

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبو بكر بلقايد- تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMEN

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



MEMOIRE

Présenté par

Mammad Ahlem Fatima zohra & Mammad Esma Nora

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER en Sciences Biologiques

Option : Physiologie cellulaire et physiopathologie

Thème

Etude In Silico De L'Inhibition De EGFR1

Soutenu le devant le jury composé de :

Président	Chaouche Tarik	MCA	Université de Tlemcen
Encadrant	Cherrak sabri	MCA	Université de Tlemcen
Examinatrice	Merzouk Amel	MCA	Université de Tlemcen

Année universitaire 2023/2024

Remerciements

C E document présente les travaux effectués dans le cadre de notre projet de fin d'étude de Master au Département de Biologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et des Sciences de la Terre de l'Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen.

Nous tenons à exprimer notre sincère gratitude envers toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Tout d'abord, un immense merci à notre encadrent monsieur, CHERRAK Sabri, pour ses conseils avisés, son expertise et son soutien constant. Ses orientations éclairées et ses suggestions ont grandement enrichi ce travail.

Nous souhaitons également remercier notre beau-frère, le Dr. BELMEKHFI Mokhtar, pour ses conseils éclairés, ses encouragements et ses idées très précieuses.

Un grand merci à notre soeur, MAMMAD Meryem, doctorante, pour sa patience, ses encouragements. Sa compréhension et son savoir académiques ont été d'une aide inestimable.

Nous sommes également reconnaissant envers nos parents pour leur amour, leur soutien indéfectible et leur confiance en nous tout au long de ce parcours académique.

Enfin, un chaleureux remerciement à mes chers amis, Rajaa et Abdellatif, pour leur amitié, leur écoute et leur soutien constant pendant cette période de travail intense .

Chacune de ces personnes a contribué à rendre cette expérience enrichissante et mémorable.

MAMMAD Fatima Zohra Ahlem MAMMAD Esma Nora
Tlemcen, le 17 avril 2024

Dedicaces

O_N dédie cet humble et modeste travail avec grand amour, sincérité et fierté :

- A celle qui m'a arrosé de tendresse et d'espoir, à la source d'amour incessible, à la mère des sentiments fragiles qui ma bénie par ces prière..Ma mère ;
- A mon support dans ma vie, qui m'a apparais m'a supporté et ma dirigé vers la gloire.Mon père ;
- A mes frères et ma sur, en témoignage de la fraternité, avec mes souhaites de bonheur, de santé et de succès ;
- A tout mes amis, tous mes professeurs.

Et à tout qui compulse ce modeste travail.

MAMMAD Fatima Zohra Ahlem MAMMAD Esma Nora
Tlemcen, le 17 avril 2024

ETUDE IN SILICO DE L'INHIBITION DE EGFR1

Résumé

EGFR1, une protéine essentielle impliquée dans la régulation de la croissance cellulaire, la différenciation et la survie cellulaire. Cette recherche explore également la surexpression de l'EGFR1 dans divers cancers, ce qui en fait une cible importante pour le développement de thérapies ciblées. En utilisant le docking moléculaire avec les logiciels Pyrx et UCSF Chemira, un criblage virtuel a été effectué pour identifier des composés capables d'inhiber sélectivement l'EGFR1. Parmi les résultats, deux composés, désignés par les références 64033452 et 4214700, se sont démarqués comme les meilleurs candidats théoriques en raison de leur affinité accrue envers l'EGFR1 et de leur conformité aux normes pharmacocinétiques. Cette étude offre ainsi des perspectives prometteuses pour le développement de médicaments efficaces ciblant l'EGFR1, avec des implications significatives en oncologie et en pharmacologie.

Mots clés

EGFR1 ; Cancers ; Docking moléculaire ; Inhibiteurs.

IN SILICO STUDY OF EGFR1 INHIBITION

Abstract

EGFR1, an essential protein involved in the regulation of cell growth, differentiation and survival. This research also explores the overexpression of EGFR1 in various cancers, making it an important target for the development of targeted therapies. Using molecular docking with Pyrx and UCSF Chimera software, virtual screening was carried out to identify compounds capable of selectively inhibiting EGFR1. Among the results, two compounds, designated 64033452 and 4214700, stood out as the best theoretical candidates on account of their increased affinity for EGFR1 and their compliance with pharmacokinetic standards. This study thus offers promising prospects for the development of effective drugs targeting EGFR1, with significant implications in oncology and pharmacology.

Keywords

EGFR1 ; Cancers ; Molecular docking ; Inhibitors.

دراسة في السيليكو لتثبيط EGFR1

ملخص

EGFR1 ، وهو بروتين أساسي يشارك في تنظيم نمو الخلايا وتميزها وبقائها على قيد الحياة. يكشف هذا البحث أيضًا الإفراط في التعبير عن EGFR1 في مختلف أنواع السرطان، مما يجعله هدفًا مهمًا لتطوير العلاجات المستهدفة. باستخدام الإرساء الجزيئي باستخدام برنامج Pyrx وبرنامج UCSF Chemira ، تم إجراء فحص افتراضي لتحديد المركبات القادرة على تثبيط EGFR1 بشكل انتقائي. من بين النتائج، برز مركبان، تم تحديدهما 64033452 و 4214700 ، كأفضل المرشحين النظريين بسبب زيادة تقاربهم لـ EGFR1 وامتثالهم لمعايير الحرائك الدوائية. وبالتالي، تقدم هذه الدراسة آفاقًا واعدة لتطوير عقاقير فعالة تستهدف EGFR1 ، مع ما يترتب على ذلك من آثار كبيرة في علم الأورام وعلم الأدوية.

الكلمات المفتاحية

EGFR1 ؛ السرطانات؛ الالتحام الجزيئي؛ المثبطات

TABLE DES MATIÈRES

ABBRÉVIATIONS	viii
TABLE DES FIGURES	xi
LISTE DES TABLEAUX	xii
INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
1 LE RÉCEPTEUR DU FACTEUR DE CROISSANCE ÉPIDERMIQUE (EGFR)	2
1.1 DÉFINITION	3
1.2 STRUCTURE	4
1.2.1 Région extracellulaire	4
1.2.2 Région transmembranaire	5
1.2.3 Région juxta-membranaire	6
1.2.4 Région tyrosine kinase	6
1.2.5 Région Terminal C	7
1.3 FONCTIONS PHYSIOLOGIQUES ET ABERRATIONS DE L'EGFR	7
1.3.1 EGFR dans l'embryogenèse	8
1.3.2 EGFR dans l'organogenèse	8
1.4 VOIES DE SIGNALISATION EGFR	9
1.4.1 La cascade de signalisation Ras/Raf	10
1.4.2 La voie PI3K/Akt	10
1.4.3 Voies de la kinase Src	11
1.4.4 Phospholipase C-1	11
1.4.5 Les protéines tyrosine phosphatases	11
1.4.6 La protéine ubiquitine ligase cbl	12
1.4.7 Transducteurs de signal et activateurs de la voie de transcription	12
1.5 SIGNALISATION NUCLÉAIRE DE EGFR	12
1.5.1 Mécanismes de translocation nucléaire de l'EGFR	13
1.5.2 Fonctions moléculaires et biologiques de l'EGFR nucléaire	13
1.6 EGFR DANS LE CANCER	14
2 LES INHIBITEURS EGFR	17
2.1 DÉFINITION	18
2.2 MÉCANISME D'ACTION	18
2.3 THÉRAPIES CIBLÉES SUR EGFR	19
2.3.1 Inhibiteurs de tyrosine kinase de EGFR (EGFR-TKIs)	20
2.3.2 Anticorps anti-EGFR	21
2.3.3 Thérapie combinée	22
2.4 EFFETS INDÉSIRABLES DES INHIBITEURS DE EGFR	22
2.4.1 Toxicité cutanée	22
2.4.2 Toxicité cardiaque	22

2.4.3	Toxicité digestive (diarrhées)	23
2.4.4	Perturbation de bilan hépatocellulaire	23
3	MATERIELS ET METHODES	24
3.1	RÉCUPÉRATION ET PRÉPARATION DE LA PROTÉINE CIBLE	25
3.2	PRÉPARATION DES LIGANDS	25
3.3	L'AMARRAGE MOLÉCULAIRE	25
3.4	IDENTIFICATION DES INTERACTIONS	26
3.5	LES PARAMÈTRES PHARMACOCINÉTIQUES DES COMPOSÉS	26
4	RESULTATS ET DISCUSSION	27
4.1	RÉSULTATS ET DISCUSSION	28
	CONCLUSION GÉNÉRALE	42
	BIBLIOGRAPHIE	47

Abbréviations

Les principales notations et abréviations utilisées dans ce mémoire sont explicitées ci-dessous, sous leur forme la plus couramment employée dans le domaine de la biologie.

abréviations	Signification
<i>GRCh</i>	Reference Consortium humain genome build
<i>PIG</i>	Percutaneous image Guided
<i>ADNc</i>	Acide Désoxyribonucléique complémentaire
<i>TK</i>	Tyrosine Kinase
<i>Tyr</i>	tyrosine
<i>Phe</i>	phénylalanine
<i>Arg</i>	arginine
<i>Asp</i>	acide aspartique
<i>Ile</i>	isoleucine
<i>TM</i>	domaine transmembranaire
<i>MAPK</i>	kinase active par les mitogènes
<i>TGF</i>	facteur de croissance transformant
<i>(fos)(jun)et(myc)</i>	facteur de transcription
<i>STAT3</i>	signal transducer and activator of transcription 3
<i>AP – 2</i>	protéine activateur
<i>CBL</i>	protéine ubiquitine ligase
<i>GRB2</i>	Growth Factor Receptor-Bound Protein 2
<i>SHC</i>	src Homology 2 domain-containing
<i>AKT</i>	Protein Kinase B (PKB)
<i>STAT5</i>	signal transducer and activator of transcription 5
<i>ERK</i>	Extracellular Signal-Regulated kinase
<i>MEK</i>	Mitogen-activated protein kianse
<i>SH2</i>	src Homology 2
<i>PTB</i>	Phosphotyrosine Binding
<i>SH3</i>	src Homology 3
<i>GTP</i>	Guanosine Triphosphate
<i>PI3K</i>	Phosphoinositide 3-kinase
<i>RalGDS</i>	stimulateur de dissociation nucléotidique de la guanine de type Ras
<i>PIP2</i>	phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate
<i>PIP3</i>	phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate
<i>RAL</i>	Ral GTPase
<i>domainePH</i>	Pleckstrin Homology

