

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

جامعة أبي بكر بلقايد - تلمسان

**Université Aboubakr Belkaïd – Tlemcen –**

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie,**

**et des Sciences de la Terre et de l'Univers**

**Département de Biologie**



## **MEMOIRE**

Présenté Par : **BOUHAMIDI Meroua**

En vue de l'obtention du diplôme de **MASTER**

En Sciences Biologiques

Option : **Biochimie**

### **Thème**

**Recherche *in silico* de nouveaux inhibiteurs de l'angiogenèse tumorale  
à partir de dérivés naturels**

Soutenu le 25-06-2023 devant le jury :

**Président** : Mme Sari Lamia

Professeur

UABT

**Examineur** : Mr Cherrak Ahmed Sabri

Maître de conférence A

UABT

**Encadrant** : Mme Benmansour Meriem

Maître de conférences B

UABT

Année universitaire : 2022/2023



# Remerciements

Avant tout, mes remerciements infinis sont adressés à « **Dieu le Tout Puissant** », de m'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.

Je tiens à remercier mon encadreur **Mme. BENMANSOUR MERIEM** qui m'a aidé par ses orientations et ses précieux conseils, et qui m'a toujours consacré son temps malgré ses occupations.

Je tiens à exprimer également toute ma reconnaissance à **Mr. CHERRAK Sabri** pour m'avoir guidé durant la réalisation du travail avec une disponibilité permanente et de m'avoir fait bénéficier de ses connaissances dans le domaine de docking moléculaire et d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je tiens à remercier **Mme SARI LAMIA** Pour m'avoir fait l'honneur d'examiner ce travail. Veuillez accepter chère maitre l'expression de toute mes reconnaissances et mon plus grand respect.

Mes remerciements s'adressent aussi à tous mes enseignants du département de Biologie à la faculté des sciences de la Nature et de la Vie, des sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou-Bakr Belkaid Tlemcen.





## *Dédicace*

*Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance, c'est tout simplement que : Ce modeste travail est dédié*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous, rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être, ce travail et le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation le long de ces années,*

***Mon plus cher papa BOUHAMIDI  
Abdelhafid.***

*A celle qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études. J'espère qu'elle apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part d'une fille qui a toujours prié pour le salut de son âme. Puisse Dieu, le tout puissant, la protège,*

***Ma très chère mère ZAR Yamna.***

*Que dieu les protèges et les gardes pour moi.*

*A mes très chères sœurs : Wided, Insaf et Douaa. Vos sacrifices, vos soutiens moraux et m'ont permis de réussir mes études.*

***A mes chers frères : Oussama, Islam et Walid***

***A mes chers amis : Adel et Warda***

***A mes copines : Amel, Oumaima, Manel, Yousra, Rahma et Dellel***

*A tous les membres de ma promotion (2018/2023). Depuis la première année d'études, a tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer. Cette humble dédicace ne saurait exprimer mon grand respect et ma profonde estime, que dieu vous procure bonne santé et longue vie.*

## Résumé

L'angiogenèse tumorale est le processus de formation de nouveaux vaisseaux sanguins dans les tumeurs, elle joue un rôle crucial dans la croissance de celles-ci car elle permet d'apporter les nutriments et l'oxygène nécessaires à leur survie et à leur prolifération. Cependant, des progrès significatifs ont été réalisés dans le domaine de la thérapie anti-angiogénique. Cette approche thérapeutique vise à inhiber sélectivement l'angiogenèse tumorale en ciblant des molécules clés telles que le récepteur du facteur de croissance endothélial vasculaire 2 (VEGFR2) en limitant l'apport de nutriments et d'oxygène vers la tumeur, ralentissant ainsi sa croissance et réduisant ses capacités métastatiques. Ce travail a pour objectif de rechercher *in silico* de nouveaux inhibiteurs du VEGFR2 à partir de substances naturelles. Pour cela nous avons réalisé un docking moléculaire à l'aide des logiciels Pyrx et AutoDock Vina sous Chimera 1.15 avec 50 analogues de la curcumine. Les résultats obtenus, suivis d'une analyse des propriétés pharmacologiques par Swiss ADME, ont permis de prédire les composés 2,6-Bis(4-hydroxybenzylidene) cyclohexanone, Bisdemethoxycurcumin isoxazole et 3,5-Bis(2-fluorobenzylidene) -4-piperidone avec des scores égaux à -10,1, -10,1 et -9,8 kcal/mole respectivement comme des puissants inhibiteurs biodisponibles par voie orale.

**Mots clés :** Angiogenèse tumorale, inhibiteur, VEGFR2, curcumine, docking moléculaire.

## **Abstract**

Tumor angiogenesis is the process by which new blood vessels form in tumors, and plays a crucial role in tumor growth by providing the nutrients and oxygen required for tumor survival and proliferation. However, significant progress has been made in the field of anti-angiogenic therapy. This therapeutic approach aims to selectively inhibit tumor angiogenesis by targeting key molecules such as the vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR2), there by limiting the supply of nutrients and oxygen to the tumor, slowing its growth and reducing its metastatic capacity. The aim of this project is to search in silico for new VEGFR2 inhibitors based on natural substances. To this end, we carried out molecular docking using Pyrx and AutoDock Vina under Chimera 1.15 with 50 curcumin analogues. The results obtained, followed by an analysis of pharmacological properties by Swiss ADME, enabled us to predict the compounds 2,6-Bis(4-hydroxybenzylidene) cyclohexanone, Bisdemethoxycurcumin isoxazole and 3, 5-Bis(2-fluorobenzylidene) -4-piperidone with scores equal to -10.1, -10.1 and -9.8 kcal/mol respectively as potent orally bioavailable inhibitors.

**Keywords :** Tumor angiogenesis, inhibitor, VEGFR2, curcumin, Molecular docking.

## ملخص

تكون الأوعية الدموية للورم هي عملية تكوين أوعية دموية جديدة في الأورام، فهي تلعب دورًا حاسمًا في نمو الأورام لأنها توفر العناصر الغذائية والأكسجين الضروريين لبقائها وانتشارها. مع ذلك، فقد تم إحراز تقدم كبير في مجال العلاج المضاد لتولد الأوعية. يهدف هذا النهج العلاجي إلى تثبيط تكوين الأوعية الورمية بشكل انتقائي عن طريق استهداف الجزيئات الرئيسية مثل مستقبل عامل النمو البطاني الوعائي 2 (VEGFR2) عن طريق الحد من إمداد الورم بالمغذيات والأكسجين، وبالتالي إبطاء نموه وتقليل قدرته النقلية. يهدف هذا العمل إلى البحث في السيليكو عن مثبطات VEGFR2 جديدة من المواد الطبيعية. لهذا أجرينا الالتحام الجزيئي باستخدام برنامج Pyrx و UCSF Chimera 1.15 مع 50 نظيرًا من الكركمين. أتاحت النتائج التي تم الحصول عليها واتبعتها تحليل للخصائص الدوائية من قبل Swiss ADME التنبؤ بالمركبات Bis (4-hydroxybenzylidene) cyclohexanone-2,6 و Bisdemethoxycurcumin isoxazole و Bis (2-fluorobenzylidene) - 4-3,5 و -10.1، -10.1، و -9.8 كيلو كالوري / مول على التوالي كمثبطات قوية متاحة بيولوجيًا عن طريق الفم.

# Table des matières

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Table des matières	
Introduction générale.....	1
PartieI:Synthèse bibliographique	
Chapitre I L'angiogenèse	
1 Angiogenèse physiologique .....	3
1.1 Généralité.....	3
2 Switch angiogénique.....	4
3 Angiogenèse tumorale .....	5
3.1 Déclencheurs de l'angiogenèse tumorale .....	6
3.2 Mécanisme de l'angiogenèse tumorale.....	7
4 Principaux acteurs de l'angiogenèse : Système VEGF/VEGFR.....	8
4.1 Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire VEGF .....	8
4.2 Récepteur du facteur de croissance endothélial vasculaire VEGFR .....	9
4.2.1 Structure et caractéristique du récepteur VEGFR2 .....	10
4.2.2 Mécanisme d'activation du VEGFR2 .....	11
5 Voies de signalisation du VEGFR2 .....	12
□ La voie PI3K/AKT .....	12
□ La voie PLC- $\gamma$ .....	12
□ La voie MAP/ERK .....	13
6 Inhibition de l'angiogenèse tumorale et système VEGF/VEGFR2 .....	14
6.1 Thérapie anti-angiogénique : agent cible l'axe VEGF/VEGFR.....	15
6.1.1 Stratégie anti VEGF .....	15
6.1.2 Stratégie anti VEGFR.....	16
6.2 Limites du traitements anti-angiogéniques et perspectives .....	17
7 Substance naturelle ciblant le VEGFR2 .....	17
PartieII : Partie expérimentale	
Chapitre II: Matériel et méthodes	
1 Matériel.....	20
1.1 Micro-ordinateur.....	20

1.2	Banques de données.....	20
□	PDB (Protein Data Bank) :.....	20
□	Pubchem .....	21
2	Logiciels.....	21
□	PyRx .....	21
□	UCSF Chimera .....	22
□	Autodock vina .....	23
□	Discovery Studio Visualizer.....	23
□	Swiss ADME.....	24
3	Méthodes.....	25
3.1	Préparation de la protéine cible pour l'amarrage.....	25
3.2	Préparation des ligands .....	26
3.3	Docking moléculaire.....	26
3.4	Analyse et visualisation .....	26
3.5	Propriétés pharmacologiques.....	26
Chapitre III: Résultats et discussion		
1	Résultats de docking moléculaire .....	28
2	Etude des interactions moléculaires.....	29
2.1	Diagramme 2D .....	31
3	Evaluation des propriétés pharmacologiques.....	39
3.1	Propriétés physico-chimiques.....	40
3.2	Propriétés pharmacocinétiques .....	43
Conclusion.....		44
Références bibliographiques		
Annexes		

## Liste des abréviations

<b>ADME</b>	Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion
<b>AKT/PKB</b>	Protéine kinase B
<b>Ang</b>	Angiopoïétines
<b>Bcl-2</b>	B-cell lymphoma 2
<b>DAG</b>	Diacylglycérol
<b>DSV</b>	Discovery Studio Visualizer
<b>eNOS</b>	Endothélial Nitric Oxide Synthase
<b>ERK</b>	Extracellular signal-regulated kinase
<b>FDA</b>	Food and Drugs Administration.
<b>FGF</b>	Facteur de croissance des fibroblastes
<b>GI</b>	Absorption gastro-intestinale
<b>Grb2</b>	Growth factor receptor bound protein 2
<b>HAEC</b>	Cellules endothéliales aortiques humaines
<b>HGF</b>	Facteur de croissance des hépatocytes
<b>HIF</b>	Facteur inductible par l'hypoxie
<b>HUVEC</b>	Cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine
<b>IGF</b>	Facteur de croissance analogue à l'insuline
<b>IP3</b>	Inositol trisphosphate
<b>MAPK</b>	Mitogen-Activated Proteine Kinase
<b>mTOR</b>	mammalian target of rapamycin
<b>PDB</b>	Protein Data Bank
<b>PDGF</b>	Facteur de croissance dérivé des plaquettes
<b>PF4</b>	Facteur plaquettaire 4
<b>PI3K</b>	Phosphatidylinositol-3 kinase
<b>PIGF</b>	Facteur de croissance placentaire
<b>PIP2</b>	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate
<b>PIP3</b>	Phosphatidylinositol (3,4,5)-trisphosphate
<b>PKC</b>	Protéine kinase C
<b>PLC</b>	Phospholipase C

<b>PM</b>	Poids moléculaire
<b>PTB</b>	Phosphotyrosine-binding domaine
<b>Raf</b>	Rapidly accelerated fibrosarcoma
<b>RAM</b>	Random Access Memory.
<b>SH2</b>	Src Homologie 2
<b>Sos</b>	Son of sevenless
<b>UCSF</b>	University of California, San Fransisco
<b>VEGF</b>	Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire
<b>VEGFR</b>	Vascular Endothelial Growth Factor receptor
<b><math>\Delta G</math></b>	variation en énergie libre de Gibbs

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Les étapes de formation du réseau vasculaire (vasculogenèse et angiogenèse). .....	3
<b>Figure 2:</b> Le phénomène de Switch angiogénique. ....	5
<b>Figure 3:</b> Le développement de la tumeur.....	6
<b>Figure 4:</b> Structure du VEGF. Le monomère 1 est représenté en bleu et le monomère 2 en rouge. Une des deux régions en nœud à cystéine est cerclée en jaune. ....	8
<b>Figure 5:</b> Spécificité de liaison des différents membres de la famille des VEGFs sur les trois récepteurs et l'effets de ces récepteurs. ....	9
<b>Figure 6:</b> Structure schématique d'un monomère de VEGFR2. ....	10
<b>Figure 7:</b> Domaine tyrosine kinase du VEGFR2. ....	11
<b>Figure 8:</b> Mécanisme d'activation des VEGFR2. ....	12
<b>Figure 9:</b> Les voies de signalisation induit par le VEGFR2.....	14
<b>Figure 10:</b> Principales approches anti-angiogénique ciblant l'axe VEGF/VEGFR.....	15
<b>Figure 11:</b> Les inhibiteurs du VEGF et de ces récepteurs .....	16
<b>Figure 12:</b> Structures chimiques des curcuminoïdes (curcumine, Curc ; déméthoxycurcumine, DMC ; BisDMC, bisdéméthoxycurcumine).....	18
<b>Figure 13:</b> Interface graphique de la base de données PDB (mois d'Avril 2023). ....	20
<b>Figure 14:</b> Interface graphique de la base de données PubChem.....	21
<b>Figure 15:</b> Interface graphique de PyRx .....	22
<b>Figure 16:</b> Interface graphique de UCSF Chimera .....	22
<b>Figure 17:</b> L'interface d'accès à l'AutoDock vina sous UCSF Chimera.....	23
<b>Figure 18:</b> Interface graphique de logiciel Discovery Studio Visualizer .....	24
<b>Figure 19:</b> Interface graphique de l'outil web Swiss ADME. ....	24
<b>Figure 20:</b> Interface graphique de la boîte DOCK Prep apparait dans UCSF Chimera.....	25
<b>Figure 21:</b> Représentation d'interaction entre L'axitinib et le site actif du VEGFR2 par UCSF Chimera (A) et les interactions par DSV (B). ....	31
<b>Figure 22:</b> Représentation d'interaction entre Disalicyloyl curcumin et le site actif du VEGFR2 par UCSF Chimera (A) et les interactions par DSV (B). ....	32
<b>Figure 23:</b> Représentation des interactions entre Curcumin glucuronid et le site actif du VEGFR2 par UCSF Chimera (A) et les interactions par DSV (B). ....	33
<b>Figure 24:</b> Représentation des interactions entre Curcumin 4'-O-beta-D-gentiobioside et le site actif du VEGFR2 par UCSF Chimera (A) et les interactions par DSV (B). ....	34

<b>Figure 25:</b> Représentation des interactions entre 2,6-Bis(4-hydroxybenzylidene) cyclohexanone et le site actif du VEGFR2 par UCSF Chimera (A) et les interactions par DSV (B).....	35
<b>Figure 26:</b> Représentation des interactions entre Perfluoro curcumine et le site actif du VEGFR2 par UCSF Chimera (A) et les interactions par DSV (B).....	36
<b>Figure 27:</b> Représentation des interactions entre Bisdemethoxycurcumin isoxazole et le site actif du VEGFR2 par UCSF Chimera (A) et les interactions par DSV (B).....	37
<b>Figure 28:</b> Représentation des interactions entre 3,5-Bis(2-fluorobenzylidene).....	38
<b>Figure 29:</b> Radar De Biodisponibilité de Disalicyloyl curcumin, Curcumin glucuronid ,Curcumin 4'-O-beta-D gentiobioside et Perfluoro curcumine .....	41
<b>Figure 30:</b> Radar de biodisponibilité de 2,6-Bis(4-hydroxybenzylidene).....	42
<b>Figure 31:</b> Radar de biodisponibilité de Bisdemethoxycurcumin isoxazole.....	42
<b>Figure 32:</b> Radar de biodisponibilité de 3,5-Bis(2-fluorobenzylidene) -4-piperidone .....	43

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Les données PDB de la protéine cible. ....	25
<b>Tableau 2:</b> Résultats de docking moléculaire pour les sept meilleurs analogues de la curcumine et le médicament de référence 29	
<b>Tableau 3:</b> Résultats d' interactions des sept meilleurs inhibiteurs avec le site actif du VEGFR2.....	30
<b>Tableau 4:</b> Profil ADMET des 7 meilleurs inhibiteurs obtenus par le serveur Swiss ADME. .....	40

# **Introduction générale**

Le cancer continue à être une maladie extrêmement difficile à traiter et potentiellement mortelle. Dans le monde entier, il a été prouvé que le cancer est une cause majeure de décès après les maladies cardiovasculaires (**Jemal *et al.*, 2008; Twombly, 2005**). Il est caractérisé par une croissance et une multiplication incontrôlée des cellules dans le corps, pouvant affecter différents organes et tissus à différents stades (**Shahik *et al.*, 2021**). L'angiogenèse est considérée comme l'une des caractéristiques clés du cancer, jouant un rôle essentiel dans la croissance et la progression tumorale (**Hanahan et Weinberg, 2000**).

L'angiogenèse est le processus impliquée dans la formation de nouveaux vaisseaux sanguins à partir d'autres préexistants, impliquée dans divers processus physiologiques du corps humain (**Li *et al.*, 2014; Yoo et Kwon, 2013**). Cependant, une croissance incontrôlée des vaisseaux sanguins contribue à des maladies telles que le cancer, les métastases, les troubles inflammatoires et les maladies oculaires (**Li *et al.*, 2014; Potente *et al.*, 2011**). Ainsi, l'angiogenèse représente une étape cruciale dans la croissance, la progression et la dissémination des tumeurs, permettant à la tumeur en croissance de recevoir l'oxygène et les nutriments nécessaires à sa survie. Ce processus angiogénique implique l'activation, la prolifération et la migration des cellules endothéliales en réponse à des stimuli angiogéniques produits par la tumeur elle-même (**Pratheeshkumar *et al.*, 2012**). L'inhibition de l'angiogenèse est donc une stratégie courante pour traiter la progression du cancer et d'autres maladies associées à l'angiogenèse (**Simon *et al.*, 2017**).

Compte tenu du processus compliqué de l'angiogenèse qui est médiée par un grand nombre de molécules, il est à noter que le facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF), régule ce processus de manière prédominante car il stimule l'angiogenèse en signalant via les récepteurs du facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGFR) (**Li *et al.*, 2014**). Le récepteur 2 du facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGFR-2) est le principal récepteur qui régule la fonction angiogénique. Ainsi, la découverte de médicaments ciblant VEGFR-2 avec une activité anti-angiogénique potentielle est d'un grand intérêt dans la recherche anticancéreuse. Malgré le fait que plusieurs inhibiteurs du VEGFR-2 ont déjà été découverts, la résistance endogène et acquise et le large éventail d'effets secondaires des composés médicamenteux existants restent des problèmes critiques (**Al-Sanea *et al.*, 2021**).

Cependant, l'utilisation des composés naturels, tels que les composés phytochimiques, pour prévenir l'angiogenèse est une méthode abordable et présentant moins d'effets secondaires indésirables par rapport aux médicaments. De nombreux composés (poly) phénoliques se trouvent couramment dans les aliments d'origine végétale, tel que la curcumine qui a reçu une

attention scientifique considérable pour son potentiel préventif et thérapeutique dans la cancérogenèse (**Giménez-Bastida *et al.*, 2022**).

Avec l'avancée des outils informatiques, la modélisation moléculaire et le docking moléculaire ont rapidement révolutionné la recherche en biologie, pharmacologie et en médecine (**Sethi *et al.*, 2019**). Celui-ci est définie comme l'étude *in silico* des différentes modes d'interactions qui se produisent lorsque plusieurs structures moléculaires s'assemblent, offrant ainsi une mise en œuvre considérablement plus simple, économique et rapide que l'utilisation des méthodes expérimentales *in vitro* (**Lengauer et Rarey, 1996**).

L'objectif de notre travail est de contribuer à la recherche de nouveaux inhibiteurs de l'angiogenèse tumoral à partir de substance naturelle en utilisant les méthodes d'amarrage moléculaire. Ces dernières consistent à rechercher *in silico* le mode d'interaction le plus favorable entre une protéine cible et son ligand afin de sélectionner les structures potentiellement actives sur la protéine cible.

Ce manuscrit commence par une introduction, suivi de deux parties :

La première partie est une étude bibliographique, réalisée en un seul chapitre qui donne un aperçu sur l'angiogenèse avec ses principaux acteurs et le système VEGF/VEGFR.

La deuxième partie expérimentale, se divise en deux chapitres. Le premier chapitre décrit en détail le matériel utilisé ainsi que les méthodes bio-informatiques appliquées dans le cadre de cette recherche. Le deuxième chapitre présente les résultats obtenus à partir des différentes expériences réalisées, accompagnés d'une discussion.

Enfin, cette étude se termine par une conclusion générale.

# **Partie I**

## **Partie bibliographique**

# **Chapitre I**

## **L'angiogenèse**

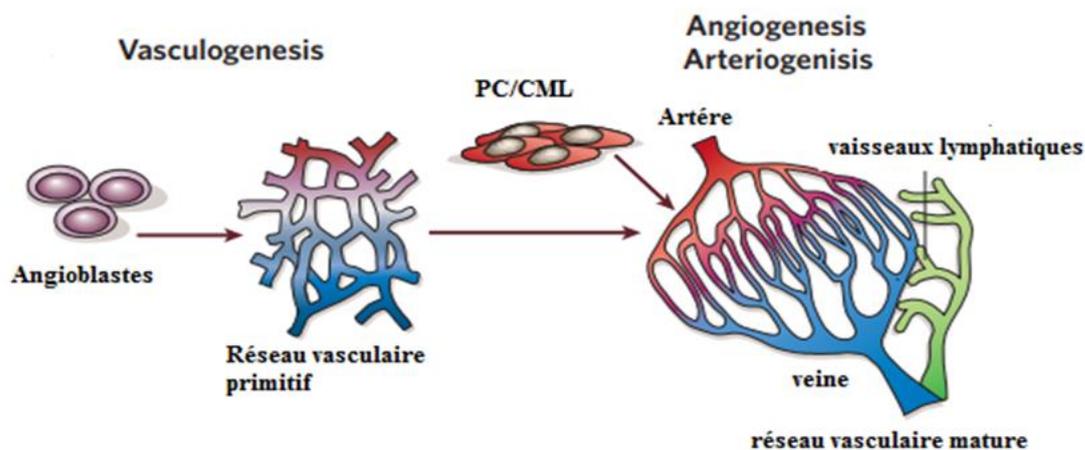
## 1 Angiogenèse physiologique

### 1.1 Généralité

L'angiogenèse (du grec "*angeion*" qui signifie vaisseau, et "*genesis*" qui signifie formation) est un processus de néo-vascularisation à partir d'un réseau vasculaire préexistant. Il s'agit avant tout d'un phénomène physiologique essentiel à de nombreux processus biologiques (Carmeliet, 2005; Mirabelli, 2019).

La formation du réseau vasculaire se déroule en deux étapes distinctes : L'étape de la vasculogenèse, qui permet la formation d'un réseau primitif à partir de cellules progénitrices endothéliales (angioblastes). Ce phénomène est limité aux stades précoces du développement vasculaire.

L'étape de l'angiogenèse, proprement dite qui permet de créer de nouveaux vaisseaux sanguins et donc d'étendre le réseau vasculaire. L'expansion de ce réseau mature se produit par division, élongation, bourgeonnement et remodelage des vaisseaux existants (Figure 1) (Carmeliet, 2000; Swift et Weinstein, 2009).



**Figure 1:** Les étapes de formation du réseau vasculaire (vasculogenèse et angiogenèse) (Carmeliet, 2005).

Le processus d'angiogenèse survient principalement dans le développement embryonnaire et fœtal, il peut également survenir chez l'adulte, dans le cadre d'adaptations physiologiques, tels que la croissance musculaire, la régénération des muqueuses des organes, la cicatrisation des plaies, le cycle menstruel à travers la croissance de l'endomètre et la croissance du placenta (Mirabelli, 2019).

Le déclenchement de l'angiogenèse exige un changement du phénotype des cellules endothéliales sous l'effet d'une stimulation, qui peut-être physiologique comme l'hypoxie, ou inflammatoire due à une lésion ou infection, ou encore associée à la présence d'une tumeur invasive (**Djonov *et al.*, 2003**).

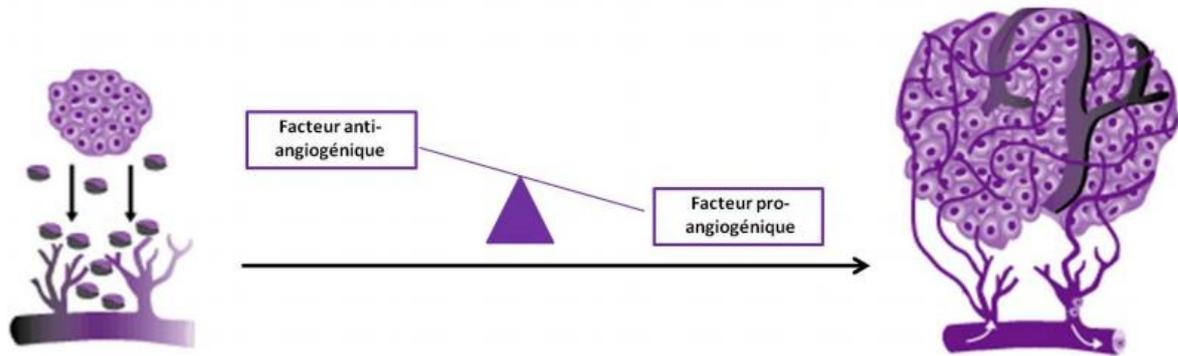
La croissance, l'expansion et le remodelage du plexus vasculaire primaire en un réseau vasculaire mature s'effectuent par deux types de processus d'angiogenèse : angiogenèse bourgeonnante et angiogenèse par intussusception (**Carmeliet et Jain, 2011**). L'angiogenèse bourgeonnante est le phénomène le plus retrouvé en situation pathologique et le mieux caractérisé, il s'effectue grâce à la succession de plusieurs étapes sous la dépendance de facteurs pro et anti-angiogéniques. Les cellules endothéliales sont les principaux acteurs de ce processus qui sortent de leur état de quiescence, se divisent et se mobilisent pour créer un bourgeonnement endothélial qui donnera naissance à un nouveau vaisseau (**Leite de Oliveira *et al.*, 2011**). Contrairement à la précédente dans l'angiogenèse par intussusception les cellules endothéliales n'ont pas besoin d'une prolifération significative mais plutôt une réorganisation des structures préformées. L'intussusception est un processus angiogénique dans lequel un vaisseau sanguin quiescent est divisé en deux vaisseaux par compartimentation (**Patan *et al.*, 1996**).

