



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ de TLEMCEM
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de
la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Mémoire

Présenté par

BENTIFOUR ABDELILAH

En vue de l'obtention du Diplôme de MASTER en IMMUNOLOGIE

Thème

**Effet du delta-tocophérol sur le bcl-2 lors du cancer:
Simulation par docking moléculaire**

Soutenu le 30 Juin 2022, devant le jury composé de :

Président	HADJE MERABAT Djahida	MCB	Université de Tlemcen
Encadrant	MILIANI Maroua	MCB	Université de Tlemcen
Examineur	NOUARI Wafaa	MCB	Université de Tlemcen

Année universitaire 2021/2022

Résumé

Le cancer est une maladie caractérisée par une prolifération incontrôlée des cellules, il a été prouvé que le système immunitaire est responsable d'une immuno-surveillance qui correspond à l'élimination des cellules tumorales par apoptose. Ces dernières peuvent cependant acquérir la capacité de s'échapper au phénomène apoptotique, par de nombreux mécanismes, notamment la reconnaissance immunitaire réduite ou l'expression accrue des molécules anti-apoptotique Bcl2. Par ailleurs, des études récentes sur des modèles animaux ont démontré l'activité préventive du cancer des γ - et δ -tocophérols ainsi qu'un mélange naturel de tocophérols.

Dans ce travail, nous avons étudié par docking moléculaire l'effet du delta-tocophérol sur la protéine anti-apoptotique bcl-2. L'étude de docking a été réalisée par le programme ArgusLab et visualisée par Discovery studio. Les protéines et les ligands utilisés ont été téléchargés à partir des banques des données PDB et PubChem. La modélisation et la minimisation de l'énergie du δ -tocophérol a été réalisé par chem 3D.

Les résultats de la simulation ont déterminé que le delta tocophérol à une forte affinité pour le bcl-2 avec une énergie de liaison très faible ce qui signifie qu'il y a des interactions qui stabilisent le complexe. Le delta tocophérol est donc un inhibiteur probable de l'action antiapoptotique du bcl-2.

Mots clés : bcl-2, δ -tocophérol, docking moléculaire, inhibiteur, apoptose.

Abstract

Cancer is a disease characterized by an uncontrolled proliferation of cells, it has been proven that the immune system is responsible of an immune surveillance which corresponds to the elimination of tumor cells by apoptosis.

These cells can however acquire the capacity to escape the apoptotic phenomenon, by many mechanisms, in particular the reduced immune recognition or the increased expression of the anti-apoptotic molecules Bcl2. In addition, recent animal studies have demonstrated the cancer-preventive activity of γ - and δ -tocopherols as well as a natural blend of tocopherols.

In this work, we studied by molecular docking the effect of delta-tocopherol on the anti-apoptotic protein bcl-2. The docking study was carried out by the ArgusLab program and visualized by Discovery studio. The proteins and ligands used were downloaded from the PDB and PubChem databases. The modeling and minimization of the energy of δ -tocopherol was carried out by 3D chem.

The simulation results determined that delta tocopherol has a strong affinity for bcl-2 with a very low binding energy which means that there are interactions that stabilize the complex. Delta tocopherol is therefore a probable inhibitor of the antiapoptotic action of bcl-2.

Keywords: bcl-2, δ -tocopherol, molecular docking, inhibitor, apoptosis.

ملخص

السرطان هو مرض يتميز بانتشار غير متحكم فيه للخلايا، وقد ثبت أن الجهاز المناعي مسؤول عن المراقبة المناعية التي تتوافق مع القضاء على الخلايا السرطانية عن طريق موت الخلايا المبرمج

ومع ذلك، يمكن لهذه الخلايا أن تكتسب القدرة على الهروب من ظاهرة موت الخلايا المبرمج، من خلال العديد من الآليات، ولا سيما انخفاض التعرف على المناعة أو زيادة التعبير عن الجزيئات المضادة لموت الخلايا المبرمج ب-خ-ل 2

أيضا أظهرت النتائج في النماذج الحيوانية النشاط الوقائي من السرطان لتوكوفيرول قاما ودلتا بالإضافة إلى مزيج طبيعى من التوكوفيرول

في هذا العمل، درسنا عن طريق برامج المعلوماتية الحيوية بخاصية الالتحام الجزيئي تأثير دلتا توكوفيرول على آلية مكافحة موت الخلايا المبرمج للغدد الليمفاوية للخلايا البائية 2

تم إجراء دراسة الالتحام الجزيئي بواسطة برنامج ارغوس لاب وتم تصورها بواسطة برنامج ديسكوفري ستوديو وتم تنزيل البروتينات والرابطات المستخدمة من قاعدتي بيانات بوكام وبي دي بي، كما تم تنفيذ النمذجة والتقليل من طاقة دلتا توكوفيرول بواسطة برنامج 3 دي كام

:وضحت نتائج الالتحام الجزيئي ما يلي

دلتا توكوفيرول لها تقارب قوي مع ب-خ-ل 2 بطاقة ربط منخفضة للغاية مما يعني أن هناك تفاعلات تعمل على استقرار المركب، ولذلك فإن دلتا توكوفيرول هي مثبط محتمل للعمل المضاد للموت الخلوي المبرمج لل ب-خ-ل 2

الكلمات المفتاحية: دلتا توكوفيرول، الغدد الليمفاوية للخلايا البائية 2، الالتحام الجزيئي، المانع، موت الخلايا المبرمج

ملخص

السرطان هو مرض يتميز بانتشار غير متحكم فيه للخلايا، وقد ثبت أن الجهاز المناعي مسؤول عن المراقبة المناعية التي تتوافق مع القضاء على الخلايا السرطانية عن طريق موت الخلايا المبرمج

ومع ذلك، يمكن لهذه الخلايا أن تكتسب القدرة على الهروب من ظاهرة موت الخلايا المبرمج، من خلال العديد من الآليات، ولا سيما انخفاض التعرف على المناعة أو زيادة التعبير عن الجزيئات المضادة لموت الخلايا المبرمج ب-خ-ل 2

أيضا أظهرت النتائج في النماذج الحيوانية النشاط الوقائي من السرطان لتوكفيرول قاما ودلتنا بالإضافة إلى مزيج طبيعي من التوكفيرول

في هذا العمل، درسنا عن طريق برامج المعلوماتية الحيوية بخاصية الالتحام الجزيئي تأثير دلتا توكفيرول على آلية مكافحة موت الخلايا المبرمج للغدد الليمفاوية للخلايا البائية 2

تم إجراء دراسة الالتحام الجزيئي بواسطة برنامج ارغوس لاب وتم تصورها بواسطة برنامج ديسكوفري ستوديو وتم تنزيل البروتينات والرابطات المستخدمة من قاعدتي بيانات بوكام وبي دي بي، كما تم تنفيذ النمذجة والتقليل من طاقة دلتا توكفيرول بواسطة برنامج 3 دي كام

وضحت نتائج الالتحام الجزيئي ما يلي

دلتا توكفيرول لها تقارب قوي مع ب-خ-ل 2 بطاقة ربط منخفضة للغاية مما يعني أن هناك تفاعلات تعمل على استقرار المركب، ولذلك فإن دلتا توكفيرول هي مثبط محتمل للعمل المضاد للموت الخلوي المبرمج لل ب-خ-ل 2

الكلمات المفتاحية: دلتا توكفيرول، الغدد الليمفاوية للخلايا البائية 2، الالتحام الجزيئي، المانع، موت الخلايا المبرم

Remerciements

Nous remercions tout d'abord « ALLAH » tout puissant, de nous avoir donné la foi, la force, le courage et la patience nécessaire pour mener ce travail à bout.

En préambule à ce mémoire, je souhaitais adresser mes remerciements les plus sincères aux personnes qui m'ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de cette formidable année universitaire.

Ma plus grande gratitude va à mon encadrante: **Dr.MILIANI Maroua** sa disponibilité, sa compréhension, son soutien et la confiance qu'elle m'a accordée. J'aimerais aussi la remercier pour ses précieux conseils qui m'ont permis de mener à bien ce travail.

Je tiens à remercier les membres du jury **Dr.NOUARI Wafaa** et **Dr HADJE MERABAT Djahida** d'avoir prises part à l'évaluation de ce travail.

Nous n'oublierons pas de remercier vivement les enseignants qui ont assuré notre formation du niveau primaire jusqu'au niveau universitaire.

Enfin, Je veux témoigner ma gratitude à mes chers parents, Ainsi qu'à mes frères, et toute ma grande famille pour leurs encouragements et leurs soutiens ainsi qu'à tous ceux qui ont, de près ou de loin, contribué à la réalisation de ce travail.

Liste des figures

- Figure 1.** Théorie de l'immunosurveillance et de l'échappement.
- Figure 2.** Domaines des protéines de la famille Bcl-2.
- Figure 3.** Modèle illustrant les mécanismes de l'apoptose mitochondriale.
- Figure 4.** Voies d'apoptose médiées par la chimio et l'immunothérapie.
- Figure 5.** Structure chimique du delta tocophérol.
- Figure 6.** Docking moléculaire.
- Figure 7.** Principe du score.
- Figure 8.** Structure 3D du Bcl-2 XL avec un ligand acyl-sulfonamide-based.
- Figure 9.** Structure 2D du delta tocophérol.
- Figure 10.** Structure 3D du delta tocophérol.
- Figure 11.** Principe générale d'un programme de docking
- Figure 12.** Binding site sur ArgusLAB (color by atomic number).
- Figure 13.** Les meilleures poses du docking.
- Figure 14.** Structure 3D du complexe bcl2 et delta tocophérol (publication quality)
- Figure 15.** Structure 3D du complexe avec les interactions favorables possibles.
- Figure 16.** Liaison hydrogène non classique
- Figure 17.** Liaison hydrophobe Alkyl
- Figure 18.** Liaison hydrophobe mixed Pi / Alkyl

Liste des tableaux

Tableau 1. Structure du delta tocophérols.

Tableau 2. Principaux programmes du docking moléculaire.

Tableau 3. Evaluation du ligand par les règles de Lipinski

Tableau 4. Liaisons hydrogènes et hydrophobes.

Table des matières

Résumé.

Abstract.

Résumé en arabe.

Remerciements.

Table des matières.

Liste des figures.

Liste des tableaux.

Introduction.

Chapitre 1. Revue de la littérature.

1. Cancer.
 - 1.1. Historique et généralités.
 - 1.2. Définition.
 - 1.3. Hallmarks du cancer.
 - 1.4. Immuno-surveillance.
 - 1.5. L'immunoediting.
 - 1.5.1. Les étapes de l'immunoediting.
2. Bcl2.
 - 2.1. Définition et structure du Bcl2.
 - 2.2. Bcl2 et apoptose.
 - 2.3. Les propriétés régulatrices de Bcl-2.
 - 2.4. Voies d'apoptose médiées par la chimiothérapie.
 - 2.5. Dysfonctionnement du bcl-2 et cancer.

3. Delta tocophérol.
 - 3.1. Généralités.
 - 3.2. Propriétés physico-chimiques des tocophérols.
 - 3.3. Source de la vitamine E.
 - 3.4. Rôle biologique de la vitamine E.
 - 3.5. Propriétés immunitaire.
 - 3.6. Delta tocophérol et cancer.
4. Le docking moléculaire.
 - 4.1. Définition.
 - 4.2. Principe.
 - 4.3. Les outils du docking moléculaire.
 - 4.3.1. Ligand.
 - 4.3.2. Récepteur.
 - 4.4. les programmes du docking moléculaire.
 - 4.5. Docking avec ligand rigide, semi flexible, et flexible.
 - 4.5.1. Avec ligand rigide.
 - 4.5.2. Avec ligand semi flexible.
 - 4.5.3. Avec ligand flexible.
 - 4.6. Scoring.
 - 4.6.1. Principe.
 - 4.6.2. Fonction du score.

Chapitre 2. Matériel et méthode.

1. Matériels.
 - 1.1. Microordinateur.
 - 1.2. Programmes.
 - 1.2.1. ArgusLab.
 - 1.2.2. ChemSketch.
 - 1.2.3. Chem3D.
 - 1.2.4. Discovery studio.

1.3. Banques de données.

1.3.1. PDB.

1.3.2. PubChem.

2. Méthodes.

2.1. Source de la protéine cible.

2.2. Source du ligand.

2.3. Préparation de la protéine.

2.4. Préparation du ligand.

2.5. Calcul des grilles de potentiel.

2.6. Docking moléculaire.

Chapitre 3. Résultat et discussion.

1. Règle de lipinski.

2. Réalisation du docking moléculaire.

3. Analyse des interactions.

3.1. Liaisons hydrogènes.

3.2. Liaisons hydrophobes.

Chapitre 4. Conclusion.

Chapitre 5. Références.

