

République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان  
Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEM  
كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de l'Univers  
Département de BIOLOGIE



# MÉMOIRE

Réalisé par

**BOUDGHENE STAMBOULI Mohammed Racem**

*En vue de l'obtention du*

**Diplôme de MASTER**

**En Sciences Biologiques**

**Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire**

Inhibition de la P300 dans des cellules endométriales porteuses de la mutation ARID1A

Soutenu devant le jury composé de :

Président	Mr CHERRAK Ahmed Sabri	MCA	Université de Tlemcen
Encadrant	Mme SAHI-DALI YUCEF Majda	Professeur	Université de Tlemcen
Examineur	Mme DJELTI Farah	MCB	Université de Tlemcen

Année universitaire 2022/2023

هيستون أسيتيل ترانسفيراز P300 هو أصل تنشيط الجينات المسؤولة عن النشاط الغازي في خلايا بطانة الرحم ARID1A المتحولة في معززات الأسيتيل التي تحرسها ARID1A. سيسمح هذا الأستلة لآلية النسخ ببدء التعبير المفرط للجينات المشاركة في غزو خلايا بطانة الرحم في الأشخاص المصابين بالانتباز البطاني الرحمي. بعد الكشف عن دور P300 في إنشاء الانتباز البطاني الرحمي ، ركزت دراستنا على إعادة وضع الأدوية المتوفرة سابقاً في السوق من خلال اقتراحها كمثبطات لنطاقات HAT أو BRD المعترف بها على أنها ضرورية لعمل P300 تحقيقاً لهذه الغاية ، أجرينا فحصاً ثم الالتحام الجزيئي الذي سمح لنا باختيار 4 جزيئات كمثبطات محتملة لمجالات HAT و BRD في P300 على التوالي. ثم أتاح تحليل الديناميات الجزيئية التنبؤ من خلال قيم RMSD و RMSF ونصف قطر الدوران باستقرار atovaquone المرتبط بمجال HAT و capmatinib المرتبط بمجال BRD. الكلمات الرئيسية : الانتباز البطاني الرحمي ، P300 ، ARID1A ، الالتحام الجزيئي ، الديناميات الجزيئية.

## Résumé

L'histone acétyl transférase P300 étant à l'origine de l'activation de gènes responsable de l'activité invasive chez les cellules endométriales ARID1A mutée en acétylant des amplificateurs tantôt gardés par ARID1A. Cette acétylation va permettre à la machinerie transcriptionnelle de lancer une surexpression de gènes impliqué dans l'invasivité des cellules endométriales chez les sujettes atteintes d'endométriose. Suite à l'avération du rôle de la P300 dans l'établissement de l'endométriose, notre étude s'est portée à repositionner des médicaments préalablement disponibles sur le marché en les proposant comme des inhibiteurs des domaines HAT ou BRD reconnus indispensable l'action de la P300. À cet effet on a effectué un screening puis un amarrage moléculaire qui nous ont permis d'élire 4 molécules comme de potentiels inhibiteurs des domaines HAT et BRD de la P300 respectivement. Une analyse de la dynamique moléculaire a ensuite permis de prédire à travers des valeurs de RMSD, RMSF et de rayons de gyration la stabilité de l'atovaquone associé au domaine HAT et le capmatinib associé au domaine BRD.

Mots clés : endométriose, P300, ARID1A, docking moléculaire, dynamique moléculaire.

## Abstract

The Histone acetyltransferase P300 is responsible for activating the genes responsible for invasive activity in mutated ARID1A endometrial cells by acetylating enhancers that were retained by ARID1A. This acetylation will allow the transcriptional machinery to initiate overexpression of genes involved in endometrial cell invasiveness in subjects with endometriosis. Following the confirmation of the role of

P300 in the establishment of endometriosis, our study focused on repositioning drugs previously available on the market by proposing them as inhibitors of the HAT or BRD domains identified as essential for the action of P300. To this end, we carried out a screening and then a molecular docking which enabled us to select 4 molecules as potential inhibitors of the HAT and BRD domains of P300 respectively. Molecular dynamics analysis was then used to predict the stability of atovaquone associated with the HAT domain and capmatinib associated with the BRD domain, using RMSD, RMSF and gyration radius values.

Key words: endometriosis, P300, ARID1A, molecular docking, molecular dynamics.

## Introduction

L'endométriose est une maladie inflammatoire gynécologique chronique œstrogène dépendante caractérisée par le développement d'un tissu endométrial fonctionnel en dehors de la cavité utérine (Giudice & Kao, 2004). La physiopathologie de l'endométriose reste complexe et résulte d'une combinaison de multiples facteurs notamment génétiques et épigénétiques.

Les études statistiques réalisées à l'égard de l'endométriose démontrent une incidence approximative de 10% dans la population féminine mondiale (Shafrir et al., 2018) et ce dès la ménarche et jusqu'à la ménopause. Pour cette maladie il existe plusieurs hypothèses etiopathologiques récurrentes, cependant la théorie la plus plausible reste celle du reflux menstruel de cellules endometriales vers le péritoine abdominal durant la menstruation (Sampson, 1927), induisant une réponse inflammatoire chronique. Néanmoins n'expliquant pas totalement l'étiologie de la maladie cette hypothèse reste limitée, car les amas cellulaires endometriales migratoires à eux seuls ne peuvent engendrer des lésions endometriales mais sont assistés par des mécanismes immunologiques (Du & Taylor, 2007) et des changements de profils génétiques des cellules endometriales (Vassilopoulou et al., 2019).

L'équipe d'Anglesio a signalé que près de 21 % des lésions chez les patientes atteintes d'endométriose à infiltration profonde présentaient des mutations somatiques dans les gènes ARID1A, PIK3CA, KRAS et PPP2R1A (Anglesio et al., 2017). Une étude sur une plus large cohorte a aussi confirmé les résultats précédents (Suda et al., 2018), et a pu identifier les mutations touchant le gène ARID1A comme étant de type non-sens ou de type décalage de cadre de lecture sur des échantillons d'épithélium endometriose de patientes sans cancer gynécologique concomitant. Les mutations de l'ARID1A peuvent significativement augmenter le risque d'endométriose et de transformation maligne en offrant un avantage sélectif aux cellules endometriales déplacées par menstruation rétrograde (Suda et al, 2018). Ces cellules ARID1A mutées vont perdre la fonction régulatrice de l'expression des gènes en libérant les sites de fixation des facteurs de transcription. La plus grande proportion de sites différemment régulés après la perte d'ARID1A reste l'acétylation du résidu lysine en position N-terminale 27 de la protéine histone H3 (H3K27ac) (Wilson et al, 2020). Cette modification est signalée comme marquant spécifiquement la présence de enhanceurs transcriptionnellement actifs (Rada-Iglesias et al., 2010).

Le gène ARID1A code pour la protéine A1 contenant un domaine d'interaction riche en AT (ARID1A) aussi connue sous le nom de BAF250a ou p270. Cette protéine fait partie d'une famille de 15 protéines humaines caractérisées par un domaine de liaison non spécifique à l'ADN (ARID) (Samartzis et al., 2013). Faisant partie du complexe de remodelage de la chromatine SWI/SNF, ARID1A est surtout connu pour son rôle suppresseur de tumeur, ce complexe de remodelage joue un rôle dans le contrôle de l'expression des gènes et il est aussi impliqué dans la différenciation et prolifération cellulaire en s'associant à des éléments régulateurs très actifs marqués par une acétylation de type H3K27ac (Wilson et al, 2020).

L'acétylation et la désacétylation des histones sont d'importants mécanismes épigénétiques contrôlant la transcription et la régulation des gènes, un équilibre acétylation/désacétylation est requis pour maintenir l'homéostasie cellulaire. Cette action de régulation dépend en majeure partie de la balance entre l'activité de familles d'enzymes les histones acétyle transférase (HAT) et les histones désacétylases (HDAC) (Yildirim et al, 2014 ).

Parmi la famille des HAT, l'histone acétyle transférase P300 reste la plus étudiée. Elle agit comme un coactivateur de la transcription à travers son interaction directe avec des facteurs de transcriptions et l'ARN polymérase II (Goodman & Smolik, 2000). Vu l'importance de l'équilibre acétylation/désacétylation des histones dans l'établissement de l'homéostasie cellulaire, le dysfonctionnement de la P300 est associé à différentes pathologies neurodégénératives et cancéreuses (Arif et al., 2009).