## 2 Switch angiogénique

L'angiogenèse est finement régie par un équilibre complexe entre différents facteurs pro-angiogéniques favorisant la formation de nouveaux vaisseaux et des facteurs anti-angiogéniques qui inhibent cette formation. C'est le rapport entre les deux types de signaux qui régit le système (**Bergers et Benjamin, 2003; Distler *et al.*, 2003**).

Le switch angiogénique est un phénomène caractérisé par une perturbation de l'équilibre entre le facteur pro et anti-angiogénique, ainsi à la formation de néo vaisseaux nécessaires au développement de la tumeur et à la dissémination métastatique (**Bergers et Benjamin, 2003**).

A l'état physiologique, les facteurs pro et anti-angiogéniques sont en équilibre naturellement au cours de la vie adulte ainsi le réseau vasculaire est maintenu dans un état de quiescence. Le switch angiogénique est donc en position « Off ». Au sein de la tumeur, il y a un déséquilibre dû à la sécrétion des facteurs pro angiogéniques ce qui conduit à l'initiation de l'angiogenèse. Le switch angiogénique est donc en position « ON » (**Figure 2**) (**Bergers et Benjamin, 2003; Carmeliet et Jain, 2000**).



**Figure 2:** Le phénomène de Switch angiogénique (Reille-Seroussi, 2014).

De nombreuses molécules sont dites pro-angiogéniques car elles agissent directement ou indirectement sur la prolifération et la différenciation des cellules endothéliales (Gacche et Meshram, 2014). Par conséquent, le mécanisme de l'angiogenèse est principalement modulé par des stimuli chimiques, tels que le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF), le facteur de croissance des fibroblastes (FGF), le facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF), les angiopoïétines (Ang), le facteur de croissance des hépatocytes (HGF), le facteur inductible par l'hypoxie (HIF), le facteur de croissance analogue à l'insuline (IGF)...Etc (Toleanu *et al.*, 2019). Par ailleurs, il existe un ensemble de molécules endogènes à activité anti-angiogénique qui agissent en perturbant la formation des vaisseaux sanguins ou en favorisant l'élimination des vaisseaux existants. Ces molécules sont issues principalement de la dégradation de la membrane basale par diverses protéases. D'autres sont sécrétées par les cellules endothéliales ou le microenvironnement et affectent la prolifération et la migration des cellules endothéliales (Distler *et al.*, 2003; Teleanu *et al.*, 2019). Parmi ces molécules on distingue l'angiostatine, l'endostatine, le facteur plaquettaire 4 (PF4), la thrombospondine-1 et 2, l'interleukine-12, la tumstatine, l'ostéopontine...Etc (Pandya *et al.*, 2006).

### 3 Angiogenèse tumorale

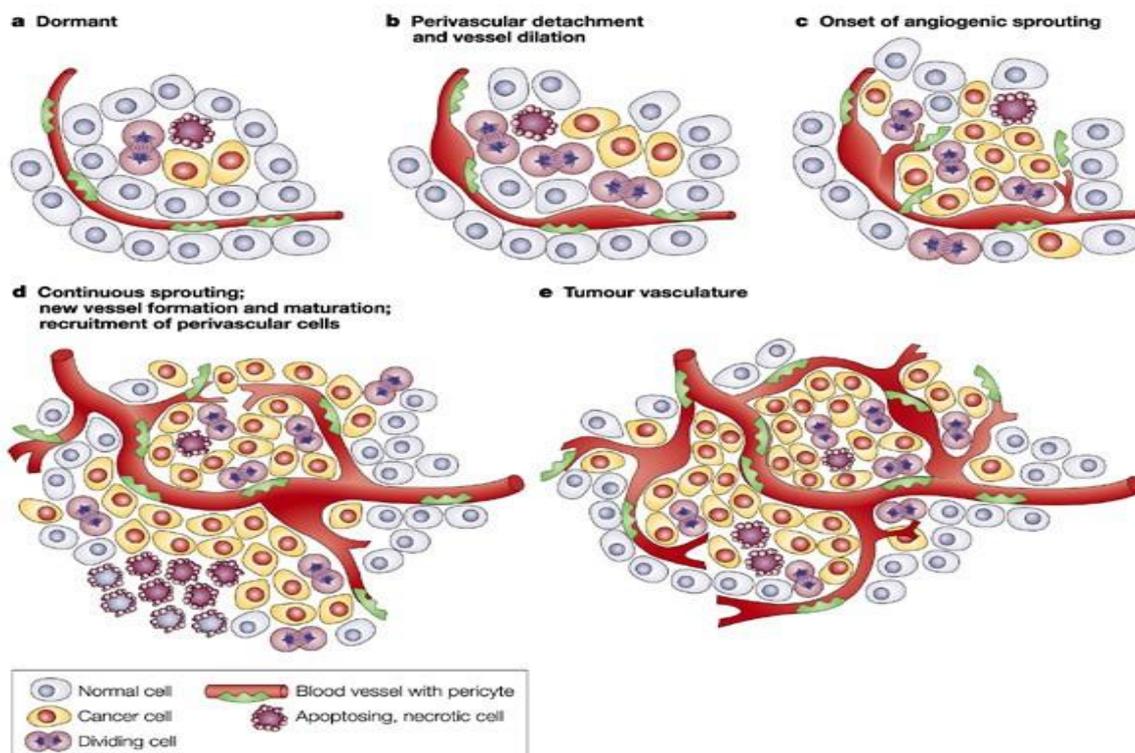
La formation de nouveaux vaisseaux sanguins dans les tumeurs, connue sous le nom d'angiogenèse tumorale, est un processus complexe qui implique une interaction entre la tumeur et le réseau vasculaire existant. L'objectif de cette interaction est de créer de nouveaux vaisseaux sanguins, essentiels à la croissance tumorale et à la formation de métastases (Kerbel, 2000).

Le développement et la croissance des cellules tumorales se déroule en deux phases :

La première phase « pré-invasive » dans laquelle les cellules tumorales entament leurs croissances dans un environnement avasculaire, les tumeurs peuvent absorber suffisamment de nutriments et d'oxygène par simple diffusion passive jusqu'à une taille de 1 à 2 millimètre de

diamètre puis elles atteignent un état de dormance qui se caractérise par un équilibre entre prolifération et apoptose (ou nécrose) (Papetti et Herman, 2002).

La deuxième phase « invasive » où il y a une vascularisation massive des tumeurs. Dans ce cas la tumeur grossit au-delà des limites de diffusion simple d'oxygène ce qui génère un état hypoxie intra tumorale et donc le passage des cellules cancéreuses de leur état de dormance vers un état plus invasif et métastatique appelé transition angiogénique « ou switch angiogénique » (Figure 3) (Hanahan et Folkman, 1996).



**Figure 3:** Le développement de la tumeur (Bergers et Benjamin, 2003).

*Développement de la tumeur sous forme d'un nodule avasculaire (a). Le déclenchement de switch angiogénique, le détachement des cellules murales et la dilatation des vaisseaux préexistants (b). Bourgeonnement de nouveaux vaisseaux (c). Développement et croissance de la tumeur (d). Tumeur vascularisée (e).*

### 3.1 Déclencheurs de l'angiogenèse tumorale

Plusieurs facteurs peuvent déclencher la transition vers l'angiogenèse. Ces facteurs peuvent être d'origine génétique, tels que des mutations qui activent des oncogènes ou désactivent des anti-oncogènes. Par exemple, la protéine anti-apoptotique Bcl2 qui peut stimuler l'expression de VEGF, joue un rôle important dans l'angiogenèse (Fernandez *et al.*, 2000). Le gène suppresseur de tumeur p53 peut également influencer la commutation angiogénique en

modulant les effets du facteur HIF-1 $\alpha$  ainsi les cellules tumorales qui ont une mutation du gène p53 peuvent donc produire des niveaux élevés de facteurs de croissance pro-angiogéniques (**Zhang *et al.*, 2000**). En plus de ces modifications génétiques, les stress métaboliques tels que l'hypoxie, l'hypoglycémie, l'acidification du milieu et les stress mécaniques, ainsi qu'une réponse immunitaire et inflammatoire peuvent également contribuer à l'initiation de l'angiogenèse (**Carmeliet, 2000**).

L'hypoxie est un élément clé dans la stimulation de l'angiogenèse, étant donné que les cellules cancéreuses ont besoin d'une quantité suffisante d'oxygène et de nutriments pour leur croissance, comme toutes les cellules. Cependant, lorsque la tumeur atteint un certain stade de développement, certaines cellules tumorales se trouvent à une distance excessive des vaisseaux sanguins, ce qui empêche l'apport d'oxygène et de nutriments par simple diffusion passive (la limite de diffusion étant de 100 à 200  $\mu$ M). Ces cellules se retrouvent donc en état d'hypoxie, libérant des facteurs pro-angiogéniques qui induisent le phénomène d'angiogenèse tel que VEGF (**Carmeliet et Jain, 2000**).

### 3.2 Mécanisme de l'angiogenèse tumorale

Le VEGF, produit principalement par les cellules cancéreuses, se lie à des récepteurs notamment VEGFR-1 et VEGFR-2 situés sur les cellules endothéliales et les précurseurs hématopoïétiques, pour déclencher une cascade de signalisation impliquant différentes voies intracellulaires. L'activation de ces différentes voies conduit à la production de métalloprotéases qui dégradent la matrice extracellulaire et permettent aux cellules endothéliales de devenir actives, de migrer et de proliférer dans les tissus avoisinants pour créer de nouveaux vaisseaux sanguins dans la tumeur (**Clou et Luque, 2022**).

Les vaisseaux qui se forment lors de l'angiogenèse tumorale présentent des différences structurelles et fonctionnelles par rapport aux vaisseaux normaux (**Carmeliet et Jain, 2000**). Contrairement à ces derniers, ils ne présentent pas de hiérarchie dans la structure des branchements, ils sont hautement déstructurés, tortueux, gonflés, allongés et leurs diamètres est irréguliers (**Woodfin *et al.*, 2007**). Cette désorganisation entraîne un état d'inflammation et une hypoxie locale ce qui favorise la synthèse de diverses molécules telles que le facteur induit par l'hypoxie (HIF) et des cytokines qui à leur tour stimulent la production de facteurs pro-angiogéniques tels que le VEGF (**Baish et Jain, 2000; Clou et Luque, 2022**).

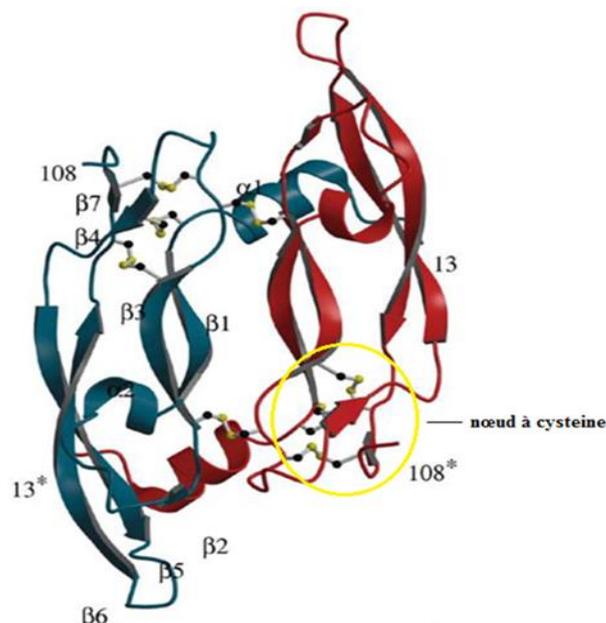
#### 4 Principaux acteurs de l'angiogénèse : Système VEGF/VEGFR

Parmi les facteurs pro-angiogéniques, le VEGF est considéré comme l'un des principaux facteurs favorisant la croissance de nouveaux vaisseaux sanguins dans les tumeurs. Sa fonction pro-angiogénique résulte de sa liaison à la surface du récepteur tyrosine kinase VEGFR (Reille-Seroussi, 2014).

##### 4.1 Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire VEGF

Les facteurs de croissance de l'endothélium vasculaire sont exprimés en réponse à l'hypoxie et sont produits par de nombreux types cellulaires, en particulier par les cellules hématopoïétiques, stromales, endothéliales, ainsi que, les cellules cancéreuses qui ne peuvent pas former de tumeurs au-delà de quelques millimètres (Cébe-Suarez *et al.*, 2006).

Le VEGF est une glycoprotéine homodimérique antiparallèle de 45Kda marquée par une n-glycosylation sur le résidu Arg75, les deux monomères sont reliés de manière covalente par deux ponts disulfure entre Cys51 et Cys60. Chaque monomère est formé de 7 brins et 2 hélices dont lequel la structure de chacun est constitué d'un feuillet central de 4 brin antiparallèle ( $\beta 1$ ,  $\beta 3$ ,  $\beta 5$ ,  $\beta 6$ ), les brins  $\beta 1$  et  $\beta 3$  sont reliés entre eux par un fragment contenant l'hélice 2 et le brin 2. Le coté N-terminal du VEGF est constitué de l'hélice 1 (Muller *et al.*, 1997). Le VEGF appartient à la superfamille de facteurs de croissance dimériques caractérisés par la présence d'un motif appelé nœud à cystéine. Cette région est formé d'un anneau de 6 cystéines formant des ponts disulfure entre (Cys67-Cys102), (Cys61-Cys104), (Cys26-Cys68) (Figure 4) (Muller *et al.*, 1997).



**Figure 4:** Structure du VEGF. Le monomère 1 est représenté en bleu et le monomère 2 en rouge. Une des deux régions en nœud à cystéine est cerclée en jaune (Muller *et al.*, 1997).

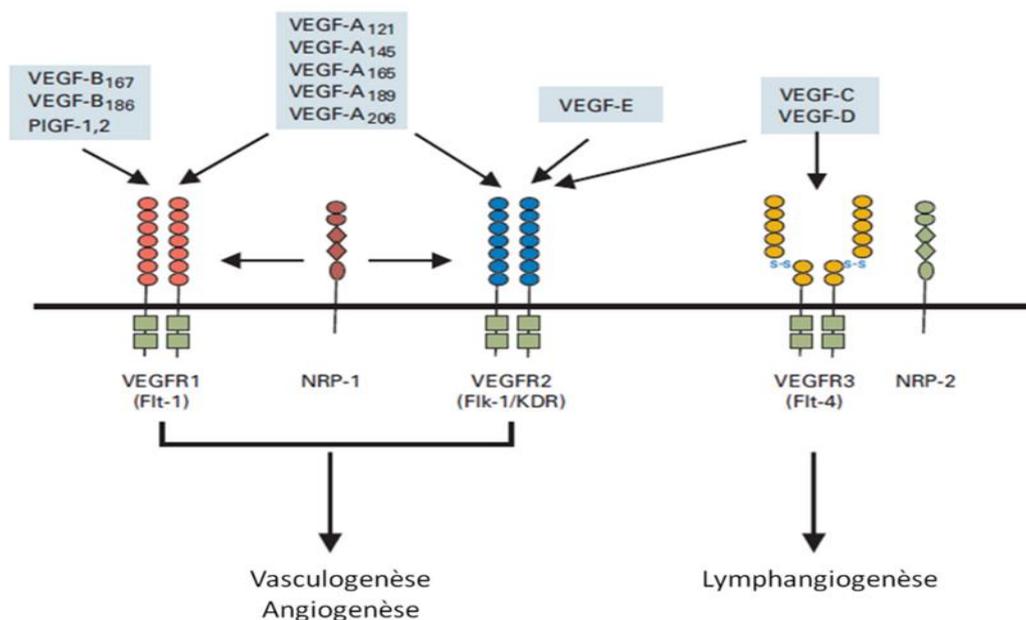
La famille du VEGF a un effet essentiel dans l'angiogenèse, lymphangiogenèse et la vasculogenèse. La famille du VEGF humain comporte cinq membres, VEGF (ou VEGF-A), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D et PlGF (pour le facteur de croissance placentaire) (Ferrara et Henzel, 1989; Tischer *et al.*, 1991). Ainsi que VEGF-E (exprimé par les virus) et le VEGF-F (présent dans le venin de vipère) (Klein et Catargi, 2007).

#### 4.2 Récepteur du facteur de croissance endothélial vasculaire VEGFR

Chez l'homme, il existe trois récepteurs à activité tyrosine kinase, VEGFR-1(Flt-1), VEGFR-2(KDR), VEGFR-3(Flt-4), ainsi que les neuropilines (NRP1 et NRP2) qui sont deux récepteurs dépourvue d'activité tyrosine kinase.

Les membres de la famille VEGFs se lient aux trois récepteurs à activité tyrosine kinase avec différentes affinités et activent plusieurs voies de signalisation aboutissant à différents effets cellulaires (Hicklin et Ellis, 2005; Koch *et al.*, 2011; Koch et Claesson-Welsh, 2012; Shibuya, 2014).

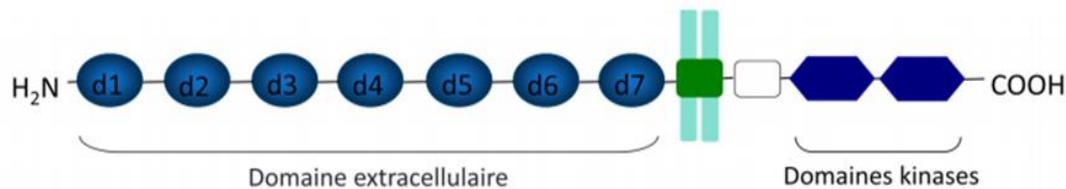
Tous les isoformes du VEGF-A se lient au VEGFR-1 et au VEGFR-2, tandis que le VEGF-B et le PlGF (1et 2) se lient au VEGFR-1. De plus, le VEGF-A et le PlGF peuvent se lier et activer VEGFR-2 sous forme d'hétéromères naturels. Le VEGF-A s'hétérodimérise avec PlGF et peut sous cette forme lier et activer VEGFR-2. Tandis que, le VEGF-E interagit spécifiquement avec VEGFR-2, tandis que le VEGF-C et VEGF-D interagissent avec VEGFR-2 et VEGFR-3 (Figure 5) (Hicklin et Ellis, 2005).



**Figure 5 :** Spécificité de liaison des différents membres de la famille des VEGFs sur les trois récepteurs et l'effets de ces récepteurs (Hicklin et Ellis, 2005).

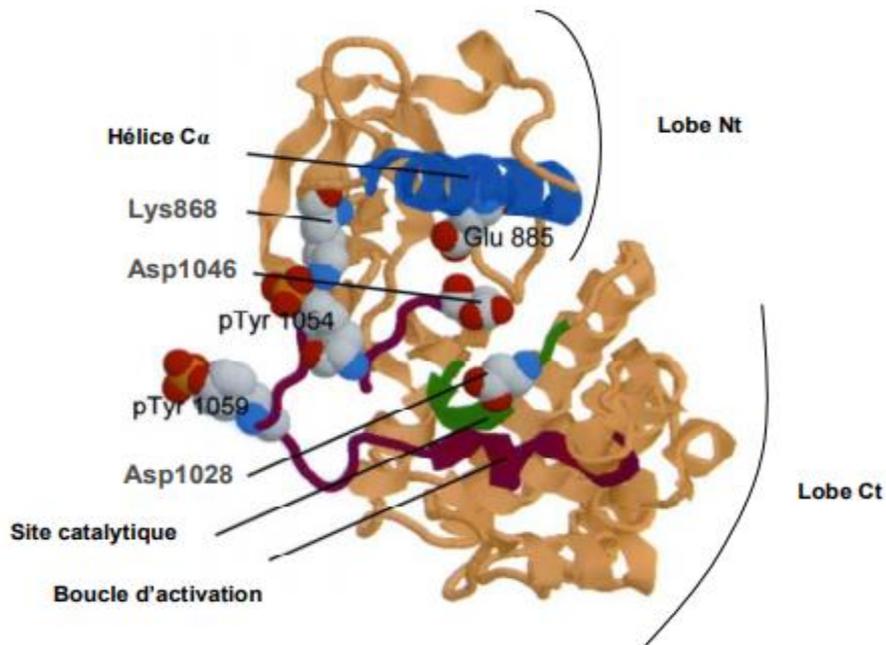
#### 4.2.1 Structure et caractéristique du récepteur VEGFR2

Les récepteurs VEGFR1 et VEGFR2 sont principalement exprimés à la surface des cellules endothéliales vasculaires et partagent une homologie de 44%. Ils sont à l'origine sous forme de monomère puis une fois actifs sous forme de dimère. Le VEGFR2 peut également exprimer à la surface des cellules cancéreuses de divers types de cancer. Il joue un rôle clé en tant que médiateur des effets mitogènes, angiogéniques et de la perméabilité vasculaire du VEGF, en raison de sa stimulation continue des différentes voies de signalisation cellulaire dans de nombreuses cellules tumorales (**Holmes *et al.*, 2007**). Ce récepteur contient trois domaines distincts dans laquelle la région extracellulaire qui lie le VEGF est composée d'environ 750 acides aminés organisés en sept boucles apparentées aux immunoglobulines, le domaine transmembranaire hydrophobe comprend 24 acides aminés et joue un rôle dans la formation de dimères inactifs à la surface cellulaire. Ainsi que la région intracellulaire de 522 acides aminés, se compose du domaine juxtamembranaire d'une quarantaine d'acides aminés, du domaine enzymatique à activité tyrosine kinase et d'une séquence C-terminale (**Figure 6**) (**De Vries *et al.*, 1992**; **Garofalo, 2009**; **Hicklin et Ellis, 2005**; **Rahimi, 2006**; **Tao *et al.*, 2001**).



**Figure 6:** Structure schématique d'un monomère de VEGFR2 (**Reille-Seroussi, 2014**).

Le domaine tyrosine kinase du VEGFR-2 constitué de 328 acides aminés et présente une structure bilobée avec un lobe Nt et un lobe Ct qui entourent le site catalytique au centre. Le lobe Nt (résidus 820-920) est formé de cinq feuillets  $\beta$  antiparallèles ainsi qu'une hélice  $\alpha$ . Le lobe Ct (résidus 921-1128) est principalement constitué de deux feuillets  $\beta$  antiparallèles et sept hélices  $\alpha$ . Le site actif de l'ATP est caractérisé par trois acides aminés formant un motif K/D/D (Lys868, Asp1028 et Asp1046). La région flexible qui sépare les deux lobes est constituée de trois zones, à savoir une région riche en glycine impliquée dans l'interaction avec l'ATP, le site catalytique et la boucle d'activation. (**Figure 7**) (**Garofalo, 2009**; **McTigue *et al.*, 1999**; **Roskoski, 2008**).

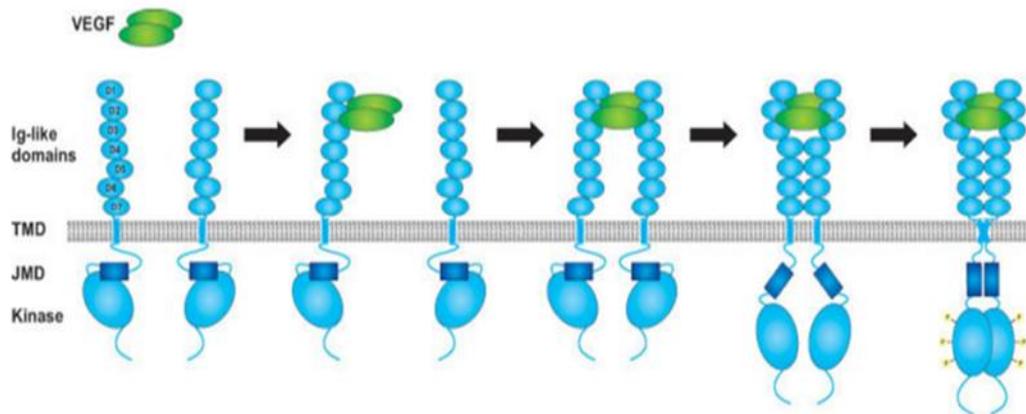


**Figure 7:** Domaine tyrosine kinase du VEGFR2 (Garofalo, 2009).

La région C-terminal contenant des sites de phosphorylation (résidus tyrosine) spécifiques. La phosphorylation de ces résidus permet le recrutement des protéines substrats possèdent des domaines SH2(Src Homology 2) ou PTB (phosphotyrosine-binding), tels que les protéines adaptatrices(Shb-VRAP), des kinases (Src, PI3K) ou des phospholipases(PLC). Cette région possède six site d'autophosphorylation dont les résidus Tyr1175 et Tyr1214 sont les principaux sites de phosphorylation du VEGFR2 (Garofalo, 2009; Takahashi, 2001).

#### 4.2.2 Mécanisme d'activation du VEGFR2

Le mécanisme d'activation de récepteur VEGFR-2 est semblable à celui observé pour tous les récepteurs à activité tyrosine kinase; initié par la fixation d'un dimère de ligand lié de manière covalente au domaine extracellulaire du récepteur, ce qui favorise l'homo et l'hétérodimérisation du récepteur, suivi par l'activation de domaine intracellulaire par un changement conformationnel, ce qui induit la phosphorylation croisée des résidus tyrosine des domaines de kinase de chaque récepteur par l'autre. Les résidus de tyrosine phosphorylés servent également de sites d'ancrage pour les protéines adaptatrices telles que les protéines Sh2 et Grb2, qui recrutent d'autres protéines et amorcent la cascade de signalisation intracellulaire. Les interactions entre VEGFR et les effecteurs de signalisation en aval sont principalement médiées par les domaines d'homologie Src-2(SH-2) et phosphotyrosine binding domaine (PTB) (Figure 8) (Stuttfeld et Ballmer-Hofer, 2009; Tao *et al.*, 2001).



**Figure 8:** Mécanisme d'activation des VEGFR2 (Stuttfeld et Ballmer-Hofer, 2009).

Pour mieux caractériser l'interaction entre le VEGF et ses récepteurs à activité tyrosine kinase, plusieurs études ont été menées. Ces études ont révélé que le domaine d2 du récepteur VEGFR-1 est suffisant pour se lier au VEGF, bien que les domaines d1 et d2 contribuent également à l'augmentation de l'affinité du ligand. En revanche, la liaison du VEGF au VEGFR-2 nécessite l'intervention des domaines d2 et d3 (Mac Gabhann & Popel, 2007).