Introduction

L'immuno-surveillance est un processus qui permet au système immunitaire de contrôler, de détecter et d'éliminer les cellules tumorales. Le premier niveau de développement de tumeur résulte de l'incapacité de la cellule à réparer les anomalies génétiques, ou à entrer en apoptose. Cependant, l'apoptose joue un rôle majeur dans la prévention naturelle du développement d'un cancer au sein d'un organisme, par l'élimination de cellules endommagées ou mal placées. En effet, l'inhibition de l'apoptose permet aux cellules cancéreuses de survivre, malgré leur localisation aberrante et leur prolifération anormale. Les protéines de la famille bcl2 sont responsables de l'action pro ou anti apoptotique par voie intrinsèque.(Dunn et al., 2002)

Par ailleurs, des recherches récentes ont été menées pour évaluer les propriétés anticancéreuses du Delta-tocophérol (δ -tocophérol), une isoforme majeure de la vitamine E, sur la base de l'hypothèse que de nombreux cancers présentent des niveaux élevés de stress oxydatif (Jiang, 2014).

Avec le développement des outils informatiques, la modélisation moléculaire et plus précisément le docking moléculaire a rapidement investi le domaine de la recherche en biologie (Gao et al., 2022). Celui-ci peut être défini comme la recherche du meilleur appariement entre deux molécules. Le docking moléculaire a pour objectif essentiel de prédire la conformation (position et orientation relative) la plus favorable du ligand au sein de son récepteur comme il peut servir à l'optimisation de molécules et au criblage de bases de données. En pharmacie, la découverte et la mise au point de nouvelles substances médicamenteuses peuvent passer par le criblage de bases de données avec des millions de composés pour une même protéine cible, ce qui ne serait pas réalisable en biologie classique (Fu et al., 2018).

Dans cette optique, notre travail a pour objectif de réaliser une simulation bioinformatique par docking moléculaire, afin d'étudier l'effet inhibiteur du delta-tocophérol sur les protéines anti-apoptotique bcl2.

I- Chapitre 1 : revue de la littérature

1.Cancer

1.1. Historique et généralités :

Le cancer demeure la cause principale de mortalité dans le monde. Il s'agit d'une maladie qui peut toucher n'importe quelle partie de l'organisme. Tout commence par une accumulation des mutations et une altération génétique avec un système de réparation d'ADN dysfonctionnel.(Vogelstein and Kinzler, 2004) Par conséquent, les cellules normales acquièrent de nouvelles propriétés phénotypiques. Une résistance à l'apoptose en plus d'une prolifération anarchique et excessive débutera et puis ces cellules suivront un processus en plusieurs étapes avec généralement une évolution vers des cellules précancéreuses et puis vers une tumeur.

En 2002, Dunn Schreiber a mis en évidence le concept, comprenant trois phases, d'«immunoediting du cancer » appelée également Théorie des 3 E (élimination, équilibre et échappement). Cette théorie postule que le système immunitaire interagit avec la tumeur tout au long de son développement et influence sa croissance.(Dunn et al., 2004)

Le développement cancéreux est provoqué par plusieurs processus notamment l'inhibition de la mort cellulaire programmée qu'on nomme par le terme apoptose. C'est un programme génétiquement codé provoquant une autodestruction de la cellule.

1.2. Définition

Le cancer est une maladie caractérisée par une signalisation et un métabolisme anormal, ce qui entraîne une division cellulaire et une survie incontrôlées. Diverses substances, variables et circonstances ont été identifiées comme causes sous-jacentes de l'apparition et de la progression de la maladie. (Upadhyay, 2021)

Le mot « cancer » est un terme générique désignant un large groupe de maladies pouvant toucher n'importe quelle partie de l'organisme.

Le cancer est reconnu comme étant très compliqué, avec diverses caractéristiques telles que la prolifération incessante, l'évitement des signaux de suppression de la croissance, la résistance apoptotique, la néo vascularisation et les capacités d'invasion et métastatiques acquises. (Jiang et al., 2015)

L'un des traits caractéristiques du cancer est la multiplication rapide des cellules anormales à la croissance inhabituelle, qui peuvent ensuite envahir des parties voisines de l'organisme, puis migrer vers d'autres organes.

Les anomalies génétiques dans les cellules cancéreuses provoquent une augmentation du nombre de récepteurs du facteur de croissance. Les cellules malignes peuvent accélérer la croissance et la prolifération malignes par elles-mêmes en activant ou en amplifiant les voies de signalisation intracellulaires qui favorisent la prolifération cellulaire. (Vogelstein and Kinzler, 2004)

Pour comprendre ce qui donne naissance aux cancers, comment ils se comportent et surtout quels sont les facteurs qui favorisent leur croissance, il faut résoudre des problèmes biologiques et médicaux complexes.

1.3. Hallmarks du cancer.

L'altération du génome des cellules normales conduit à une modification des voies de signalisation intracellulaires pouvant entraîner leur transformation et le développement des tumeurs. Actuellement, les processus d'oncogenèse se caractérisent par 6 points essentiels : l'indépendance vis-à-vis des facteurs de croissance, la résistance aux inhibiteurs de la prolifération, la résistance à la mort cellulaire, l'immortalisation, la capacité à promouvoir l'angiogenèse et la capacité à envahir les tissus et à traverser les membranes basales. (Hanahan and Weinberg, 2000)

En 2011, Quatre autres hallmarks ont été identifiés, parmi eux, deux sont distinctives émergentes, on parle de la dérégulation du métabolisme énergétique cellulaire et la capacité à éviter une destruction par le système immunitaire. Les deux autres ne sont pas qualifiées de capacités distinctives) ; il s'agit de l'inflammation favorisant les tumeurs ainsi que de l'instabilité et des mutations du génome.(Hanahan and Weinberg, 2011)

Dix ans plus tard, Hanahan revient aux caractéristiques une fois de plus, reconnaissant les grands progrès réalisés dans l'étude du cancer.

Les deux caractéristiques ajoutées comme émergentes en 2011 ont été définitivement intégrées en tant que caractéristiques de base, car la recherche des 10 dernières années a largement confirmé l'importance de la reprogrammation métabolique et de la prévention de la destruction immunitaire dans le cancer. De plus, Hanahan a proposé une hallmark émergente supplémentaire : Plasticité phénotypique et différenciation perturbée.(Hanahan, 2022)

1.4. Immuno-surveillance.

Le concept d'immuno surveillance se compose de trois phases successives : l'élimination, l'équilibre, et l'échappement. Dans la phase d'élimination, l'immunité innée et adaptative travaillent ensemble pour détruire les tumeurs en développement bien avant qu'elles ne deviennent cliniquement apparentes. Si la réponse est efficace, le cancer peut être éliminé. Si, toutefois, ce n'est pas le cas, les cellules tumorales peuvent entrer dans la phase d'équilibre qui implique seulement des effecteurs de l'immunité adaptative. Lors de cette phase, l'immunogénicité des tumeurs est modifiée. Des variantes de cellules tumorales peuvent émerger car elles ne sont plus reconnues par l'immunité adaptative, elles deviennent insensibles à la réponse immunitaire effectrice, ou elles induisent un état immunosuppresseur dans le microenvironnement de la tumeur. Ces cellules tumorales peuvent alors entrer dans la phase d'échappement, durant laquelle leur croissance n'est plus supprimée par l'immunité. Ces cellules tumorales apparaissent et provoquent une maladie cliniquement apparente.(Schreiber et al., 2011)

Les systèmes immunitaires inné et adaptatif sont capables de surveiller le développement de la tumeur, selon les données acquises chez la souris et les observations faites chez l'homme. Elle implique l'identification des antigènes tumoraux par les cellules immunitaires adaptatives, en particulier les lymphocytes T, ainsi que l'activation des cellules de l'immunité innée, telles que les cellules dendritiques, les cellules NK et les macrophages, par des signaux de danger. (Martin, 2020) Cette immunosurveillance peut éradiquer complètement des tumeurs naissantes ou les maintenir de façon prolongée à l'état de tumeurs dormantes non évolutives.

Les tumeurs peuvent cependant échapper à cette surveillance, notamment à l'issue d'un processus de sélection darwinienne qui élimine les cellules cancéreuses les plus immunogènes ou les plus

sensibles à l'immunosurveillance pour « éditer » des tumeurs constituées préférentiellement de cellules peu immunogènes et/ou plus résistantes.

1.5. Immuno-editing.

Certaines cellules tumorales peuvent s'échapper de cette surveillance opérée par le système immunitaire et se développer. Le concept d'immunosurveillance a donc laissé la place à la théorie de l'immuno-editing. Cette théorie définit les relations entre les cellules transformées et le système immunitaire selon trois phases : l'élimination, l'équilibre et l'échappement. (Dunn et al., 2002)

Figure 1.

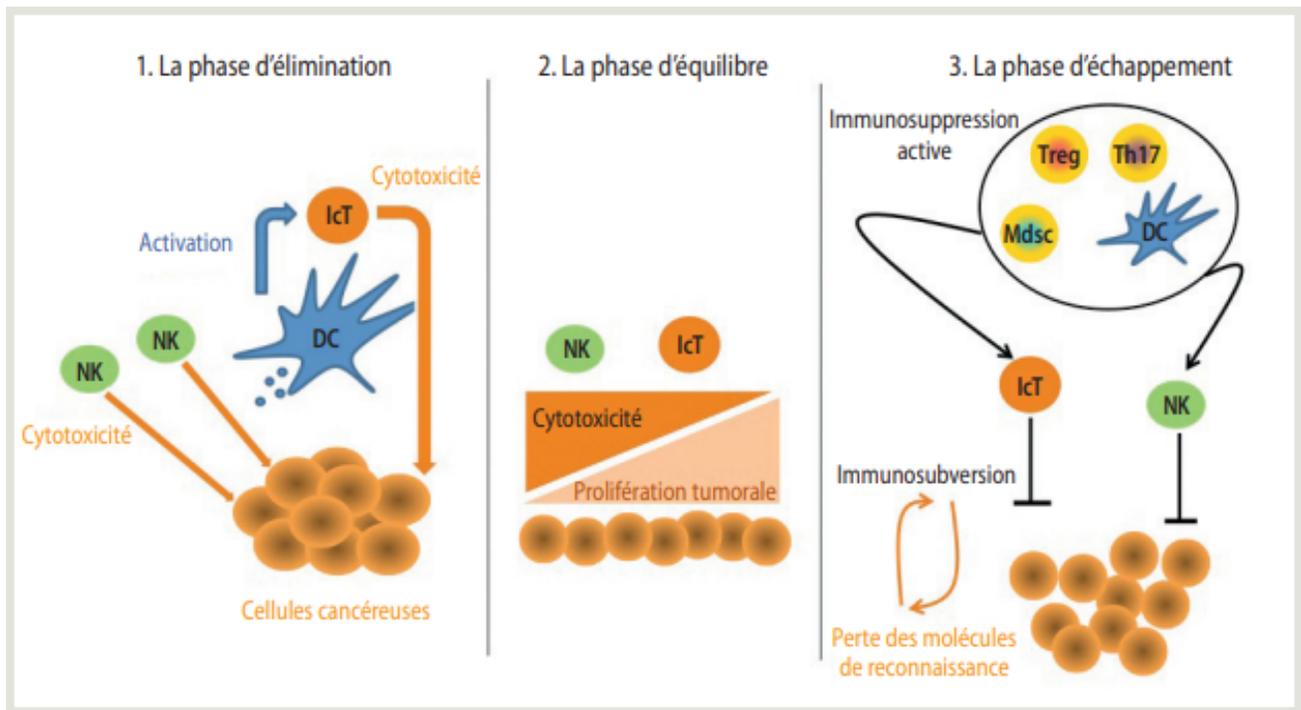


Figure 1. Théorie de l'immunosurveillance et de l'échappement

1.5.1. Phase d'élimination

L'élimination est une phase de l'immuno-editing du cancer où les systèmes immunitaires inné et adaptatif détectent et détruisent les tumeurs. (Mittal et al. 2014)

Dans la phase d'élimination, les cellules tumorales sont tuées par les cellules NK et les lymphocytes T CD4+ et CD8+. Ceci permet l'éradication de certaines tumeurs avant même qu'elles deviennent détectables. (David Fumet and Ghiringhelli, 2019)

Bases moléculaires et cellulaires de la réponse immunitaire antitumorale

Le système immunitaire peut être schématiquement divisé en deux groupes composés d'éléments de la réponse dite non spécifique ou spécifique. La réponse immunitaire non spécifique regroupe des facteurs solubles comme les protéines du complément, et de nombreux effecteurs cellulaires, incluant les granulocytes, les cellules dendritiques (DC) et mastocytaires, les neutrophiles, les macrophages et les cellules Natural Killer (NK). Cette réponse inflammatoire constitue la première ligne de défense de notre organisme contre les pathogènes. (Dranoff, 2004)

Subséquentement, la réponse immunitaire spécifique, orchestrée par les cellules lymphocytaires de type T CD8+, T CD4+ et B est plus lente à se mettre en place. En effet, elle nécessite la prolifération de cellules lymphocytaires exprimant soit des immunoglobulines qui présentent de nombreux réarrangements génétiques, soit des récepteurs de cellules T (TCR) spécifiques pour des peptides présentés par les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Enfin, les cellules T $\gamma\delta$ et T Natural Killer (NKT) sont des lymphocytes T cytotoxiques dont les fonctions sont à la frontière des réponses spécifiques et non spécifiques. Ces deux composantes, spécifiques et non spécifiques, sous-tendent la réponse immunitaire anti-tumorale.

