Il peut s'agir de (20) :

- l'association concomitante d'une thérapie à une chimiothérapie cytotoxique (par exemple bévacizumab et doublet de platine dans le cancer de l'ovaire) ;
- l'association des thérapies ciblées entre elles (par exemple trastuzumab et lapatinib) ;
- l'association d'une thérapie ciblée à une hormonothérapie (par exemple évérolimus et exemestane) ;
- l'association d'une thérapie ciblée à une immunothérapie spécifique (par exemple idélalisib et rituximab).



### 6. Résistance aux traitements

Chez certains patients, la thérapie prescrite se révélera inefficace d'emblée. On parlera alors de résistance « primaire » au traitement. D'autres patients vont, en revanche, en tirer un bénéfice thérapeutique immédiat. Il n'est pas rare cependant que la maladie réapparaisse ou se remette à progresser après quelques semaines, mois ou années de traitement. Cela signifie que le médicament n'est plus efficace pour contrer la maladie. On parlera alors de résistance « secondaire » au traitement (22).



**Figure 9 :** Résistance aux traitements de la thérapie ciblée (22).

Des résistances peuvent, en effet, survenir lorsque la cible visée par le médicament est modifiée à la suite d'une nouvelle mutation, dans l'ADN des cellules tumorales, qui va limiter l'efficacité du traitement initial. Une autre voie de signalisation, permettant aux cellules tumorales de proliférer indépendamment de la cible du médicament, peut également devenir prépondérante, rendant alors le traitement inefficace (22).

Par ailleurs, une tumeur n'est pas un amas uniforme de cellules cancéreuses identiques mais se compose en réalité de plusieurs types de cellules en constante évolution. Des études récentes ont montré l'existence, au sein d'une même tumeur, de cellules tumorales présentant

des anomalies moléculaires différentes. On parle d'hétérogénéité intra-tumorale. Pour un même patient, une métastase peut également présenter des anomalies différentes de la tumeur primaire ou d'une autre métastase (22).

Cette hétérogénéité tumorale a de lourdes conséquences en termes d'efficacité de traitement. Pour être efficace, un traitement devrait en effet pouvoir cibler toutes les cellules tumorales. C'est pour cette raison que beaucoup de médicaments sont prescrits en association, pour pouvoir attaquer la tumeur sur tous les fronts (22).

Ainsi, comprendre l'hétérogénéité de la tumeur, être capable de contrer les résistances et trouver des stratégies thérapeutiques adaptées sont des voies de recherche majeures pour les prochaines années (22).

### **7. Les effets indésirables**

Bien que la thérapie ciblée est censé épargner les cellules saines et nonobstant son action thérapeutique qui est portée principalement sur les mécanismes oncogénique, elle n'est pas exempte d'effets indésirables ; pouvant, dans les cas les plus sévères, nuire à l'adhésion du patient à son traitement.

Les effets indésirables notamment observés sont (22) :

- la fatigue ;
- toxicité cutanée ;
- troubles cardiaques ou hématologiques ;
- des nausées et vomissement ;
- la diarrhée et une toxicité ophtalmique.

Par ailleurs, la thérapie ciblée, ciblant que les cellules porteuses d'une anomalie moléculaire, est mieux tolérée que la chimiothérapie qui ne différencie pas entre les cellules tumorales et les cellules saines.

La sévérité de ces effets indésirables dépend largement du traitement administré ainsi que la dose et l'état de santé générale du patient. Certains peuvent être limités ou évités en

prescrivant des traitements préventifs tels que : des anti-diarrhéiques, un agent hydratant ... (22)

### 8. Perspectives

À l'avenir et avec l'évolution des connaissances de la biologie des cancers d'une part et l'augmentation des thérapies ciblées disponibles d'autre part, la caractérisation moléculaire de la tumeur pourrait ne pas se limiter à l'identification d'une altération moléculaire unique, mais pourrait intégrer un ensemble complexe de caractéristiques génomiques (voire autres que génomiques) qui ferait de la tumeur de chaque patient une pathologie unique. Chaque patient se verrait alors proposer un traitement qui lui est spécifiquement adapté (médecine personnalisée) (20).

Ce concept est encore du ressort de la recherche et n'a actuellement pas démontré son efficacité dans le cadre d'un programme de recherche clinique. L'élaboration d'algorithmes délivrant une information sur la pertinence des stratégies thérapeutiques en fonction des informations du patient ainsi que des caractéristiques tumorales pourrait constituer une aide à la décision thérapeutique ; ces algorithmes seraient modélisés à partir des données de la littérature, mais tiendraient aussi compte des résultats objectivés en vie réelle chez d'autres patients nécessitant de fait un développement des bases clinicobiologiques. Néanmoins, d'autres phénomènes que l'hétérogénéité intra-tumorale au plan génétique (tels que la plasticité des cellules et les altérations épigénétiques) interviennent probablement sur l'efficacité des traitements. Cette complexité inhérente à la biologie des cancers peut représenter un frein au développement de tels algorithmes et à la médecine personnalisée (20).

### 9. Les types de la thérapie ciblée

Les thérapies ciblées actuellement utilisées appartiennent à deux grandes classes pharmacologiques : (23)

- les anticorps monoclonaux ;
- les inhibiteurs de tyrosine kinases.

### 9.1. Les anticorps monoclonaux

Les anticorps monoclonaux (AcMc) à usage thérapeutique constituent l'archétype des thérapeutiques ciblées et occupent une place grandissante dans le traitement des cancers (23). Ces Ac sont de grosses molécules administrées par voie veineuse. Ils sont spécifiques d'une cible, mais qui ne peut être qu'extracellulaire. Ce sont des immunoglobulines (immunoglobulines G1 pour la plupart) qui possèdent une structure et des fonctions similaires (mécanismes d'action, propriétés pharmacologiques) à celles des immunoglobulines endogènes (25).

Il existe (24) :

- des Ac chimériques (murins) ["-xi-"], comme le cétuximab ;
- des Ac humanisés ("-zu-"), comme le bévacizumab, le trastuzumab ou le pembrolizumab ;
- des Ac intégralement humanisés ("-mu-"), comme le panitumumab ou le ramucirumab.

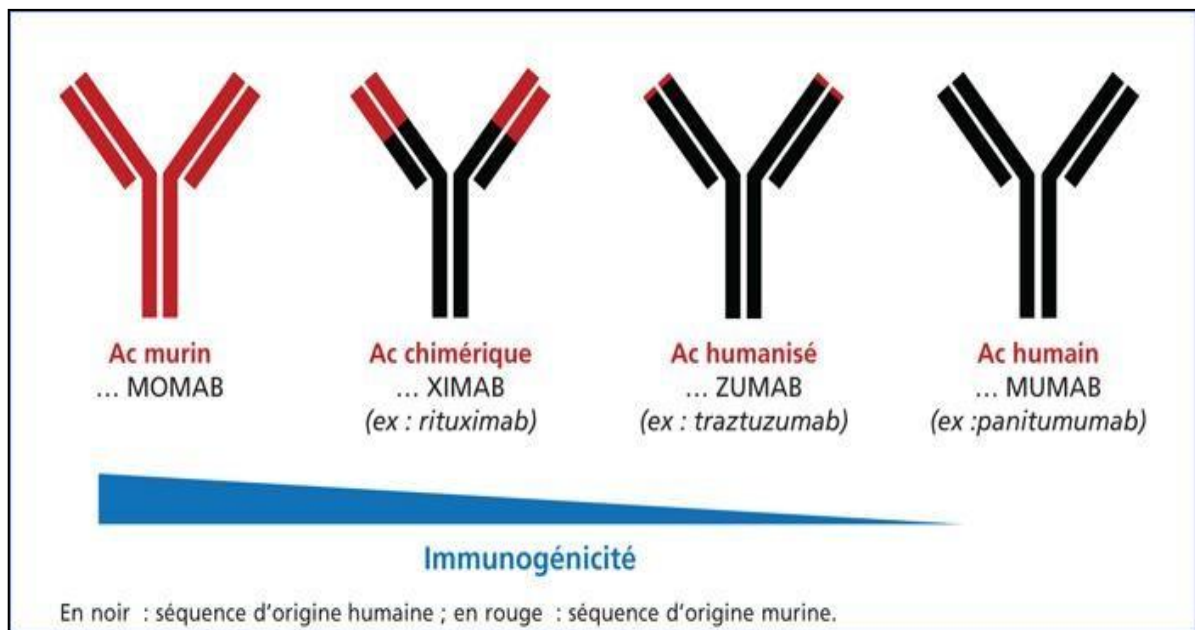


Figure 10 : Structure chimérique des anticorps monoclonaux (AcMc). (23)

Ces Ac ont une activité bifonctionnelle, car, en plus des liaisons possibles des portions Fab avec les antigènes cibles (VEGF [Vascular Endothelial Growth Factor] , EGFR, HER2 [Human Epidermal growth factor Receptor 2] , etc.), la région Fc de l'Ac a la capacité de se lier à des récepteurs Fcγ ou au complément, ce qui permet, respectivement, l'activation des cellules de l'immunité telles que les macrophages et les lymphocytes NK (Natural Killer) et l'activation de la voie classique du complément. L'élimination de ces Ac résulte principalement d'un catabolisme intracellulaire, notamment endo héliol, faisant intervenir les enzymes lysosomiales. Ce recyclage des immunoglobines nécessite du temps, d'où la demi-vielongue de la plupart des Ac (de 14 à 20 jours) (24). Les mécanismes d'action des anticorps monoclonaux sont (26) :

- **Anticorps neutralisants** : Un anticorps peut être neutralisant si son affinité pour l'antigène est suffisamment forte, et si l'épitope reconnu constitue un site critique dans la fonction de l'antigène ciblé. Les anticorps thérapeutiques neutralisants peuvent alors être dirigés contre des antigènes exogènes (venins, médicaments, toxines bactériennes, virus) ou contre des autoantigènes solubles (facteurs de croissance, cytokines). Ils empêchent alors l'interaction entre ces antigènes et leur cible cellulaire ;
- **Anticorps antagonistes** : Les anticorps monoclonaux peuvent aussi cibler spécifiquement un récepteur membranaire, et bloquer la liaison de son ou de ses ligands. Ces anticorps thérapeutiques antagonistes sont de trois types : anti-récepteurs de cytokines ou de facteurs de croissance, anti-molécules d'adhérence cellulaire et anti-molécules de co-stimulation lymphocytaire ;
- **Anticorps cytotoxiques** : Certains anticorps sont aussi capables d'induire un effet cytotoxique sur la cellule à laquelle ils se fixent, par l'intermédiaire de leur portion Fc. Ainsi, les anticorps cytolytiques peuvent activer la voie classique du complément par liaison au C1q, et/ ou recruter des cellules cytotoxiques ou phagocytaires en se liant à leurs récepteurs FcγR. On parle alors de cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC). Cette propriété peut être souhaitée, comme dans le cas d'une cible cancéreuse, tout comme elle peut devenir indésirable. Aussi, les IgG1 seront les plus adaptées si des effets cytolytiques

sont recherchés ; au contraire, les IgG2 et IgG4 permettent d'éviter les effets cytolytiques.

## **9.2. Les inhibiteurs des tyrosines kinases**

Les inhibiteurs de tyrosine kinases (ITK) sont de petites molécules administrées par voie orale, capables de diffuser en intracytoplasmique. Leur nom se termine par le suffixe “- nib”. Elles inhibent des protéines à activité tyrosine kinase, qu'il s'agisse de la partie intracellulaire d'un récepteur transmembranaire ou d'une protéine impliquée dans la transduction du signal en aval du récepteur (21).

## *CHAPITRE II*

### *Les Protéines kinases et leurs inhibiteurs*

*Là où se trouve une volonté, il existe un chemin.*

**-Winston Churchill-**

### **I. Introduction**

D'un point de vue historique, l'étude des phosphorylations correspondant à l'ajout d'un ion phosphate a commencé au tout début du XX<sup>ème</sup> siècle. A la fin des années 1940, l'identification des premières enzymes phosphorylases (la glycogène phosphorylase), qui permettent l'ajout d'un phosphate inorganique (phosphate d'hydrogène obtenu par hydrolyse) sur une molécule a éveillé l'intérêt de la participation des phosphorylations dans un système biologique. Cependant, ce n'est que dans les années 1950 que les protéines kinases furent réellement mises en évidence (27).

A la différence des protéines phosphorylases, les kinases (ou phosphotransférases) permettent la phosphorylation enzymatique directement par le transfert du phosphate d'une molécule d'adénosine triphosphate (ATP) organique vers la protéine cible sans hydrolyse. Le séquençage du génome humain a facilité l'identification de nombreuses protéines kinases et a permis l'élaboration d'un kinôme (figure 11) qui représente l'ensemble des kinases existantes chez l'homme. 518 gènes humains ont été identifiés comme codant une protéine kinase dont 478 ePKs (eukaryotic protein kinase) présentant un domaine catalytique et 40 aPKs (atypical protein kinase) révélant une activité kinase sans homologie de séquence avec les ePKs (27).

Le kinôme représente environ 1,7% de tout le génome humain et est réparti en différents groupes de kinases : TK (Tyrosine Kinase), TKL (Tyrosine Kinase-Like), STE (Homologs of yeast sterile 7, sterile 11, sterile 20 Kinases), CK1 (Casein Kinase 1), AGC (contenant les familles PKA, PKG, PKC), CAMK (Calcium/calmodulin-dependent protein Kinase) et les CMGC (contenant les familles CDK, MAPK, GSK3, CLK) (27).

Ces groupes ont été définis par l'homologie de séquences de leurs membres mais également par des fonctions ou régulations communes et spécifiques (27).

Dans le règne animal, la plupart des phosphorylations de protéines eucaryotes sont régies par la superfamille des « Protéines Kinases » (PK) qui partage un domaine catalytique conservé. En effet, de l'ensemble des gènes eucaryote, il existe 1,5 à 2,5 % codant à la famille des protéines kinases (28).



# PROTEINES KINASES ET LEURS INHIBITEURS

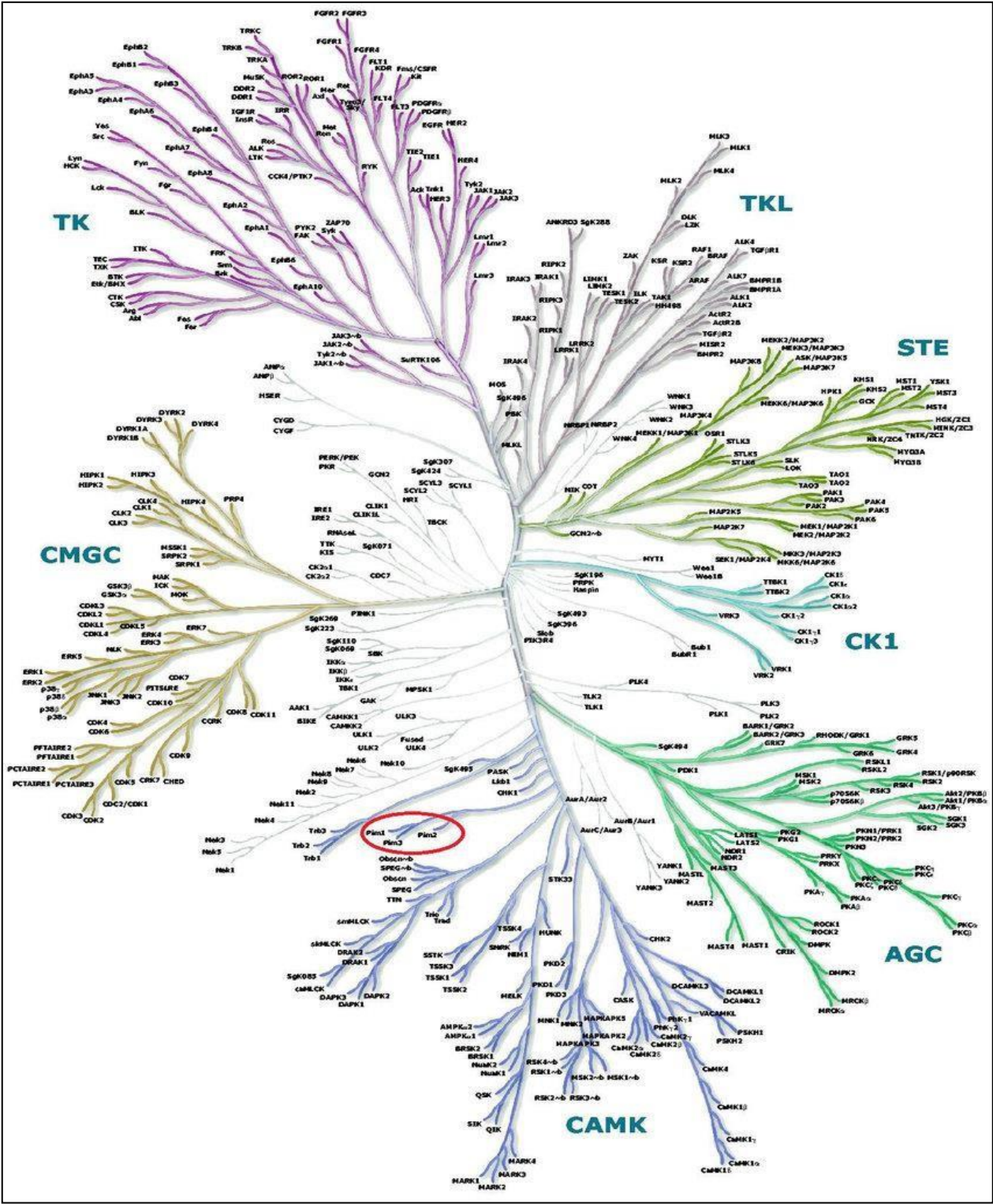


Figure 11 : Représentation de l'ensemble du kinôme humain (41).

### II. Protéines Kinases

#### 1. Définition

Les PK sont des enzymes qui constituent une grande famille, avec plus de 500 codées par le génome humain (29). Mais seulement environ 200 à 300 PK sont présents dans chaque cellule (30). Ils transfèrent des groupes phosphoryle sur des protéines cibles (31), en modifiant leur activité. Ce processus est inversé par l'action des phosphatases, qui éliminent les groupements phosphoryle des protéines cibles(31). Ce processus est illustré dans la figure 12. La phosphorylation des protéines cibles entraîne l'activation des voies de transduction du signal. Ces signaux sont transmis à travers la cellule au noyau. Ainsi, les PK jouent un rôle crucial dans les voies de signalisation intracellulaires.

Leur importance se reflète également dans le fait que la phosphorylation est le type de régulation cellulaire le plus abondant, affectant essentiellement tous les processus cellulaires: transport membranaire, métabolisme, différenciation, croissance, motilité, apprentissage et mémoire(32). La régulation fait partie intégrante de la fonction de la protéine kinase qui contrôle le moment de l'activité catalytique et la spécificité du substrat. Toute perturbation ou dérégulation de cette phosphorylation modifiera la fonction cellulaire et peut générer divers maladie (33).

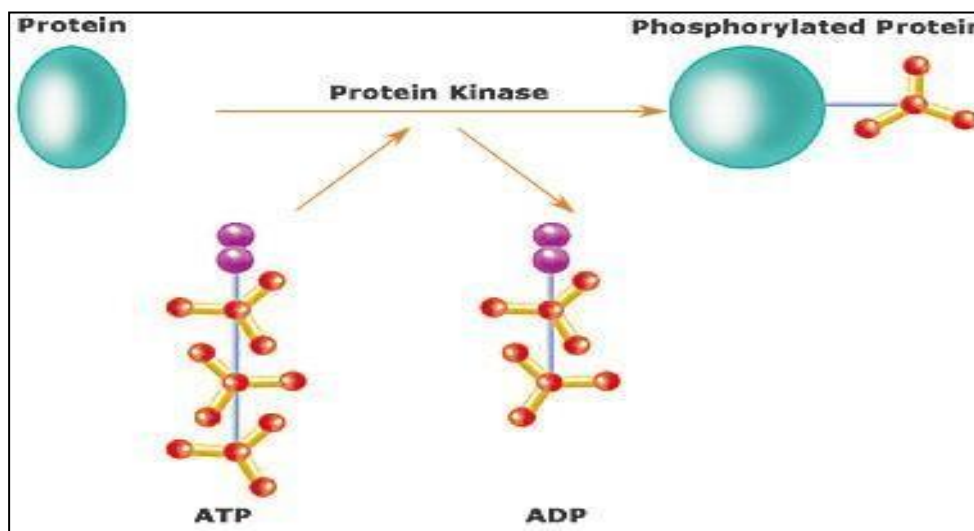


Figure 12 : Le processus de phosphorylation des protéines kinases (33).

### 2. Classification des PKs

Les protéines kinases représentent une des plus grandes familles de protéines, ce sont des enzymes comptant plus de 500 membres dans le génome humain (34). Elles peuvent être classées selon l'acide aminé qu'elles phosphorylent au cours de la catalyse ou en fonction des séquences d'acides aminés des domaines catalytiques.

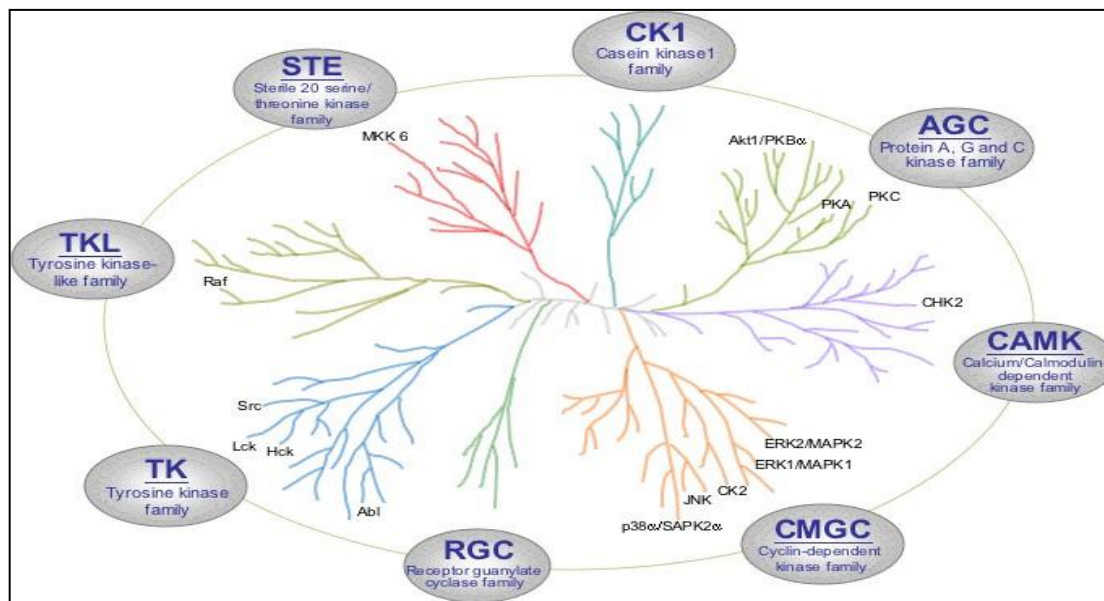
#### 2.1. Kinases classées par les acides aminés qu'elle phosphorylent

Ces kinases sont caractérisées par un noyau catalytique avec une poche de liaison d'ATP N-terminale riche en glycine et un résidu d'acide aspartique au centre indispensable pour son activité catalytique (35). Il existe principalement deux grandes classes de protéines kinases, les 'Tyrosine Kinases' (TK) et les 'Sérine/Thréonine Kinases' (36).

- **Classe des « Tyrosine » protéines kinases :** étaient la première classe identifiée. Environ 90 gènes TK et 43 gènes TK-like ont été découverts (37). Elle phosphorylent le groupement hydroxyle de certains résidus tyrosine de protéine-substrats. Certaines de ces protéines TK sont membranaires et présentent la propriété de récepteurs-enzymes, les autres sont cytosoliques (38). 58 gènes TK de type récepteur ont été identifiés, et qui sont divisés en 20 sous-familles selon l'organisation structurelle et les similarités de séquences dans le domaine kinase(39). Les 32 tyrosines kinases restante sont non récepteurs divisés aussi en 10 sous-familles. Leurs produits régulent la survie, les fonctions, la prolifération cellulaire, la différenciation et la motilité (40).
- **Classe des « Sérine/Thréonine » protéines kinases :** Les Ser/Thr kinases phosphorylent le groupement hydroxyle de certains résidus sérines et/ou thréonines de protéine-substrats, cependant il n'y a pas de séquence cible commune. Le substrat à phosphoryler s'aligne avec la kinase par plusieurs acides-amino-clés (par des interactions ioniques, hydrophobes), de ce fait une kinase est, la plupart du temps, spécifique d'une famille de substrat et non pas d'un seul unique substrat (38)

### 2.2. Kinases classées selon les séquences des domaines catalytiques

Elle repose sur des comparaisons de séquences des domaines catalytiques. Le kinome humain est divisé en sept familles principales illustré dans la figure 10: La famille AGC (protéines kinases A, G et C); La famille CAMK (PK dépendante de Ca<sup>2+</sup>/CAM); La famille CK1 (caséine kinase 1); La famille CMGC (CDK, MAPK, GSK3, CLK); La famille STE(homologues des levures stériles 7, 11, 20 kinases); TK-tyrosine kinases, PK TKL-tyrosine kinase (41).



**Figure 13 :** Les sept principales familles dans le kinôme humain (41)

### 3. Structure des PKs

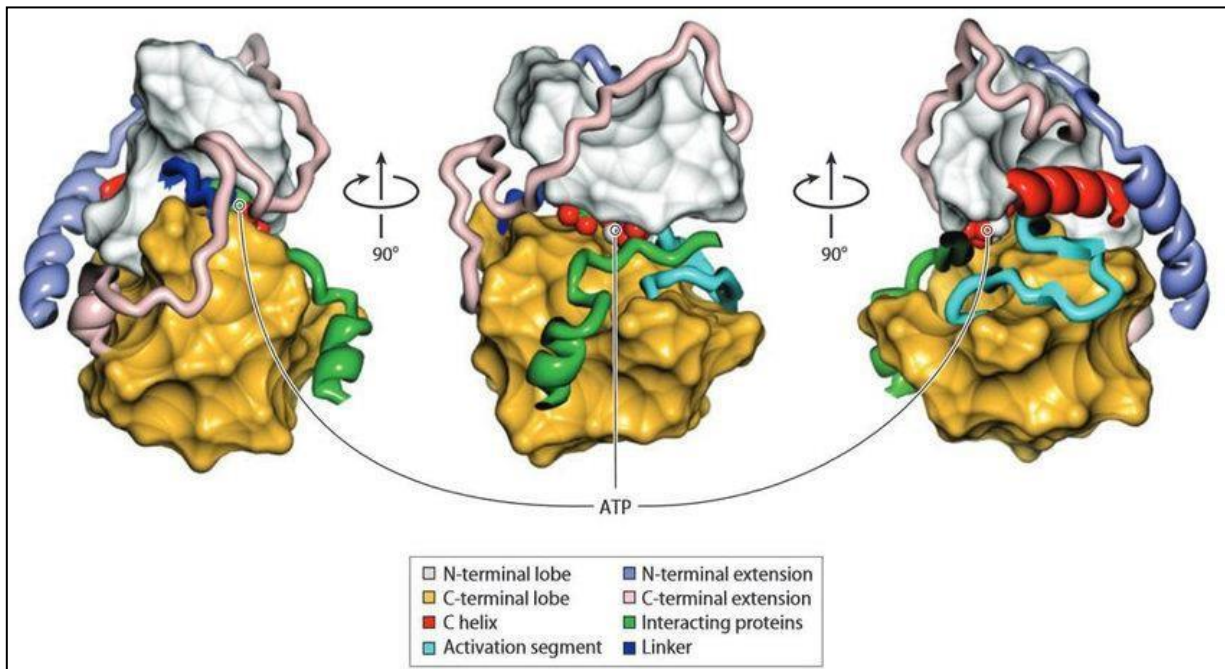
La structure tridimensionnelle d'une protéine est associée au repliement (mécanisme de « folding ») de sa chaîne polypeptidique (27). Récemment trois méthodes expérimentales sont utilisées pour déterminer la structure des protéines: La microscopie électronique, la résonance magnétique nucléaire (RMN) et la cristallographie par rayons X (43). Cette dernière a fourni plus de 40 000 structures protéiques qui sont déclarées en juin 2007, Alors que la RMN n'a pu mettre en évidence que 6200 structures, contre 150 de la microscopie électronique. Ces structures sont regroupées dans une base de données accessible gratuitement dite «Protein Data Bank» (PDB) (<http://www.rcsb.org/>) (44).



### 3.1. Structure 3D

La plupart des protéines kinases eucaryotes présente une structure similaire avec un domaine catalytique d'environ 90 résidus (Fig. 14). Les principales parties de ce domaine catalytique sont deux sous-domaines structuraux, ils ont une structure bilobaire. (42)

Cette structure bilobaire consiste en un lobe amino-terminal (N-ter), formé d'un feuillet-catalytique (C-hélice ou C-loop), et en un lobe carboxy-terminal  $\alpha$ cinq bandes et d'une hélice et d'une région d'activation flexible (A-loop). La flexibilité de  $\alpha$ (C-ter), composé d'hélices cette dernière région est impliquée dans la régulation de l'accès au substrat. Entre ces deux lobes se situe une région dite charnière, dans laquelle se trouve la poche catalytique responsable de la phosphorylation (42).



**Figure 14 :** Architecture d'une protéine kinase prototypique (42).

### 3.2. Conformation des PK et mécanismes de régulation

Les protéines kinases récepteurs peuvent exister sous deux conformations distinctes : La conformation active et inactive, appelé aussi conformation fermée et ouverte. Cette conformation est déterminée par la position de la boucle d'activation. Dans la conformation ouverte, la boucle d'activation s'éloigne du centre de la molécule, permettant donc la liaison de substrat productive.

Alors que dans la conformation fermée, la boucle d'activation bloque la bouche de la kinase, entraînant un état inactif (43).

Les PK récepteurs ont un domaine juxta membranaire auto-inhibiteur; En absence du ligand, les PK récepteur ne sont pas phosphorylés, et la conformation de leurs domaines kinases est inactive. En outre, la région cytoplasmique juxta membranaire interagit avec le domaine kinase pour contribuer à l'inhibition de l'enzyme (44).

Dès que le ligand se lie au domaine extracellulaire, les PK récepteurs deviennent actives. Elles entraînent par la suite l'oligomérisation du récepteur, la rupture de l'interaction juxtamembranaire auto-inhibitrice et donc l'autophosphorylation de la tyrosine régulatrice dans la boucle d'activation de la kinase. Il en résulte l'augmentation de l'activité catalytique de l'enzyme, ce qui génère ensuite des sites de liaison pour les protéines de signalisation, ce qui induit l'activation de plusieurs voies de signalisation (45).

Les PK non-récepteurs sont maintenus dans un état inactif par les protéines inhibitrices cellulaires, les lipides et par auto-inhibition intramoléculaire, elles sont activés par plusieurs signaux intracellulaire comme la dissociation des inhibiteurs qui entraîne une oligomérisation et une autophosphorylation des récepteurs transmembranaires, ainsi qu'une transphosphorylation par l'intermédiaire d'autres kinases. L'arrêt de la signalisation des PK non récepteurs se fait, en premier lieu par l'action des tyrosines phosphatases en hydrolysant les phosphates de tyrosyle, et en deuxième lieu par l'induction de molécules inhibitrices (40).

### **3.3. Mécanisme de fixation de la molécule d'ATP**

Le fragment d'adénosine de l'ATP se lie à une charnière principalement hydrophobe formée par l'intersection des deux lobes. Il est attaché à la poche par des liaisons de van der Waals et des interactions de liaison H au segment flexible de la charnière, qui relie les deux sous-domaines N et C (46).

Etant donné que plusieurs kinases aient une structure similaire du site de liaison de l'ATP, ils ont certaines différences entre elles. Cette différence permet aux médicaments de cibler spécifiquement une sous-classe sans affecter les autres (44).

Les inhibiteurs à petites molécules se fixent de manière compétitive dans la poche de liaison de l'ATP, en imitant les liaisons hydrogènes produites par l'adénine de la molécule d'ATP. La raison pour laquelle il est nécessaire de connaître la structure du site de fixation de l'ATP (47).

On distingue cinq régions dans la poche de fixation de l'ATP: Région de l'adénine, région de sucre, poche hydrophobe, canal hydrophobe et région de liaison du phosphate (48).

- **La région adénine** est une région hydrophobe, dans laquelle les groupes amine N-1 et N-6 du cycle adénine forme deux liaisons hydrogène avec les groupes NH et carbonyle de la région charnière d'ancrage de l'adénine du PK. De nombreux inhibiteurs de la PK utilisent au moins 45 une de ces liaisons hydrogène. Certains des résidus carbonyle du squelette de la charnière peuvent servir d'accepteurs de liaison hydrogène pour interagir avec un inhibiteur (44).
- **La région de sucre** est une région hydrophile dans la plupart des PK, à l'exception de l'EGFR (49).
- **La poche hydrophobe;** Appelé également poche de sélectivité, elle est exploitée par la plupart des inhibiteurs de kinases à l'exception de l'ATP, cela joue un rôle important dans la sélectivité de l'inhibiteur. (44)
- **Le canal hydrophobe;** Localisé dans le lobe N-terminal, il est induit par l'hélice  $\alpha$ C. Tandis qu'il n'est pas utilisé par l'ATP, le canal peut être exploité pour obtenir une affinité de liaison(49).
- **Dans la région de liaison au phosphate,** le groupe triphosphate de l'ATP est contraint par une boucle riche en glycine. Cette dernière est liée par un ensemble de résidus d'acides aminés basiques impliqués dans le processus catalytique (48).

En générale, les kinases se ressemblent particulièrement lorsque le domaine de la kinase est dans un état actif, et ils sont différents dans la conformation inactive (31).

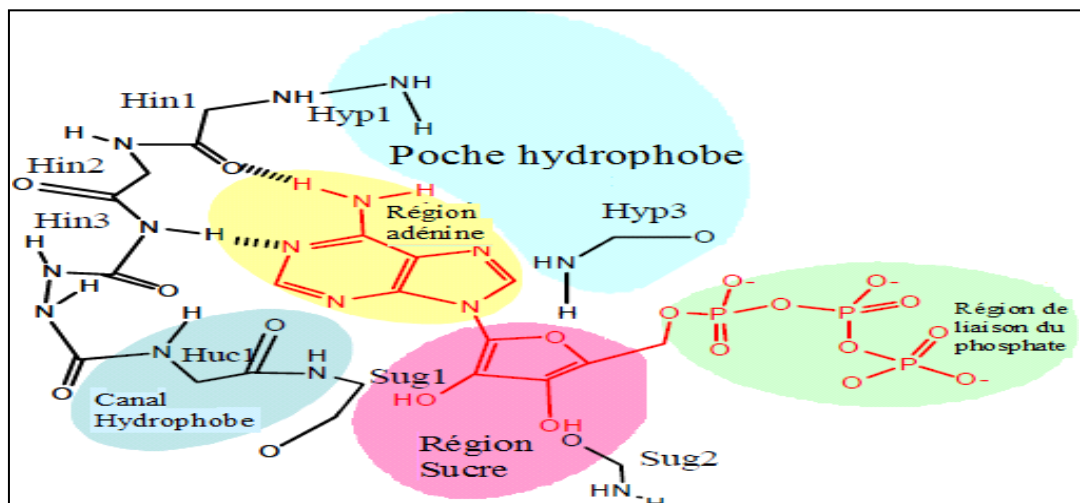


Figure 15 : Le Modèle du site de liaison à l'ATP des protéines kinases (50).

#### 4. Signalisation cellulaire et protéines kinases

Vers la fin des années 1970, il est devenu évident que les protéines ne sont pas simplement traduites au niveau du ribosome puis transformées par la glycosylation, mais ils peuvent être modifiées de manière réversible en réponse à de nombreux stimuli extracellulaires et intracellulaires (51).

Le premier mécanisme trouvé, était la phosphorylation, par laquelle un groupe phosphate est ajouté à des chaînes latérales appropriées portant un hydroxyle sur des sérines et des thréonines ou sur l'hydroxyle phénolique de la tyrosine. Le degré de phosphorylation de toute protéine peut changer de manière spectaculaire avec le temps. Les cellules quiescentes ont de très faibles niveaux de phosphorylation. Une fois optimisées par des mitogènes au cours du cycle cellulaire (52), l'intensification du cycle cellulaire s'accompagne de poussées de phosphorylation intenses et en constante évolution. Ceci suggère que la phosphorylation pourrait être impliquée dans la transduction du signal intracellulaire (53).

Les voies de signalisation régulées par les protéines kinases sont les cibles fréquentes des mutations somatiques, conduisant à de nombreux cancers chez l'homme. Les mécanismes qui entraînent aussi bien une fonction aberrante des protéines kinases qu'une transformation oncogène ultérieure sont:



- des réarrangements génomiques aboutissant à des protéines de fusion oncogènes qui incluent le domaine catalytique de la kinase(52) et une protéine non apparentée qui assure une fonction d'activation/dimérisation constitutive ;
- des mutations de gain de fonction dans les juxtamembranaire ou dans les domaines kinase ou de petites délétions de régions régulatrices(54) ;
- la surexpression avec ou sans amplification génique.
- la perte des contraintes normales auto-inhibitrices et régulatrices de l'activation de la kinase(55).

On sait que plusieurs protéines kinases sont mutées et/ou surexprimées dans le cancer humain. Dans de nombreux exemples à examiner, l'inactivation de plusieurs de ces kinases avec des inhibiteurs exogènes a entraîné un effet antitumoral dans les modèles précliniques de cancer(55). Et surtout, certains de ces agents ont montré une activité clinique prometteuse chez les patients atteints de cancer et sont en développement tardif.

### **5. Implication des protéines kinases dans le cancer**

Jusqu'à la fin des années 1990, les médicaments anticancéreux étaient dirigés vers des enzymes métaboliques (par exemple le méthotrexate), vers l'ADN (cisplatine, gemcitabine, cyclophosphamide) , vers l'ADN topoisomérase (doxorubicine, étoposide, irinotécan, topotécan), aux voies de signalisation hormonales via les récepteurs nucléaires des hormones pour le cancer du sein (par exemple, le tamoxifène) et de la prostate (par exemple, le flutamide)et à la stabilisation des microtubules (par exemple, le paclitaxel). Au cours du dernier siècle, les protéines kinases, en particulier les protéines kinases type tyrosine kinase, sont devenues des cibles de choix pour les interventions contre le cancer. La plupart des signaux extracellulaires à l'origine de la croissance et de la survie des cellules sont amplifiés et transposés à l'intérieur des cellules par trois processus: par l'intermédiaire des tyrosines kinases activées par les récepteurs, par le couplage des récepteurs aux protéines de liaison GTP ou par l'intermédiaire des protéines de liaison GTP, ou par des récepteurs de cytokines (56).