## 5 Voies de signalisation du VEGFR2

La liaison du VEGF à son récepteur VEGFR2, active les récepteurs à activité tyrosine kinase qui ont la capacité de s'autophosphoryler et d'activer ainsi des voies de signalisation intracellulaire conduisant à la prolifération, la migration et la survie des cellules endothéliales (Garofalo, 2009).

### ➤ La voie PI3K/AKT

Cette voie est activée suite à la phosphorylation du résidu Y1175 du VEGFR2 qui mène à l'activation de PI3k et donc à la production de PIP3 nécessaire pour l'activation de AKT/PKB. Celle-ci est capable d'inhiber des protéines pro-apoptotiques telle que Bad ou de protéase comme la Caspase 9, ou par l'activation de mTOR (mammalian target of rapamycin) ou des enzymes telles que eNOS (endothelial Nitric Oxide Synthase) (Cai et al., 2006; Gerber et al., 1998; Kowanetz et Ferrara, 2006; Thakker et al., 1999). Cette voie est notamment responsable de la prolifération, la survie et la perméabilité des cellules endothéliales dans le processus d'angiogénèse (Dayanir et al., 2001).

### ➤ La voie PLC- $\gamma$

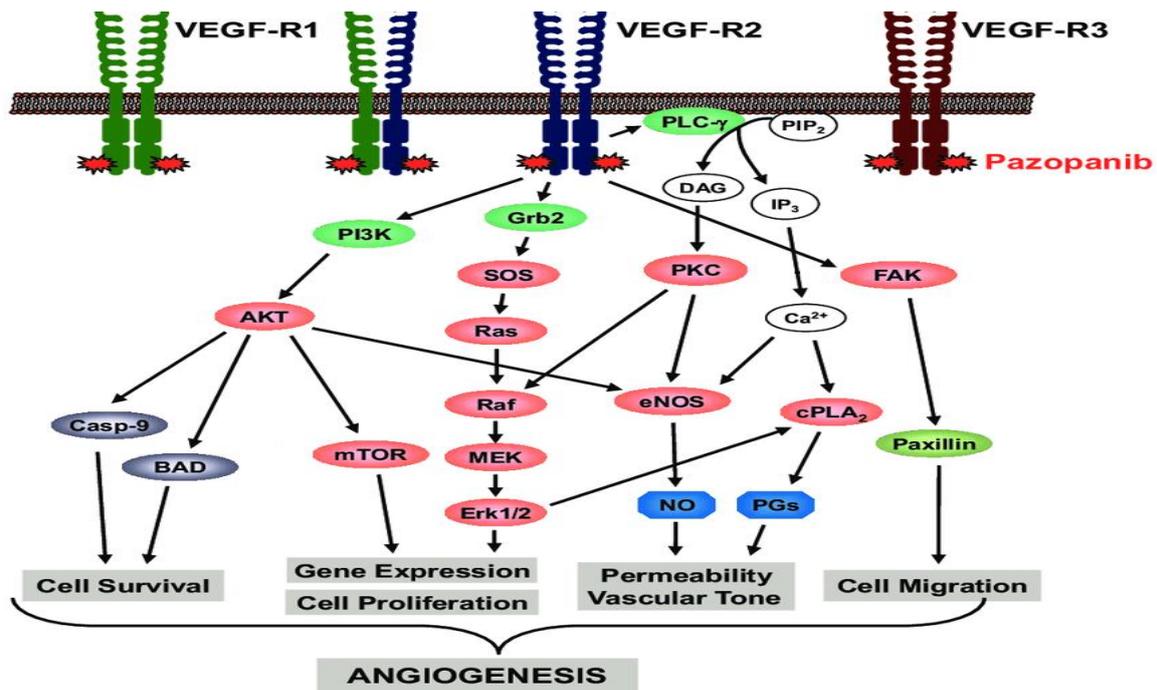
Cette voie est activée par la liaison du VEGF sur VEGFR2 qui conduit à l'activation de la PLC $\gamma$  qui se lie sur à la tyrosine 1175 phosphorylé via le domaine SH2 (src homology 2) entraînant l'hydrolyse de PIP-2, ce dernier est à l'origine des messagers lipidiques

secondaires DAG et IP3. Le DAG est l'activateur physiologique de la PKC, tandis que le IP3 agit sur les récepteurs du réticulum endoplasmique entraînant la libération du calcium intracellulaire ce qui active des protéines qui régulent la prolifération et la perméabilité des cellules endothéliales (**Takahashi, 2001**).

➤ **La voie MAP/ERK**

L'activation du VEGFR2 par son ligand, entraîne sa dimérisation, ce qui déclenche l'autophosphorylation de son domaine cytoplasmique sur des résidus tyrosine, faisant apparaître de nouveaux motifs protéiques qu'ils permettent l'ancrage au récepteur de protéines dites adaptatrices, telle que GRB2, recrute ensuite une protéine appelé Sos (Son of sevenless), qui active par la suite la protéine Ras en induisant l'activation d'une série de kinases de la famille MAPK. (Raf/MEK/ERK) résultant à la phosphorylation des protéines cytosoliques ou des facteurs de transcription nucléaires à l'origine des effets cellulaires (**Favre, 2014**). De plus, le DAG libéré par l'intermédiaire de la PLC- $\gamma$  agit comme un cofacteur pour l'activation de la sérine/thréonine kinase PKC. La PKC interagit ensuite avec la protéine Ras-GTP pour initier la voie de signalisation MAPK via Raf/MEK/ERK (**Meyer et al., 2003**). Cette voie de signalisation conduit à la prolifération et à la migration des cellules endothéliales (**Kowanetz et Ferrara, 2006**).

Ainsi, la protéine tyrosine kinase située aux contacts focaux FAK (Focal Adhesion Kinase) est activée par VEGF et phosphorylée par des protéines telles que la Paxiline ce qui provoque l'activation du processus de migration cellulaire (**Kowanetz et Ferrara, 2006**).



**Figure 9:** Les voies de signalisation induit par le VEGFR2 (Hamberg *et al.*, 2010).

## 6 Inhibition de l'angiogénèse tumorale et système VEGF/VEGFR2

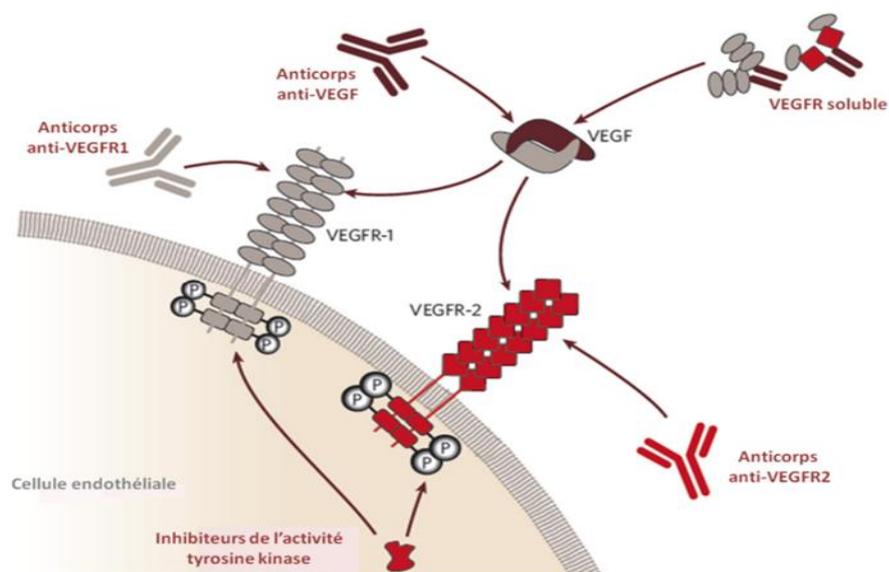
Le professeur Folkman a développé dans les années 1970 une hypothèse qui a conduit à la création de thérapies anti-angiogéniques. Il a énoncé pour la première fois le concept de molécules anti-angiogéniques visant à empêcher la croissance tumorale en inhibant la formation de vaisseaux sanguins (Aggoune, 2015). Depuis, de nouvelles stratégies ont été mises au point pour le développement de nombreuses thérapies anti-angiogéniques. Le VEGF et ses récepteurs eux-mêmes sont des cibles privilégiées pour le traitement de nombreux cancers solides tels que le carcinome gastrique, colique ou hépatocellulaire, en raison de leur rôle dans la régulation de l'angiogénèse tumorale (Liu *et al.*, 1995).

Le bénéfice clinique du traitement anti-angiogénique est dû à divers mécanismes. Les molécules anti-angiogéniques empêchent l'expansion et la propagation des vaisseaux tumoraux en les empêchant de former de nouvelles ramifications. Elles empêchent également les cellules dérivées de la moelle osseuse d'atteindre la tumeur et permettent la rétraction des vaisseaux préalablement formés. Ce traitement inhibe les signaux de survie dirigés vers les cellules endothéliales (Lièvre, 2007). Ceci explique la raison pour laquelle la thérapie anti-angiogénique associée à la chimiothérapie est plus efficace que la chimiothérapie seule (Jain, 2005).

### 6.1 Thérapie anti-angiogénique : agent cible l'axe VEGF/VEGFR

Les anti-angiogéniques ciblant l'axe VEGF/VEGFR peuvent être divisés en deux catégories : (Guyot, 2013).

Les molécules agissant au niveau extracellulaire par des anticorps monoclonaux humanisé, ainsi que les protéines de fusion(VEGF-Trap). Ces deux molécules agissent par l'inhibition de la liaison du ligand sur son récepteur en se liant sur l'un ou l'autre. Aussi d'autres molécules agissent au niveau intracellulaire comme les inhibiteurs de l'activité tyrosine kinase, qui sont des petites molécules capables de traverser la membrane plasmique et bloquent l'enzyme à activité kinase (Figure10) (Ferrara et Kerbel, 2005; Guyot, 2013).



**Figure 10:** Principales approches anti-angiogénique ciblant l'axe VEGF/VEGFR (Ferrara et Kerbel, 2005) .

#### 6.1.1 Stratégie anti VEGF

Les anticorps contre le VEGF représentent l'une des premières stratégies développées pour l'inhibition de la voie du VEGF. Leur mécanisme d'action est simple et basé sur le principe d'action des anticorps comme leur nom l'indique. En fait, l'anticorps se lie spécifiquement au VEGF circulant avec une haute affinité. De ce fait, le VEGF est capté par l'anticorps de sorte qu'il ne peut plus se fixer à son récepteur (VEGFR1 et 2) situé à la membrane endothéliale. Ainsi, l'activation du récepteur du VEGF, en particulier la dimérisation du VEGF avec son récepteur et l'activation du domaine tyrosine kinase intracellulaire du récepteur ne se produit pas. Ainsi, le VEGF sécrété par les cellules tumorales est neutralisé, entraînant une perturbation des voies de signalisation en aval. On a ainsi observé un blocage de la prolifération et de la

migration des cellules endothéliales, mais aussi une activation de leur survie. Le développement tumoral sera ainsi contrôlé car aucun nouveau vaisseau sanguin tumoral ne se forme (Lièvre, 2007).

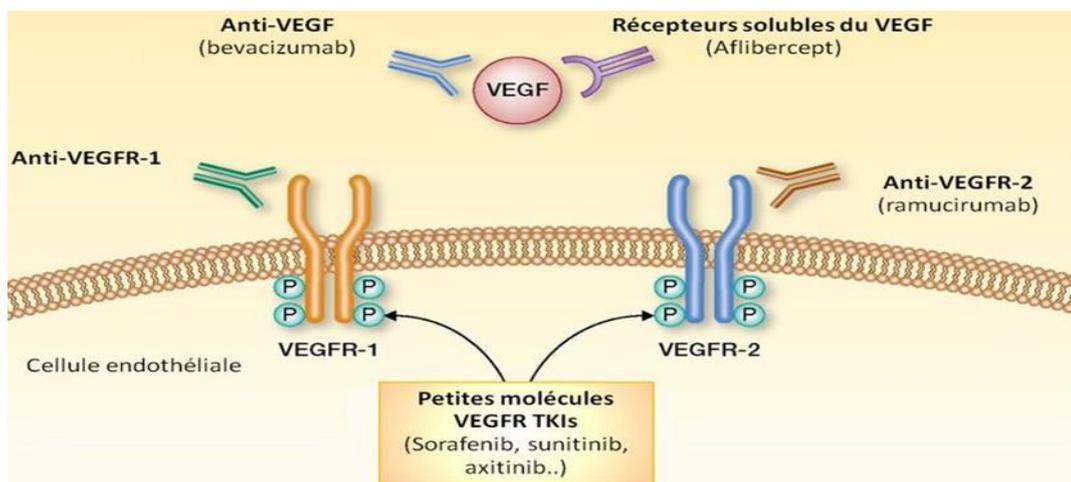
### 6.1.2 Stratégie anti VEGFR

#### ➤ Anticorps monoclonaux contre VEGFR

Même si les anticorps anti-VEGF sont couramment utilisés, d'autres anticorps ont été développés pour cibler les récepteurs du VEGF plutôt que le VEGF lui-même. Ces anticorps se lient à la partie extracellulaire du récepteur, empêchant ainsi le VEGF de se lier à son récepteur et inactivant le VEGFR. En conséquence, la cascade de signalisation nécessaire à la néovascularisation est interrompue (Lièvre, 2007). Un exemple d'anticorps monoclonal de ce type est le ramucizumab, qui cible le récepteur VEGFR2 pour le traitement du cancer du sein (Guyot, 2013).

#### ➤ Inhibiteur de la tyrosine kinase du VEGFR2

Une autre stratégie anti-angiogénique consiste à cibler directement les domaines kinases des récepteurs impliqués dans la régulation de l'angiogenèse tumorale par les inhibiteurs de tyrosine kinase qui sont de petites molécules inhibitrices mimétiques de l'ATP. Ils diffusent librement dans la cellule et entrent en compétition avec l'ATP pour se lier au domaine intracellulaire du récepteur. Cette compétition inhibe l'activation des voies de signalisation en aval du récepteur cible (Guyot, 2013).



**Figure 11:** Les inhibiteurs du VEGF et de ces récepteurs (Poupard, 2017) .

*Le bevacizumab est un anticorps monoclonal qui se trouve au VEGF et l'empêche de se fixer à ses récepteurs. L'aflibercept agit de la même manière mais est constitué des domaines extracellulaires des VEGFR. Le ramucirumab est un antagoniste des récepteurs VEGFR-2 et empêche la fixation des VEGF. Le sorafenib, le sunitinib et l'axitinib sont des inhibiteurs de kinases intracellulaires activés dans les voies de signalisation du VEGF.*

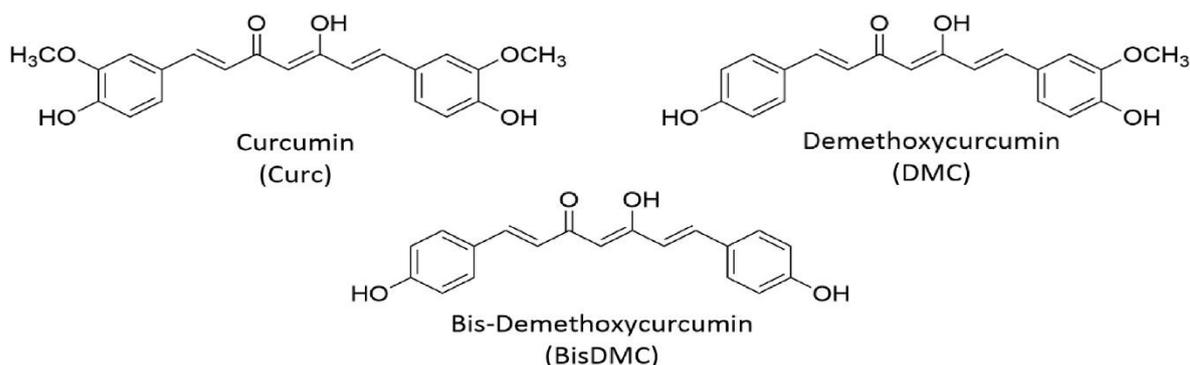
## 6.2 Limites du traitements anti-angiogéniques et perspectives

Malgré l'évolution positive et les avantages de la thérapie anti angiogénique, quelques limitations associées à ce traitement subsistent, comme le phénomène de résistance qui peut être adaptative signifiant la capacité des tumeurs après la phase de réponse initiale à s'adapter et à s'échapper au blocage thérapeutique, ou bien intrinsèque, définie par l'absence de tout effet bénéfique du traitement anti-angiogénique (**Bergers et Hanahan, 2008**). Par ailleurs, le traitement anti angiogénique présente des effets secondaires diverses en fonction des agents utilisés et de leurs mécanisme d'action. Parmi les effets néfastes que l'on peut noter, cardiovasculaires comme l'hypertension artérielle et rénales par l'apparition d'une protéinurie qui restent communs aux anti-angiogéniques, quelle que soit leurs classes (anticorps monoclonaux ou VEGFR-TKI) (**Halimi et al., 2008; Ravoire et Barlési, 2010**). En plus de ces effets indésirables d'autres peuvent également être mentionnés tels que l'érythrodysesthésie et problème de cicatrisation, ainsi que, les effets secondaire digestifs comme la diarrhée, anorexie, agueusie et perte de poids et la perforation intestinal (**Caquelin-Guyot, 2010**).

## 7 Substance naturelle ciblant le VEGFR2

Les produits naturels sont des composés dérivés de ressource naturelles qui possèdent des activités biologiques (**Hashem et al., 2022; Nelson et al., 2017**). Cependant, l'utilisation des composés naturels, tels que les composés phytochimiques, pour prévenir l'angiogenèse est une méthode abordable qui présente moins d'effets secondaires indésirables par rapport aux médicaments. De nombreux composés (poly)phénoliques se trouvent couramment dans les aliments d'origine végétale, tels que la curcumine, le resvératrol, la quercétine ou l'épigallocatechine gallate, et ont reçu une attention scientifique considérable pour leur potentiel préventif et thérapeutique dans la cancérogenèse (**Giménez-Bastida et al., 2022**).

Le curcuma (*Curcuma longa*) est une plante herbacée de la famille du gingembre (**Tung et al., 2019**). Il est originaire d'Inde et largement cultivés dans les pays tropicaux comme la Chine, le Sri Lanka, l'Afrique de l'Ouest et de l'Est. Il est largement utilisé en médecine traditionnelle chinoise pour le traitement de diverses maladies tels que les maladies cardiovasculaire, neurodégénératives, le diabète, le cancer...etc. Le curcuma renferme trois composés principaux appelés curcuminoïdes, à savoir la curcumine (Curc) comme composant principal, ainsi que la déméthoxycurcumine (DMC) ou la curcumine II et la bisdéméthoxycurcumine (BisDMC) ou la curcumine III comme composant mineurs (**Figure 12**) (**Sharifi-Rad et al., 2020**).



**Figure 12:** Structures chimiques des curcuminoïdes (curcumine, Curc ; déméthoxycurcumine, DMC ; BisDMC, bisdéméthoxycurcumine) (**Giménez-Bastida *et al.*, 2022**).

La curcumine ou diféruloyl-méthane est un pigment polyphénolique responsable de la couleur jaune orangé du curcuma, très utilisé en cuisine comme épice. Elle est particulièrement remarquable en raison de ses propriétés antitumorales qui modulent plusieurs voies de signalisation. Cette molécule est également associée à des effets anti-inflammatoires, anti-oxydants, antiprolifératifs, pro-apoptotiques, anti angiogéniques et anti-métastatiques, ce qui la rend très intéressante sur le plan moléculaire (**Joshi *et al.*, 2021**; **Slika et Patra, 2020**).

Selon une étude *in vitro* basée sur l'effet de la curcumine sur l'activation du VEGFR2, a montré que la curcumine a un effet inhibiteur sur la phosphorylation stimulée par le VEGF du VEGFR2, processus essentiel à l'activation du VEGFR2 au cours de la prolifération, la migration et la différenciation des cellules endothéliales. Suite à l'administration de la curcumine, la baisse de la phosphorylation conduit à l'inhibition des voies MAPK/Erk et PI3K/AKT médiée par le VEGFR2 dans les cellules endothéliales. Ces résultats sont confirmés par une analyse Western blot réalisée sur les cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine HUVEC (**Fu *et al.*, 2015**). Par ailleurs, l'étude de Giménez-Bastida et collaborateurs (2022) a montré que l'utilisation des trois curcuminoïdes, la déméthoxycurcumine (DMC), la bisdéméthoxycurcumine (BisDMC) et la curcumine, ainsi qu'un mélange représentatif de ces trois, montraient des activités antiangiogéniques. Ces activités ont été observées à des concentrations physiologiques (0,1 à 5  $\mu$ M), affectant ainsi la migration et la tubulogénèse des cellules endothéliales aortiques humaines (HAEC). Une découverte importante de cette étude est l'identification du VEGFR2 comme cible moléculaire commune des trois curcuminoïdes. Ainsi, les résultats montrent que le prétraitement du HAEC par ces trois curcuminoïdes individuels ou mix régule la baisse de la phosphorylation de VEGFR2 induite par VEGF165 au site Y1175, ce qui a entraîné une diminution des niveaux de phosphorylation de ERK et AKT.

De plus, ces résultats sont explorés par une étude *in silico* suggèrent que la curcumine pourrait exercer leur effet inhibiteur en se liant au récepteur VEGFR2 bloquant ainsi l'activité du VEGF dans les HAEC.

Il est donc essentiel d'obtenir des informations supplémentaires sur l'interaction entre la curcumine et le VEGFR2 afin de mieux comprendre les mécanismes moléculaires sous-jacents à leur effet, justifiant la conception d'études futures en utilisant les approches pertinentes décrites dans des études antérieures (**Harada *et al.*, 2022**).

La faible biodisponibilité de la curcumine représente un inconvénient majeurs dans le contexte de son application clinique (**Liu *et al.*, 2016**). Afin de surmonter cela, la recherche d'analogues à effets biologiques similaires est toujours d'actualités. C'est pour cela qu'on s'est fixé comme objectif la recherche de nouvelles molécules analogues de la curcumine ciblant le VEGFR2.

# **Partie II**

## **Partie expérimentale**

# **Chapitre Π**

## **Matériel et méthodes**

L'objectif de ce travail est une initiation aux approches de modélisation par docking moléculaire afin de proposer et développer de nouveaux inhibiteurs du récepteur 2 du facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGFR2) impliqué dans l'angiogenèse tumorale.

## 1 Matériel

### 1.1 Micro-ordinateur

Deux micro-ordinateurs ont été utilisés pour l'exécution et l'analyse de notre travail dont :

Le premier dans lequel tous les programmes utilisés sont installés sous le système d'exploitation linux, 64 bits, ce micro-ordinateur dispose de 4 Go de mémoire libre et d'un processeur Intel® Core i5-7th Gen. Ainsi que, le deuxième fonctionne sous le système d'exploitation Windows 7, 64 bits, ce micro-ordinateur dispose de 3,68 GO de mémoire libre et d'un processeur Intel® Core(TM) i5-CPU.

### 1.2 Banques de données

#### ➤ PDB (Protein Data Bank) :

La protéine Data Bank est la plus grande base de données qui fournit des informations sur la structure des molécules (Protéine, ADN, ARN.) permettant de consulter et de télécharger gratuitement les structures 3D qui sont déterminées par cristallographie au rayon X, spectroscopie RMN et d'autres méthodes expérimentales (**Berman *et al.*, 2000**). Actuellement elle compte plus de 200 000 structures biologiques accessibles via le site : <https://www.rcsb.org/> (**Figure 13**)

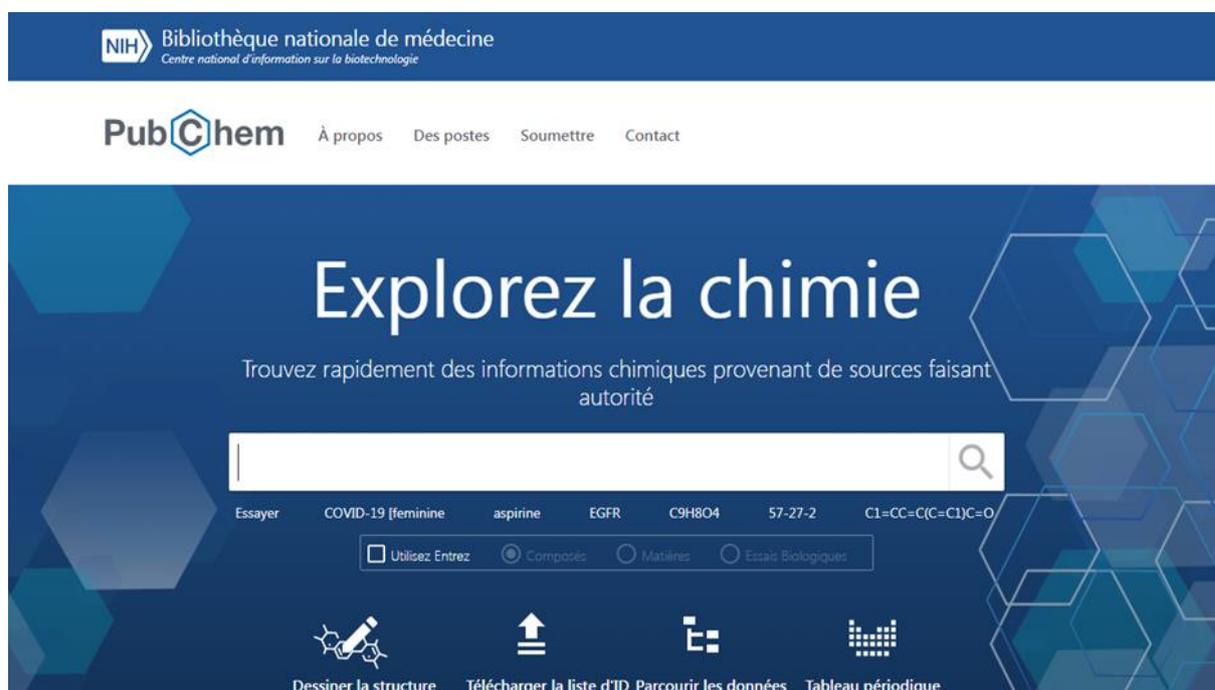


**Figure 13:** Interface graphique de la base de données PDB (mois d'Avril 2023).

### ➤ Pubchem

PubChem est une base de données publique en ligne qui contient principalement de petites molécules (ligands), mais aussi de grosses molécules telles que des nucléotides, des glucides, des lipides, des peptides et des macromolécules chimiquement modifiées.

PubChem contient des informations sur des millions de composés, y compris leurs formules moléculaires, poids moléculaires, structures chimiques, propriétés physicochimiques et leurs activités biologiques. Les utilisateurs peuvent rechercher des composés par nom, formule chimique ou numéro de registre et utiliser ces informations pour la recherche en chimie, biologie et pharmacologie (**Figure 14**) (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).