<i>PLC</i> – 1	Phospholipase C gamma 1
<i>DAG</i>	diacylglycérol
<i>IP3</i>	1,4,5-triphosphate
<i>PKC</i>	protéine kinase C
<i>PTP</i>	protéines tyrosine phosphatases
<i>RPTP</i>	Récepteurs tyrosine phosphatase
<i>RE</i>	Réticulum endoplasmique
<i>Vps34</i>	Vacuolar protein sorting
<i>NLS</i>	Nuclear Localisation Signal
<i>INM</i>	Membrane nucléaire interne
<i>INTERNET</i>	Integral trafficking from the ER to the Nuclear Envelope Transport
<i>FT</i>	Facteurs de transcription
<i>RNA</i>	Acide ribonucléique
<i>RHA</i>	RNA Hélicase A
<i>PCNA</i>	Proliferating Cell Nuclear Antigen
<i>ITK</i>	les inhibiteurs de tyrosine kinases
<i>EGFR</i>	epidermal growth factor receptor
<i>HER</i>	human epidermal growth factor receptor
<i>ATP</i>	adénosine triphosphate
<i>EGFR – TKIs</i>	les inhibiteurs de la tyrosine kinase du récepteur du facteur de croissance épidermique
<i>Mg – ATP</i>	Adenosine 5'-triphosphate (ATP) disodium salt hydrate
<i>HER – 2</i>	Human Epidermal Growth Factor Receptor-2
<i>HER – 4</i>	Human Epidermal Growth Factor Receptor-4
<i>Met</i>	Metabolic Equivalent of Task ou Équivalent métabolique
<i>ROS1</i>	Reactive Oxygen Species -1
<i>ALK</i>	kinase du lymphome anaplasique
<i>VEGFR1/2/3</i>	vascular endothelial growth factor
<i>RET</i>	Real Estate Transaction
<i>FLT3</i>	FMS-Like tyrosine kinase 3
<i>NTRK</i>	récepteur de tyrosine kinases neurotrophiques
<i>CPNPC</i>	Le cancer du poumon non à petites cellules
<i>RTK</i>	Récepteur Tyrosine Kinase
<i>CHC</i>	Carcinome Hépatocellulaire
<i>PRCC</i>	Carcinome Papillaire du Rein
<i>CCR</i>	Carcinome Colorectal
<i>AcM</i>	anticorps monoclonaux
<i>mAb</i>	anticorps monoclonal
<i>Fc</i>	Partie Constante d'anticorps
<i>ADCC</i>	Antibody-Dependent Cell-Mediated Cytotoxicity
<i>ACT</i>	Adoptive Cell Transfer
<i>TME</i>	thérapie par modulation de l'expression génique
<i>ARN</i>	acide ribonucléique
<i>scRNAseq</i>	séquençage d'ARN a cellule unique
<i>EGF</i>	facteur de croissance épidermique
<i>FEVG</i>	la fraction d'éjection ventriculaire gauche
<i>IFN-?</i>	Interféron alpha
<i>RCC</i>	Carcinome a cellules rénales
<i>ErbB1</i>	récepteur du facteur de croissance épidermique

<i>FDA</i>	Food and Drug Administration
<i>Leu</i>	leucine
<i>Val</i>	valine
<i>Ala</i>	alanine
<i>Met</i>	méthionine
<i>CTCv</i>	cellule tumorale circulantes viable
<i>cfRCP</i>	cellule fusionné de reprogrammation des cellules
<i>RHD</i>	facteur Rh(D)
<i>VHA</i>	virus hépatite A
<i>VHB</i>	virus hépatite B
<i>VHC</i>	virus hépatite C
<i>PCR</i>	réaction de polymérisation en chaine
<i>CMV</i>	cytomégalovirus
<i>EBV</i>	virus d'Epstein-Barr
<i>HSV</i>	virus de l'herpès simplex
<i>HHV6</i>	virus humain de l'herpès 6
<i>HHV8</i>	virus humain de l'herpès 8
<i>VHE</i>	virus hépatite E
<i>ECBU</i>	examen cytobactériologique des urines

TABLE DES FIGURES

1.1	Diagrammes schématiques des domaines EGFR. (un) (a) Structure de domaine de l'EGFR humain et des exons le codant, (b) Sites de phosphorylation de l'EGFR) ([PXZ+24]).	3
1.2	Capture d'écran du navigateur du génome humain d'Ensemble montrant le gène EGFR ([SSB+16]).	4
1.3	Visualisation tridimensionnelle du domaine extracellulaire EGFR en complexe avec EGF (jaune). Les sous-domaines sont marqués en couleurs : L1, bleu ; CR1, vert ; L2, orange ; partie de CR2, gris. Les trois sites interagissant avec l'EGF sont marqués par des cercles rouges. ([PXZ+24]).	5
1.4	Structure de la protéine EGFR (A), activation (B) et dimérisation par liaison du ligand (C) ([RWP+11]).	6
1.5	Activités physiologiques de l'EGFR dans différentes parties du corps et effet d'aberration du récepteur ([ARMT+24]).	8
1.6	Protéines EGFR et ERBB et leurs voies en aval.([RWP+11])	9
1.7	Voies de signalisation médiées par l'EGFR.([GCP+22])	10
1.8	Voies de signalisation de l'EGFR.([ARMT+24])	12
1.9	Fonctions nucléaires de l'EGFR.([LHAS+05])	14
1.10	Facteurs provoquant la surexpression de l'EGFR ([ARMT+24]).	16
2.1	Mécanisme d'action des inhibiteurs de la tyrosine kinase.([ARMT+24])	19
2.2	Modalités thérapeutiques ciblées.([JYP+11a])	20
3.1	structure 3D du récepteur EGFR1.([LLM+20])	25
4.1	Complexe amarré récepteur-ligand. Amarrage d'une petite molécule.([ZL23])	29
4.2	Interaction 2D du composé 64033452 avec la protéine 3W32.	35
4.3	Interaction 2D du composé 4214700 avec la protéine 3W32.	35
4.4	Interaction 2D du composé 6716957 avec la protéine 3W32.	36
4.5	Interaction 2D du composé 150338755 avec la protéine 3W32.	36
4.6	Interaction 2D du composé 1612996 avec la protéine 3W32.	37
4.7	Interaction 2D du composé 1550477 avec la protéine 3W32.	37
4.8	Interaction 2D du composé 1530886 avec la protéine 3W32.	38
4.9	Interaction 2D du composé 40430143 avec la protéine 3W32.	38
4.10	Les composés les plus et les moins actifs au niveau du site actif de l'EGFR, ainsi que les principaux résidus (Met793 et Thr854) et deux molécules d'eau structurales.([HZS+09])	39
4.11	(A) Structure tridimensionnelle de l'EGFR ; et (B) surfaces hydrophobes (orange) et hydrophiles (bleu) des sites actifs EGFR.([HZS+09])	39
4.12	La fente de liaison de 3W32 ayant des ligands cocristallisés.([RB10])	40
4.13	Les domaines kinases de (B) 3W32 s'adapte à la pose ancrée des ligands co-cristallisés.([RB10])	40

LISTE DES TABLEAUX

1.1	Pourcentages observés de tumeurs surexprimant l'EGFR dans différents types de cancer	15
2.1	Classification des ITK de l'EGFR basée sur la nature de l'inhibition de l'EGFR	18
2.2	Le bilan à réaliser face à une perturbation du bilan hépatique pendant un traitement anticancéreux. ([Shu22])	23
4.1	coordonnées et énergie de liaison de 16 ligands qui peuvent inhiber l'action du récepteur EGFR1	28
4.2	Interactions des 8 ligands les mieux ancrés contre le site actif de la protéine EGFR1 .	29
4.3	Les paramètres pharmacocinétiques des composés.	41

Introduction générale

Le cancer est une maladie aux multiples facettes et constitue un fardeau majeur pour la santé dans le monde, c'est une maladie chronique marquée par des cellules immortelles à prolifération et division incontrôlée. Les cellules cancéreuses peuvent devenir invasives, agressives et métastatiques si elles ne sont pas traitées [MM23]. C'est la principale cause de mortalité dans le monde [biba].

La liaison du facteur de croissance épidermique endogène (EGF) à l'EGFR dans les cellules cancéreuses entraîne une cascade d'événements de transduction de signaux [IUSU20a], les récepteurs tyrosine kinases (RTK) et joue un rôle essentiel dans la régulation de la différenciation cellulaire, de la croissance, de la survie et de l'apoptose [bibb].

Un dérèglement du métabolisme de l'ARN et des voies du cytosquelette/adhésion a été identifiée à la fois dans le protéome et le phosphoprotéome des cellules mutantes à tyrosine kinase KIT, l'analyse du phosphoprotéome a en outre révélé des kinases actives telles que EGFR, une analyse complète et impartiale des voies de signalisation activées par différentes mutations KIT associées au cancer est justifiée. Cela pourrait permettre de découvrir de nouvelles approches thérapeutiques pour le cancer mutant KIT [bibe].