1.5.2. Phase d'équilibre

Dans la phase d'équilibre, les cellules tumorales restent en dormance et cliniquement invisibles pour l'hôte. Le système immunitaire de l'hôte et les cellules tumorales entre dans un équilibre dynamique ; l'immunité antitumorale ne peut totalement éradiquer une population hétérogène de cellules tumorales, dont certaines ont acquis des moyens d'échappement au système immunitaire. (Aguirre-Ghiso, 2007)

La phase d'équilibre est à l'origine de l'hypothèse qui explique la longue période de latence depuis l'événement de la transformation tumorale jusqu'à la phase d'échappement et à l'émergence d'une maladie maligne. Selon cette hypothèse, l'équilibre peut être la phase la plus longue de l'immun-editing, durant laquelle les cellules tumorales acquièrent des mutations permettant l'immun-editing et pouvant conduire à la maladie cliniquement décelable.

Bien que les phases d'élimination et d'équilibre soient importantes dans le phénomène d'immun-editing, et plus généralement dans l'inhibition du développement des cancers, certaines tumeurs échappent au contrôle du système immunitaire, ce qui conduit à l'apparition d'un cancer cliniquement détectable.

1.5.3. Phase d'échappement au système immunitaire

Il est donc bien établi que les cellules tumorales peuvent être reconnues par des cellules effectrices du système immunitaire. Cependant, les tumeurs continuent de se développer et des métastases envahissent les différents organes chez les patients. En effet, ces tumeurs, qui apparaissent cliniquement, ont déjà été sélectionnées pour échapper au système immunitaire inné et adaptatif.

L'échappement des cellules tumorales peut se produire par de nombreux mécanismes différents, notamment : une reconnaissance immunitaire réduite (telle que l'absence d'antigènes tumoraux puissants ou la perte de molécules du CMH de classe I, de type I ou de co-stimulation), une résistance ou une survie accrue (telle que expression accrue de STAT-3 ou molécule anti-apoptotique Bcl2), ou développement d'un microenvironnement tumoral immunosuppresseur (cytokines telles que VEGF, TGF- β ; molécules immuno régulatrices telles que IDO, PD-1/PD-L1).(Mittal et al., 2014)

2 : Bcl2

2.1. Définition et structure du bcl-2.

La protéine Bcl-2 est une protéine de 239 acides aminés dont le gène est situé sur le chromosome 18 humain au locus q21.33. Elle est constituée de quatre domaines d'homologie qui sont aussi présents chez d'autres protéines de la même famille. Ce sont ces domaines, ainsi que son domaine transmembranaire qui lui permettent d'avoir une action sur l'apoptose.

Plusieurs protéines appartiennent à la superfamille Bcl-2 (Figure 2).

Des protéines antiapoptotiques : Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-w, Mcl-1 et BFL-1. D'un point de vue structurel, elles sont composées de 4 domaines conservés appelés Bcl-2 Homology (BH), et désignés BH1 à BH4, et une partie terminale C hydrophobe. (Anilkumar and Prehn, 2014) Le sillon hydrophobe est formé par les domaines BH1-BH3, avec un domaine BH4 N-terminal qui permet la stabilité de cette structure. Le domaine BH4 est un facteur clé pour l'activité anti-apoptotique souvent inactif dans les protéines apoptotiques. (Tzifi et al., 2012)

Des protéines proapoptotiques : Bax, Bak, Bok. Elles sont composées de 3 domaines BH, désignés BH1 à BH3. La protéine BAX est une protéine monomère dans le cytosol qui s'intègre dans la mitochondrie pendant l'apoptose, entraînant ainsi la libération des facteurs apoptogènes comme le cytochrome c et l'activation des caspases. Le manque d'un domaine BH3 peut engendrer une activation des protéines BAX par le P53. (Tzifi et al., 2012). La protéine BAK est une protéine membranaire mitochondriale intégrale, qui subit également des changements structurels pour former de plus grande accumulation lors de l'apoptose. (Tzifi et al., 2012)

Des protéines proapoptotique BH3 only :

Certains membres proapoptotiques contiennent un domaine unique BH3 et sont dénommés "protéines BH3-only"; parmi lesquels, d'une part, Bid et Bim, qui activent directement les fonctions proapoptotiques des protéines BH1-BH3 Bax et Bak et, d'autre part, Bad, Noxa et Puma, qui les activent indirectement en libérant Bid et Bim de leur interaction avec les protéines BH1-BH4. (Chan et Yu, 2004) (figure 2).

Les structures tridimensionnelles des membres de ces familles se constituent principalement de deux hélices alpha centrales, principalement hydrophobes avec une longue boucle non structurée présente entre les deux hélices alpha, entourées de six ou sept hélices alpha amphipathiques de longueurs variables.(Petros et al., 2004)

Les protéines appartenant à la famille Bcl-2 sont des régulateurs clés de la voie apoptotique mitochondriale.(Chipuk et al., 2010). La famille de protéines Bcl-2 régule l'apoptose en contrôlant la perméabilité mitochondriale et la libération du cytochrome c.(Shamas-Din et al., 2013). Il a été démontré que la surexpression de la protéine Bcl-2 favorise la survie des cellules en supprimant l'apoptose.(Arbel and Shoshan-Barmatz, 2010)

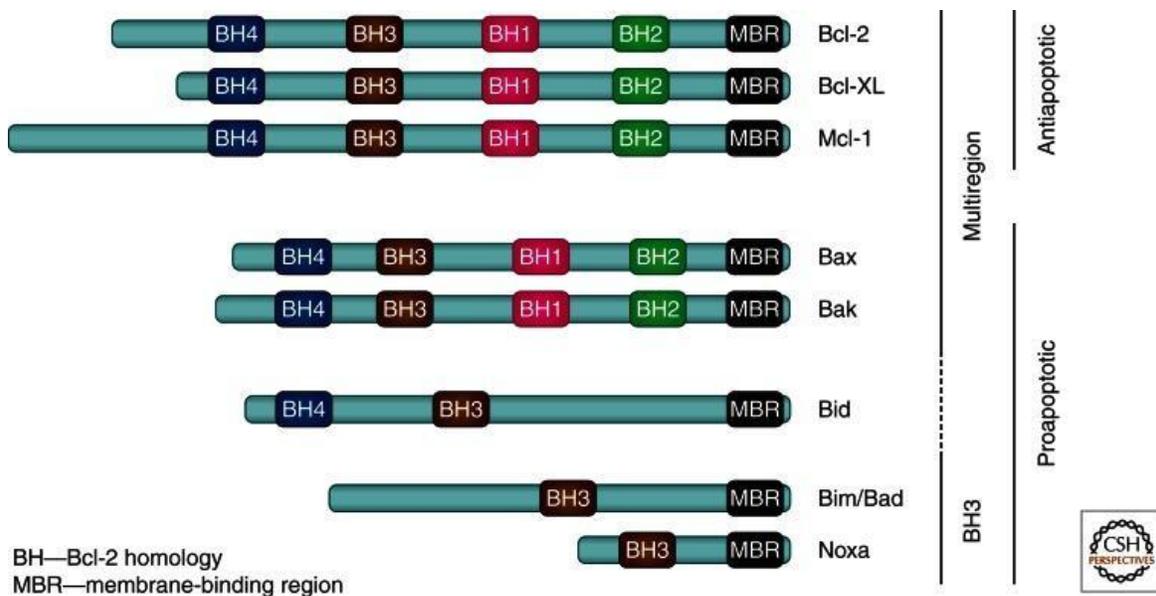


Figure 2. Domaines des protéines de la famille Bcl-2. (Campbell and Tait, 2018)

2.2. Bcl2 et apoptose

La principale forme de mort cellulaire dans les cellules normales et malignes est l'apoptose, qui est un processus programmé hautement régulé par la famille de protéines BCL-2. Cela comprend les protéines anti-apoptotiques (BCL-2, BCL-XL, MCL-1, BCLW et BFL-1) et les protéines proapoptotiques, qui peuvent être divisées en deux groupes : les effecteurs (BAX, BAK et BOK)

et les Protéines BH3 uniquement (BIM, BAD, NOXA, PUMA, BID, BIK, HRK). Notamment, les protéines anti-apoptotiques BCL-2 sont souvent surexprimées dans les cellules malignes.

Bien que cela offre des avantages de survie aux cellules malignes et renforce leur capacité de résistance aux médicaments, cela offre également des opportunités pour de nouvelles thérapies ciblées qui tuent sélectivement ces cellules.(Hafezi and Rahmani, 2021) Figure 3.

Bcl-2 n'est pas seulement localisée au niveau de la membrane externe de la mitochondrie. Elle est également présente au niveau de l'enveloppe nucléaire ainsi qu'au niveau de la membrane du réticulum endoplasmique.(Schinzel et al., 2004)

En effet, Le domaine BH4 de Bcl-2 interagit avec le récepteur à l'inositol 1, 4, 5-trisphosphate (IP3R). L'IP3R fait partie d'une famille de canaux Ca²⁺ permettant la libération du calcium et principalement localisé au niveau du réticulum endoplasmique. Ainsi cette interaction Bcl-2/IP3R aboutit à la diminution des échanges de calcium du réticulum vers la mitochondrie et donc à une inhibition de l'apoptose.(Monaco et al., 2012)

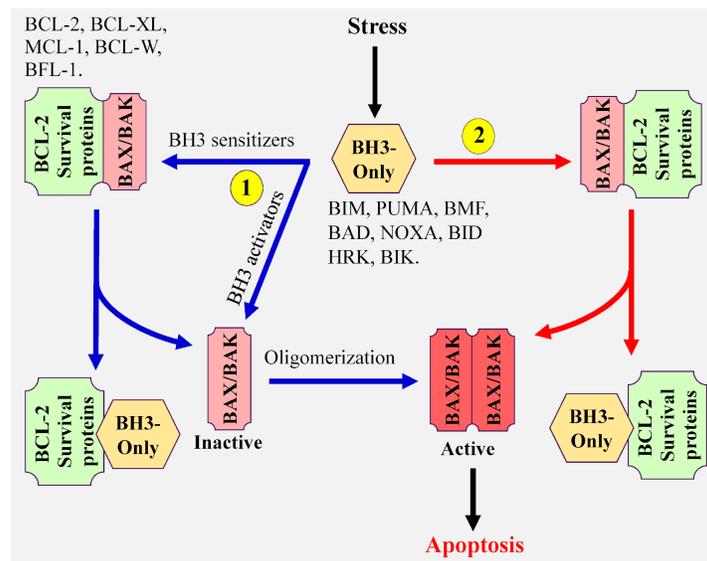


Figure 3. Modèle illustrant les mécanismes de l'apoptose mitochondriale. (Hafezi and Rahmani, 2021)

2.3. Les propriétés régulatrices de Bcl-2

Différentes études ont démontré qu'à côté de ses actions au niveau de la mitochondrie, Bcl-2 pouvait agir au niveau noyau soit directement, soit par l'intermédiaire d'autres partenaires. Deux études ont tout d'abord prouvé que Bcl-2 pouvait inhiber l'activité de transcription de p53. Ainsi, une surexpression de Bcl-2 peut conduire à la diminution d'expression de plusieurs gènes sous la dépendance de p53 comme p21, Gadd45 ou Bax.(Froesch et al., 1999)

Bcl-2 peut agir par l'intermédiaire de kinases et phosphatases qui phosphorylent ou déphosphorylent p53 et régulent ainsi son activité.

Bcl-2 peut aussi empêcher l'entrée de p53 dans le noyau par l'intermédiaire de co-activateurs transcriptionnels de p53. Une autre étude révèle que Bcl-2 inhibe l'activité d'autres facteurs de transcription tels que NFκB, AP1, en inhibant leur translocation nucléaire.(Massaad et al., 2004)

2.4. Voies d'apoptose médiées par la chimiothérapie.

La chimiothérapie et l'immunothérapie convergent toutes les deux vers des voies communes, dans lesquelles Bid et Bim pro-apoptotiques jouent un rôle clé en tant qu'éléments de connexion. Le stress cellulaire causé par la chimiothérapie entraîne l'activation des protéines p53 et BH3-only.

En conséquence, les protéines pro-apoptotiques de type Bid, Bim et Bax/Bak sont activées et les protéines anti-apoptotiques de type Bcl-2 inhibées (**Figure 4**).

Les lymphocytes T peuvent déclencher la mort cellulaire en activant directement la cascade de caspases et en activant également l'apoptose indépendante des caspases médiée par Bim. Cet effet cytotoxique est également renforcé par l'activation de Bid pro-apoptotique.(García-Aranda et al., 2018)

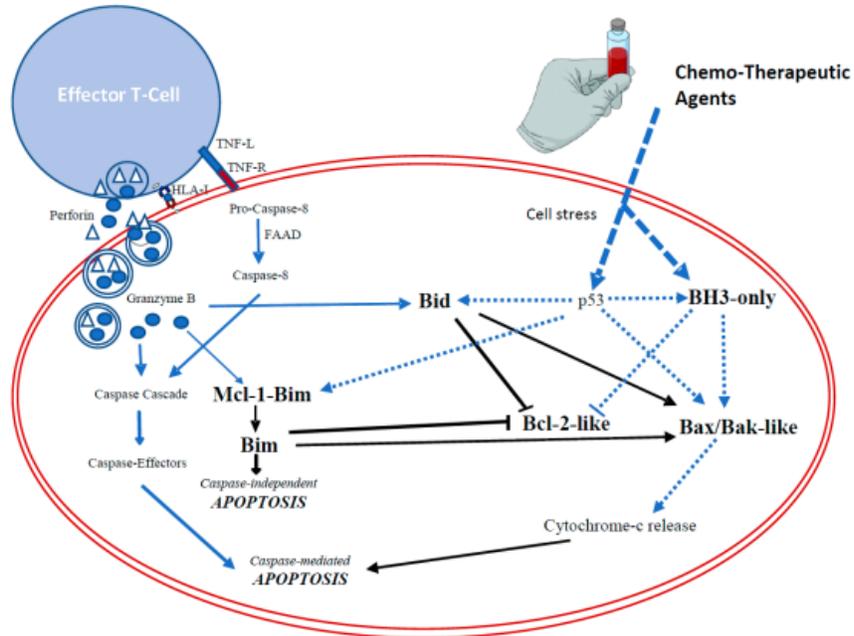


Figure 4. Voies d'apoptose médiées par la chimio et l'immunothérapie.