**Figure 14:** Interface graphique de la base de données PubChem

## 2 Logiciels

Les différents logiciels utilisés dans ce travail pour réaliser la partie expérimentale sont :

### ➤ PyRx

PyRx est un logiciel open source qui fournit une interface graphique conviviale pour effectuer des tâches de manière interactive, il permet de réaliser des calculs de docking moléculaire, qui consistent à prédire la conformation et l'affinité de liaison entre une petite molécule (ligand) et une protéine cible (**Figure 15**) (**Dallakyan et Olson, 2015**).

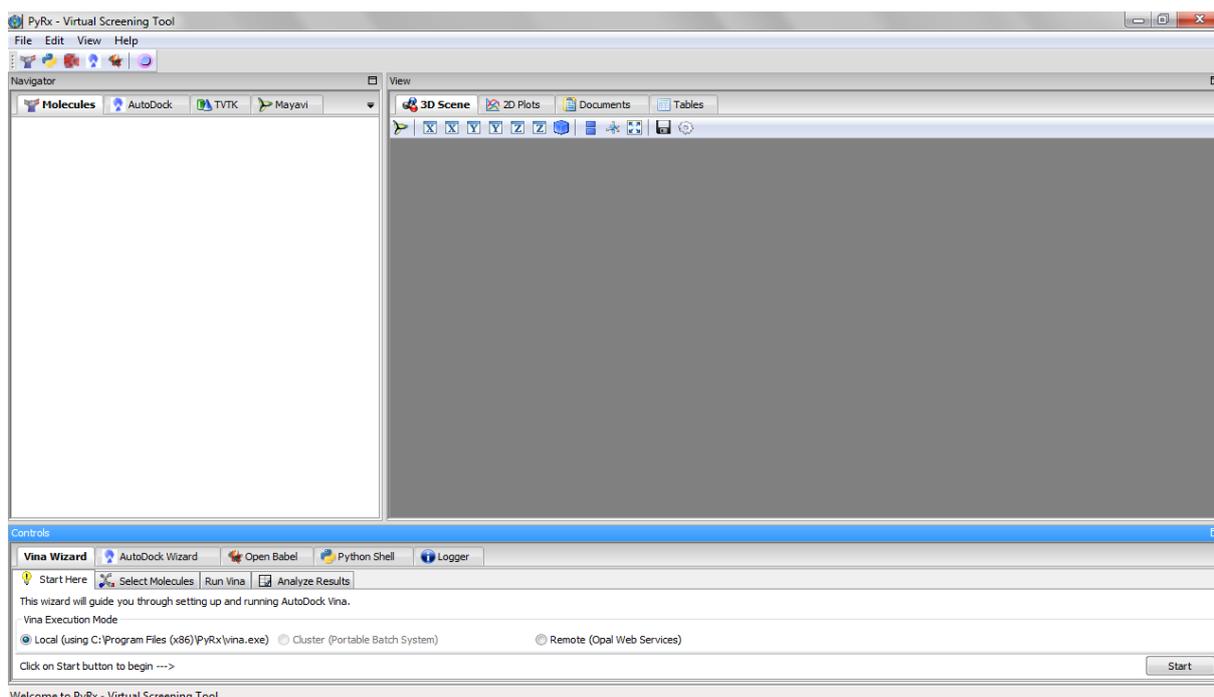


Figure 15: Interface graphique de PyRx

### ➤ UCSF Chimera

UCSF Chimera est un programme de visualisation et d'analyse interactive de la structure moléculaire et des données associées, y compris les cartes de densité, les trajectoires et les alignements de séquences. Il est disponible gratuitement pour un usage non commerciale (figure 16) (<http://www.rbvi.ucsf.edu/chimera/>).

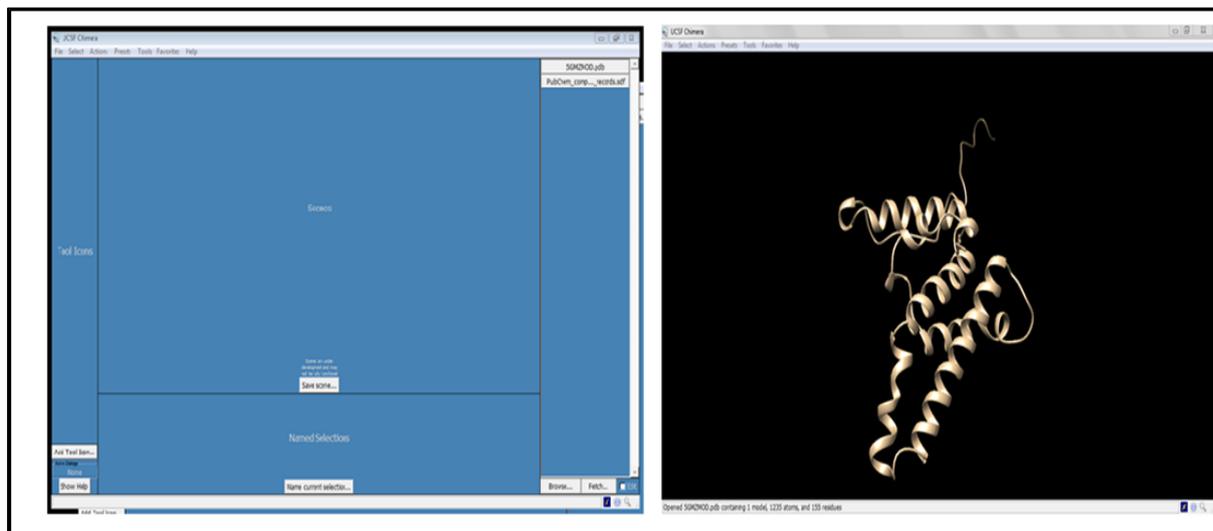


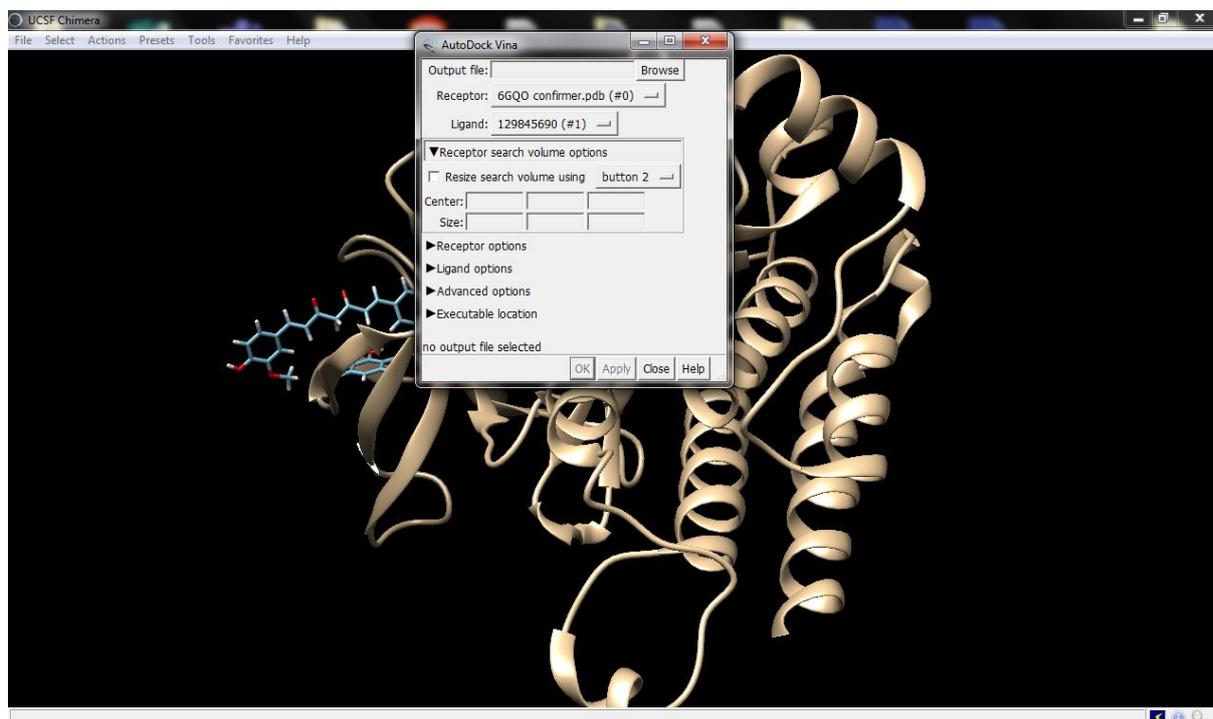
Figure 16: Interface graphique de UCSF Chimera

### ➤ Autodock vina

AutoDock Vina version 1.1.2 est un logiciel de simulation de docking moléculaire utilisé pour prédire les interactions entre une petite molécule et une protéine cible. Il est développé par l'Université de Californie à San Diego (**Figure 17**) (**Trott et Olson, 2010**).

il est disponible gratuitement sur : <http://vina.scripps.edu>

Nous avons choisi Autodock Vina sous Chimera pour l'amarrage en raison de son interface simple, contrairement à d'autres programmes tels que Autodock, Autodock Vina, Gold Suite, dont son utilisation est un peu compliquée pour les débutants en bio-informatique.



**Figure 17:** L'interface d'accès à l'AutoDock vina sous UCSF Chimera.

### ➤ Discovery Studio Visualizer

Discovery Studio Visualizer ou DSV est une combinaison de logiciels conçus pour fournir un environnement interactif qui sert à visualiser et à modifier des structures moléculaires, des séquences, des données de réflectance des rayons X, des scripts et d'autres données. Il est développé et distribué par "Dassault Systèmes BIOVIA" (**Figure 18**)

( [http://www.adrianomartinelli.it/Fondamenti/Tutorial\\_0.pdf](http://www.adrianomartinelli.it/Fondamenti/Tutorial_0.pdf) )

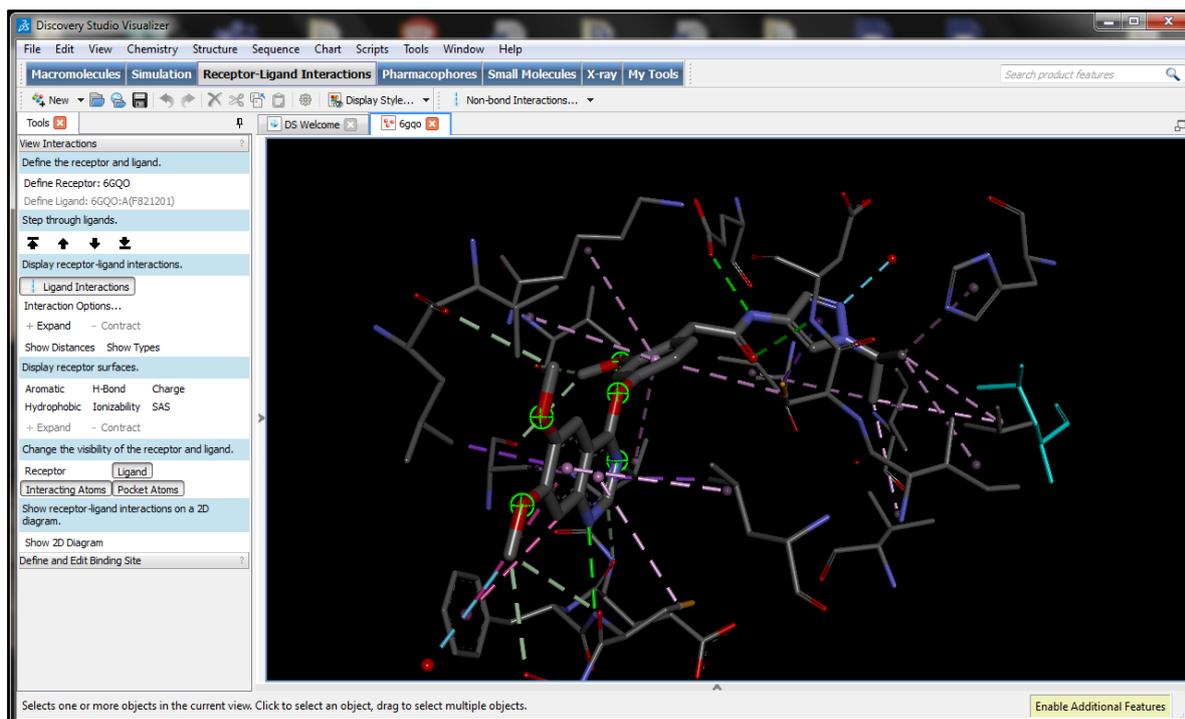


Figure 18: Interface graphique de logiciel Discovery Studio Visualizer

### ➤ Swiss ADME

Swiss ADME, est un outils web qui permet le calcul des descripteurs physico-chimiques, la prédiction des paramètres ADME (absorption, distribution, métabolisme et l'excrétion) et la détermination des propriétés pharmacocinétiques et médicamenteuses (Figure 19) (Daina *et al.*, 2017).

Figure 19: Interface graphique de l'outil web Swiss ADME.

### 3 Méthodes

#### 3.1 Préparation de la protéine cible pour l'amarrage

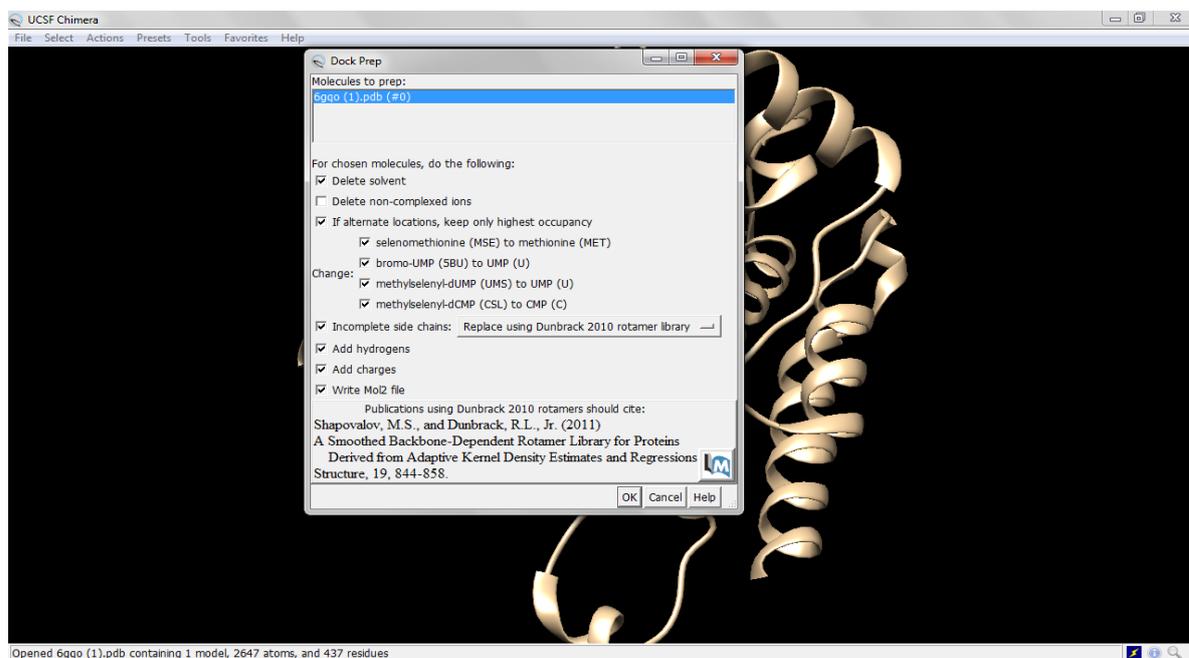
La structure tridimensionnelle de la protéine VEGFR2 a été téléchargé à partir de la banque de données Research Collaboratory for Structural Bioinformatics (RCSB) (PDB ; <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>). Dans ce cas, nous avons utilisé la structure cristalline du domaine kinase KDR du VEGFR2 humain en complexe avec l'analogue AZD3229 sous le code (6GQO).

**Tableau 1:** Les données PDB de la protéine cible.

ID PDB	Le poids total (Kda)	Résolution (Å)	Méthode
6GQO	37,47	1,87	Diffraction des rayons X

Après le téléchargement, on observe que la protéine, possède uniquement une chaîne A monomérique. La structure de la protéine doit être préparé avant les simulations d'amarrage à l'aide du module de préparation (Dock Prep) mis en place dans UCSF Chimera (**Figure 20**) (Qawoogha et Shahiwala, 2020).

Le processus de préparation qui sert à optimiser la structure est résumé en annexe (1).



**Figure 20:** Interface graphique de la boîte DOCK Prep apparaît dans UCSF Chimera.

### 3.2 Préparation des ligands

Un nombre de 50 ligands dérivés de la curcumine a effet thérapeutique ont été sélectionnés et extrait à partir de la base de données PubChem pour s'arrimer à la protéine cible (Saeed et al., 2022). Les structures sont sous format SDF. Le tableau de 50 ligands testés dans ce travail est en annexe (2).

### 3.3 Docking moléculaire

Le processus de docking consiste à déterminer la manière dont le VEGFR2 (6GQO) interagit avec ses inhibiteurs, il est utilisé pour générer une liste de complexes représentant le mode de liaison le plus favorable entre le ligand et la macromolécule. L'étape suivante consiste à estimer ces complexes afin de trouver le mode d'association le plus probable en utilisant PyRx et UCSF Chimera.

En première étape, PyRx nous a permis d'effectuer l'amarrage moléculaires des 50 composés contre la protéine 6GQO afin de déterminer le degré d'affinité entre les différents ligands et la protéine principale. Un deuxième docking en utilisant AutoDock Vina sous Chimera a été effectué pour les meilleurs molécules ayant les  $\Delta G$  les plus faibles pour identifier les molécules les plus intéressantes.

Les étapes de docking moléculaire sur PyRx sont résumées en annexe (3).

Afin de mieux comprendre la manière dont le VEGFR2 interagit avec ses inhibiteurs en utilisant UCSF Chimera. Les étapes pour effectuer cette opération sont résumés dans annexe (4).

Les résultats de l'amarrage sont sauvegardés dans un fichier PDB ainsi qu'un fichier PDB qui permet de visualiser en 3D les interactions moléculaires entre la protéine cible et les ligands via le logiciel "Discovery Studio Visualizer".

### 3.4 Analyse et visualisation

Les résultats de l'amarrage moléculaire, qui ont montré une conformation énergétique minimale avec le plus grand potentiel, ont été utilisés pour analyser les interactions entre le ligand et la protéine cible. Pour étudier les acides aminés impliqués dans le site de liaison du ligand, les liaisons hydrogène et d'autres interactions ont été visualisées grâce au logiciel Discovery Studio Visualizer. Ceci permet de montrer si les conformations des ligands simulés par AutoDock sont correctement orientées dans le site actif de la protéine cible.

### 3.5 Propriétés pharmacologiques

L'échec des molécules en cours de développement de médicaments est principalement dû à leur manque d'efficacité chez l'homme et à des problèmes de pharmacocinétique. Ainsi, chaque

un candidat médicament doit satisfaire plusieurs critères essentiels. Cela inclut non seulement un faible coût de production, une solubilité et une stabilité adéquates, mais aussi la conformité à des critères spécifiques liés à ses propriétés pharmacologiques telles que l'absorption, la distribution, le métabolisme, l'excrétion et la toxicité.

Les structures des molécules sélectionnées ont été soumises à une analyse en ligne sur le site Swiss ADME. Les propriétés des molécules sélectionnées ont été évaluées en fonction de leur similitude avec les médicaments selon la règle des cinq de Lipinski (**Lipinski *et al.*, 2001**). Les diagrammes radar de biodisponibilité obtenus ont été étudiés pour évaluer les propriétés médicamenteuses telles que :

- ✓ Lipophilie : XLOGP3 entre -0,7 et +5,0.
- ✓ Taille : poids moléculaire (PM) entre 150 et 500 g/mol.
- ✓ Polarité : TPSA entre 20 et 130 Å<sup>2</sup>.
- ✓ Insolubilité : log S non supérieur à 6.
- ✓ Instauration : fraction des carbones dans l'hybridation sp<sup>3</sup> non inférieure à 0,25.
- ✓ Flexibilité : pas plus de 9 liaisons rotatives.

# **Chapitre III**

## **Résultats et discussions**

Dans cette étude, notre objectif était d'analyser les interactions moléculaires entre la protéine cible (VEGFR2) et 50 dérivés de curcumine comme de potentiels inhibiteurs en utilisant le docking moléculaire. Dans un premier temps, Un docking moléculaire par Pyrx puis par Autodock Vina sous Chimera est réalisé. Par la suite, l'utilisation de DSV a permis l'analyse visuelle des composés en comparaison avec le médicament de référence. Enfin, nous avons procédé à une étude des propriétés ADME afin d'identifier les candidats les plus prometteurs.

### 1 Résultats de docking moléculaire

D'après les résultats obtenus à partir de docking moléculaire sur PyRx (les résultats sont résumés dans annexe (5)), nous avons sélectionné les 7 meilleurs analogues de la curcumine parmi un total de 50 dont les  $\Delta G^\circ$  sont les plus faibles. Il s'agit du Disalicyloyl curcumin, Curcumin glucuronid, Curcumin 4'-O-beta-D gentiobioside, Perfluoro curcumine, 2,6-Bis(4-hydroxybenzylidene) cyclohexanone, Bisdemethoxycurcumin isoxazole, 3,5-Bis(2-fluorobenzylidene) -4-piperidone. L'interaction de ces ligands avec le récepteur VEGFR2 est ensuite vérifié par Autodock Vina sous Chimera et par comparaison avec le médicament de référence Axitinib qui est un inhibiteur angiogénique approuvé par la FDA, on a sélectionné les sept qui ont un  $\Delta G^\circ$  le plus faible et proche a cel du médicament de référence. Plus l'affinité est élevée plus les valeurs des  $\Delta G^\circ$  seront faibles. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 2.

**Tableau 2** : Résultats de docking moléculaire pour les sept meilleurs analogues de la Curcumine et le médicament de référence

Inhibiteurs	Formule	Poids moléculaire (g/mol)	$\Delta G^\circ$ (Kcal/mol)
<b>Axitinib</b> CID :6450551	$C_{22}H_{18}N_4OS$	386,5	-10,1
<b>Disalicyloyl curcumin</b> CID : 129845690	$C_{35}H_{28}O_{10}$	608,6	-11,2
<b>Curcumin glucuronid</b> CID :7131501	$C_{27}H_{28}O_{12}$	544,5	-10,5
<b>Curcumin 4'-O-beta-D gentiobioside</b> CID : 46926100	$C_{33}H_{40}O_{16}$	692,7	-10,2
<b>Perfluoro curcumine</b> CID :129863789	$C_{21}H_2F_{18}O_6$	692,2	-10,1
<b>2,6-Bis(4-hydroxybenzylidene) cyclohexanone</b> CID : 1909086	$C_{20}H_{18}O_3$	368,4	-10,1
<b>Bisdemethoxycurcumin isoxazole</b> CID :135894687	$C_{19}H_{15}NO_3$	305,3	-10,1
<b>3,5-Bis(2-fluorobenzylidene)-4-piperidone</b> CID : 66993057	$C_{19}H_{15}F_2NO$	311.3 g/mol	-9,8

## 2 Etude des interactions moléculaires

Dans ce travail, l'interaction des ligands dockés contre la protéine 6GQO peut être visualisée à l'aide de logiciel DSV. Lors de cette analyse visuelle, nous nous sommes concentrés sur deux paramètres : le nombre de liaisons et le nombre d'acides aminés entre le site actif du récepteur VEGFR2 et les inhibiteurs.

**Tableau 3** : Résultats d'interactions des sept meilleurs inhibiteurs avec le site actif du VEGFR2

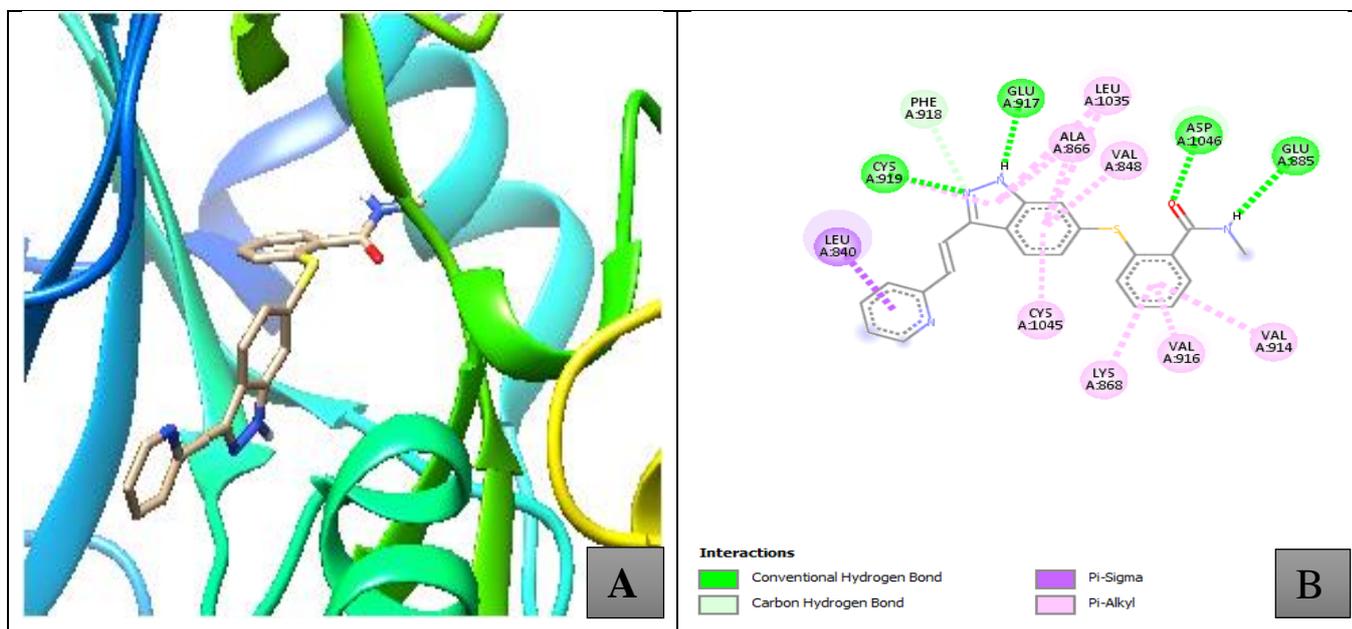
Ligand	Type d'interaction	Acides aminés
Axitinib (Référence)	Hydrogène conventionnelle	Cys919,Glu917,Glu885,Asp1046
	Carbone Hydrogène	Phe918
	Pi-Alkyl	Val848,Ala866,Leu1035,Cys1045,Lys868,Val916,Val914
	Pi-Sigma	Leu840
Disalicyloyl curcumin	Hydrogène conventionnelle	Cys919,Asn923,Leu840
	Carbone hydrogène	Gly922,Phe1047
	Pi-Alkyl	Val848,Leu1035,Ala866,Leu889
Curcumin glucuronid	Hydrogène conventionnelle	Ile1025,Cys919
	Carbone hydrogène	Phe1047, Ile1044, Asp1046, His1026
	Pi-Alkyl	Leu840, Val848, Leu1035, Ala866, Leu889, Cys919
	Pi-Pi stacked	Phe918
Curcumin 4'-O-beta-D-gentiobioside	hydrogène conventionnelle	Arg1027,Ile1025,Asp814,Gly922
	Pi-Alkyl	Leu889,Cys919,Val848,Leu1035,Leu840,Ala866
Perfluoro curcumine	hydrogène conventionnelle	Cys919,Asp1046,Lys868
	Carbone hydrogène	Gly922, Phe918, Cys1045
	Pi-Alkyl	Leu889, Leu1035, Val848, Ala866, Leu840,Cys919
	Liaison halogène	Glu885, Glu917, Ile1044
2,6-Bis(4-hydroxybenzylidene) cyclohexanone	Hydrogène conventionnelle	Cys919
	Pi-Alkyl	Lys868,Val899,Val916, Ala866,Cys1045,Val848
	Alkyl	Leu840, Val848, Phe1047,Leu1035
	Pi-sigma	Leu840
Bisdemethoxycurcumin isoxazole	hydrogène conventionnelle	Cys919
	Pi-Alkyl	Lys868, Val889, Val916, Val848, Leu1035, Ala866, Leu889,Leu 840
	Pi-Pi stacked	Phe918
3,5-Bis(2-fluorobenzylidene) -4-piperidone	Hydrogène conventionnelle	Cys919
	Carbone hydrogène	Lys920
	Pi-Alkyl	Ala866, Val899, Val916, Lys868, Val848, Cys1045
	Pi-Sigma	Leu840
	Liaison halogène	Cys919

## 2.1 Diagramme 2D

### ➤ Interaction entre L'axitinib et le site actif de la protéine (Figure 21)

Le médicament de référence Axitinib présente un score de -10,1Kcal/mol, l'analyse visuelle réalisée par DSV montre que l'inhibiteur est bien placé dans le site actif de la protéine VEGFR2 où il est stabilisé par de nombreuses liaisons grâce à 13 acides aminés dont :

- Quatre liaisons hydrogène sont formées par les résidus Cys919, Glu917, Asp1046, Glu885.
- Une liaison carbone hydrogène formée par le résidu Phe918.
- Sept liaisons Pi-Alkyl formées par les résidus Val848, Ala866, Leu1035, Cys1045, Lys868, Val916, Val914.