Les récepteurs des facteurs de croissance sont des cibles attrayantes pour les thérapies anticancéreuses à base d'anticorps en raison de leur emplacement à la surface cellulaire, ce qui les rend facilement accessibles aux anticorps thérapeutiques capables d'exercer leurs effets inhibiteurs soit en interférant avec la signalisation cellulaire, soit en ciblant des molécules toxiques ou des effecteurs biologiques vers la tumeur [AMZX24].

Par conséquent, il est nécessaire de développer davantage d'inhibiteurs de l'EGFR en raison du développement d'une résistance aux médicaments due à la mutation [biba].

L'EGFR est devenu une cible médicamenteuse attrayante pour le traitement du cancer [bibb], la conception de médicaments basée sur la structure comprend plusieurs étapes telles que la récupération et la préparation de la structure protéique, la préparation de la bibliothèque de ligands, l'amarrage et la modification structurelle du composé le plus efficace pour en concevoir de nouveaux [biba].

Cette étude *in silico* a été menée pour explorer l'inhibition du récepteur EGFR1. On a utilisé une banque de données de ligands pour inhiber le récepteur, en ajustant la forme cristallographique de la protéine. Ensuite, un amarrage moléculaire sera réalisé pour examiner les principales interactions de liaison entre l'inhibiteur et la protéine. Les résultats devront mettre en lumière les interactions clés entre l'inhibiteur et la protéine.

Chapitre 1

LE RÉCEPTEUR DU FACTEUR DE CROISSANCE ÉPIDERMIQUE (EGFR)

SOMMAIRE

1.1	DÉFINITION	3
1.2	STRUCTURE	4
1.2.1	Région extracellulaire	4
1.2.2	Région transmembranaire	5
1.2.3	Région juxta-membranaire	6
1.2.4	Région tyrosine kinase	6
1.2.5	Région Terminal C	7
1.3	FONCTIONS PHYSIOLOGIQUES ET ABERRATIONS DE L'EGFR	7
1.3.1	EGFR dans l'embryogenèse	8
1.3.2	EGFR dans l'organogenèse	8
1.4	VOIES DE SIGNALISATION EGFR	9
1.4.1	La cascade de signalisation Ras/Raf	10
1.4.2	La voie PI3K/Akt	10
1.4.3	Voies de la kinase Src	11
1.4.4	Phospholipase C-1	11
1.4.5	Les protéines tyrosine phosphatases	11
1.4.6	La protéine ubiquitine ligase cbl	12
1.4.7	Transducteurs de signal et activateurs de la voie de transcription	12
1.5	SIGNALISATION NUCLÉAIRE DE EGFR	12
1.5.1	Mécanismes de translocation nucléaire de l'EGFR	13
1.5.2	Fonctions moléculaires et biologiques de l'EGFR nucléaire	13
1.6	EGFR DANS LE CANCER	14

1.1 Définition

L'EGFR humain code pour 1210 acides aminés d'une masse moléculaire d'environ 134 kDa. Il est situé dans la région 7p12-14 du chromosome 7, composée de 28 exons (Figure 1.1). Les 24 premiers acides aminés constituent le peptide signal de cette protéine et sont souvent exclus de la numérotation structurale ([PXZ+24]).

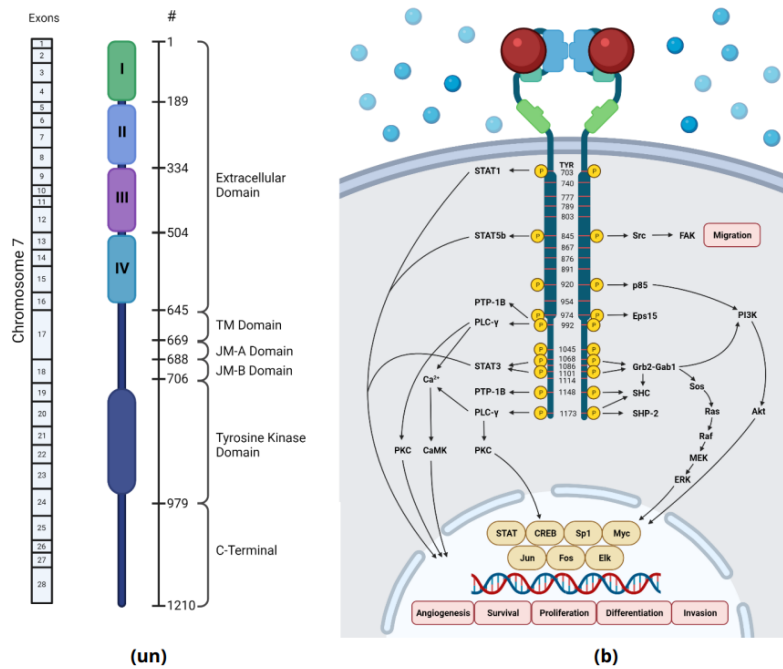


FIGURE 1.1 – Diagrammes schématiques des domaines EGFR. (un) (a) Structure de domaine de l'EGFR humain et des exons le codant, (b) Sites de phosphorylation de l'EGFR ([PXZ+24]).

L'EGFR est une protéine de surface cellulaire qui appartient au récepteur transmembranaire à passage unique de la tyrosine kinase (TKR). Le gène du récepteur EGFR est situé dans le bras court du chromosome 7, avec les coordonnées génomiques (GRCh38) 7 : 55 019 020-55 208 079 comme indiqué sur la figure 1.2, ([HLWR23]) impliqué dans la transduction de signalisation de plus de 200 réactions intracellulaires ([DAADPH18]).

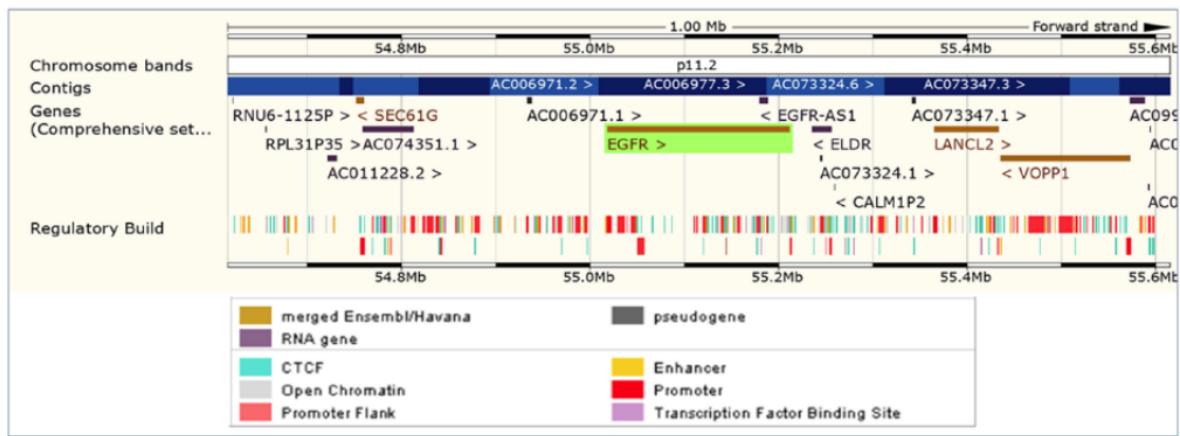


FIGURE 1.2 – Capture d'écran du navigateur du génome humain d'Ensembl montrant le gène EGFR ([SSB+16]).

Chaque récepteur ERBB/HER comprend un grand domaine extracellulaire (> 500 acides aminés), un seul domaine transmembranaire et une grande région cytoplasmique hébergeant l'activité catalytique de la tyrosine kinase ([GCP+22]).

Le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR) ou (erbB1, HER1, ERBB, mENA, PIG61 et NISBD2) est une glycoprotéine transmembranaire appartenant à la famille des facteurs croissance ErbB/HER épidermique, Le criblage de bibliothèques d'ADNc à l'aide d'une sonde EGFR a identifié une famille de protéines étroitement liées à l'EGFR comme erbB2/HER2/neu, erbB3/HER3 et erbB4/HER4, constitué de cinq régions distinctes : un domaine extracellulaire, un domaine transmembranaire, un segment juxtamembranaire, un domaine tyrosine kinase (TK) et une queue régulatrice C-terminale ([PM04]).

Les membErbB/HER présentent des similitudes dans les domaines TK, mais ils sont différents dans le domaine extracellulaire et C-terminal ([SSB+16]).

EGFR est un récepteur membranaire à activité tyrosine kinase. Il devient un oncogène par acquisition d'une mutation activatrice, située essentiellement dans les exons 19 ou 21 du gène ([HLWR23]), mutation par délétion dans le cadre (Del746-750) et mutation L858R; respectivement. La surexpression ou l'activité accrue de l'EGFR entraînent la progression du cancer humain ([SSB+16]). Ils s'installent dans la poche de liaison à l'ATP et modifieront la structure spatiale du domaine kinase, provoquant l'activation indépendante et continue du ligand par l'EGFR kinase ([DAADPH18]).

1.2 Structure

1.2.1 Région extracellulaire

Un domaine extracellulaire NH₂-terminal situé dans le milieu extérieur qui contient le site de liaison capable de fixer ses ligands spécifiques ([DAADPH18]).

Le domaine extracellulaire de liaison au ligand de l'EGFR contient 620 acides aminés (25-645) qui sont divisés en quatre sous-domaines, à savoir I (L1), II (CR1), III (L2) et IV (CR2) (Figure 1.1). L1 et L2 sont tous deux des domaines riches en leucine avec une structure en hélice β et sont responsables de la liaison au facteur de croissance. CR1 et CR2 sont des régions riches en cystéine avec des liaisons

disulfures. CR1 joue un rôle dans la formation d'homo- ou d'hétéro-dimères de l'EGFR avec d'autres membres de la famille ErbB. L1, CR1 et L2 forment une forme en C qui permet à l'EGF de se lier entre L1 et L2. Sur la base de l'interaction de l'EGFR dans le site de liaison, trois sites ont été définis dans les deux sous-domaines (Figure 1.3). La boucle B de l'EGF interagit avec le site 1 de L1 par interaction hydrophobe avec Leu14, Tyr45, Leu69 et Leu98, et des liaisons hydrogène aux résidus 16 à 18 qui forment une feuille β parallèle. La boucle A de l'EGF interagit de manière hydrophobe avec Val350 et Phe357 sur le site 2 de L2, tandis que Arg41 de l'EGF forme un pont salin avec Asp355 dans L2. La région C-terminale de l'EGF forme une interaction hydrophobe avec Leu382, Phe412 et Ile438 comme troisième site de L2. De plus, dans le complexe dimère EGF-EGFR, les deux ligands de l'EGF sont situés du côté opposé du dimère et sont distants de 79 Å l'un de l'autre ([PXZ+24]).