La P300 est composée de neuf domaines fonctionnels conservés, dont le domaine histone acétyle transférase (HAT) et le bromodomaine (BRD) qui sont reconnus comme des cibles prometteuses dans le traitement anticancéreux (Dekker & Haisma, 2009) ; (He et al., 2021). Le domaine HAT intervient dans le transfert du groupement acétyle de l'acétyle coenzyme A (Ac-CoA) au résidu lysine des histones, ce qui entraîne la décondensation de la chromatine et accroît l'accessibilité de l'ADN pour la transcription des gènes (He et al., 2021). En revanche, le bromodomaine est capable de reconnaître et de lier les acides aminés lysines acétylés (KAc) des histones, recrutant ainsi la machinerie transcriptionnelle et régulant l'expression des gènes (Zeng & Zhou, 2002).

Une étude récente a identifié la P300 comme étant un facteur hautement susceptible d'avoir un rôle de co-régulation au niveau des gènes responsables de l'endométriose profonde après la perte du gène ARID1A dans les cellules endométriales (Wilson et al., 2020).

Les résultats de cette étude (Wilson et al., 2020) suggèrent que ARID1A empêche l'hyperacétylation des super enhanceurs de l'inhibiteur de protéases à serine (SERPINE1). La SERPINE 1 membre du système de l'activateur du plasminogène urokinase (uPA) participe avec ce système dans

la régulation de la protéolyse de fibrine extracellulaire et influence l'invasion cellulaire, la migration et la remodelisation de la matrice extra cellulaire (MEC) (Smith et Marshall, 2010). Ainsi la perte d'ARID1A entraîne une hyperacétylation par la P300 et une activité accrue des super enhancers de SERPINE1, ce qui implique une transcription accrue de SERPINE1 et l'acquisition de phénotypes invasifs par la cellule.

Vu le taux d'occurrence important (10%) de la maladie d'endométriose à l'échelle mondiale et l'absence de traitement pharmacologique ou chirurgical pouvant améliorer la qualité de vie des patientes, d'autres approches thérapeutiques s'imposent.

En se basant sur les résultats de l'équipe de Wilson (Wilson et al, 2020), on peut acquiescer une inhibition de la P300 dans les cellules déficientes en ARID1A, afin de limiter le degré d'hyperacétylation H3K27 des super enhancers de SERPINE 1, qui en effet pourrait potentiellement entraîner une diminution de la transcription de SERPINE1 et inhiber par la suite le phénotype pathologique des cellules endométriales mutées ARID1A.

Dans notre étude nous avons envisagé un ciblage des domaines HAT ou BRD de la P300 dans l'optique de mettre en évidence le potentiel thérapeutique que représente l'inhibition de la P300 dans l'élaboration d'un traitement curatif pour les cas d'endométriose ARID1A négative où la P300 exerce un rôle étiologique. En s'appuyant sur les travaux de l'équipe de Zucconi (Zucconi et al., 2019) qui ont pu démontrer qu'une inhibition des domaines HAT et BRD de la p300 entraînait la dissociation du complexe de la p300 et une diminution de l'expression du caractère invasif, on a conduit un repositionnement de médicaments déjà approuvés par la FDA afin de proposer des molécules candidates pouvant rétrocéder des effets thérapeutiques pour la maladie de l'endométriose.

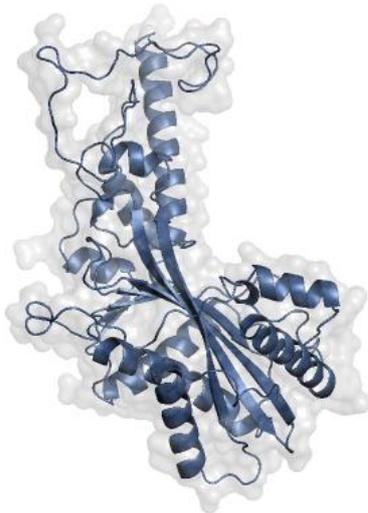
## **MATERIÉL ET MÉTHODE**

### **Préparation des protéines et des ligands**

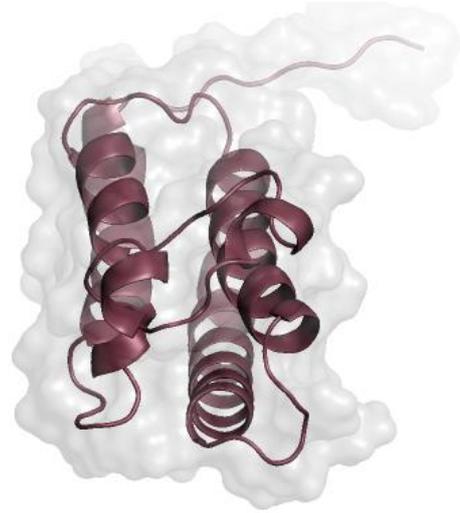
Dans cette étude les structures tridimensionnelles des domaines HAT et BRD de la p300 ont été téléchargés à partir de la base de données PDB. Le domaine HAT (id pdb : 4PZS) cristallisé à une résolution de 1,94 Å présentait une mutation de type substitution Tyr1467Phe.

Compte tenu de la grande similitude structurelle et de la redondance fonctionnelle entre la protéine CBP et notre protéine d'intérêt la P300, notamment leurs domaines BRD respectives qui présentent un pourcentage d'identité assez élevé ( > 90% ) (He et al., 2021) , et en absence de structure de bromodomaine de la p300 avec des caractéristiques éligibles aux procédées de docking ,

nous avons estimé que l'utilisation de la structure tridimensionnelle d'un bromodomaine de la CBP nous permettra d'avoir un résultat plus accompli. A cet effet, on a opté pour la structure du BRD (id pdb : 5GH9), cristallisée a une résolution de 1,45 Å et ne présentant aucune mutation.



*Figure 1. Structure cristallisée du domaine HAT (PDB : 4PZS)*



*Figure 2 . Structure cristallisée du bromodomaine (PDB : 5GH9)*

### **Préparation des protéines et des ligands**

La composition de la structure cristallisée du domaine HAT (id PDB : 4PZS) a été rétablie à l'état non mutée en substituant l'acide amine phénylalanine en position 1467 par l'acide amine tyrosine par l'outil Rotamers (Shapovalov & Dunbrack, 2011).

Néanmoins les deux structures présentaient des parties non résolues, et afin d'optimiser nos résultats nous avons utilisé l'outil MODELLER (Šali & Blundell, 1993) pour compléter les séquences des 2 domaines puis enregistrer les structures entièrement résolues sous format PDB.

Les protéines ainsi résolues et ajustées à leur état non muté ont été préparées en utilisant le logiciel UCSF Chimera (Pettersen et al., 2004) dans le but d'éliminer les résidus non standards et les molécules d'eau. La préparation au docking moléculaire nécessite aussi l'ajout de molécules d'hydrogène et des charges aux protéines cristallisées des domaines HAT et BRD.

Pour ce qui est des ligands, dans notre étude on a opté pour une approche de repositionnement de médicaments déjà disponible sur le marché. Une liste de 2056 molécules thérapeutiques approuvées par la FDA a été téléchargée à partir de la base de données e-Drug3D (Pihan et al., 2012) et préparée pour l'amarrage par l'outil OpenBabel (O'Boyle et al., 2011) intégré dans le logiciel PyRx , ceci en minimisant l'énergie des molécules et les enregistrant sous format pdbqt.

## **Docking moléculaire**

Un premier screening de l'ensemble des ligands a été exécuté sur le logiciel PyRx (Dallakyan & Olson, 2015), le domaine HAT maintenu rigide est mis en contact avec les ligands qui eux sont flexibles afin de déterminer l'orientation spatiale procurant la meilleure pose et la stabilité optimale. Les ligands avec les 10 meilleures  $\Delta G$  sont ensuite dockés individuellement et respectivement avec le domaine HAT et le domaine BRD sur le logiciel Chimera à travers l'outil Autodock Vina (Pettersen et al., 2004).