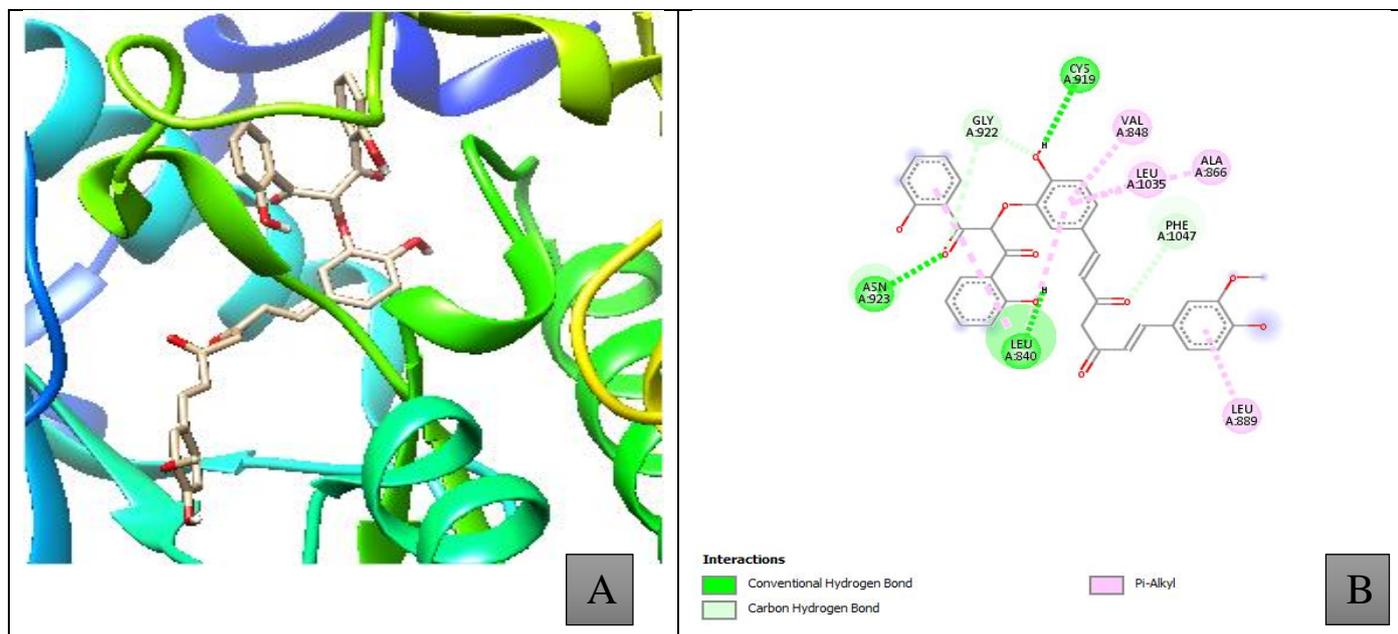
**Figure 21:** Représentation d'interaction entre L'axitinib et le site actif du VEGFR2 par UCSF Chimera (A) et les interactions par DSV (B).

### ➤ Interaction entre Disalicyloyl curcumin et le site actif (Figure 22)

Disalicyloyl curcumin présente la valeur de score d'interaction la plus élevée de -11,2 Kcal/mol, l'analyse visuelle réalisée par DSV montre que l'inhibiteur 12984590 est bien placé dans le site actif de la protéine VEGFR2 où il est stabilisé par de nombreuses liaisons grâce à 9 acide aminés dont :

- Trois liaisons hydrogène sont formées, l'une entre l'oxygène du composé Disalicyloyl curcumin et le résidu Asp923, et deux liaisons sont formées entre l'hydrogène du groupement carboxyle et les résidus Cys919 et Leu840.
- Trois liaisons carbone hydrogène sont formées, deux pour Gly922 et une seule pour Phe1047.

-Six liaisons de type Pi-Alkyl, une seule interaction pour Val 848, Leu1035, Ala866 et deux pour Leu 840.

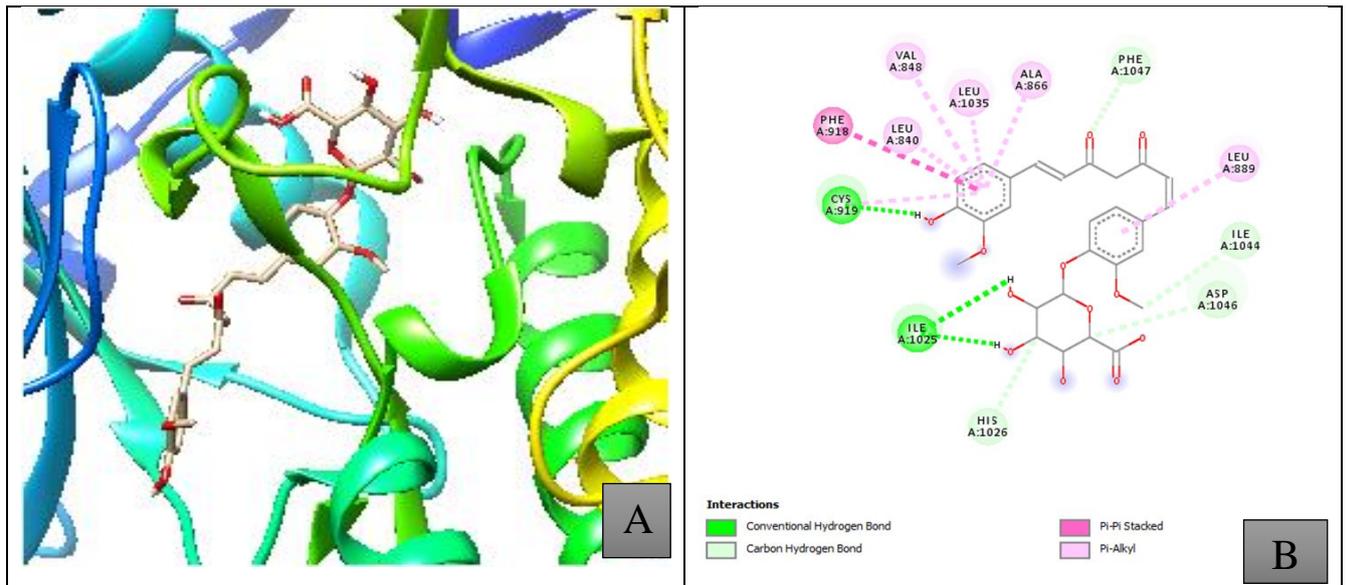


**Figure 22:** Représentation d'interaction entre Disalicyloyl curcumin et le site actif du VEGFR2 par UCSF Chimera (A) et les interactions par DSV (B).

### ➤ Interaction entre Curcumin glucuronid et le site actif (Figure 23)

Curcumin glucuronid présente un score de liaison égale -10,5 Kcal/mol, l'analyse visuelle réalisée par DSV montre que l'inhibiteur 71315012 est bien placé dans le site actif de la protéine VEGFR2 où il est stabilisé par de nombreuses liaisons grâce à 12 acide aminés dont :

- Trois liaisons hydrogène sont formées entre l'hydrogène du groupement carboxyle, deux liaisons pour Ile 1025 et une seule pour Cys919.
- Quatre liaisons de type carbone hydrogène pour Phe1047, Ile1044, Asp1046, His1026.
- Six liaisons de types Pi-Alkyl pour les résidus Leu840, Val848, Leu1035, Ala866, Leu889, Cys919 et une liaison de type Pi-Pi Stacked pour Phe918.

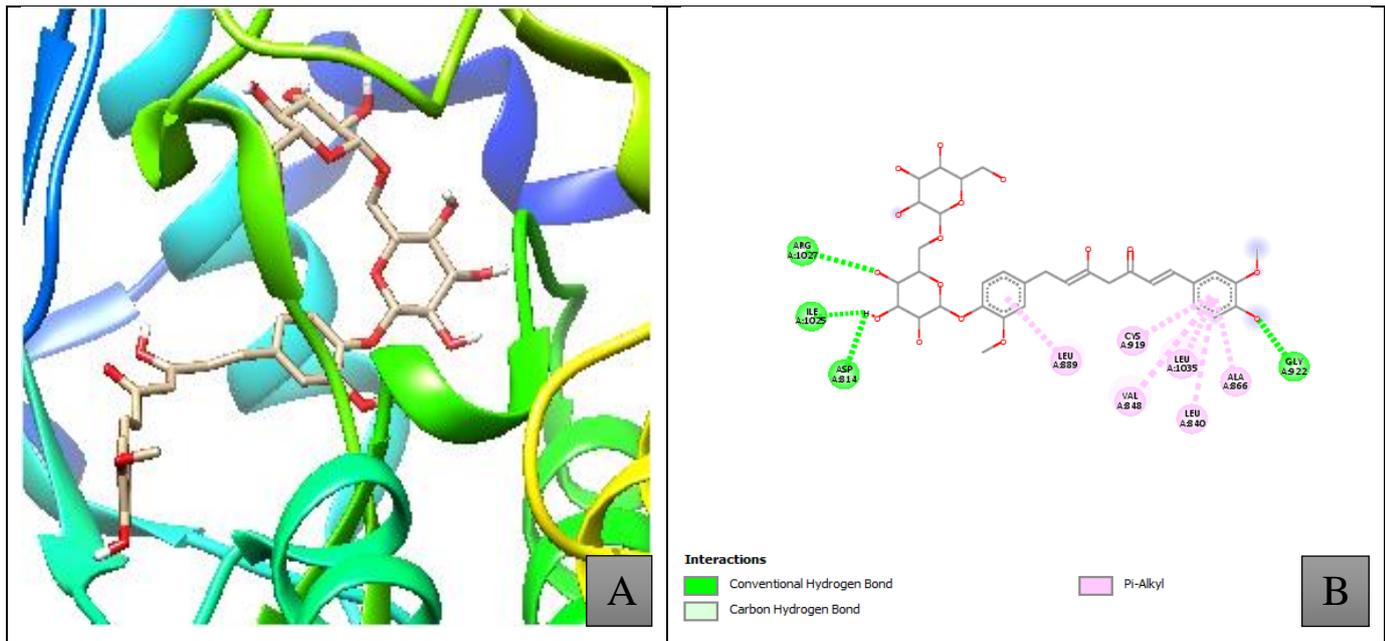


**Figure 23:** Représentation des interactions entre Curcumin glucuronid et le site actif du VEGFR2 par UCSF Chimera (A) et les interactions par DSV (B).

➤ **Interaction entre Curcumin 4'-O-beta-D-gentiobioside et le site actif (Figure 24)**

Curcumin 4'-O-beta-D-gentiobioside Présente un score de liaison égale -10,2Kcal/mol, l'analyse visuelle réalisée par DSV montre que l'inhibiteur 46926100 est bien placé dans le site actif de la protéine VEGFR2 où il est stabilisé par de nombreuses liaisons grâce à 10 acide aminés dont :

- Quatre liaisons hydrogène sont formées, deux entre l'oxygène du composé Curcumin 4'-O-beta-D-gentiobioside et les résidus Arg1027 et Gly922, et deux liaisons sont formées entre l'hydrogène du groupement carboxyle et les résidus Asp814, Ile1025.
- Six liaisons de types Pi-Alkyl pour les résidus Leu889, Cys919, Val848, Leu1035, Leu840, Ala866.

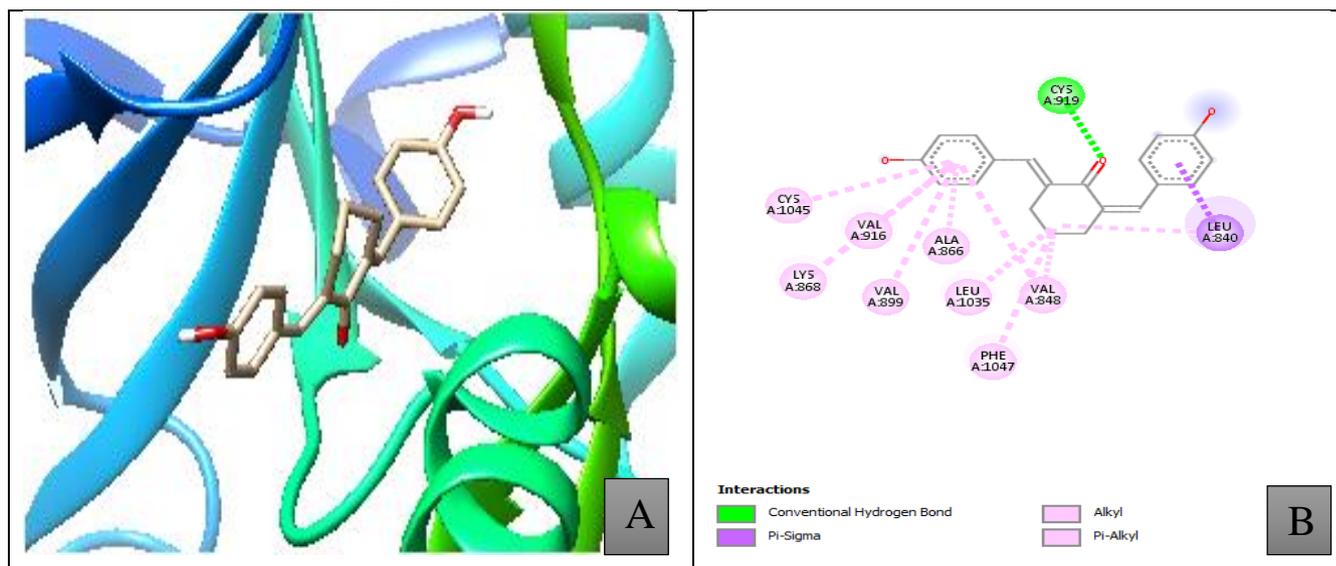


**Figure 24:** Représentation des interactions entre Curcumin 4'-O-beta-D-gentiobioside et le site actif du VEGFR2 par UCSF Chimera (A) et les interactions par DSV (B).

➤ **Interaction entre 2,6-Bis(4-hydroxybenzylidene) cyclohexanone et le site actif (Figure 25)**

2,6-Bis(4-hydroxybenzylidene) cyclohexanone présente un score de liaison égale -10,1 Kcal/mol, l'analyse visuelle réalisée par DSV montre que l'inhibiteur 1909086 est bien placé dans le site actif de la protéine VEGFR2 où il est stabilisé par de nombreuses liaisons grâce à 7 acides aminés dont :

- Une liaison hydrogène formé par Cys919.
- Six liaisons de types Pi-Alkyl pour les résidus Lys868, Val899, Val916, Ala866, Cys1045 et Val848 plus une liaison de type Pi-sigma pour Leu840.
- Quatre liaisons Alkyl par Leu840, Val848, Phe1047 et Leu1035.

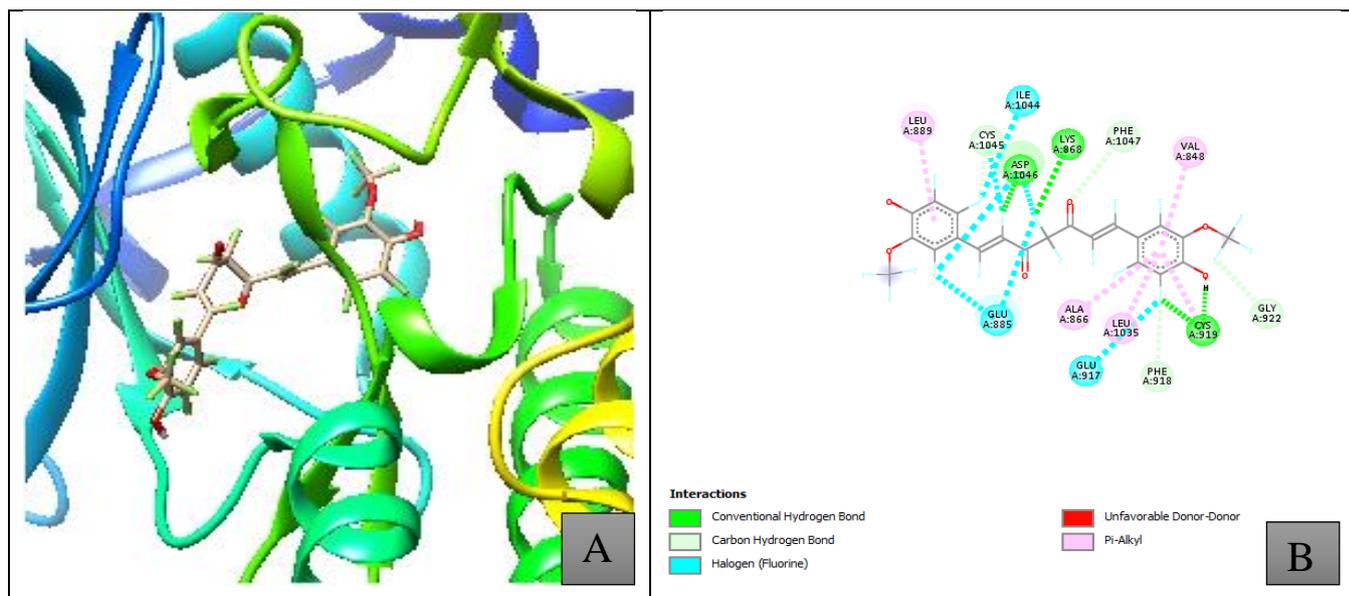


**Figure 25:** Représentation des interactions entre 2,6-Bis(4-hydroxybenzylidene)cyclohexanone et le site actif du VEGFR2 par UCSF Chimera (A) et les interactions par DSV (B).

➤ **Interaction Perfluoro curcumine et le site actif (Figure 26)**

Perfluoro curcumine présente un score de liaison égale -10,1Kcal/mol, l'analyse visuelle réalisée par DSV montre que l'inhibiteur129863789 est bien placé dans le site actif de la protéine VEGFR2 où il est stabilisé par de nombreuses liaisons grâce à 13 acide aminés dont :

- Deux liaisons hydrogène sont formées, deux entre l'oxygène du composé et Perfluoro curcumine les résidus Asp1046et deux liaisons sont formées entre l'hydrogène du groupement carboxyle et les résidus Asp814, Ile102.
- Cinq liaisons hydrogène sont formées, deux par Cys919, deux par Asp1046 et une liaison par Lys868.
- Trois liaisons de type carbone hydrogène Gly922, Phe918, Cys1045
- Cinq liaisons de types Pi-Alkyl par les résidus Leu889, Leu1035, Val848, Ala866, Leu840 et Cys919.
- Sept liaisons halogène pour Glu885, Glu917, Ile1044.



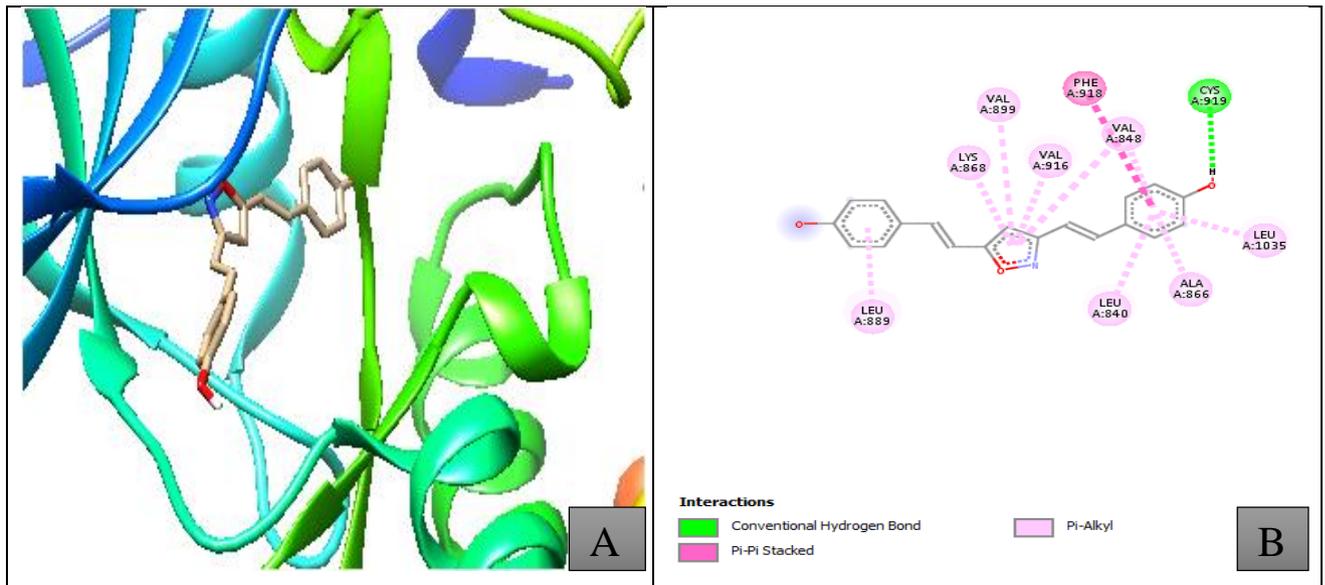
**Figure 26:** Représentation des interactions entre Perfluoro curcumine et le site actif du VEGFR2 par UCSF Chimera (A) et les interactions par DSV (B).

➤ **Interaction de Bisdemethoxycurcumin isoxazole et le site actif (Figure 27)**

Bisdemethoxycurcumin isoxazole présente un score de liaison égale -10,0Kcal/mol, l'analyse visuelle réalisée par DSV montre que l'inhibiteur 135894687 est bien placé dans le site actif de la protéine VEGFR2 où il est stabilisé par de nombreuses liaisons grâce 10

Acides aminés dont :

- Une liaison hydrogène formé par Cys919.
- Neuf liaisons de types Pi-Alkyl pour les résidus Lys868, Val889, Val916, Val848, Leu1035, Ala866, Leu889 et Leu 840 plus une liaison de type Pi-Pi stacked pour Phe918.

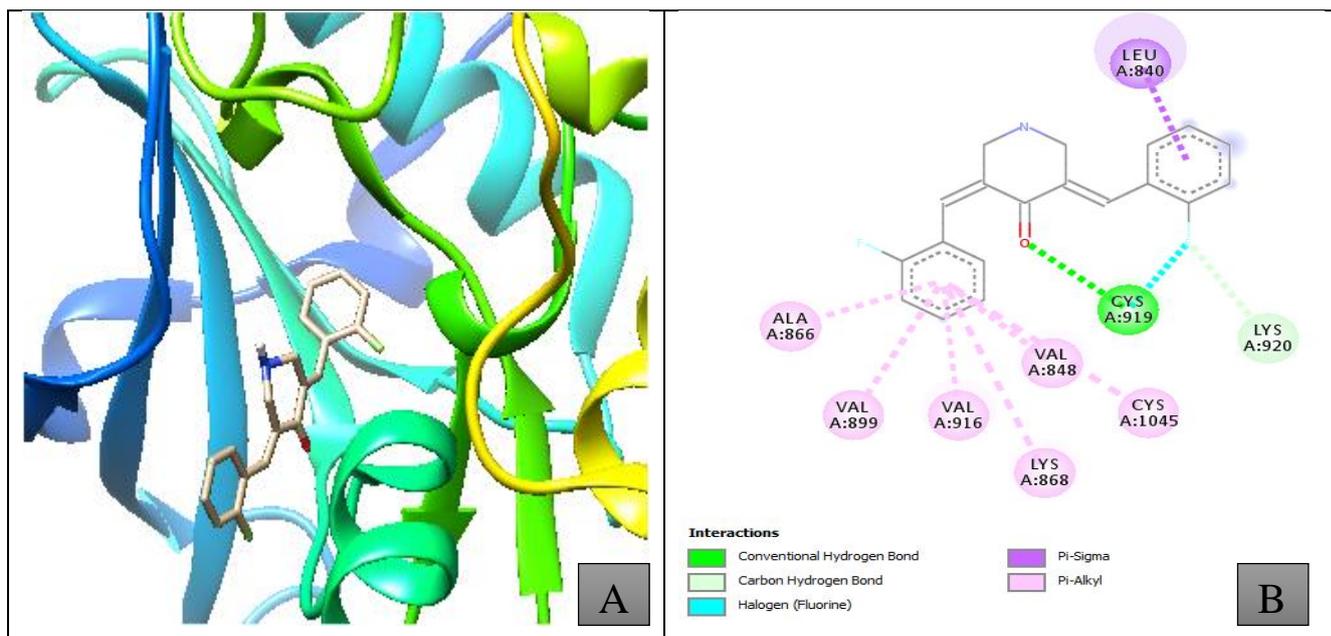


**Figure 27:** Représentation des interactions entre Bisdemethoxycurcumin isoxazole et le site actif du VEGFR2 par UCSF Chimera (A) et les interactions par DSV (B).