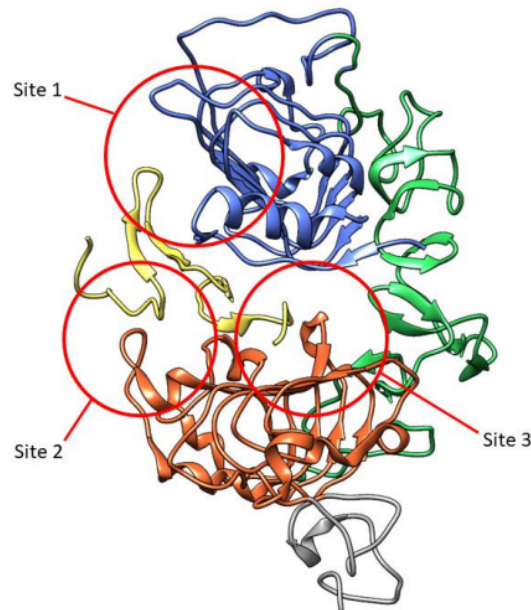


FIGURE 1.3 – Visualisation tridimensionnelle du domaine extracellulaire EGFR en complexe avec EGF (jaune). Les sous-domaines sont marqués en couleurs : L1, bleu ; CR1, vert ; L2, orange ; partie de CR2, gris. Les trois sites interagissant avec l'EGF sont marqués par des cercles rouges. ([PXZ+24]).

1.2.2 Région transmembranaire

Constitue d'un domaine transmembranaire, hydrophobe, qui permet au récepteur de rester ancré dans la membrane plasmique ([HLWR23]).

Le domaine transmembranaire (TM) comprend environ 22 acides aminés (646 à 668). Des études antérieures ont révélé le rôle critique du domaine TM dans la modulation allostérique de l'EGFR par deux voies d'activation qui impliquent un mouvement de pivotement et de rotation des hélices TM. La structure tridimensionnelle du domaine TM en présence du domaine juxta-membranaire montre un contact inter hélice au niveau du motif small-X3-small N-terminal, qui est expérimentalement stable. De plus, l'environnement lipidique des dimères d'hélice TM influence la stabilité de certaines conformations. Il a été constaté que l'épaisseur de la bicouche peut déterminer les mouvements de l'hélice TM, affectant ainsi la stabilité et l'activation du récepteur ([PXZ+24]).

1.2.3 Région juxta-membranaire

Celle-ci relie l'extrémité C-terminale du domaine TM au domaine kinase de l'EGFR et joue un rôle important dans sa dimérisation et son activation. Le domaine juxta-membranaire est une région flexible souvent absente des structures cristallines. Même s'il s'agit d'une région courte de l'EGFR, ne contenant qu'environ 37 résidus, elle est constituée de motifs de tri lysosomal et basolatéral, une séquence de localisation nucléaire, site de liaison à la calmoduline, protéine kinase C et les sites de phosphorylation MAPK ([AKOT22]).

1.2.4 Région tyrosine kinase

Le domaine tyrosine kinase est constitué d'un NH₂-lobe terminal (lobe N) qui comprend cinq brins de feuillet β (β 1-5) et d'une hélice α C s'étendant du résidu 729 à 744, et un lobe terminal COOH plus grand (lobe C) comprenant cinq hélices α (α E, α F, α G, α H et α I). La fente formée entre les deux lobes comporte quatre éléments structuraux importants : la charnière, le site catalytique, la boucle d'activation et la poche de spécificité kinase, responsable de la liaison de l'ATP. Comme décrit ci-dessous (Figure 1.4) ([RWP+11]).

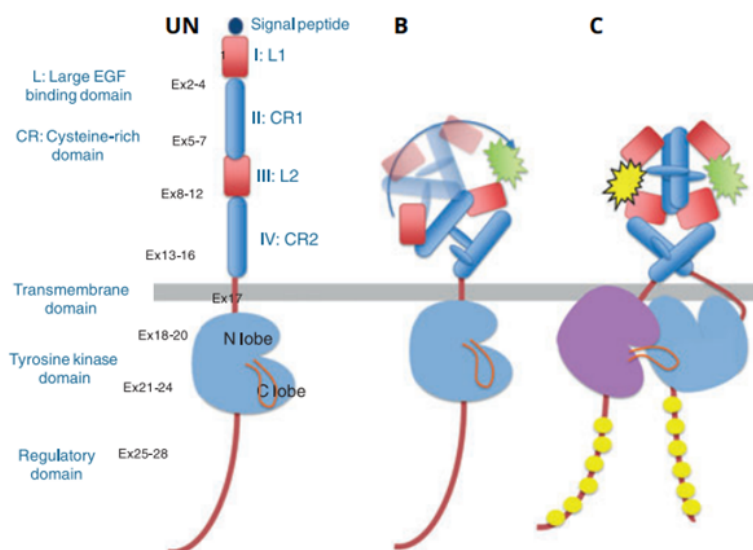


FIGURE 1.4 – Structure de la protéine EGFR (A), activation (B) et dimérisation par liaison du ligand (C) ([RWP+11]).

Le récepteur passera de la conformation auto-inhibée attachée à un état activé étendu une fois qu'il se liera au ligand activateur, ce qui facilite la dimérisation du récepteur convertissant le monomère inactif en dimère actif. Tous les ligands associés à la famille sont connus pour les activer de la même manière mais les fonctions impliquées varient. Deux domaines kinases se rapprochent et se phosphorylent à mesure que le processus de dimérisation se poursuit, puis recrutent et phosphorylent davantage de protéines pour relayer les signaux en cascade qui contrôlent l'expression des gènes, le cycle cellulaire et la prolifération ([MM23]).

Le déclenchement des cascades de signalisation médiées par l'EGFR a lieu lorsqu'un ligand tel que l'EGF est une protéine à chaîne unique de 53 acides aminés avec six résidus cystéine qui forme des liaisons disulfure ou le facteur de croissance transformant (TGF) ([PM04]), l'amphiréguline, la bêtacelluline, l'épiréguline, l'EGF liant l'héparine, l'épigène et les neurégulines se lie au domaine ex-

tracellulaire ([GDS23]).

La liaison d'une famille de ligands spécifiques au domaine extracellulaire de ERBB conduit à la formation d'homodimères et d'hétérodimères. Ce processus est médié par la rotation des domaines I et II, conduisant à la promotion d'une configuration connectée à une configuration étendue (Figure 1.4 C). Cela expose le domaine de dimérisation ([RWP+11]).

Dans le cytoplasme, le domaine kinase se dimérise de manière asymétrique dans une orientation queue-tête. De cette manière, la tyrosine kinase est activée, comme dans le cas de l'activation des kinases dépendantes des cyclines. La dimérisation stimule par conséquent l'activité tyrosine kinase intrinsèque des récepteurs et déclenche l'autophosphorylation de résidus tyrosine spécifiques dans le domaine de régulation cytoplasmique ([RWP+11]).

L'activation de l'EGFR peut également conduire à la stimulation du proto-oncogène transcriptionnel, notamment fos, jun et myc, ainsi que des facteurs de transcription contenant des doigts de zinc, tels que Egr1 et Sp1. La stimulation de l'EGFR entraîne l'activation de STAT3 qui favorise la croissance et l'inhibition de l'apoptose dans les carcinomes épidermoïdes de la tête et du cou. On sait que l'activation de l'EGFR déclenche un large éventail de phénotypes, notamment la prolifération, la migration, la différenciation, l'anti-apoptose et la transformation ([AKOT22]).

1.2.5 Région Terminal C

Le domaine C-terminal de l'EGFR est constitué de 229 acides aminés (résidus 982-1210) et joue un rôle important dans la régulation de l'activation des récepteurs en supprimant l'activité kinase en l'absence d'autophosphorylation. Ce domaine est riche en proline et possède des sites de phosphorylation ([HLWR23]).

Il possède une queue proximale importante dans l'activité d'autoinhibition du récepteur et a été étudié structurellement. Les résidus 997-1001 forment une structure en hélice α appelée hélice AP-2 car elle interagit avec le complexe protéique AP-2 associé à la clathrine. En interagissant avec le lobe N de la deuxième kinase du dimère, cette hélice maintient deux domaines kinase dans un dimère inactif. L'hélice AP-2 est suivie d'un crochet s'étendant des résidus 1003 à 1022, qui sont acides et interagissent avec la région charnière de la kinase. Ce crochet assure une dimérisation inhibitrice du récepteur par interaction électrostatique, c'est pourquoi on l'appelle crochet électrostatique. Cependant, ces interactions sont déstabilisées par la phosphorylation. La dernière partie de ce crochet forme un brin β qui empêche la formation du verrou JM ([PXZ+24]).

1.3 Fonctions physiologiques et aberrations de l'EGFR

L'EGFR joue un rôle crucial dans la formation des organes et des embryons. Des études sur des souris ont montré l'importance de l'EGFR dans la placentation, le développement de l'embryon avant l'implantation dans l'utérus, la formation et le développement des organes de la naissance à l'âge adulte, car presque tous les types cellulaires montrent la présence de l'EGFR et des membres de sa famille ([SHS20]).