Les différentes interactions établies entre les ligands sélectionnés et les domaines HAT et BRD ont été mis en évidence par le logiciel BIOVIA Discovery. Le type d'interaction ainsi que les acides aminés des sites actifs impliqués dans les liaisons sont illustrées dans les diagrammes 2D.

## **Dynamique moléculaire**

Les simulations de la dynamique moléculaire pour les deux protéines et pour les complexe protéine-ligand ont été réalisées à l'aide du logiciel GROMACS 5.1.5 et du champ de force CHARMM36 (Abraham et al., 2015). L'outil Pdb2gmx a été utilisé pour générer la topologie des récepteurs et le serveur SwissParam nous a été utile dans la création des topologies des ligands (Zoete et al., 2011). Les complexes protéines-ligands ont été solvatés dans des milieux dodécaédrique et triclinique pour le complexe du domaine HAT et du domaine BRD respectivement et ce avec des molécules d'eau TIP3P en gardant le bord du milieu à au moins 1 nm de tous les atomes. Les systèmes ont été ensuite neutralisés en utilisant 4 molécules de CL pour le complexe HAT-atovaquone et 1 molécule de Na pour le complexe BRD-capmatinib, suivi par une étape de minimisation d'énergie du système par l'algorithme steepest descent sur 50000 étapes. Afin de peaufiner le système avant le lancement de la simulation, deux étapes d'équilibration s'imposent, une première ciblant la quantité de substance (N), le volume (V) et la température (T) la deuxième ciblant la quantité de substance (N), la pression (P) et la température (T). La température a été stabilisé à 300 K et la pression à 1 bar.

En premier lieu, une simulation de dynamique moléculaire de 50 ns a été menée sur les protéines seules, puis les complexes protéines-ligand ont subi une simulation équivalente à la précédente. Par la suite et par le biais des outils gmx rms et gmx rmsf de GROMACS on a pu mesurer la déviation quadratique moyenne (RMSD) et la fluctuation de la moyenne quadratique (RMSF) qui nous permettent d'estimer le taux de muabilité de nos complexes. Un autre outil gmx gyrate nous a facilité l'analyse des rayons de gyration.

## RESULTATS ET DISCUSSION

### Docking moléculaire

À la fin du screening effectué sur le logiciel PyRx, un tableau de résultats traduit l'affinité de la liaison entre le récepteur et les ligands amarrés par des scores représentés avec des énergies de liaison ( $\Delta G$ ) mesurées en kcal/mol pour chaque pose et avec des valeurs d'écart quadratique moyen (RMSD). A partir des résultats de ce screening, on a effectué une sélection des 10 meilleures ligands pour effectuer une confirmation des résultats sur logiciel Chimera. L'opération suivante a été effectuée pour les deux domaines et l'ensemble des résultats ont été rapportés dans le tableau 01.

*Tableau 1. Énergie de liaison  $\Delta G$  des 10 meilleures molécules dockées (par chimera) sur le bromodomaine et le domaine HAT de la P300.*

Composés	Masse molaire (g/mol)	$\Delta G$ (kcal/mol) HAT	$\Delta G$ (kcal/mol) BRD
Atovaquone	366,8	-11,1	-8,5
Capmatinib	412,4	-10,9	-9,8
Lapatinib	581,1	-10,8	-9,2
Adapalene	412,5	-10,4	-10
Azelastine	381,9	-10,5	-8,3
Telmistran	514,6	-9,9	-7,5
Desabuvir	493,6	-9,7	-8,7
Carbenicillin	378,4	-8	-8,1
Lumacaftor	452,4	-7,9	-9,1
Aprepitant	534,4	-7,9	-6,1

Les résultats des poses révélant les 3 meilleures affinités avec les deux domaines sont enregistrés, ensuite les interactions entre les deux récepteurs et ces ligands sont étudiés avec le logiciel Biovia Discovery studio 2021 version 21.1. **La figure 2** et **la figure 3** mettent en évidence à travers des diagrammes 2D et 3D les différentes interactions établies ainsi que la position des ligands vis-à-vis des groupements donneurs et récepteurs de liaisons hydrogènes des deux domaines HAT et BRD. **Le tableau 2** énonce en détail l'ensemble des liaisons.

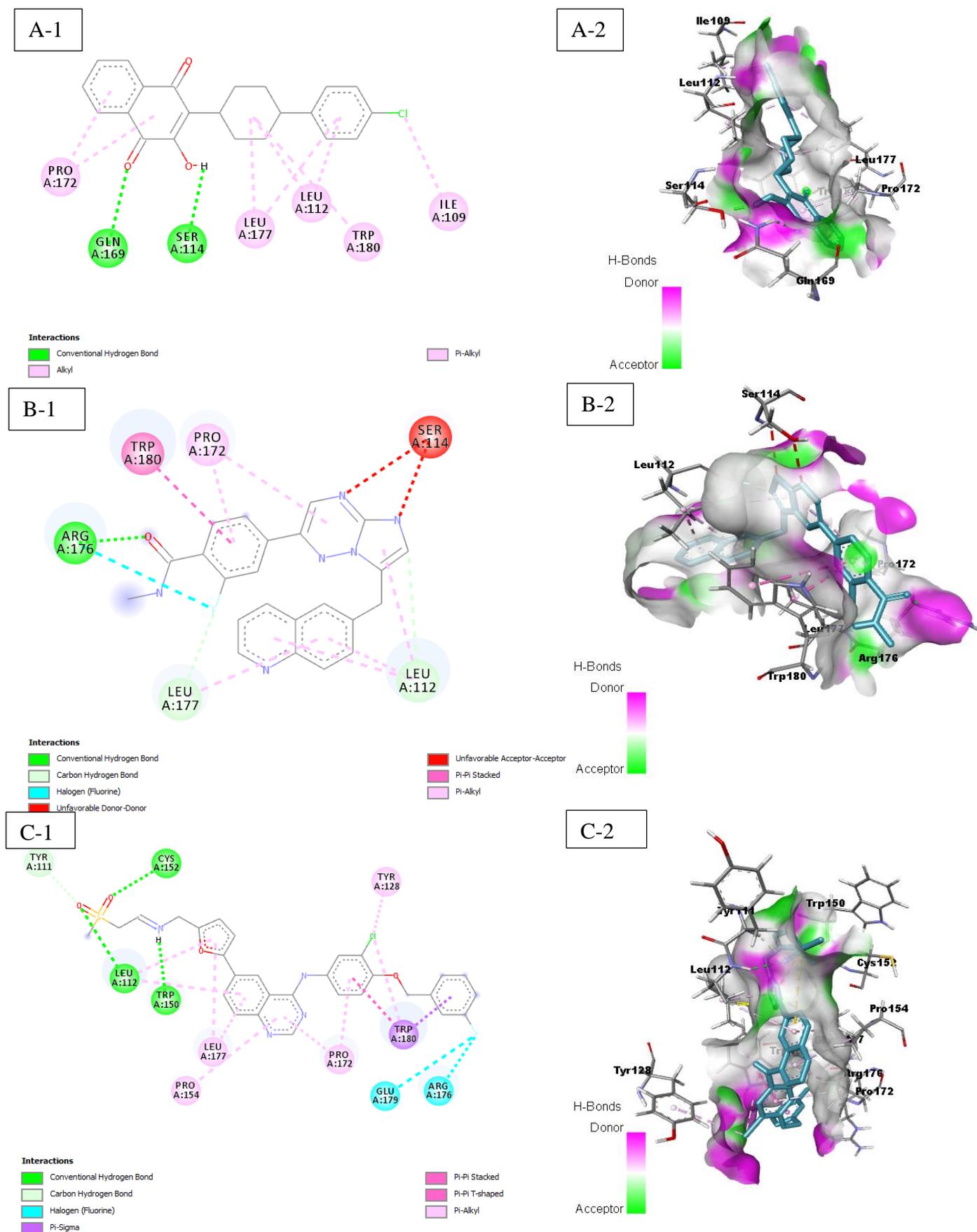


Figure 1. Diagrammes 2D et 3D des interactions entre les ligands avec les meilleures  $\Delta G$  et le domaine HAT (PDB id :4PZS) : A/ATOVAQUONE (CID :74989) B/CAPMATINIB (CID :25145656) C/LAPATINIB (CID :208908).