➤ **Interaction de 3,5-Bis(2-fluorobenzylidene) -4-piperidone et le site actif (Figure 28)**

3,5-Bis(2-fluorobenzylidene) -4-piperidone présente un score de liaison égale -9,8Kcal/mol l'analyse visuelle réalisée par DSV montre que l'inhibiteur 66993057 est bien placé dans le site actif de la protéine VEGFR2 où il est stabilisé par de nombreuses liaisons grâce à 9 acides aminés dont :

- Une liaison hydrogène formé par Cys919.
- Une liaison carbone hydrogène formé par Lys920.
- Sept liaisons de types Pi-Alkyl formées par les résidus Ala866, Val899, Val916, Lys868, Val848, Cys1045 plus une liaison de type Pi-sigma par le résidu Leu840.



**Figure 28:** Représentation des interactions entre 3,5-Bis(2-fluorobenzylidene).

Ces dérivés ont été correctement ancrés dans la poche de la liaison du VEGFR2 car ils partageaient des modes d'amarrage presque similaires les uns avec les autres. Après avoir comparé la structure du site actif de la protéine cible (VEGFR2) présentée dans le chapitre 1 (Figure 7) avec la représentation des interactions de chaque complexe protéine–ligand obtenue dans cette étude, nous avons constaté que ces interactions se produisent au niveau des mêmes acides aminés composant le site actif du VEGFR2.

D'après nos résultats et selon les travaux antérieurs, il est montré que l'axitinib, un puissant inhibiteur de la tyrosine kinase, repose sur les résidu clé Leu840, Val848, Ala866, Lys868, Leu889, Val899, Val916, Glu917, Phe918, Cys919, Gly922, Leu1035, Cys1045, Asp1046, Phe1047 et forme quatre liaison hydrogène avec Cys919, Glu917, Glu885, Asp1046 (**Li et al., 2014; Rampogu et al., 2018**).

Après avoir fait une comparaison des interactions de chaque complexe protéine-ligand obtenue par DSV avec celles obtenue avec l'axitinib, il a été constaté que les inhibiteurs et l'axitinib partageaient leurs liaison hydrogène avec Cys919, malgré le nombre des liaison hydrogène formé avec les ligands soit deux ou trois inférieur à celui de l'axitinib, il était comparable à d'autres égards, comme il est montré dans les résultats obtenue par DSV, ces molécules ont été ancrées dans la poche hydrophobe formée par Val848, Val899, Val914, Val916, Ala866, Cys1045 et Phe1047. En plus des fortes interactions hydrophobes, les inhibiteurs ont été placés dans la poche de liaison du VEGFR-2 vers le motif DFG (Asp1046-Phe1047-Gly1048) de la

boucle d'activation. Il est connu que le changement conformationnel du motif DFG améliore la capacité des protéines tyrosine kinases à se lier à l'ATP et permet la phosphorylation des protéines tyrosine kinases, entraînant l'activation des kinases. Ainsi, l'interaction VEGFR-2-ligand perturberait le changement allostérique de ce motif et par conséquent inhiberait l'activité kinase (**Li et al., 2014**).

Presque les mêmes résultats obtenues dans l'étude de Ji et al (2018) basée sur l'inhibition du VEGFR2 par la rutacecarpine à l'aide d'étude d'amarrage, trouve que cette dernière est bien liée au site actif du VEGFR2 car elle se fixe sur les résidus (Lys920, Phe918, Cys919, Glu917, Val916, Leu840, Asn923, Gly922, Gly841, Leu1035, Val848, Val899 et Ala866), en formant une liaison hydrogène avec Cys919, une liaison pi-sigma avec Leu840. De plus, d'autres interactions faibles, telles que les liaisons pi-alkyle, alkyle et carbone-hydrogène, ont contribué à l'affinité de liaison de Rut avec VEGFR2 (**Ji et al., 2018**).

D'autre étude *in silico* sur l'inhibition du VEGFR2 à partir des dérivés de la *Pueraria Tuberosa* trouve que tuberostan interagit plus efficacement avec le domaine kinase intracellulaire du VEGFR2 via onze acides aminés hydrophobes, dont Leu840, Val848, Lys868, Lys920, Leu889, Val899, Val916, Glu885, Phe918, Leu833, Cys919, Gly922, Cys1045, Asp1046, et Phe1047 (**Asthana1 et al., 2015**).

Le score négatif et inférieur ainsi que les modes de liaison appropriés observés pour ces dérivés suggèrent qu'ils pourraient cibler le VEGFR-2 avec une forte affinité, similaire à l'axitinib. Nous constatons une concordance entre nos résultats et les études précédentes, où nous avons identifié les mêmes résidus d'acides aminés associés aux meilleurs inhibiteurs. Par conséquent, ces dérivés pourraient être considérés comme des inhibiteurs potentiels du VEGFR-2 pour la thérapie anti-angiogénèse.

### 3 Evaluation des propriétés pharmacologiques

Plusieurs études corroborent l'idée qu'un bon candidat médicament doit non seulement présenter une activité élevée envers la cible, mais également posséder des propriétés ADMET (absorption, distribution, métabolisme, excrétion et toxicité) compatibles avec une application biologique. Dans ce contexte, il était essentiel de renforcer notre étude en évaluant certaines propriétés physico-chimiques et pharmacocinétiques régissant les critères ADMET des meilleurs composés présentés par Disalicyloyl curcumin, Curcumin glucuronid, Curcumin 4'-O-beta-D gentiobioside, Perfluoro curcumine, 2,6-Bis(4-hydroxybenzylidene) cyclohexanone, Bisdemethoxycurcumin isoxazole, 3,5-Bis(2-fluorobenzylidene) -4-piperidone. Comme montre le tableau ci-dessous :

**Tableau 4 :** Profil ADME des 7 meilleurs inhibiteurs obtenus par le serveur Swiss ADME.

Inhibiteurs	$\Delta G^\circ$ (Kcal/mol)	Lipophilie - $0,7 < XLOG3 < +5,0$	Polarité Å $20 \text{Å} < TPS < 130 \text{Å}^2$	Flexibilité $0 < N^\circ, \text{rotable} < 9$	Instauration $0,25 < \text{Fraction} < 1$	Insolubilité $-6 < \text{LogS} < 0$	AGI
129845690	-11,2	6.62	167.66	13	0.09	-7.32	Bas
71315012	-10,5	1,64	189.28	11	0,30	-5,23	Bas
46926100	-10,2	0.03	254.52	16	0,42	-3.48	Bas
129863789	-10,1	7.37	93.06	10	0.14	-8.31	Bas
1909086	-10,1	4.35	57.53	2	0.15	-4.73	Haute
135894687	-10,1	4.27	66.49	4	0.00	-4.71	Haute
66993057	9,8	3.11	29.10	2	0.11	-4.15	haute

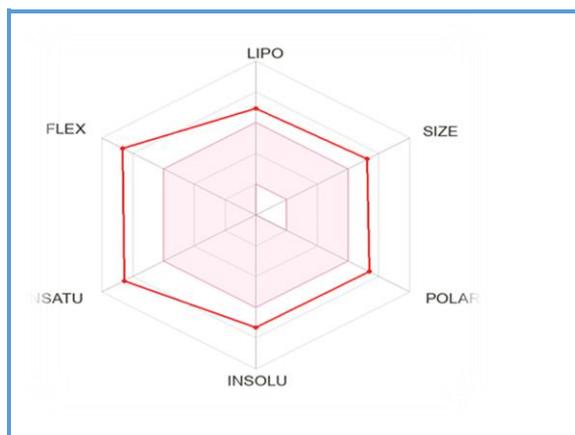
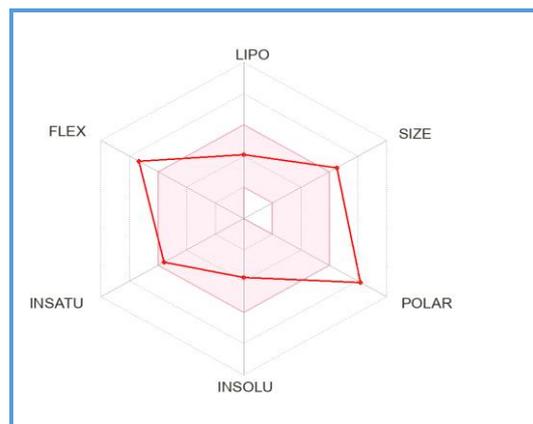
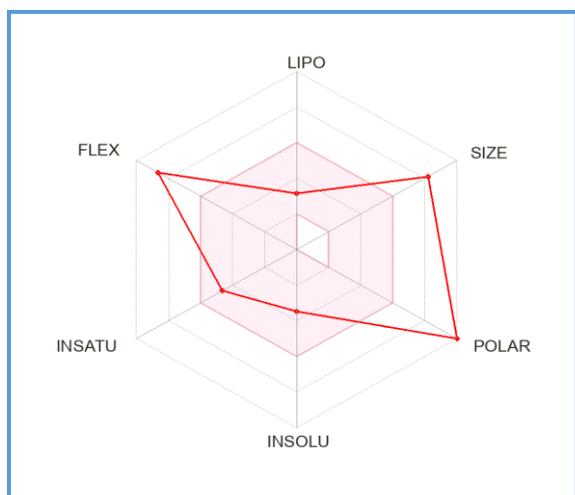
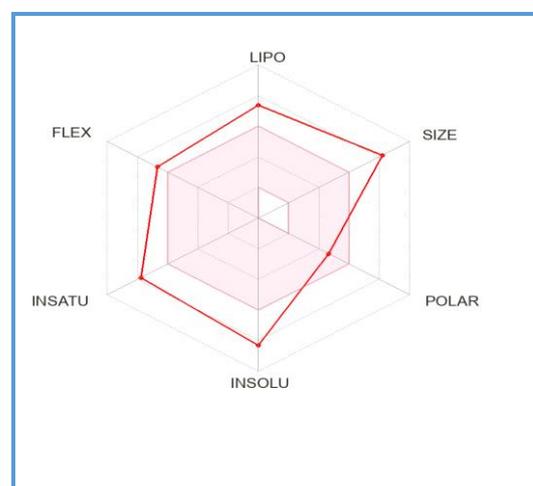
### 3.1 Propriétés physico-chimiques

#### ➤ La règle des cinq de Lipinski

La règle des cinq de Lipinski est utilisée pour évaluer la biodisponibilité orale d'un composé. Selon cette règle, les composés qui ne satisfont pas au moins trois des cinq critères suivants sont susceptibles de présenter des difficultés d'administration par voie orale (**Lipinski et al., 2001**).

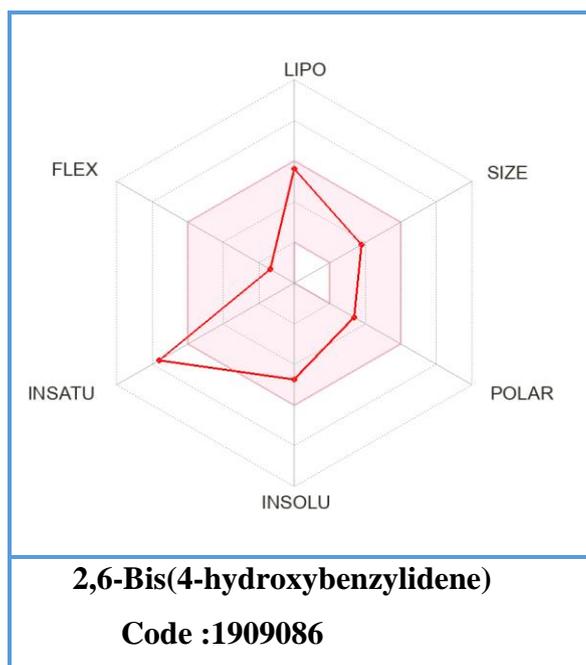
- Poids moléculaire (PM)  $\leq 500$  Da ;
- Coefficients de partage octanol-eau (log P)  $\leq 5$  ;
- Le nombre d'accepteur d'hydrogène (n. ON)  $\leq 10$  ;
- Le nombre de donneur d'hydrogène (n. OHNH)  $H \leq 5$  ;
- Le nombre de liaisons flexibles (n. LF)  $< 15$ .

Le Disalicyloyl curcumin, Curcumin glucuronid, Curcumin 4'-O-beta-D gentiobioside et Perfluoro curcumine sont les composés qui ont l'affinité la plus élevée contre le VEGFR2 parmi ceux testés dans ce travail. Ils sont prédits comme non-biodisponibles par voie orale car ils dépassent la gamme optimale sur le radar de biodisponibilité et présentant des taux très variés par rapport aux intervalles des propriétés physico-chimique, ainsi suite à la détection des violations des règles de Lipinski par la présentation de Disalicyloyl curcumin d'une violation (MW>500), Curcumin glucuronid 2 violations (MW>500, NorO>10), Curcumin 4'-O-beta-D 3 violations (MW>500, NorO>10) et Perfluoro curcumine 2 violations (MW>500, MLOGP>4.15) (**Figure 29**).

**Disalicyloyl curcumin****Code :129845690****Curcumin glucuronid****Code : 71315012****Curcumin 4'-O-beta-D gentiobioside****Code : 46926100****Perfluoro curcumine****Code : 129863789**

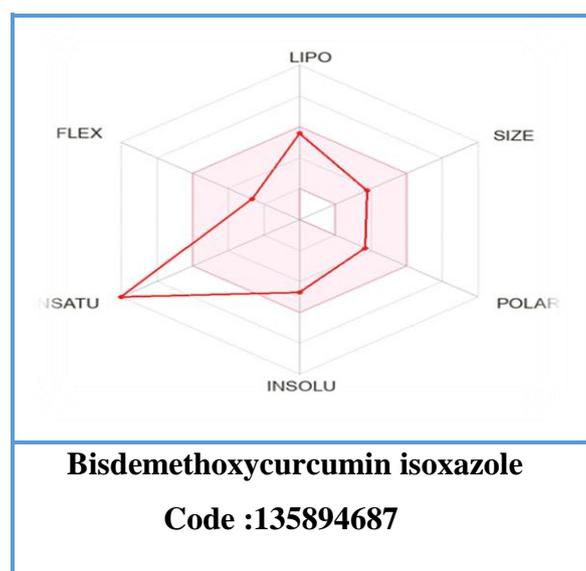
**Figure 29:** Radar De Biodisponibilité de Disalicyloyl curcumin, Curcumin glucuronid ,Curcumin 4'-O-beta-D gentiobioside et Perfluoro curcumine

Le 2,6-Bis(4-hydroxybenzylidene) cyclohexanone malgré qu'il présente un taux d'insaturation légèrement inférieur à la gamme optimale, il répond parfaitement à la règle de cinq de Lipinski (0 violation). C'est pour cela, il est peut-être utilisé comme inhibiteurs de l'angiogenèse biodisponible par voie orale (**Figure 30**).



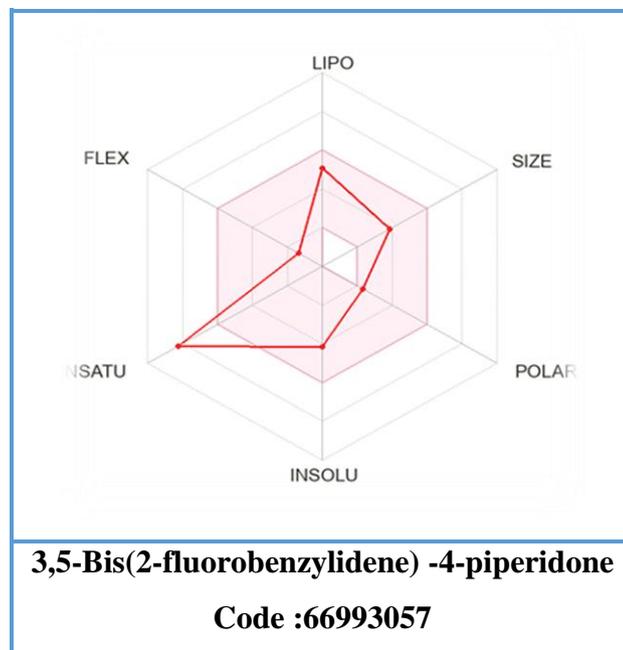
**Figure 30:** Radar de biodisponibilité de 2,6-Bis(4-hydroxybenzylidene)

Le Bisdemethoxycurcumin isoxazole malgré qu'il présente un taux d'insaturation inférieur à la gamme optimale, il répond parfaitement à la règle de cinq de Lipinski (0 violation). C'est pour cela, il est capable d'utiliser comme inhibiteurs de l'angiogenèse biodisponible par voie orale (**Figure31**).



**Figure 31:** Radar de biodisponibilité de Bisdemethoxycurcumin isoxazole

Le 3,5-Bis(2-fluorobenzylidene) -4-piperidone malgré qu'il présente un taux d'insaturation légèrement inférieur à la gamme optimale, il répond parfaitement à la règle de cinq de Lipinski (0 violation). C'est pour cela, il est capable d'utiliser comme inhibiteurs de l'angiogenèse biodisponible par voie orale (**Figure 32**).



**Figure 32:** Radar de biodisponibilité de 3,5-Bis(2-fluorobenzylidene) -4-piperidone

### 3.2 Propriétés pharmacocinétiques

Un bon candidat médicament doit être rapidement et complètement absorbé par voie gastro-intestinale, distribué spécifiquement vers son site d'action dans le corps, métabolisé d'une manière à ne pas altérer les fonctions de l'organisme, et éliminé de manière appropriée sans causer des dommages.

Dans notre travail, à l'aide du serveur Swiss ADME, Nous avons trouvé que 2,6-Bis(4-hydroxybenzylidene) cyclohexanone, Bisdemethoxycurcumin isoxazole et 3,5-Bis(2-fluorobenzylidene) -4-piperidone portent un GI absorption très élevés. Ce qui indique que ces composés sont capables de traverser la barrière gastro-intestinale pour accéder au sang.

À la lumière de ce travail, nous pouvons postuler que les composés 2,6-Bis(4-hydroxybenzylidene) cyclohexanone, Bisdemethoxycurcumin isoxazole et 3,5-Bis(2-fluorobenzylidene) -4-piperidone avec ont un bon profil ADME et un pouvoir inhibiteur potentiellement élevé envers la cible, et peuvent par conséquent être proposés comme nouveaux inhibiteurs du VEGFR2 pour le traitement du cancer. Les informations que nous avons fournies seront très utiles lors de leur optimisation pour devenir des candidats médicament.

# **Conclusion**

Le présent travail a pour but d'étudier et développer de nouveaux inhibiteurs du récepteur 2 de facteur de croissance endothéliale vasculaire impliqué dans l'angiogenèse tumorale à partir de dérivés naturels par une approche *in silico*. Pour cela, nous avons choisi le docking moléculaire qui est la méthode la plus prometteuse en bio-informatique pour la prédiction des interactions entre les inhibiteurs et la protéine cible afin de contribuer à la découverte et le développement de nouveaux inhibiteurs plus puissants et plus efficaces contre l'angiogenèse tumorale.

Le docking moléculaire avec Autodock Vina sous UCSF Chimera nous a permis de sélectionner 7 composés parmi 50 analogues de la curcumine testés. Ces molécules dont le code 129845690, 71315012, 46926100, 129863789, 1909086, 135894687 et 66993057 ont montré les meilleures affinités pour le VEGFR2 avec les valeurs de  $\Delta G^\circ$  les plus faibles avec des scores égaux à -11,2, -10,5, -10,2, -10,1, -10,1, -10,1 et -9,8 Kcal/mol respectivement.

Ensuite, une analyse des interactions entre le domaine tyrosine kinase du VEGFR2 et les inhibiteurs réalisés à l'aide du logiciel DSV, ainsi que l'étude des propriétés physico-chimiques des molécules testées par Swiss ADME nous ont permis de prédire les composés 2,6-Bis(4-hydroxybenzylidene) cyclohexanone, Bisdemethoxycurcumin isoxazole et 3,5-Bis(2-fluorobenzylidene) -4-piperidone comme des inhibiteurs biodisponibles par voie orale. Par conséquent, les trois inhibiteurs du VEGFR-2 testés dans notre étude sont supposés prévenir ou ralentir la croissance de telles tumeurs malignes. Outre le cancer et les maladies inflammatoires, l'angiogenèse est également un facteur pathogène de l'hypertension pulmonaire et des maladies oculaires. C'est-à-dire que ces inhibiteurs du VEGFR-2 peuvent également fonctionner comme des médicaments pour ces troubles.

Pour des perspectives futures, il est recommandé de poursuivre cette étude en explorant d'autres inhibiteurs naturels ciblant le récepteur 2 de facteur de croissance endothéliale vasculaire. Il serait également important de confirmer ces résultats théoriques par le biais d'études expérimentales *in vitro* et/ou *in vivo*.

# **Références bibliographiques**

### (A)

- Aggoune, chérifa. (2015). *Effets de l'homocystéine sur les processus angiogéniques et l'invasion tumorale du tissu endothélial in vivo et in vitro* [Université Frères Mentouri - Constantine 1]. <http://depot.umc.edu.dz/handle/123456789/4765>
- Al-Sanea, M. M., Chilingaryan, G., Abelyan, N., Sargsyan, A., Hovhannisyan, S., Gasparyan, H., Gevorgyan, S., Albogami, S., Ghoneim, M. M., Farag, A. K., Mohamed, A. A. B., & El-Damasy, A. K. (2021). Identification of Novel Potential VEGFR-2 Inhibitors Using a Combination of Computational Methods for Drug Discovery. *Life*, *11*(10), 1070. <https://doi.org/10.3390/life11101070>
- Asthana<sup>1</sup>, S., Agarwal<sup>1</sup>, T., Singothu<sup>1</sup>, S., Samal<sup>2</sup>, A., Banerjee<sup>1</sup>, I., Pal<sup>1</sup>, K., Pramanik<sup>1</sup>, K., & Ray<sup>1</sup>, S. S. (2015). Molecular docking and interactions of pueraria tuberosa with vascular endothelial growth factor receptors. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, *77*(4), 439. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.164780>

### (B)

- Baish, J. W., & Jain, R. K. (2000). Fractals and cancer. *Cancer Research*, *60*(14), 3683-3688.
- Bergers, G., & Benjamin, L. E. (2003). Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nature Reviews. Cancer*, *3*(6), 401-410. <https://doi.org/10.1038/nrc1093>
- Bergers, G., & Hanahan, D. (2008). Modes of resistance to anti-angiogenic therapy. *Nature Reviews Cancer*, *8*(8), 592-603. <https://doi.org/10.1038/nrc2442>
- Berman, H. M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T. N., Weissig, H., Shindyalov, I. N., & Bourne, P. E. (2000). The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*, *28*(1), 235-242. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>

### (C)

- Cai, J., Jiang, W. G., Ahmed, A., & Boulton, M. (2006). Vascular endothelial growth factor-induced endothelial cell proliferation is regulated by interaction between VEGFR-2, SH-PTP1 and eNOS. *Microvascular Research*, *71*(1), 20-31. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2005.10.004>
- Caquelin-Guyot, P. (2010). *Effets secondaires cutanés des traitements anti-angiogéniques : Sorafénib, Sunitinib, et Bévacicumab. Mise au point sur les réactions acrales.*

- Carmeliet, P. (2000). Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nature Medicine*, 6(4), 389-395. <https://doi.org/10.1038/74651>
- Carmeliet, P. (2005). Angiogenesis in life, disease and medicine. *Nature*, 438(7070), 932-936. <https://doi.org/10.1038/nature04478>
- Carmeliet, P., & Jain, R. K. (2000). Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature*, 407(6801), 249-257. <https://doi.org/10.1038/35025220>
- Carmeliet, P., & Jain, R. K. (2011). Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. *Nature*, 473(7347), 298-307. <https://doi.org/10.1038/nature10144>
- Cébe-Suarez, S., Zehnder-Fjällman, A., & Ballmer-Hofer, K. (2006). The role of VEGF receptors in angiogenesis; complex partnerships. *Cellular and Molecular Life Sciences : CMLS*, 63(5), 601-615. <https://doi.org/10.1007/s00018-005-5426-3>
- Clou, E., & Luque, Y. (2022). [Angiogenesis inhibitors : Mechanism of action and nephrotoxicity]. *Nephrologie & Therapeutique*, 18(1), 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.nephro.2021.08.004>
- (D)**
- Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME : A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, 7, 42717. <https://doi.org/10.1038/srep42717>
- Dallakyan, S., & Olson, A. J. (2015). Small-molecule library screening by docking with PyRx. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 1263, 243-250. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2269-7\\_19](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2269-7_19)
- Dayanir, V., Meyer, R. D., Lashkari, K., & Rahimi, N. (2001). Identification of Tyrosine Residues in Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2/FLK-1 Involved in Activation of Phosphatidylinositol 3-Kinase and Cell Proliferation. *Journal of Biological Chemistry*, 276(21), 17686-17692. <https://doi.org/10.1074/jbc.M009128200>
- De Vries, C., Escobedo, J. A., Ueno, H., Houck, K., Ferrara, N., & Williams, L. T. (1992). The *fms* -Like Tyrosine Kinase, a Receptor for Vascular Endothelial Growth Factor. *Science*, 255(5047), 989-991. <https://doi.org/10.1126/science.1312256>

- Distler, J. H. W., Hirth, A., Kurowska-Stolarska, M., Gay, R. E., Gay, S., & Distler, O. (2003). Angiogenic and angiostatic factors in the molecular control of angiogenesis. *The Quarterly Journal of Nuclear Medicine: Official Publication of the Italian Association of Nuclear Medicine (AIMN) [and] the International Association of Radiopharmacology (IAR)*, 47(3), 149-161.
- Djonov, V., Baum, O., & Burri, P. H. (2003). Vascular remodeling by intussusceptive angiogenesis. *Cell and Tissue Research*, 314(1), 107-117. <https://doi.org/10.1007/s00441-003-0784-3>
- (F)
- Favre, G. (2014). Le devenir des thérapeutiques ciblant la voie RAS/RAF/ MEK/ERK en cancérologie : L'exemple des mélanomes. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, 198(2), 321-338. [https://doi.org/10.1016/S0001-4079\(19\)31345-7](https://doi.org/10.1016/S0001-4079(19)31345-7)
- Fernandez, P. M., Tabbara, S. O., Jacobs, L. K., Manning, F. C., Tsangaris, T. N., Schwartz, A. M., Kennedy, K. A., & Patierno, S. R. (2000). Overexpression of the glucose-regulated stress gene GRP78 in malignant but not benign human breast lesions. *Breast Cancer Research and Treatment*, 59(1), 15-26. <https://doi.org/10.1023/a:1006332011207>
- Ferrara, N., & Henzel, W. J. (1989). Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 161(2), 851-858. [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(89\)92678-8](https://doi.org/10.1016/0006-291x(89)92678-8)
- Ferrara, N., & Kerbel, R. S. (2005). Angiogenesis as a therapeutic target. *Nature*, 438(7070), 967-974. <https://doi.org/10.1038/nature04483>
- Fu, Z., Chen, X., Guan, S., Yan, Y., Lin, H., & Hua, Z.-C. (2015). Curcumin inhibits angiogenesis and improves defective hematopoiesis induced by tumor-derived VEGF in tumor model through modulating VEGF-VEGFR2 signaling pathway. *Oncotarget*, 6(23), 19469-19482.