1.3.1 EGFR dans l'embryogenèse

L'EGFR a un rôle clé à jouer dans l'embryogenèse, le développement utéro-placentaire et l'implantation d'embryons. En présence de ses ligands EGF et TGF- α , chez les mammifères, l'EGFR favorise la croissance et le développement du placenta, le développement de l'embryon par synthèse protéique et division cellulaire avant l'implantation dans l'utérus, suivi de l'expansion cellulaire d'un blastocyste à 2 cellules. en implantant l'embryon dans l'utérus, puis en poursuivant le chemin du développement. L'expression de l'EGFR est observée dans le pré-blastocyste (morula), le blastocyste, l'utérus et le canal ovarien. Ainsi, une activation équilibrée de l'EGFR est très importante pour la croissance de l'embryon et son développement ultérieur ([SHS20]).

1.3.2 EGFR dans l'organogenèse

L'EGFR, un récepteur multifonctionnel, joue non seulement une importance primordiale dans l'embryogenèse, mais joue également un rôle essentiel dans le développement de la croissance, de la naissance à l'âge adulte. La fonction de l'EGFR varie en fonction des types de cellules et de la position où il réside. L'EGFR joue un rôle essentiel dans le développement et le fonctionnement du système nerveux central, des poumons, du cur, des os, des reins, du foie, de la peau, des muscles lisses vasculaires, du pancréas, du système gastro-intestinal et du système reproducteur ([UMY21]).

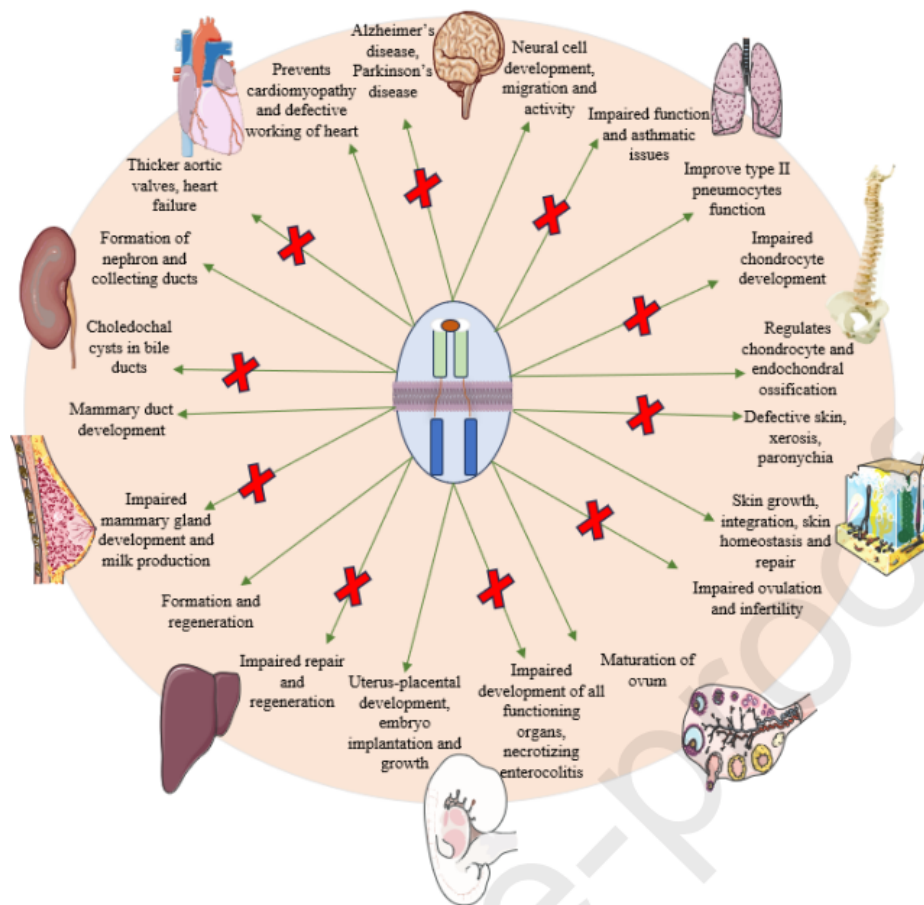


FIGURE 1.5 – Activités physiologiques de l'EGFR dans différentes parties du corps et effet d'aberration du récepteur ([ARMT+24]).

1.4 Voies de signalisation EGFR

Les premières études sur la voie de l'EGFR ont débuté avec la découverte de l'EGF en 1963 par Stanley Cohen et, plus tard dans les années 1980, du gène EGFR. Depuis lors, des études biochimiques, structurales et génétiques ont décrit les mécanismes moléculaires sous-jacents à la Trans phosphorylation des récepteurs, qui se produit généralement en réponse à la stimulation du ligand, et à l'activation qui en résulte de la cascade de signalisation intracellulaire. Cette cascade consiste en l'activation de multiples voies qui transmettent les informations de la surface cellulaire et des compartiments vésiculaires intracellulaires au noyau conduisant à l'activation des gènes ([SAGB16]).

Celles-ci aboutissent finalement à une prolifération cellulaire, à une migration et à des métastases, à une évation de l'apoptose ou à une angiogénèse, qui sont tous associés à des phénotypes de cancer ([MY10]).

Ces tyrosines phosphorylées servent de sites de liaison spécifiques pour plusieurs protéines adaptatrices, telles que la phospholipase C, CBL, GRB2, SHC et p85. Plusieurs transducteurs de signal se lient ensuite à ces adaptateurs pour initier plusieurs voies de signalisation, notamment la protéine kinase activée par un mitogène, la phosphatidylinositol 3-kinase-AKT et les voies transducteur de signal et activateur de transcription (STAT) 3 et STAT5 (Figure 1.6). Il est important de noter que plusieurs sites d'accueil de la tyrosine de l'EGFR peuvent lier plusieurs adaptateurs ou effecteurs. Par exemple, le résidu tyrosine phosphorylé 1068 recrute la protéine adaptatrice GRB2, qui peut initier des voies de signalisation positives comme la voie SOS-RAS, ou déclencher des voies à action négative, comme le recrutement de CBL, une ubiquitine ligase E3 qui marque les EGFR activés avec des mono- ou di-les ubiquitines, pour déclencher le tri de l'EGFR pour sa dégradation dans les lysosomes. De plus, la connectivité des récepteurs est obtenue par phosphorylation des résidus cytoplasmiques EGFR par des kinases intracellulaires, telles que la SRC, qui phosphoryle la tyrosine 845, un résidu qui sert de site d'accueil supplémentaire. Dans l'ensemble, cette configuration permet à l'EGFR activé par un ligand de stimuler simultanément plusieurs voies de signalisation intracellulaires et de gagner en robustesse (figure 1.7) ([GCP+22]).

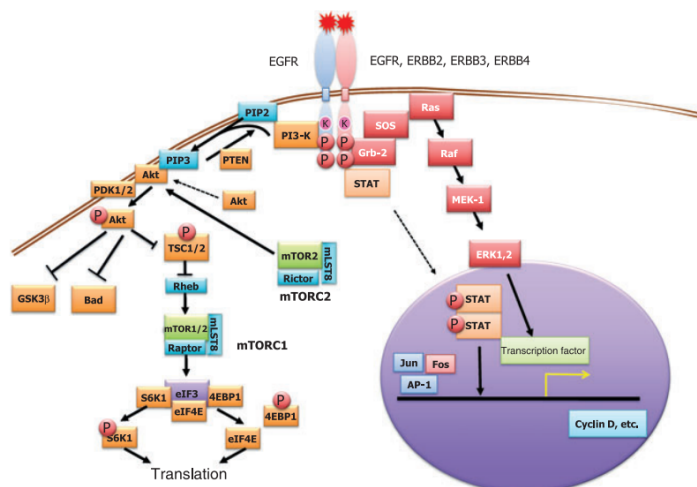


FIGURE 1.6 – Protéines EGFR et ERBB et leurs voies en aval.([RWP+11])

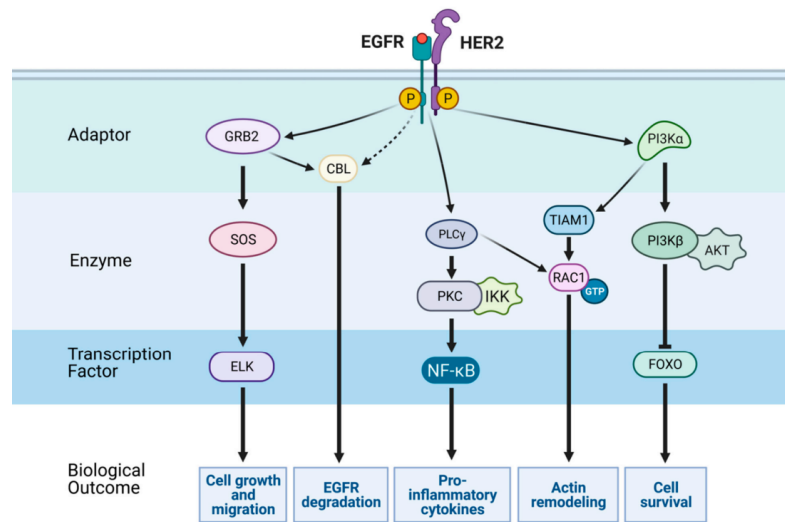


FIGURE 1.7 – Voies de signalisation médiées par l'EGFR.([GCP+22])

1.4.1 La cascade de signalisation Ras/Raf

La voie de la protéine kinase activée par le mitogène RAS-RAF-MEK-ERK est une voie cruciale qui régle les processus cellulaires tels que la croissance cellulaire, les restrictions de l'apoptose et la prolifération cellulaire. La protéine de liaison au récepteur du facteur de croissance 2 (GRB2) se lie aux résidus tyrosine de l'EGFR via le domaine SH2 et à l'homologie Src et au collagène (SHC) via ses domaines SH2 et PTB lors de la transphosphorylation de l'EGFR. Ce sont toutes deux des protéines adaptatrices qui initient la signalisation en aval dans cette voie. Une fois que SHC se lie à l'EGFR activé, le résidu tyrosine de SHC est phosphorylé, ce qui agit également comme site de liaison pour GRB2. En plus de l'interaction du domaine SH2, le domaine SH3 de GRB2 est associé à SOS1 (fils de sept sans 1) qui est un facteur d'échange de nucléotides guanine (GEF) qui convertit le PIB en RAS activant le GTP. RAS-GTP, un interrupteur moléculaire, favorise l'activation de RAF-1 en le recrutant dans la membrane plasmique. Avec RAF-1, RAS active également PI3K et RalGDS (stimulateur de dissociation nucléotidique de la guanine de type Ras). La phosphorylation des résidus Ser338 et Tyr341 de RAF-1 agit comme sites d'accueil pour MEK 1 et MEK 2 (MAPK) qui sont une tyrosine et une sérine/thréonine kinase. RAF-1 active MEK par la phosphorylation de S217 et S221. MEK active à son tour ERK par phosphorylation suivie de cette phosphorylation multiple de substrats qui active les facteurs de transcription dans le noyau pour effectuer les processus cellulaires (Figure 1.8) ([MVS22]).