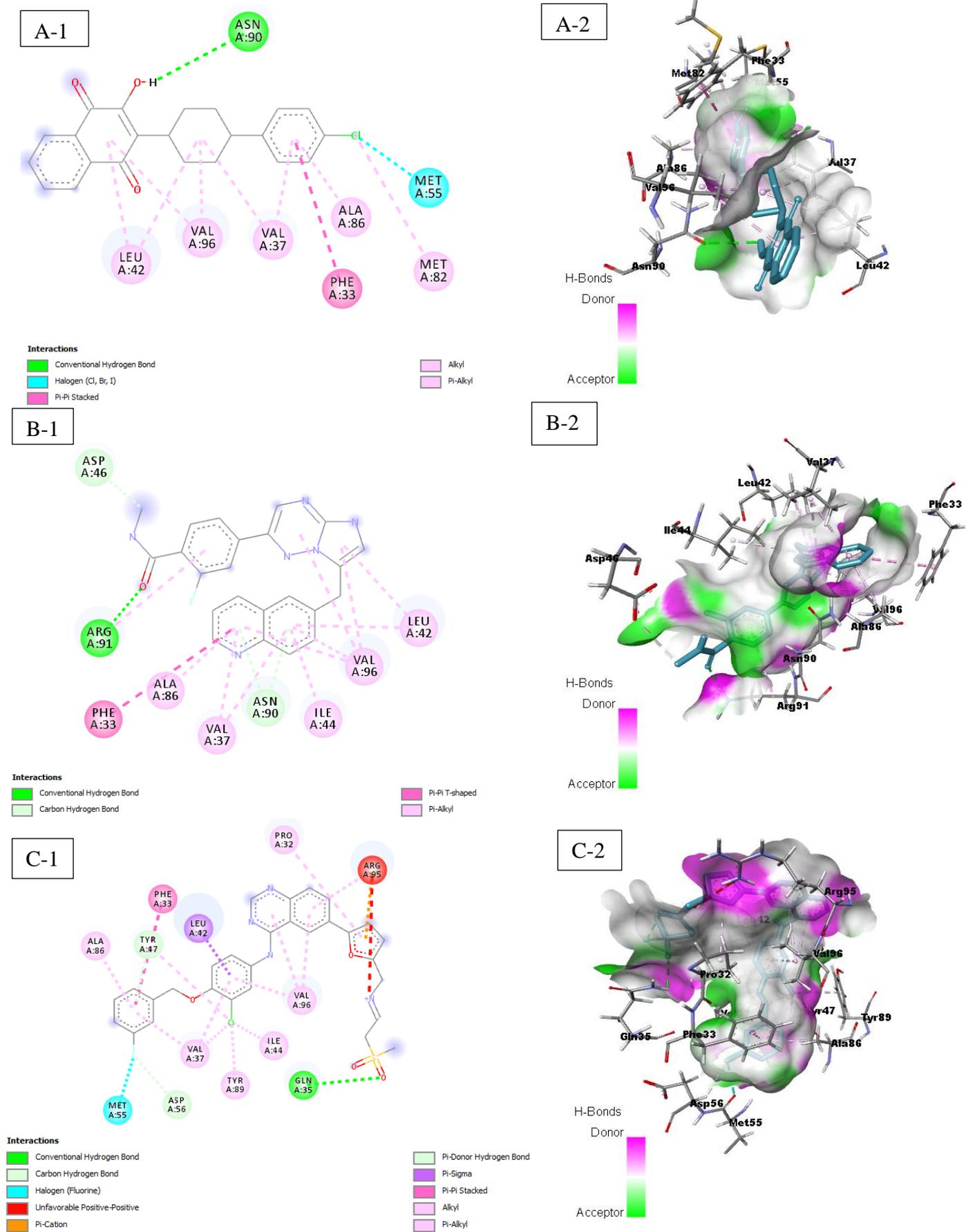


Figure 2. Diagrammes 2D et 3D des interactions entre les ligands avec les meilleures  $\Delta G$  et le domaine BRD (PDB id :5GH9): A/ATOVAQUONE (CID :74989) B/CAPMATINIB (CID :25145656) C/LAPATINIB (CID :208908).

Tableau 2. Types de liaisons des 3 meilleures molécules avec le bromodomaine et le domaine HAT.

Composés	Types liaisons	Acides Aminés engagés	
		En interaction avec le domaine Hat	En interaction avec le domaine BRD
<b>Atovaquone</b>	Conventional Hydrogen Bond	Gln169 ; Ser114	Asn90
	Halogene	-	Met55
	Pi-Pi Stacked	-	Phe33
	Alkyl	Leu112 ; Ile109 ; Leu177	Val37 ; Leu42 ; Val96 ; Met82
	Pi-Alkyl	Trp180 ; Pro172 ; Leu112 ; Leu177	Leu42 ; Val96 ; Val37 ; Ala86
<b>Capmatinib</b>	Conventional Hydrogen Bond	Arg176	Arg91
	Carbon Hydrogen Bond	Arg176 ; Leu177 ; Leu122	Asp46
	Pi-Donor Hydrogen Bond	-	Asn90
	Halogene	Arg176	-
	Pi-Pi Stacked	Trp180	-
	Pi-Pi T-shaped	-	Phe33
	Pi-Alkyl	Pro172 ; Leu112 ; Leu177	Val96 ; Leu42 ; Arg91 ; Val37 ; Ile44 ; Ala86
	<b>Lapatinib</b>	Conventional Hydrogen Bond	Leu112 ; Lys152 ; Trp150
Carbon Hydrogen Bond		Tyr111	Asp56
Halogene		Arg176 ; Glu179	Met55
Pi-Cation		-	Arg95
Pi-Donor Hydrogen Bond		-	Tyr47
Pi-Sigma		Trp180	Leu42
Pi-Pi Stacked		Trp180	Phe33
Pi-Pi T-shaped		Trp180	-
Pi-Alkyl		Tyr128 ; Trp180 ; Leu112 ; Leu177 ; Pro154 ; Pro172 ;	Arg95 ; Val96 ; Val37 ; Ala86 ; Ala86 ; Pro32

Les résultats de l'analyse des interactions révèlent que l'atovaquone étant un dérivé de l'hydroxynaphtoquinone avec une activité antiparasitaire contre le *Plasmodium falciparum* (Vallières et al., 2012) présente 2 liaisons hydrogène (Gln169 ; Ser114) avec le domaine HAT (**figure A-1**) et une liaison hydrogène (Asn90) avec le bromodomaine (**figure A-2**) ainsi qu'un nombre conséquent de liaisons alkyl et pi-alkyl aussi bien avec le domaine HAT que le domaine BRD. Pour ce qui est du capmatinib connu pour son effet inhibiteur de kinase ciblant la transition mesenchymale-épithéliale (Dhillon, 2020), on signale qu'il accomplit une seule liaison hydrogène tant pour le domaine HAT (**figure B-1**) que BRD (**figure B-2**) (Arg176) et (Arg91) respectivement, néanmoins il présente un nombre significatif de liaisons pi-alkyl avec les deux domaines. Concernant lapatinib qui fait partie de la classe des 4-anilinoquinazoline des inhibiteurs de kinases (DrugBank Online , n.d.) , il présente 3 liaisons hydrogène (Leu112 ; Lys152 ; Trp150) avec le domaine HAT (**figure C-1**) et une liaison hydrogène (Gln35) avec le bromodomaine (**figure C-2**) aussi qu'un nombre important de liaisons pi-alkyl que les précédents ligands. Les différentes liaisons établies entre les molécules et les domaines de la p300 ont été résumés dans le tableau 02.

### **Dynamique moléculaire**

Compte tenu de l'affinité des liaisons atovaquone-domaine HAT ( $\Delta G$  -11,1) et capmatinib-domaine BRD ( $\Delta G$  -9,8) révélées par l'amarrage moléculaire, nous avons procédé à des simulations de la dynamique moléculaire de ces interactions. Cette étape nous permet d'analyser les interactions protéine-ligand d'une perspective biomoléculaire et déduire par des valeurs de RMSD, RMSF et du rayon de gyration le comportement atomique de nos complexes envers les perturbations du milieu à travers le temps, le tout par des simulations réalisables *in silico*.