Dans 210 formes de cancers humains, environ 120 kinases ont présenté des mutations capables d'être responsables de la maladie cancéreuse. Le cancer du sang est la première maladie à être traitée par un inhibiteur de kinase, tandis que la majorité des traitements anticancéreux et

des chimiothérapies restent peu ou pas efficaces et sont sanctionnés par de graves effets indésirables. (44)

### **6. Les inhibiteurs des protéines kinases**

Les protéines kinases jouent un rôle central dans la transduction du signal, elles régulent de nombreux aspects de la fonction cellulaire. Leur dysfonctionnement ou leur surexpression sont impliqués dans de nombreuses maladies, c'est pourquoi elles sont devenues des cibles particulièrement intéressantes pour la recherche de nouveaux agents thérapeutiques. Durant les deux dernières décennies, de nombreuses équipes de recherche se sont consacrées à l'identification et au développement d'inhibiteurs de kinases (57) et notamment aux inhibiteurs de Tyr kinases et de quelques Ser/Thr kinases (58).

#### **6.1. Ligand compétitif de l'ATP**

La plupart des inhibiteurs de protéine kinases sont des inhibiteurs compétitifs de l'ATP qui présentent une structure chimique proche du noyau adénine. On trouve de nombreux composés hétérocycliques azotés tels que des quinazolines, des pyrimidines, des pyrrolopyrimidines, des pyrrolopyridines, des pyrazolopyrimidines, etc..... Parmi ces inhibiteurs compétitifs de l'ATP, nombreux sont ceux qui présentent une faible sélectivité du fait du haut degré de conservation du site de liaison à l'ATP à l'intérieur de la famille des protéines kinases. A titre d'exemple, Davies et coll ont examiné la sélectivité de 28 produits commerciaux présentés comme des inhibiteurs relativement sélectifs de Ser/Thr kinase par rapport à d'autres protéines kinases. Les auteurs ont mis en évidence le manque de sélectivité de certains composés qui inhibent plusieurs protéines kinases parfois même mieux que leur cible présumée. (59)

Bien que certains inhibiteurs compétitifs de l'ATP soient peu sélectifs, d'autres, au contraire, sont des inhibiteurs puissants et sélectifs comme par exemple l'Iressa dérivé de quinazoline inhibant l'activité TK du récepteur à l'EGF avec une IC<sub>50</sub> de 23-79 nM. Ce composé est utilisé dans le traitement du cancer des poumons. (60)

Il existe de nombreux inhibiteurs de kinases mimant la structure de l'ATP et peu d'entre eux sont sélectifs. De plus ces inhibiteurs doivent entrer en compétition, dans les cellules, avec des concentrations millimolaires d'ATP. Les inhibiteurs compétitifs de l'ATP sont testés sur un nombre limité de Tyr et Ser/Thr kinases, ainsi ils sont souvent abandonnés lors des essais cliniques à cause de leur toxicité. (58)

### **6.2. Ligands compétitifs du substrat**

Les inhibiteurs entrant en compétition avec le substrat endogène de la kinase sont moins toxiques puisqu'ils se lient à des domaines bien moins conservés que le domaine de liaison de l'ATP et donc interagissent moins avec d'autres protéines (27).

Les premiers inhibiteurs sélectifs de Tyr kinases découverts font partie de la famille des tyrphostines. Ces dérivés de benzyldènemalonitrile ( bloquent efficacement l'EGFR. Ce sont des inhibiteurs entrant en compétition avec le substrat (58).

D'une manière générale, la plupart des inhibiteurs compétitifs du substrat sont des peptides basés sur la séquence peptidique du substrat ou d'un pseudosubstrat dans lesquels le résidu phosphorylable est remplacé par un autre acide aminé non phosphorylable comme l'alanine(dans le cas des Ser kinases) ou encore des dérivés de tyrosine (1- ou 2- naphtylalanine, p-fluoro-,p-guanidino-, p-chlorophénylalanine, D-tyrosine, 3-iodotyrosine, tétrafluorotyrosine..., dans le cas des Tyr kinases) (61, 62).

Les inhibiteurs peptidiques souffrent malheureusement de nombreuses limitations telles qu'une faible biodisponibilité par voie orale (mauvaise absorption), une faible stabilité métabolique face aux peptidases et protéases présentent au niveau gastro-intestinal. Cependant ils constituent de bons chefs de file pour la découverte d'inhibiteurs entrant en compétition avec le substrat et ils restent des outils inestimables pour les études du mécanisme d'action des enzymes (61).

### **6.3. Développement d'un inhibiteur**

#### **6.3.1. Procédure d'identification d'un inhibiteur**

Plusieurs conditions sont généralement considérées avant la sélection d'une kinase en tant que cible thérapeutique contre laquelle des médicaments sont développés (63). Premièrement, la kinase devrait être un oncogène et/ou être à l'origine du développement et du maintien de la tumeur. En plus elle doit être exprimée de manière différenciée dans le tissu tumoral par rapport au tissu sain, elle doit être aussi identifiable dans les tissus cancéreux. Bien que la kinase cible puisse jouer un rôle critique dans la physiologie postnatale ou chez l'adulte, elle devrait fournir une fenêtre thérapeutique (toxicité tumorale). La connaissance structure-fonction de la cible moléculaire doit être maîtrisée afin de développer des inhibiteurs à base de son mécanisme (50).

Une fois qu'une kinase est validée en tant que cible potentielle pour le développement d'un médicament, un criblage de bibliothèques chimiques est effectué pour identifier des inhibiteurs possibles. De nombreuses sociétés pharmaceutiques possèdent d'énormes bibliothèques chimiques composées de centaines de milliers de composés synthétiques. L'identification d'un ou plusieurs d'entre eux en tant qu'inhibiteur candidat nécessite un processus appelé criblage à haut débit (HTS).

Le criblage de composés peut être basé, soit sur la structure cristalline réelle de la poche de liaison d'ATP de la kinase, soit sur un membre de la famille si elle est connue (conception de bibliothèque à base de structure), ou sur la structure de composés déjà connus pour se lier à la poche d'ATP si disponible (conception de bibliothèque à base de ligand) (64).

### **6.3.2. Affinité d'un inhibiteur**

Pour qu'un inhibiteur de protéine kinase ait une chance d'efficacité clinique, il doit se lier à la kinase cible avec une affinité extrêmement élevée que celle de l'ATP, étant donné que l'inhibiteur sera présent à des concentrations typiquement comprises entre moyen et élevé. Cela suggère que les premiers résultats d'un HTS bénéficieront probablement de l'optimisation pour améliorer la puissance et la sélectivité.

L'efficacité du processus d'optimisation est grandement renforcée par l'abondance des informations cristallographiques sur rayons X disponibles pour les familles de kinases. Ainsi, la relation structure-activité de tout composé peut être corrélée à des interactions moléculaires spécifiques du composé avec le site actif de la kinase, ce qui permet d'optimiser la structure de l'inhibiteur. Lorsqu'il n'existe aucune donnée de structure pour une kinase spécifique, la connaissance de la structure d'un autre membre de la famille peut souvent être utilisée pour créer des modèles de liaison à partir desquels des composés optimisés peuvent être synthétisés (65).

L'extrême affinité de liaison de l'inhibiteur avec la poche d'ATP de protéines kinases est nécessaire. Ce qui suggère qu'il est avantageux de les examiner de près, et ce pour déterminer les caractéristiques qui pourraient conférer une spécificité supplémentaire.

### **6.3.3. Sélectivité d'un inhibiteur**

L'inhibition sélective de quelques kinases seulement est essentielle pour minimiser les effets secondaires lorsqu'un médicament est administré aux patients. Les inhibiteurs de kinases

sont systématiquement criblés contre une bibliothèque de kinases, et un degré de discrimination d'au moins 100 fois par rapport à la plupart des autres kinases est généralement requis pour que le composé soit considéré comme un candidat médicament. Ces cribles ont montré que de nombreux inhibiteurs étaient beaucoup moins spécifiques que ce qui avait été rapporté au premier lieu (66). La staurosporine, par exemple, est un puissant inhibiteur d'au moins 44 protéines kinases mais il est trop toxique pour être utilisée en clinique. Une petite modification donne un composé plus spécifique, la 7-hydroxy-staurosporine (UCN-01), qui est entré dans les essais cliniques comme inhibiteur de Chk1.

Un récent criblage de 156 inhibiteurs de kinases validés, dont beaucoup sont en cours d'essais cliniques, contre une bibliothèque de 60 protéines kinases Ser/Thr en utilisant un test de décalage de stabilité thermique a révélé de nombreuses réactivités croisées inattendues, dont certaines pourraient indiquer d'autres cibles pour les composés qui avaient passé le test de toxicité. Fabian et al. (66) ont montré une large spécificité pour 20 inhibiteurs de kinases lors du criblage contre un panel de 119 protéines kinases. Par exemple, l'inhibiteur puissant et spécifique de la kinase Ser/Thr p38 BIRB-796 s'est révélé se lier à la tyrosine kinase ABL résistante à l'imatinib, et l'inhibiteur de la kinase aurora l'inhibiteur de la kinase aurora VX-680/MK-0457 a également une activité contre l'ABL résistant aux médicaments, avec des applications dans les essais cliniques (56).

Certains médicaments approuvés (par exemple, le sunitinib, le dasatinib) ont une sélectivité relativement faible mais sont néanmoins efficaces pour un usage clinique. La connaissance des profils des cibles devrait permettre d'évaluer soigneusement quel médicament ou quelle combinaison de médicaments devrait être utilisé dans une situation particulière afin de mieux exploiter tout le potentiel de chaque médicament (56).

### **III. Lumière sur la famille Protéines Tyrosines Kinases**

#### **1. Classification**

Les Tyr kinases (TK) phosphorylent le groupement hydroxyle de certains résidus tyrosine de protéine-substrats. Certaines de ces protéines TK sont membranaires et présentent la propriété de récepteurs-enzymes, les autres sont cytosoliques.

### 1.1. Les Tyrosines Kinases cytosoliques

Appelées également les Non-Récepteurs Tyrosine Kinase (nRTK). Cette classification concerne les protéines évoluant dans le cytosol de la cellule (phase liquide du cytoplasme), plus précisément, au niveau de la surface interne de la membrane plasmique (67).

Cette subdivision qui fut découverte avant les Récepteurs Tyrosine Kinases (RTK) comporte les 10 sous-familles suivantes: ABL, ACK, CSK, FAK, FES, FRK, JAK, SRC, SYK et TEC dont la famille SRC est la première famille découverte avec l'oncogène du virus du Sarcome de Rous. Ces tyrosines sont impliquées dans les interactions de type protéine-protéine, protéine-lipide et protéine-ADN. Elles jouent un rôle majeur dans les voies de signalisation et doivent se trouver capables de détecter la phosphorylation d'une autre protéine en amont ainsi que son changement conformationnel. Les domaines de ces protéines activant les cascades signalétiques intercellulaires se présentent comme (67) :

- **Le domaine SH2** : permet la reconnaissance spécifique de séquences peptidiques contenant une tyrosine phosphorylée. Ce domaine d'une centaine d'acides aminés contient deux poches de fixation constituées de feuillets  $\beta$ . La première poche contient une arginine conservée (l'arginine  $\beta$ B5) qui entre en interaction avec une tyrosine phosphorylée. Cette poche est trop profonde pour permettre l'interaction avec une phosphosérine ou une phosphothréonine. Une seconde poche en aval est spécifique du peptide ou de la protéine phosphorylée (68).
- **Le domaine SH3** : constitué de 3 sous-sites, S0, S1 et S2, comprenant près de 60 acides aminés, ce domaine affiche une spécificité pour des peptides possédant des prolines. Afin d'établir une interaction, le sous-site S2 fixe une arginine près de la région contenant les prolines (67).
- **Le domaine PH (Pleckstrin Homology)** : afin d'encadrer les protéines vers la membrane plasmique, ce domaine permet la fixation aux lipides phosphatidylinositol (67).

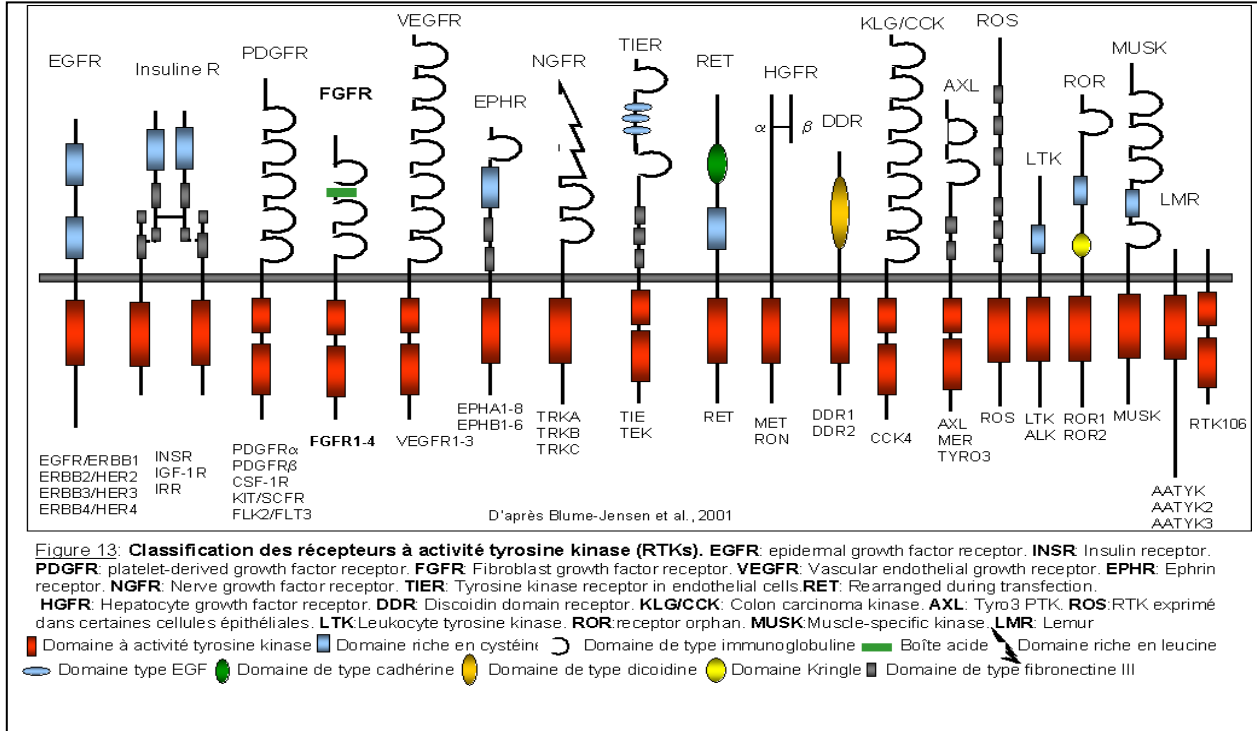
Les TK cytosoliques interviennent dans différents processus cellulaires tels que la différenciation, la division cellulaire, la synthèse d'ADN, la migration cellulaire, activation lymphocytaire... c'est pourquoi leur dérèglement (surexpression par exemple) conduit à des





phosphorylation de nombreuses protéines cytoplasmiques qui modifierait le métabolisme cellulaire (38).

Les différentes sous-familles des RTKs sont représentées dans le schéma qui suit :



**Figure 17 :** Structure des différentes sous-familles de RTK connues chez l'homme (53).

## 2. Voies de signalisation transduites par les RTK

L'ensemble des voies médiées par les RTK constitue un réseau de signalisation très dense dont la description ne cesse d'évoluer en particulier à cause des nouvelles modélisations dynamiques prenant désormais en compte la notion spatio-temporelle (71).

Pour simplifier la signalisation des RTK, nous pouvons considérer les voies de signalisation Ras/MAPK et PI3K/PKB (AKT) (Planche 11-Figure 1). La voie Ras/MAPK semble purement orientée vers le développement et/ou la croissance cellulaire alors que la voie PI3K/PKB (AKT) prend en compte des phénomènes liés au métabolisme avec des synthèses d'acide gras, des synthèses de glycogène, ou encore la translocation des transporteurs de glucose dans le cas particulier des IR. Dans les faits, ces deux voies qui ont des effets pléiotropes sur la cellule, sont plus imbriquées qu'on ne le pense (72).

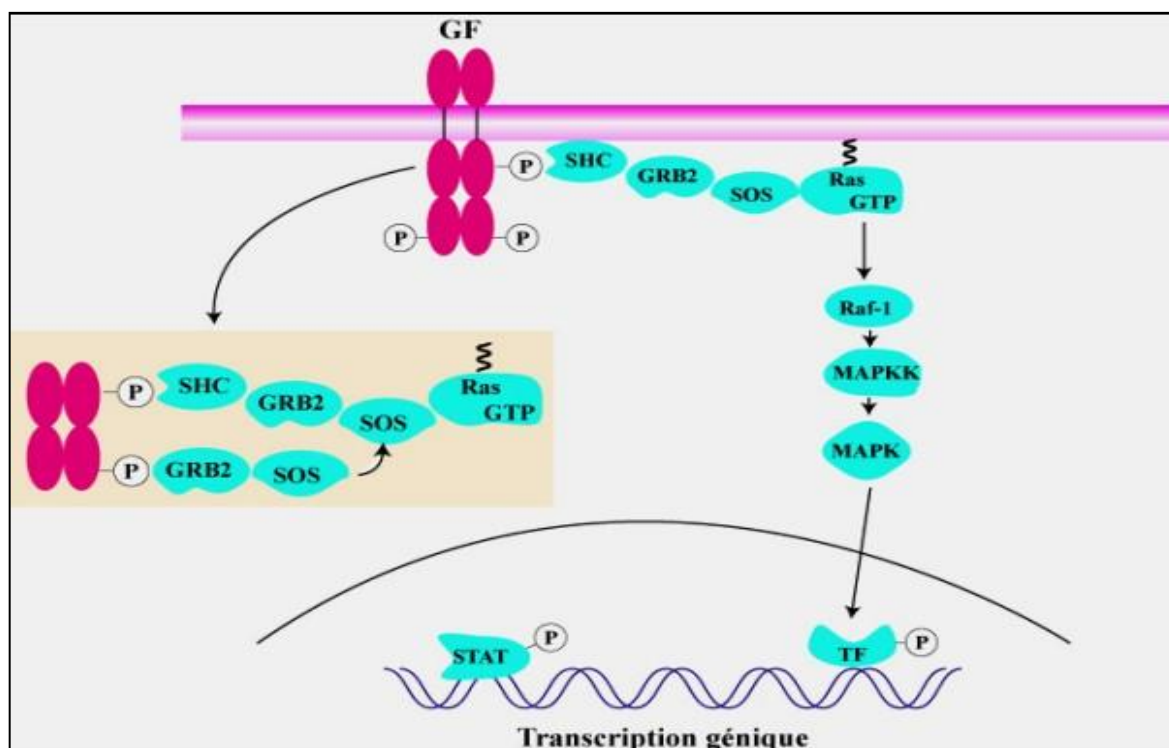


### 2.1. La voie RAS/MAPK

Le RTK activé recrute Grb2, soit directement, soit par l'intermédiaire de la protéine adaptatrice Src. Grb2, à son tour interagit avec la protéine SOS, qui va elle-même interagir avec la petite protéine G Ras ancrée sous la membrane plasmique. SOS qui est un échangeur de guanine nucléotide, va apporter un GTP à Ras lui permettant de s'activer et d'enclencher la cascade des MAPK avec RAF comme initiateur.

A l'issue de la cascade des MAPK, ERK1 et 2 activées vont stimuler divers facteurs de transcription comme le complexe AP1 constitué des facteurs de transcription c-fos et c-jun (73). Les expressions de gènes sont diverses et variées mais vont généralement dans le sens de la prolifération cellulaire, ce qui fait que la voie Ras/MAPK est à l'origine d'un grand nombre de processus cancéreux quand son activation est incontrôlée (74).

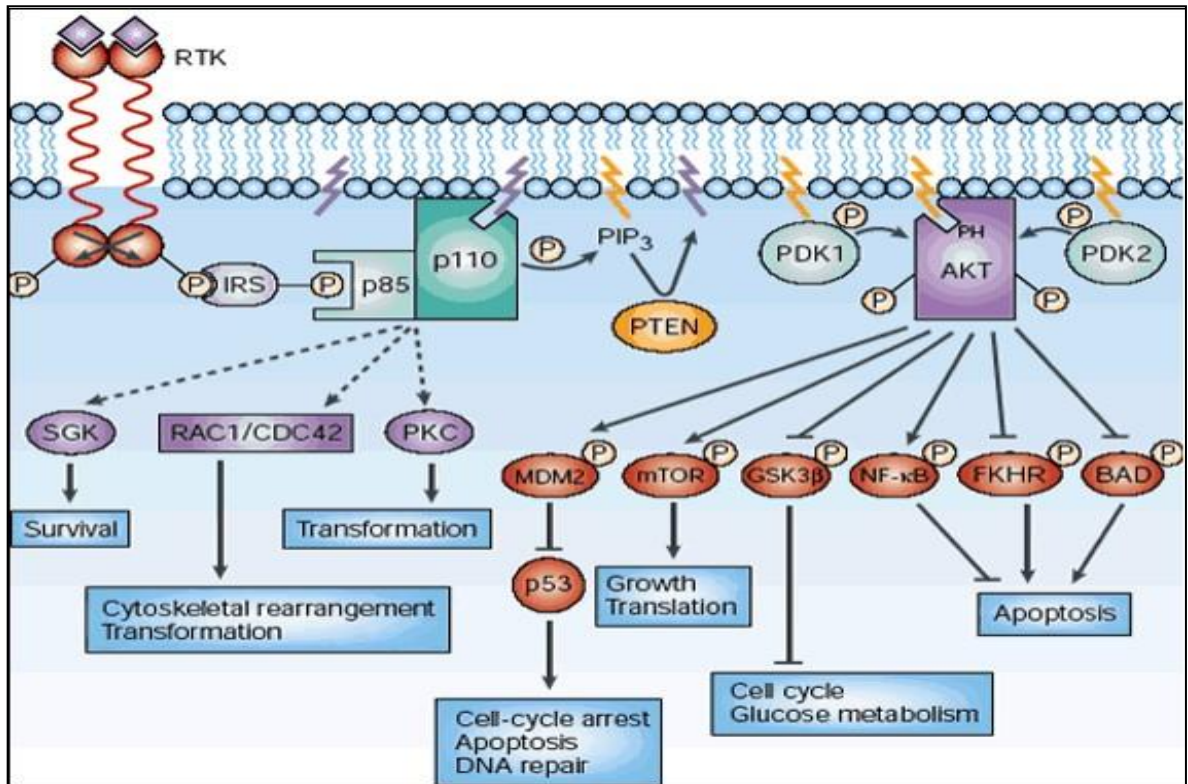
Il est important de noter que les partenaires de voies MAPK ne sont pas libres dans le cytoplasme mais spécifiquement rattachés à certains compartiments cellulaires par des protéines de conformation (75). De plus la protéine Ras a l'origine des voies MAPK a été détectée par FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer), dans 35 différents compartiments cellulaires comme l'appareil de golgi ou encore les compartiments endosomaux (76).



**Figure 18 :** Voie des MAP kinases : activation intranucléaire, rôle dans la croissance et la différenciation (77).

## 2.2. La voie PI3K/PKB

Les RTK recrutent généralement des protéines adaptatrices menant vers ce type de voie. Par exemple les IR ou les IGF-R recrutent des adaptateurs particuliers de type IRS (Insulin Receptor Substrate). La phosphorylation de ces adaptateurs permet l'activation de la PI3K, qui va à son tour, phosphoryler le phosphatidylinositol (PI) pour produire des seconds messagers tels que le PIP3. Le PIP3 active diverses protéines telle que la PDK1 (phosphoinositide-dependent kinase-1) à l'origine de l'activation de PKB/AKT. Ensuite, la FKHR (Forkhead homolog of rhabdomysarcoma), la GSK-3 (glycogen synthase kinase-3) ou encore mTOR (mammalian Target Of Rapamycin) sont activées. Dans la plupart des cas des phénomènes liés au métabolisme comme la synthèse de protéines, d'acides gras ou la translocation des transporteurs de glucose Glut4 sont observés (78).



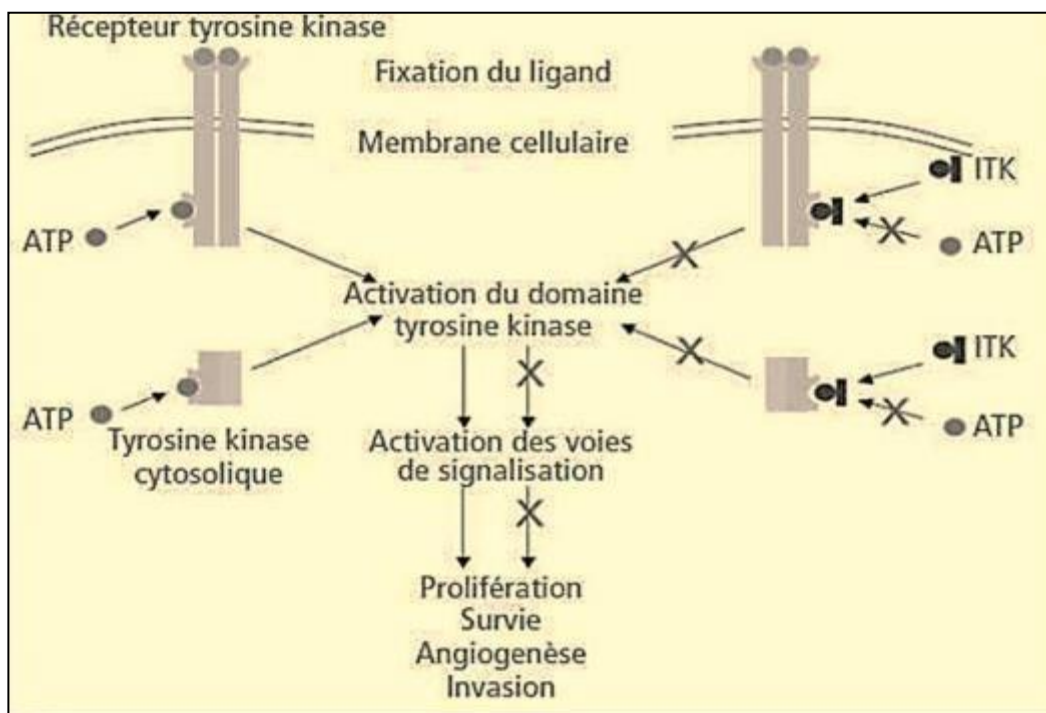
**Figure 19 :** Voie de signalisation initiée par PI-3K (79).

### 3. Les inhibiteurs Tyrosines Kinases

Les inhibiteurs de tyrosine kinases (ITK) constituent la deuxième classe de thérapies ciblées. Contrairement aux anticorps monoclonaux qui sont des glycopeptides, injectables de haut poids moléculaire ciblant essentiellement les domaines extracellulaires des récepteurs tyrosine kinase (RTK). Les ITK sont des petites molécules hétérocycliques de faible poids moléculaire (400-600 g/mol), administrées par voie orale (80). Elles diffusent à travers la membrane cellulaire et ciblent la partie intracellulaire des récepteurs à activité tyrosine kinases et les tyrosines kinases cytoplasmiques (81).

#### 3.1. Mécanismes d'action des ITKs

Les inhibiteurs de tyrosine kinase traversent la membrane plasmique des cellules, par diffusion passive (80), et se fixent de manière compétitive (figure 22) sur les sites de liaisons de l'ATP bloquant ainsi l'activation des sites tyrosine kinase. Par voie de conséquence, la signalisation cellulaire en aval est interrompue, rétablissant ainsi le contrôle de la prolifération de la survie cellulaire. Dans les tumeurs solides, cette inhibition de TK a des conséquences sur l'angiogénèse la diffusion métastatique, la prolifération et l'apoptose (82).



**Figure 20 :** Mode d'action des inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK) (82).

### **3.2. Principales cibles thérapeutiques**

Les principales cibles ayant abouti au développement d'inhibiteurs de tyrosine kinase sont Bcr-Abl, les récepteurs de la famille de l'Human Epidermal Growth factor receptor (HER), les récepteurs au Platelet Derived Growth Factor (PDGFR) et au Vascular Endothelial Growth Factor (VEGFR) (82).

#### **a) Bcr-Abl**

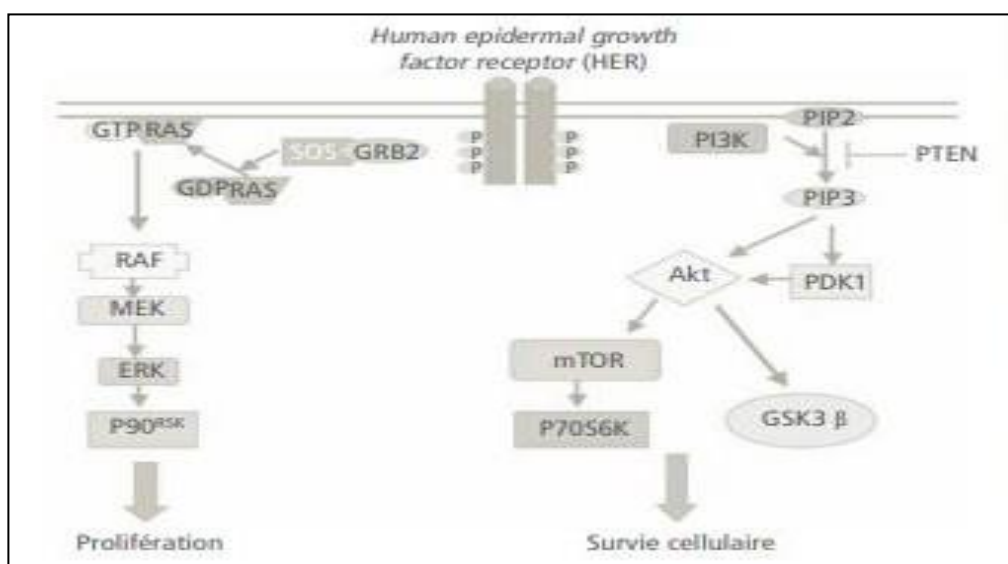
La translocation t(9;22), ou chromosome Philadelphie (Ph), est une anomalie cytogénétique caractéristique détectée dans 95 % des cas de leucémie myéloïde chronique (LMC) et 15 à 30% des leucémies aiguës lymphoblastiques de l'adulte (LAL) (83). Cette translocation aboutit à la formation de l'oncogène Bcr-Abl par fusion du gène BCR du chromosome 22 avec la tyrosine kinase ABL du chromosome 9. Ce gène de fusion est traduit en deux formes de protéine tyrosine kinase : p190 (Bcr-Abl) et p210 (Bcr-Abl). Il en résulte une importante dérégulation de la signalisation intracellulaire, avec une augmentation massive de la capacité de prolifération et de résistance à l'induction d'apoptose des cellules souches hématopoïétiques et des progéniteurs. L'identification de ce défaut pathogénétique moléculaire a abouti au développement d'agents thérapeutiques, dont l'imatinib (Glivec®) est le chef de file, capables d'inhiber spécifiquement la protéine tyrosine kinase Bcr-Abl (84).

#### **b) Human epidermal growth factor receptors (HER)**

La famille des récepteurs à l'EGF, appelée HER, comporte quatre membres: l'EGFR ou HER1, cErbB2 ou HER2, HER3 et HER4 (85). La liaison d'un ligand sur ces récepteurs est nécessaire pour provoquer la dimérisation (homo- ou hétérodimérisation) et l'autophosphorylation (86). Seul HER2 n'a pas besoin de ligand et est en permanence sous une forme permettant la dimérisation.

Une fois phosphorylés, ces récepteurs activent diverses voies de signalisation intracellulaires, dont les deux principales sont la voie Raf/Ras/MAP kinase et la voie PI3 kinase/AKT (figure 2). Cette signalisation est impliquée dans de nombreux processus néoplasiques comme la progression dans le cycle cellulaire, l'inhibition de l'apoptose, la motilité cellulaire, l'invasion. Ces voies de signalisation activent également la production de VEGF, qui est l'élément clé de l'induction de l'angiogenèse (87). La dérégulation de la signalisation issue des récepteurs HER est impliquée dans l'oncogenèse (88). Des mutations aboutissant à une

activation constitutive ou à la surexpression des récepteurs sont retrouvées dans de nombreuses formes de cancer, parmi lesquelles les cancers du sein, des poumons, des ovaires et des reins. Ces mutations sont associées à des formes plus agressives des tumeurs (88). Des surexpressions de l'EGFR sont retrouvées dans la majorité des cancers des poumons, de la tête et du cou, et du côlon, qui sont parmi les cancers les plus fréquents dans le monde. De même, la surexpression des récepteurs HER2 est retrouvée à une fréquence élevée et est associée à un mauvais pronostic dans les cancers du sein et de l'ovaire. Ces éléments justifient que des efforts considérables aient été mis en œuvre pour développer des inhibiteurs spécifiques de ces récepteurs comme le gefitinib (Iressa®) l'erlotinib (Tarceva®) et le tapatinib (Tyverb®) (82).



**Figure 21 :** Voies de signalisation en aval des récepteurs de la famille des HER (82).

### c) Vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR)

L'angiogenèse est un processus complexe qui survient dans de nombreux états physiologiques et physiopathologiques. Elle consiste en un remodelage d'un réseau vasculaire primitif (89, 90). Le VEGF en est l'élément clé. Il est sécrété par la plupart des tumeurs solides et le stroma en situation d'hypoxie. Il est hautement spécifique vis-à-vis de l'endothélium vasculaire et régule à la fois la prolifération et la perméabilité vasculaires. Un niveau excessif de VEGF est corrélé à une densité microvasculaire accrue et représente un facteur de mauvais pronostic, avec des rechutes plus fréquentes et une survie moindre (91).

Il y a six ligands différents pour le VEGFR, notés de VEGF-A à VEGF-E et facteurs de croissance placentaire. Les ligands se fixent spécifiquement sur des récepteurs situés sur les cellules endothéliales, principalement le VEGFR-2 (FLK-1/KDR) mais aussi le VEGFR-1 (FLT-1) et le VEGFR-3. La liaison du VEGF-A au VEGFR-1 provoque la migration des cellules endothéliales. L'activation du VEGFR-2 provoque la prolifération des cellules endothéliales, leur perméabilité et leur survie. Le VEGFR-3 est, quant à lui, impliqué plus probablement dans la lymphangiogenèse. La liaison du VEGF au VEGFR-2 induit l'activation et l'autophosphorylation des domaines tyrosine kinase intracellulaires et déclenche la signalisation cellulaire en cascade. Ainsi, le développement de molécules destinées à bloquer l'activation des VEGFR permet de contrôler l'angiogenèse et, par voie de conséquence, la prolifération tumorale (91, 92).

### **d) Platelet-Derived Growth Factor Receptor (PDGFR)**

Le PDGFR est un récepteur tyrosine kinase membranaire dont l'activation par le PDGF stimule de nombreuses fonctions cellulaires, parmi lesquelles la croissance, la prolifération et la différenciation (93). Il existe deux types de PDGFR, notés PDGFR $\alpha$  et PDGFR $\beta$ . Leur activation aboutit à la transformation cellulaire et à la génération d'un signal mitotique. Les deux types de récepteurs sont fréquemment surexprimés dans de nombreuses tumeurs solides mais également dans le stroma (93). Ces caractéristiques font du PDGFR une cible importante pour le développement d'agents thérapeutiques spécifiques.

### **e) Le facteur de transition mésenchymal-épithélial (c-Met)**

Le facteur de transition mésenchymal-épithélial (c-Met) est un membre de la famille des récepteurs à tyrosine kinase (RTK). Il est codé par le proto-oncogène MET qui a été identifié dans une lignée cellulaire d'ostéosarcome humain en 1984 (94). Néanmoins, l'expression de MET a été observée dans les cellules endothéliales, les cellules hématopoïétiques, les hépatocytes et les cellules neurales (95). MET est un hétérodimère avec une sous-unité  $\alpha$  extracellulaire liée par un pont disulfure à une sous-unité  $\beta$  transmembranaire. La région extracellulaire de MET contient plusieurs domaines structuraux et fonctionnels (96).

Lorsque le c-Met se lie à son ligand, le facteur de croissance des hépatocytes (HGF) active un large éventail de voies de signalisation cellulaire différentes, y compris celles impliquées dans la prolifération, la motilité, la migration et l'invasion (94). Cette activation de c-Met entraîne la dimérisation du récepteur et une autophosphorylation des résidus tyrosine en



position 1234 et 1235. Le c-Met phosphorylées favorisent l'activation des voies de signalisation en aval telles que les voies de signalisation PI3K/Akt, Ras/MAPK et c-Src (97). La voie de signalisation c-Met/HGF joue un rôle significatif dans la prolifération cellulaire, la mortalité, la survie, la morphogenèse de la réparation des tissus, la cicatrisation des plaies et la régénération du foie (97). Bien que ces activités soient essentielles au développement des cellules de mammifères, elles sont également liées à la progression du cancer, comme l'invasion, la prolifération et le développement des cellules (98).

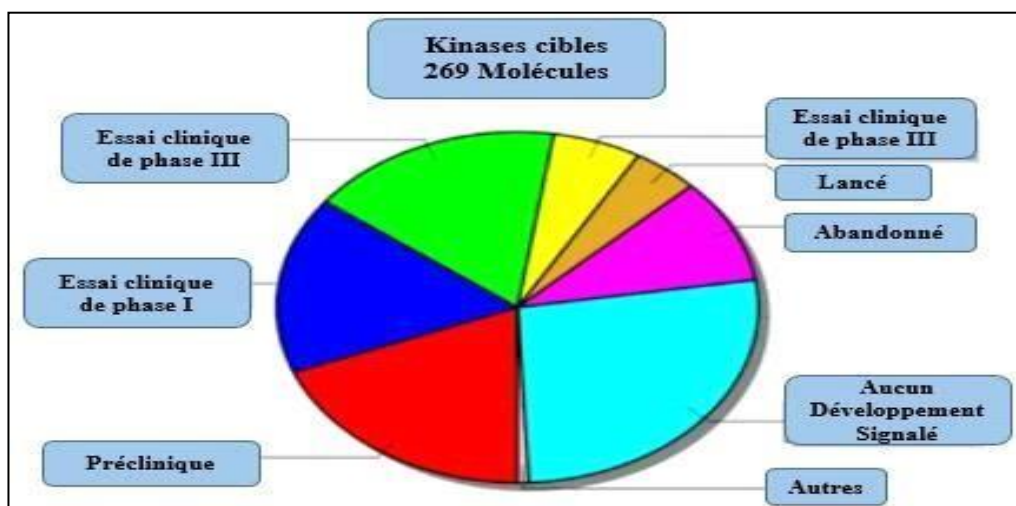
### **3.3. Stratégie multicible**

Une des caractéristiques notables des TKI est leur absence de spécificité absolue vis-à-vis d'une cible, car les structures des sites actifs des récepteurs à tyrosine kinase sont très proches les unes des autres. Cette absence de spécificité peut être utilisée pour des ciblage multiples comme pour les TKI ciblant la grande famille HER. La majorité des TKI sont multicibles (99).