1.4.2 La voie PI3K/Akt

La voie phosphatidylinositol 3-kinase (PI3)/Akt contribue au développement cellulaire, à la mobilité, survie et métabolisme. La PI3 kinase est une enzyme ayant deux sous-unités telles que p85 et p110. p85 aide l'enzyme à se lier à la famille ErbB et la sous-unité p110 est l'unité catalytique qui phosphoryle le phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate (PIP2) en un second messager, le phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate (PIP3), qui agit comme un médiateur dans le fonctionnement du PI3K. p85 ne se lie pas directement à EGFR et HER2 en raison de l'absence de sites de liaison alors qu'il se lie directement à HER3 et HER4 car les sites d'interaction sont immenses dans ces récepteurs. La liaison à EGFR et HER2 se produit à l'aide du liant associé à GRB2 protéine (GAB1). Lors de l'activation de l'EGFR, PI3K est stimulé, ce qui convertit PIP2 en PIP3, le PIP3 se lie à Akt, une sérine/thréonine kinase, et la transporte vers la membrane plasmique. Ici, la phosphorylation de Akt en T308 et S473 se produit, suivie de l'activation de facteurs de transcription favorisant la croissance cellulaire et la survie cellulaire

(Figure 1.8) ([GML+02]).

1.4.3 Voies de la kinase Src

Les voies Src kinase jouent un rôle important dans les processus cellulaires tels que la croissance cellulaire, la prolifération, la survie cellulaire et la fonction immunitaire. La famille des kinases Src comprend onze tyrosine kinases non réceptrices. Src se lie directement à l'EGFR activé et est activé à l'aide de RAS et RAL. La Src activée initie l'activité de diverses kinases telles que les protéines PI3K, STAT et la kinase d'adhésion focale, indiquant que Src phosphoryle et active diverses protéines effectrices et substrats favorisant la signalisation en aval pour les diverses réponses biologiques cruciales telles que la réparation cellulaire, la cicatrisation des plaies (Figure 1.8) ([SAL18a]).

1.4.4 Phospholipase C-1

La phospholipase C-1 se lie directement à l'EGFR au niveau des résidus tyrosine 992 et 1173 en utilisant le domaine SH2. Parallèlement au domaine SH2, le domaine PH joue également un rôle important dans l'activation de PLC-1 en se liant au PIP3 généré par PI3K en réponse à la liaison de l'EGF. Le complexe PH et PIP3 recrute PLC-1 dans la membrane plasmique et l'active. Une fois activé, le PLC-1 convertit le PIP2 en 1,45-triphosphate (IP3) et du diacylglycérol (DAG) par hydrolyse. Ces deux messagers secondaires favorisent la libération intracellulaire de calcium et l'activation de la protéine kinase C (PKC). IP3 se lie à IP3 substrats pour induire la libération de calcium. DAG et Ca^{2+} converge pour activer la PKC, une famille de sérine/thréonine protéine kinase et qui favorise diverses activités biologiques (Figure 1.8) ([ARMT+24]).

1.4.5 Les protéines tyrosine phosphatases

La signalisation de l'EGFR est connue pour être régulée par des protéines tyrosine phosphatases (PTP). Plusieurs PTP ont été décrites dans ce contexte, notamment la famille des récepteurs tyrosine phosphatase (RPTP), LAR la phosphatase à densité renforcée-1 (DEP-1), SHP1, SHP-2 et la protéine tyrosine phosphatase 1B (PTP1B).

RPTPK est un régulateur clé de la phosphorylation de la tyrosine de l'EGFR, directement en déphosphorylant plusieurs tyrosines C-terminales. Le facteur de croissance transformant bêta ($\text{TGF}\beta$) induit l'expression de RPTPK et entraîne la suppression de l'activité de l'EGFR.

Michael Walser et al ont récemment rapporté que le DEP-1 régule la signalisation de l'EGFR via deux mécanismes parallèles : une déphosphorylation directe du récepteur et une restriction de la mobilité du récepteur par l'activation de l' $\alpha\beta$ -intégrine.

SHP-1 s'associe directement à l'EGFR dans les cellules de carcinome mammaire humain par l'intermédiaire de la phosphotyrosine 1173 sur le site de l'EGFR. La surexpression de la SHP-1 dans les cellules épithéliales humaines peut également conduire à la régulation à la baisse de l'activité MAPK médiée par l'EGFR (Figure 1.8) ([RB20]).

1.4.6 La protéine ubiquitine ligase cbl

La famille des ubiquitines ligases Cbl a récemment émergée comme étant un régulateur clé des RTK, en promouvant l'ubiquitination des récepteurs activés et en les ciblant pour une dégradation dans les lysosomes ou dans le protéasome. Cette famille est constituée de protéines adaptatrices agissant comme régulateurs positifs et négatifs des récepteurs à activité tyrosine kinase. Trois homologues de CBL ont été caractérisés chez les mammifères : c-CBL (ou CBL), CBL-b, CBL-c différant par la longueur de leur domaine C-terminal et donc par leurs fonctions adaptatrices. Lors de l'activation de ces récepteurs, CBL permet le recrutement de molécules impliquées dans la transduction du signal (Figure 1.8) ([RJM+24]).

1.4.7 Transducteurs de signal et activateurs de la voie de transcription

Les transducteurs de signal et activateurs de transcription (STAT) appartiennent à la famille des facteurs de transcription cytoplasmiques et jouent un rôle crucial dans le transfert de signal. Ces protéines cytoplasmiques interagissent avec les résidus phosphotyrosine via le domaine SH2, sont activées et convertir du monomère inactif en homo ou hétérodimères. STAT se lie directement au récepteur. La voie commence dans le cytoplasme mais une fois dimérisée, elle se déplace vers le noyau pour réguler et promouvoir l'expression des gènes cibles, ce qui entraîne divers processus cellulaires (Figure 1.8) ([ARMT+24]).

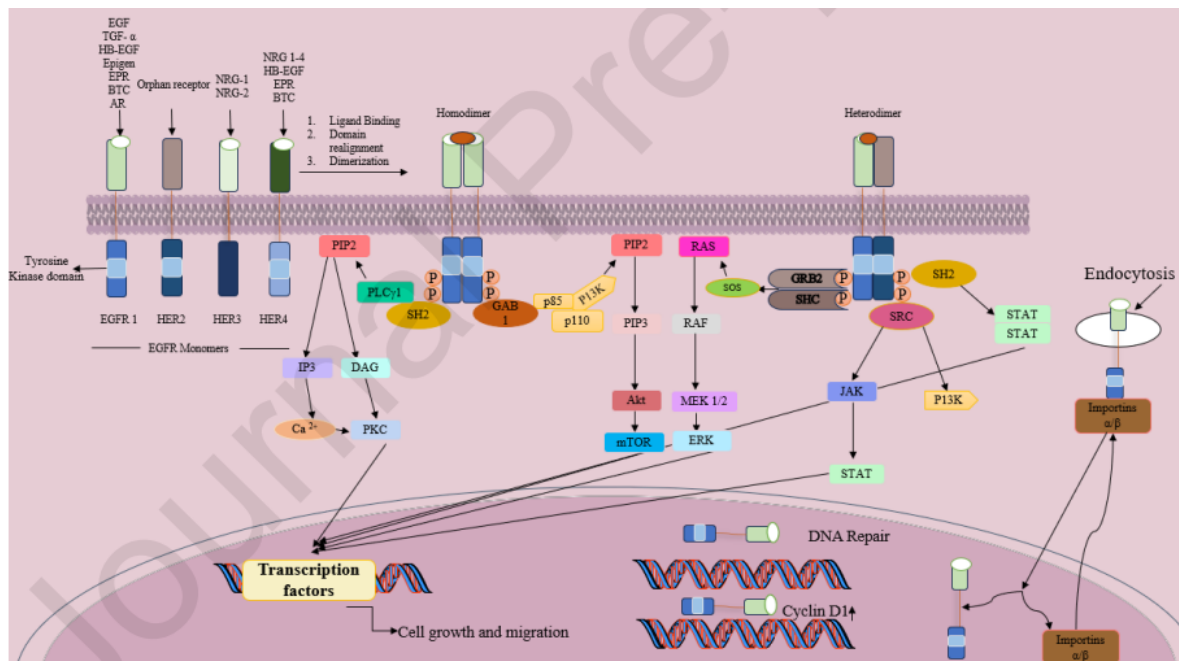


FIGURE 1.8 – Voies de signalisation de l'EGFR. ([ARMT+24])

1.5 Signalisation nucléaire de EGFR

En plus de la surface cellulaire et du cytoplasme, l'EGFR peut également être localisé sur Nucléoplasme, l'expression nucléaire de l'EGFR a été détectée dans de nombreux types de cellules et de tissus, Tels que l'utérus de souris, l'embryon de souris, le foie de rat, le placenta, la thyroïde et les cellules épithéliales. Immortalité des sources ovariennes et rénales. Il est important de noter que des niveaux élevés d'EGFR se trouvent également dans les noyaux de nombreux types de tumeurs, notamment les

cancers de la peau, de la vessie, du col de l'utérus, de la corticosurrénale, du sein et de la prostate, Cancer de la corticosurrénale, de la thyroïde et de la cavité buccale. Différents travaux suggèrent l'existence d'une nouvelle voie par laquelle l'EGFR présent à la surface des cellules est internalisé dans les endosomes précoces puis transporté vers le noyau([SAL18b]).