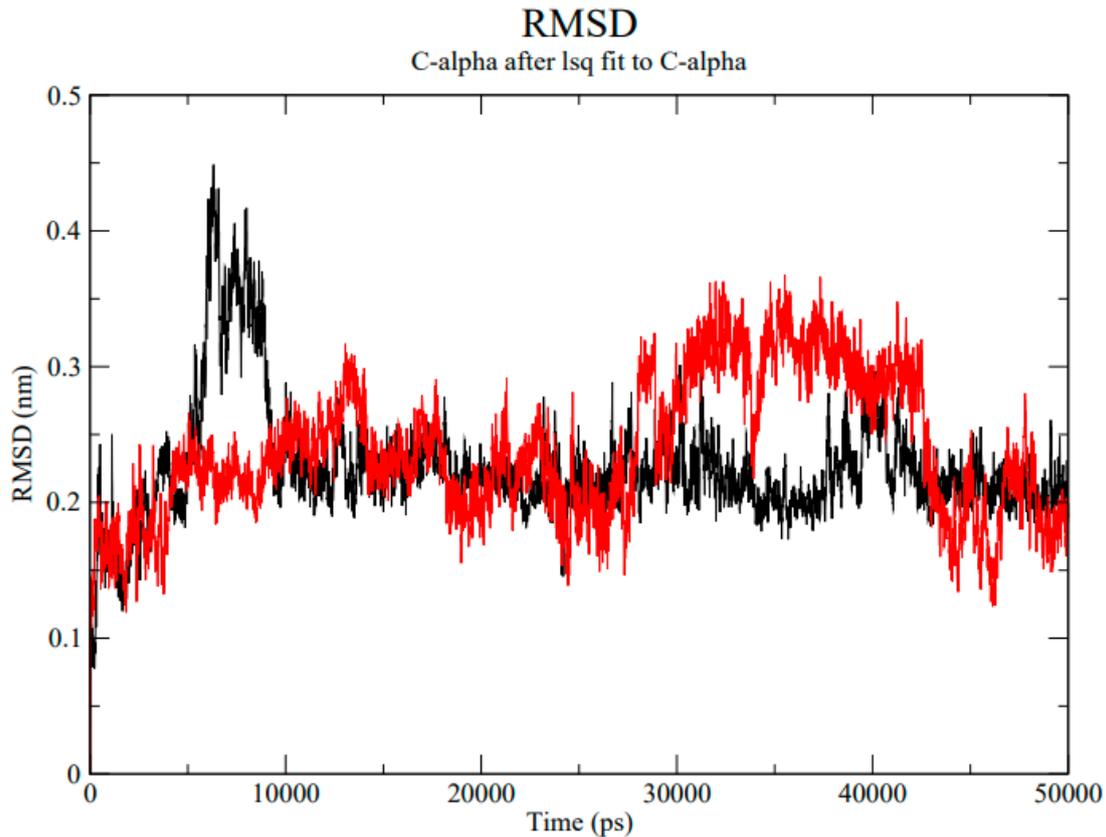


Figure 3. Graphe représentant les RMSD du complexe BRD-Capmatinib (en noir) et RMSD domaine BRD (en rouge).

Le RMSD est un paramètre nécessaire pour examiner le taux global de stabilité structurale de la protéine en présence et absence d'un ligand amarré.

Le graphe du RMSD (**figure 3**) affiche un léger pic vers 6 ns qui peut être expliqué par un changement de conformation lors de la fixation du ligand afin de pouvoir le stabiliser. Après les premières 10 ns, on remarque un plateau autour de 0.25 nm qui traduit une certaine stabilité du système.

L'analyse du RMSF nous indique l'ampleur de la fluctuation au sein des résidus de nos complexes (**figure 4**). On observe des valeurs de fluctuations plutôt basses (ne dépassent pas 0.18 nm), à l'exception des 10 premiers résidus qui démontrent un taux élevé d'instabilité se traduisant par les courbes élevées sur le graphe, cela peut être expliqué par le fait que cette région de la protéine ait été non résolue.

La **figure 5** indique le rayon de gyration par unité de temps, et représente la compacité du système. Plus l'estimation de la gyration est moindre plus le système est qualifié de compacte et

stable. On distingue de par le graphe l'absence d'oscillations importantes, ce qui indique que notre système est stable tout au long de la simulation avec des valeurs comprises entre 1,46 et 1,58 nm.

### RMS fluctuation

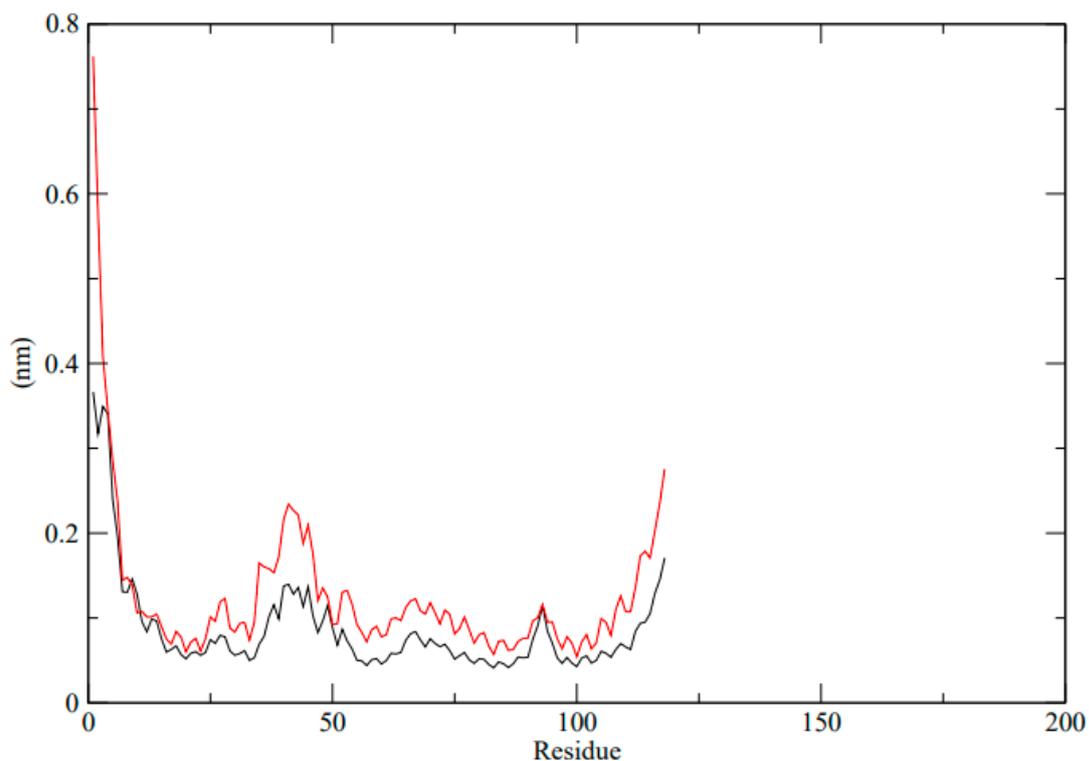


Figure 4. RMSF du système BRD-Capamatinib (en noir) et BRD seul (en rouge).

### Radius of gyration (total and around axes)

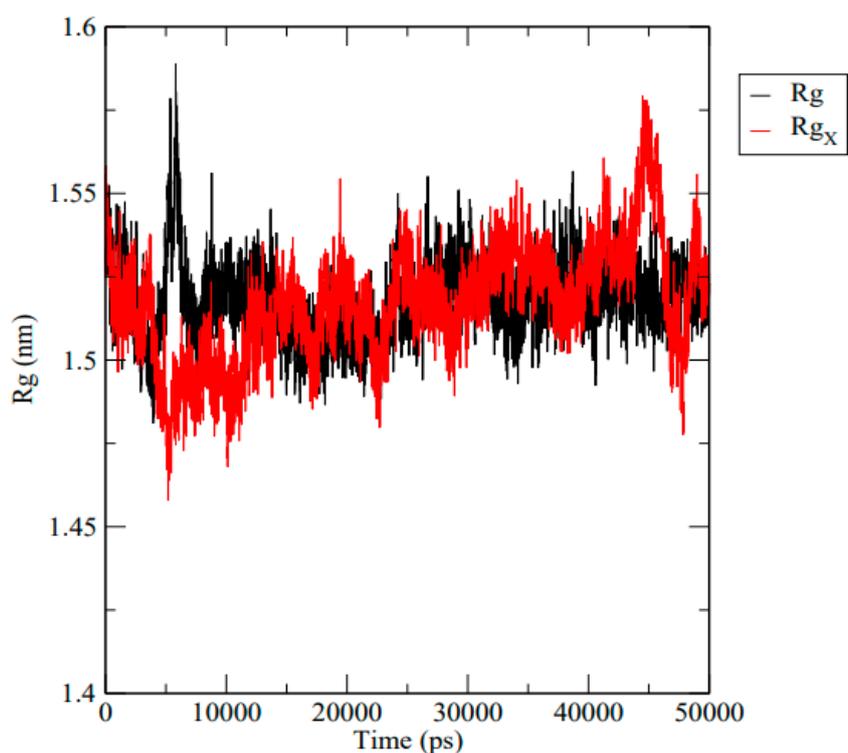


Figure 5. Rayons de gyration du système BRD-Capamatinib (en noir) et BRD seul (en rouge).