2.5. Dysfonctionnement du bcl-2 et cancer.

La perte de HLA de classe I et II et des altérations telles que la surexpression des gènes anti-apoptotique ou le silençage des gènes pro-apoptotique, la régulation à la baisse du gène suppresseur de tumeur p53 ou la régulation aberrante des voies de la protéine kinase se distinguent comme les principales causes de résistance à l'apoptose contre la réponse immunitaire ou les agents chimio thérapeutiques.(Thomas et al., 2013)

Aussi le dysfonctionnement du gène BCL-2 dû à une mutation, peut provoquer divers cancers, on cite : cancer du sein, du poumon, du colorectal, de la prostate, de l'estomac.

La mutation peut également provoquer des maladies auto-immunes par insensibilisation aux auto-antigènes résultant de la tolérance.(Garcia-Aranda et al., 2018)

Les cellules cancéreuses peuvent devenir dépendantes de Bcl-2 pour continuer à survivre sous la pression sélective d'un environnement agressif causé par le système immunitaire, ou les agents chimio thérapeutiques.

Dans ces circonstances, les cellules tumorales deviennent « dépendantes de Bcl2 » et en même temps plus sensibles aux inhibiteurs de Bcl-2.(Reed, 2018)

3 : Delta tocophérol

3.1. Généralités

La vitamine E est le principal composant liposoluble du système de défense antioxydant cellulaire et est exclusivement issue de l'alimentation. Il a de nombreux rôles importants dans le corps en raison de son activité antioxydante. L'oxydation a été liée à de nombreuses affections et maladies possibles, notamment le cancer.(Rizvi et al. 2014a)

La relation entre la nutrition en vitamine E et le risque de cancer chez l'homme, ainsi que les activités des tocophérols dans l'inhibition de la formation et de la croissance du cancer, ont été largement étudiées et révisées récemment.(Li et al. 2011)

De nombreuses études ont montré qu'un statut nutritionnel inférieur en vitamine E est associé à un risque accru de certains types de cancers.(Ju et al. 2010). Dans la nature, huit substances se sont avérées avoir une activité de vitamine E : alpha, bêta-, gamma- et delta-tocophérol ; et alpha-, bêta-, gamma- et delta-tocotriénol(Sen et al. 2006).Les études sur la vitamine E et le cancer se sont concentrées sur la forme alpha-tocophérol de la vitamine. Cependant, d'autres formes de vitamine E, en particulier le gamma et delta tocophérol, peuvent avoir des caractéristiques mécanistes uniques pertinentes pour la prévention du cancer du poumon.(Mahabir et al. 2008).

Le delta-tocophérol est la forme delta biodisponible par voie orale de la vitamine E liposoluble d'origine naturelle. Le delta-tocophérol est un tocophérol dans lequel le noyau chroman-6-ol est substitué par un groupement méthyle en position 8.

3.2. Propriétés physico-chimiques des tocophérols

A la température ambiante, les tocophérols se présentent sous la forme d'une huile visqueuse de coloration jaune pâle. Ils sont insolubles dans l'eau, très solubles dans les graisses, les huiles et les solvants organiques (éthers, acétone, chloroforme, méthanol, alcools méthyliques et éthyliques). Ils sont peu sensibles à la chaleur, à la lumière et aux acides, mais très sensibles à l'oxydation et aux bases. Les esters de tocophérols sont relativement stables. (Bourgeois, 2003)

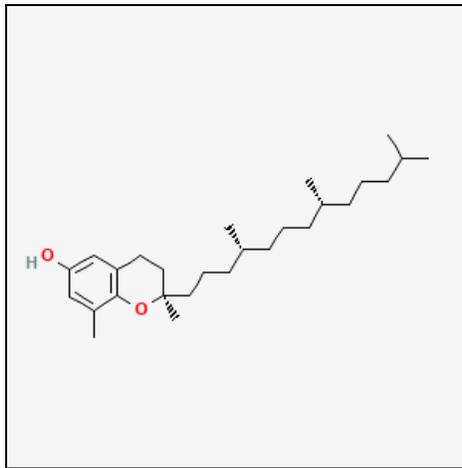


Figure 5. Structure chimique du delta tocophérol.

Tableau 1. Structure du delta tocophérols

Formule brute	Masse molaire	R ₁	R ₂	R ₃
δ : C ₂₇ H ₄₆ O ₂	402,6	H	H	CH ₃

3.3. Source de la vitamine E

La vitamine E est présente dans la plupart des huiles comestibles à des degrés divers, y compris celles extraites de l'huile de germe de blé, de blé, de son de riz (0,035%), d'orge (0,012% ou 44 mg/g d'huile), d'avoine (0,03%), de noix de coco (0,019 %) et palme (0,044 % ; 0,78–1,08 mg/g d'huile).(Aggarwal et al., 2010)

Les sources alimentaires les plus riches en vitamine E sont les céréales tels que le seigle, Blé, avoine, etc. dont leurs germes, les fruits tels que les bananes, fraise, melon, etc., la plupart d'oléagineux, dont leurs huiles comme tournesol, soja, maïs, olive, arachide, etc. On trouve de la vitamine E aussi dans les légumes tels que la salade, épinard, chou, poireau), dans la graisse animale ainsi que dans le lait, le beurre et le fromage et également dans le poisson. (Rizvi et al., 2014b)

3.4. Rôle biologique de la vitamine E

La vitamine E est reconnue comme antioxydant, grâce à sa capacité à inhiber les peroxydations lipidiques. A cet égard, elle participe avec nombreuses autres substances, à la lutte contre les formes réactives de l'oxygène, c'est-à-dire la lutte contre les radicaux libres et les éléments non radicalaires produits lors de la formation des radicaux libres. (Guiga, 2019)

Elle stabilise les membranes cellulaires parce qu'elle participe à la formation à des phospholipides membranaires . La vitamine E forme des complexes avec les lysophospholipides et les acides gras libres libérés par l'action de l'hydrolyse des lipides membranaires. Ces deux produits forment des complexes stœchiométriques 1:1 avec la vitamine E et, par conséquent, l'équilibre global de l'affinité hydrophobe/hydrophile au sein de la membrane est restauré. De cette manière, on pense que la vitamine E annule les propriétés de type détergent des produits hydrolytiques qui autrement perturberaient la stabilité de la membrane.(Wang, 1999)

3.5. Propriétés immunitaire

Il a été démontré que la carence et la supplémentation en vitamine E affectent le système immunitaire et l'inflammation à travers divers rôles régulateurs, notamment des altérations de l'intégrité de la membrane et de la transduction du signal, la modulation des médiateurs

inflammatoires et du cycle cellulaire. La modulation de la fonction immunitaire par la vitamine E a une pertinence clinique car elle affecte la sensibilité de l'hôte aux infections bactériennes et virales. (Meydani et al., 2018). Des études animales et humaines ont démontré que la carence en vitamine E altère les fonctions immunitaires humorales (production d'anticorps) et à médiation cellulaire (en particulier celle des cellules T). (Lewis et al., 2019)

Un rapport de cas de carence en vitamine E à la suite d'un trouble de malabsorption intestinale a démontré une altération de l'hypersensibilité de type retardé (DTH), une mesure in vivo de la fonction immunitaire à médiation cellulaire et une altération de la fonction des cellules T ex vivo évaluée par l'interleukine (IL)- 2, une cytokine clé essentielle au fonctionnement des lymphocytes T. Une réduction des cytokines inflammatoires et une amélioration de la prolifération des lymphocytes T avec une supplémentation en vitamine E ont également été observées. (Lewis et al., 2019)

La vitamine E semble moduler les réponses Th1 et Th2. La polarisation des lymphocytes T CD4 vers les lymphocytes T auxiliaires (Th) 1 ou Th2 a des implications pour la protection contre différents agents pathogènes (pathogènes intracellulaires ou extracellulaires) et le développement de différents types de maladies chroniques (maladies inflammatoires ou allergiques). (Lee and Han, 2018)

La vitamine E peut affecter la mort cellulaire induite par l'activation dans les cellules T. Le traitement in vitro de lymphocytes T humains primaires avec 25 μ M de vitamine E a supprimé l'expression de CD95L et la mort cellulaire induite par l'activation. La réduction des niveaux d'ARNm de CD95L et la proportion de cellules positives pour CD95L étaient liées à la suppression de la liaison de NF- κ B et AP-1 au site cible du promoteur CD95L par la vitamine E. D'autre part, il a été démontré que le succinate d' α -tocophéryle déclencher l'apoptose dans les cellules Jurkat avec l'activation de la caspase impliquée.

3.6. Delta tocophérol et cancer

Des résultats dans des modèles animaux ont démontré l'activité préventive du cancer des γ - et δ -tocophérols ainsi qu'un mélange naturel de tocophérols, et l'absence d'activité préventive du cancer par l' α -tocophérol.

La vitamine E, telle qu'ingérée dans l'alimentation ou dans des suppléments riches en γ - et δ -tocophérols, est préventive du cancer ; alors que la supplémentation avec de fortes doses d' α -tocophérol ne l'est pas. (Yang et al., 2012)

Sur les trois études de cohorte rapportées sur le cancer du poumon, deux études ont trouvé une association inverse significative entre l'apport alimentaire en vitamine E et le risque de cancer du poumon ; les effets préventifs du cancer ont été trouvés chez les fumeurs actuels, suggérant un effet protecteur de la vitamine E contre le tabagisme. (Yang et al., 2012)

Une étude cas-témoins en Europe a révélé que l' α -T représentait une réduction de 34 à 53 % du risque de cancer du poumon. (Mahabir et al., 2008). Dans une expérience, ils ont comparé l'efficacité de différentes formes de tocophérols purs pour inhiber l'initiation et la croissance de la tumeur de xénogreffe . Le δ -T s'est avéré le plus efficace, montrant une inhibition dose-réponse lorsqu'il est administré à 0,17% et 0,3% dans l'alimentation, et le γ -T pur étaient moins efficace. (Li et al. 2011)

Dans une autre étude, les activités inhibitrices de α -T, γ -T, δ -T et γ -T ont été comparées dans un modèle de carcinogenèse du côlon induite chez le rat : Le δ -T était le plus efficace pour inhiber la formation de foyers de cryptes aberrants (ACF), et γ -T avait des activités légèrement inférieures, mais α -T était inefficace. (Guan et al., 2012). Il a été démontré que γ -T et δ -T peuvent induire l'apoptose de différentes lignées cellulaires cancéreuses. (Ju et al., 2010).

4. Le Docking moléculaire

4.1 Définition :

Le docking est une technique informatique qui permet de prédire les interactions probables entre des ligands (substrat, activateur ou inhibiteur) et la structure d'une protéine. Il se déroule en une étape de positionnement du ligand dans le site choisi de la protéine. et une deuxième étape d'évaluation des interactions énergétique potentielles entre le ligand et la protéine. Les méthodes utilisées pour ces deux étapes différentes en fonction du programme de docking utilisé.(Morris and Lim-Wilby, 2008)

On peut dire que le docking est une méthode qui prédit l'orientation d'une molécule par rapport à une autre pour avoir le complexe le plus stable. Il est fréquemment utilisé sur l'étude de la cible moléculaire des médicaments et réduit les essais expérimentaux. En général il nous avons deux approches, l'une basée sur la complémentarité des surfaces et l'autre basée sur le calcul de l'énergie du complexe.