Les inhibiteurs de kinase agissent selon un mode compétitif avec l'ATP pour bloquer la phosphorylation des sites tyrosine kinase intracellulaires. Leur spécificité est directement liée à leur affinité pour une protéine cible prédéfinie. C'est pourquoi la plupart des inhibiteurs de tyrosine kinase sont capables de bloquer, à des degrés différents, plusieurs protéines cibles (100). C'est également en jouant sur ce paramètre que la synthèse de composés capables d'inhiber la phosphorylation de plusieurs protéines cibles a été envisagée et a abouti au développement de molécules capables d'interagir avec plusieurs protéines tyrosine kinase, qu'elles soient directement apparentées, comme par exemple plusieurs types de récepteurs de la même famille, ou non. Cette approche permet d'envisager, avec une seule molécule thérapeutique, de bloquer dans un premier cas toute possibilité d'échappement par le recrutement de voies de signalisation annexes. C'est, par exemple, le concept à la base du développement du lapatinib (Tyverb®). Dans un second cas, une stratégie multicible permet d'inhiber plusieurs processus impliqués dans le développement tumoral. Ainsi, par exemple, pouvons-nous disposer actuellement d'inhibiteurs de tyrosine kinase dirigés contre les récepteurs à l'EGF et les récepteurs au VEGF, comme le vandetanib (ZD6474), qui renforce par ses effets anti-angiogéniques l'efficacité d'un traitement anti-EGFR. Parmi les TKI à cible unique, il y a les inhibiteurs du récepteur à l'EGF (géfitinib, erlotinib). Leur affinité pour l'EGFR est prépondérante par rapport aux autres cibles HER (101).

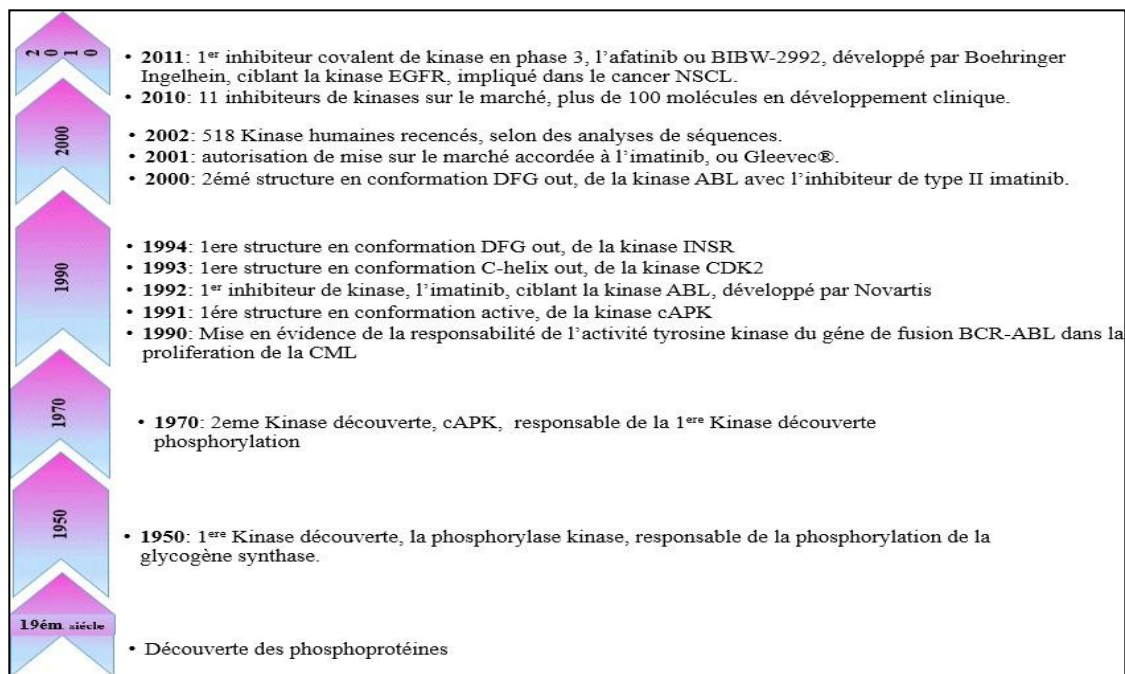
### 3.4. Médicaments inhibiteurs des tyrosines kinases

A ce jour une quinzaine de kinases sont des cibles principales de médicament qui sont en vente sur le marché. Et plus de cent quarante (102) kinases sont les cibles de molécules entre la phase préclinique et la phase clinique 3 (103), comme il est présenté dans la figure 22. Onze (11) inhibiteurs de kinases sont actuellement commercialisés: l'imatinib, erlotinib(Tarceva®), FasudilR, sorafenib(Nexavar®), gefitinib(Iressa®), rapamycine(Rapamune®), sunitinib(Sutent®), dasatinib(Sprycel®), lapatinib(Tykerb®), nilotinib(Tasigna®), et son analogue tensirolimus(Torisel®) (104) (105). Alors que plus d'une centaine d'inhibiteurs sont actuellement en phases de développement clinique 1 à 3. La figure 23 montre la chronologie des découvertes des protéines kinases et du développement d'inhibiteurs.



**Figure 22 :** La distribution de molécules administrables oralement, ciblant des protéines kinases dans les différentes étapes de développement d'un médicament (44).





**Figure 23 :** La chronologie des découvertes importantes sur les protéines kinases et le développement d'inhibiteurs (44).

### a) L'imatinib : Glivec®

L'imatinib est un inhibiteur compétitif très puissant et sélectif des tyrosines kinases BcrAbl *in vitro* et *in vivo* (106). C'est le premier médicament anticancéreux de la catégorie des anti-tyrosines kinases (107). Il est indiqué dans le traitement des patients atteints de leucémie myéloïde chronique (LMC) à chromosome Philadelphie positif (Ph<sup>+</sup>) nouvellement diagnostiquée ou en phase chronique après échec du traitement par l'interféron alpha, ou en phase accélérée ou en crise blastique (81). Le produit inhibe sélectivement la prolifération et induit une apoptose dans les lignées cellulaires Bcr-Abl positives ainsi que dans les cellules leucémiques fraîches provenant de patients atteints de LMC ou de leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) Ph<sup>+</sup>.

L'imatinib est également un inhibiteur des tyrosines kinases du PDGFR et de c-kit, et il inhibe les processus cellulaires contrôlés par le PDGF et le stem cell factor (SCF). *In vitro*, l'imatinib inhibe la prolifération et induit une apoptose des cellules de tumeur stromale gastro-intestinale (GIST), qui expriment une mutation activatrice de kit 1 (108).

### **b) Dasatinib : Sprycel®**

Le DASATINIB est un dérivé pyrimidinique, qui a un mécanisme d'action semblable à celui de l'imatinib, il inhibe l'activité de la kinase BCR-ABL, des kinases de la famille SRC, d'un certain nombre d'autres kinases oncogènes sélectives dont le c-KIT, des récepteurs de l'éphrine (EPH), et du récepteur  $\beta$  du PDGF. Dasatinib est un inhibiteur puissant de la kinase BCR-ABL agissant à des concentrations sub-nanomolaires de 0,6-0,8 nM. Il se lie aussi bien à la forme active qu'à la forme inactive de l'enzyme BCR-ABL. Son intérêt clinique est d'être efficace dans certaines formes de leucémies résistantes à l'imatinib (109).

### **c) Erlotinib : Tarceva®**

L'erlotinib est un inhibiteur de la tyrosine kinase du récepteur du facteur de croissance épidermique humain de type 1, l'epidermal growth factor receptor (EGFR), également connu comme HER1 (110, 111). Il est indiqué dans le traitement des formes localement avancées ou métastatiques du cancer bronchique non à petites cellules (CBNPC) après échec d'au moins une ligne de chimiothérapie.

### **d) Sunitinib : Sutent®**

Le sunitinib est un inhibiteur de tyrosine kinase multicible pourvu d'activités antitumorale et antiangiogénique. Le sunitinib est un inhibiteur puissant de la phosphorylation des récepteurs au VEGF (VEGFR1 et VEGFR2) et du récepteur FLT3 ainsi que de la kinase c-KIT et des récepteurs au PDGF alpha et bêta (PDGFR $\alpha$  et PDGFR $\beta$ ). Il est indiqué dans le traitement des tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST), en cas d'intolérance ou de résistance à un traitement bien conduit par l'imatinib. Chez les patients n'ayant pas répondu à l'imatinib à la posologie habituelle de 400 mg par jour, des réponses ont été obtenues en augmentant la posologie journalière jusqu'à 800 mg. Le sunitinib est également indiqué dans les cancers du rein métastatiques après échec d'un traitement à base de cytokine (112).

## *CHAPITRE III*

### *Généralités sur la Modélisation Moléculaire*

*Ne te demande pas où la route va te conduire. Concentre-toi sur le premier pas.*

*C'est le plus difficile à faire.*

*-Shams Tabrizi-*

## I. Introduction

Le médicament fait l'objet d'un cycle de vie extrêmement long et fastidieux, passant par plusieurs étapes réglementées permettant d'assurer sa qualité, sa sécurité et son efficacité auprès des patients situés en fin de chaîne (113).

Les scientifiques ont historiquement découvert de nouveaux médicaments en copiant ou en s'inspirant de la nature (le cas, par exemple, de la quinine ou des salicylates) ou par sérendipité (l'un des exemples les plus connus étant celle de la pénicilline ou du sildénafil). La pharmacologie empirique occupa ensuite une place importante dans la découverte de nouveaux médicaments : l'utilisation des substances issues de chimiothèques sur des cellules ou des organismes dans l'espoir d'y observer un quelconque effet thérapeutique fut l'une des manières de procéder des plus répandues à l'époque (113).

Récemment, La recherche de candidats médicaments s'oriente vers une étude du potentiel de la diversité chimique disponible, dans des banques ou bibliothèques de molécules (chémothèques). Cette approche moderne est basée principalement sur des techniques dites chémo-informatique, discipline et outils de recherche, d'exploitation et de description de la relation entre la structure et les propriétés biopharmaceutiques et pharmacologiques (114). Ce processus est appelé Drug Design Rationnel ou conception du médicament et peut être défini par un ensemble de processus inventifs capables de trouver de nouveaux médicaments basés sur les connaissances de cibles biologiques. Il peut être exploré par la modélisation moléculaire et la conception de nouvelles molécules à l'aide des outils informatiques.

## II. La modélisation moléculaire

La modélisation moléculaire est la description des molécules et de leurs interactions dans l'espace à l'aide de calculs. Pour chaque structure, on peut calculer une énergie et la structure moléculaire la plus probable correspond à celle ayant l'énergie potentielle la plus basse. Les méthodes de calculs utilisées peuvent être classées en deux groupes selon la molécule étudiée (115):

- **la mécanique quantique**, qui permet une description relativement précise des systèmes de petites tailles (environ 100 atomes) tels que les molécules organiques. C'est l'étude de la structure électronique, de la liaison et réactivité chimique. Elle est basée sur la résolution de l'équation de Schrödinger, une équation différentielle fonction des coordonnées électroniques du système (115).

- **La mécanique moléculaire**, qui permet une description plus approximative des systèmes de grandes tailles (plus de 1000 atomes) telles que, les protéines, l'ADN, l'ARN et bien d'autres. Ici, le système est simplifié. On assimile les atomes à des sphères chargées, les liaisons covalentes à des ressorts et l'énergie potentielle du système est donnée à travers l'expression d'un champ de force (115).

### III. La Mécanique Quantique (MQ)

La chimie quantique est une branche de la chimie théorique (116), qui applique les notions de la mécanique quantique aux systèmes moléculaires afin d'étudier les propriétés et les processus chimiques (117). Le comportement électronique et nucléaire d'une molécule est responsable de ces propriétés chimiques (118). Il ne peut être entièrement décrit qu'à partir de l'équation quantique du mouvement (équation de Schrödinger) (119) et d'autres hypothèses de base de la mécanique quantique (120). Cette nécessité a favorisé le développement de concepts (en particulier les orbitales moléculaires) et d'autres méthodes de calcul numérique (121), ces outils ont permis à la chimie moderne de faire des progrès importants dans la compréhension des phénomènes (122).

En 1925, le physicien autrichien Erwin Schrödinger a établi une équation (ci-après dénommée « Equation de Schrödinger ») dont la résolution peut déterminer la fonction d'onde du système à l'étude. Cette équation constitue l'hypothèse de base de la chimie quantique (123).

#### 1. L'équation de Schrödinger

Pour un système avec N particules qui évoluent dans le temps, il faut utiliser la formule suivante pour déterminer la fonction d'onde  $\Psi(\mathbf{r}, t)$  (124) :

$$\hat{H}\Psi(\mathbf{r}, t) = i\hbar \frac{\partial \Psi(\mathbf{r}, t)}{\partial t}$$

C'est ce qu'on appelle l'équation de Schrödinger dépendante du temps. La fonction d'onde est également appelée fonction d'onde dépendante du temps. Dans cette équation,  $\mathbf{r}$  définit les coordonnées spatiales de toutes les particules du système, et  $\hat{H}$  représente l'hamiltonien du système étudié (lié à l'énergie totale) (125). Il s'agit de la somme de l'énergie cinétique et des opérateurs énergétiques potentiels.

### IV. La Mécanique Moléculaire (MM)

Les méthodes de modélisation moléculaire basées sur la mécanique quantique présentent un inconvénient majeur : le temps de calcul est très coûteux, elle ne convient donc qu'aux systèmes moléculaires à contraintes de taille. Enfin, le temps nécessaire pour traiter le système par la méthode ab-initio est approximativement proportionnel à la quatrième puissance du nombre d'électrons qu'il contient, car la mécanique moléculaire ne considère que les positions atomiques dans l'énergie du système (126).

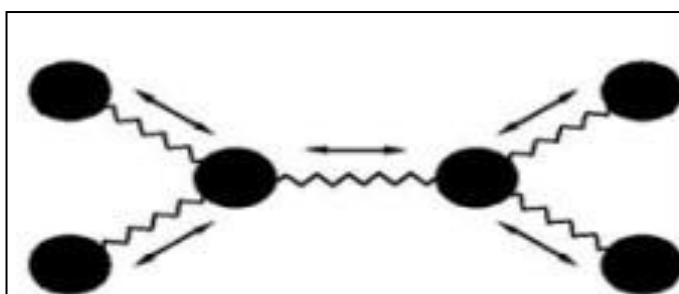
Le terme « mécanique moléculaire » est actuellement une méthode de calcul largement utilisée qui permet d'obtenir des résultats de géométrie moléculaire et d'énergie basés sur la mécanique classique. L'idée de base de cette méthode a été proposée par Andrews en 1930, dans laquelle une forme simple et facile à calculer peut être utilisée pour écrire les forces qui contrôlent l'interaction entre les atomes liés et non liés (127). En 1956, grâce au développement des ordinateurs, Westheimer a terminé avec succès le premier calcul de mécanique moléculaire (128). Par la suite, Hendrickson, Schleier et Allinger (129) ont fait des progrès importants. Ce concept a été mis en avant lorsque les gens avaient déjà reconnu la théorie quantique des liaisons chimiques, et lorsque l'ordinateur a effectué le premier calcul quantique des molécules organiques. La mécanique moléculaire n'est pas donc une méthode de chimistes théoriciens, mais développée par une communauté de spectroscopistes. A cette époque, les gens se sont rendu compte que la fréquence d'absorption IR peut correspondre à la vibration d'une liaison d'une molécule (130).

Les chimistes peuvent utiliser la mécanique moléculaire (parfois appelée « calculs de champ de force ») pour étudier la structure 3D des molécules et les propriétés physicochimiques associées. Il s'agit d'une méthode non quantique obtenue en adaptant les résultats expérimentaux à des fonctions mathématiques simples. En particulier, la mécanique moléculaire peut étudier un large éventail de propriétés, qui décrivent une série d'énergies expliquant les interactions intramoléculaires et intermoléculaires (131). Pour chaque contribution, lorsqu'une variable (par exemple, longueur de liaison ou angle de valence) s'écarte de sa valeur de référence, une pénalité énergétique sera imposée. Ces variables de calcul sont les coordonnées internes du système : longueurs des liaisons, angles de valence, angles dièdre et distances entre les atomes non liés.

Chaque coordonnée est définie par la disposition des atomes, et la fonction d'énergie apportée par chaque écart déterminé dépend de la distance ou de l'angle (132). Les calculs de

mécanique moléculaire conduisent à la disposition des atomes de manière à minimiser la somme de toutes les contributions énergétiques, et les résultats concernent principalement la géométrie et l'énergie du système (133).

La mécanique moléculaire est une méthode empirique dans laquelle les atomes (noyaux) sont représentés par des masses ou des sphères et sont liés par des ressorts de différentes forces. Les valeurs de ces forces sont obtenues par la méthode ab-initio, ou par des données expérimentales de spectroscopie vibrationnelle ou de diffraction des rayons X. En calculant toutes ces forces, l'énergie moléculaire peut être obtenue et la structure tridimensionnelle peut être déterminée (134).



**Figure 24:** Représentation mécanique d'une structure moléculaire (135).

L'idée principale de cette méthode est d'établir un modèle mathématique "champ de force" en sélectionnant la fonction d'énergie et ses paramètres contenus (136). Ce champ de force représente autant que possible le changement d'énergie potentielle avec la géométrie moléculaire. Le modèle dépend étroitement des propriétés expérimentales retenues : la géométrie de l'entité moléculaire, la chaleur de la formation, la fréquence de vibration et même la réactivité (137).

### 1. Champ de force

Le champ de force est une expression empruntée à la spectroscopie vibrationnelle par la mécanique moléculaire (136). En modifiant légèrement sa signification, il se divise en deux éléments sous ce terme : d'une part, il exprime les différentes fonctions qui contribuent au calcul de l'énergie, et d'autre part, la paramétrisation des valeurs des différentes constantes de ces fonctions. Ces valeurs sont identifiés à partir de données expérimentales (infrarouge, micro-ondes, etc.), ou évalués théoriquement (138).

Par conséquent, l'énergie totale du système est une énergie potentielle multidimensionnelle, qui décrit des interactions intramoléculaires ou des interactions liantes

(impliquant des atomes connectés par des liaisons dominantes) et des interactions intermoléculaires ou des interactions non liées (impliquant des interactions sans liaisons explicites) (139):

$$\mathbf{E}_{\text{totale}} = \mathbf{E}_{\text{liante}} + \mathbf{E}_{\text{non-liante}}$$

L'amélioration du champ de force, le modèle de système réel, est le principal défi de la technologie de simulation moléculaire pour prédire avec succès et avec précision les caractéristiques et le comportement de systèmes de plus en plus complexes.

### 2. Fonction d'énergie potentielle

La fonction d'énergie potentielle d'un système est représentée comme une hypersurface à 3 dimensions. Elle est définie empiriquement comme étant la somme des différentes contributions traduisant les interactions physiques inter et intramoléculaires du système étudié. En d'autres termes, la fonction d'énergie potentielle, associée à un jeu de paramètres qui lui est propre, constitue ce qu'on appelle un champ de force (140).

La fonction d'énergie potentielle peut être décomposée en la somme des potentiels qui régissent l'interaction entre atomes liés et les atomes non-liés. Elle a, par exemple, pour expression générale :

$$V_T = \underbrace{\sum V_{\text{liaisons}} + \sum V_{\text{angles}} + \sum V_{\text{dièdres}} + \sum V_{\text{dièdresimpropres}}}_{V_{\text{covalente}}} + \underbrace{\sum V_{\text{vdW}} + \sum V_{\text{électrostatique}}}_{V_{\text{non covalente}}}$$

### 3. Expressions des énergies d'interactions

#### 3.1. Energie d'interaction entre atomes liés

Combinez le groupe énergétique ( $E_{\text{liante}}$ ) par un, deux ou trois atomes liés de manière covalente ensemble, et il se décompose en plusieurs éléments (141) :

$$\mathbf{E}_{\text{liante}} = \mathbf{E}_{\text{liaison}} + \mathbf{E}_{\text{flexion}} + \mathbf{E}_{\text{torsion}}$$

Avec :

- $E_{\text{liaisons}}$  : énergie d'élongation de liaison (stretching) ;
- $E_{\text{flexions}}$  : déformation des angles de valence (flexion) ;
- $E_{\text{torsion}}$  : énergie de torsion.



### 3.2. Energie d'interaction entre atomes non liés

L'énergie non liante peut également être divisée en plusieurs termes (142):

$$E_{\text{non-liante}} = E_{\text{électrostatique}} + E_{\text{vdW}} + E_{\text{hydrogène}}$$

Avec :

- $E_{\text{électrostatique}}$  : énergie d'interaction électrostatique ;
- $E_{\text{vdW}}$  : énergie d'interaction de Van der Waals ;
- $E_{\text{hydrogène}}$  : énergie de liaison hydrogène.

La figure suivante montre les différentes formes d'énergies d'un champ de force, où les atomes sont représentés par des sphères et sont liés par des traits. Certains champs de forces sont différents en raison du nombre de termes présents dans l'équation. Ces termes augmentent généralement avec la complexité du champ de force (143).

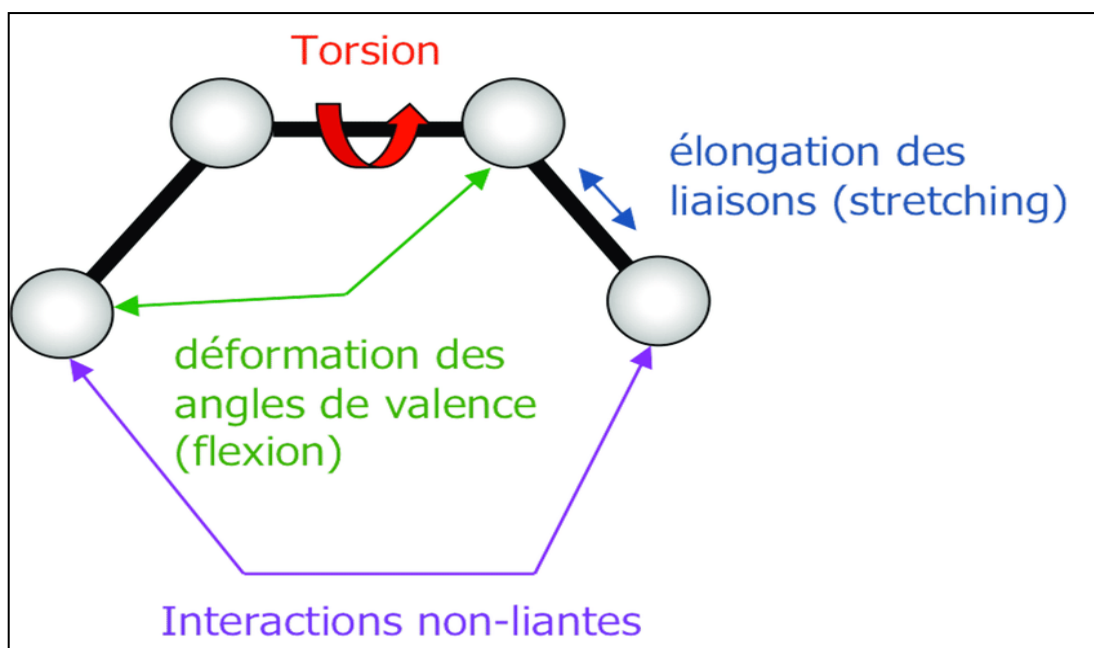


Figure 25: Décomposition énergétique classique d'un champ de force (144).

#### 4. Quelques champs de force

Dans la littérature, il existe plusieurs champs de force exprimés en termes d'énergie moléculaire, et les domaines d'application se distinguent des termes existant dans les propriétés que nous souhaitons étudier. Il existe plusieurs champs de forces classiques :

Il existe plusieurs champs de forces classiques :

- **MM2 / MM3 /MM4 MM2** : est le premier champ de force développé par Allinger et al. Au début, il a été conçu pour des molécules simples, puis développé par des versions améliorées de MM3 (1989) et MM4 (1996) pour traiter des molécules plus complexes (145).
- **OPLS** : Le programme OPLS (Optimal Potential for Liquid Simulation) développé par Jorgensen et Rives permet de calculer les propriétés de solvation des liquides (146).
- **GROMOS** : (Groningen Molecular Simulation Program Package) a été développé par Gusteren pour étudier l'interaction entre les groupements polaires de protéines et les molécules d'eau (147).
- **CHARM (Bio+)** : Développé par Karplus et al, Il est utilisé pour calculer les propriétés des biomolécules. Premièrement, ce champ de force est développé pour les acides aminés et les protéines. Désormais, il peut gérer toutes les biomolécules (148).
- **AMBER** : (Assisted Model Building with Energy Refinement) Écrit par Kollman, ce champ est largement utilisé dans la recherche de protéines et d'acides nucléiques, puis utilisé dans la recherche de polymères et autres petites molécules (149).
- **SPASIBA** : (Spectroscopic Potential Algorithm for Simulating bimolecular Conformational Adaptability), développé en 1995 par Vergoten et al. (150). Il s'agit d'une combinaison de deux champs de force : AMBRE et champ de force spectrale Urey-Bradly-Shimanouchi. Il est utilisé pour la conception structurelle, le calcul de la fréquence d'énergie et des vibrations.
- **EMO** : Le programme EMO (Energy of Molecule) a été développé par Blaive et est basé sur l'ancien champ de force (MM2) : il aide à la conception et aux opérations géométriques des molécules, ainsi qu'au calcul de leur énergie (151).

Et d'autres champs de forces développés récemment

- **COMPASS** : (Condensed-phase Optimized Molecular Potentials for Atomistic Simulation Studies) (152) est le premier champ de force qui a été paramétré et validé en utilisant des propriétés de phase condensée en plus de données diverses et empiriques pour les molécules isolées (153). Par conséquent, ce champ de force permet une prédiction précise et simultanée des propriétés structurelles, conformationnelles, vibrationnelles et thermo-physiques pour une large gamme de molécules isolées et en phases condensées (154).

- **DREIDING** : Le champ de force DREIDING a été conçu pour prédire les structures et la dynamique des molécules organiques, inorganiques et biologiques (155).
- **CVFF** : (Consistent Valence Force Field) a été paramétré en vue de simuler les structures protéiques (156).

### 5. Principe de minimisation d'énergie

La mécanique moléculaire vise à trouver la valeur minimale de la fonction d'énergie  $E$ , de sorte que l'énergie ait un minimum global. Par conséquent, il est nécessaire de couvrir tout l'espace des variables indépendantes. Compte tenu du grand nombre de variables indépendantes, cela est impossible (157).

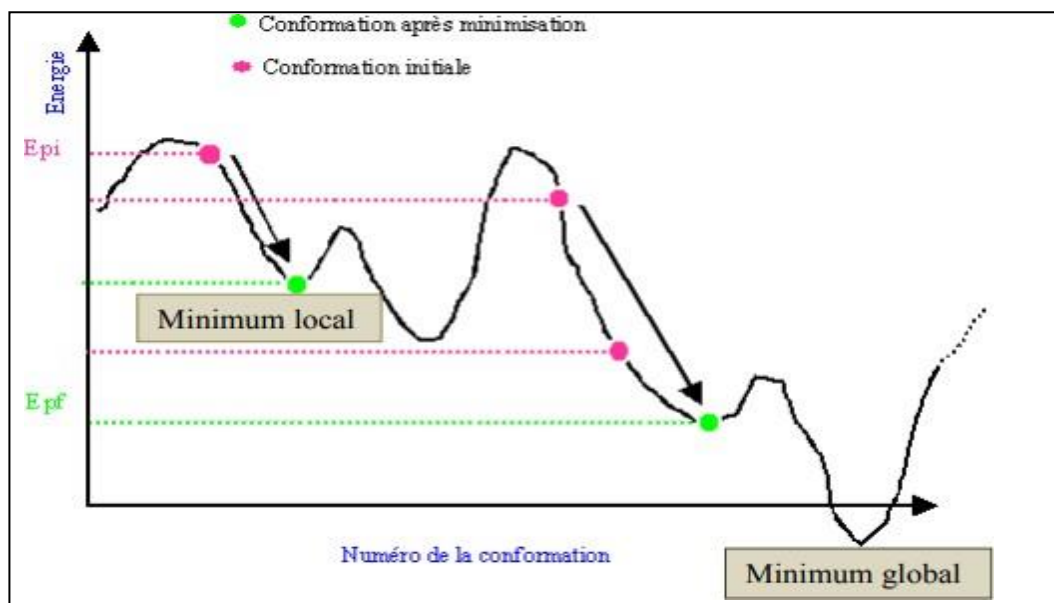
La minimisation de l'énergie potentielle est l'une des méthodes les plus couramment employées pour optimiser la structure des biomolécules. Cette opération peut être utile afin de relaxer la structure initiale de la molécule (en éliminant les mauvais contacts atomiques) et de rechercher une géométrie de basse énergie, correspondant à un état stable du système. La minimisation de l'énergie potentielle trouve ainsi son application dans les protocoles de raffinement de structures moléculaires obtenues expérimentalement (RMN ou RX) et dans l'optimisation de la structure de biomolécules en préalable à une simulation de dynamique moléculaire.

Toutes les méthodes de minimisation ne permettent de trouver que des minimums locaux, et la surface d'énergie pour ces multiples variables est très robuste. Par conséquent, la structure trouvée par minimisation d'énergie est toujours relativement proche de la structure de départ (158).

La minimisation de la fonction énergie s'effectue par une dérivation de l'équation de l'énergie de la molécule par rapport à chacun des degrés de liberté de la molécule (159), et en cherchant le lieu où les dérivés s'annulent simultanément.

Le nom d'"hypersurface" est employé pour représenter l'énergie potentielle du système étudié par un espace dans lequel les positions atomiques sont des variables. Le problème consiste à trouver les coordonnées des atomes qui permettent de minimiser la fonction d'énergie potentielle du système étudié. La solution à ce problème est loin d'être triviale car le nombre important de degrés de liberté fait fluctuer le système autour d'un ensemble de conformations stables correspondant à différents minima sur l'hypersurface d'énergie

potentielle. L'état de plus basse énergie, sur l'ensemble de l'hypersurface de potentiel, est appelé minimum global, par opposition aux minima locaux.



**Figure 26:** Représentation de conformations initiales et finales sur une hypersurface d'énergie potentielle (159).

Les différentes méthodes de minimisation les plus utilisées sont :

- La méthode de la plus grande pente appelée aussi "steepest descent" (160) ;
- La méthode du gradient conjugué (161) ;
- La méthode de Newton Raphson (162).

En tenant compte des avantages et des limites de chaque méthode, différentes méthodes de minimisation d'énergie sont généralement combinées afin d'utiliser leur vitesse de convergence et leur précision dans leurs domaines d'application (163). Par conséquent, en mécanique moléculaire, la minimisation de la structure moléculaire met généralement en œuvre le type de calcul « steepest descent », permettant une convergence rapide vers l'énergie minimale la plus proche, puis effectuant des calculs de type Newton-Raphson ou gradient conjugué, permettant une convergence précise vers ce minimum (164).

### V. Méthodes de la Modélisation Moléculaire

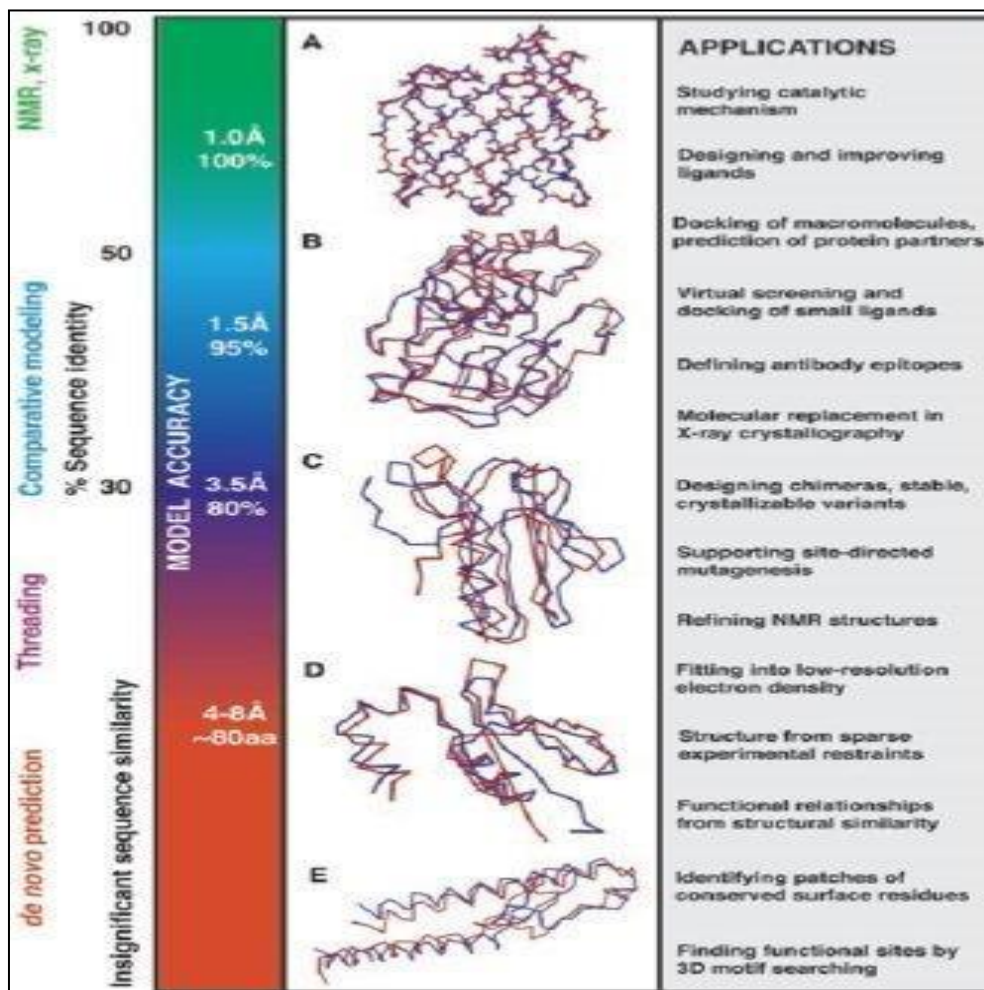
La Modélisation Moléculaire basée sur la structure des récepteurs est la première voie de conception de molécules bioactives. Cette approche est fondée sur l'utilisation de la structure 3D de la protéine cible. Plusieurs structures de protéines sont disponibles dans la Protein Data Bank. Cependant plusieurs familles ne sont pas représentées. Et en l'absence

d'une structure 3D pour certaines protéines, il est donc légitime de tenter d'en construire un modèle par les techniques de construction par homologie, et de déterminer l'énergie de leurs entités moléculaires. Les méthodes de prédiction de la structure tridimensionnelle des protéines sont classées en trois catégories (165):

- Les méthodes de reconnaissance de repliement (ou d'enfilage, «threading»);
- Les méthodes de novo et ab initio;
- La modélisation par homologie (ou modélisation comparative).

Le choix de la méthode est fonction des informations disponibles pour la réalisation du modèle. Le facteur le plus déterminant dépend de l'existence ou non dans la PDB d'une structure protéique résolue de séquence similaire à celle de la protéine à modéliser et du taux d'identité de séquence entre ces protéines. L'idée sous-jacente est l'identification de protéines homologues ayant conservé une structure proche de la séquence cible malgré une divergence des séquences due au processus d'évolution moléculaire (165).

La Figure 28 résume les taux d'identité de séquence requis entre la séquence cible et la (ou les) protéine(s) servant de modèle(s) pour chacune des catégories des méthodes de modélisation. Le niveau de résolution obtenu ainsi que les applications possibles des modèles sont également indiqués (165).



**Figure 27:** Méthodes de détermination de la structure 3D des protéines : identités de séquence requises avec les structures supports, niveaux de résolution et applications (165).

### 1. Méthodes de reconnaissance de repliement «Threading»

Elle est utilisée comme méthode alternative à la modélisation par homologie lorsque le taux d'identité de la protéine à structure inconnue avec les séquences disponible dans la PDB est entre 15% et 30%. Elle a comme principe d'identifier parmi les repliements connus celui que pourrait contenir la séquence cible, en calculant un score de compatibilité afin de déterminer la meilleure hypothèse. Les difficultés de ces méthodes résident aussi bien dans l'alignement séquence-structure que dans l'évaluation des différents modèles potentiels. A cet effet, elles sont devenues de moins en moins compétitives avec les méthodes ab initio et de novo (166).

### 2. Méthodes ab initio et de novo

Les méthodes ab initio visent à prédire la structure d'une protéine à partir de la seule connaissance de sa séquence en acides aminés. Cet objectif est un défi scientifique majeur. Cependant, dans le contexte des projets de séquençage à grande échelle générant un grand nombre de séquences sans aucune structure homologue connue, le développement de ces approches est particulièrement pertinent. Deux types de méthodes sont à distinguer : les méthodes ab initio « pures » et les méthodes de novo.