## Hydrogen Bonds

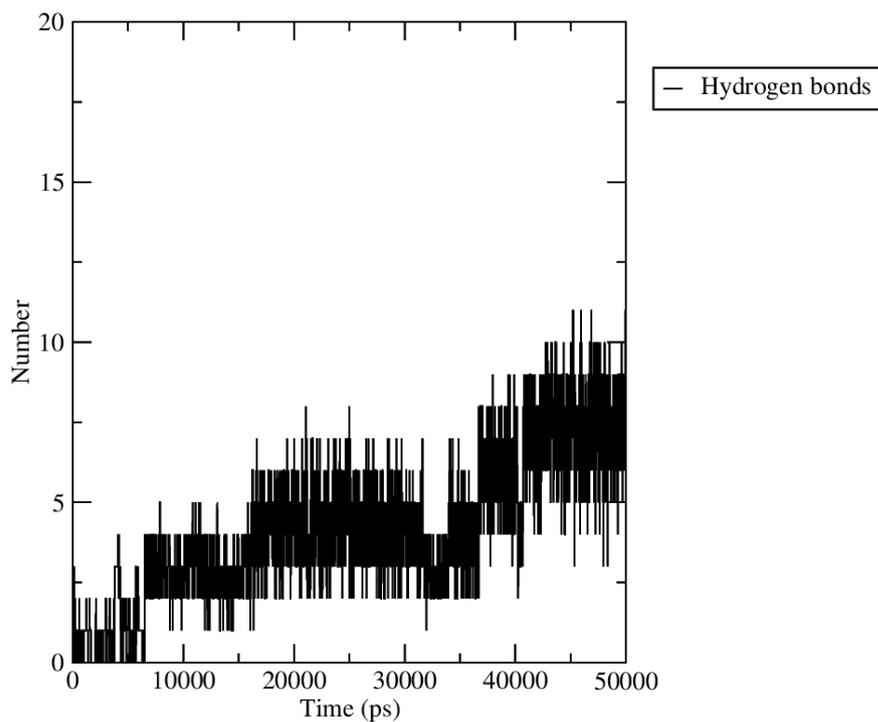


Figure 6. Liaisons hydrogene entre BRD et capmatinib

Le graphe des liaisons hydrogène établies entre le capmatinib et le domaine BRD (**figure 6**) met en avant le nombre important de liaisons hydrogènes établies entre ces deux derniers ce qui indique que l'amarrage du capmatinib est stabilisée en majorité par des liaisons hydrogènes.

Même le complexe HAT-Atovaquone a été soumis à une simulation de la dynamique moléculaire dans les mêmes conditions que le complexe précédant. Les résultats de l'analyse du RMSD (**figure 7**) démontrent des valeurs comprises entre 0.5 et 0.7 nm avec une constance invoquant la stabilité du système.

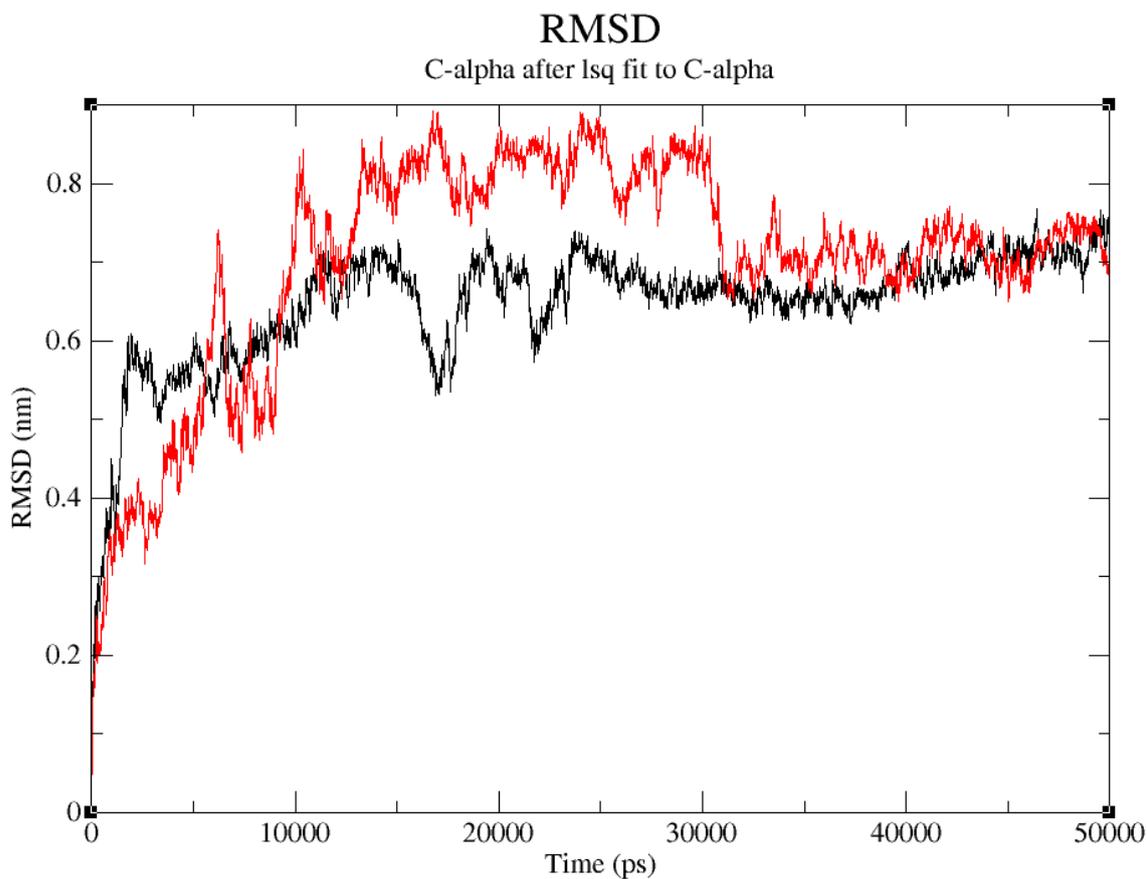


Figure 7. RMSD du système HAT-Atovaquone (en noir) et RMSD de HAT seule (en rouge)

Pour ce qui est du RMSF (**figure 8**), on distingue un pic pour les résidus 250-300, ces derniers avaient été modélisés ce qui explique la cause des hautes fluctuations à leur niveau. Pour le reste des résidus on note des valeurs correctes ne dépassant pas les 0.2nm.

La **figure 9** illustre le rayon de gyration du système, et on en déduit un niveau de compaction assez correcte s'établissant de 2.3 à 2.4 nm à longueur de la simulation. Ceci témoigne de la stabilité du complexe HAT-Atovaquone.