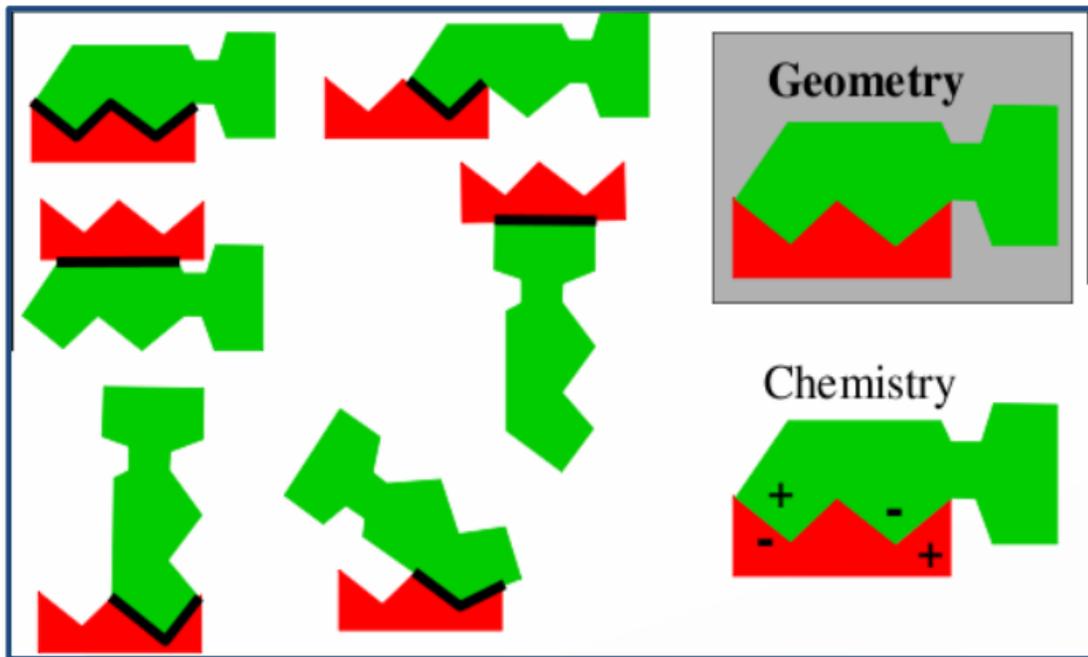


Figure 6. Docking moléculaire

Il est l'ensemble des mécanismes et interactions intervenant lors de la formation de complexes moléculaire. Il a des applications pratiques dans l'ingénierie des protéines et la conception de nouveaux médicaments. Les différents types de docking sont : ligand-protéine, protéine-protéine, glucide-protéine et ADN-protéine. (Chen et al., 2020)

4.2 Principe de docking

Le plus important problème pour l'étape de docking est de parcourir le mieux possible l'espace conformationnel. En fonction du nombre de degrés de liberté de translation, de rotation en plus des conformations de départ possibles du ligand. Pour éviter les calculs que les machines ne peuvent résoudre ou seulement dans des temps bien trop importants.

4.3 Les outils du docking moléculaire

Les logiciels de docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique (protéine).

1.1. Ligand

Le ligand est un messenger chimique libéré par une cellule pour signaler soit elle-même, soit une autre cellule. La liaison entraîne un effet cellulaire, qui se manifeste par un certain nombre de changements dans cette cellule, y compris la modification de la transcription ou de la traduction du gène ou la modification de la morphologie cellulaire.

Il existe plusieurs types différents de signalisation cellulaire, qui dépendent tous de différents ligands et récepteurs cellulaires. (Miller and Lappin, 2022)

1.2. Récepteur

Le récepteur cellulaire est une molécule naturellement présente sur les cellules, c'est une protéine de la membrane cellulaire ou du cytoplasme ou du noyau cellulaire qui se lie spécifiquement à un facteur spécifique (un ligand, tels un neurotransmetteur, une hormone, une molécule médicamenteuse, une toxine, un ion calcium, ou une protéine), induisant une réponse cellulaire à ce ligand.(Vabret and Mischczak, 2010)

Tout type de récepteur biologique aura un certain degré de spécificité envers un ou, au plus, quelques ligands pour se lier à leur région de liaison au ligand. Les récepteurs activés par des ligands peuvent être trouvés à la fois à la surface de la cellule, ainsi qu'à VVCdivers endroits intracellulaires. (Miller EJ, Lappin SL.)

Les récepteurs cellulaires peuvent être classés en récepteurs internes, récepteurs de surface cellulaire, récepteurs de canaux ioniques, récepteurs couplés aux protéines G (GPCR) et récepteurs liés aux enzymes. Alors que la plupart des liaisons aux récepteurs cellulaires se font par un ligand chimique, deux exceptions notables sont les virus qui sont des cellules pathogènes qui peuvent se lier aux récepteurs cellulaires hôtes pour infecter une cellule, et les composants

bactériens qui peuvent se lier aux récepteurs des cellules immunitaires pour provoquer une réponse immunitaire.(Jones, 2022)

4.4 les programmes du docking moléculaire

Au cours des deux dernières décennies, plus de 60 outils et programmes du docking différents ont été développés pour une utilisation à la fois académique et commerciale, telle que : DOCK, AutoDock, ArgusLab, FlexX, Surflex, GOLD, ICM, Glide, Cdocker, LigandFit, MCDock, FRED, MOE-Dock, LeDock, AutoDock Vina, rDock.(Pagadala et al., 2017)

Parmi ces programmes, AutoDock Vina, GOLD et MOE-Dock ont prédit les poses les mieux classées avec les meilleurs scores. GOLD et Le Dock ont pu identifier les poses de liaison de ligand correctes. Glide (XP) et GOLD prédisent les poses de manière cohérente avec une précision de 90,0 %.(Wang et al. 2016)

ArgusLab est souvent utilisé dans le milieu universitaire Il dispose d'une interface conviviale et de menus de calcul intuitifs. Le moteur d'amarrage se rapproche d'une méthode de recherche exhaustive. Il nécessite un fichier au format PDB pour le ligand et le récepteur.(Sridhar et al., 2012)

Tableau 2. Principaux programmes du docking moléculaire.

NOM	EDITEUR	SITE INTERNET
AutoDock	Scripps	http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodock/
Dock	UCSF	http://dock.compbio.ucsf.edu/
ArgusLab	M. Thompson	http://www.arguslab.com/arguslab.com/ArgusLab.html
FlexX	BioSolveIT	http://www.biosolveit.de/FlexX/
Fred	OpenEyes	http://www.eyesopen.com/products/applications/fred.html
Glide	Schrödinger	http://www.schrodinger.com/Products/glide.html

Gold	CCDC	http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/
ICM	Molsoft	http://www.molsoft.com/products.html
LigandFit	Accelrys	http://www.accelrys.com/cerius2/c2ligandfit.html
Surflex	Biopharmics	http://www.biopharmics.com/products.htm

4.5 Docking avec ligand rigide, semi-flexible et flexible

4.5.1 Ligand rigide :

Le ligand et la protéine sont tous les deux considérés comme étant rigides. Seuls les 6 degrés de liberté de translation et rotation sont explorés pour le ligand, le subir des translations et rotations dans chacune des trois dimensions.

Dans ce cas, la flexibilité du ligand pourrait être abordée en utilisant un ensemble pré-calculé de conformations de ligand, ou en permettant un degré de chevauchement atome-atome entre la protéine et le ligand. (Meng et al., 2011). Chaque pose sans clash est notée à l'aide d'une fonction de score. Les poses ayant les meilleurs scores sont affinées par le programme, qui teste les rotations et translations proches (RMSD supérieure à 0.5 Å et 0.75 Å, respectivement). (Kuntz et al., 1982)

D'autres programmes, tels que DOCK (Hirayama et al., 2007) font aussi docking rigide. La précision de ces méthodes peut être améliorée en générant plusieurs conformés pour chaque ligand.

4.5.2 Ligand semi-flexible :

Lorsque l'espace conformationnel des ligands est exploré, le nombre de degrés de liberté de l'espace de recherche peut être conséquent dans le cas de molécule très flexible, d'autres algorithmes dit de fragmentation, sont employés pour construire de façon incrémentielle le ligand au sien du site actif de la protéine, l'espace des conformations du ligand est alors restreint au voisinage d'un ensemble initial d'états simplifiés.

Cette stratégie de recherche par construction, qui se présente sous diverses variantes, est notamment adoptée par les programmes DOCK, FLEXX. Les programmes de docking semi-flexible considéré comme les plus efficaces emploient des méthodes de recherche aléatoires ou stochastique.(Meng et al., 2011)

4.5.3 Ligand flexible :

Lorsque les méthodes de docking prennent en compte la flexibilité du ligand, deux étapes sont effectuées successivement pendant toute la durée du docking : - La première étape correspond à une exploration de l'espace conformationnel de manière à retrouver, parmi les conformations proposées, les conformations bioactive. - la deuxième étape, une fonction de score évalue ces conformations.(Meng et al., 2011)

Il existe plusieurs types d'algorithmes de recherche conformationnelle.

4.6 Scoring

4.6.1 Principe :

Les fonctions de score sont des méthodes mathématiques et des fonctions discriminant les poses de docking correctes de celles incorrectes.

Le score permettra non seulement de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées, mais également de classer la meilleure pose de différents ligands pour identifier les meilleurs d'entre eux (Figure 7). Le score est une donnée numérique utile pour quantifier le degré avec lequel un ligand se complexe à un récepteur.

C'est globalement une approximation de l'énergie libre résultant du passage de la forme libre de la protéine et du ligand à l'association sous forme de complexe. L'évaluation de ces complexes permet de trouver celui ou ceux les plus susceptibles de reproduire au mieux le mode d'association réel.

L'association entre protéines et ligands est gouvernée par plusieurs paramètres thermodynamiques :

- Les interactions hydrophobes,
- Les interactions électrostatiques, les liaisons hydrogène,

- Les effets de solvation et les effets d'entropie.

Le principe thermodynamique est le suivant :

$$\Delta G = \Delta G \text{ Complexe} - (\Delta G \text{ Ligand} - \Delta G \text{ Protéine})$$

4.6.2 Fonction du score

La méthode d'amarrage permet de générer une liste de complexes qui représente les modes d'association préférable entre le ligand et le récepteur.

Une évaluation des complexes est faite pour repérer les complexes les plus susceptibles de pour le vrai mode d'association.

Plusieurs paramètres thermodynamiques gouvernent ces associations telles que les interactions hydrophobes et électrostatiques et les liaisons hydrogène.

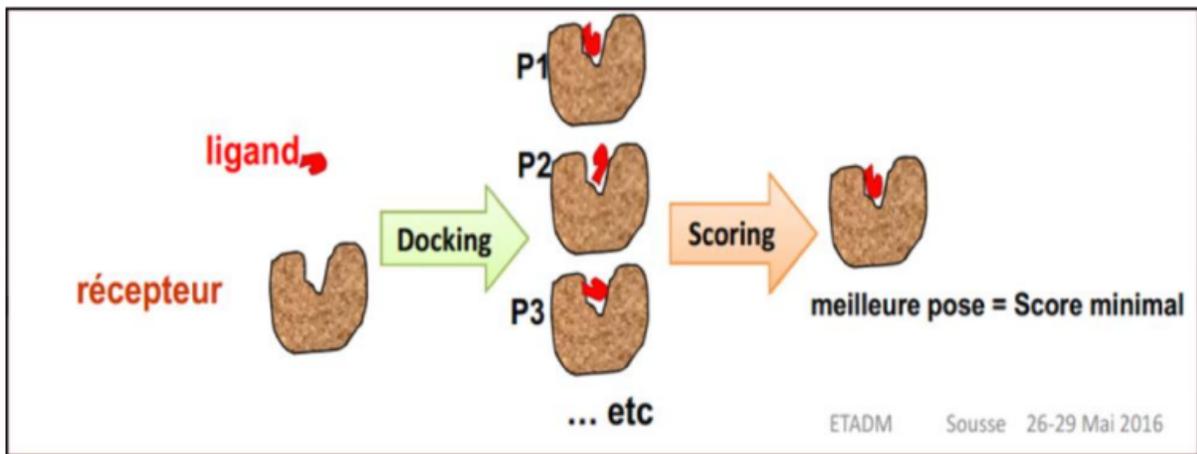


Figure 7. Principe du score.

II- Chapitre 2 : Matériel et méthode

1. Matériels

1.1. Microordinateur

Nous avons utilisé un microordinateur ayant une mémoire vive de 8 Go.

Tous les programmes utilisés sont installés sous le système d'exploitation Windows 10

1.2. Programmes

1.2.1. ArgusLab :

ArgusLab est un logiciel distribué gratuitement pour la plate-forme Windows, couramment utilisé comme progiciel d'introduction à la modélisation moléculaire, en particulier dans le milieu universitaire. Il dispose d'une interface conviviale et de menus de calcul intuitifs. Le moteur d'amarrage se rapproche d'une méthode de recherche exhaustive. Il nécessite un fichier au format PDB pour le ligand et le récepteur.

1.2.2. ChemSketch :

ChemSketch est un logiciel gratuit de modélisation moléculaire utilisé pour dessiner des structures moléculaires complexes en 2D ou en 3D et pour modifier des images de structures chimiques.

1.2.3. Chem3D :

Chem3D est un outil de visualisation et de partage de structures tridimensionnelles (3D) de molécules et d'optimisation moléculaire. Il est construit sur une puissante plateforme de représentation 3D

1.2.4. Discovery Studio :

Discovery Studio est une suite de logiciels pour stimuler les systèmes de petites molécules et macromolécules. Il couvre la simulation, la conception de ligands, la modélisation de pharmacophore et la conception basée sur la structure, QSAR et ADMET.

1.3. Banques de données

1.3.1. Protein Data Bank (PDB):

La Protein Data Bank (PDB; <http://www.rcsb.org/pdb/>) est l'unique archive mondiale des données structurales des macromolécules biologiques. Il est considéré comme une collection de données sur la structure tridimensionnelle (structure 3D) des macromolécules biologiques telles que les protéines essentiellement et les acides nucléiques. (Berman et al. 2000)

1.3.2. PubChem :

PubChem est une base de données américaine de molécules chimiques traitées par le NCBI (National Center for Information on Biotechnology - <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> -). Elle est actuellement constituée de plusieurs millions de composés dont la structure et les propriétés physico-chimiques sont librement accessibles. Cette bibliothèque est utilisée pour fournir des structures comparables de notre ligand.