### (G)

- Gacche, R. N., & Meshram, R. J. (2014). Angiogenic factors as potential drug target : Efficacy and limitations of anti-angiogenic therapy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, 1846(1), 161-179. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2014.05.002>
- Garofalo, A. (2009). *Conception, synthèse et évaluation pharmacologique de nouveaux dérivés quinazoliques à visée anticancéreuse potentielle* [These de doctorat, Lille 2]. <https://www.theses.fr/2009LIL2S019>
- Gerber, H. P., Dixit, V., & Ferrara, N. (1998). Vascular endothelial growth factor induces expression of the antiapoptotic proteins Bcl-2 and A1 in vascular endothelial cells. *The Journal of Biological Chemistry*, 273(21), 13313-13316. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.21.13313>
- Giménez-Bastida, J. A., Ávila-Gálvez, M. Á., Carmena-Bargueño, M., Pérez-Sánchez, H., Espín, J. C., & González-Sarrías, A. (2022). Physiologically relevant curcuminoids inhibit angiogenesis via VEGFR2 in human aortic endothelial cells. *Food and Chemical Toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 166, 113254. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2022.113254>
- Guyot, M. (2013). *Les thérapies anti-angiogéniques : Entre espoir et réalité. Vers l'identification de marqueurs prédictifs et de nouvelles cibles thérapeutiques dans le traitement du cancer du rein* [Phdthesis, Université Nice Sophia Antipolis]. <https://theses.hal.science/tel-00875097>

### (H)

- Halimi, J.-M., Azizi, M., Bobrie, G., Bouché, O., Deray, G., Des Guetz, G., Lecomte, T., Levy, B., Mourad, J.-J., Nochy, D., Oudard, S., Rieu, P., & Sahali, D. (2008). Effets vasculaires et rénaux des médicaments anti-angiogéniques : Recommandations françaises pour la pratique (SN, SFHTA, APNET, FFCF). *Néphrologie & Thérapeutique*, 4(7), 602-615. <https://doi.org/10.1016/j.nephro.2008.10.002>
- Hamberg, P., Verweij, J., & Sleijfer, S. (2010). (Pre-)Clinical Pharmacology and Activity of Pazopanib, a Novel Multikinase Angiogenesis Inhibitor. *The Oncologist*, 15(6), 539-547. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2009-0274>

- Hanahan, D., & Folkman, J. (1996). Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell*, *86*(3), 353-364. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80108-7](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80108-7)
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell*, *100*(1), 57-70. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81683-9](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81683-9)
- Harada, N., Okuyama, M., Teraoka, Y., Arahori, Y., Shinmori, Y., Horiuchi, H., Luis, P. B., Joseph, A. I., Kitakaze, T., Matsumura, S., Hira, T., Yamamoto, N., Iuni, T., Goshima, N., Schneider, C., Inui, H., & Yamaji, R. (2022). Identification of G protein-coupled receptor 55 (GPR55) as a target of curcumin. *Npj Science of Food*, *6*(1), 4. <https://doi.org/10.1038/s41538-021-00119-x>
- Hashem, S., Ali, T. A., Akhtar, S., Nisar, S., Sageena, G., Ali, S., Al-Mannai, S., Therachiyil, L., Mir, R., Elfaki, I., Mir, M. M., Jamal, F., Masoodi, T., Uddin, S., Singh, M., Haris, M., Macha, M., & Bhat, A. A. (2022). Targeting cancer signaling pathways by natural products : Exploring promising anti-cancer agents. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *150*, 113054. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113054>
- Hicklin, D. J., & Ellis, L. M. (2005). Role of the Vascular Endothelial Growth Factor Pathway in Tumor Growth and Angiogenesis. *Journal of Clinical Oncology*, *23*(5), 1011-1027. <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.06.081>
- Holmes, K., Roberts, O. L., Thomas, A. M., & Cross, M. J. (2007). Vascular endothelial growth factor receptor-2 : Structure, function, intracellular signalling and therapeutic inhibition. *Cellular Signalling*, *19*(10), 2003-2012. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2007.05.013>

### (J)

- Jain, R. K. (2005). Normalization of tumor vasculature : An emerging concept in antiangiogenic therapy. *Science (New York, N.Y.)*, *307*(5706), 58-62. <https://doi.org/10.1126/science.1104819>
- Jemal, A., Siegel, R., Ward, E., Hao, Y., Xu, J., Murray, T., & Thun, M. J. (2008). Cancer Statistics, 2008. *CA : A Cancer Journal for Clinicians*, *58*(2), 71-96. <https://doi.org/10.3322/CA.2007.0010>

Ji, L., Wu, M., & Li, Z. (2018). Rutacecarpine Inhibits Angiogenesis by Targeting the VEGFR2 and VEGFR2-Mediated Akt/mTOR/p70s6k Signaling Pathway. *Molecules : A Journal of Synthetic Chemistry and Natural Product Chemistry*, 23(8), 2047. <https://doi.org/10.3390/molecules23082047>

Joshi, P., Joshi, S., Semwal, D., Bisht, A., Paliwal, S., Dwivedi, J., & Sharma, S. (2021). Curcumin : An Insight into Molecular Pathways Involved in Anticancer Activity. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 21(17), 2420-2457. <https://doi.org/10.2174/1389557521666210122153823>

### (K)

Kerbel, R. S. (2000). Tumor angiogenesis : Past, present and the near future. *Carcinogenesis*, 21(3), 505-515. <https://doi.org/10.1093/carcin/21.3.505>

Klein, M., & Catargi, B. (2007). Le VEGF en physiologie et pathologie thyroïdienne. *Annales d'Endocrinologie*, 68(6), e45-e56. <https://doi.org/10.1016/j.ando.2007.09.005>

Koch, S., & Claesson-Welsh, L. (2012). Signal Transduction by Vascular Endothelial Growth Factor Receptors. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(7), a006502-a006502. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006502>

Koch, S., Tugues, S., Li, X., Gualandi, L., & Claesson-Welsh, L. (2011). Signal transduction by vascular endothelial growth factor receptors. *Biochemical Journal*, 437(2), 169-183. <https://doi.org/10.1042/BJ20110301>

Kowanetz, M., & Ferrara, N. (2006). Vascular Endothelial Growth Factor Signaling Pathways : Therapeutic Perspective. *Clinical Cancer Research*, 12(17), 5018-5022. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-1520>

### (L)

Leite de Oliveira, R., Hamm, A., & Mazzone, M. (2011). Growing tumor vessels : More than one way to skin a cat - implications for angiogenesis targeted cancer therapies. *Molecular Aspects of Medicine*, 32(2), 71-87. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2011.04.001>

- Lengauer, T., & Rarey, M. (1996). Computational methods for biomolecular docking. *Current Opinion in Structural Biology*, 6(3), 402-406. [https://doi.org/10.1016/S0959-440X\(96\)80061-3](https://doi.org/10.1016/S0959-440X(96)80061-3)
- Li, J., Zhou, N., Luo, K., Zhang, W., Li, X., Wu, C., & Bao, J. (2014). In Silico Discovery of Potential VEGFR-2 Inhibitors from Natural Derivatives for Anti-Angiogenesis Therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(9), 15994-16011. <https://doi.org/10.3390/ijms150915994>
- Liévre, A. (2007). *Les antiangiogéniques*. EM-Consulte. <https://www.em-consulte.com/article/132816/les-antiangiogeniques>
- Lipinski, C. A. (2000). Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 44(1), 235-249. [https://doi.org/10.1016/S1056-8719\(00\)00107-6](https://doi.org/10.1016/S1056-8719(00)00107-6)
- Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (2001). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 46(1-3), 3-26. [https://doi.org/10.1016/s0169-409x\(00\)00129-0](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(00)00129-0)
- Liu, B., Earl, H. M., Baban, D., Shoaibi, M., Fabra, A., Kerr, D. J., & Seymour, L. W. (1995). Melanoma Cell Lines Express VEGF Receptor KDR and Respond to Exogenously Added VEGF. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 217(3), 721-727. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1995.2832>
- Liu, W., Zhai, Y., Heng, X., Che, F. Y., Chen, W., Sun, D., & Zhai, G. (2016). Oral bioavailability of curcumin : Problems and advancements. *Journal of Drug Targeting*, 24(8), 694-702. <https://doi.org/10.3109/1061186X.2016.1157883>

### (M)

- Mac Gabhann, F., & Popel, A. S. (2007). Dimerization of VEGF receptors and implications for signal transduction : A computational study. *Biophysical Chemistry*, 128(2-3), 125-139. <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2007.03.010>

- McTigue, M. A., Wickersham, J. A., Pinko, C., Showalter, R. E., Parast, C. V., Tempczyk-Russell, A., Gehring, M. R., Mroczkowski, B., Kan, C. C., Villafranca, J. E., & Appelt, K. (1999). Crystal structure of the kinase domain of human vascular endothelial growth factor receptor 2 : A key enzyme in angiogenesis. *Structure (London, England: 1993)*, 7(3), 319-330. [https://doi.org/10.1016/s0969-2126\(99\)80042-2](https://doi.org/10.1016/s0969-2126(99)80042-2)
- Meyer, R. D., Latz, C., & Rahimi, N. (2003). Recruitment and Activation of Phospholipase C $\gamma$ 1 by Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2 Are Required for Tubulogenesis and Differentiation of Endothelial Cells. *Journal of Biological Chemistry*, 278(18), 16347-16355. <https://doi.org/10.1074/jbc.M300259200>
- Mirabelli, P. (2019). *Inhibitors of corneal inflammation and angiogenesis : Prospectives and challenges* (Vol. 1685). Linköping University Electronic Press. <https://doi.org/10.3384/diss.diva-156415>
- Muller, Y. A., Christinger, H. W., Keyt, B. A., & De Vos, A. M. (1997). The crystal structure of vascular endothelial growth factor (VEGF) refined to 1.93 Å resolution : Multiple copy flexibility and receptor binding. *Structure (London, England : 1993)*, 5(10), 1325-1338. [https://doi.org/10.1016/S0969-2126\(97\)00284-0](https://doi.org/10.1016/S0969-2126(97)00284-0)

### (N)

- Nelson, K. M., Dahlin, J. L., Bisson, J., Graham, J., Pauli, G. F., & Walters, M. A. (2017). The Essential Medicinal Chemistry of Curcumin. *Journal of Medicinal Chemistry*, 60(5), 1620-1637. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b00975>

### (P)

- Pandya, N. M., Dhalla, N. S., & Santani, D. D. (2006). Angiogenesis—A new target for future therapy. *Vascular Pharmacology*, 44(5), 265-274. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2006.01.005>
- Papetti, M., & Herman, I. M. (2002). Mechanisms of normal and tumor-derived angiogenesis. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 282(5), C947-970. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00389.2001>

- Patan, S., Haenni, B., & Burri, P. H. (1996). Implementation of intussusceptive microvascular growth in the chicken chorioallantoic membrane (CAM) : 1. pillar formation by folding of the capillary wall. *Microvascular Research*, *51*(1), 80-98. <https://doi.org/10.1006/mvre.1996.0009>
- Potente, M., Gerhardt, H., & Carmeliet, P. (2011). Basic and therapeutic aspects of angiogenesis. *Cell*, *146*(6), 873-887. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.08.039>
- Poupard, N. (2017). *Conception de polysaccharides sulfatés inhibiteurs de l'héparanase pour le traitement de l'angiogénèse tumorale.*
- Praseetha, N. G., Divya, U. K., & Nair, S. (2022). Identifying the potential role of curcumin analogues as anti-breast cancer agents; an in silico approach. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, *23*(1), 100. <https://doi.org/10.1186/s43042-022-00312-x>
- Pratheeshkumar, P., Budhraj, A., Son, Y.-O., Wang, X., Zhang, Z., Ding, S., Wang, L., Hitron, A., Lee, J.-C., Xu, M., Chen, G., Luo, J., & Shi, X. (2012). Quercetin Inhibits Angiogenesis Mediated Human Prostate Tumor Growth by Targeting VEGFR- 2 Regulated AKT/mTOR/P70S6K Signaling Pathways. *PLoS ONE*, *7*(10), e47516. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047516>

### (Q)

- Qawoogha, S. S., & Shahiwala, A. (2020). Identification of potential anticancer phytochemicals against colorectal cancer by structure-based docking studies. *Journal of Receptors and Signal Transduction*, *40*(1), 67-76. <https://doi.org/10.1080/10799893.2020.1715431>

### (R)

- Rahimi, N. (2006). Vascular endothelial growth factor receptors : Molecular mechanisms of activation and therapeutic potentials. *Experimental Eye Research*, *83*(5), 1005-1016. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2006.03.019>
- Rampogu, S., Baek, A., Zeb, A., & Lee, K. W. (2018). Exploration for novel inhibitors showing back-to-front approach against VEGFR-2 kinase domain (4AG8) employing molecular docking mechanism and molecular dynamics simulations. *BMC Cancer*, *18*, 264. <https://doi.org/10.1186/s12885-018-4050-1>

Ravoire, M., & Barlési, F. (2010). Prise en charge des effets indésirables des anti-angiogéniques et des TKI. *Revue des Maladies Respiratoires Actualités*, 2(3), 269-274. [https://doi.org/10.1016/S1877-1203\(10\)70075-6](https://doi.org/10.1016/S1877-1203(10)70075-6)

Reille-Seroussi, M. (2014). *Système VEGF/VEGFR : Conception et évaluation de molécules ciblées et régulation potentielle par les métaux* [These de doctorat, Paris 5]. <https://www.theses.fr/2014PA05P614>

Roskoski, R. (2008). VEGF receptor protein-tyrosine kinases : Structure and regulation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 375(3), 287-291. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.07.121>

### (S)

Saeed, M. E. M., Yücer, R., Dawood, M., Hegazy, M.-E. F., Drif, A., Ooko, E., Kadioglu, O., Seo, E.-J., Kamounah, F. S., Titinchi, S. J., Bachmeier, B., & Efferth, T. (2022). In Silico and In Vitro Screening of 50 Curcumin Compounds as EGFR and NF- $\kappa$ B Inhibitors. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(7), 3966. <https://doi.org/10.3390/ijms23073966>

Sethi, A., Joshi, K., Sasikala, K., Alvala, M., Sethi, A., Joshi, K., Sasikala, K., & Alvala, M. (2019). Molecular Docking in Modern Drug Discovery : Principles and Recent Applications. In *Drug Discovery and Development—New Advances*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.85991>

Shahik, S. Md., Salauddin, A., Hossain, Md. S., Noyon, S. H., Moin, A. T., Mizan, S., & Raza, Md. T. (2021). Screening of novel alkaloid inhibitors for vascular endothelial growth factor in cancer cells : An integrated computational approach. *Genomics & Informatics*, 19(1), e6. <https://doi.org/10.5808/gi.20068>

Sharifi-Rad, J., Rayess, Y. E., Rizk, A. A., Sadaka, C., Zgheib, R., Zam, W., Sestito, S., Rapposelli, S., Neffe-Skocińska, K., Zielińska, D., Salehi, B., Setzer, W. N., Dosoky, N. S., Taheri, Y., El Beyrouthy, M., Martorell, M., Ostrander, E. A., Suleria, H. A. R., Cho, W. C., ... Martins, N. (2020). Turmeric and Its Major Compound Curcumin on Health : Bioactive Effects and Safety Profiles for Food, Pharmaceutical, Biotechnological and Medicinal Applications. *Frontiers in Pharmacology*, 11. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2020.01021>

- Shibuya, M. (2014). VEGF-VEGFR Signals in Health and Disease. *Biomolecules & Therapeutics*, 22(1), 1-9. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2013.113>
- Simon, T., Gagliano, T., & Giamas, G. (2017). Direct Effects of Anti-Angiogenic Therapies on Tumor Cells: VEGF Signaling. *Trends in Molecular Medicine*, 23(3), 282-292. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2017.01.002>
- Slika, L., & Patra, D. (2020). Traditional Uses, Therapeutic Effects and Recent Advances of Curcumin : A Mini-Review. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 20(12), 1072-1082.
- Stuttfeld, E., & Ballmer-Hofer, K. (2009). Structure and function of VEGF receptors. *IUBMB Life*, 61(9), 915-922. <https://doi.org/10.1002/iub.234>
- Swift, M. R., & Weinstein, B. M. (2009). Arterial-venous specification during development. *Circulation Research*, 104(5), 576-588. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.108.188805>

### (T)

- Takahashi, T. (2001). A single autophosphorylation site on KDR/Flk-1 is essential for VEGF-A-dependent activation of PLC-gamma and DNA synthesis in vascular endothelial cells. *The EMBO Journal*, 20(11), 2768-2778. <https://doi.org/10.1093/emboj/20.11.2768>
- Tao, Q., Backer, M. V., Backer, J. M., & Terman, B. I. (2001). Kinase Insert Domain Receptor (KDR) Extracellular Immunoglobulin-like Domains 4-7 Contain Structural Features That Block Receptor Dimerization and Vascular Endothelial Growth Factor-induced Signaling\*. *Journal of Biological Chemistry*, 276(24), 21916-21923. <https://doi.org/10.1074/jbc.M100763200>
- Teleanu, R. I., Chircov, C., Grumezescu, A. M., & Teleanu, D. M. (2019). Tumor Angiogenesis and Anti-Angiogenic Strategies for Cancer Treatment. *Journal of Clinical Medicine*, 9(1), 84. <https://doi.org/10.3390/jcm9010084>
- Thakker, G., Hajjar, H., Muller, W., & Rosengart, T. (1999). The role of phosphatidylinositol 3-kinase in vascular endothelial growth factor signaling. *The Journal of biological chemistry*, 274(15). <https://doi.org/10.1074/jbc.274.15.10002>

- Tischer, E., Mitchell, R., Hartman, T., Silva, M., Gospodarowicz, D., Fiddes, J. C., & Abraham, J. A. (1991). The human gene for vascular endothelial growth factor. Multiple protein forms are encoded through alternative exon splicing. *Journal of Biological Chemistry*, 266(18), 11947-11954. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)99049-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)99049-6)
- Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina : Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 31(2), 455-461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
- Tung, B. T., Nham, D. T., Hai, N. T., & Thu, D. K. (2019). Chapter 10—Curcuma longa, the Polyphenolic Curcumin Compound and Pharmacological Effects on Liver. In R. R. Watson & V. R. Preedy (Éds.), *Dietary Interventions in Liver Disease* (p. 125-134). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814466-4.00010-0>
- Twombly, R. (2005). Cancer Surpasses Heart Disease as Leading Cause of Death for All But the Very Elderly. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 97(5), 330-331. <https://doi.org/10.1093/jnci/97.5.330>

### (W)

- Woodfin, A., Voisin, M.-B., & Nourshargh, S. (2007). PECAM-1 : A multi-functional molecule in inflammation and vascular biology. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 27(12), 2514-2523. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.107.151456>

### (Y)

- Yoo, S. Y., & Kwon, S. M. (2013). Angiogenesis and its therapeutic opportunities. *Mediators of Inflammation*, 2013, 127170. <https://doi.org/10.1155/2013/127170>

### (Z)

- Zhang, L., Yu, D., Hu, M., Xiong, S., Lang, A., Ellis, L. M., & Pollock, R. E. (2000). Wild-type p53 suppresses angiogenesis in human leiomyosarcoma and synovial sarcoma by transcriptional suppression of vascular endothelial growth factor expression. *Cancer Research*, 60(13), 3655-3661.

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

<http://www.rbvi.ucsf.edu/chimera/>

[http://www.adrianomartinelli.it/Fondamenti/Tutorial\\_0.pdf](http://www.adrianomartinelli.it/Fondamenti/Tutorial_0.pdf)

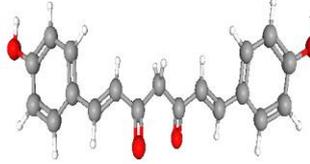
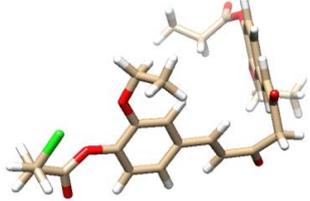
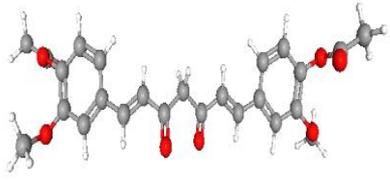
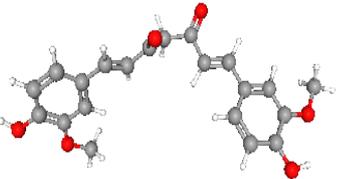
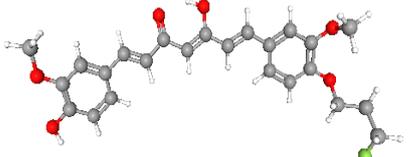
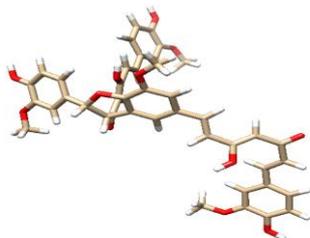
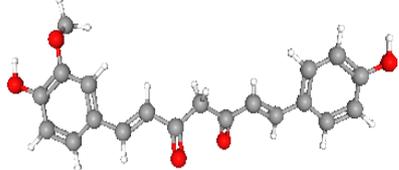
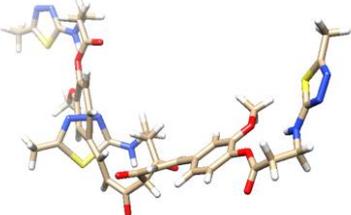
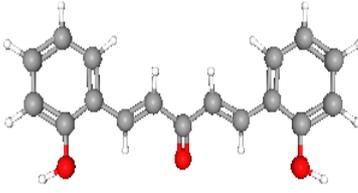
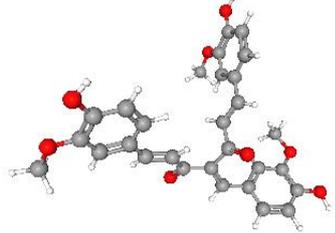
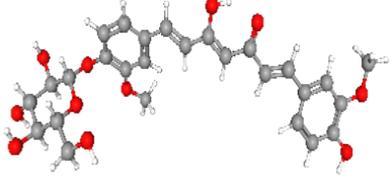
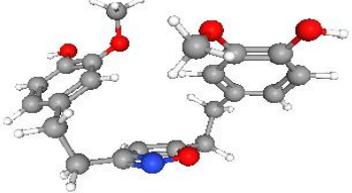
# **Annexes**

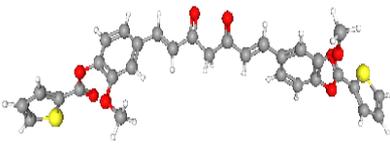
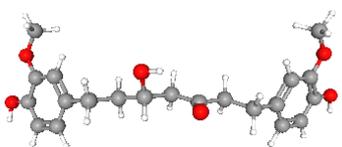
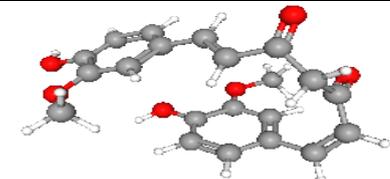
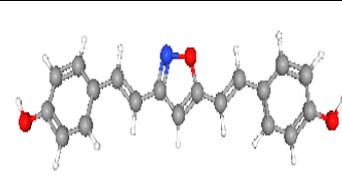
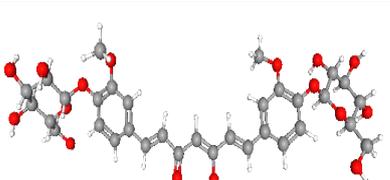
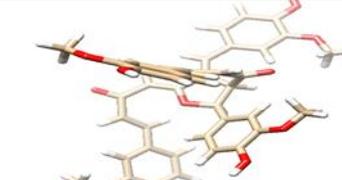
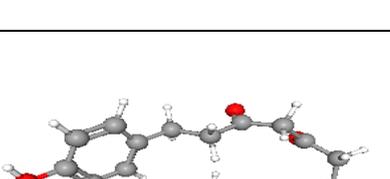
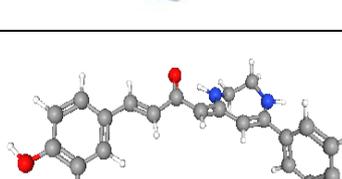
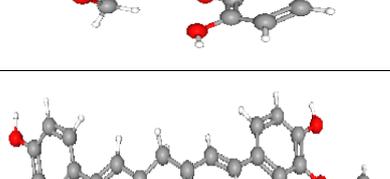
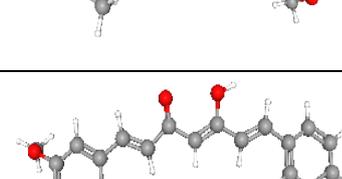
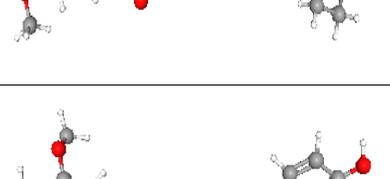
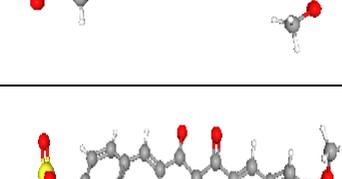
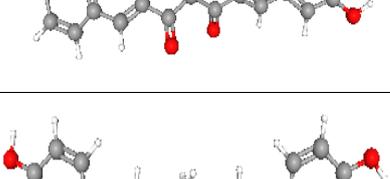
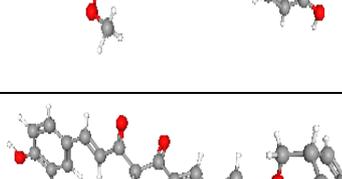
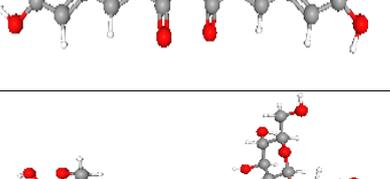
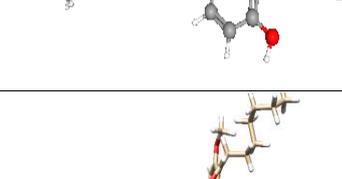
### Annexe 1