### RMS fluctuation

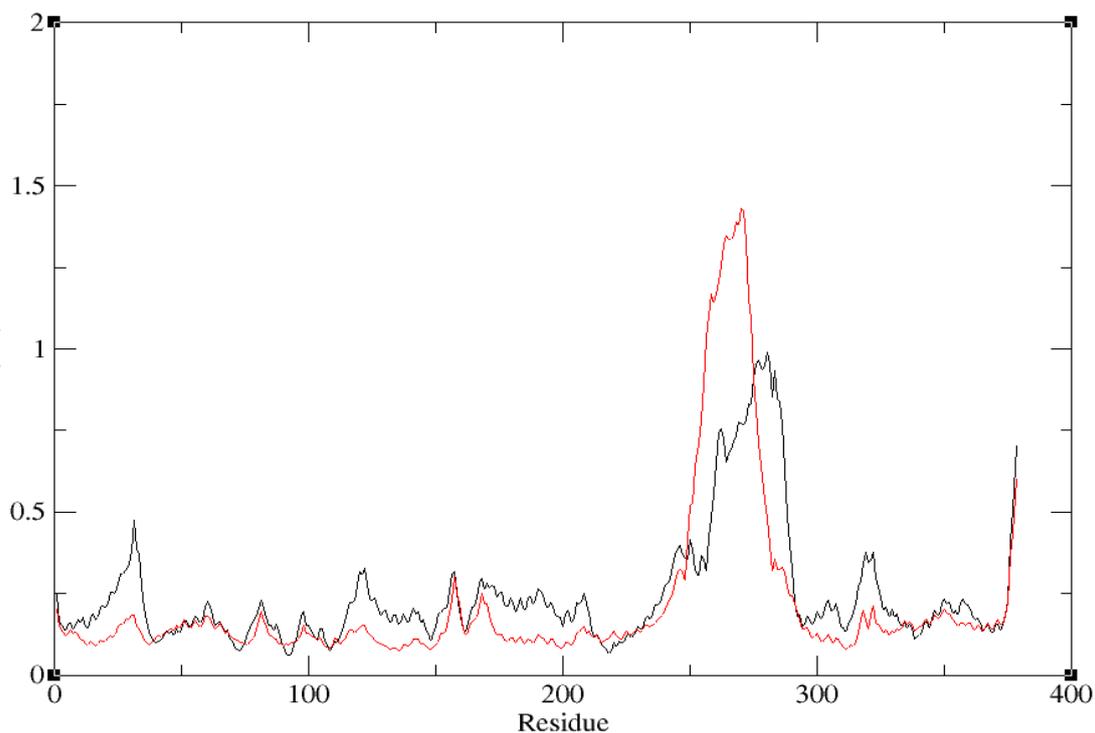


Figure 8. RMSF du complexe HAT-Atovaquone (en noir) et RMSD de HAT seule (en rouge)

### Radius of gyration (total and around axes)

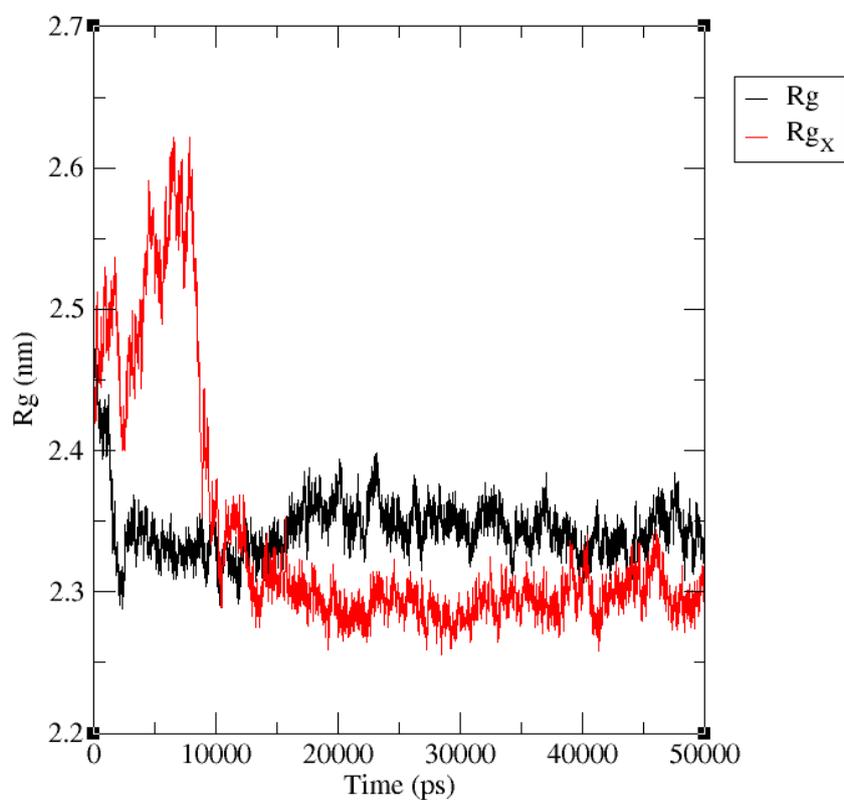


Figure 9. Rayon de gyration du système HAT-Atovaquone (en noir) et de HAT seule (en rouge)

## Hydrogen Bonds

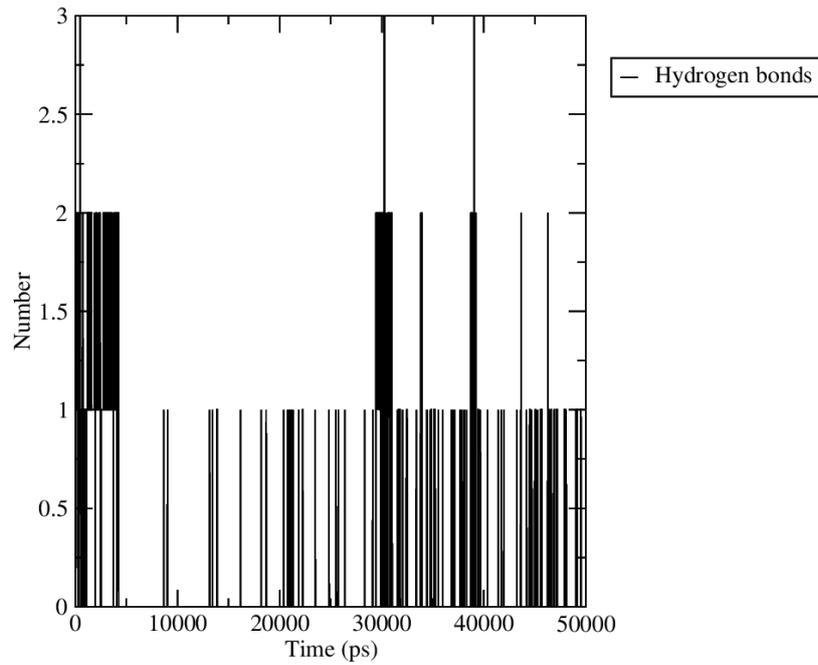


Figure 10. Liaisons hydrogene entre HAT et atovaquone.

L'analyse des liaisons hydrogene entre l'atovaquone et le domaine HAT ( **figure 10** ) démontre un nombre compris entre 1 et 0 liaison au long de la simulation, ce qui suggère que la fixation du ligand au sein du domaine est plutôt stabilisée par des liaisons hydrophobiques.

## Conclusion

L'endométriose étant une maladie majoritairement récidivante, nous nous sommes proposé à établir une approche épigénétique de la pathologie et du mécanisme sous-jacent impliquant la P300 qui en absence de ARID1A va induire une surexpression de gènes responsable du caractère invasif chez les cellules endométriales. À cet effet notre étude *in silico* s'est penchée sur l'étude par des procédés de docking moléculaire et de simulation de la dynamique moléculaire l'effet inhibiteur de médicaments approuvés par la FDA sur les deux domaines HAT et BRD de la P300.

A cet égard les deux médicaments Atovaquone et Capmatinib ont démontré des congruités vis-à-vis des domaines HAT et BRD respectivement tant au niveau moléculaire à travers des degrés d'affinité estimable qu'au niveau atomique en formant des complexes dynamiquement stables. Ainsi ces deux molécules peuvent être proposées comme des solutions thérapeutiques pour les patientes atteintes d'endométriose présentant la mutation ARID1A. Compte tenu de leurs attributs, ces molécules peuvent aussi être sujet de recherches à application *in vivo* pour évaluer leurs effets dans des conditions réalistes.