- **Les méthodes ab initio « pures »** : reposent uniquement sur les propriétés physicochimiques des protéines et sur la recherche de la structure de plus basse énergie parmi l'ensemble des structures possibles. Les méthodes les plus récentes utilisent une approche hiérarchique comme dans ASTRO-FOLD dans laquelle les hélices sont prédites en premier, puis les brins et la topologie globale des feuilletés. Les boucles sont modélisées à part. L'ensemble des contraintes issues de ces prédictions isolées sont enfin utilisées pour la prédiction d'une structure 3D (167). Ces méthodes nécessitent une exploration de l'espace conformationnel très importante. Elles restent donc pour le moment applicables uniquement à de petites protéines de moins d'une centaine de résidus.
- **Les méthodes dites de novo** : exploitent les informations obtenues de l'analyse des structures tridimensionnelles connues. Actuellement, les approches les plus performantes sont les méthodes d'assemblage de fragments (166). Ces méthodes reposent sur l'hypothèse selon laquelle, même si nous n'avons pas encore observé tous les repliements possibles, nous avons probablement vu presque toutes les sous-structures. Étant donné que la relation séquence-structure n'est pas suffisamment forte pour déterminer avec certitude la structure de fragments de séquence, la première étape consiste à réduire le nombre de conformations possibles pour un segment de séquence donné. Ces conformations sont extraites d'une banque des structures locales connues. Les fragments prédits sont ensuite assemblés pour générer de nombreux modèles 3D possibles. L'exploration de l'espace conformationnel est beaucoup plus rapide que pour des méthodes ab initio pures grâce aux contraintes locales imposées par les fragments prédits. Le défi réside ensuite dans la sélection du modèle le plus pertinent grâce à une fonction d'énergie appropriée. La méthode remportant le plus de succès depuis plusieurs années est ROSETTA développée par le groupe de Baker



(168). Les auteurs considèrent des fragments de 3 à 9 résidus de long et réalisent une exploration conformationnelle très large grâce à de très fortes capacités de calculs.

### 3. Modélisation par homologie

La modélisation par homologie requiert l'existence d'une protéine de structure connue présentant plus de 30% d'identité de séquence avec la protéine à modéliser (169). Cette structure servira de structure de référence. Elle est utilisée pour déterminer l'espace de conformation d'une structure inconnue à partir d'autres structures résolues expérimentalement. Elle est basée essentiellement sur le fait que la conformation structurale d'une protéine est plus fortement conservée que sa séquence primaire d'acides aminés (170), et qu'un faible changement de la séquence n'entraîne qu'une faible variation de sa structure 3D (171).

La modélisation par homologie est une méthode qui est fondée sur des données réelles (bonne résolution, quantité des protéines résolues dans PDB). Elle est la succession de différentes étapes (172) qui peuvent être répétées jusqu'à l'obtention du modèle approprié. Elle intervient dans plusieurs domaines, en particulier en biologie moléculaire. En effet cette méthode peut suggérer des hypothèses sur la conception du médicament (173), permet en plus de l'annotation des fonctions (174), la détermination de la spécificité du substrat (175) et l'identification du site de liaison du ligand (176).

En générale, la modélisation par homologie ne donne qu'une idée structurel sur la protéine, tandis que sa qualité dépende aussi bien de la similarité et de sa séquence d'acide aminé avec celle du modèle (177), ainsi que du pourcentage d'identité de leurs séquences (modèle, cible). La modélisation par ordinateur d'une molécule implique une présentation graphique de la configuration et de la géométrie de ses atomes, suivie de l'application d'une méthode théorique (178).

Le logiciel le plus largement utilisé de nos jours est Modeller crée par Sali et Blundell en 1993 (179). La modélisation se fait en plusieurs étapes :

- la sélection de la structure de référence la plus pertinente biologiquement,
- l'alignement des séquences de la protéine cible et du support,
- la construction du modèle à proprement parlé en s'appuyant sur les régions conservées. Dans un second temps, les régions moins conservées, notamment les boucles, sont modélisées et les chaînes latérales positionnées. Le modèle doit ensuite



être raffiné et validé en fonction des connaissances et notamment de données expérimentales non utilisées pour sa construction.

#### 4. Evaluation des méthodes et des modèles

L'évaluation et la comparaison des différentes méthodes de prédiction est une tâche ardue. Ainsi, tous les deux ans, la communauté se réunit pour une compétition nommée CASP (Critical Assessment of Structure Prediction). Les méthodes participantes sont comparées sur un même jeu de protéines et avec des critères identiques. Les structures protéiques à prédire Études Bioinformatiques structurales des protéines 71 ont été déterminées expérimentalement très récemment et ne sont pas encore déposées dans la PDB ou publiées (169).

L'évaluation des performances des méthodes est réalisée en comparant les modèles aux structures 3D obtenues expérimentalement. Le choix d'un critère mesurant la similitude ou distance entre ces deux structures n'est pas trivial. Classiquement, le critère utilisé est l'écart quadratique moyen (Root Mean Square Deviation ou RMSD en anglais). Il correspond à la distance euclidienne entre les coordonnées des atomes des deux structures après superposition optimale (169):

$$RMSD = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (r_i^s - r_i^t)^2}$$

Avec **s** et **t** les deux structures comparées, **N** le nombre total d'atomes comparés,  $r_i^s$  et  $r_i^t$  les coordonnées de l'atome **i** des structures **s** et **t** respectivement. Le RMSD est souvent calculé uniquement sur les atomes du squelette polypeptidique voire seulement sur les  $C\alpha$ . La limitation principale de cette mesure est sa dépendance vis-à-vis de l'alignement initial des structures à comparer. En effet, l'alignement des structures 3D protéiques est encore actuellement un champ de recherche à part entière et devient un problème difficile si les structures diffèrent significativement. Ainsi, d'autres critères peuvent être utilisés. A CASP notamment, le GDT\_TS (Global Distance Test Total Score) est privilégié. Il repose sur différents seuils de distance entre  $C\alpha$  et identifie le plus grand ensemble de résidus pouvant être alignés à la structure de référence en considérant un seuil donné (180).

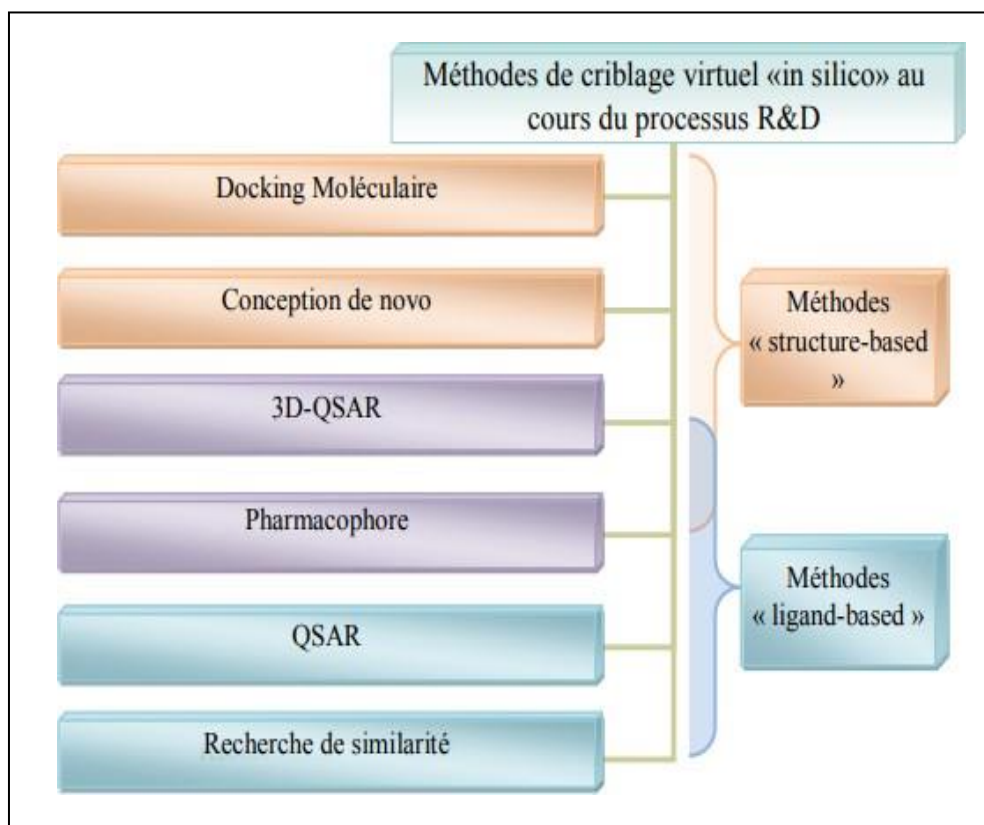
### VI. Molécules sur mesure : Criblage Virtuel « *in silico* », Méthodes et alternatives

#### 1. Généralités

Le criblage virtuel, analogue *in silico* de l'HTS, peut schématiquement être assimilé à un entonnoir dans lequel on verse un grand nombre (généralement entre cent mille et dix millions) de composés, constituant la chimiothèque à cribler, pour obtenir, à l'aide d'un algorithme de criblage, un plus faible nombre (quelques dizaines à quelques milliers) de composés qui seront ensuite testés expérimentalement (181).

Le rôle des méthodes de criblage est donc d'éliminer les composés supposés inactifs ou les molécules indésirables tout en priorisant les composés les plus susceptibles d'être actifs. Cependant, très souvent, la liste des composés proposés n'est pas utilisée en l'état et les composés à tester expérimentalement sont sélectionnés manuellement par des experts, c'est ce qu'on appelle le « cherry picking » (181).

Deux grandes familles de méthodes de criblages sont distinguées et le choix de leur utilisation est basé sur la disponibilité des données au démarrage du projet (182). Ainsi, lorsque la structure tridimensionnelle de la cible biologique a été résolue (cristallographie aux rayons X, résonance magnétique nucléaire ou modèle de structure), les méthodes basées sur la structure (ou « structure-based »), évaluent la capacité des ligands à établir des interactions avec le site de liaison étudié pour sélectionner les molécules capables de se lier à la cible. Les méthodes basées sur les ligands (ou « ligand-based ») peuvent pour leur part être mises en œuvre lorsque les valeurs d'activité pour la cible étudiée d'un ensemble de ligands sont disponibles. Les relations structure-activité de ces molécules sont alors analysées pour découvrir de nouveaux composés susceptibles d'être actifs (183). Lorsque ces deux types de données sont disponibles simultanément, les méthodes « ligand-based » et « structure-based » peuvent toutes deux être utilisées l'une à la suite de l'autre (184). Au sein de ces deux grandes familles, différentes méthodes ont été développées (figure 28).



**Figure 28:** Classification des méthodes de criblage virtuel « ligand-based » et « structure-based » (185).

## 2. Criblage Virtuel « Ligand-based »

Lorsqu'au moins un ligand de la cible étudiée est connu, un criblage virtuel basé sur les ligands ou « ligand-based » peut être mis en œuvre. Le principe de base commun à toutes les méthodes basées sur les ligands est que des molécules similaires vont avoir tendance à présenter des profils d'activité similaires (186). La similarité des molécules peut se mesurer par recherche de propriétés communes, qui seront utilisées comme descripteurs de similarité. En fonction du nombre de ligands de référence pour la cible et du type de descripteurs, différentes méthodes peuvent être employées : la recherche de similarité, le criblage à l'aide de pharmacophore et les méthodes QSAR.

Ce type de criblage très populaire est employé au cours de la phase d'identification de nouveaux hits et les phases d'optimisation des hits et des leads. Qui permet de rationaliser les processus de découverte de nouveaux composés, lorsque des données sont disponibles sur un ou plusieurs ligands actifs de référence (185).

### 2.1. Recherche de similarité

La recherche de similarité est la méthode à employer lorsque très peu de ligands ont été rapportés pour la cible biologique choisie. En effet, une recherche de similarité peut être menée dès lors qu'un ligand actif est connu (187). Cette méthode repose donc sur l'utilisation de descripteurs et de métriques de similarité permettant de comparer des molécules à cribler à un ou plusieurs ligands de référence pour prédire leur profil d'activité.

Les descripteurs de similarité permettent de définir au sein d'une base de données quels ligands sont les plus ressemblants aux ligands actifs connus. Ce sont des nombres ou des vecteurs, souvent classés selon leur dimension (1D, 2D et 3D), qui représentent des caractéristiques structurales clés de composés. Ces descripteurs peuvent être obtenus en encodant la molécule par une représentation symbolique ce qui transforme l'information chimique en un nombre utile, qui est une procédure mathématique logique. En revanche, une procédure expérimentale peut également être utile en utilisant le résultat obtenu comme descripteur (188).

L'obtention des vecteurs de descripteurs pour chaque molécule de la chimiothèque ainsi que les molécules actives de référence permet ensuite de comparer ces molécules par métriques de similarité (189). Ces métriques sont classées en trois catégories: les mesures directes de similarité, les mesures de distances ou de dissimilitude et les mesures de corrélation. Ils sont traduits en coefficients dont la valeur est comprise dans l'intervalle [0;1] comme par exemple le cas du coefficient de Tanimoto «Tc» qui est le plus populaire et le plus couramment utilisé. Les valeurs de coefficients Tc les plus élevées sont associées aux molécules les plus similaires (189).

### 2.2. Modèles pharmacophoriques « ligand- based »

Un pharmacophore est dit basé sur le ligand (ou « ligand-based ») lorsqu'il est déterminé à partir de la structure de composés actifs de référence, sans connaître ou sans prendre en compte la structure du récepteur. Lorsque la structure du récepteur est utilisée pour construire le pharmacophore, celui-ci est dit basé sur la structure ou « structure-based ».

En 1898, Ehrlich a développé le concept de pharmacophore, même si le terme pharmacophore n'était pas employé, en admettant que certains groupements chimiques dans une molécule sont responsables de l'action biologique ou pharmacologique. En 1960, la première définition moderne du pharmacophore a été établie en remplaçant « groupements

chimiques » par le terme « caractéristiques abstraites » (190). Quelques années plus tard, Kier a publié le premier modèle de pharmacophore pour des agents muscariniques avec de mesures précises des distances entre groupements constituant le pharmacophore (191).

La définition officielle de l'IUPAC de 1998 indique que le pharmacophore se constitue de l'ensemble des propriétés stériques et électroniques d'une molécule, nécessaires pour assurer l'établissement d'interactions supramoléculaires optimales avec une cible biologique spécifique et engendrer ou bloquer une réponse biologique (192). Ceci indique que les molécules partageant le même pharmacophore pour une cible donnée devraient donc se lier de manière identique à ce récepteur et présenter des profils d'activité similaires. Le pharmacophore généré est donc utilisé pour cribler la chimiothèque à la recherche de molécules se superposant à ce pharmacophore. L'une des caractéristiques majeures de ce type de méthodes est qu'un pharmacophore est défini par des points pharmacophoriques complémentaires les uns des autres, qui sont des groupes fonctionnels et non plus des groupes d'atomes. Les différents points pharmacophoriques recherchés sont les donneurs et les accepteurs de liaisons hydrogènes, les groupements chargés positivement ou négativement qui forment des interactions électrostatiques avec ceux de charge opposée, et les groupements aromatiques en tant que groupement hydrophobes (185).

On distingue les approches pharmacophoriques 2D et 3D selon le format dans lequel sont présentés les ligands utilisés à la recherche du pharmacophore.

### 2.3. QSAR : Modèles de relations quantitatives structure-activité

Les premiers essais de modélisation des relations structure-activité ont commencé à la fin du 19<sup>ème</sup> siècle, lorsque Crum-Brown et Frazer ont postulé que l'activité biologique d'une molécule est en fonction de sa constitution chimique (193). Mais ce n'est qu'au début des années 60 que les travaux de Corwin Hanch ont proposé un modèle mathématique reliant l'activité biologique à la structure chimique (194). Aujourd'hui, l'utilisation de QSAR n'a cessé de progresser (195). Elle est devenue indispensable en chimie pharmaceutique et pour la conception de médicaments, notamment dans le cas où la disponibilité des échantillons est limitée ou les mesures expérimentales sont dangereuses, longues et chères (196). Sans l'utilisation de grands instruments analytiques, les résultats des études QSAR peuvent fournir des informations utiles pour obtenir une meilleure connaissance des structures moléculaires et probablement le mode d'action au niveau moléculaire. Ces informations peuvent être alors

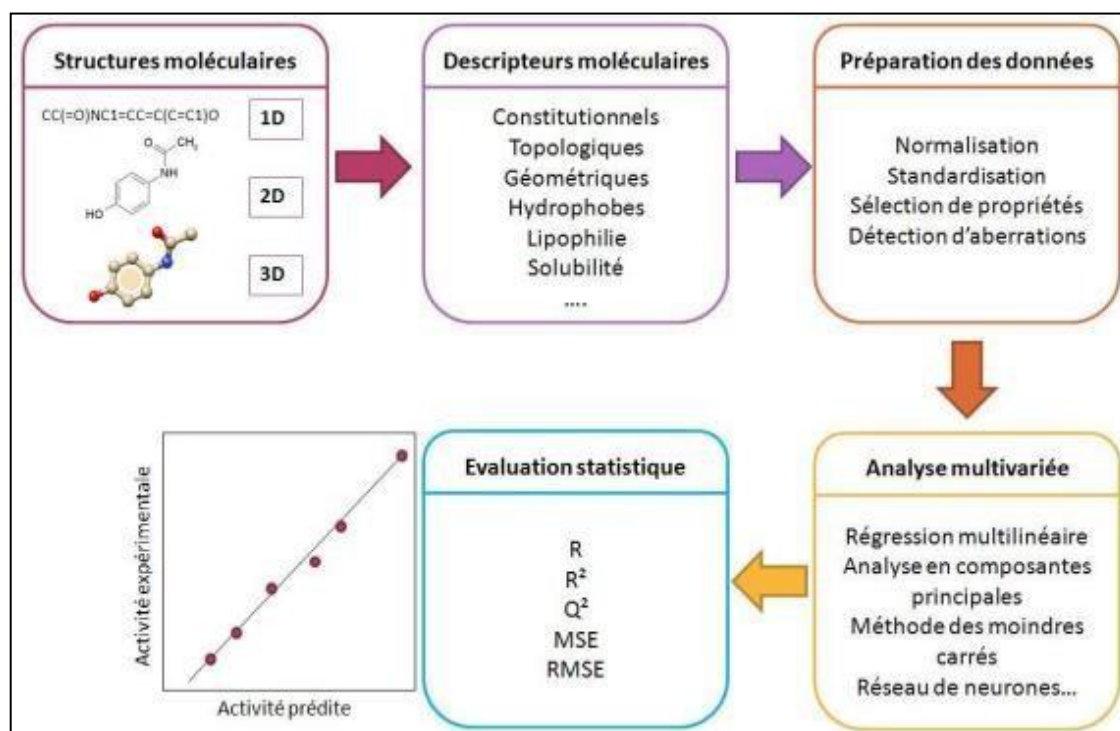
utilisées dans la prédiction des activités biologiques de nouveaux composés ainsi que dans la conception de nouvelles structures (185).

Le principe des méthodes QSAR est, comme leur nom l'indique, de mettre en place une relation mathématique reliant de manière quantitative la structure moléculaire, codée par des propriétés moléculaires appelée descripteurs, avec une activité en utilisant des méthodes d'analyse de données (197). Par ces relations nous pouvons développer des modèles prédictifs de la forme générale suivante :

$$\text{Activité} = f(\text{descripteurs moléculaires})$$

L'objectif de ces méthodes est alors d'analyser les données structurales afin de déterminer les facteurs influençant l'activité mesurée (198).

En pratique, le développement d'un modèle commence par la collecte de données expérimentales fiables et en nombre important, ensuite il est nécessaire de générer un nombre de descripteurs, caractérisant les structures moléculaires, utilisés dans le développement du modèle QSAR (199). Une fois le modèle construit, il doit être évalué par des méthodes de validation (validations interne et externe) afin d'estimer sa robustesse et son pouvoir prédictif (200, 201). Enfin, pour tout modèle, il est important de connaître quel type de molécules ce modèle est utilisable (connaître le domaine d'applicabilité) (202).



**Figure 29:** Schéma général des différentes étapes d'une étude QSAR (203).

### 2.3.1. 3D-QSAR

Les approches 3D-QSAR ont été développées pour corréler l'activité biologique d'une série de composés actifs de référence avec l'arrangement spatial de nombreuses propriétés de la molécule telles que les propriétés stériques, lipophiliques et électroniques (204). L'analyse d'un modèle 3D-QSAR permet donc de fournir des indications pour l'optimisation par pharmacomodulation et la conception de nouveaux composés avec des profils d'activité améliorés.

La première approche 3D-QSAR, proposée en 1979, décrivait des propriétés de champs moléculaires de composés, calculées sur une grille régulière (205) puis corrélées à leur activité biologique par analyse en composante principale (PCA). Cette méthode, plus tard dénommée DYLOMMS (Dynamic Lattice-Oriented Molecular Modeling System) ne prend en réalité son essor que grâce à l'application de la méthode des moindres carrés partiels (ou Partial Least Squares PLS) à la corrélation des propriétés à l'activité biologique.

Actuellement différentes méthodes 3D-QSAR sont utilisées parmi lesquelles CoMFA (Comparative Molecular Field Analysis), CoMSIA (Comparative Molecular Similarity Indices Analysis), GRID/GOLPE et Phase. Il est à noter que toutes ses méthodes nécessitent un alignement minutieux des ligands de référence. Lorsque la structure 3D de la cible biologique est résolue, des modèles 3D-QSAR dit « receptor dependent » (RD-QSAR) peuvent être mises en œuvre (206).

### 3. Criblage virtuel « structure-based »

Le criblage virtuel « structure-based » est considéré comme un équivalent *in silico* d'un test expérimental étudiant la liaison ligand-cible biomoléculaire (207). Cependant, ce criblage dépend essentiellement de la disponibilité de la structure 3D de la cible biologique qui est obtenue, soit par méthodes expérimentales (RX et RMN) dans des bases de données (tel que PDB: Protein Database), soit par des méthodes de prédiction de la structure 3D par homologie de séquence (208).

Différentes approches peuvent être employées pour réaliser ce criblage: la construction de modèles pharmacophoriques 3D, l'établissement de modèles 3D-QSAR, la conception de novo « de novo design » et les méthodes de docking moléculaire qui sont les plus populaires.

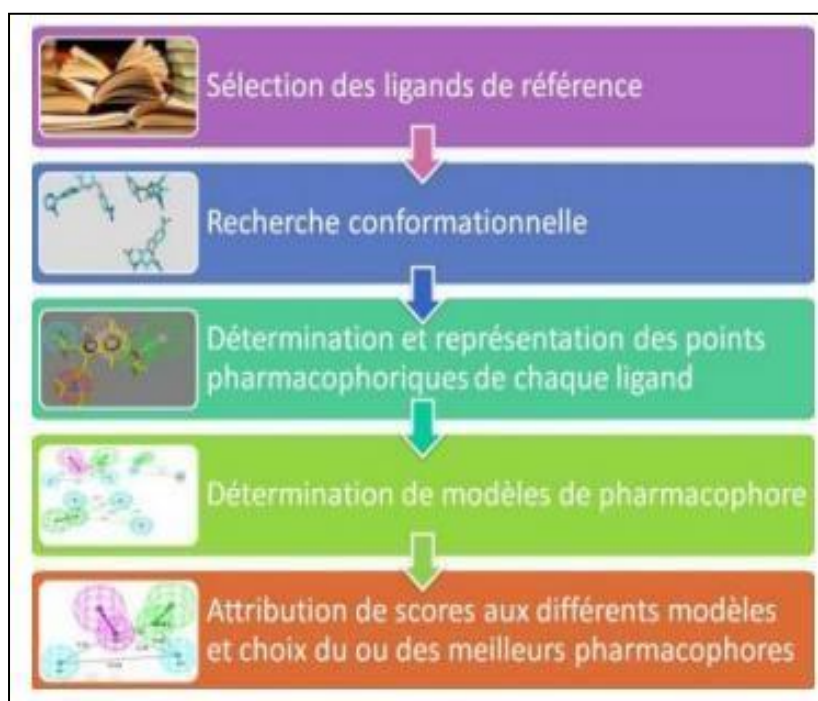


### 3.1. Les approches pharmacophoriques 3D

Les pharmacophores 3D décrivent l'arrangement spatial des propriétés chimiques nécessaires pour l'activité biologique à partir d'un ensemble de ligands actifs de référence (209). Les pharmacophores 3D sont obtenus également à partir de la structure 3D du récepteur ou la structure 3D d'un complexe ligand-récepteur. Les pharmacophores générés sont donc basés sur la structure et peuvent être ensuite utilisés pour cribler une chimiothèque à la recherche de molécules potentiellement actives (210).

Le processus de détermination du pharmacophore se divise en plusieurs étapes successives (Figure 30) qui peuvent être assistées par plusieurs logiciels tels que CATALYST, MOE, PHASE et SCAMPI (211):

- Sélectionner les ligands de référence ;
- Effectuer des recherches conformationnelles ;
- Déterminer et représenter les points pharmacophoriques de chaque ligand ;
- Déterminer les modèles de pharmacophore ;
- Attribuer des scores à chaque model obtenu afin de choisir le ou les meilleurs pharmacophores.



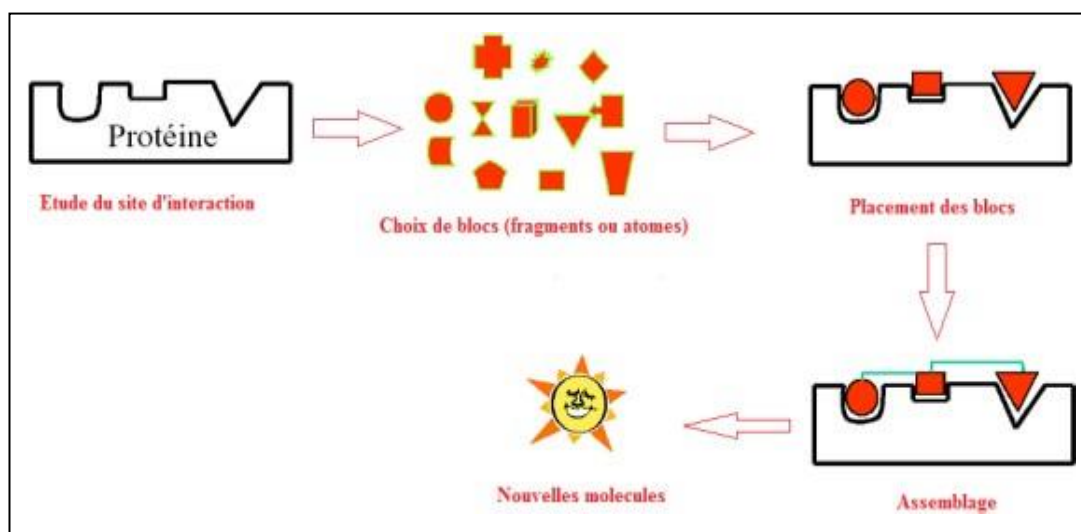
**Figure 30:** Principales étapes de l'élucidation d'un pharmacophore (206).



Une fois le pharmacophore généré, il peut ensuite être utilisé dans le processus de R&D pour cribler une chimiothèque à la recherche de nouveaux hits « pharmacophore searching ». Il est très important de prendre en compte la flexibilité des molécules composant cette chimiothèque, sous peine d'éliminer une molécule qui aurait pu satisfaire les critères du pharmacophore si elle avait été proposée dans la bonne conformation (212).

### 3.2. La conception de novo « de novo design »

Cette approche consiste à définir des composés bioactifs par une construction incrémentale de ligands dans le site actif du récepteur (la cible en question), utilisant la structure du site d'interaction comme point de départ de la recherche de nouveaux composés actifs (192). La première étape consiste à extraire toutes les informations concernant les interactions ligand-récepteur de type liaisons hydrogène, électrostatiques et hydrophobes pour déterminer les sites d'interactions nécessaires au placement de divers blocs dans le site d'interaction ligand-récepteur. Ces blocs peuvent être soit un atome, soit un fragment de molécule. L'utilisation des atomes comme blocs permet d'avoir plus de diversité structurale et conduit à un nombre très important de solutions possibles ce qui rend l'extraction des composés les plus prometteurs très compliqué. En revanche, l'approche basée sur les fragments permet de réduire la taille de l'espace chimique à étudier, et ce de manière rationnelle lorsque les fragments sont correctement choisis. En conséquence, les approches basées sur les fragments sont les plus utilisées et les fragments obtenus sont ensuite assemblés pour créer de nouveaux composés (213) (Figure 31).



**Figure 31:** Représentation schématique des étapes principales d'une conception de novo (185).

### 3.3. Docking moléculaire

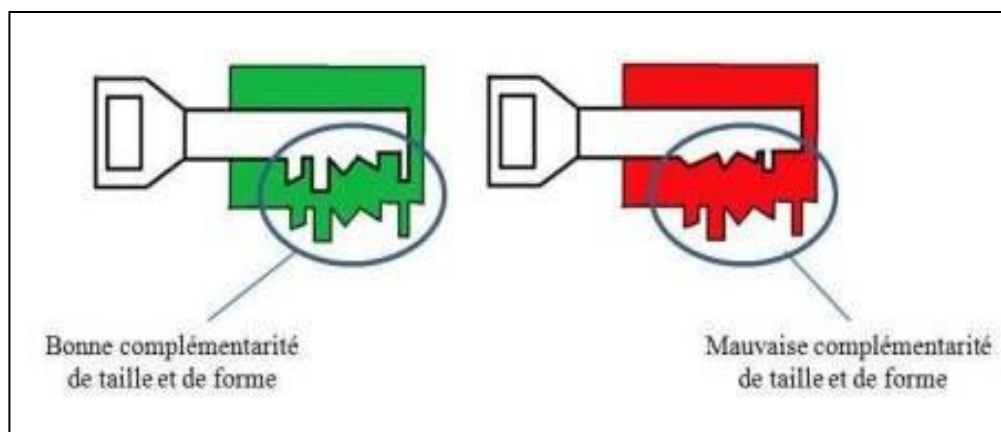
L'action d'une molécule dans une protéine est gouvernée par des principes de reconnaissance mutuelle entre la molécule et sa cible. Les caractéristiques générales des interactions ligands-protéines résident en une complémentarité stérique, hydrophobe et polaire entre les deux structures et une conformation d'énergie favorable du ligand qui privilégie une bonne affinité de liaison (214). Les méthodes de docking ont pour but de prédire la conformation et l'orientation d'une molécule lors de sa liaison à son récepteur (215). Elles permettent de réaliser une analyse détaillée des modes de liaison supposées, nommées « poses », adoptés par le ligand dans le site actif de la protéine. Ainsi, l'objectif de cet outil est non seulement de discriminer les « vrais » ligands des molécules qui ne sont pas capables de se lier au récepteur, mais aussi de révéler leur mode de liaison avec la protéine cible (214).

Ainsi, les méthodes de docking peuvent être classées en trois catégories selon la prise en compte de la flexibilité du ligand, les algorithmes utilisés pour rechercher les poses possibles d'un ligand et les fonctions de score permettant d'évaluer l'affinité de liaison de chacune de ces poses (216).

Ainsi, la première catégorie considère le ligand et la protéine comme étant rigides, la seconde considère le ligand comme étant flexible tout en conservant la protéine rigide et la dernière catégorie considère la protéine « semi-flexible » et le ligand flexible (214 ; 217).

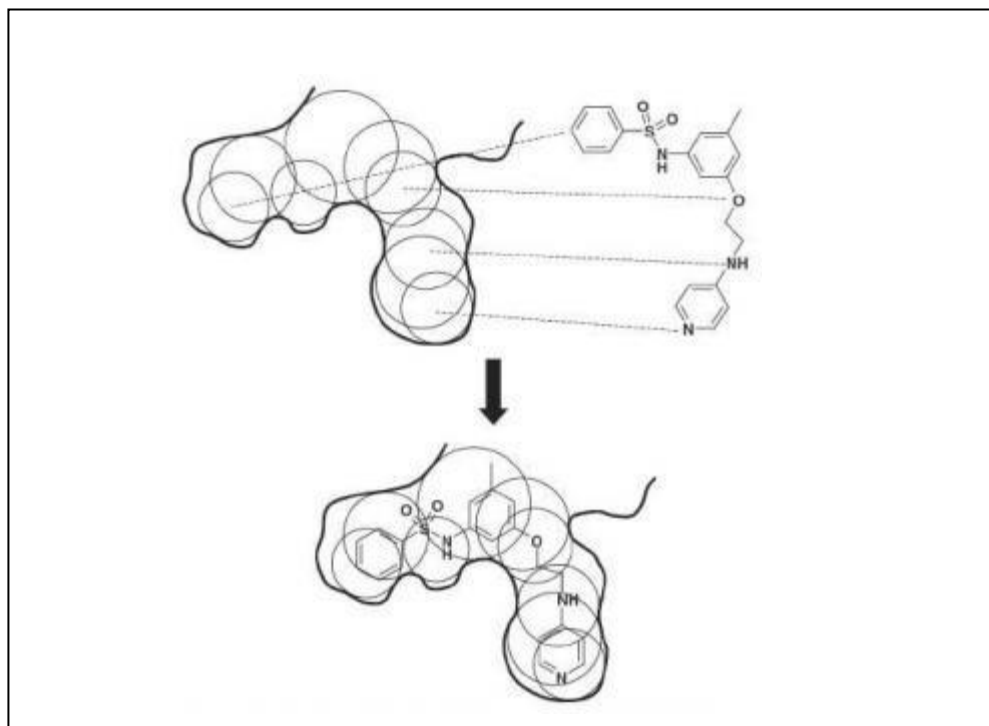
#### 3.3.1. Docking ligand rigide

Cette méthode reflète le principe de la clé et de la serrure (« lock and key ») énoncé par Emile Fisher en 1890 (218) où seul le ligand (représentant la clé) qui possède la bonne taille et la bonne forme peut ouvrir une serrure, la protéine (Figure 32) (219).



**Figure 32:** Schéma illustrant le principe de « lock and key » d'Emile Fisher (219).

Les premiers logiciels de docking se sont donc inspirés de ce concept et considéraient le ligand et le récepteur comme deux entités rigides. Dans cette approche, seuls les mouvements de translations et de rotations des ligands sont étudiés pour trouver les différentes poses au sein d'un site de liaison (Figure 33) (217).



**Figure 33:** Principe du docking rigide illustré par le logiciel Dock (220).

Pour améliorer la prédiction des modes de liaison, la prise en compte de la flexibilité conformationnelle du ligand a été introduite. Ainsi, de nos jours, le docking ligand rigide est de moins en moins utilisé en faveur des méthodes de docking ligand flexible (219).

### 3.3.2. Docking ligand flexible

L'un des grands enjeux des méthodes de docking flexibles (214) est d'explorer l'espace conformationnel des ligands dans le but de déterminer d'une part les bonnes poses du ligand dans le site actif de la protéine et d'autre part de trouver les modes de liaison correspondant à une énergie libre de liaison basse (214).

#### 3.3.2.1. Les algorithmes de recherche

Les algorithmes de recherche étudiant la flexibilité conformationnelle des ligands sont généralement classés en trois catégories : les algorithmes de recherche systématique ou

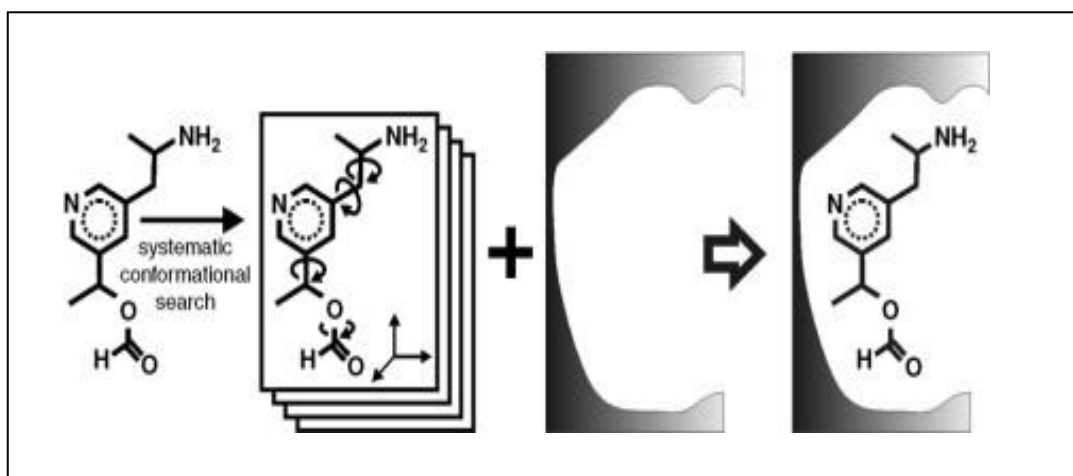
combinatoire, les algorithmes de recherche aléatoire ou stochastique et les algorithmes de recherche déterministe ou de simulation (214, 221).

### a) Les algorithmes de recherche systématique ou combinatoire

Ces algorithmes prennent en compte tous les degrés de liberté d'une molécule en explorant toutes les liaisons rotatives possibles. Ainsi, en fonction du degré de flexibilité de la molécule, le nombre de conformations générées peut rapidement s'élever et entraîner le phénomène d'explosion combinatoire (215).

Pour éviter l'explosion combinatoire, deux méthodes ont été développées : la méthode de recherche exhaustive et la méthode de fragmentation reconstruction.

- **La méthode de recherche exhaustive** passe par une définition de limites imposées soit par le site de liaison, soit par des contraintes géométriques et/ou chimiques imposées aux conformations initiales des ligands à docker. Dans le premier cas, les mouvements de translation et de rotation systématiques des ligands sont générés dans un site de liaison putatif et prédéfini, limitant ainsi l'espace de recherche conformationnelle du ligand. Cette méthode est employée par le logiciel EUDOC (Figure 34) (217). Une autre méthode utilisée dans le docking ligand rigide consiste à générer une bibliothèque de conformations du ligand en utilisant des programmes tel qu'OMEGA. Ensuite, chaque conformation subit des mouvements de rotation et translation dans le site actif de la protéine de telle sorte qu'à chaque mouvement, le déplacement d'atomes ne dépasse pas une valeur seuil prédéfinie. Là aussi, grâce à cette délimitation, le risque d'explosion combinatoire est réduit (Figure 34).



**Figure 34:** Illustration de la méthode de recherche exhaustive employée par EUDOC (217).

- **Les méthodes de fragmentation-reconstruction** consistent à diviser la molécule en fragments qui sont soit rigides soit représentés par un petit ensemble conformationnel (217). Ensuite ces fragments peuvent être traités de deux manières : 1) placement des fragments un à un dans le site de liaison ou méthode de reconstruction incrémentale, 2) placement de tous les fragments de manière simultanée ou méthode « place and join » (217). L'objectif est ensuite de les lier dans une orientation favorable. Ces méthodes permettent de limiter le nombre de conformations à générer. En effet, en considérant une molécule avec 7 liaisons rotatives, si chaque liaison a 6 rotamères, le nombre de conformations à générer s'élève à 67 (> 250000) conformations. Alors qu'en rompant une liaison rotative pour obtenir deux fragments, cela élimine la recherche conformationnelle pour une liaison rotative et les conformations des deux fragments sont indépendantes ce qui réduit le nombre de conformations à  $63 + 63 = 432$  conformations (222).