1.5.1 Mécanismes de translocation nucléaire de l'EGFR

L'EGFR membranaire internalisé dans des vésicules endosomes précoces utilise un transport rétrograde via l'appareil de Golgi et le réticulum endoplasmique (RE) pour rejoindre le noyau, ce mécanisme de transport implique le complexe protéique d'enveloppe I (COPI)([SAL18b]). Il a aussi été rapporté qu'en réponse à l'EGF, l'EGFR se déplace vers le Golgi par un mouvement dépendant des microtubules en interagissant avec la dynéine, puis sa fusion avec le Golgi est médiée par la syntaxine 6([EC08]). Récemment, une étude a montré que la protéine Vps34 (Vacuolar protein sorting), qui joue un rôle central dans la formation des endosomes précoces, est impliquée dans le transport nucléaire de l'EGFR en réponse à l'EGF dans des cellules tumorales pulmonaires([TW19]). De plus, des séquences tripartites de localisation nucléaire (NLS), différentes des traditionnelles NLS mono- et bipartites, ont été localisées dans la région juxtamembranaire de l'EGFR([SHC+16]). Ces séquences NLS et l'importine b1 sont impliquées dans la translocation nucléaire de l'EGFR([Rai18]), selon un mécanisme par lequel l'importine b1 forme un complexe avec les molécules porteuses de NLS et induit la translocation nucléaire à travers la liaison aux nucléoporines des complexes des pores nucléaires. L'EGFR est retrouvé au niveau de la membrane nucléaire interne (INM). Certains travaux indiquent que l'EGFR pourrait être adressé à l'INM par un mécanisme nommé INTERNET pour Integral trafficking from the ER to the Nuclear Envelope Transport ([SAL18b] et [GOP+13]), et que l'EGFR serait extrait de la bicouche lipidique de l'INM vers le nucléoplasme par un processus impliquant un rôle jusqu'alors inconnu du translocateur sec61b ([JYP+11b]). Les premiers événements au niveau de la membrane plasmique qui pourraient servir de signaux initiateurs critiques pour le mouvement de l'EGFR vers le noyau sont encore mal compris mais différents travaux suggèrent que la phosphorylation de l'EGFR par les kinases Src, PKC ϵ et AKT influence la translocation nucléaire de l'EGFR([HWX+10] et [DSH+14] et [DGP+16]).

1.5.2 Fonctions moléculaires et biologiques de l'EGFR nucléaire

Un nombre croissant d'études rapporte que l'EGFR nucléaire présente différentes fonctions moléculaires et biologiques (Figure 1.9).

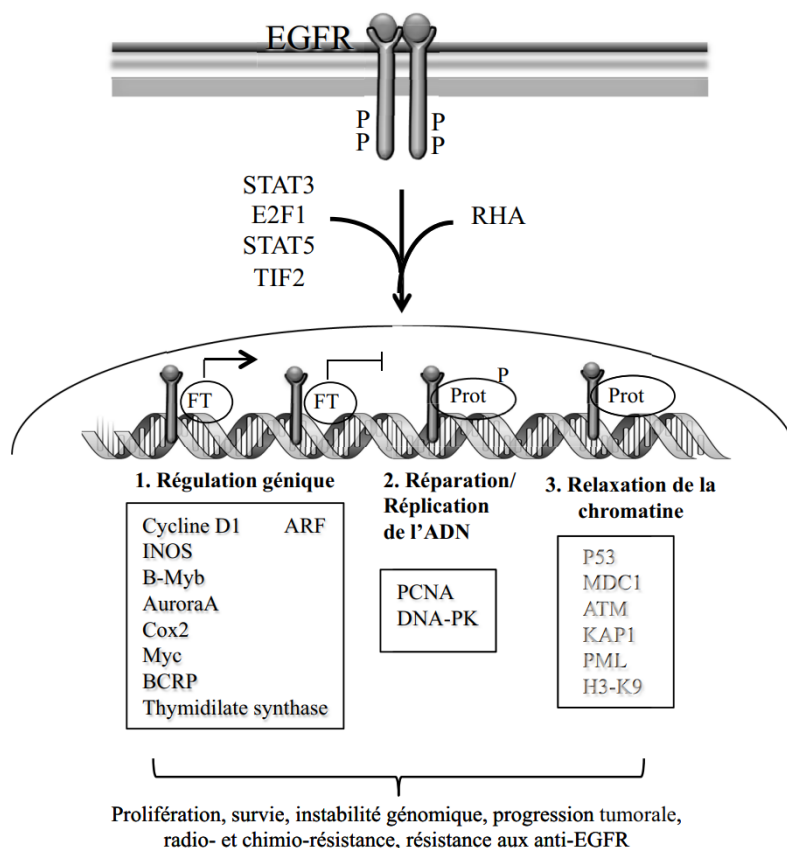


FIGURE 1.9 – Fonctions nucléaires de l'EGFR.([LHAS+05])

Dans le noyau, l'EGFR fonctionne comme un co-régulateur transcriptionnel pour stimuler ou inhiber la transcription de ses gènes cibles. Certains facteurs de transcription (FT) comme STAT3, STAT5, E2F1 et TIF2 ou autres protéines comme la RNA Hélicase A (RHA) ont été identifiés comme des partenaires de l'EGFR nucléaire dans ce contexte. L'EGFR nucléaire peut aussi activer et stabiliser PCNA et DNA-PK pour favoriser la réplication et la réparation de l'ADN respectivement. Enfin, l'EGFR nucléaire pourrait interagir avec certains facteurs protéiques pour induire une relaxation de la chromatine. L'ensemble de ces fonctions permet à l'EGFR nucléaire de stimuler la prolifération et la survie cellulaire, d'induire une instabilité génomique, de favoriser la progression tumorale et de rendre les cellules résistantes à la radiothérapie, la chimiothérapie et aux thérapies ciblées anti-EGFR (Cetuximab, gefitinib) ([LHAS+05] et [LASW+06]). L'EGFR nucléaire, un nouveau mode de signalisation dans les cancers.

1.6 EGFR dans le cancer

Le facteur de croissance épidermique (EGF) et le récepteur de surface cellulaire (EGFR) respectif Michael Waterfield et ses collègues ont établi le premier lien avec le cancer. La voie EGFR a été explorée pour la première fois lorsque Stanley Cohen a découvert l'EGF en 1963 et le gène EGFR plus tard dans les années 1980. La famille des tyrosine kinases EGFR a été associée au développement et à la progression de plusieurs tumeurs malignes. Les récepteurs tyrosine kinases de type I, ou ErbB, sont un autre nom pour cette famille d'EGFR ([GCP+22]).

L'activation inappropriée de l'EGFR dans le cancer résulte principalement d'une amplification et de mutations ponctuelles au niveau du génome, il a été démontré que son amplification ou ses mutations

secondaires surviennent sous la pression des médicaments. Les récepteurs sont inertes en tant qu'unité unique (monomère), mais lorsqu'ils sont liés par un ligand, ils forment des paires actives (dimères). Le domaine interne de la tyrosine kinase est activé par la formation de dimères, qui catalyse la phosphorylation des protéines. Le signal finit par pénétrer dans le noyau, où il est reconnu par les cyclines (en particulier la cycline D) et les kinases dépendantes des cyclines, entraînant ainsi l'activation de la division cellulaire. En conséquence, l'activation non physiologique de l'EGFR peut entraîner une division cellulaire non régulée et, éventuellement, une masse tumorale croissante. Cependant, l'activation de l'EGFR entraîne l'activation d'autres voies intracellulaires, notamment la prévention de l'apoptose, la stimulation de l'angiogenèse et la promotion des métastases, en plus de l'activation intracellulaire de la voie RAS, qui conduit à la prolifération cellulaire. L'EGFR étant fréquemment surexprimé dans les tumeurs humaines, il existe une raison impérieuse d'essayer de l'inhiber afin d'améliorer le traitement du cancer. En raison de l'amplification du gène EGFR et/ou de la surexpression des protéines, de mutations ou de délétions dans le cadre, la signalisation de l'EGFR est généralement modifiée dans diverses tumeurs malignes humaines. Des mutations du glioblastome et du cancer du poumon résistantes à l'inhibition et aux mutations de l'EGFR médiées par les anticorps ont été observées dans les tumeurs malignes colorectales ([SAGB16]). Il n'est pas surprenant que l'EGFR et certains membres de sa famille soient devenus des biomarqueurs et des cibles thérapeutiques utiles pour le traitement du cancer. L'EGFR est fréquemment surexprimé ou hyperactivé dans de nombreux types de tumeurs, les cancers de la tête et du cou, de l'ovaire, du col de l'utérus, de la vessie et de l'œsophage, colorectal, du sein et le cancer du poumon, Sa surexpression est corrélée à un mauvais résultat et affecte tous les aspects de la cancérogenèse, y compris la croissance et l'invasion cellulaires, l'angiogenèse et les métastases ([WYHH10]).