## REFERENCES

1. Abraham, M., Murtola, T. J., Schulz, R., Páll, S., Smith, J. C., Hess, B., & Lindahl, E. (2015). GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *SoftwareX*, 1–2, 19–25. <https://doi.org/10.1016/j.softx.2015.06.001>
2. Anglesio, M. S., Papadopoulos, N., Ayhan, A., Nazeran, T. M., Noë, M., Horlings, H. M., Lum, A., Jones, S., Senz, J., Seckin, T., Ho, J., Wu, R.-C., Lac, V., Ogawa, H., Tessier-Cloutier, B., Alhassan, R., Wang, A., Wang, Y., Cohen, J. D., ... Shih, I.-M. (2017). Cancer-Associated Mutations in Endometriosis without Cancer. *New England Journal of Medicine*, 376(19), 1835–1848. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1614814>
3. Arif, M., Pradhan, S. K., G R, T., Vedamurthy, B. M., Agrawal, S., Dasgupta, D., & Kundu, T. K. (2009). Mechanism of p300 Specific Histone Acetyltransferase Inhibition by Small Molecules. *Journal of Medicinal Chemistry*, 52(2), 267–277. <https://doi.org/10.1021/jm800657z>
4. 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(1). <https://doi.org/10.1038/srep42717>
5. Dallakyan, S., & Olson, A. J. (2015). Small-Molecule Library Screening by Docking with PyRx. Dans *Methods in molecular biology* (p. 243-250). Springer Science+Business Media. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2269-7\\_19](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2269-7_19)
6. Dekker, F. J., & Haisma, H. J. (2009). Histone acetyl transferases as emerging drug targets. *Drug Discovery Today*, 14(19-20), 942–948. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2009.06.008>
7. Dhillon, S. (2020). Capmatinib : First approval. *Drugs*, 80(11), 1125–1131. <https://doi.org/10.1007/s40265-020-01347-3>
8. Du, H., & Taylor, H. S. (2007). Contribution of Bone Marrow-Derived Stem Cells to Endometrium and Endometriosis. *STEM CELLS*, 25(8), 2082–2086. <https://doi.org/10.1634/stemcells.2006-0828>
9. Giudice, L. C., & Kao, L. C. (2004). Endometriosis. *The Lancet*, 364(9447), 1789–1799. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(04\)17403-5](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(04)17403-5)
10. Goodman, R. H., & Smolik, S. (2000). CBP/p300 in cell growth, transformation, and development. *Genes & ; Development*, 14(13), 1553–1577. <https://doi.org/10.1101/gad.14.13.1553>

11. He, Z.-X., Wei, B.-F., Zhang, X., Gong, Y.-P., Ma, L.-Y., & Zhao, W. (2021). Current development of CBP/p300 inhibitors in the last decade. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 209, 112861. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112861>
12. O'Boyle, N. M., Banck, M., James, C., Morley, C. K., Vandermeersch, T., & Hutchison, G. R. (2011). Open Babel : An open chemical toolbox. *Journal of Cheminformatics*, 3(1). <https://doi.org/10.1186/1758-2946-3-33>
13. Pettersen, E. F., Goddard, T. D., Huang, C. C., Couch, G. S., Greenblatt, D. L., Meng, E. C., & Ferrin, T. E. (2004). UCSF Chimera ? A visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of Computational Chemistry*, 25(13), 1605-1612. <https://doi.org/10.1002/jcc.20084>
14. Pihan, E., Colliandre, L., Guichou, J., & Douguet, D. (2012). e-Drug3D : 3D structure collections dedicated to drug repurposing and fragment-based drug design. *Bioinformatics*, 28(11), 1540-1541. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts186>
15. Rada-Iglesias, A., Bajpai, R., Swigut, T., Brugmann, S. A., Flynn, R. A., & Wysocka, J. (2010). A unique chromatin signature uncovers early developmental enhancers in humans. *Nature*, 470(7333), 279–283. <https://doi.org/10.1038/nature09692>
16. Šali, A., & Blundell, T. L. (1993). Comparative protein modelling by satisfaction of spatial restraints. *Journal of Molecular Biology*, 234(3), 779–815. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1993.1626>
17. Samartzis, E., Noske, A., Dedes, K., Fink, D., & Imesch, P. (2013). ARID1A Mutations and PI3K/AKT Pathway Alterations in Endometriosis and Endometriosis-Associated Ovarian Carcinomas. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(9), 18824–18849. <https://doi.org/10.3390/ijms140918824>
18. Sampson, J. A. (1927). Peritoneal endometriosis due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 14(4), 422–469. [https://doi.org/10.1016/s0002-9378\(15\)30003-x](https://doi.org/10.1016/s0002-9378(15)30003-x)
19. Shafrir, A. L., Farland, L. V., Shah, D. K., Harris, H. R., Kvaskoff, M., Zondervan, K., & Missmer, S. A. (2018). Risk for and consequences of endometriosis : A critical epidemiologic review. *Best Practice & ; Research Clinical Obstetrics & ; Gynaecology*, 51, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2018.06.001>
20. Shapovalov, M. V., & Dunbrack, R. L. (2011). A smoothed backbone-dependent rotamer library for proteins derived from adaptive kernel density estimates and regressions. *Structure*, 19(6), 844–858. <https://doi.org/10.1016/j.str.2011.03.019>

21. Smith, H. W., & Marshall, C. J. (2010). Regulation of cell signalling by uPAR. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 11(1), 23–36. <https://doi.org/10.1038/nrm2821>
22. Suda, K., Nakaoka, H., Yoshihara, K., Ishiguro, T., Tamura, R., Mori, Y., Yamawaki, K., Adachi, S., Takahashi, T., Kase, H., Tanaka, K., Yamamoto, T., Motoyama, T., Inoue, I., & Enomoto, T. (2018). Clonal Expansion and Diversification of Cancer-Associated Mutations in Endometriosis and Normal Endometrium. *Cell Reports*, 24(7), 1777–1789. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.07.037>
23. Vallières, C., Fisher, N., Antoine, T., Al-Helal, M., Stocks, P., Berry, N. G., Lawrenson, A. S., Ward, S. A., O'Neill, P. M., Biagini, G. A., & Meunier, B. (2012). HDQ, a potent inhibitor of plasmodium falciparum proliferation, binds to the quinone reduction site of the cytochromebc1complex. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(7), 3739–3747. <https://doi.org/10.1128/aac.00486-12>
24. Vassilopoulou, L., Matalliotakis, M., Zervou, M., Matalliotaki, C., Krithinakis, K., Matalliotakis, I., Spandidos, D., & Goulielmos, G. (2019). Defining the genetic profile of endometriosis (Review). *Experimental and Therapeutic Medicine*. <https://doi.org/10.3892/etm.2019.7346>
25. Wilson, M. R., Reske, J. J., Holladay, J., Neupane, S., Ngo, J., Cuthrell, N., Wegener, M., Rhodes, M., Adams, M., Sheridan, R., Hostetter, G., Alotaibi, F. T., Yong, P. J., Anglesio, M. S., Lessey, B. A., Leach, R. E., Teixeira, J. M., Missmer, S. A., Fazleabas, A. T., & Chandler, R. L. (2020). ARID1A Mutations Promote P300-Dependent Endometrial Invasion through Super-Enhancer Hyperacetylation. *Cell Reports*, 33(6), 108366. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108366>
26. Yildirim, F., Ji, S., Kronenberg, G., Barco, A., Olivares, R., Benito, E., Dirnagl, U., Gertz, K., Endres, M., Harms, C., & Meisel, A. (2014). Histone Acetylation and CREB Binding Protein Are Required for Neuronal Resistance against Ischemic Injury. *PLoS ONE*, 9(4), Article e95465. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095465>
27. Zeng, L., & Zhou, M.-M. (2002). Bromodomain : An acetyl-lysine binding domain. *FEBS Letters*, 513(1), 124–128. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(01\)03309-9](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(01)03309-9)
28. Zoete, V., Cuendet, M. A., Grosdidier, A., & Michielin, O. (2011). SwissParam: A fast force field generation tool for small organic molecules. *Journal of Computational Chemistry*, 32(11), 2359–2368. <https://doi.org/10.1002/jcc.21816>
29. Zucconi, B. E., Makofske, J. L., Meyers, D. J., Hwang, Y., Wu, M., Kuroda, M. I., & Cole, P. A. (2019). Combination targeting of the bromodomain and acetyltransferase active

site of p300/cbp. *Biochemistry*, 58(16),  
2143. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.9b00160>

2133–