### b) Les algorithmes de recherche aléatoire ou stochastique

Ces algorithmes prennent en compte les mouvements de translation, rotations et torsions réalisés de manière aléatoire (215). Les changements sont acceptés ou rejetés selon une fonction de probabilité. Les approches les plus connues sont les méthodes de Monte- Carlo, les algorithmes génétiques et la recherche tabou (215).

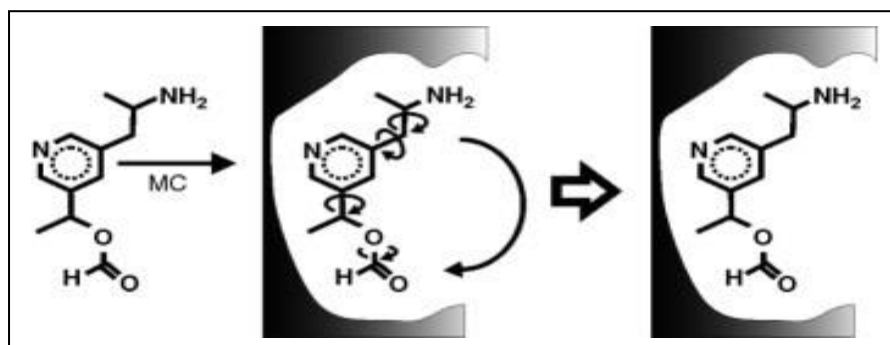
- **Les méthodes de Monte-Carlo** consistent à chercher les différentes poses des ligands en explorant de manière séquentielle les mouvements de translation, rotations et torsions. Ainsi, chaque degré de liberté est déterminé un à un et de manière aléatoire (217). Après chaque changement, la nouvelle conformation est retenue si elle présente une énergie plus basse que la conformation précédente, sinon elle est soumise au critère de Métropolis (214 ; 215; 217). Ce critère est basé sur la fonction de probabilité

de Boltzmann : 
$$P = e^{-\frac{E_{new}-E_{old}}{kT}}$$

Avec  $E_{new}$  : énergie de la nouvelle conformation,  $E_{old}$  : énergie de l'ancienne conformation,  $k$  : constante de Boltzmann,  $T$  : température de simulation (214).

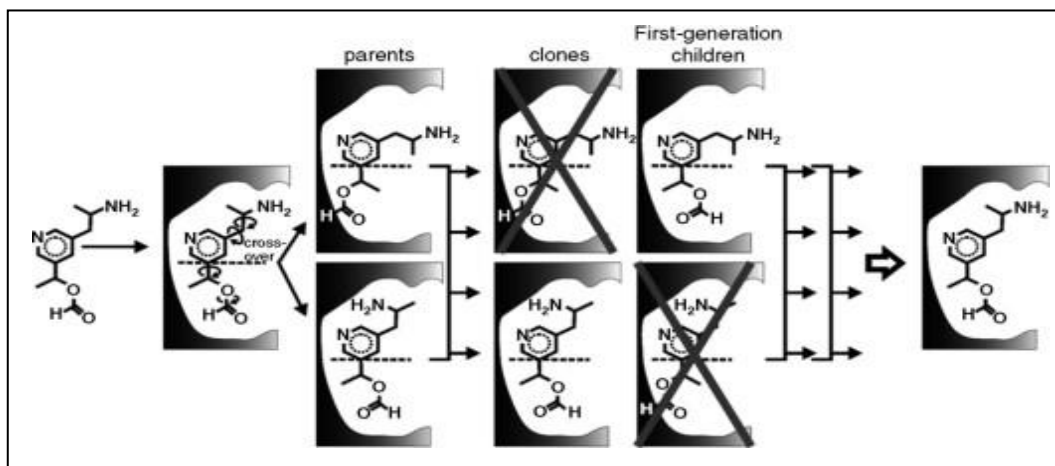
Le processus est répété un certain nombre de fois, nombre qui définit le pas de Monte-Carlo, jusqu'à ce que le nombre de conformations désiré soit atteint (215). De nombreux logiciels utilisent cette méthode, tels que ICM (223) et GLIDE (224). Ce dernier utilise dans un premier temps un algorithme de recherche systématique pour

trouver les poses des ligands et les poses ayant obtenu un bon score sont dans un second temps optimisées par la méthode de Monte-Carlo (217) (Figure 35).



**Figure 35:** Schéma illustrant la méthode de Monte-Carlo (217).

- **Les algorithmes génétiques** ont pour but de mimer les principes de l'évolution naturelle afin de réduire le problème d'explosion combinatoire. Pour cela, ils utilisent des opérateurs génétiques tels que la mutation, la recombinaison et la sélection et une fonction de survie (ou « fitness function ») (225). Les algorithmes génétiques sont constitués d'une population de conformations où chaque membre représente un chromosome. Les gènes de ces chromosomes codent pour différentes variables, c'est-à-dire pour la translation du ligand, la rotation et les angles de torsions (217). La première génération de solutions appelée « population parent » évolue par recombinaison ou mutation en agissant respectivement sur chacun des deux parents (recombinaison) ou sur un seul (mutation). Les résultats de ces changements génèrent la population « enfants ». Une fonction de survie est ensuite utilisée pour sélectionner les meilleures conformations qui ont le plus de chance de survivre et de passer la génération suivante. Ces conformations sélectionnées constituent alors la nouvelle population « parent » qui subira à son tour les changements des divers opérateurs génétiques (217). Ce processus est répété jusqu'à obtenir une population finale qui répond à un seuil prédéfini par la fonction de survie (226). De nombreux logiciels utilisent cette méthode (217 ;226), l'un des plus populaires est GOLD (227) (Figure 36).



**Figure 36:** Schéma illustrant la méthode utilisant les algorithmes génétiques (217).

- **Les algorithmes de recherche tabou** s'inspirent de l'idée d'éviter de réévaluer un espace conformationnel déjà exploré par l'algorithme de recherche (217). Pour cela des espaces de restrictions sont organisées sous forme de « liste tabou » constituant les conformations déjà obtenues (217; 228). La recherche commence à partir d'une seule conformation d'un ligand puis différentes conformations sont générées grâce à une procédure similaire à la mutation qui réalise des changements de manière aléatoire. Ces conformations sont scorées et ordonnées selon une fonction d'énergie (228) : les conformations d'énergie plus basse qui ne sont pas encore contenues dans la liste tabou (« non-tabou ») sont ajoutées à cette liste, celles qui sont très similaires à la liste ne sont intégrées dans la liste que si et seulement si elles présentent une énergie plus basse (228). Enfin, les autres conformations ne répondant pas à ces critères, sont rejetées (215 ; 217). Le processus continue en commençant par la dernière conformation retenue et s'arrête jusqu'à atteindre la limite d'itérations ou jusqu'à ce qu'aucun changement acceptable ne soit obtenu (228). Le logiciel PRO\_LEADS (229) est l'un des logiciels les plus connus utilisant cette approche (Figure 37).



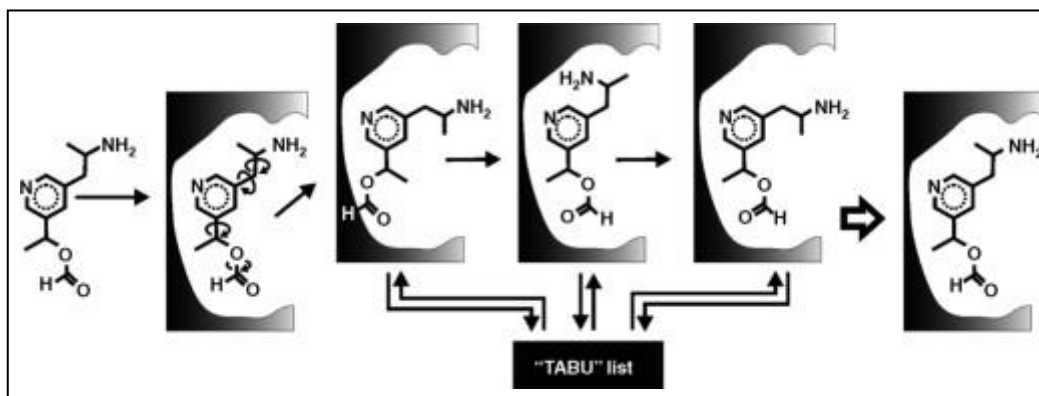


Figure 37: Schéma illustrant la méthode de recherche tabou (217).

### c) Les algorithmes de recherche déterministe ou de simulation

Deux méthodes principales les caractérisent : les méthodes de dynamique moléculaire et les méthodes de minimisation d'énergie. Les méthodes de dynamique moléculaire se basent sur les équations de mouvements de Newton (215 ; 217) :  $F_i = m_i a_i$  (F : force, m : masse, a : accélération). Quant aux méthodes de minimisation d'énergie, elles recherchent uniquement si des minimaux locaux d'énergie peuvent être atteints. Elles sont en général utilisées en complément d'autres méthodes (215).

#### 3.3.3. Docking « semi-flexible »

En règle générale, la flexibilité des protéines est souvent négligée dans les méthodes de docking car ce concept est encore de nos jours mal défini et le temps de calcul est beaucoup trop long (217). Or, les différentes conformations que peuvent adopter une protéine doivent être prises en compte car une conformation particulière d'une protéine lui confère une fonction spécifique (217).

En général, les protocoles de docking utilisent des complexes de protéine co-cristallisée avec un ligand. Cependant, ces complexes ne représentent qu'une petite partie de la flexibilité de la protéine et d'autres conformations pourraient se révéler être plus intéressantes. De plus, les changements conformationnels de la protéine tiennent un rôle majeur dans l'ajustement du ligand dans son site actif et la mise en place des interactions entre le ligand et son récepteur (217). La capacité de simuler ces changements conformationnels avec des temps de calculs raisonnables est devenue un véritable challenge (217).



De nombreuses approches, connues sous le nom de docking « semi-flexible », ont été développées permettant une flexibilité partielle de la protéine. La prise en compte de la flexibilité peut alors se réaliser à différents moments du docking : avant, au cours et après le docking (217).

### **3.3.4. Scoring**

Les fonctions de score ont pour but de prédire l'affinité de liaison entre la protéine et chaque pose générée lors du docking (215; 227). En effet, même si les conformations sont correctement prédites, il est primordial de pouvoir différencier les poses correctes des poses incorrectes (215). Le rôle principal des fonctions de score est donc d'évaluer et de classer les poses (214) pour identifier le « vrai » mode de liaison des composés (227) et les ligands les plus prometteurs (215).

## *CHAPITRE IV*

### *Etude comparative de potentiels inhibiteurs de c-Met et EGFR*

*Le premier savoir est le savoir de mon ignorance : c'est le début de l'intelligence*

-Socrate-

### **I. Introduction**

Les thérapies spécifiques à une cible sont très sélectives dans la thérapie contre le cancer et ont suscité une grande attention en plus des traitements conventionnels du cancer (230 ; 231). L'activité anormale des récepteurs tyrosine kinase (RTK) est l'un des principaux facteurs connus pour causer le cancer. De nombreux cancers humains sont caractérisés par une régulation positive de certains RTK et ont été validés cliniquement comme cibles pour la thérapie du cancer. Par conséquent, le développement d'inhibiteurs de tyrosine kinase est devenu une partie dynamique de la recherche en science pharmaceutique (232).

Le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR) et La kinase c-Met sont parmi les cibles tyrosine kinase les plus recherchées car ils jouent un rôle essentiel dans la régulation de la croissance cellulaire. La surexpression, l'amplification ou la mutation des tyrosines kinases EGFR et c-Met est fréquente dans les cancers du sein, de l'ovaire et du poumon non à petites cellules (233,234) et il a été démontré qu'elle influence la prolifération, l'angiogenèse et les métastases cancéreuses. La liaison d'un ligand à l'EGFR ou à c-Met entraîne des modifications de la conformation du récepteur, ce qui active son activité catalytique intrinsèque et conduit à l'autophosphorylation, essentielle à l'activité biologique (235). Par conséquent, les résultats obtenus dans la découverte de petites molécules contre l'EGFR et la c-Met en tant que cibles anticancéreuses provient de l'inhibition sélective de son activité kinase à l'aide de composés qui entrent en compétition avec la liaison de l'ATP au site catalytique (236 ; 237).

Par conséquent, la réussite de la découverte de petites molécules contre l'EGFR et la c-Met en tant que cibles anticancéreuses provient de l'inhibition sélective de leur activité kinase à l'aide de composés qui entrent en compétition avec la liaison de l'ATP au site catalytique, ce qui fait du développement d'inhibiteurs d'EGFR et c-Met puissants et extrêmement sélectifs devient crucial et pourrait être particulièrement utile pour traiter diverses catégories de cancers.

C'est pourquoi notre intérêt s'est porté sur les deux kinases cités en ci-dessus. Dans ce chapitre, on va mener une étude comparative entre trois (3) travaux de recherches réalisés dans la dernière décennie sur chacune des kinases élues, et on commente leurs résultats.

## II. Etude comparative entre différents potentiels inhibiteur de la c-Met

### 1.Objectifs :

L'objectif principal de cette étude est de comparer entre différentes études de recherches élaborées sur des potentiels inhibiteurs de la tyrosine kinase c-Met plus puissants et plus selectifs et fournir des informations supplémentaires sur les modifications structurelles potentielles. Ces inhibiteurs peuvent être des nouveaux médicaments candidats contre le cancer humain.

### 2.Matériels

Notre études comparative s'appuient sur les trois (03) articles cites en ci-dessous:

- **Article n°1:** Molecular Modeling of Exquisitely Selective c-Met Inhibitors Through 3D-QSAR and Molecular Dynamics Simulations

**Écrit par:** Haoliang Yuan, Jin Zhuang, Shihe Hu, Huifang Li, Jinxing Xu, Yaning Hu, Xiao Xiong, Yadong Chen, and Tao Lu, 2014.

- **Article n°2:** Molecular modelling study on pyrrolo[2,3-b]pyridine derivatives as c-Met kinase inhibitors: a combined approach using molecular docking, 3D-QSAR modelling and molecular dynamics simulation.

**Ecrit par:** Pouria Shirvani & Afshin Fassihi, 2020.

- **Article n°3:** 3D-QSAR-aided design of potent c-Met inhibitors using molecular dynamics simulation and binding free energy calculation.

**Écrit par:** Pavithra K. Balasubramaniana, Anand Balupuria , Swapnil P. Bhujbala , Seung Joo Cho, 2018.

### 3.Méthodes :

Dans cette partie, on a utilisé une méthode comparative entre trois (03) études de recherche faites sur les potentiels inhibiteurs de la tyrosine kinase c-Met.

On a comparé les points importants de chaque étude:

-les Méthodes de modélisation moléculaire adoptées

- les objectifs recherchés
- les ligands utilisés
- les ensembles de dataset
- les champ de force utilisés et minimisation d'énergie.
- l'alignement moléculaire et préparation des structures
- le docking moléculaire
- l'étude 3D-QSAR
- la simulation de la dynamique moléculaire
- calcul d'énergie libre de liaison
- les résultats obtenus

#### **4 .Etude comparative :**

##### **1.Méthodes de modélisation moléculaire utilisées :**

Les trois (03) équipes de recherches ont adopté les mêmes méthodes de modélisation moléculaire pour réaliser leurs études. Les méthodes sont les suivantes :

- 3D-QSAR
- La simulation de la dynamique moléculaire
- Docking moléculaire

##### **2.Objectis recherchés :**

Globalement, tous ces articles ont un objectif principal commun. Il s'agit de développer de nouveaux inhibiteurs de c-Met avec une activité et une sélectivité optimisées pour fournir des informations supplémentaires sur des modifications structurelles potentielles et développer des inhibiteurs de c-Met plus puissants et plus sélectifs. Cependant, chaque article a sa propre visée et sa propre méthodologie. Plus précisément, il s'agit des objectifs décrits dans le passage suivant :

**Hoaliang et al.** ont cherché à identifier des caractéristiques structurales et pharmacophoriques importantes pour améliorer l'activité inhibitrice de c-Met et des mécanismes spécifiques pour améliorer la sélectivité de c-Met pour fournir des informations supplémentaires sur des modifications structurales potentielles pour développer des inhibiteurs de c-Met plus puissants et plus sélectifs.

D'autre part, l'objectif de **Pouria et al.** est d'étudier les exigences structurales pour l'inhibition de la kinase c-Met théoriquement en employant les dérivés pyrrolo[2,3-b]pyridine.

Enfin, **Pavithra et al.** ont élucidé leur étude dans le but d'identifier des résidus cruciaux impliqués dans l'inhibition de la kinase c-Met et à concevoir une série de dérivés puissants de l'imidazo [4,5-] pyrazine comme inhibiteurs de c-Met.

## 2.1. Ligand

**Hoaliang et al.** ont pris les dérivés de Triazolopyrazine comme ligand pour chercher des potentiels inhibiteurs de c-Met et **Pavithra et al.** ont opté pour les dérivés chimiques de Imidazo[4,5-b]pyrazine . Tandis que **Pouria et al.** ont basé leur études sur les dérivés de pyrrolo[2,3-b]pyridine.

## 2.2. Dataset

**78** modèles de Triazolopyrazine c-Met inhibiteurs ont été utilisés par Hoaliang et al. Ces modèles ont été répartis en deux ensembles : l'ensemble d'entraînement qui est composé de 28 modèles et l'ensemble de test contenant 50 modèles dont une distribution raisonnable des données biologiques est présente. Leurs valeurs de  $IC_{50}$  (nM) ont été converties en  $pIC_{50}$ , qui seront utilisées comme variables dépendantes pour l'analyse 3D-QSAR.

**Pouria et al.**, de leur côté, Un nombre total de 67 dérivés de pyrrolo[2,3-b]pyridine rapportés par Zheng et al. ont été rassemblés. L'activité inhibitrice exprimée en valeurs  $IC_{50}$  a été convertie en valeurs  $pIC_{50}$  ( $-\log IC_{50}$ ) qui ont été utilisées comme variables dépendantes dans l'étude QSAR. Les valeurs  $pIC_{50}$  sont comprises entre 5,05 et 8,29, couvrant l'intervalle de 3 unités logarithmiques, ce qui indique qu'elles ont atteint la marge prérequis pour obtenir des modèles 3D-QSAR fiables. Cet ensemble a été divisé de manière aléatoire en un ensemble d'entraînement comprenant 54 composés (80 %) pour générer le modèle le modèle 3D-QSAR et un ensemble de test comprenant 13 composés(20%) pour évaluer la prédictibilité du modèle.

Pour **Pavithra et al.**, un total de 79 composés rapportés comme inhibiteurs de c-Met par Zhao et al. ont été collectés et utilisés comme ensemble de données dans leur étude. Sur la base des caractéristiques de la structure et de l'activité des composés, l'ensemble de données a été divisé en 56 composés comme ensemble d'entraînement pour la génération du modèle et 23 composés comme ensemble de test pour la validation du modèle. Tous les composés de l'ensemble des données ont été représentés à l'aide de SybylX2.1 (SYBYL-X 2.1).

### **2.3. Champs de force et minimisation d'énergie**

Divers champs de force ont été appliqués dans ces recherches, **Hoaliang et al.**, s'est orienté vers le champ de force TRIPOS pour minimiser l'énergie des structures qui a été en 500 étapes en adoptant la méthode Powell sans contrainte.

Pour **Pouria et al.**, l'optimisation de la géométrie et les minimisations d'énergie ont été effectuées en utilisant le champ de force Tripos avec l'algorithme de minimisation conjuguée de Powell

De la part de l'équipe de recherche **Pavithra et al.**, l'optimisation de l'énergie a été effectuée à l'aide du champ de force TRIPOS, suivi de l'application de MMFF94 comme champ de force partiel.

### **2.4. L'alignement moléculaire et préparation de structures**

Pour **Hoaliang et al.**, dans l'étude 3D-QSAR, en simulant les conformations de liaison des composés, un alignement moléculaire a été obtenu par docking moléculaire. Ainsi, toutes les molécules étaient bien alignées dans le site de liaison pour le développement de modèles 3D-QSAR. Les structures 3D des composés ont été construites dans le module sketch et les types d'atomes de chaque molécule ont été vérifiés dans Sybyl6.9.

Autrement, **Pouria et al.** ont esquissées, puis optimisées les structures chimiques des composés en utilisant la minimisation de l'énergie dans SYBYL-X 2.1. La structure cristalline tridimensionnelle du domaine kinase de la c-Met (code PDB : 3LQ8) a été extraite de la banque de données des protéines. Deux méthodes d'alignement différentes, basées le docking et sur le ligand, ont été utilisées pour créer des modèles de QSAR3D valides et fiables. Pour la méthode basée sur le ligand, l'inhibiteur le plus puissant a été sélectionné comme modèle et tous les autres composés ont été alignés sur une sous-structure commune. Dans la méthode basée sur le docking,

tous les composés ont d'abord été dockés dans le site actif de la c-Met, puis les meilleures conformations de chaque composé, basées sur le score de docking, ont été sélectionnées pour l'analyse CoMFA et CoMSIA.

L'alignement moléculaire de l'ensemble des données de **Pavithra et al.** a été réalisé en utilisant le composé le plus actif comme modèle. La fonction d'alignement Sybyl's distillrigid a été utilisée pour aligner tous les composés de l'ensemble de données sur le modèle. Ils ont extrait le ligand co-cristallisé de la c-Met de la PDB (PDB ID:5EOB) qui a été réamorcé dans le site actif de la c-Met.

### **2.5. La modélisation des résidus manquants**

La structure cristalline à haute résolution de c-Met (PDB ID:5EOB ; 1.75Å) retenue pour l'étude de **Pavithra et al.** comporte des résidus manquants. La région de boucle manquante englobant les résidus 1238-1240 a été modélisée et affinée à l'aide de modellerV9.14. Les meilleures conformations de boucle ont été sélectionnées après le raffinement de la boucle en fonction de l'énergie, du score GA341 et du score DOPE.

**Pouria et al.** ont comblé et affiné les résidus manquants des régions en boucle en utilisant le modélisateur V9.19. Après l'affinement de la boucle, la meilleure conformation de la boucle a été sélectionnée selon les critères suivants : l'énergie, le score DOPE et le score GA341.

**Hoaliang et al.**, n'ont pas mené cette étape.

### **2.6. Docking moléculaire**

**Hoaliang et al.** ont utilisé La structure cristalline de la c-Met kinase en complexe avec le PF-04217903 (PDB ID : 3ZXZ) obtenue à partir de la banque de données sur les protéines (PDB) pour le docking moléculaire avec Glide 5.5 implémenté dans Schrödinger 2009. La structure complexe obtenue a d'abord été préparée avec le processus Protein Preparation Wizard. Toutes les molécules d'eau ont été retirées. Le site de liaison a été défini par une boîte centrée sur le centroïde du ligand cristallin et de taille similaire à celle du ligand. Le mode de précision supplémentaire (XP) a été utilisé pour le docking et le scoring. Tous les autres paramètres ont été conservés par défaut. La meilleure pose a été obtenue sur la base du score Glide et des interactions protéine-ligand.



Autrement, **Pouria et al.** ont utilisé La version 1.5.6rc3 du progiciel AutoDock Tools (ADT) pour générer les fichiers d'entrée de l'amarrage et pour analyser les résultats de l'amarrage. Tandis que AutoGrid 4.0 et AutoDock4.0 ont été utilisés pour les grilles et les calculs de docking, respectivement. La structure de la protéine a été modifiée en ajoutant tous les hydrogènes et après avoir calculé les charges de Kollman, les hydrogènes non polaires ont été fusionnés et la structure de la protéine a été modifiée. Ensuite, les ligands ont été préparés en définissant des liaisons rotatives pour chaque molécule minimisée. La visualisation et l'analyse approfondie des interactions ligand-protéine ont été réalisées à l'aide du logiciel PyMol version 1.8.7.

**Pavithra et al.** ont réalisé le docking moléculaire par Autodock4. Le composé le plus actif de l'ensemble de données a été arrimé au site actif de la c-Met. Avant le docking, la structure de la protéine a été préparée en ajoutant des hydrogènes polaires, en appliquant des charges de Kohlman et en attribuant des types d'atomes AD4. Par la suite, le ligand a été préparé en utilisant les outils autodock. La structure cristalline sert pour une référence au site de liaison de la protéine.

### **2.7. Les analyses CoMFA et CoMSIA**

**Hoaliang et al.** ont utilisé les modèles CoMFA et CoMSIA qui ont été construits à l'aide du module QSAR de Sybyl6.9. Pour dériver les champs descripteurs CoMFA, un atome de carbone hybride  $sp^3$  avec une charge de +1,0 et un rayon de van der Waals de 1,53Å a été utilisé comme sonde pour calculer les énergies stérique (S) et électrostatique (E) entre la sonde et les composés. Pour l'analyse CoMSIA, en utilisant une sonde d'atome de carbone  $sp^3$  avec une charge de +1,0, cinq indices de similarité composés de l'énergie stérique (S), de l'énergie électrostatique (E), hydrophobe (H), donneur (D) et accepteur (A) de liaison hydrogène ont été calculés pour chaque réseau avec une grille de 2Å.

D'autre part, **Pavithra et al. et Pouria et al.** ont développé le modèle 3D-QSAR avec CoMFA et CoMSIA pour corrélérer l'activité biologique avec la structure 3D des composés en utilisant SybylX2.1. La CoMFA a été réalisée sur les champs stériques (S) et électrostatiques (E) alors que dans la CoMSIA, outre les champs stérique et électrostatique, les champs donneur (HD) et accepteur (HA) de liaison hydrogène hydrophobe (H) ont également été utilisés pour construire le modèle.

## 2.8. Analyse des moindres carrés partiels (PLS)

Pour créer une correction linéaire entre les valeurs expérimentales de l'activité inhibitrice (variables dépendantes) et les valeurs de CoMFA et CoMSIA expérimentales (variables dépendantes), **Hoaliang et al.**, **Pouria et al.** et **Pavithra et al.** ont utilisé l'analyse PLS et les modèles QSAR 3D ont été générés. La méthode du leave-one-out (LOO) avec des valeurs par défaut a été appliquée pour trouver le nombre optimal de composants (ONC) et pour calculer le coefficient de corrélation validé par cross-validation ( $q^2$ ).

## 2.9. Validation du modèle QSAR

Hoaliang et al. et Pouria et al., pour évaluer la précision et la capacité de prédiction réelle des meilleurs modèles obtenus à partir de l'ensemble d'entraînement, ont prédit l'activité inhibitrice de l'ensemble test. La corrélation prédictive ( $r^2_{pred}$ ) basée sur les molécules de l'ensemble de test, est calculée à l'aide de l'équation suivante:  $r^2_{pred} = (SD-PRESS)/SD$

Pour Pavithra et al., tous les modèles développés ont été validés à l'aide de diverses techniques de validation afin de tester leur robustesse et leur capacité de prédiction. Les techniques de validation telles que bootstrapping, leave-five-out (LFO),  $rm^2$  et la pente k ont été effectuées.

## 2.10. La simulation de la dynamique moléculaire

La simulation de la dynamique moléculaire a été réalisée par **Hoaliang et al.** en utilisant le logiciel AMBER 9.0 avec le champ de force ff99SB38 pour simuler la c-Met en complexe avec ses inhibiteurs et calculer leur énergie libre de liaison. Les structures des co-complexes obtenues par docking moléculaire ont été employées. Les ligands ont d'abord été entièrement minimisés par la méthode AM1 et les potentiels électrostatiques ont été calculés au niveau HF/6-31G\* dans le programme Gaussian 09.

Parallèlement, Afin d'évaluer la fiabilité des résultats de docking et d'explorer davantage les interactions enzyme-ligand, une simulation de la dynamique moléculaire de 100 ns a été réalisée par **Pouria et al.** sur les résultats de de liaison du nouveau composé dans le site de liaison de la kinase c-Met. Les simulations MD ont été réalisées avec le logiciel GROMACS 2018, en utilisant le champ de force GROMOS96 54a7.

La simulation de la dynamique moléculaire ont été réalisées par **Pavithra et al.** avec le logiciel Amber 12.0. Le champ de force Amberff03.r1 a été utilisé pour la protéine et le champ de force général AMBER (GAFF) a été utilisé pour le ligand.

### **2.11. Calcul de l'énergie libre de liaison**

**Hoaliang et al.** ont également effectué des calculs d'énergie libre de liaison ont pour étudier les différences d'affinité de liaison entre différents ligands et la poche de liaison. Les méthodes telles que MM/PBSA43 et MM/GBSA44 ont été généralement utilisées pour étudier la contribution énergétique des affinités de liaison protéine-ligand.

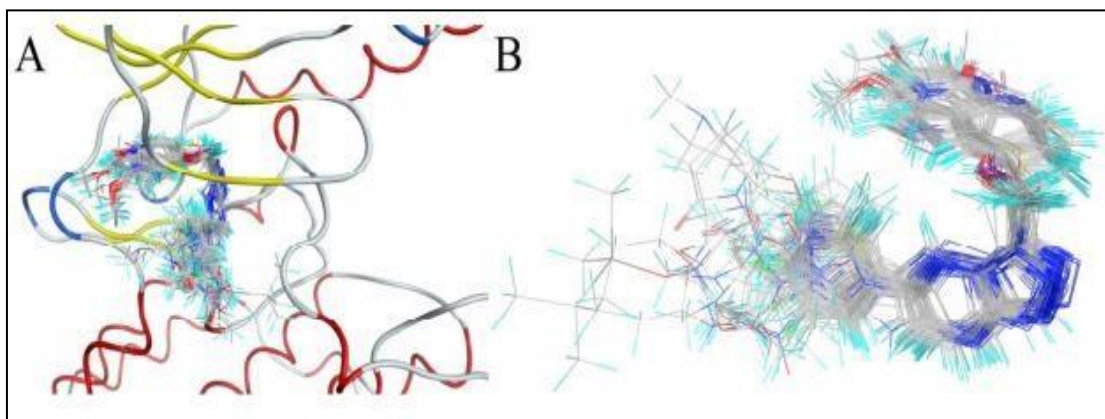
De la part de **Pouria et al.**, L'approche Mécanique Moléculaire Surface de Poisson-Boltzmann (MM/PBSA) a été employée pour calculer l'énergie libre de liaison ( $\Delta G_{\text{bind}}$ ) du ligand au récepteur en utilisant le logiciel G\_MMPBSA.

Egalement, **Pavithra et al.** ont estimé l'énergie libre de à l'aide de l'algorithme Molecular MechanicsGeneralized BornSurface Area (MMGBSA) mis en œuvre dans le paquet AMBER.

## **3 .Résultats**

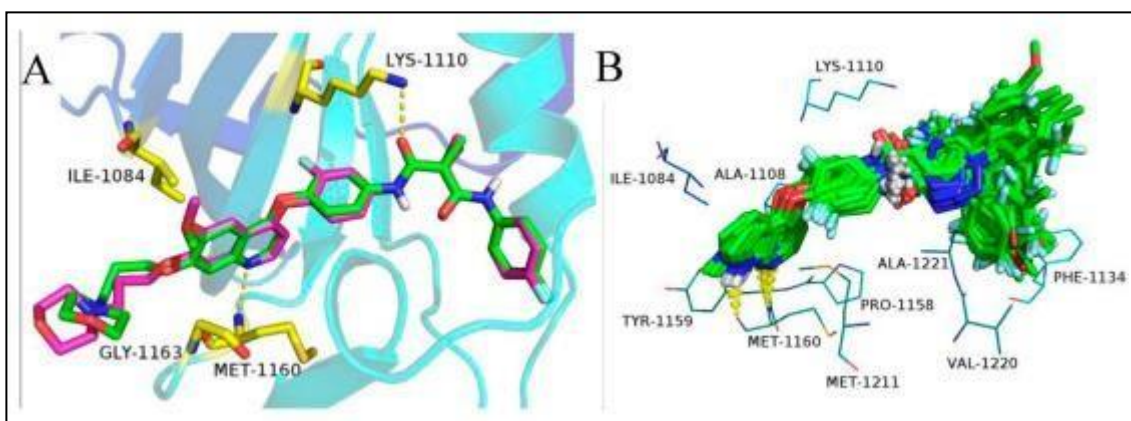
### **3.1. Modèle 3D-QSAR et docking moléculaire**

Le modèle CoMFA réalisé par **Hoaliang et al.** a donné un coefficient  $r^2$  de 0.503 validé par cross-validation avec une composante optimale de 6, un coefficient  $r^2_{\text{ncv}}$  de 0,983, SEE de 0,167 et valeur F de 201,100. Les contributions de champ correspondantes aux paramètres étaient de 63,6 % pour le champ stérique et de 36,4 % pour le descripteur de champ électrostatique, ce qui indique une plus grande influence du champ stérique. Le modèle CoMSIA développé sur la base de cinq champs (S, E, H, D et A), donnant le coefficient  $r^2_{\text{cv}}$  de 0,732 avec une composante optimale de 6,  $r^2_{\text{ncv}}$  de 0,988, SEE de 0,141 et valeur F de 283,710, a été employé dans les analyses détaillées. Les contributions des champs correspondantes étaient de 6,8 %, 21,9 %, 24,4 %, 27,8 % et 17,0 % pour les champs stériques, électrostatiques, hydrophobes, donneurs et accepteurs de liaisons hydrogène, respectivement. Ces paramètres statistiques ont indiqué que ces deux modèles étaient statistiquement significatifs.



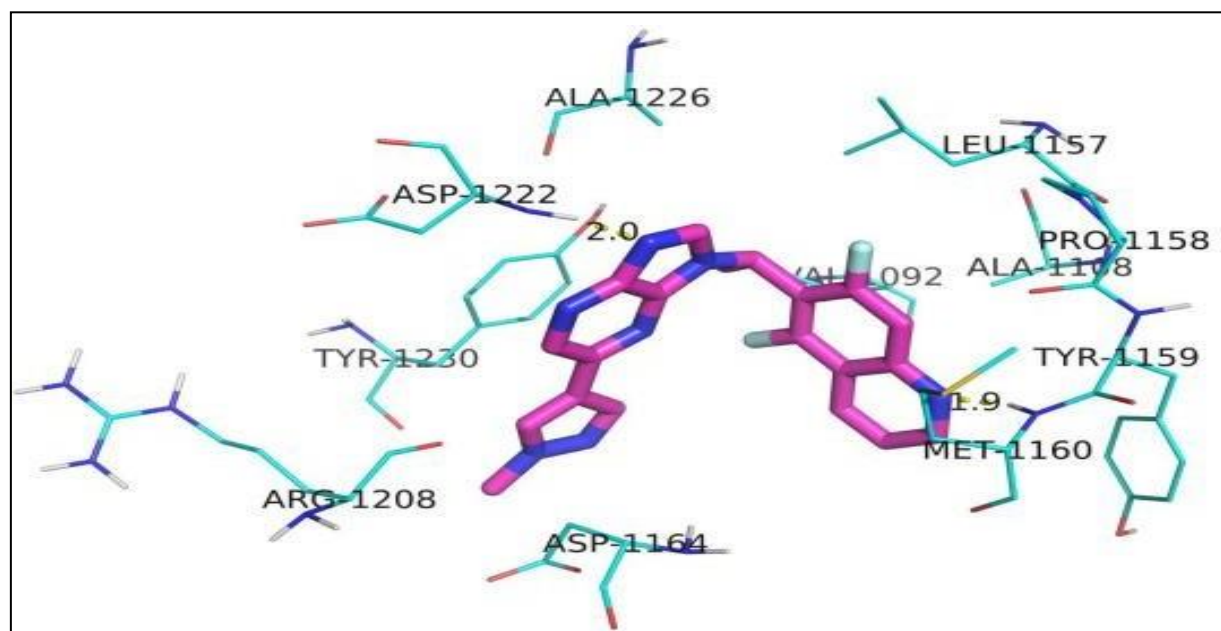
**Figure 38** : Alignement moléculaire basé sur les conformations de docking. A) Alignement dans la poche de liaison ; B) Résultats de l'alignement pour les 78 composés des ensembles d'apprentissage et de test.

Pour **Pouria et al.**, l'analyse des résultats obtenus pour la meilleure conformation de docking a révélé exactement le même mode de liaison et les mêmes interactions par rapport au ligand co-cristallisé, avec une bonne valeur RMSD de 0,740 Å (Figure 39(A)), ce qui indique que la méthode d'ancrage est raisonnable et fiable (Figure 39(B)). Les résultats de docking du composé 10, le composé le plus actif dans l'ensemble des données, ont été sélectionnés comme un modèle pour explorer davantage le mode de liaison entre la protéine et les ligands. Le groupe pyrrolo[2,3-b]pyridine a formé deux liaisons hydrogène avec Met1160. De plus, l'atome d'azote de la partie amide dans le chaînon à 5 atomes a formé une interaction par liaison H avec Asp1222. Ces trois liaisons hydrogène ont joué un rôle important dans le pouvoir inhibiteur des dérivés de pyrrolo[2,3-b]pyridine envers la kinase c-Met.



**Figure 39:** (A) La meilleure conformation dockée du ligand re-docké (vert) se superpose au ligand co-cristallin (magenta), (B) Résultats du docking de tous les composés de l'ensemble de données dans le site de liaison de c-Met.

Quant à **Pavithra et al.**, la valeur RMSD entre le ligand re-docké et le ligand co-cristallisé était de 1,18 Å. La conformation re-dockée du ligand présentait une position de liaison et des interactions similaires à celles du ligand co-cristallisé. Ceci indique que la procédure de docking était fiable. Le site actif de la c-Met kinase est principalement constitué des résidus suivants Ile1084, Ala1108, Tyr1159, Met1160, Asp1164, Arg1208, Met1211, Ala1221, Asp1222, Ala1226, Tyr1230 et Asp1231. La conformation d'accostage a été sélectionnée sur la base de l'analyse des clusters et en considérant l'énergie et l'efficacité des interactions liées et non liées. L'énergie de liaison du composé le plus actif de l'ensemble de données (composé 32) avec c-Met a été trouvée à -10 kcal/mol avec la formation de deux liaisons hydrogène cruciales. La première liaison hydrogène est formée entre l'amide du résidu charnière Met1160 avec l'atome d'azote de la partie quinoléine. Une autre liaison hydrogène est formée entre l'azote du noyau du cycle bihétéroaryle à cinq chaînons et Asp1222. Des interactions de liaison hydrogène similaires sont rapportées par Zhao et al. entre le composé 17 de cette étude et le résidu Met1160. La conformation dockée du composé 32 est présentée dans la figure 40.