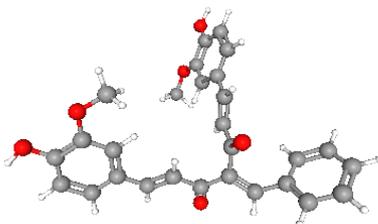
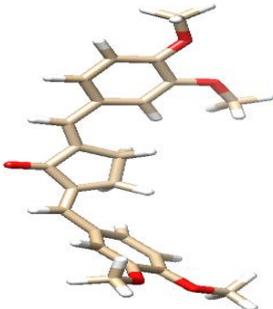
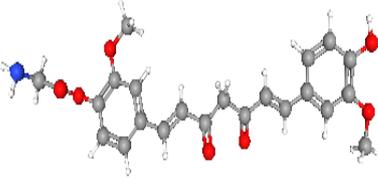
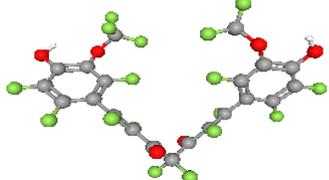
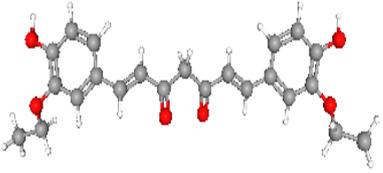
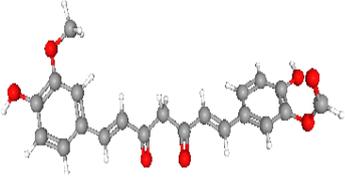
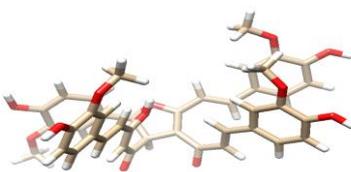
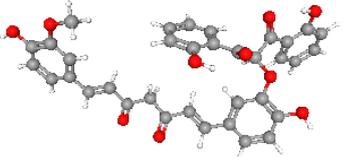
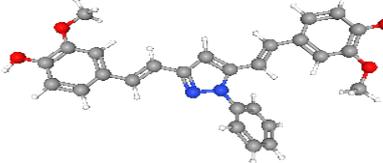
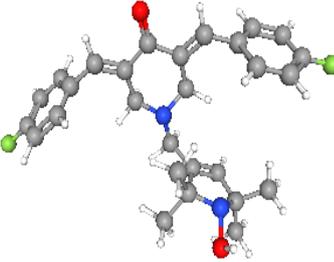
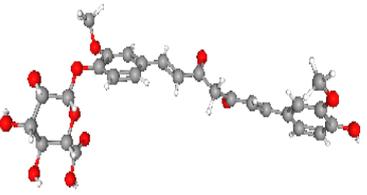
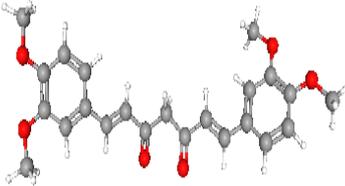
Préparation de la protéine cible pour l'amarrage :

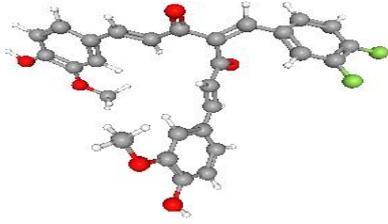
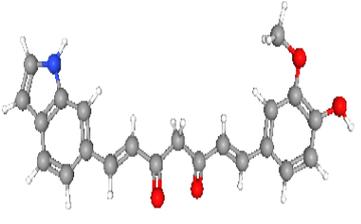
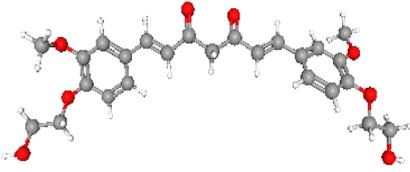
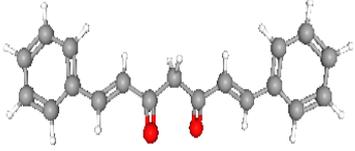
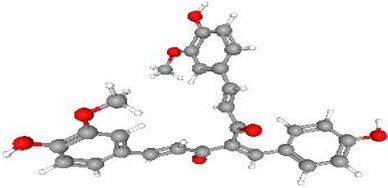
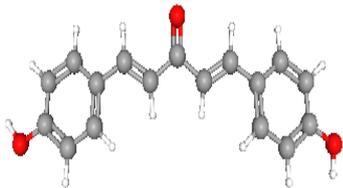
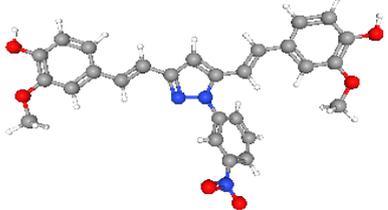
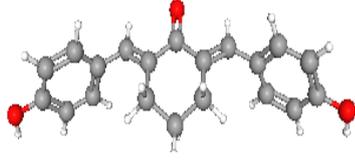
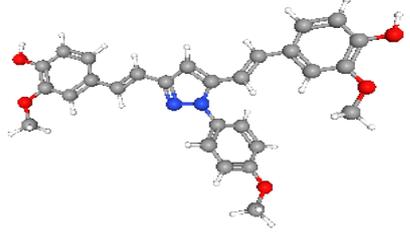
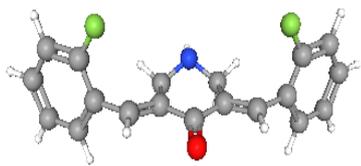
- Afin de définir facilement le site actif, il est nécessaire d'identifier l'inhibiteur déjà présent, pour cela il faut sélectionner l'inhibiteur en cliquant sur Select > Résidue > all non standard > actions > atoms/bonds > Delete.
- Pour traiter la protéine étudiée clique sur Tools > surface/Binding Analysis > Dock Prep.
- Supprimer les molécules d'eau, ajouter les atomes d'hydrogènes, attribuer des charges partielles à la protéine et cliquer sur OK. Sélectionnez toutes les options sauf « Supprimer les ions non complexés » et « write Mol2 file » enfin cliquer sur OK.
- Enregistrer le fichier sous forme PDB.

## Annexe 2 : Les 50 ligands utilisés

Nom de la molécule et le code	Structure 3D	Nom de la molécule et le code	Structure 3D
Bisdemethoxycurcumin CID : 5315472		Di-O-chloropropionylethyl curcumin CID : 76330069	
Diacetylcurcumin CID : 6441419		Curcumin triadamantylaninethylcarbonate CID : 2889	
[18FP] - curcumin CID : 11947775		Curcumin dimer 2 CID : 131752650	
Monodemethoxycurcumin CID : 5469424		Curcumin trithiadiazolaminoethylcarbonate CID : 45028268	
(E,E)-Bis(2-hydroxybenzylidene)acetone CID : 5472867		4-(4-hydroxy-3-methoxybenzylidene) curcumin CID : 44195235	
Curcumin monoglucoside CID : 11526601		Tetrahydrocurcumin isoxazole CID : 14578531	

<b>Di-O-(2thienoyl) curcumin</b> CID : 45028269		<b>Hexahydrocurcu min</b> CID : 5318039	
<b>Cis-Curcumin</b> CID : 24884282		<b>Bisdemethoxycu rcumin isoxazole</b> CID : 135894687	
<b>Curcumin diglucoside</b> CID : 46173989		<b>Curcumin dimer 3</b> CID : 131752651	
<b>Tetrahydrocurc umin</b> CID : 124072		<b>Curcumin ED</b> CID : 101736865	
<b>Allyl curcumin</b> CID : 129728794		<b>Curcumin PE</b> CID : 5281767	
<b>Monodemethylc urcumin</b> CID : 5469426		<b>Curcumin sulfate</b> CID : 66645351	
<b>Didemethylcurc umin</b> CID : 5469425		<b>Ferrocenyl curcumin</b> CID : 129852598	
<b>curcumin 4'-O- beta-D- gentiobioside</b> CID : 46926100		<b>Di-O-decanoyl curcumin</b> CID : 46866178	

<p><b>4-Benzylidene curcumin</b> CID : 44451939</p>		<p>(2E,5E)-2,5-bis(3,4-dimethoxybenzylidene)cyclopentanone CID :5714141</p>	
<p><b>Monoglycinoyl curcumin</b> CID : 24766776</p>		<p><b>Perfluoro curcumin</b> CID : 129863789</p>	
<p><b>Ethyl curcumin</b> CID : 11474949</p>		<p><b>Keto-curcumin</b> CID : 129738071</p>	
<p><b>Curcumin dimer1</b> CID : 100972288</p>		<p><b>Disalicyloyl curcumin</b> CID : 129845690</p>	
<p><b>N-phenylpyrazole curcumin</b> CID : 135440402</p>		<p><b>(3E,5E)-3,5-bis[4-fluorophenyl)methylidene]-1-[(1-hydroxy-2,2,5,5-tetramethylpyrrol-3yl)methyl]piperidin-4-one</b> CID : 46871899</p>	
<p><b>Curcumin glucuronid</b> CID :71315012</p>		<p><b>1,7-Bis(3,4-dimethoxyphenyl)hepta-1,6-diene-3,5-dione</b> CID : 53393977</p>	

<p><b>3,4-Difluorobenzylidene curcumin</b> CID : 54597187</p>		<p><b>(1E,6E)-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-7-(1H-indol-6-yl)hepta-1,6-diene-3,5-dione</b> CID : 24952085</p>	
<p><b>Di-O-(2-hydroxyethyl) curcumin</b> CID : 45276267</p>		<p><b>(1E,6E)-1,7-diphenylhepta-1,6-diene-3,5-dione</b> CID : 5469422</p>	
<p><b>4-(4-hydroxybenzylidene) curcumin</b> CID : 44452370</p>		<p><b>1,5-Bis(4-hydroxyphenyl)penta-1,4-dien-3-one</b> CID : 6437306</p>	
<p><b>N-(3-nitrophenylpyrazole) curcumin</b> CID : 136036825</p>		<p><b>2,6-Bis(4-hydroxybenzylidene)cyclohexanone</b> CID : 1909086</p>	
<p><b>N-(4-methoxyphenylpyrazole) curcumin</b> CID : 136036824</p>		<p><b>3,5-Bis(2-fluorobenzylidene)-4-piperidone</b> CID : 66993057</p>	

**Annexe 3 : Les étapes de docking sur pyrx**

➤ Chargement des molécules dans l'espace de travail PyRx

✓ Ouvrir la protéine

Cliquer sur File > Load molécule > sélectionner le fichier (6GQO) déjà préparé sur Chimera  
cliquer sur la molécule> Autodock > Make macromolécule

✓ Ouvrir les ligands

Cliquer sur Open Babel > Insert New item > Sélectionner les ligands puis cliquer par le  
bouton droit de souris sur le ligand > minimize all > Convert all to Autodock ligand (Pdbqt).

➤ Lancement du docking

Cliquer Vina Wizard > Start > Add Macromolécule > sélectionner la protéine (6GQO.Pdbqt),  
puis cliquer sur le premier ligand et sur le bouton Shift puis sur le dernier ligand afin de  
sélectionner tous les ligands > Avec la souris mettre le box dans le site actif de la protéine >  
Forward.

**Annexe 4**

Les étapes de docking dans AutoDock Vina sous Chimera :

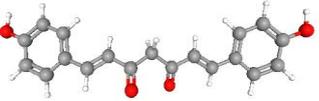
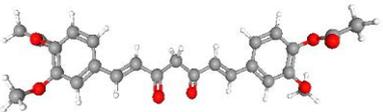
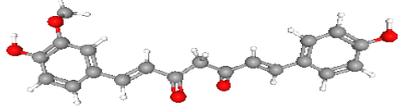
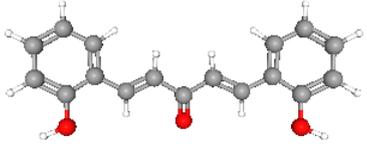
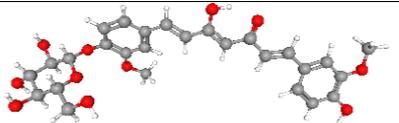
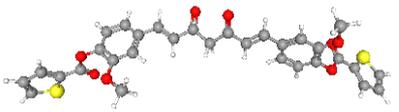
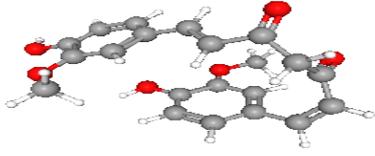
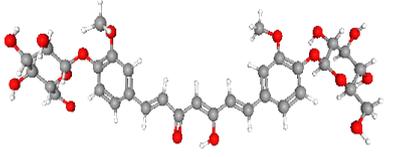
Ouvrir le fichier de la protéine préparée par UCSF Chimera, puis sélectionner le fichier  
contenant le ligand en cliquant sur "File ", "Open"

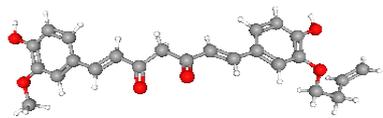
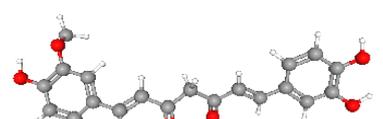
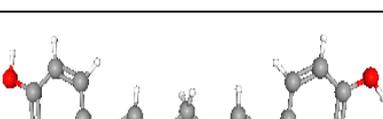
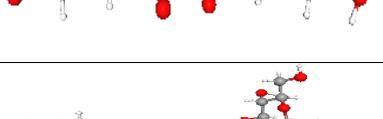
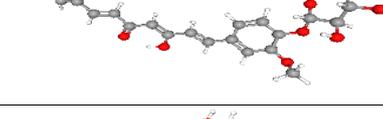
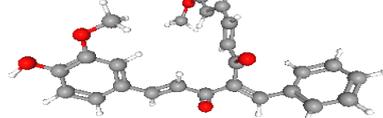
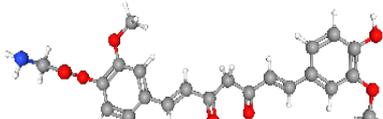
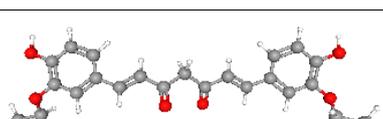
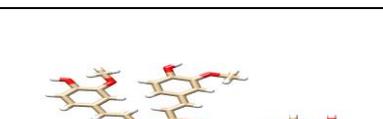
- Pour préparer les paramètres de simulations de docking, vous pouvez accéder au menu "Outils"  
puis sélectionner "Surface/Binding Analysis" et "AutoDock Vina". Une fois la fenêtre ouverte,  
vous devez donner un nom au fichier de sortie, sélectionner le récepteur et le ligand, puis définir  
l'espace de recherche en ajustant la taille et la position du centre de la grille. Les paramètres  
suivants ont été utilisés :

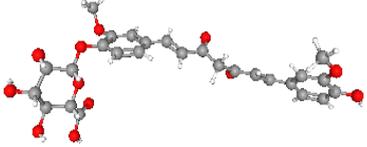
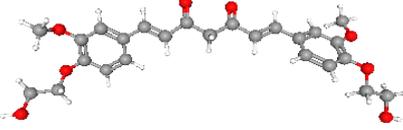
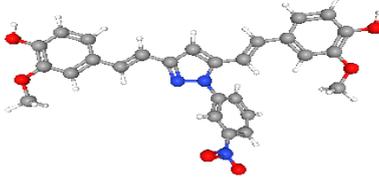
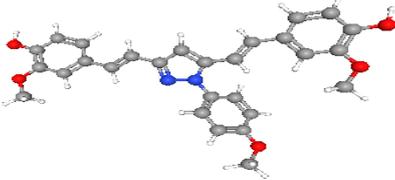
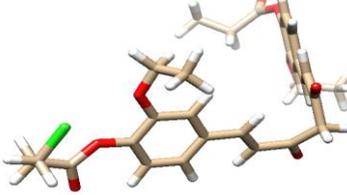
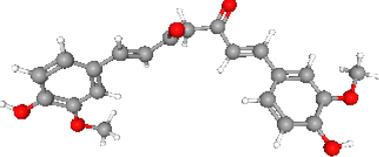
**Tableau : Taille et position du centre de la grille**

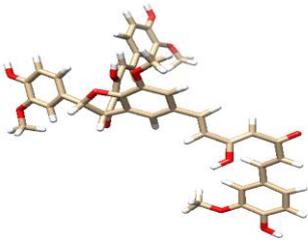
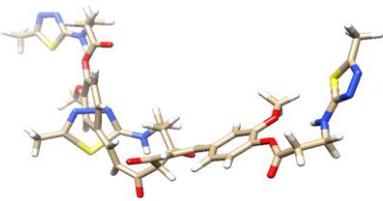
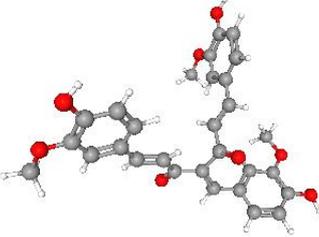
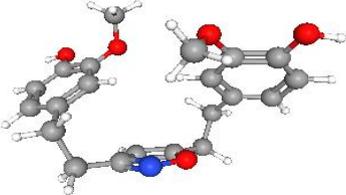
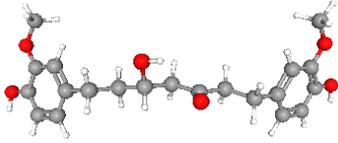
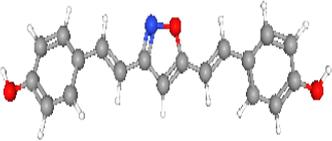
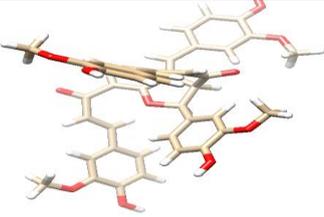
<b>centre</b>	<b>14</b>	<b>-1,2</b>	<b>6,22</b>
<b>Size</b>	24	25	25,68

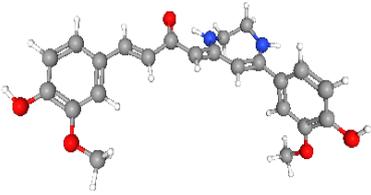
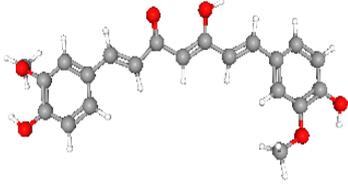
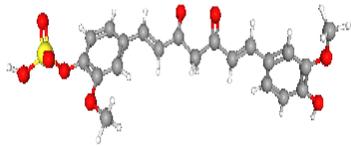
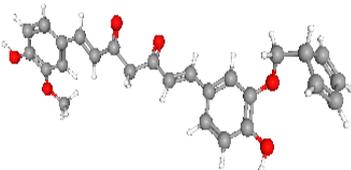
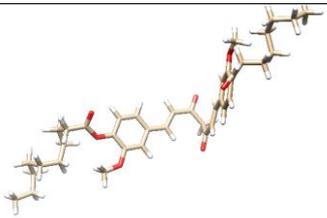
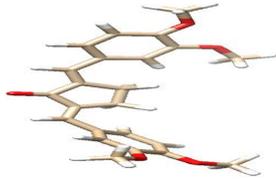
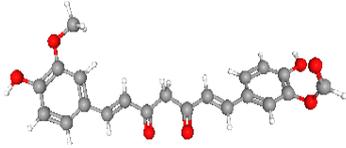
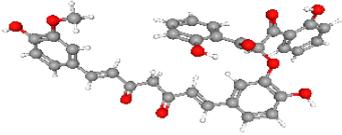
## Annexe 5 : Les résultats de docking sur PyRx

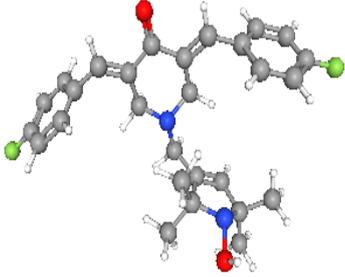
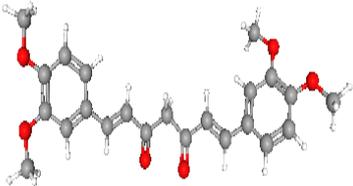
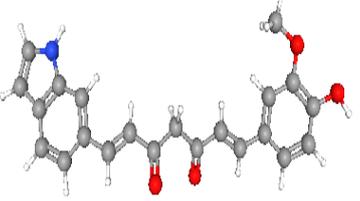
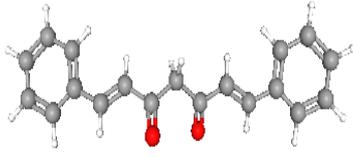
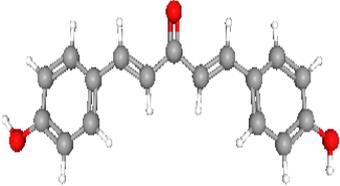
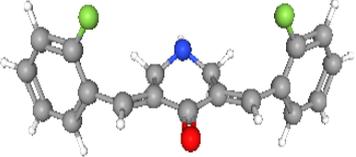
Nom de la molécule	Structure 3D	$\Delta G^\circ$ (Kcal/mol)
<b>Bisdemethoxycurcumin</b> CID : 5315472		-9,4
<b>Diacetylcurcumin</b> CID : 6441419		-9,2
<b>[18FP] -curcumin</b> CID : 11947775		-9,4
<b>Monodemethoxycurcumin</b> CID : 5469424		-9,5
<b>(E,E)-Bis(2-hydroxybenzylidene)acetone</b> CID : 5472867		-8,9
<b>Curcumin monoglucoside</b> CID : 11526601		-9,4
<b>Di-O-(2thienoyl) curcumin</b> CID : 45028269		-9,6
<b>Cis-Curcumin</b> CID : 24884282		-9,00
<b>Curcumin diglucoside</b> CID : 46173989		-9,3
<b>Tetrahydrocurcumin</b> CID : 124072		-8,9

<b>Allyl curcumin</b> CID : 129728794		-9,1
<b>Monodemethylcurcumin</b> CID : 5469426		-9,6
<b>Didemethylcurcumin</b> CID : 5469425		-9,5
<b>curcumin 4'-O-beta-D-gentiobioside</b> CID : 46926100		-9,9
<b>4-Benzylidene curcumin</b> CID : 44451939		-9,00
<b>Monoglycinoyl curcumin</b> CID : 24766776		-9,7
<b>Ethyl curcumin</b> CID : 11474949		-9,2
<b>Curcumin dimer1</b> CID : 100972288		-2,6
<b>N-phenylpyrazole curcumin</b> CID : 135440402		-8,9

<p><b>Curcumin glucuronid</b> CID : 71315012</p>		<p>-10,3</p>
<p><b>3,4-Difluorobenzylidene curcumin</b> CID : 54597187</p>		<p>-8,9</p>
<p><b>Di-O-(2-hydroxyethyl) curcumin</b> CID : 45276267</p>		<p>-9,1</p>
<p><b>4-(4-hydroxybenzylidene) curcumin</b> CID : 44452370</p>		<p>-8,6</p>
<p><b>N-(3-nitrophenylpyrazole) curcumin</b> CID : 136036825</p>		<p>-9,5</p>
<p><b>N-(4-methoxyphenylpyrazole) curcumin</b> CID : 136036824</p>		<p>-8,8</p>
<p><b>Di-O-chloropropionylethyl curcumin</b> CID : 76330069</p>		<p>-9,00</p>
<p><b>Curcumintri-adamantylaniethylcarbonate</b> CID : 2889</p>		<p>-9,4</p>

<b>Curcumin dimer 2</b> CID : 131752650		-9,1
<b>Curcumin tri trithiadiazolaminoethylcarbonate</b> CID : 45028268		-9,00
<b>4-(4-hydroxy-3- methoxybenzylidene) curcumin</b> CID : 44195235		-8,5
<b>Tetrahydrocurcumin isoxazole</b> CID : 14578531		-9,5
<b>Hexahydrocurcumin</b> CID : 5318039		-8,9
<b>Bisdemethoxycurcumin isoxazole</b> CID : 135894687		-10,0
<b>Curcumin dimer 3</b> CID : 131752651		-5,6

<b>Curcumin ED</b> CID : 101736865		-9,5
<b>Curcumin PE</b> CID : 5281767		-9,5
<b>Curcumin sulfate</b> CID : 66645351		-9,7
<b>Ferrocenyl curcumin</b> CID : 129852598		-9,6
<b>Di-O-decanoyl curcumin</b> CID : 46866178		-8,5
<b>(2E,5E)-2,5-bis(3,4-dimethoxybenzylidene)cyclopentane</b> CID : 5714141		-7,2
<b>Perfluoro curcumin</b> CID : 129863789		-10,1
<b>Keto-curcumin</b> CID : 129738071		-9,4
<b>Disalicyloyl curcumin</b> CID : 129845690		-11,2

<p><b>(3E,5E)-3,5-bis[(4-fluorophenyl)methylidene]-1-[(1-hydroxy-2,2,5,5-tetramethylpyrrol-3yl)methyl]piperidin-4-one</b> CID : 46871899</p>		-9,6
<p><b>1,7-Bis(3,4-dimethoxyphenyl)hepta-1,6-diene-3,5-dione</b> CID : 53393977</p>		-9,2
<p><b>(1E,6E)-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-7-(1H-indol-6-yl)hepta-1,6-diene-3,5-dione</b> CID : 24952085</p>		-9,7
<p><b>(1E,6E)-1,7-diphenylhepta-1,6-diene-3,5-dione</b> CID : 5469422</p>		-9,4
<p><b>1,5-Bis(4-hydroxyphenyl)penta-1,4-dien-3-one</b> CID : 6437306</p>		-7,6
<p><b>2,6-Bis(4-hydroxybenzylidene)cyclohexanone</b> CID : 1909086</p>		-10,1
<p><b>3,5-Bis(2-fluorobenzylidene)-4-piperidone</b> CID : 66993057</p>		-9,8