2. Méthodes

Le docking moléculaire est réalisé pour déterminer l'affinité de liaison et prédire les interactions intermoléculaires des molécules dans les cibles.

Nous avons réalisé un docking d'un tocophérol (forme bio disponible de la vitamine E) et une structure cristalline d'une molécule de la membrane mitochondriale de la famille (B-cell lymphoma 2)

Les molécules d'eau sont retirées, et le site actif a été déterminé.

Les étapes de notre dépistage virtuel sont les suivant:

- Sélection et préparation de la cible
- Sélection et préparation du ligand
- Docking moléculaire
- Analyse post-docking

2.1. Source de la protéine cible

La structure cristallographique de la protéase principale bcl2 en complexe avec acyl-sulfonamide-based a été obtenue à partir de banque de données protéique (RCSB Protéine Data Bank PDB (www.rcsb.org/pdb) avec le code PDB : 2O22), au format .PDB. La structure 3D de la protéine été résolues par solution NMR.

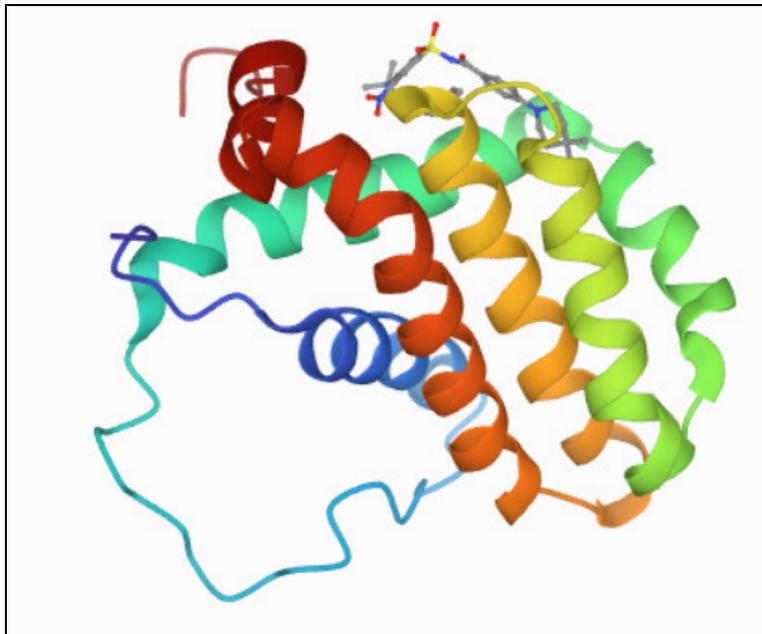


Figure 8. Structure 3D de la protéase principale Bcl-2 XL en complexe avec un ligand acyl-sulfonamide-based

2.2. Source du ligand

Dans cette étude nous avons utilisé la plateforme PubChem comme source de ligand (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

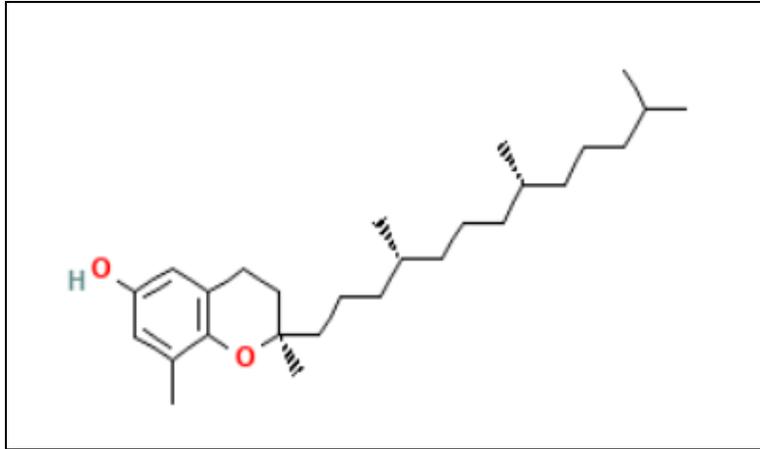


Figure 9. Structure 2D du delta tocophérol

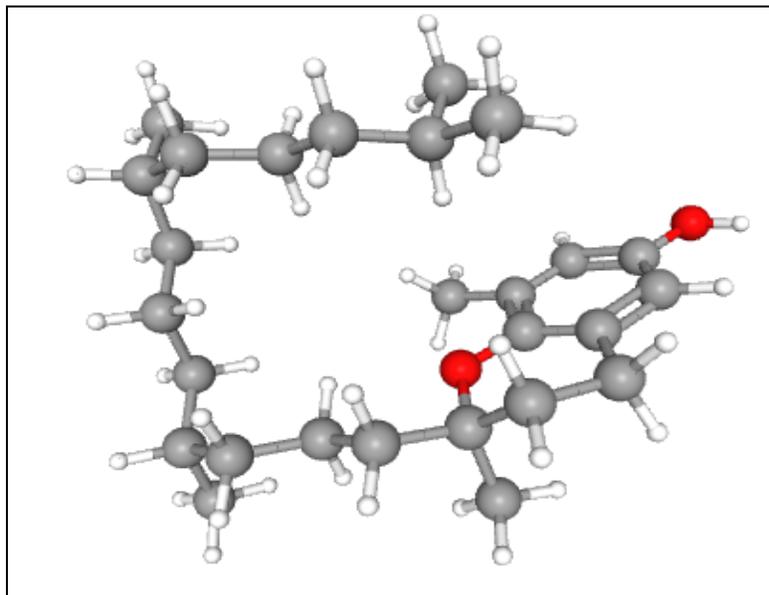


Figure 10. Structure 3D du delta tocophérol

2.3. Préparation de la protéine

En utilisant ArgusLab, nous avons pu examiner la structure de la protéine (2022) et aussi de préparer la structure du récepteur pour l'amarrage.

Nous avons déterminé le site actif en générant une pseudo-molécule, d'abord on a sélectionné les acides aminés du site active : -Phe101, Tyr105, Asp108, Phe109, Met112, Leu134, Ala146, Phe147, Glu149, Phe150. (Do Carmo et al. 2020).

La protéine est constituée d'une seule chaîne (A). Pour la fiabilité de notre docking moléculaire, nous avons éliminé les molécules d'eau ensuite le ligand présent dans la chaîne A.

La protéine ainsi préparée a été enregistrée sous le format .pdb par le programme ArgusLab

2.4. Préparation du ligand

Après l'extraction de notre ligand de la plateforme PubChem et le télécharger pour établir une étude détaillée sur sa structure chimique et ses composants, nous avons utilisé un programme de modélisation moléculaire ChemSketch pour dessiner la structure chimique du ligand. L'optimisation d'énergie a été réalisée par un autre programme appelé Chem3D.

Nous avons commencé par la minimisation de l'énergie, l'un des intérêts majeurs de la modélisation moléculaire est d'identifier de la (les) conformation(s) la (les) plus stable(s), C'est un processus consistant à trouver un arrangement dans l'espace d'une collection d'atomes. Le but de la minimisation est de trouver la conformation de plus basse énergie d'un système.

La prochaine étape est de réaliser une dynamique moléculaire, en mécanique moléculaire. Il est possible de simuler l'évolution d'un système de particules au cours du temps, cette méthode est appelée Dynamique Moléculaire (MD), elle repose sur l'intégration des lois du mouvement de Newton.

2.5. Calcul des grilles de potentiel

Après la préparation des molécules pour le docking (ligand et binding site de la protéine). Nous avons augmenté la vitesse d'évaluation de l'énergie du système. Le récepteur est plongé dans une grille tridimensionnelle englobant largement le site actif de la protéine étudiée et permettant la libre rotation du ligand dans ce site. Le centre de cette boîte est déterminé par les coordonnées X et Y et Z avec les dimensions Å³.

Les résultats des dimensions de la boîte GRID BOX ont été :

$$X = 21,75, Y = 22,75, Z = 15$$

2.6. Docking moléculaire

Le delta tocophérol et le Bcl2 ont été préparés et amarrés par les outils de docking d'ArgusLab, cette étape a été réalisée en utilisant les ligands au format .pdb, la protéine au format .mol2.

La première étape (le docking) est l'étape de sélection, consistant à placer le ligand dans le site actif de la protéine et à échantillonner les conformations, positions et orientations possibles, en ne retenant que celles qui représentent les modes d'interactions les plus favorables.

La deuxième étape (le scoring) est l'étape de classement, qui consiste à évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine et de donner un score aux poses obtenues lors de la phase de docking. Ce score permettra de retenir la meilleure pose parmi toutes celles proposées.

Cette opération a permis d'avoir les meilleures conformations du ligand au niveau du site actif classé par des scores d'affinité décroissant.

Les résultats ont permis d'avoir l'énergie de liaison (plus l'énergie est négative, la liaison du ligand est meilleure).

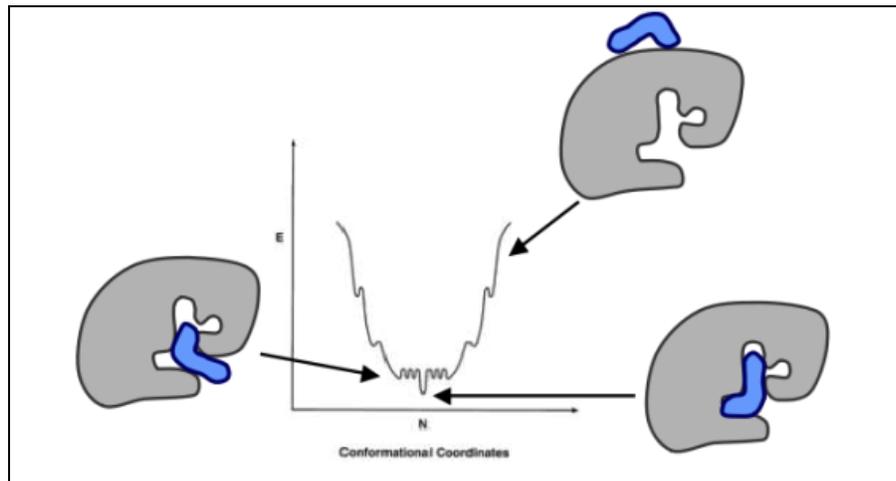


Figure 11. Principe générale d'un programme de docking

La visualisation des interactions entre le delta tocophérol et le Bcl2 de la meilleure pose a été réalisée avec Discovery Studio.

III- Chapitre 3 : Résultat

1. Règle de lipinski :

Chaque ligand doit se conformer à plusieurs critères de base, tel son faible coût de production, être soluble, stable, mais doit aussi se conformer à des barèmes associés à ses propriétés d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité. Dans ce contexte, l'évaluation de la biodisponibilité des molécules utilisées dans cette étude a été réalisée à l'aide du Molinspiration Checker. Sur la base de cette évaluation, on a étudié la réponse de notre ligand Delta tocophérol aux règles de Lipinski.

Les paramètres suivants ont été calculés :

- Nombres des donneurs d'hydrogènes < 5
- Nombres des accepteurs d'hydrogènes < 10
- Le coefficient de partage Log P < 5
- Le poids moléculaire < 500

Nombres d'angle de rotation ≤ 15

Tableau 3. Evaluation du ligand par les règles de Lipinsk

Nombres des donneurs d'hydrogènes	2
Nombres des accepteurs d'hydrogènes	1
Le coefficient de partage Log P	8,27
Le poids moléculaire	388,64
Nombres d'angle de rotation	12

L'évaluation de notre ligand par les règles de Lipinski montre qu'il y a une seule violation au niveau du coefficient de partage Log P qui est supérieur à 5. Cependant, le ligand semble

reprendre à la plupart des conditions de la règle de Lipinski, pour cela, nous attendons une bonne interaction même sans optimisation du ligand (**Tableau 3**).

2. Réalisation du docking moléculaire :

Le logiciel ArgusLab a été utilisé dans l'expérience du docking, avec la structure de la protéine Bcl2 (PDB ID:2O22).

Les résidus du site actif de la Bcl2, ces résidus sont : Phe101, Tyr105, Asp108, Phe109, Met112, Leu134, Ala146, Phe147, Glu149, Phe150 (figures 11). Après la réalisation du docking l'analyse visuelle réalisée montre que le delta tocophérol est bien placé dans le site actif de la bcl2. Le delta tocophérol prend la forme de la cavité formé par les résidus du site actif, ce qui signifie qu'il y a des interactions qui stabilisent le complexe et par la suite, une meilleure fixation de ce ligand au niveau du site actif.