**Figure 40 :** La représentation dockée du composé 32 le plus actif à l'intérieur de la poche de liaison de la c-Met.

Statistiquement, un modèle CoMFA fiable avec un  $q^2$  de 0,751, un  $r^2$  de 0,933 et un nombre optimal de composants (ONC) de 6 a été développé. La moyenne du  $r^2$  bootstrapping (BS- $r^2$ ) et l'écart-type du BS (BSSD) étaient respectivement de 0,909 et 0,031. Les valeurs de prédiction de leave-out-five (LFO) et de  $r^2$  pour ce modèle étaient de 0,708 et 0,818 dans l'ordre. Le calcul de la métrique  $r_m^2$  a donné des valeurs moyennes  $r_m^2$  de 0,771 et Delta  $r_m^2$  de 0,136. Ces valeurs se situent dans la fourchette suggérée par Roy et al.

Le modèle CoSMIA le plus prédictif a été obtenu avec la combinaison SEHD des champs de force. Le modèle a  $q^2$  de 0,744 et  $r^2$  de 0,950 avec un ONC de 6. Le bootstrapping  $r^2$  moyen (BS- $r^2$ ) et l'écart-type BS (BS-SD) étaient respectivement de 0,912 et 0,027. Les valeurs de  $r^2_{\text{préd}}$  et FLO étaient de 0,825 et 0,704 respectivement. La moyenne de  $r_m^2$  de 0,807 et le Delta  $r_m^2$  de 0,113 ont été observés. Les valeurs de validation globales indiquent que les modèles développés étaient robustes et prévisibles.

### **3.2. La simulation de la dynamique moléculaire**

Des simulations de dynamique moléculaire ont été réalisées par **Hoaliang et al.** pour évaluer les contributions à la liaison, à l'activité et à la sélectivité du ligand apportées par les groupes substitués dans la région riche en liaisons hydrogène. La comparaison entre les résultats du PF04217903 et du composé 18 a confirmé qu'il était important d'avoir des groupes substitués adéquats dans cette région pour développer des inhibiteurs de c-Met de type I hautement actifs. Parallèlement, en comparant les résultats du PF-04217903 et du PF-02341066, les réseaux de liaison hydrogène formés dans cette région ont également grandement contribué à leur sélectivité.

En outre, pour **Pouria et al.** En outre, la simulation MD a vérifié la stabilité du composé désigné D12 dans des situations dynamiques, malgré ses changements conformationnels partiels. L'analyse des simulations MD a suggéré que la partie pyrrolo[2,3-b]pyridine a perdu les interactions de liaison H avec Met1160 et s'est orientée vers les régions accessibles au solvant. Les résultats ont également montré des liaisons hydrogène stables avec résidu clé, Asp1222 et des interactions hydrophobes importantes avec les résidus non polaires cruciaux Ile1084, Val1092, Ala1108, Leu1140, Leu1157, Phe1200 et His1202. Le calcul de l'énergie libre de liaison et la décomposition d'énergie par la méthode MM-PBSA ont démontré que les contacts de Van der Waals étaient des facteurs prédominants affectant le processus de liaison.



De la part de **Pavithra et al.**, une simulation MD de 100ns a été effectuée pour valider la stabilité du complexe amarré. Suivie de calculs d'énergie libre et d'une décomposition MMGBSA de l'énergie libre. Leur résultat d'arrimage était cohérent avec l'analyse MD. La décomposition de l'énergie libre de liaison a révélé que les résidus Tyr1230, Asp1222, Met1211, Tyr1159, Met1160, Val1092, Ala1108, et Leu1157 ont contribué favorablement à la stabilité du complexe 32.

### **3.3. Résultat final**

L'étude de **Hoaliang et al.** a montré que la comparaison entre les résultats du PF04217903 et du composé 18 a confirmé qu'il était important d'avoir des groupes substitués appropriés dans cette région pour développer des inhibiteurs de c-Met de type I hautement actifs. En outre, la comparaison entre les résultats de PF-04217903 et PF-02341066, des réseaux de liaisons hydrogène formés dans cette région, a également largement contribué à leur sélectivité. Les résultats de leur étude faciliteront la recherche et le développement d'inhibiteurs hautement actifs et sélectifs de c-Met de type I.

Par ailleurs, D'après les résultats statistiques générés par Pouria et al., le modèle CoMSIA avec une capacité prédictive fiable ( $q^2= 0,75$ ,  $r^2= 0.946$  et  $r^2_{\text{prédictive}} = 0,944$ ) a été choisi comme modèle final pour effectuer étude de modélisation moléculaire. La robustesse et la capacité de prédiction prédictibilité du modèle CoMSIA ont été vérifiées par les critères donnés par Tropsha et Roy. L'analyse des cartes de contour CoMSIA construites a révélé les facteurs structurels clés des dérivés de pyrrolo[2,3-b]pyridine qui influencent l'activité inhibitrice de c-Met.

Finalement, l'étude de Pavithra et al. qui a été basée sur l'analyse de la carte de contour 3D-QSAR a conçu une série de 27 de nouveaux dérivés puissants de l'imidazo [4,5-b] pyrazine et leurs activités ont été prédit. Tous les composés conçus ont montré une meilleure activité inhibitrice par rapport aux plus composé actif (composé 32) de l'ensemble de donnés

## **5 .Discussion**

Dans l'étude de **Hoaliang et al** la modélisation 3D-QSAR et les simulations de la dynamique moléculaire ont été réalisées sur des inhibiteurs de c-Met de la série des triazolopyrazines.

Les modèles CoMFA et CoMSIA ont été construits avec les conformations d'amarrage des composés de l'ensemble d'entraînement.

Les statistiques ont démontré leur fiabilité et capacité prédictive importante, en particulier le modèle CoMSIA.

De plus, à partir des cartes de contour du modèle CoMSIA, les exigences en matière de caractéristiques structurales et pharmacophoriques ont été obtenus pour différents groupes substitués sur l'échafaudage.

Les Simulations de dynamique moléculaire ont été réalisées pour évaluer les contributions à la liaison, à l'activité et à la sélectivité du ligand apportées par groupes substitués dans la région riche en liaisons hydrogène.

Pour l'étude de **Pouria et al.** Dans cette étude, une combinaison de méthodes de modélisation moléculaire, y compris la modélisation 3D-QSAR, l'amarrage moléculaire et les simulations de dynamique moléculaire, a été employée sur une série de 67 dérivés de la une série de 67 dérivés de pyrrolo[2,3-b]pyridine afin d'étudier les conditions les exigences structurales pour l'inhibition de l'enzyme c-Met kinase de manière théorique. Les résultats du docking ont proposé une liaison entre c-Met et ses inhibiteurs qui représentaient Met1160, Asp1222 participant à des interactions de liaison H et Ile1084, Ala1108, Pro1158, Tyr1159, Met1211 et Val1220 impliquant des interactions hydrophobes. Les résidus clés ont grandement contribué à l'activité inhibitrice des composés. Les modèles 3D-QSAR basés sur les conformations dockées ont été générés en utilisant les méthodes CoMFA et CoMSIA. D'après les résultats statistiques, le modèle CoMSIA a été choisi comme modèle final pour effectuer étude de modélisation moléculaire. La robustesse et la capacité de prédiction du modèle CoMSIA ont été vérifiées par les critères donnés par Tropsha et Roy.

L'analyse des cartes de contour CoMSIA construites a révélé les facteurs structurels clés des dérivés de pyrrolo[2,3-b]pyridine qui influencent l'activité inhibitrice de c-Met. Ces informations ont été utilisées pour concevoir des inhibiteurs de c-Met plus puissants et nouveaux. LES ÉTUDES 3D-QSAR ont montré que les descripteurs hydrophobes jouent un rôle vital dans la détermination de l'activité inhibitrice des dérivés de pyrrolo[2,3-b]pyridine. En ce qui concerne les informations obtenues à partir

les études 3D-QSAR et de docking moléculaire, 34 nouvelles pyrrolo[2,3-b]pyridines ont été conçues in silico. En outre, la simulation MD a vérifié la stabilité du composé conçu de D12 dans des situations dynamiques, malgré ses changements conformationnels partiels.



L'analyse des simulations MD a suggéré que la partie pyrrolo[2,3-b]pyridine a perdu les interactions de liaison H avec Met1160 et s'est orientée vers les régions accessibles au solvant. Les résultats ont également montré des liaisons hydrogène stables avec résidu clé, Asp1222 et des interactions hydrophobes importantes avec les résidus non polaires cruciaux Ile1084, Val1092, Ala1108, Leu1140, Leu1157, Phe1200 et His1202. Le calcul de l'énergie libre de liaison et la décomposition d'énergie par la méthode méthode MM-PBSA ont démontré que les liaison de Van der Waals étaient des facteurs prédominants affectant le processus de liaison. Les résultats de l'analyse des cartes de contour, du docking moléculaire et des études de dynamique moléculaire étaient en bon accord les uns avec les autres.

Enfin, cette étude pourrait fournir des informations précieuses pour le développement de nouvelles molécules efficaces de la kinase c-Met.

Concernant l'étude de **Pavithra K. Balasubramanian et al.** une série de dérivés d'imidazo[4,5-b]pyrazine signalés comme ayant c-Met L'activité inhibitrice a été étudiée en utilisant une approche combinée d'amarrage, 3D-QSAR, MD simulation, calcul d'énergie libre contraignante et décomposition d'énergie. L'analyse d'amarrage a identifié des résidus importants impliqués dans l'interaction du composé 32 avec la c-Met kinase.

Les résidus Met1160, Asp1222 et Tyr1230 se sont avérés jouer un rôle critique dans l'inhibition mécanisme. Une simulation MD 100ns a été réalisée pour valider la stabilité du dock complexe suivi de calculs d'énergie libre et de la décomposition MMGBSA de l'énergie libre.

Le résultat de l'amarrage était cohérent avec l'analyse MD. La décomposition de l'énergie libre de liaison a révélé que les résidus Tyr1230, Asp1222, Met1211, Tyr1159, Met1160, Val1092, Ala1108 et Leu1157 a contribué favorablement à la liaison du composé 32.

Sur la base de l'analyse 3D-QSAR, une série de 27 de nouveaux dérivés puissants de l'imidazo [4,5-b] pyrazine ont été conçus et leurs activités ont été prédites. Tous les composés conçus ont montré une meilleure activité inhibitrice par rapport au composé le plus actif (composé 32) de l'ensemble de données.

### **III. Etude comparative entre différents potentiels inhibiteur d'EGFR**

#### **1.Objectifs :**

L'objectif à accomplir par cette étude est de comparer entre les différents résultats obtenus par ces recherches. Ceci est dans le but de développer des médicaments candidats à partir des potentiels inhibiteurs de la tyrosine kinase EGFR et mieux les comprendre pour prédire les caractéristiques qui sont responsables de leurs activités biologiques.

#### **2.Matériel**

Dans la présente étude, les articles cités ci-dessous nous ont servi comme matériel pertinent et utile pour réaliser une étude comparative entre différents travaux réalisés sur les inhibiteurs de la tyrosine kinase EGFR appliquant différentes méthodes de modélisation moléculaire.

- **Le premier article** est intitulé “ Exploration of potential EGFR inhibitors: a combination of pharmacophore-based virtual screening, atom-based 3D-QSAR and molecular docking analysis “et écrit par: Arumugam Sudha, Pappu Srinivasan, and Palanivel Rameshthangam, 2014.
- **L'article n°2** est intitulé “Hybrid Pharmacophore- and Structure-Based Virtual Screening Pipeline to Identify Novel EGFR Inhibitors That Suppress Non-Small Cell Lung Cancer Cell Growth”. Il est écrit par: Chia-Wei Weng, Chi-Hsuan Wei ,Jeng-Yuan Tsai , Yi- Hua Lai, Gee-Chen Chang, and Jeremy J. W. Chen, 2022.
- Enfin, **le troisième article** s'intitule “A comparative QSAR analysis and molecular docking studies of quinazoline derivatives as tyrosine kinase (EGFR) inhibitors: A rational approach to anticancer drug design”, élaboré par Malleshappa N. Noolvi , Harun M. Patel, 2011.

#### **3.Méthodes :**

Pour ce faire, on a opté de procéder à une étude comparative entre les trois articles de recherches cités ci-dessus. La comparaison a été faite entre les différents points importants. Il s'agit de:

- les Méthodes de modélisation moléculaire employées
- les objectifs à atteindre
- les ligands utilisés

- les ensembles de dataset et données biologiques
- les softwares utilisés et les champs de force
- le modèle pharmacophorique 3D-QSAR
- le criblage virtuel
  - le docking moléculaire
- les résultats élucidés

#### **4. Etude comparative :**

##### **1. Méthodes de modélisation moléculaire utilisés :**

L'équipe de recherche Arumugam et al. a réalisé son étude en utilisant les méthodes suivantes :

- 3D-QSAR ;
- criblage virtuel basé sur la structure ;
- docking moléculaire.

Quant à l'équipe Chia-Wei Weng et al, s'est servi des méthodes suivantes :

- Modèle pharmacophorique hybride
- 3D-QSAR
- criblage virtuel basé sur la structure ;
- docking moléculaire.

Ainsi que, Malleshappa et al. ont utilisé :

- 2D-QSAR
- 3D-QSAR
- Docking moléculaire

##### **2. Objectifs recherchés**

Pratiquement, les trois articles rapportés dans cette étude ont été menées pour accomplir le même objectif qui est : développer des médicaments candidats potentiels inhibiteur de l'EGFR et mieux les comprendre pour prédire les caractéristiques qui sont responsables de leurs activités biologiques. Plus spécifiquement, les objectifs sont le suivant :

- **Objectif 1 :** développer une modèle pharmacophorique basée sur le ligand en utilisant une série de nouveaux dérivés portant des pyrrolo[3, 2-d]pyrimidine et de dériver un modèle QSAR 3D basé sur les atomes pour prédire les caractéristiques qui sont responsables de son activité biologique.
- **Objectif 2 :** développer des modèles prédictifs décrivant les caractéristiques chimiques cruciales de molécules réversibles et irréversibles ciblant le domaine EGFR-TK.

- **Objectif 3** : mieux comprendre les principales caractéristiques structurales clés nécessaires à la conception de médicaments candidats potentiels d'inhibiteurs de l'EGFR en rapportant les résultats obtenus des études 2D, 3D-QSAR et de docking moléculaire sur une série de ces inhibiteurs.))

### **2.1. Ligand**

Arumugam et al. ont basé leur recherche sur une série de nouveaux dérivés portant la structure de la pyrrolo[3, 2-d]pyrimidine. Cependant, Chia-Wei Weng et al. ont pris les molécules réversibles et irréversibles ciblant la tyrosine kinase EGFR comme ligand cible dans leur étude.

Quant aux Malleshappa et al., ils ont choisi comme ligand les dérivés de la quinazoline comme inhibiteurs de la tyrosine kinase (EGFR).

## **2.2. Dataset et données biologiques**

Arumugam et al. ont utilisé un ensemble de 40 dérivés de pyrrolo[3, 2-d]pyrimidine avec des données d'IC<sub>50</sub> disponibles, basées sur leur activité inhibitrice de l'EGFR kinase. Ils ont été extraits de la littérature pour générer des modèles pharmacophore et QSAR 3D. Sur les 40 composés, 32 ont été sélectionnés de manière aléatoire pour l'ensemble d'entraînement et huit (08) ont été utilisés comme ensemble de test en appliquant l'option "Automated Random Selection" présente dans le module PHASE du logiciel Schrodinger.

Néanmoins, Chia-Wei Weng et al. ont pris un ensemble de 67 composés chimiques dont leurs valeurs de concentration inhibitrice semi-maximale (IC<sub>50</sub>) déterminées par un test d'inhibition des kinases ont été obtenus à partir de la base de données BindingDB et catégorisés rationnellement en ensembles d'entraînement et de test de 33 et 34 composés, respectivement.

Ainsi que, Malleshappa et al., ont choisi quarante-cinq (45) molécules appartenant aux dérivés de 4-anilino quinazoline en tant qu'inhibiteurs de la tyrosine kinase de l'EGFR qui ont été extraites de la littérature et utilisées pour l'analyse QSAR. Les valeurs de pIC<sub>50</sub> de ces derniers couvrent une large marge de variation de 5 à 11. Comme certains composés ont montré une inhibition insignifiante/absence d'inhibition, ces composés ont été exclus de la présente étude. Cet ensemble de données a été divisé en ensembles d'entraînement et de test par la méthode d'exclusion des sphères (ES) pour les modèles MLR, PCR et PLS avec une valeur de dissimilarité de 2,4 et 3,0 respectivement, en utilisant le champ d'activité pIC<sub>50</sub> comme variable dépendante et divers descripteurs 2D comme variables indépendantes.

## **2.3. Software**

Arumugam et al. ont opté pour le module PHASE (New York, NY) (Schrodinger, LLC, New York, NY) pour élaborer le modèle pharmacophorique, le modèle 3D-QSAR et le criblage de la base de données d'inhibiteurs de l'EGFR publiés.

Concernant Chia-Wei Weng et al., le logiciel Accelrys Discovery Studio 3.5 (DS) (Accelrys Inc., San Diego, CA, USA) a été utilisé pour effectuer tous les calculs de leur étude.

Pour Malleshappa et al., les analyses de modélisation, les calculs et les visualisations pour le QSAR 2D ont été effectués à l'aide de V-Life Molecular Design Suite 3.0 (Vlife MDS).

## **2.4. Champs de force**

Arumugam et al. ont employé le champ de force OPLS-2005, Chia-Wei Weng et al., ont eu recours au champ de force CHARMM pour minimiser l'énergie pendant les processus de calcul et, finalement, Malleshappa et al., ont utilisé un champ de force MMFF.

## **2.5. Génération du pharmacophores par QSAR 3D**

Pour Arumugam et al., des modèles QSAR basés sur les atomes ont été générés pour toutes les hypothèses de pharmacophores communes en corrélant l'activité observée et l'activité prédite par PHASE pour l'ensemble de 32 molécules d'entraînement en utilisant un espacement de grille de 1,0 Å. LES MODÈLES QSAR ont été générés avec un à cinq facteurs PLS, et les modèles générés ont été validés en interne par des tests de validation.

Par contre, Chia-Wei Weng et al., leur modèle pharmacophorique 3D-QSAR a été construit sur la base de 33 composés de l'ensemble d'entraînement, de structure diverse, avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> couvrant cinq ordres de grandeur (de 0.1 nM à 2110 nM), ce qui constitue une exigence pour le criblage virtuel à grande échelle. L'activité de l'ensemble de données (basée sur la IC<sub>50</sub>) a été principalement classée en trois groupes : hautement active (IC<sub>50</sub> < 100 nM), modérément active (100 nM ≤ IC<sub>50</sub> < 1000 nM) et faiblement active (IC<sub>50</sub> ≥ 1000 nM). Quatre types de caractéristiques cruciales, à savoir les accepteurs de liaison hydrogène (HBAs), les donneurs de liaisons hydrogène (HBD), les régions hydrophobes (HY) et les cycles aromatiques (AR), ont été étudiés parmi les composés de l'ensemble d'entraînement, et le pharmacophore hypothétique a été modélisé.

A la différence des équipes de chercheurs précédentes, Malleshappa et al., ont généré en premier lieu un modèle 2D-QSAR. Par la suite, ils ont décrit un modèle 3D-QSAR.

Les divers modèles QSAR 2D qui ont été générés pour cette série utilisent les méthodes de régression linéaire multiple (MLR), de régression en composantes principales (PCR) et de régression partielle des moindres carrés (PLS). Ils ont été générés à partir d'un ensemble d'entraînement de 34 (MLR), 33 (PCR) et 30 (PLS) molécules. Le pouvoir prédictif des modèles résultants a été évalué par un ensemble de test de 11 (MLR), 12 (PCR) et 15 (PLS) molécules avec des activités biologiques uniformément distribuées. Ensuite, le modèle 3D-QSAR a été

généralisé par la méthode " k-nearest neighbour molecular field analysis (kNN-MFA) " qui est une méthode reposant sur une approche d'apprentissage à distance simple par laquelle un membre inconnu est classé en fonction de la majorité de ses k-nearest voisins dans l'ensemble d'entraînement.

### **2.6. Validation des modèles générés**

Le modèle pharmacophorique généré par Arumugam et al. a été validé par divers paramètres statistiques tels que  $R^2$ ,  $Q^2$ , RMSE et F. Une bonne prévisibilité ainsi que la signification statistique (faibles valeurs de SD, p et RMSE ; valeurs élevées de  $R^2$ , Pearson-R et F) se sont avérées être des caractéristiques typiques des modèles développés satisfaisant aux exigences primaires pour une étude QSAR.

Afin de valider la signification statistique du modèle pharmacophorique généré, Chia-Wei Weng et al. ont réalisé le test de randomisation de Fischer qui a été effectué par la méthode CatScramble pour réarranger les valeurs  $IC_{50}$  des composés de l'ensemble d'entraînement et construire un pharmacophore hypothétique généré de façon aléatoire.

Cependant, Malleshappa et al. ont utilisé les méthodes de validation suivantes : la méthode LOO (Leave-one-out) pour la validation interne, test de randomisation et une validation externe par le calcul du paramètre statistique  $pred_r^2$ .

### **2.7. L'alignement moléculaire**

Arumugam et al. et Chia-Wei Weng et al. n'ont pas réalisé un alignement moléculaire lors de l'étude QSAR. En revanche, dans l'étude effectuée par Malleshappa et al., toutes les molécules de l'ensemble de données ont été alignées par une méthode basée sur un modèle utilisant la 4-anilinoquinazoline comme modèle, où un modèle est construit en considérant les sous-structures communes dans la série. Cette dernière est dans le but d'obtenir un alignement optimal entre les structures moléculaires nécessaires pour les interactions ligand-récepteur.

### **2.8. Génération du modèle pharmacophorique « structure-based »**

Chia-Wei Weng et al., pour étudier les caractéristiques pharmacophoriques les plus pertinentes, les mutants EGFR L858R et T790M ont été adoptés, et les caractéristiques chimiques clés ont été discernées en examinant les résidus de la poche de compétition ATP du domaine kinase. Après une analyse groupée de ces caractéristiques, le SBP optimal a été généré.



D'autre part, les deux autres équipes de recherche n'ont pas passé par cette étape.

## **2.9. Criblage virtuel**

Le meilleur modèle pharmacophore prédit par Arumugam et al. a été sélectionné et utilisé comme une requête 3D pour retrouver des molécules présentant des caractéristiques chimiques nouvelles et souhaitées dans de grandes bibliothèques publiques de composés comme Asinex ([www.asinex.com](http://www.asinex.com)), Maybridge ([www.maybridge.com](http://www.maybridge.com)), TOSLab ([www.toslab.com](http://www.toslab.com)), Binding ([www.bindingdb.org/bind/index.jsp](http://www.bindingdb.org/bind/index.jsp)) et Eduliss ([eduliss.bch.ed.ac.uk](http://eduliss.bch.ed.ac.uk)), respectivement. Un composé qui correspond bien aux caractéristiques pharmacophoriques de la meilleure hypothèse a été récupéré comme un hit. Les résultats trouvés dans les bases de données ont été classés sur la base du score d'adéquation, de la prédiction de la similarité avec un médicament en utilisant la règle des cinq de Lipinski.

Chia-Wei Weng et al., de leur part, pour identifier les inhibiteurs potentiels de l'EGFR, 46 872 composés de NCI ont été criblés par le criblage virtuel basé sur le modèle pharmacophorique PBVS en plusieurs étapes, couplé à un docking moléculaire. Dans un premier temps, les propriétés de type médicamenteux caractérisées par des critères tels que la règle des cinq de Lipinski [36] et les règles de Veber [37] ont été évaluées de manière préférentielle afin d'explorer la capacité des molécules candidates à devenir des médicaments. Ensuite, pour identifier les inhibiteurs les plus puissants contre le domaine EGFR-TK, les inhibiteurs de l'EGFR de première, deuxième et troisième génération ont été adoptés comme témoins positifs dans le calcul des valeurs de référence du pharmacophore correspondant à trois types de modèles pharmacophoriques.

Tandis que Malleshappa et al. ont passé directement aux docking moléculaire sans effectuer le criblage virtuel.

## **2.10. Docking moléculaire**

Arumugam et al. ont effectué le docking moléculaire en utilisant le programme Glide version 5.7 (Schrodinger, LLC, New York, NY). Il été réalisé selon 3 protocoles différents : il a été réalisés d'abord en HTVS, puis dans les méthodes SP (précision standard) et XP (extra précision) pour affiner bonne pose du ligand. Tous les protocoles Glide ont été exécutés en utilisant paramètres par défaut, et le score Glide a été utilisé pour sélectionner la meilleure conformation pour chaque ligand. les propriétés d'absorption, de distribution, de métabolisme et

d'excrétion (ADME) ont été calculées pour les hits identifiés en utilisant le programme QikProp (New York, NY).

Revenant à **Chia-Wei Weng et al.**, Une analyse de docking moléculaire a été réalisée afin d'affiner la liste des composés hit obtenus à partir de l'analyse PBVS en plusieurs étapes. L'algorithme LibDock [58] de DS3.5 a été utilisé pour simuler les positions d'arrimage de chaque composé. Les conformations de chaque composé ont été alignées sur les sites d'interaction polaires et non polaires de la poche active prédéfinie du domaine EGFR-TK; les scores de docking ont ensuite été calculés.

Différemment à **Arumugam et al.** et à **Chia-Wei Weng et al.**, l'équipe **Malleshappa et al.** ont exécuté Un potentiel linéaire par paire (PLP) basé sur le potentiel moléculaire de la 4- anilino quinazoline à l'aide du module de module de docking du logiciel Molecular Design Software, ce qui implique l'utilisation de la fonction PLP sommée sur les interactions énergétiques entre toutes les paires d'atomes de la protéine et du ligand.

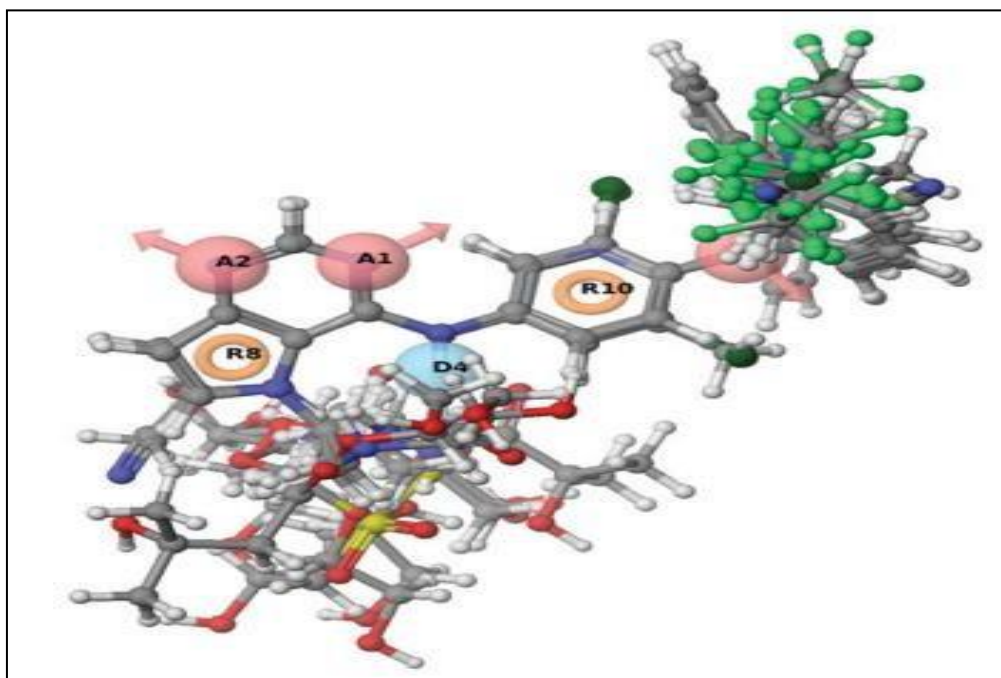
### **2.11. Calcul d'énergie de liaison**

Contrairement **Chia-Wei Weng et al.**, **Malleshappa et al.**, l'équipe de recherche **Arumugam et al.** a calculé L'énergie libre de liaison d'un ensemble de ligands au récepteur par prime/MM-GBSA.

## **3. Résultats**

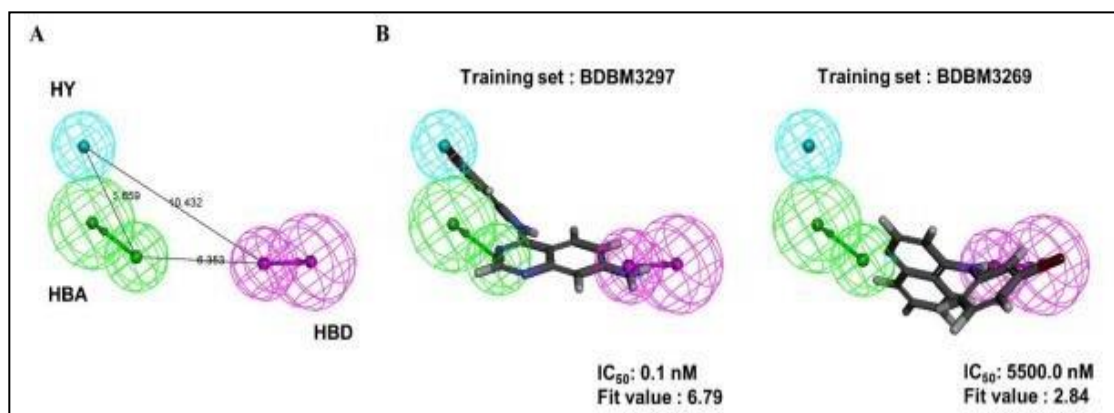
### **3.1. Génération du modèles pharmacophorique et 3D-QSAR**

La génération du modèle pharmacophorique par **Arumugam et al.** a révélé Six CPH probables caractérisés, à l'aide d'un algorithme de partition arborescent, exigeant la correspondance des 13 composés actif. Un total de 1578 CPH probables à six caractéristiques appartenant à onze types, dont ADHRRR, AHRRRR, AAADHR, AAHRRR, AADHRR, AAAHRR, DHRRRR, ADRRRR, AAARRR, AADRRR et AAADRR ont été obtenus.



**Figure 41:** L'alignement des composés de l'ensemble d'entraînement basé sur un modèle pharmacophorique commun.

Pour **Chia-Wei Weng et al.**, quatre (04) types de caractéristiques cruciales, à savoir, les accepteurs de liaison hydrogène (HBAs) les donneurs de liaisons hydrogène (HBD), les régions hydrophobes (RH) et les cycles aromatiques (CA), ont été étudiés parmi les composés de l'ensemble d'entraînement, et le pharmacophore hypothétique a été modélisé. La structure hypothétique la mieux classée (c.-à-d. Hypo1) a été choisie comme étant le meilleur modèle en raison des paramètres suivants : le coefficient de corrélation le plus élevé (0,92), le plus faible RMSD (RMS ; 0,88), le coût total le plus faible (136,11), le coût de configuration le plus fiable (10,43) et le coût d'exploitation le plus élevé (1,5). Par ailleurs, le coût nul et le coût fixe étaient respectivement de 197,09 et 122,56. Hypo1 était composé de HBAs, HBDs, et HYs, comme le montre la figure 42A. La distance entre chaque deux caractéristiques chimiques varie d'environ 5,7 à 10,4 Å. Le composé le plus actif, BDBM3297 (IC<sub>50</sub>, 0,1 nM), a montré une valeur d'ajustement plus élevée de 6,79 lorsqu'il a été mappé sur Hypo1, tandis que le composé le moins actif, BDBM3269 (IC<sub>50</sub>, 5500 nM), a été cartographié sur Hypo1, a affiché une faible valeur d'ajustement, 2,84, comme le montre la figure 42B.



**Figure 42 :** Le modèle pharmacophore 3D QSAR Hypo1 des inhibiteurs de l'EGFR. (A) Caractéristiques pharmacophore du modèle Hypo1 (B) Le composé le plus actif BDBM3297 et le composé le plus inactif BDBM3269 mappés et mis en correspondance avec le modèle Hypo1.

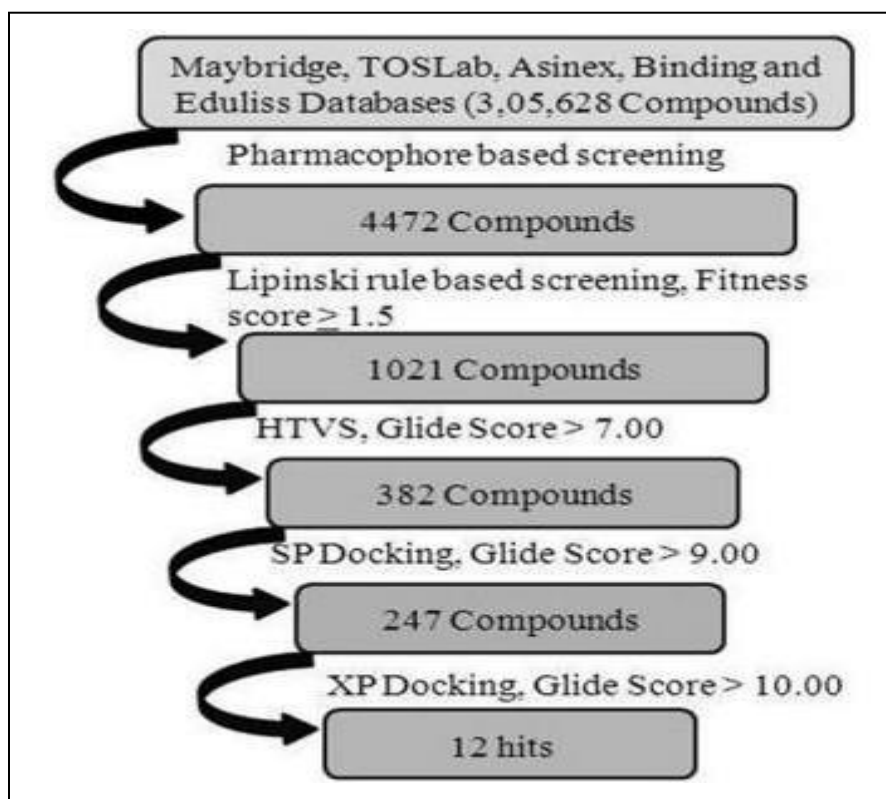
### 3.2. 2D-QSAR

Pour l'étude 2D-QSAR réalisé par **Malleshepa et al.**, tous les modèles QSAR proposés étaient statistiquement significatifs. Cependant, le modèle 1 par analyse de régression linéaire multiple pourrait être considéré comme le meilleur en termes d'excellentes capacités de prédiction internes et externes. Selon le modèle-1 (MLR) l'activité anticancéreuse des dérivés de la quinazoline a été influencée par le nombre de donneurs H individuels et par le XlogP et les descripteurs indépendants de l'alignement (T\_C\_Br\_1, T\_2\_O\_1 et T\_2\_N\_7) aident à comprendre l'effet du substituant à différentes positions des quinazoline. Le résultat obtenu à partir de l'étude QSAR 2D suggère que le groupe attracteur d'électrons sur la partie aniline du cycle quinazoline augmente la lipophilie des composés et favorise l'inhibition de l'EGFR. Cela suggère également suggère également que le groupe alcoxy à longue chaîne en position 6 et 7 du cycle quinazoline favorise l'activité.

### 3.3. Criblage virtuel basé sur le modèle pharmacophorique

Dans le modèle de pharmacophore généré par **Aramugam et al.**, AAADRR.295 a été utilisé comme requête pour classer les composés puissants par ordre de priorité. à partir de différentes bases de données chimiques comprenant 305 628 molécules (Maybridge, Asinex, Binding, Toslab et Eduliss), qui se compose un large éventail des structures chimiques. Une liste de résultats de 4472 composés a été criblée sur la base du modèle pharmacophorique et comprend

des composés structurellement similaires aux inhibiteurs de l'EGFR kinase existants et comprend également de nouvelles structures. Ces composés ont ensuite été triés sur la base de la valeur d'ajustement et de la prédiction de la similarité avec le médicament en utilisant la règle des cinq de Lipinski. En conséquence, 1021 composés qui contribuent à la règle des cinq de Lipinski avec une valeur d'adéquation supérieure ou égale à la valeur de la règle des cinq de Lipinski ont été sélectionnés avec une valeur d'adéquation supérieure ou égale à 1,5 ont été obtenus et ont été considérés pour des études de docking. Le flux de travail schématisé du criblage virtuel réalisé dans cette étude est présenté dans la Figure 43.



**Figure 43 :** Stratégie de criblage virtuel réalisée dans cette étude

### **3.4. Résultat final**

L'étude de **Arumagam et al.** a révélé le résultat suivants : 13 hits ont été récupérés par trois cycles de docking et ils ont été prédits comme étant modèle QSAR 3D hautement actif avec les scores de docking les plus élevés. La reconnaissance du pharmacophore donne une idée sur les interactions possibles, puisque tous les composés de la série partagent certaines caractéristiques communes. De plus, les composés récupérés extraits ont été reconnus pour s'arrimer à la poche profonde de l'EGFR kinase et se sont révélés être des pistes précieuses pour d'autres essais biologiques.

Pour **Chia-Wei Weng et al.**, parmi les quatre composés, NSC609077 a montré un effet inhibiteur significatif sur l'activité de l'EGFR et a inhibé viabilité, prolifération et migration des cellules cancéreuses en supprimant la voie de signalisation liée à l'EGFR. Les résultats ont montré que l'application de différents modèles de pharmacophore dérivés de divers inhibiteurs de l'EGFR ou de structures protéiques peuvent être utiles pour faciliter la découverte de nouveaux médicaments ciblant l'EGFR dans le futur.

De la part de **Malleshepa et al.**, ils ont montré que le cycle quinazoline joue un rôle crucial dans la production d'activité biologique en interagissant avec MET 769, un résidu important pour l'affinité de liaison de l'inhibiteur, qui est en corrélation avec les résultats obtenus à partir de l'étude cristallographique de l'erlotinib-EGFR. Ces interactions soulignent l'importance des atomes d'azote pour la liaison et la capacité inhibitrice subséquente.

Ainsi, le modèle proposé par eux peut être utilisé pour concevoir de nouveaux dérivés de quinazoline avec une activité inhibitrice de la tyrosine kinase (EGFR).

### **5. Discussion**

Dans l'étude de Arumagam et al. un mapping du pharmacophore et des techniques 3D-QSAR ont été appliquées à une série de dérivés de la pyrrolo[3-d]pyrimidine comme inhibiteurs de l'EGFR.