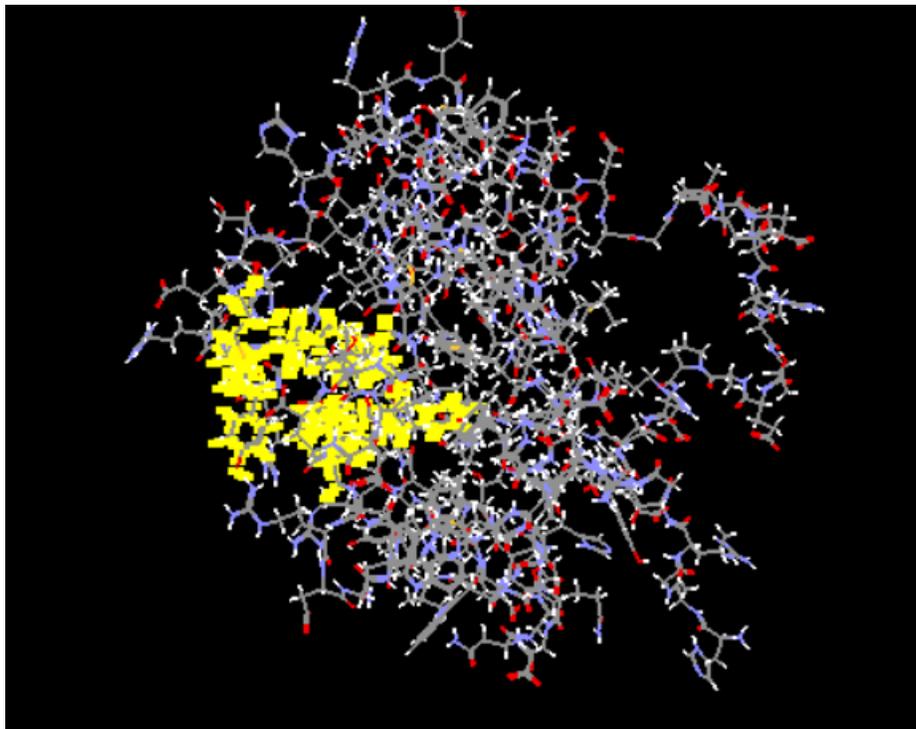


Figure 12. Binding site sur ArgusLab (color by atomic number).

La fonction du score a trouvé 99 poses possibles lors des calculs, la meilleure pose avait un ΔG très faible égale à -12,32 Kcal/mol. Les 10 meilleurs résultats sont montrés dans (figure 13).

		Pose 1: -12.32 kcal/mol
		Pose 2: -10.41 kcal/mol
		Pose 3: -10.41 kcal/mol
		Pose 4: -10.10 kcal/mol
		Pose 5: -10.06 kcal/mol
		Pose 6: -9.66 kcal/mol
		Pose 7: -9.65 kcal/mol
		Pose 8: -9.59 kcal/mol
		Pose 9: -9.56 kcal/mol
		Pose 10: -9.51 kcal/mol

Figure 13. Les meilleures poses du docking moléculaire par arguslab.

3. Analyse des interactions :

Discovery studio a été utilisé pour visualiser les interactions du delta-tocophérol et le site actif du bcl-2. Pour mieux visualisé les interactions du complexe la structure doit être en format des publications avec un fond blanc (figure 14).

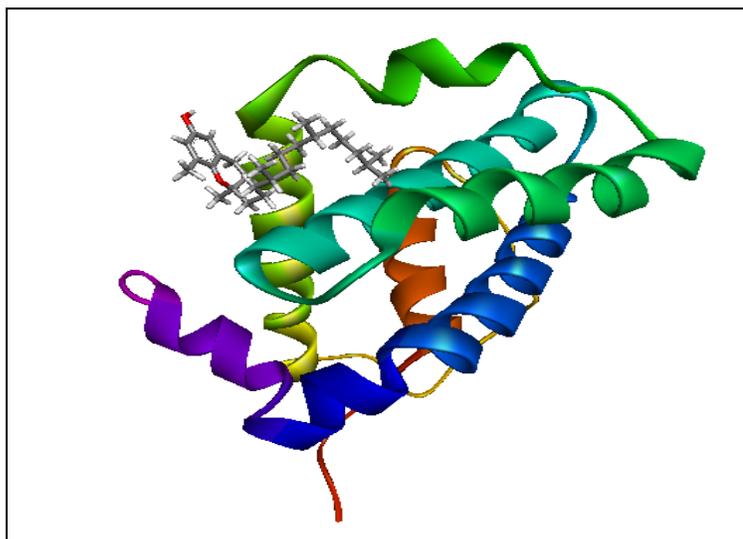


Figure 14. Structure 3D du complexe bcl2 et delta tocophérol (publication quality)

La reconstruction du ligand Delta-tocophérol par docking moléculaire avec « ArgusLab » montre 99 poses avec un meilleur score avec un ΔG égale à -12,32 Kcal/mol. Ce score résulte de la mise en place d'une liaison hydrogène lors de la formation de ce composé dans la cavité catalytique de l'enzyme. En Effet, les liaisons hydrogènes sont formée avec l'acide aminé TYR 105 avec une distance de 1,778491 Å, il est également important de noter que des nombreuses interactions : hydrophobiques (figure 17 et 18) tel que les Alkyl hydrophobique et Mixed pi/Alkyl hydrophobe sur les acides aminées PHE 150, PHE 10, PHE 101, PHE 101, PHE 101, TYR 105, TYR 105, TYR 105, VAL 145, ALA 146, ALA 146, ALA 146, LEU 134, avec des distance de 4,789844 Å, 5,322373 Å 5,001840 Å 4,914726 Å 4,197371 Å 4,454685 Å 3,972336 Å 4,137054 Å 5,499338 Å 5,013519 Å 4,544799 Å 3,702801 Å 5,162270 Å (Tableau 4).

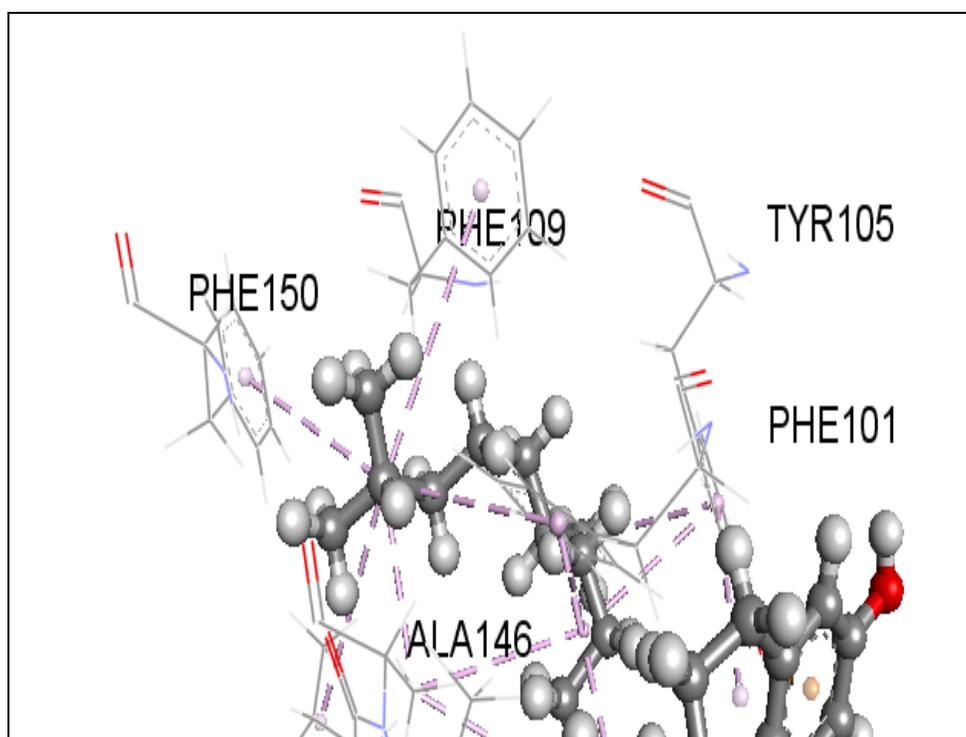


Figure 15. Structure 3D du complexe ligand – site actif avec les interactions favorables possibles.

Deux types d'interactions favorables sur notre complexe ont été trouvés :

2.1. Liaison hydrogène (non classique)

Sur l'acide aminé TYR 105 par une distance de 1,778491.

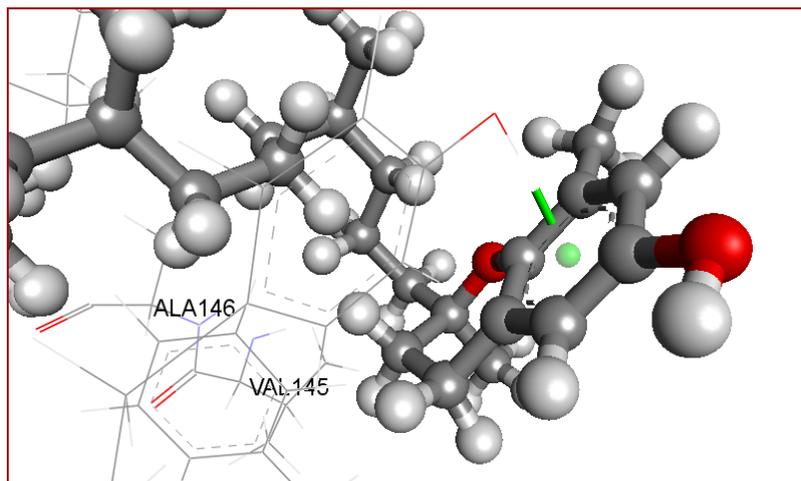


Figure 16. Liaison hydrogène non classique (en vert).

2.2. Liaison hydrophobe :

a. Liaison hydrophobe Alkyl (figure 17)

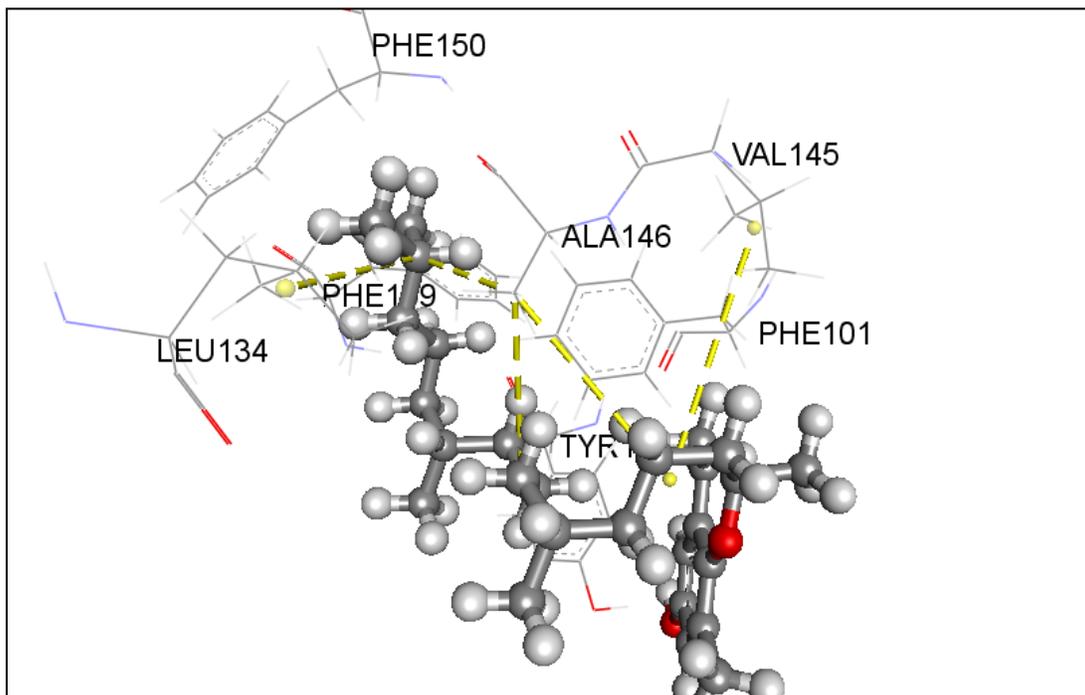


Figure 17. Liaison hydrophobe Alkyl (en vert).

b. Liaison hydrophobe mixed Pi / Alkyl (**figure 18**)

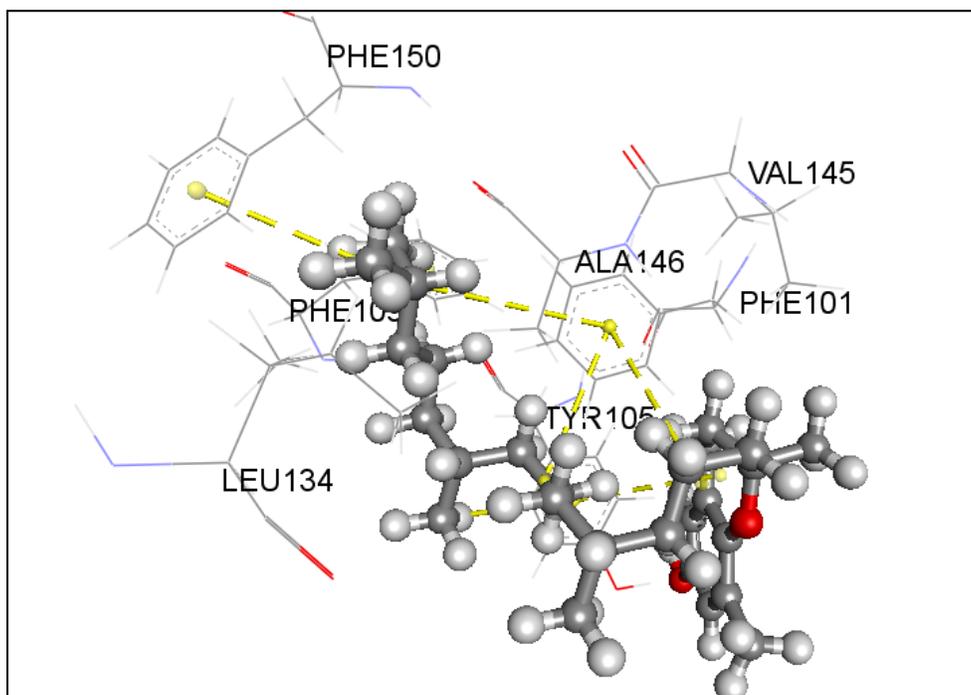


Figure 18. Liaison hydrophobe mixed Pi / Alkyl

Les informations détaillées des interactions et des liaisons de notre complexe ligand-site actif (types de liaison, acides aminés, distance) ont été résumées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 4. Liaisons hydrogènes et hydrophobes.