Le modèle pharmacophore 3D-QSAR a été généré à partir d'un ensemble sélectionné d'inhibiteurs de l'EGFR à l'aide de PHASE. Un pharmacophore à six points avec trois sites accepteurs

(A), un site donneur (D) et deux cycles aromatiques (R) comme caractéristiques pharmacophores. Les caractéristiques du pharmacophore ont été obtenues et utilisées pour la génération du QSAR 3D. Le modèle QSAR AAADRR.295 était significativement plus précis avec de bons  $R^2 = 0.9542$  et  $Q^2 = 0.8835$ . Le pharmacophore prédictif et le modèle 3D-QSAR envisagé dans la perspective des molécules étudiées établit une relation majeure entre les caractéristiques structurales et les activités inhibitrices contre l'EGFR et donnent des informations significatives sur les caractéristiques des inhibiteurs.

Les résultats révèlent que la pyrrolo[3, 2-d]pyrimidine pourrait être un échafaudage important et que son activité augmente avec l'ajout de substitutions.

En outre, pour explorer de nouveaux inhibiteurs potentiels de l'EGFR, AAADRR.295 a été utilisé comme requête pour passer en revue plusieurs bases de données, dont Maybridge, Asinex, Binding, TOSLab et Eduliss. Les résultats trouvés ont ensuite été soumis à un filtrage par un criblage ADME et des études de docking pour un affinement supplémentaire. Finalement, 13 résultats ont été récupérés par trois cycles de docking et ils ont été prédits comme étant modèle QSAR 3D hautement actif avec les scores de docking les plus élevés.

De plus, les composés récupérés composés extraits ont été reconnus pour s'arrimer à la poche profonde de l'EGFR kinase et se sont révélés être des pistes précieuses pour d'autres essais biologiques.

Concernant **Chia-Wei Weng et al.**, ils rapportent le déroulement d'un processus de criblage virtuel en plusieurs étapes qui a été utilisé conjointement avec le docking moléculaire pour découvrir des inhibiteurs potentiels ciblant l'EGFR pour la suppression de l'activité de l'EGFR.

Pour le faire, le logiciel Accelrys Discovery Studio 3.5 (DS) (Accelrys Inc., San Diego, CA, USA) a été utilisé pour effectuer tous les calculs de cette étude. Un champ de force CHARMM a été utilisé pour minimiser l'énergie pendant les processus de calcul. Un ensemble de 67 composés chimiques et leurs valeurs de concentration inhibitrice à demi-maximum (IC<sub>50</sub>) déterminées par un kinase ont été obtenues à partir de la base de données BindingDB et catégorisées rationnellement en ensembles d'entraînement et de test.

Les six meilleurs résultats ont été choisis comme composés candidats. Une validation biologique par ELISA a ensuite été pour évaluer l'efficacité de la suppression de l'activité de



l'EGFR des composés identifiés par cette méthode. Enfin, il s'est déterminé que le NSC609077 est un inhibiteur candidat qui a exercé un effet significatif sur l'activité de l'EGFR.

Finalement, dans l'étude 2D-QSAR réalisé par **Malleshepa et al.**, tous les modèles QSAR proposés étaient statistiquement significatifs. Cependant, le modèle 1 par analyse de régression linéaire multiple pourrait être considéré comme le meilleur en termes d'excellentes capacités de prédiction internes et externes. Selon le modèle-1 (MLR) l'activité anticancéreuse des dérivés de la quinazoline a été influencée par le nombre de donneurs H individuels et par le XlogP et le descripteur indépendant de l'alignement (T\_C\_Br\_1, T\_2\_O\_1 et T\_2\_N\_7) aident à comprendre l'effet du sous-titrage à différentes positions des quinazolines. Le résultat obtenu à partir de l'étude QSAR 2D suggère que le groupe attracteur d'électrons sur la partie aniline du cycle quinazoline augmente la lipophilie des composés et favorise l'inhibition de l'EGFR. Cela suggère également que le groupe alcoxy à longue chaîne en position 6 et 7 du cycle quinazoline favorise l'activité. Le diagramme de contribution des interactions stériques et électrostatique généré par le 3D-QSAR montre que les groupes attracteurs d'électrons au niveau de la fraction aniline sont favorables. Ce résultat est en accord étroit avec les structures de ces composés, où des groupes attracteurs d'électrons est sont présents dans la partie aniline. Cela suggère également que les groupes donneurs d'électrons volumineux sont favorables en position 6 et 7 du modèle.

Le cycle quinazoline joue un rôle crucial dans la production de l'activité biologique en interagissant avec le MET 769, un résidu actif important pour l'affinité de liaison de la molécule, ce qui est en corrélation avec les résultats obtenus par cristallographie de l'erlotinib-EGFR. Ces interactions soulignent l'importance des atomes d'azote pour la liaison et la capacité inhibitrice ultérieure.

Le modèle proposé dans ce travail peut donc être utilisé pour concevoir de nouveaux dérivés de la quinazoline avec une activité inhibitrice de la tyrosine kinase (EGFR).



# CONCLUSION GÉNÉRALE

---

Les inhibiteurs de tyrosine kinase constituent une nouvelle classe thérapeutique en oncologie. De très nombreux composés sont en cours de développement. Ils sont dirigés vers des cibles moléculaires spécifiquement exprimées ou surexprimées dans les tissus cancéreux. L'utilisation de ces agents thérapeutiques est indissociable d'un diagnostic moléculaire dont les critères sont encore mal définis.

Le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR) et La kinase c-Met sont parmi les cibles tyrosine kinase les plus recherchées car ils jouent un rôle essentiel dans la régulation de la croissance cellulaire. La surexpression, l'amplification ou la mutation des tyrosines kinases EGFR et c-Met est fréquente dans les cancers du sein, de l'ovaire et du poumon non à petites cellules.

Par conséquent, la réussite de la découverte de petites molécules contre l'EGFR et la c- Met en tant que cibles anticancéreuses provient de l'inhibition sélective de leur activité kinase à l'aide de composés qui entrent en compétition avec la liaison de l'ATP au site catalytique, ce qui fait du développement d'inhibiteurs d'EGFR et c-Met puissants et extrêmement sélectifs devient crucial et pourrait être particulièrement utile pour traiter diverses catégories de cancers.

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés à la comparaison entre plusieurs études faites pour identifier les caractéristiques structurales et pharmacophoriques importantes pour améliorer l'activité inhibitrice de c-Met EGFR et optimiser leurs sélectivité.

L'étude de Hoaliang et al. a généré que la comparaison entre les résultats du PF04217903 et du composé 18 a confirmé qu'il était important d'avoir des groupes substitués appropriés dans cette région pour développer des inhibiteurs de c-Met de type I hautement actifs. Par ailleurs, les études de Pouria et al. ont prouvé que les facteurs structurels clés des dérivés de pyrrolo[2,3-b]pyridine qui influencent l'activité inhibitrice de c-Met. L'étude de Pavithra et al. a révélé que tous les composés dérivés de l'imidazo [4,5-b] pyrazine conçus ont montré une meilleure activité inhibitrice par rapport aux plus composé actif (composé 32) de l'ensemble de données.

D'autre part, l'étude de Arumagam et al. a montré que les composés récupérés ont été reconnus pour s'arrimer à la poche profonde de l'EGFR kinase et se sont révélés être des pistes précieuses pour d'autres essais biologiques. Pour **Chia-Wei Weng et al.**, parmi les quatre composés, NSC609077 a montré un effet inhibiteur significatif sur l'activité de l'EGFR et a inhibé viabilité, prolifération et migration des cellules cancéreuses en supprimant la voies de signalisation liée à l'EGFR. En dernier lieu, l'étude de **Malleshepa et al.**, a montré que le cycle quinazoline joue un rôle crucial dans la production d'activité biologique en interagissant avec MET 769, un actif important résidu pour l'affinité de liaison de l'inhibiteur, qui est en corrélation avec les résultats obtenus à partir de l'étude cristallographique de l'erlotinib-EGFR.

Ces résultats sont prometteurs et utiles et pourrait faciliter la recherche et le développement d'inhibiteurs hautement actifs et sélectifs et contribuer à la découverte de nouveaux médicaments ciblant l'EGFR dans le futur.

## BIBLIOGRAPHIE

---

- (1) Elise Martin. Thérapies ciblées chez les femmes atteintes de cancer du sein métastatique : diffusion, impact sur la prise en charge, poids des représentations sociales et adhésion thérapeutique. Santé publique et épidémiologie. Université Paris Saclay (COmUE), 2017. Français. ffnNT : 2017SACLS534ff. ffe1-01708546
- (2) Eric Barthelme. Histoire de la notion du Cancer. Histoire des sciences médicales. Université ParisDescartes. 1981.
- (3) « Le cancer à travers les siècles » (sans date), sur le site Ligue-Cancer. Consulté Aout 2022-08-25. [https://www.ligue-cancer.net/article/26009\\_le-cancer-travers-les-siecles](https://www.ligue-cancer.net/article/26009_le-cancer-travers-les-siecles).
- (4) Candice Salomé (2021, 22 février). « Histoire du cancer : Tout savoir ! », sur le site Carenity. Consulté 25 août 2022. <https://www.carenity.com/infos-maladie/magazine/conseils/histoire-du-cancer-tout-savoir-1636>
- (5) Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. Cell. 2011;144(5):646-74.
- (6) Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer. Cell. January 7, 2000 ; 100 : 57-70.
- (7) Charlton BG. Senescence, cancer and 'endogenous parasites': a salutogenic hypothesis. Journal of the Royal College of Physicians of London. 1996;30(1):10-2.
- (8) « Types et stades des cancers » (2021, 06 janvier), sur le site e-cancer consulté le 26 août 2022. <https://www.e-cancer.fr/Comprendre-prevenir-depister/Qu-est-ce-qu-un-cancer/Types-et-stades-des-cancers>.
- (9) Freddie Bray, Jacques Ferlay, Isabelle Soerjomataram, Rebecca L. Siegel, Lindsey A. Torre, AhmedinJemal. Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries, CA CANCER J CLIN 2018;68:394– 424
- (10) Ferlay. J, Ervik. M, Lam. F, Colombet. M, Mery. L, Piñeros. M, et al. Observatoiremondial du cancer: « Cancer Today ». Lyon : Centre international de recherche sur le cancer, 2020.
- (11) Organisation Mondiale de la Santé. Rapport sur le cancer, 21.09.2021.
- (12) Chaouli. I, Rahmouni. R. Utilisation du Cetuximab dans le cancer colorectal métastatique au niveau du CAC de Sétif. Thèse médicale 2016.

- (13) The Global Cancer Observatory – World; rapport de Mars 2021.
- (14) Ministère de la santé, de la population et de la réforme hospitalière. Plan national cancer 2015-2019. Algérie. Octobre 2014:17-18.
- (15) Hamdi Cherif. M, Kara. L, Atoui. S, Boudefar. F, et al. Données épidémiologiques du cancer dans l'Est et le Sud-est algérien, 2014-2017. Algerian Journal of Health Sciences ATRSS. Tome 1. 2020:13.
- (16) Hammouda. D, Boutekjdjiret. L. Surveillance épidémiologique des cancers: Résultats préliminaires nationaux. Algerian Journal of Health Sciences ATRSS. Tome 1. 2020: 32-33.
- (17) Facteurs de risque, prévention et dépistages des cancers. Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français (CNGOF). 2010-2011.
- (18) Antonio Garofalo. Conception, synthèse et évaluation pharmacologique de nouveaux dérivés quinazoliques à activité anticancéreuse potentielle. Médicaments. Université du Droit et de la Santé - Lille II, 2009. Français. fftel-00423898f
- (19) Aline Mongis. Une nouvelle stratégie d'immunothérapie : cibler directement des immunostimulants à la surface des cellules tumorales par ligation bio-orthogonale. Biologie cellulaire. Université d'Orléans, 2017. Français. .
- (20) Les thérapies ciblées dans le traitement du cancer en 2015 /États des lieux et enjeux, appui à la décision, INCa, juillet 2016).
- (21) Gerber DE. Targeted therapies: a new generation of cancer treatments. American family physician. 2008;77(3):311-9
- (22) Médecine de précision : thérapie ciblée et immunothérapie spécifiques (sans date), sur le site E-cancer consulté le 26 août 2022. <https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Se-faire-soigner/Traitements/Therapies-ciblees-et-immunotherapie-specifique/Therapies-ciblees-modes-d-action>.
- (23) Salaün H, Ternant D, Cancel M, Linassier C, Paintaud G. Pharmacologie des anticorps monoclonaux à usage thérapeutique dans le cancer. Innov Ther Oncol 2019 ; 5 : 255-266. doi : 10.1684/ito.2019.0179
- (24) Thomas. W, Julien. F. Les différentes classes de thérapie ciblée : Types of targeted therapy in digestive oncology. La lettre de l'hépatogastroentérologue : XIX n°2 ,Mars-Avril 2016.

- (25) Lecomte T et al. Les anticorps monoclonaux thérapeutiques : une classe médicamenteuse majeure en pathologie digestive. Hépatogastro- & Oncologie Digestive 2012. [http://www.jle.com/fr/revues/hpg/edocs/les\\_antikorps\\_monoclonaux\\_therapeutiques\\_une\\_classe\\_medicamenteuse\\_majeure\\_en\\_pathologie\\_digestive\\_291813/article.phtml](http://www.jle.com/fr/revues/hpg/edocs/les_antikorps_monoclonaux_therapeutiques_une_classe_medicamenteuse_majeure_en_pathologie_digestive_291813/article.phtml)
- (26) Manon Broutin, Hervé Watier. Les biomédicaments : 2<sup>ème</sup> partie : les anticorps thérapeutiques. Med sci. n°2, 2016.
- (27) Kévin Adam. Etude de la stabilité et des mécanismes d'action de la protéine kinase oncogénique Pim-2 dans la Leucémie Aigüe Myéloïde. Médecine humaine et pathologie. Université René Descartes - Paris V, 2014. Français. ffNNT : 2014PA05S008ff. fftel-01124340f
- (28) Korb, O., T. Stützle, and T.E. Exner, PLANTS: Application of Ant Colony Optimization to Structure-Based Drug Design. Lecture Notes in Computer Science, 2006. 4150: p. 247-258.
- (29) Kondapalli L, Soltani K, Lacouture ME. The promise of molecular targeted therapies: protein kinase inhibitors in the treatment of cutaneous malignancies. Journal of the American Academy of Dermatology. 2005;53(2):291-302.
- (30) Traxler P, Bold G, Buchdunger E, Caravatti G, Furet P, Manley P, et al. Tyrosine kinase inhibitors: from rational design to clinical trials. Medicinal research reviews. 2001;21(6):499-512
- (31) Blagden S, Bono Jd. Drugging Cell Cycle Kinases in Cancer Therapy. Current Drug Targets. 2005;6(3):325-35.
- (32) Cheetham GMT. Novel protein kinases and molecular mechanisms of autoinhibition. Current Opinion in Structural Biology. 2004;14(6):700-5.
- (33) Cohen P. Protein kinases--the major drug targets of the twenty-first century? Nature reviews Drug discovery. 2002;1(4):309-15.
- (34) Noble M. E. M., Endicott J. A., Johnson L. N. Protein Kinase Inhibitors: Insights into Drug Design from Structure. Science, 2004, 3003, 1800-1805.
- (35) Knighton DR, Zheng JH, Ten Eyck LF, Ashford VA, Xuong NH, Taylor SS, et al. Crystal structure of the catalytic subunit of cyclic adenosine monophosphate-dependent protein kinase. Science. 1991;253(5018):407-14.

- (36) Hueck C. J., Hillen W. Catabolite repression in *Bacillus subtilis*: a global regulatory mechanism for the Gram-positive bacteria. *Mol. Microbiol.*, 1995, 15, 395-401.
- (37) Madhusudan S, Ganesan TS. Tyrosine kinase inhibitors in cancer therapy. *Clinical biochemistry*. 2004;37(7):618-35.
- (38) Bourotte, Maryline. *Synthèse d'inhibiteurs de protéines kinases: approches pharmacochimiques*. Diss. Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur, 2004.
- (39) Dewji NN, Valdez D, Singer SJ. The presenilins turned inside out: implications for their structures and functions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2004;101(4):1057-62.
- (40) Krause DS, Van Etten RA. Tyrosine kinases as targets for cancer therapy. *The New England journal of medicine*. 2005;353(2):172-87.
- (41) Manning G, Whyte DB, Martinez R, Hunter T, Sudarsanam S. The protein kinase complement of the human genome. *Science*. 2002;298(5600):1912-34.
- (42) Endicott J.A, Martin E.M Nobel, Louise N. Johnson. The structural basis for control of eukaryotic protein kinases. *Annual review of biochemistry*. 2012: vol. 81: 587-613.
- (43) Tamaoki T, Nomoto H, Takahashi I, Kato Y, Morimoto M, Tomita F. Staurosporine, a potent inhibitor of phospholipid/Ca<sup>++</sup>dependent protein kinase. *Biochemical and biophysical research communications*. 1986;135(2):397-402.
- (44) Loubna, Allam. Conception et evaluation des molecules anticancereuses par approches in silico: inhibiteurs des kinases akt1 et lmtk3. 2020.
- (45) Schlessinger J, Plotnikov AN, Ibrahimi OA, Eliseenkova AV, Yeh BK, Yayon A, et al. Crystal structure of a ternary FGF-FGFR-heparin complex reveals a dual role for heparin in FGFR binding and dimerization. *Molecular cell*. 2000;6(3):743-50.
- (46) Kesari AN, Gupta RK, Watal G. Hypoglycemic effects of *Murraya koenigii* on normal and alloxan-diabetic rabbits. *Journal of ethnopharmacology*. 2005;97(2):247-51.
- (47) Gabr MT, El-Gohary NS, El-Bendary ER, El-Kerdawy MM. EGFR tyrosine kinase targeted compounds: in vitro antitumor activity and molecular modeling studies of new benzothiazole and pyrimido[2,1-b]benzothiazole derivatives. *EXCLI J*. 2014;13:573-85.
- (48) Engh RA, Bossemeyer D. Structural aspects of protein kinase control-role of conformational flexibility. *Pharmacology & therapeutics*. 2002;93(2-3):99-111.

- (49) Traxler P, Furet P. Strategies toward the Design of Novel and Selective Protein Tyrosine Kinase Inhibitors. *Pharmacology & therapeutics*. 1999;82(2):195-206.
- (50) Fabbro D, Ruetz S, Buchdunger E, Cowan-Jacob SW, Fendrich G, Liebetanz J, et al. Protein kinases as targets for anticancer agents: from inhibitors to useful drugs. *Pharmacology & therapeutics*. 2002;93(2-3):79-98.
- (51) Hanks SK, Quinn AM, Hunter T. The protein kinase family: conserved features and deduced phylogeny of the catalytic domains. *Science*. 1988;241(4861):42-52.
- (52) Torkamani A, Verkhivker G, Schork NJ. Cancer driver mutations in protein kinase genes. *Cancer letters*. 2009;281(2):117-27.
- (53) Hunter T. Protein kinases and phosphatases: the yin and yang of protein phosphorylation and signaling. *Cell*. 1995;80(2):225-36
- (54) Izarzugaza JM, Redfern OC, Orengo CA, Valencia A. Cancer-associated mutations are preferentially distributed in protein kinase functional sites. *Proteins*. 2009;77(4):892-903.
- (55) Hubbard SR. Protein tyrosine kinases: autoregulation and small-molecule inhibition. *Curr Opin Struct Biol*. 2002;12(6):735-41.
- (56) Johnson, L. Protein kinase inhibitors: Contributions from structure to clinical compounds. *Quarterly Reviews of Biophysics*. 2009; 42(1), 1-40.
- (57) McGovern S. L., Shoichet B. K. Kinase Inhibitors: Not Just for Kinases Anymore. *J. Med. Chem.*, 2003, 46, 1478-1483.
- (58) Levitzki A. Protein Kinase Inhibitors as a Therapeutic Modality. *Acc. Chem. Res.*, 2003, 36, 462-469.
- (59) Davies S. P., Reddy H., Caivano M., Cohen P. Specificity and mechanism of action of some commonly used protein kinase inhibitors. *Biochem. J.*, 2000, 351, 95-105.
- (60) Garcia-Echeverria C., Traxler P., Evans D. B. ATP Site-Directed Competitive and Irreversible Inhibitors of Protein Kinases. *Med. Res. Rev.*, 2000, 20, 28-57.
- (61) Lou Q, Leftwich M. E., McKay R. T., Salmon S. E., Rychetsky L., Lam K. S. Potent pseudosubstrate-based inhibitors for p60(c-src) protein tyrosine kinase. *Cancer Res.*, 1997, 57, 1877-1881.
- (62) Al-Obeidi F. A., Wu J. J., Lam K. S. Protein kinases: structure, substrate specificity, and drug discovery. *Biopolymers*, 1998, 47, 197-223.

- (63) Yap TA, Workman P. Exploiting the cancer genome: strategies for the discovery and clinical development of targeted molecular therapeutics. *Annual review of pharmacology and toxicology*. 2012;52:549-73.
- (64) Pickett S, editor Multi-objective approaches to screening collection design and analysis of HTS data. ABSTRACTS OF PAPERS OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY; 2005: AMER CHEMICAL SOC 1155 16TH ST, NW, WASHINGTON, DC 20036 USA.
- (65) Floudas C, Fung H, McAllister S, Mönnigmann M, Rajgaria R. Advances in protein structure prediction and de novo protein design: A review. *Chemical Engineering Science*. 2006;61(3):966-88.
- (66) Fabian, Miles A., et al. "A small molecule–kinase interaction map for clinical kinase inhibitors." *Nature biotechnology* 23.3 (2005): 329-336.
- (67) yasmine Asses. Conception par modélisation et criblage in silico d'inhibiteurs du récepteur c-Met. Autre [cs.OH]. Université Henri Poincaré - Nancy 1, 2011. Français. ffNNT : 2011NAN10081ff. fftel01746221v1f
- (68) Arnaud Ahier. Etude des Récepteurs Tyrosine Kinase du parasite helminthe *Schistosoma mansoni* - Découverte des Venus Kinase Récepteurs, une nouvelle famille de RTK. *Biochimie [q-bio.BM]*. Université du Droit et de la Santé - Lille II, 2008. Français. fftel-00348172v2f
- (69) Warmuth M., Damoiseaux R., Liu Y., Fabbro D., Gray N. Src family kinases: potential targets for the treatment of human cancer and leukemia. *Curr. Pharm. Des.*, 2003, 9, 2043-2049.
- (70) Lawrence D.S., Niu J. Protein Kinase inhibitors: The Tyrosine-Specific Protein Kinases. *Pharmacol. Ther.*, 1998, 77, 81-114
- (71) Katz, Menachem, Ido Amit, and Yosef Yarden. "Regulation of MAPKs by growth factors and receptor tyrosine kinases." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research* 1773.8 (2007): 1161-1176.
- (72) Doepfner, K. T., O. Spertini, and A. Arcaro. "Autocrine insulin-like growth factor-I signaling promotes growth and survival of human acute myeloid leukemia cells via the phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway." *Leukemia* 21.9 (2007): 1921-1930.
- (73) Lucibello, Frances C., et al. "trans-repression of the mouse c-fos promoter: a novel mechanism of Fos-mediated trans-regulation." *Cell* 59.6 (1989): 999-1007.



- (74) Sebolt-Leopold, Judith S. "Development of anticancer drugs targeting the MAP kinase pathway." *Oncogene* 19.56 (2000): 6594-6599.
- (75) McKay, M. M., and D. K. Morrison. "Integrating signals from RTKs to ERK/MAPK." *Oncogene* 26.22 (2007): 3113-3121.
- (76) Kolch, Walter. "Coordinating ERK/MAPK signalling through scaffolds and inhibitors." *Nature reviews Molecular cell biology* 6.11 (2005): 827-837.
- (77) Crapeau J. La communication cellulaire, Les récepteurs tyrosine kinase, Signalisation par l'insuline. Nature 2005.
- (78) Hara, Taichi, et al. "Suppression of basal autophagy in neural cells causes neurodegenerative disease in mice." *Nature* 441.7095 (2006): 885-889
- (79) Carpenter CL, Auger KR, Chanudhuri M, Yoakim M, Schaffhausen B, Shoelson S, Cantley LC. Phosphoinositide 3-kinase is activated by phosphopeptides that bind to the SH2 domains of the 85-kDa subunit. *J.Biol.Chem.* 1993; 268: 9478-9483.
- (80) PALUDETTO M .N. Inhibiteurs de Tyrosine Kinases : relations structure-activité, voies métaboliques et implications pharmacologiques des métabolites. Thèse du Doctorat en sciences pharmaceutiques université : Toulouse III Paul sabatier.2015.86p.
- (81) BENNINI S.Les inhibiteurs de la Tyrosine kinase dans la leucémie myéloïde chronique. Thèse du Doctorat en medecine et de pharmacie:Universite mohammed V – Rabat. Maroc 2016.86p.
- (82) Merlin .J.L, Tyrosine kinase inhibitors in oncology: La Lettre du Pharmacologue. 2008. 22(8). 51-62.
- (83) Faderl S, Talaz M, Estrov Z, O'Brien S, Kurzrock R, Kantarjian HM. The biology of chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 1999;341:164-72.
- (84) Druker BJ, Tamura S, Buchdunger E et al. Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells. *Nat Med* 1996;5:561-6
- (85) Ranson M. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors. *Br J Cancer* 2004;90:2250-5.
- (86) Arteaga CL. The epidermal growth factor receptor: from mutant oncogene in nonhuman cancers to therapeutic target in human neoplasia. *J Clin Oncol* 2001;19:32S-40S.
- (87) Petit AM, Rak J, Hung MC et al. Neutralizing antibodies against epidermal growth factor and ErbB-2/neu receptor tyrosine kinases down-regulate vascular endothelial growth

factor production by tumor cells in vitro and in vivo: angiogenic implications for signal transduction therapy of solid tumors. *Am J Pathol* 1997;151:1523-30.

(88) Wikstrand CJ, Bigner DD. Prognostic applications of the epidermal growth factor receptor and its ligand, transforming growth factor- $\alpha$ . *J Natl Cancer Inst* 1998;90:799- 800.

(89) Keyhani A, Jendiroba DB, Freireich EJ. Angiogenesis and leukemia. *Leuk Res* 2001;25:639-45.

(90) Alessi IP, Ebbinghaus C, Neri D. Molecular targeting of angiogenesis. *Biochem Biophys Acta* 2004;1654:39-49.

(91) Parikh AA, Ellis LM. The vascular endothelial growth factor family and its receptors. *Hematol Oncol Clin North Am* 2004;18:951-71.

(92) Bergsland EK. Vascular endothelial growth factor as a therapeutic target in cancer. *Am J Health Syst Pharm* 2004;61:S4-S11.

(93) Sedlacek HH. Kinase inhibitors in cancer therapy. A look ahead. *Drugs* 2000;59:435- 76.

(94) Zhao, F., Zhang, L.-D., Hao, Y., Chen, N., Bai, R., Wang, Y.-J., Shi, C. (Identification of 3-substituted-6-(1-(1H-[1, 2, 3] triazolo [4, 5-b] pyrazin-1-yl) ethyl) quinoline derivatives as highly potent and selective mesenchymal-epithelial transition factor (c-Met) inhibitors via metabolite profiling-based structural optimization. *European journal of medicinal chemistry*. 2017;134, pp. 147-158.

(95) Liu, Y., Wilkinson, F., Kirton, J., Jeziorska, M., Iizasa, H., Sai, Y., Alexander, M. Hepatocyte growth factor and c-Met expression in pericytes: implications for atherosclerotic plaque development. *The Journal of pathology*. 2007; 212(1), pp. 12-19.

(96) Organ, S. L., & Tsao, M.-S. An overview of the c-MET signaling pathway. *Therapeutic advances in medical oncology*, 3(1\_suppl). 2011; pp. S7-S19.

(97) Yuan, H., Liu, Q., Zhang, L., Hu, S., Chen, T., Li, H., Lu, T. Discovery, optimization and biological evaluation for novel c-Met kinase inhibitors. *European journal of medicinal chemistry*. 2018; 143, pp. 491-502.

(98) Benvenuti, S., & Comoglio, P. M. The MET receptor tyrosine kinase in invasion and metastasis. *Journal of cellular physiology*. 2007; 213(2), pp. 316-325.

- (99) Morabito, Alessandro, et al. "Tyrosine kinase inhibitors of vascular endothelial growth factor receptors in clinical trials: current status and future directions." *The oncologist* 11.7 (2006): 753-764.
- (100) Ardizzoni A, Tiseo M. Combination of target agents: challenges and opportunities. *J Thoracic Oncol* 2007;2:4-6
- (101) Bozec, A., et al. "Combined effects of bevacizumab with erlotinib and irradiation: a preclinical study on a head and neck cancer orthotopic model." *British journal of cancer* 99.1 (2008): 93-99.
- (102) Hanada M, Feng J, Hemmings BA. Structure, regulation and function of PKB/AKT-- a major therapeutic target. *Biochimica et biophysica acta*. 2004;1697(1-2):3-16.
- (103) Kola I, Landis J. Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates? *Nature reviews Drug discovery*. 2004;3(8):711-5.
- (104) Jeong W, Doroshow JH, Kummar S. United States Food and Drug Administration approved oral kinase inhibitors for the treatment of malignancies. *Curr Probl Cancer*. 2013;37(3):110-44.
- (105) Johnson B, Dueck A, Dakhil S, Stella P, Nikcevich D, Franco S, et al. Tolerability of lapatinib given concurrently with paclitaxel and trastuzumab as part of adjuvant therapy in patients with resected HER2+ breast cancer: initial safety data from the Mayo Clinic cancer research consortium trial RC0639. *AACR*; 2009.
- (106) Druker BJ, Sawyers CL, Kantarjian H et al. Activity of a specific inhibitor of the Bcr-Abl tyrosine kinase in the blast crisis of chronic myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia with the Philadelphia chromosome. *N Engl J Med* 2001;344:1038-42.
- (107) Pharmacorama Connaissance des médicaments [En ligne]: [www. pharmacoma.com](http://www.pharmacoma.com) Consulté le: [19/04/2018].
- (108) Demetri GD, Von Mehren M, Blanke CD et al. Efficacy and safety of imatinib mesylate in advanced gastrointestinal stromal tumors. *N Engl J Med* 2002;347:472-80
- (109) Schiffer CA. Bcr-Abl tyrosine kinase inhibitors for chronic myelogenous leukemia. *N Engl J Med* 2007;357:258-65.
- (110) Moyer JD, Barbacci EG, Iwata KK et al. Induction of apoptosis and cell cycle arrest by CP-358,774, an inhibitor of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase. *Cancer Res* 1997;57:4838-48.

- (111) Ranson M. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors. *Br J Cancer* 2004;90:2250-5.
- (112) Mendel DB, Schreck RE, West DC et al. The angiogenesis inhibitor SU5416 has long-lasting effects on vascular endothelial growth factor receptor phosphorylation and function. *Clin Cancer Res* 2000;6:4848-58.
- (113) L'équipe Labtoo. Les phases de développement de médicaments : de la drug discovery à la mise sur le marché. 2020.
- (114) Mattioni BE, Jurs PC. Development of Quantitative Structure– Activity Relationship and Classification Models for a Set of Carbonic Anhydrase Inhibitors. *Journal of chemical information and computer sciences*. 2002;42(1):94-102
- (115) Mohamed Dit Mady Traore. Synthèse et études de modélisation moléculaire dans l'optimisation de la sélectivité de nouveaux agents antiparasitaires inspirés de produits naturels. Génétique. Université Grenoble Alpes, 2016. Français. ffNNT : 2016GREAV027ff. fftel-01528690f
- (116) J. Lenhard, "Disciplines, models, and computers: The path to computational quantum chemistry," *Stud. Hist. Philos. Sci. Part A*, vol. 48, pp. 89–96, Dec. 2014.
- (117) J. Wang, Y. Han, B. Chen, G. Guo, Q. Hou, and Z. Zhang, "Mechanisms of methane generation from anthracite at low temperatures: Insights from quantum chemistry calculations," *Int. J. Hydrog. Energy*, vol. 42, no. 30, pp. 18922–18929, Jul. 2017.
- (118) S. C. Kenfack et al., "Determination of the contribution of a phonon and a magnetic field to the chemical properties of the hydrogen molecule using the density functional theory approach," *Phys. B Condens. Matter*, vol. 560, pp. 197–203, May 2019.
- (119) A. Soffer and M.-B. Tran, "On coupling kinetic and Schrödinger equations," *J. Differ. Equ.*, vol. 265, no. 5, pp. 2243–2279, Sep. 2018.
- (120) A. Iomin, "Fractional evolution in quantum mechanics," *Chaos Solitons Fractals X*, vol. 1, p. 100001, Mar. 2019. [165] Y. Li, T. Zh
- (121) Y. Li, T. Zhang, S. Sun, and X. Gao, "Accelerating flash calculation through deep learning methods," *J. Comput. Phys.*, vol. 394, pp. 153–165, Oct. 2019.
- (122) H. Perrier, F. Denner, M. D. Eaton, and B. G. M. van Wachem, "On the numerical modelling of Corium spreading using Volume-of-Fluid methods," *Nucl. Eng. Des.*, vol. 345, pp. 216–232, Apr. 2019.

- (123) F. Fang and C. Ji, "On a fractional Schrödinger equation with periodic potential," *Comput. Math. Appl.*, vol. 78, no. 5, pp. 1517–1530, Sep. 2019.
- (124) V. Ambrosio and T. Isernia, "On the multiplicity and concentration for p-fractional Schrödinger equations," *Appl. Math. Lett.*, vol. 95, pp. 13–22, Sep. 2019.
- (125) H. Bahouri, "Structure theorems for 2D linear and nonlinear Schrödinger equations," *Comptes Rendus Math.*, vol. 353, no. 3, pp. 235–240, Mar. 2015.
- (126) J. Chen and C. J. García-Cervera, "An efficient multigrid strategy for large-scale molecular mechanics optimization," *J. Comput. Phys.*, vol. 342, pp. 29–42, Aug. 2017.
- (127) R. Zhang, X. Shi, Y. Sun, Q. Zhang, and W. Wang, "Insights into the catalytic mechanism of dehydrogenase BphB: A quantum mechanics/molecular mechanics study," *Chemosphere*, vol. 208, pp. 69–76, Oct. 2018.
- (128) G. Westheimer, "Intelligence. The eye, the brain and the computer: By Martin A. Fischler and Oscar Firschein. Reading, MA: Addison-Wesley, 1987, 331 pages," *J. Soc. Biol. Struct.*, vol. 13, no. 3, pp. 284–287, Jan. 1990.
- (129) N. L. Allinger and P. E. Eaton, "The geometries of pentaprismane and hexaprismane insights from molecular mechanics," *Tetrahedron Lett.*, vol. 24, no. 35, pp. 3697–3700, Jan. 1983.
- (130) M. Mirparizi and F. Aski, "Interlayer shear effect on vibrational behavior of bilayer graphene using the molecular mechanics simulation," *Propuls. Power Res.*, vol. 5, no. 3, pp. 250–260, Sep. 2016.
- (131) Z. Qin and M. J. Buehler, "Molecular mechanics of mussel adhesion proteins," *J. Mech. Phys. Solids*, vol. 62, pp. 19–30, Jan. 2014.
- (132) Y. Zou et al., "Systematic study of imidazoles inhibiting IDO1 via the integration of molecular mechanics and quantum mechanics calculations," *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 131, pp. 152–170, May 2017.
- (133) M. Shoji et al., "Elucidation of the entire Kok cycle for photosynthetic water oxidation by the largescale quantum mechanics/molecular mechanics calculations: Comparison with the experimental results by the recent serial femtosecond crystallography," *Chem. Phys. Lett.*, vol. 730, pp. 416–425, Sep. 2019.

- (134) S. N. Korobeynikov, V. V. Alyokhin, and A. V. Babichev, "On the molecular mechanics of single layer graphene sheets," *Int. J. Eng. Sci.*, vol. 133, pp. 109–131, Dec. 2018.
- (135) K. DERMECHE, "Modélisation Moléculaire de la Thalidomide (effet thérapeutique sur l'homme)," Thesis, Université Mohamed Boudiaf des Sciences et de la Technologie Mohamed Boudiaf d'Oran, 2017.
- (136) Á. Jász, Á. Rák, I. Ladjanszki, and G. Cserey, "Optimized GPU implementation of Merck Molecular Force Field and Universal Force Field," *J. Mol. Struct.*, vol. 1188, pp. 227–233, Jul. 2019.
- (137) E. Tamir, A. Sidess, and S. Srebnik, "Thermodynamic, structural, and mechanical properties of fluoropolymers from molecular dynamics simulation: Comparison of force fields," *Chem. Eng. Sci.*, vol. 205, pp. 332–340, Sep. 2019.
- (138) K. R. Santhy, M. D. Sweetlin, S. Muthu, M. Raja, and C. S. Abraham, "Optical, vibrational (FT-IR and FT-Raman), electronic and molecular docking investigations of 1 Phenyl Isatin," *Optik*, vol. 182, pp. 1211–1227, Apr. 2019.
- (139) I. E. Awad and R. A. Poirier, "Atoms and bonds in molecules: Molecular radial energy densities," *Comput. Theor. Chem.*, vol. 1153, pp. 44–53, Apr. 2019.
- (140) Monard, G. Introduction à la Modélisation Moléculaire. Formation continue CNRS.2003.
- (141) J. M. Hutson and C. R. Le Sueur, "bound and field: Programs for calculating bound states of interacting pairs of atoms and molecules," *Comput. Phys. Commun.*, vol. 241, pp. 1–8, Aug. 2019.
- (142) X. Sun, M. Liu, Y. Huang, B. Li, and Z. Zhao, "Electronic interaction between single Pt atom and vacancies on boron nitride nanosheets and its influence on the catalytic performance in the direct dehydrogenation of propane," *Chin. J. Catal.*, vol. 40, no. 6, pp. 819–825, Jun. 2019.
- (143) J. Huang and A. D. MacKerell, "Force field development and simulations of intrinsically disordered proteins," *Curr. Opin. Struct. Biol.*, vol. 48, pp. 40–48, Feb. 2018.
- (144) C. Hercend, "Contribution de la modélisation moléculaire à l'étude de pathologies humaines : Application au transporteur ATP7B et au récepteur 5HT2B," phdthesis, Université René Descartes - Paris V, 2012.