Liaisons hydrogènes		Liaison hydrophobe	
Acides aminées	Distance	Acides aminées	Distance
TYR 105	1,778491	PHE 150	4,789844
		PHE 109	5,322373
		PHE 101	5,001840
		PHE 101	4,914726

CHAPITRE III : RESULTAT

		PHE 101	4,197371
		TYR 105	4,454685
		TYR 105	3,972336
		TYR 105	4,137054
		VAL 145	5,499338
		ALA 146	5,013519
		ALA 146	4,544799
		ALA 146	3,702801
		LEU 134	5,162270

Conclusion

L'immunosurveillance permet de contrôler, détecter et éliminer les cellules tumorales. Malheureusement ces dernières peuvent échapper de cette surveillance et au mécanisme d'apoptose contrôlé par les cellules Bcl-2. D'autre part, plusieurs études ont été réalisées sur le delta tocophérol et sur son effet anti tumoral. Cependant, Le docking est une méthode qui prédit l'orientation d'une molécule par rapport à une autre pour avoir le complexe le plus stable. Il est fréquemment utilisé sur l'étude de la cible moléculaire des médicaments afin de réduire les essais expérimentaux.

L'étude du docking moléculaire de delta tocophérol avec la protéine anti-apoptotique bcl2 a révélé que les vitamines E et spécialement le delta tocophérol ont une bonne interaction dans une pose favorable avec la bcl2, ce qui s'explique par la faible énergie de liaison, une forte liaison hydrophobique et plusieurs interactions avec le site actif de la protéine de bcl2.

Notre étude de stimulation par docking moléculaire sur les interactions entre le delta tocophérol et la protéine bcl2 a suggéré que le delta tocophérol pourrait être utilisé comme agent thérapeutiques anticancéreuse.

Références :

Aguirre-Ghiso, J.A. (2007). Models, mechanisms and clinical evidence for cancer dormancy. *Nat Rev Cancer* 7, 834–846. <https://doi.org/10.1038/nrc2256>.

Arbel, N., and Shoshan-Barmatz, V. (2010). Voltage-dependent Anion Channel 1-based Peptides Interact with Bcl-2 to Prevent Antiapoptotic Activity. *Journal of Biological Chemistry* 285, 6053–6062. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.082990>.

Berman, H.M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T.N., Weissig, H., Shindyalov, I.N., and Bourne, P.E. (2000). The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Res* 28, 235–242. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>.

Borroni, E.M., and Grizzi, F. (2021). Cancer Immunoediting and beyond in 2021. *IJMS* 22, 13275. <https://doi.org/10.3390/ijms222413275>.

Bourgeois, C.F. (2003). *Les vitamines dans les industries agroalimentaires* (Paris Londres New York: Éd. Tec & doc).

Campbell, K.J., and Tait, S.W.G. (2018). Targeting BCL-2 regulated apoptosis in cancer. *Open Biol.* 8, 180002. <https://doi.org/10.1098/rsob.180002>.

Chan, S.-L., and Yu, V.C. (2004). PROTEINS OF THE BCL-2 FAMILY IN APOPTOSIS SIGNALLING: FROM MECHANISTIC INSIGHTS TO THERAPEUTIC OPPORTUNITIES. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 31, 119–128. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2004.03975.x>.

Chemical Entities of Biological Interest (ChEBI) Delta-tocopherol.

Chipuk, J.E., Moldoveanu, T., Llambi, F., Parsons, M.J., and Green, D.R. (2010). The BCL-2 family reunion. *Mol Cell* 37, 299–310. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.01.025>.

REFERENCES

- David Fumet, J., and Ghiringhelli, F. (2019). *L' immunoediting* enfin prouvé chez l'homme: La génétique au secours de l'immunothérapie. *Med Sci (Paris)* 35, 629–631. <https://doi.org/10.1051/medsci/2019125>.
- Dunn, G.P., Bruce, A.T., Ikeda, H., Old, L.J., and Schreiber, R.D. (2002). Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol* 3, 991–998. <https://doi.org/10.1038/ni1102-991>.
- Froesch, B.A., Aimé-Sempé, C., Leber, B., Andrews, D., and Reed, J.C. (1999). Inhibition of p53 Transcriptional Activity by Bcl-2 Requires Its Membrane-anchoring Domain. *Journal of Biological Chemistry* 274, 6469–6475. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.10.6469>.
- Guan, F., Li, G., Liu, A.B., Lee, M.-J., Yang, Z., Chen, Y.-K., Lin, Y., Shih, W., and Yang, C.S. (2012). δ - and γ -Tocopherols, but not α -Tocopherol, Inhibit Colon Carcinogenesis in Azoxymethane-Treated F344 Rats. *Cancer Prev Res* 5, 644–654. <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-11-0521>.
- Guiga, M.S. (2019). Vitamine E : métabolisme, rôle physiologique : intérêt et risques d'une supplémentation. *Sciences pharmaceutiques*.
- Hafezi, S., and Rahmani, M. (2021). Targeting BCL-2 in Cancer: Advances, Challenges, and Perspectives. *Cancers* 13, 1292. <https://doi.org/10.3390/cancers13061292>.
- Hanahan, D., and Weinberg, R.A. (2000). The Hallmarks of Cancer. *Cell* 100, 57–70. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81683-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81683-9).
- Jiang, L., Nick, A.M., and Sood, A.K. (2015). Fundamental Principles of Cancer Biology: Does It Have Relevance to the Perioperative Period? *Curr Anesthesiol Rep* 5, 250–256. <https://doi.org/10.1007/s40140-015-0122-9>.
- Jones, B. (2022). The therapeutic potential of GLP-1 receptor biased agonism. *British J Pharmacology* 179, 492–510. <https://doi.org/10.1111/bph.15497>.

REFERENCES

- Ju, J., Picinich, S.C., Yang, Z., Zhao, Y., Suh, N., Kong, A.-N., and Yang, C.S. (2010). Cancer-preventive activities of tocopherols and tocotrienols. *Carcinogenesis* *31*, 533–542. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgp205>.
- Lee, G., and Han, S. (2018). The Role of Vitamin E in Immunity. *Nutrients* *10*, 1614. <https://doi.org/10.3390/nu10111614>.
- Lee, H.J., Ju, J., Paul, S., So, J.-Y., DeCastro, A., Smolarek, A., Lee, M.-J., Yang, C.S., Newmark, H.L., and Suh, N. (2009). Mixed Tocopherols Prevent Mammary Tumorigenesis by Inhibiting Estrogen Action and Activating PPAR- γ . *Clin Cancer Res* *15*, 4242–4249. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-3028>.
- Lewis, E.D., Meydani, S.N., and Wu, D. (2019). Regulatory role of vitamin E in the immune system and inflammation. *IUBMB Life* *71*, 487–494. <https://doi.org/10.1002/iub.1976>.
- Li, G.-X., Lee, M.-J., Liu, A.B., Yang, Z., Lin, Y., Shih, W.J., and Yang, C.S. (2011). δ -Tocopherol Is More Active than α - or γ -Tocopherol in Inhibiting Lung Tumorigenesis *In Vivo*. *Cancer Prev Res* *4*, 404–413. <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-10-0130>.
- Lu, G., Xiao, H., Li, G.X., Picinich, S.C., Chen, Y.K., Liu, A., Lee, M.J., Loy, S., and Yang, C.S. (2010). A δ -tocopherol-rich mixture of tocopherols inhibits chemically induced lung tumorigenesis in A/J mice and xenograft tumor growth. *Carcinogenesis* *31*, 687–694. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgp332>.
- Mahabir, S., Schendel, K., Dong, Y.Q., Barrera, S.L., Spitz, M.R., and Forman, M.R. (2008). Dietary α -, β -, γ - and δ -tocopherols in lung cancer risk. *Int. J. Cancer* *123*, 1173–1180. <https://doi.org/10.1002/ijc.23649>.
- Martin, F. (2020). 1. Les grands principes de l'immunosurveillance antitumorale. In *Immunothérapie Des Cancers Au Troisième Millénaire*, (EDP Sciences), pp. 1–18.
- Massaad, C.A., Portier, B.P., and Tagliabatella, G. (2004). Inhibition of Transcription Factor Activity by Nuclear Compartment-associated Bcl-2. *Journal of Biological Chemistry* *279*, 54470–54478. <https://doi.org/10.1074/jbc.M407659200>.

REFERENCES

- Meydani, S.N., Lewis, E.D., and Wu, D. (2018). Perspective: Should Vitamin E Recommendations for Older Adults Be Increased? *Advances in Nutrition* 9, 533–543. <https://doi.org/10.1093/advances/nmy035>.
- Miller, E.J., and Lappin, S.L. (2022). Physiology, Cellular Receptor. In StatPearls, (Treasure Island (FL): StatPearls Publishing), p.
- Miller EJ, Lappin SL. Physiology, Cellular Receptor. [Updated 2022 Apr 28]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-.
- Mittal, D., Gubin, M.M., Schreiber, R.D., and Smyth, M.J. (2014). New insights into cancer immunoediting and its three component phases--elimination, equilibrium and escape. *Curr Opin Immunol* 27, 16–25. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2014.01.004>.
- Monaco, G., Decrock, E., Akl, H., Ponsaerts, R., Vervliet, T., Luyten, T., De Maeyer, M., Missiaen, L., Distelhorst, C.W., De Smedt, H., et al. (2012). Selective regulation of IP3-receptor-mediated Ca²⁺ signaling and apoptosis by the BH4 domain of Bcl-2 versus Bcl-XL. *Cell Death Differ* 19, 295–309. <https://doi.org/10.1038/cdd.2011.97>.
- National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 92094, delta-Tocopherol. Retrieved May 26, 2022 from delta-Tocopherol.
- Pagadala, N.S., Syed, K., and Tuszynski, J. (2017). Software for molecular docking: a review. *Biophys Rev* 9, 91–102. <https://doi.org/10.1007/s12551-016-0247-1>.
- Schinzel, A., Kaufmann, T., and Borner, C. (2004). Bcl-2 family members: intracellular targeting, membrane-insertion, and changes in subcellular localization. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* 1644, 95–105. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2003.09.006>.
- Shamas-Din, A., Kale, J., Leber, B., and Andrews, D.W. (2013). Mechanisms of action of Bcl-2 family proteins. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 5, a008714. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a008714>.
- Surai, P.F. Vitamin E. In: Surai P.F., Natural antioxidants in avian nutrition and reproduction. Nottingham University Press: Nottingham, (2002), 27-128.

REFERENCES

Tiwari, A., and Singh, S. (2022). Computational approaches in drug designing. In *Bioinformatics*, (Elsevier), pp. 207–217.

Trouillas P. Chapitre 4 - Modélisation Moléculaire et Biologie. Thèse de doctorat en biophysique. Université de Lille. France. 2009. 17p.

Upadhyay, A. (2021). Cancer: An unknown territory; rethinking before going ahead. *Genes & Diseases* 8, 655–661. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2020.09.002>.

Vogelstein, B., and Kinzler, K.W. (2004). Cancer genes and the pathways they control. *Nat Med* 10, 789–799. <https://doi.org/10.1038/nm1087>.

Wang, Z., Sun, H., Yao, X., Li, D., Xu, L., Li, Y., Tian, S., and Hou, T. (2016). Comprehensive evaluation of ten docking programs on a diverse set of protein–ligand complexes: the prediction accuracy of sampling power and scoring power. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 18, 12964–12975. <https://doi.org/10.1039/C6CP01555G>.

Yang, C.S., Suh, N., and Kong, A.-N.T. (2012). Does Vitamin E Prevent or Promote Cancer?: Figure 1. *Cancer Prev Res* 5, 701–705. <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-12-0045>.

Yip, K.W., and Reed, J.C. (2008). Bcl-2 family proteins and cancer. *Oncogene* 27, 6398–6406. <https://doi.org/10.1038/onc.2008.307>.

National Institutes of Health (US); Biological Sciences Curriculum Study. NIH Curriculum Supplement Series [Internet]. Bethesda (MD): National Institutes of Health (US); 2007. Understanding Cancer. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK20362/>.