- (145) G. Velraj, K. Janaki, A. M. Musthafa, and R. Palanivel, "Spectroscopic and porosimetry studies to estimate the firing temperature of some archaeological pottery shreds from India," *Appl. Clay Sci.*, vol. 43, no. 3, pp. 303–307, Mar. 2009.
- (146) M. J. Robertson, J. Tirado-Rives, and W. L. Jorgensen, "Improved treatment of nucleosides and nucleotides in the OPLS-AA force field," *Chem. Phys. Lett.*, vol. 683, pp. 276–280, Sep. 2017.
- (147) N. Schmid, C. D. Christ, M. Christen, A. P. Eichenberger, and W. F. van Gunsteren, "Architecture, implementation and parallelisation of the GROMOS software for biomolecular simulation," *Comput. Phys. Commun.*, vol. 183, no. 4, pp. 890–903, Apr. 2012.
- (148) M. Oka, "Molecular bound states of charmed hadrons," *Nucl. Phys. A*, vol. 914, pp. 447–453, Sep. 2013.
- (149) Y. Gao, C. Zhang, X. Wang, and T. Zhu, "A test of AMBER force fields in predicting the secondary structure of  $\alpha$ -helical and  $\beta$ -hairpin peptides," *Chem. Phys. Lett.*, vol. 679, pp. 112–118, Jul. 2017.
- (150) A. Zanoun, S. Bouaziz, A. Belaidi, and G. Vergoten, "The SPASIBA force field for some retinal conformers," *J. Mol. Struct. THEOCHEM*, vol. 777, no. 1, pp. 113–120, Nov. 2006.
- (151) J.-P. Doucet and J. Weber, "5 - Empirical force field methods and molecular mechanics," in *Computer-Aided Molecular Design*, J.-P. Doucet and J. Weber, Eds. London: Academic Press, 1996, pp. 124–170.
- (152) H. Sun, "COMPASS: An ab Initio Force-Field Optimized for Condensed-Phase Applications Overview with Details on Alkane and Benzene Compounds," *J. Phys. Chem. B*, vol. 102, no. 38, pp. 7338–7364, Sep. 1998.
- (153) H. Sun, P. Ren, and J. R. Fried, "The COMPASS force field: parameterization and validation for phosphazenes," *Comput. Theor. Polym. Sci.*, vol. 8, no. 1, pp. 229–246, Jan. 1998.
- (154) S. W. Bunte and H. Sun, "Molecular Modeling of Energetic Materials: The Parameterization and Validation of Nitrate Esters in the COMPASS Force Field," *J. Phys. Chem. B*, vol. 104, no. 11, pp. 2477–2489, Mar. 2000.

- (155) S. L. Mayo, B. D. Olafson, and W. A. Goddard, "DREIDING: a generic force field for molecular simulations," *J. Phys. Chem.*, vol. 94, no. 26, pp. 8897–8909, Dec. 1990.
- (156) P. Dauber-Osguthorpe, V. A. Roberts, D. J. Osguthorpe, J. Wolff, M. Genest, and A. T. Hagler, "Structure and energetics of ligand binding to proteins: Escherichia coli dihydrofolate reductasetrimethoprim, a drug-receptor system," *Proteins Struct. Funct. Bioinforma.*, vol. 4, no. 1, pp. 31–47, 1988.
- (157) A. DiCarlo, "A major serendipitous contribution to continuum mechanics," *Mech. Res. Commun.*, vol. 93, pp. 41–46, Oct. 2018.
- (158) T. T. Joseph and J. Hénin, "Chapter Three - Molecular Mechanics Parameterization of Anesthetic Molecules," in *Methods in Enzymology*, vol. 602, R. G. Eckenhoff and I. J. Dmochowski, Eds. Academic Press, 2018, pp. 61–76.
- (159) J. Ainsley, A. Lodola, A. J. Mulholland, C. Z. Christov, and T. G. Karabancheva-Christova, "Chapter One - Combined Quantum Mechanics and Molecular Mechanics Studies of Enzymatic Reaction Mechanisms," in *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, vol. 113, T. G. Karabancheva-Christova and C. Z. Christov, Eds. Academic Press, 2018, pp. 1–32.
- (160) P. Torres and J.-W. van Wingerden, "Identification of 2D Interconnected Systems: An efficient Steepest-Descent approach," *IFAC-Pap.*, vol. 51, no. 15, pp. 78–83, Jan. 2018.
- (161) L. Exl, J. Fischbacher, A. Kovacs, H. Oezelt, M. Gusenbauer, and T. Schrefl, "Preconditioned nonlinear conjugate gradient method for micromagnetic energy minimization," *Comput. Phys. Commun.*, vol. 235, pp. 179–186, Feb. 2019.
- (162) S. Janković and B. Ivanović, "Application of combined Newton–Raphson method to large load flow models," *Electr. Power Syst. Res.*, vol. 127, pp. 134–140, Oct. 2015.
- (163) C. Morris and A. Taheri, "On the uniqueness and monotonicity of energy minimisers in the homotopy classes of incompressible mappings and related problems," *J. Math. Anal. Appl.*, vol. 473, no. 1, pp. 1–26, May 2019.
- (164) Y. Zhao, T. Li, X. Zhang, and C. Zhang, "Artificial intelligence-based fault detection and diagnosis methods for building energy systems: Advantages, challenges and the future," *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 109, pp. 85–101, Jul. 2019.



- (165) Bornot A. Analyse et prédiction de la relation séquence – structure locale et flexibilité au sein des protéines globulaires. Thèse de doctorat. UNIVERSITE PARIS. DIDEROT (Paris 7), 2009.
- (166) Moult J. A decade of CASP: progress, bottlenecks and prognosis in protein structure prediction. *Curr Opin Struct Biol.* 2005;15(3):285-9.
- (167) Klepeis JL, Floudas CA. ASTRO-FOLD: a combinatorial and global optimization framework for Ab initio prediction of three-dimensional structures of proteins from the amino acid sequence. *Biophysical journal.* 2003;85(4):2119-46
- (168) Rohl, Carol A., et al. "Protein structure prediction using Rosetta." *Methods in enzymology.* Vol. 383. Academic Press, 2004. 66-93.
- (169) Baker, David, and Andrej Sali. "Protein structure prediction and structural genomics." *Science* 294.5540 (2001): 93-96.
- (170) Lesk AM, Chothia C. How different amino acid sequences determine similar protein structures: the structure and evolutionary dynamics of the globins. *Journal of molecular biology.* 1980;136(3):225-7
- (171) Chothia C, Lesk AM. The relation between the divergence of sequence and structure in proteins. *The EMBO journal.* 1986;5(4):823-6.
- (172) Martí-Renom MA, Stuart AC, Fiser A, Sánchez R, Melo F, Šali A. Comparative protein structure modeling of genes and genomes. *Annual review of biophysics and biomolecular structure.* 2000;29(1):291-325.
- (173) Zhou Y, Johnson ME. Comparative molecular modeling analysis of 5-amidinoindole and benzamidine binding to thrombin and trypsin: specific H-bond formation contributes to high 5-amidinoindole potency and selectivity for thrombin and factor Xa. *Journal of molecular recognition : JMR.* 1999;12(4):235-41.
- (174) Ceulemans H, Russell RB. Fast fitting of atomic structures to low-resolution electron density maps by surface overlap maximization. *Journal of molecular biology.* 2004;338(4):783-93.
- (175) Talukdar AS, Wilson DL. Modeling and optimization of rotational C-arm stereoscopic Xray angiography. *IEEE transactions on medical imaging.* 1999;18(7):604-16.

- (176) De Rienzo F, Fanelli F, Menziani MC, De Benedetti PG. Theoretical investigation of substrate specificity for cytochromes P450 IA2, P450 IID6 and P450 IIIA4. *Journal of computer-aided molecular design*. 2000;14(1):93-116.
- (177) Hilbert M, Bohm G, Jaenicke R. Structural relationships of homologous proteins as a fundamental principle in homology modeling. *Proteins*. 1993;17(2):138-51.
- (178) Clark T. *A handbook of computational chemistry: A practical guide to chemical structure and energy calculations*: Wiley-Interscience; 1985
- (179) Šali, Andrej, and Tom L. Blundell. "Comparative protein modelling by satisfaction of spatial restraints." *Journal of molecular biology* 234.3 (1993): 779-815.
- (180) Zemla, Adam, et al. "Processing and analysis of CASP3 protein structure predictions." *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* 37.S3 (1999): 22-29.
- (181) Tanrikulu, Y.; Kruger, B.; Proschak, E. The holistic integration of virtual screening in drug discovery. *Drug Discov Today*, 2013. 18(7-8): p. 358-64.
- (182) Oprea, T.I.; Matter, H. Integrating virtual screening in lead discovery. *Curr Opin Chem Biol*, 2004. 8(4): p. 349-58.
- (183) Lavecchia, A.; Di Giovanni, C. Virtual screening strategies in drug discovery: a critical review. *Curr Med Chem*, 2013. 20(23): p. 2839-60.
- (184) Perez-Pineiro, R.; Burgos, A.; Jones, D.C.; et al. Development of a novel virtual screening cascade protocol to identify potential trypanothione reductase inhibitors. *J Med Chem*, 2009. 52(6): p. 1670-80
- (185) Saoussene, Mme LAKEHAL. *Etude docking et synthèse de dérivés de xanthone: voie d'accès à de nouveaux inhibiteurs de l' $\alpha$ -glucosidase*. Diss. Thèse de doctorat, 2016.
- (186) Johnson, M.A.; Maggiora, G.M. *Concepts and Applications of Molecular Similarity*. Wiley ed. 1990.
- (187) Koeppen, H.; Kriegl, J.; Lessel, U.; et al. Ligand-Based Virtual Screening, in *Virtual Screening Principles, Challenges and Practical Guidelines*, C. Sotriffer, Editor. 2011. p. 536
- (188) Bender, Andreas, and Robert C. Glen. "Molecular similarity: a key technique in molecular informatics." *Organic & biomolecular chemistry* 2.22 (2004): 3204-3218.
- (189) Willett, Peter, John M. Barnard, and Geoffrey M. Downs. "Chemical similarity searching." *Journal of chemical information and computer sciences* 38.6 (1998): 983-996.

- (190) Güner, Osman F., and J. Phillip Bowen. "Setting the record straight: The origin of the pharmacophore concept." *Journal of chemical information and modeling* 54.5 (2014): 1269-1283.
- (191) KIER, LEMONT B. "Molecular orbital calculation of preferred conformations of acetylcholine, muscarine, and muscarone." *Molecular pharmacology* 3.5 (1967): 487-494.
- (192) C.-G. Wermuth, C. R. Gannelin and P. Lindberg, *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, 1998, J.A. Bristol, Editor, 385-395
- (193) Hansch, Corwin. "Quantitative approach to biochemical structure-activity relationships." *Accounts of chemical research* 2.8 (1969): 232-239.
- (194) Debnath, Asim Kumar. "Quantitative structure-activity relationship (QSAR) paradigm-Hansch era to new millennium." *Mini reviews in medicinal chemistry* 1.2 (2001): 187-195.
- (195) Grover, Manish, et al. "Quantitative structure-property relationships in pharmaceutical research-Part 2." *Pharmaceutical science & technology today* 3.2 (2000): 50-57.
- (196) Rekka, E. A., and P. N. Kourounakis. "Chemistry and Molecular Aspects of Drug Design and Action. Ed." (2008).
- (197) Ahammed, G. J., Wang, M. M., Zhou, Y. H., Xia, X. J., Mao, W. H., Shi, K., & Yu, J. Q. The growth, photosynthesis and antioxidant defense responses of five vegetable crops to phenanthrene stress. *Ecotoxicology and environmental safety*, 80 (2012): 132-139.
- (198) Reddy, A. Srinivas, Sunil Kumar, and Rajni Garg. "Hybrid-genetic algorithm based descriptor optimization and QSAR models for predicting the biological activity of Tipranavir analogs for HIV protease inhibition." *Journal of Molecular Graphics and Modelling* 28.8 (2010): 852-862.
- (199) Zhao, M., and Z. Li. "Z. Zhang et S. Peng, «Novel 1-oxyl-2-substitutedphenyl-4, 4, 5, 5-tetramethylimidazolines: Synthesis, selectively analgesic action, and QSAR analysis» Bioorg." *Med. Chem* 15 (2007): 2815-2826.
- (200) Tropsha, Alexander, Paola Gramatica, and Vijay K. Gombar. "The importance of being earnest: validation is the absolute essential for successful application and interpretation of QSPR models." *QSAR & Combinatorial Science* 22.1 (2003): 69-77.

- (201) Toropov, Andrey A., et al. "QSAR models for inhibitors of physiological impact of Escherichia coli that leads to diarrhea." *Biochemical and Biophysical Research Communications* 432.2 (2013): 214-225
- (202) Gramatica, Paola, Elisa Giani, and Ester Papa. "Statistical external validation and consensus modeling: a QSPR case study for Koc prediction." *Journal of Molecular Graphics and Modelling* 25.6 (2007): 755-766.
- (203) Damale, M.G.; Harke, S.N.; Kalam Khan, F.A.; et al. Recent advances in multidimensional QSAR (4D-6D): a critical review. *Mini Rev Med Chem*, 2014. 14(1): p. 35-55
- (204) Sippl, W. 3D-QSAR - Applications, recent advances, and limitations, in *Recent Advances in QSAR Studies Methods and Applications*, T.L. Puzyn, K.; Cronin, M.T.D., Editor. 2010. p. 414.
- (205) Cramer, R.D.; Milne, M., The lattice model: A general paradigm for shape-related structure/activity correlation, in *American Chemical Society Meeting, Computer Chemistry Section* 1979.
- (206) Nathalie Lagarde. Méthodes de criblage virtuel in silico : importance de l'évaluation et application à la recherche de nouveaux inhibiteurs de l'interleukine 6.. *Bio-Informatique, Biologie Systémique [qbio.QM]*. Conservatoire national des arts et métiers - CNAM, 2014. Français. ffNNT : 2014CNAM0943ff. fftel-01132490
- (207) Cummings, Brian S. "Phospholipase A2 as targets for anti-cancer drugs." *Biochemical pharmacology* 74.7 (2007): 949-959.
- (208) Diller, David J., and Rixin Li. "Kinases, homology models, and high throughput docking." *Journal of medicinal chemistry* 46.22 (2003): 4638-4647.
- (209) Hessler, Gerhard, and Karl-Heinz Baringhaus. "The scaffold hopping potential of pharmacophores." *Drug Discovery Today: Technologies* 7.4 (2010): e263-e269.
- (210) Dror, Oranit, et al. "Predicting molecular interactions in silico: I. A guide to pharmacophore identification and its applications to drug design." *Current medicinal chemistry* 11.1 (2004): 71-90.
- (211) Lagorce, David, et al. "In silico adme/tox Predictions." *ADMET for Medicinal Chemists: A Practical Guide*. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc (2011): 29- 124.

- (212) Finn, Paul W. "Computer-based screening of compound databases for the identification of novel leads." *Drug Discovery Today* 1.9 (1996): 363-370.
- (213) Schneider, Gisbert, and Uli Fechner. "Computer-based de novo design of drug-like molecules." *Nature Reviews Drug Discovery* 4.8 (2005): 649-663.
- (214) Sotriffer, C., Klebe, G., Stahl, M., and Böhm, H.-J., Docking and Scoring Functions/Virtual Screening in Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery., ed. I. John Wiley & Sons. 2003. 281–331.
- (215) Kitchen, D.B., Decornez, H., Furr, J.R., and Bajorath, J., Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nat. Rev. Drug Discovery*, 2004. 3(11): p. 935-949.
- (216) N, O.B. Protein-Ligand Docking. 2010; Available from: <http://fr.slideshare.net/baoilleach/proteinligand-docking>.
- (217) Spyraakis, F., Cozzini, P. and Kellogg, G. E. , Docking and Scoring in Drug Discovery in Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery. . 2010. 601–684.
- (218) Lichtenthaler, F.W., 100 Years "Schlüssel-Schloss-Prinzip": What Made Emil Fischer Use this Analogy? *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1995. 33(23-24): p. 2364-2374.
- (219) Vuorinen, A. and Schuster, D., Methods for generating and applying pharmacophore models as virtual screening filters and for bioactivity profiling. *Methods (Amsterdam, Neth.)*, 2015. 71: p. 113-134.
- (220) Kuntz, I.D., Blaney, J.M., Oatley, S.J., Langridge, R., and Ferrin, T.E., A geometric approach to macromolecule-ligand interactions. *J. Mol. Biol.*, 1982. 161(2): p. 269- 288.
- (221) Brooijmans, N. and Kuntz, I.D., Molecular recognition and docking algorithms. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, 2003. 32: p. 335-373.
- (222) Jain, A.N., Surfex: fully automatic flexible molecular docking using a molecular similarity-based search engine. *J Med Chem*, 2003. 46(4): p. 499-511.
- (223) Abagyan, R., Totrov, M., and Kuznetsov, D., ICM - a new method for protein modeling and design: applications to docking and structure prediction from the distorted native conformation. *J. Comput. Chem.*, 1994. 15(5): p. 488-506.
- (224) Friesner, R.A., Banks, J.L., Murphy, R.B., Halgren, T.A., Klicic, J.J., Mainz, D.T., Repasky, M.P., Knoll, E.H., Shelley, M., Perry, J.K., Shaw, D.E., Francis, P., and

- Shenkin, P.S., Glide: A new approach for rapid, accurate docking and scoring. 1. method and assessment of docking accuracy. *J. Med. Chem.*, 2004. 47(7): p. 1739- 1749.
- (225) Lameijer, E.-W., Baeck, T., Kok, J.N., and Ijzerman, A.P., Evolutionary algorithms in drug design. *Nat. Comput.*, 2005. 4(3): p. 177-243.
- (226) Sousa, S.F., Fernandes, P.A., and Ramos, M.J., Protein-ligand docking: current status and future challenges. *Proteins: Struct., Funct., Bioinf.*, 2006. 65(1): p. 15-26.
- (227) Jones, G., Willett, P., Glen, R.C., Leach, A.R., and Taylor, R., Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking. *J. Mol. Biol.*, 1997. 267(3): p. 727-748.
- (228) Westhead, D.R., Clark, D.E., and Murray, C.W., A comparison of heuristic search algorithms for molecular docking. *J. Comput.-Aided Mol. Des.*, 1997. 11(3): p. 209- 228.
- (229) Baxter, C.A., Murray, C.W., Clark, D.E., Westhead, D.R., and Eldridge, M.D., Flexible docking using tabu search and an empirical estimate of binding affinity. *Proteins: Struct., Funct., Genet.*, 1998. 33(3): p. 367-382.
- (230) . Seymore L. Novel anti-cancer agents in development: exciting prospects and new challenges. *Cancer Treat Rev* 1999;25:301–12.
- (231) Buolamwini JK. Novel molecular targets for cancer drug discovery. In: Coleman WB, Tsongalis GJ, eds. *The molecular basis of human cancer*. Totowa, NJ: Humana Press; 2002:521–40.
- (232) Sudha, Arumugam, Pappu Srinivasan, and Palanivel Rameshthangam. "Exploration of potential EGFR inhibitors: a combination of pharmacophore-based virtual screening, atom-based 3D-QSAR and molecular docking analysis." *Journal of Receptors and Signal Transduction* 35.2 (2015): 137-148.
- (233) Hong WK, Ullrich A. The role of EGFR in solid tumors and implications for therapy. *Oncol Biother* 2000;1:1–29.
- (234) Kolibaba KS, Druker BJ. Protein tyrosine kinases and cancer. *Biochim Biophys Acta* 1997;1333:217–48.
- (235) Assefa H, Kamath S, Buolamwini JK. 3D-QSAR and docking studies on 4-anilinoquinazoline and 4-anilinoquinoline epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase inhibitors. *J Comput Aid Mol Des* 2003;17:475–93..

(236) Woodburn JR. The epidermal growth factor receptor and its inhibition in cancer therapy. *Pharmacol Therapeut* 1999;82:241–50.

(237) Ma XH, Wang R, Tan CY, et al. Virtual screening of selective multitarget kinase inhibitors by combinatorial support vector machines. *Mol Pharm* 2010;7:1545–60.

# ANN EXES





## Molecular Modeling of Exquisitely Selective c-Met Inhibitors Through 3D-QSAR and Molecular Dynamics Simulations

Haoliang Yuan, Jin Zhuang, Shihe Hu, Huifang Li, Jinxing Xu, Yaning Hu, Xiao Xiong, Yadong Chen, and Tao Lu

*J. Chem. Inf. Model.*, **Just Accepted Manuscript** • DOI: 10.1021/ci500268s • Publication Date (Web): 02 Sep 2014

Downloaded from <http://pubs.acs.org> on September 3, 2014

### Just Accepted

“Just Accepted” manuscripts have been peer-reviewed and accepted for publication. They are posted online prior to technical editing, formatting for publication and author proofing. The American Chemical Society provides “Just Accepted” as a free service to the research community to expedite the dissemination of scientific material as soon as possible after acceptance. “Just Accepted” manuscripts appear in full in PDF format accompanied by an HTML abstract. “Just Accepted” manuscripts have been fully peer reviewed, but should not be considered the official version of record. They are accessible to all readers and citable by the Digital Object Identifier (DOI®). “Just Accepted” is an optional service offered to authors. Therefore, the “Just Accepted” Web site may not include all articles that will be published in the journal. After a manuscript is technically edited and formatted, it will be removed from the “Just Accepted” Web site and published as an ASAP article. Note that technical editing may introduce minor changes to the manuscript text and/or graphics which could affect content, and all legal disclaimers and ethical guidelines that apply to the journal pertain. ACS cannot be held responsible for errors or consequences arising from the use of information contained in these “Just Accepted” manuscripts.

## Molecular Modeling of Exquisitely Selective c-Met Inhibitors Through 3D-QSAR and Molecular Dynamics Simulations

Haoliang Yuan, Jin Zhuang, Shihe Hu, Huifang Li, Jinxing Xu, Yaning Hu, Xiao Xiong, Yadong Chen, and Tao Lu

*J. Chem. Inf. Model.*, **Just Accepted Manuscript** • DOI: 10.1021/ci500268s • Publication Date (Web): 02 Sep 2014

Downloaded from <http://pubs.acs.org> on September 3, 2014

### Just Accepted

“Just Accepted” manuscripts have been peer-reviewed and accepted for publication. They are posted online prior to technical editing, formatting for publication and author proofing. The American Chemical Society provides “Just Accepted” as a free service to the research community to expedite the dissemination of scientific material as soon as possible after acceptance. “Just Accepted” manuscripts appear in full in PDF format accompanied by an HTML abstract. “Just Accepted” manuscripts have been fully peer reviewed, but should not be considered the official version of record. They are accessible to all readers and citable by the Digital Object Identifier (DOI®). “Just Accepted” is an optional service offered to authors. Therefore, the “Just Accepted” Web site may not include all articles that will be published in the journal. After a manuscript is technically edited and formatted, it will be removed from the “Just Accepted” Web site and published as an ASAP article. Note that technical editing may introduce minor changes to the manuscript text and/or graphics which could affect content, and all legal disclaimers and ethical guidelines that apply to the journal pertain. ACS cannot be held responsible for errors or consequences arising from the use of information contained in these “Just Accepted” manuscripts.






## 3D-QSAR-aided design of potent c-Met inhibitors using molecular dynamics simulation and binding free energy calculation.

Pavithra K. Balasubramanian, Anand Balupuri, Swapnil P. Bhujbal & Seung Joo Cho

**To cite this article:** Pavithra K. Balasubramanian, Anand Balupuri, Swapnil P. Bhujbal & Seung Joo Cho (2018): 3D-QSAR-aided design of potent c-Met inhibitors using molecular dynamics simulation and binding free energy calculation., Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, DOI: [10.1080/07391102.2018.1479309](https://doi.org/10.1080/07391102.2018.1479309)

**To link to this article:** <https://doi.org/10.1080/07391102.2018.1479309>

 [View supplementary material](#) 

 Accepted author version posted online: 25 Jul 2018.

 [Submit your article to this journal](#) 

 [View Crossmark data](#) 

ORIGINAL PAPER

## Exploration of potential EGFR inhibitors: a combination of pharmacophore-based virtual screening, atom-based 3D-QSAR and molecular docking analysis

Arumugam Sudha<sup>1</sup>, Pappu Srinivasan<sup>1</sup>, and Palanivel Rameshthangam<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Bioinformatics and <sup>2</sup>Department of Biotechnology, DDE, Alagappa University, Karaikudi, Tamil Nadu, India

### Abstract

Epidermal growth factor receptor (EGFR) protein tyrosine kinases are over expressed in several human cancers and considered as a promising target for developing novel anticancer drugs. In this study, the ligand-based pharmacophore mapping and atom-based 3D-QSAR approach was carried out on a series of 40 novel pyrrolo[3, 2-d]pyrimidine derivatives acting as EGFR inhibitors. The best pharmacophore hypothesis AAADRR.295 was selected and an atom-based 3D-QSAR model was generated by applying partial least-squares algorithm. The developed model was validated and used as a 3D query in sequential virtual screening study to filter five chemical databases. The obtained compounds were further filtered according to Lipinski rule of five and fitness score. Subsequently, a multistep molecular docking study was employed on the retrieved hits and finally, 12 compounds were prioritized as potential leads against EGFR, which exhibited high docking scores, correlated binding mode to experimentally proven compounds and constructive drug-like properties. The results of this study provide detailed structural insights and emphasize the important binding features of these compounds, which may assist in the design and development of novel EGFR inhibitors.

### Keywords

3D-QSAR, cancer, EGFR, molecular docking, pharmacophore, pyrrolo[3, 2-d]pyrimidine derivatives

### History

Received 21 March 2014  
Revised 19 June 2014  
Accepted 30 June 2014  
Published online 29 July 2014

### Introduction

Target-specific therapies are highly selective in cancer therapy and have created a great deal of attention in addition to conventional cancer treatments (1,2). Membrane receptors of the tyrosine kinases family play a vital role in cellular signaling pathways that regulate key functions such as differentiation, proliferation, cell cycle progression, survival and apoptosis (3). The abnormal activity of the receptor tyrosine kinases (RTKs) is one of the leading factors known to cause cancer. Many human cancers are characterized by an up-regulation of specific RTKs and have been clinically validated as targets for cancer therapy. Therefore, the development of tyrosine kinase inhibitors has become a dynamic part of research in pharmaceutical science. Epidermal growth factor receptor (EGFR) is one of the extremely considered tyrosine kinase targets as it plays a vital role in the regulation of cell growth. The over expression, amplification or mutation of EGFR tyrosine kinase occurs frequently in breast, ovarian and non-small cell lung cancers

(4,5) and has been shown to influence proliferation, angiogenesis and cancer metastasis. The binding of a ligand to EGFR persuades conformational alterations inside the receptor, which in turn activates its intrinsic catalytic activity and leads to autophosphorylation, which is essential for biological activity (6). Therefore, the achievement in small molecule drug discovery against EGFR as an anticancer target arises from selective inhibition of its kinase activity using compounds that compete against ATP binding at the catalytic site (7,8).

Recently, a large group of compounds has been synthesized and assessed as EGFR inhibitors, which can be used in cancer therapy. But, the enormous attention is being paid to two major classes of EGFR inhibitors such as the quinazoline derivatives (9,10) and the pyrimidine derivatives (11,12), which target the ATP pocket of EGFR. The compounds newly designed, however, could not be confirmed as effective EGFR inhibitors, unless their biological activities were validated experimentally, which are generally time-consuming and expensive (13,14). Therefore, it is of realistic concern to develop consistent tools to envisage biological activities before synthesis. The relationship between physicochemical properties and the inhibitory activities of different kinds of EGFR inhibitors have been examined recently with expectant results (15–17). In this study, we focus on a 3D-QSAR pharmacophore model of a new class of EGFR inhibitors.



Article

# Hybrid Pharmacophore- and Structure-Based Virtual Screening Pipeline to Identify Novel EGFR Inhibitors That Suppress Non-Small Cell Lung Cancer Cell Growth

Chia-Wei Weng<sup>1,2,†</sup> , Chi-Hsuan Wei<sup>1,†</sup>, Jeng-Yuan Tsai<sup>1</sup>, Yi-Hua Lai<sup>3,4,5</sup>, Gee-Chen Chang<sup>1,2,6,7,\*</sup> and Jeremy J. W. Chen<sup>1,8,9,\*</sup>

- <sup>1</sup> Institute of Biomedical Sciences, National Chung Hsing University, Taichung 40227, Taiwan; cwweng060304@gmail.com (C.-W.W.); crystalwei823@gmail.com (C.-H.W.); imjie6@msn.com (J.-Y.T.)
- <sup>2</sup> Institute of Medicine, Chung Shan Medical University, Taichung 40201, Taiwan
- <sup>3</sup> Rheumatology and Immunology Center, China Medical University Hospital, Taichung 40447, Taiwan; beauty081533@gmail.com
- <sup>4</sup> College of Medicine, China Medical University, Taichung 40402, Taiwan
- <sup>5</sup> Rheumatic Diseases Research Center, China Medical University Hospital, Taichung 40447, Taiwan
- <sup>6</sup> Division of Pulmonary Medicine, Department of Internal Medicine, Chung Shan Medical University Hospital, Taichung 40201, Taiwan
- <sup>7</sup> School of Medicine, Chung Shan Medical University, Taichung 40201, Taiwan
- <sup>8</sup> Biotechnology Center, National Chung Hsing University, Taichung 40227, Taiwan
- <sup>9</sup> Institute of Molecular Biology, National Chung Hsing University, Taichung 40227, Taiwan
- \* Correspondence: geechen@gmail.com (G.-C.C.); jwchen@dragon.nchu.edu.tw (J.J.W.C.); Tel.: +886-4-22840896 (ext. 125) (J.J.W.C.)
- † These authors contributed equally to this work.



**Citation:** Weng, C.-W.; Wei, C.-H.; Tsai, J.-Y.; Lai, Y.-H.; Chang, G.-C.; Chen, J.J.W. Hybrid Pharmacophore- and Structure-Based Virtual Screening Pipeline to Identify Novel EGFR Inhibitors That Suppress Non-Small Cell Lung Cancer Cell Growth. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 3487. <https://doi.org/10.3390/ijms23073487>

Academic Editor:  
Alexander Schramm

Received: 21 February 2022  
Accepted: 21 March 2022  
Published: 23 March 2022

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

**Abstract:** Dysregulated epidermal growth factor receptor (EGFR) expression is frequently observed in non-small cell lung cancer (NSCLC) growth and metastasis. Despite recent successes in the development of tyrosine kinase inhibitors (TKIs), inevitable resistance to TKIs has led to urgent calls for novel EGFR inhibitors. Herein, we report a rational workflow used to identify novel EGFR-TKIs by combining hybrid ligand- and structure-based pharmacophore models. Three types of models were developed in this workflow, including 3D QSAR-, common feature-, and structure-based EGFR-TK domain-containing pharmacophores. A National Cancer Institute (NCI) compound dataset was adopted for multiple-stage pharmacophore-based virtual screening (PBVS) of various pharmacophore models. The six top-scoring compounds were identified through the PBVS pipeline coupled with molecular docking. Among these compounds, NSC609077 exerted a significant inhibitory effect on EGFR activity in gefitinib-resistant H1975 cells, as determined by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Further investigations showed that NSC609077 inhibited the anchorage-dependent growth and migration of lung cancer cells. Furthermore, NSC609077 exerted a suppressive effect on the EGFR/PI3K/AKT pathway in H1975 cells. In conclusion, these findings suggest that hybrid virtual screening may accelerate the development of targeted drugs for lung cancer treatment.

**Keywords:** lung cancer; EGFR inhibitor; pharmacophore model; virtual screening; molecular docking

ations.



**Copyright:** © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).


## 1. Introduction

Receptor tyrosine kinases (RTKs) play pivotal roles in the regulation of developmentally relevant signal transduction events [1,2]. Abnormal RTK activity is one of the leading factors correlated with the carcinogenesis of different cancer types and therefore, has become an attractive therapeutic focus of targeted cancer therapy [3,4]. The epidermal growth factor receptor (EGFR) family is one of the most studied TK targets because it plays vital roles in mediating cell growth, differentiation, and survival signaling [5,6]. The EGFR family consists of four distinct receptors: EGFR (also known as HER1 or ErbB1), HER2



Article

# Hybrid Pharmacophore- and Structure-Based Virtual Screening Pipeline to Identify Novel EGFR Inhibitors That Suppress Non-Small Cell Lung Cancer Cell Growth

Chia-Wei Weng<sup>1,2,†</sup> , Chi-Hsuan Wei<sup>1,†</sup>, Jeng-Yuan Tsai<sup>1</sup>, Yi-Hua Lai<sup>3,4,5</sup>, Gee-Chen Chang<sup>1,2,6,7,\*</sup> and Jeremy J. W. Chen<sup>1,8,9,\*</sup>

- <sup>1</sup> Institute of Biomedical Sciences, National Chung Hsing University, Taichung 40227, Taiwan; cwweng060304@gmail.com (C.-W.W.); crystalwei823@gmail.com (C.-H.W.); imjie6@msn.com (J.-Y.T.)
- <sup>2</sup> Institute of Medicine, Chung Shan Medical University, Taichung 40201, Taiwan
- <sup>3</sup> Rheumatology and Immunology Center, China Medical University Hospital, Taichung 40447, Taiwan; beauty081533@gmail.com
- <sup>4</sup> College of Medicine, China Medical University, Taichung 40402, Taiwan
- <sup>5</sup> Rheumatic Diseases Research Center, China Medical University Hospital, Taichung 40447, Taiwan
- <sup>6</sup> Division of Pulmonary Medicine, Department of Internal Medicine, Chung Shan Medical University Hospital, Taichung 40201, Taiwan
- <sup>7</sup> School of Medicine, Chung Shan Medical University, Taichung 40201, Taiwan
- <sup>8</sup> Biotechnology Center, National Chung Hsing University, Taichung 40227, Taiwan
- <sup>9</sup> Institute of Molecular Biology, National Chung Hsing University, Taichung 40227, Taiwan
- \* Correspondence: geechen@gmail.com (G.-C.C.); jwchen@dragon.nchu.edu.tw (J.J.W.C.); Tel.: +886-4-22840896 (ext. 125) (J.J.W.C.)
- † These authors contributed equally to this work.



**Citation:** Weng, C.-W.; Wei, C.-H.; Tsai, J.-Y.; Lai, Y.-H.; Chang, G.-C.; Chen, J.J.W. Hybrid Pharmacophore- and Structure-Based Virtual Screening Pipeline to Identify Novel EGFR Inhibitors That Suppress Non-Small Cell Lung Cancer Cell Growth. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 3487. <https://doi.org/10.3390/ijms23073487>

Academic Editor:  
Alexander Schramm

Received: 21 February 2022  
Accepted: 21 March 2022  
Published: 23 March 2022

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

**Abstract:** Dysregulated epidermal growth factor receptor (EGFR) expression is frequently observed in non-small cell lung cancer (NSCLC) growth and metastasis. Despite recent successes in the development of tyrosine kinase inhibitors (TKIs), inevitable resistance to TKIs has led to urgent calls for novel EGFR inhibitors. Herein, we report a rational workflow used to identify novel EGFR-TKIs by combining hybrid ligand- and structure-based pharmacophore models. Three types of models were developed in this workflow, including 3D QSAR-, common feature-, and structure-based EGFR-TK domain-containing pharmacophores. A National Cancer Institute (NCI) compound dataset was adopted for multiple-stage pharmacophore-based virtual screening (PBVS) of various pharmacophore models. The six top-scoring compounds were identified through the PBVS pipeline coupled with molecular docking. Among these compounds, NSC609077 exerted a significant inhibitory effect on EGFR activity in gefitinib-resistant H1975 cells, as determined by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Further investigations showed that NSC609077 inhibited the anchorage-dependent growth and migration of lung cancer cells. Furthermore, NSC609077 exerted a suppressive effect on the EGFR/PI3K/AKT pathway in H1975 cells. In conclusion, these findings suggest that hybrid virtual screening may accelerate the development of targeted drugs for lung cancer treatment.

**Keywords:** lung cancer; EGFR inhibitor; pharmacophore model; virtual screening; molecular docking

ations.



**Copyright:** © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

Receptor tyrosine kinases (RTKs) play pivotal roles in the regulation of developmentally relevant signal transduction events [1,2]. Abnormal RTK activity is one of the leading factors correlated with the carcinogenesis of different cancer types and therefore, has become an attractive therapeutic focus of targeted cancer therapy [3,4]. The epidermal growth factor receptor (EGFR) family is one of the most studied TK targets because it plays vital roles in mediating cell growth, differentiation, and survival signaling [5,6]. The EGFR family consists of four distinct receptors: EGFR (also known as HER1 or ErbB1), HER2

# RÉSUMÉ

---

**Titre : Modélisation moléculaire de potentiels inhibiteurs de c-Met et EGFR : Etude comparative bibliographique.**

**Auteurs :** Azzouz Nourelhouda

Oulhaf Karima

**Les mots clés :** Cancer, inhibiteurs de tyrosines kinases, modélisation moléculaire, c-Met, EGFR, 3D-QSAR, modèle pharmacophorique, docking.

La compréhension des mécanismes de la cancérogénèse, le dépistage et le développement de nouvelles molécules d'intérêt thérapeutiques sont des étapes cruciales dans la lutte contre le cancer. Ce processus nécessite plusieurs cycles d'optimisation entre l'identification des biomarqueurs potentiels, la proposition d'une molécule active et la validation d'un médicament.

Notre travail a porté importance particulièrement aux inhibiteurs des tyrosines kinases c-Met et EGFR dont leurs surexpressions a fait preuve dans plusieurs cancers humains.

Dans le présent travail, une étude comparative entre différentes études faites sur les nouveaux potentiels inhibiteurs plus puissants et plus sélectifs contre la c-Met et EGFR. Les méthodes de modélisation moléculaire ont été appliquées dans ces études : notamment 3D-QSAR, modèle pharmacophorique et docking moléculaire. Tous les ligands soumis à ces méthodes ont montré une activité inhibitrice significative.

Tous les résultats obtenus semblent prometteurs et pourront faciliter la recherches et le développement des inhibiteurs des tyrosines kinase puissants.



# ABSTRACT

---

**Title: Molecular modeling of potential c-Met and EGFR inhibitors: A comparative bibliographic study.**

**Authors:** Azzouz Nourelhouda

Oulhaf Karima

**Key Words:** Cancer, tyrosine kinas inhibitors, molecular modeling, c-Met, EGFR, 3D-QSAR, Pharmacophore model, docking.

The comprehension of the mechanisms of carcinogenesis, the screening and the development of new molecules of therapeutic interest are crucial steps in the fight against cancer. This process requires several optimization cycles between the identification of potential biomarkers, the proposal of an active molecule and the validation of a drug.

Our work has focused on inhibitors of the tyrosine kinases c-Met and EGFR whose overexpression has been shown in several human cancers.

In the present work, a comparative study between different studies done on new potential more potent and selective inhibitors against c-Met and EGFR. Molecular modeling methods were applied in these studies: namely 3D-QSAR, phamacophoric model and molecular docking. All ligands submitted to these methods showed significant inhibitory activity.

All the results obtained seem promising and may facilitate the research and development of potent tyrosine kinase inhibitors.