Le tableau 1.1 répertorie les pourcentages de tumeurs surexprimant l'EGFR généralement observés dans divers types de cancer. Cependant, des preuves soutiennent l'utilisation de l'amplification tissulaire et de la surexpression de l'EGFR comme biomarqueur de l'efficacité anti-EGFR. Des études ont montré qu'une amplification de l'EGFR était présente chez 6,0 % des patients lors de l'évaluation initiale de l'ADN tumoral acellulaire circulant. L'amplification de l'EGFR est plus fréquente dans le cancer du poumon à petites cellules (30,0 %), le cancer du sein (11,9 %) et le cancer colorectal (11,0 %). Dans le carcinome épidermoïde de la tête et du cou, l'EGFR est couramment exprimé et activé dans les lignées cellulaires. Cependant, la surexpression de l'EGFR est rare chez les patients atteints d'un cancer de la tête et du cou. Les lignées cellulaires ne sont pas représentatives du contexte clinique de cette indication ([biba]).

TABLE 1.1: Pourcentages observés de tumeurs surexprimant l'EGFR dans différents types de cancer

Type de tumeur	Tumeur surexprimant l'EGFR (%)
Sein	14-91
Rénale	50-90
Poumon non à petites cellules	40-80
Colon	22-75
Ovaire	35-70
Gliome	40-63
Pancréas	30-50
Vessie	31-4

Oesophagien	0- 69
-------------	-------

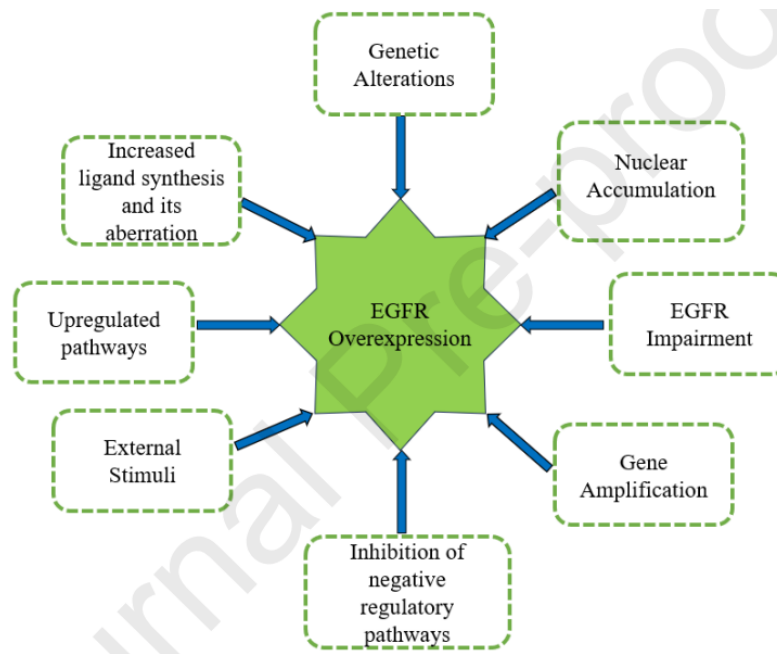


FIGURE 1.10 – Facteurs provoquant la surexpression de l'EGFR ([ARMT+24]).

SOMMAIRE

2.1	DÉFINITION	18
2.2	MÉCANISME D'ACTION	18
2.3	THÉRAPIES CIBLÉES SUR EGFR	19
2.3.1	Inhibiteurs de tyrosine kinase de EGFR (EGFR-TKIs)	20
2.3.2	Anticorps anti-EGFR	21
2.3.3	Thérapie combinée	22
2.4	EFFETS INDÉSIRABLES DES INHIBITEURS DE EGFR	22
2.4.1	Toxicité cutanée	22
2.4.2	Toxicité cardiaque	22
2.4.3	Toxicité digestive (diarrhées)	23
2.4.4	Perturbation de bilan hépatocellulaire	23

2.1 Définition

Les inhibiteurs de la tyrosine kinase (ITK) sont de petites molécules qui inhibent la voie de signalisation en inhibant la tyrosine.trans-phosphorylation, qui inhibe l'activation de l'EGFR induite par le ligand. Les EGFR ITK approuvés peuvent être classés comme inhibiteurs réversibles ou irréversibles selon la manière dont ils inhibent l'activité EGFR kinase (Tableau 2.1). Les inhibiteurs réversibles entrent en compétition pour le site de liaison de l'ATP dans l'EGFR à travers des interactions non covalentes telles que des interactions électrostatiques, de liaison hydrogène et hydrophobes. La majorité des molécules actuellement développées entrent en compétition avec le site de liaison de l'ATP et présentent une sélectivité élevée pour la tyrosine kinase de l'EGFR, la majorité sont des inhibiteurs réversibles, tandis que quelques inhibiteurs irréversibles ont été récemment synthétisés. Des inhibiteurs de l'EGFR/ErbB1 approuvés par la FDA, tels que l'afatinib, le dacomitinib, l'erlotinib, le géfitinib et l'osimertinib, ont été développés pour le traitement du cancer du poumon non à petites cellules (NSCLC). Le lapatinib et le nératinib sont des médicaments ciblant ErbB qui ont été approuvés pour traiter le cancer du sein HER2-positif. Les premières recherches ont révélé qu'environ 10 % des patients atteints de CPNPC répondaient extrêmement bien au géfitinib. La FDA a approuvé le géfitinib pour le traitement du CPNPC en 2003 et l'erlotinib en 2004 ([WYH+10]).

TABLE 2.1: Classification des ITK de l'EGFR basée sur la nature de l'inhibition de l'EGFR

Inhibiteurs réversibles	Inhibiteur irréversible
Brigatinib	Afatinib
Erilotinib	Nératinib
Géfitinib	Pyrotinib
Icotinib	Almonertinib
Lapatinib	Olmutinib
Simotinib	Osimertinib
Vandétanib	Dacomitinib

2.2 Mécanisme d'action

La thérapie ciblée EGFR repose sur deux agents anti-EGFR ; ce sont des anticorps monoclonaux anti-EGFR et des inhibiteurs de la tyrosine kinase. Le mécanisme d'action des deux antirécepteurs varie même si la cible d'action reste la même. Dans la première approche, les mAb étant de plus grande taille, ils se concentrent sur le domaine extracellulaire de l'EGFR. Sous traitement avec un mAb anti-EGFR, il se lie au domaine de liaison du ligand, inhibant ainsi la liaison du ligand et empêchant à son tour la fonction catalytique du récepteur. Alternativement, les mAb, lorsqu'ils sont liés à des agents cytotoxiques tels que l'emtansine, induisent la mort des cellules tumorales . Dans la deuxième approche, les petites molécules d'inhibiteurs de l'EGFR pénètrent à travers la membrane cellulaire et entrent en compétition pour le site de liaison de l'ATP dans le domaine kinase. Cette interaction inhibe la liaison de l'ATP, empêchant ainsi l'initiation de la phosphorylation suivie de la trans-autophosphorylation et de la cascade de signalisation en aval ([WMK+08]).

Le site de liaison à l'ATP est hautement conservé dans les récepteurs kinases. Sur la base d'une analyse structurale utilisant plusieurs structures de tyrosine kinase EGFR publiées en relation avec des ligands situés au niveau de la poche de liaison de l'ATP, 39 résidus se sont avérés proches du site

de liaison et étaient situés dans les feuillets β , les régions charnières et l'hélice α . Les résidus Leu718, Val726, Ala743, Met793 et Leu844 ont le contact le plus fréquent dans les structures cristallines, situées en β -3, β -6 et dans la région charnière. Ces résidus forment une poche de liaison au noyau hautement hydrophobe et conservée. Après le regroupement des modes de liaison de tous les ligands cocrystallisés en six groupes par analyse hiérarchique des groupes. La plupart des ligands appartiennent au groupe 1, ce qui montre que les ligands sont situés au niveau du site de liaison de l'ATP et forment des liaisons hydrogène avec les acides aminés situés dans la région charnière. Les ligands n'ont aucune interaction avec l'hélice α C ([PXZ+24]). Il y a eu des développements récents de composés ciblant le site allostérique afin de produire une médecine alternative qui pourrait résoudre le problème de résistance aux médicaments utilisés dans le traitement actuel. De plus, les ligands se liant à ce site, qui sont également appelés modulateurs allostériques de l'EGFR, conduisent à des changements conformationnels susceptibles d'améliorer l'activité protéique et la liaison du ligand orthostérique, ou vice versa([PXZ+24]).

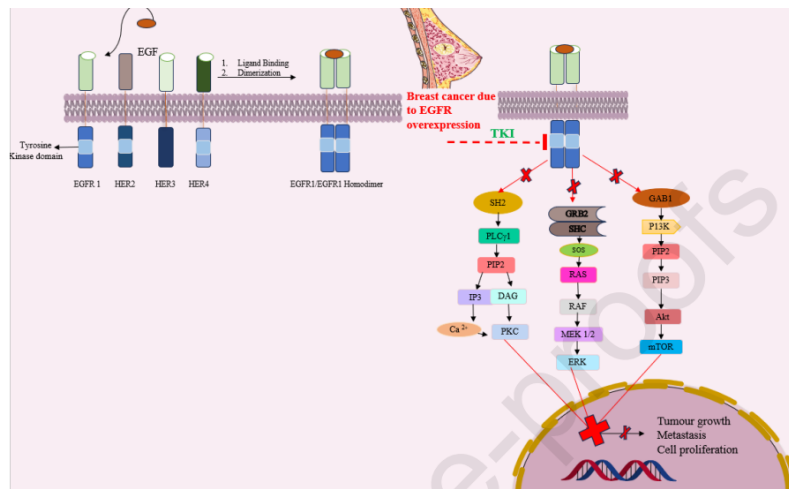


FIGURE 2.1 – Mécanisme d'action des inhibiteurs de la tyrosine kinase.([ARMT+24])

La surexpression de l'EGFR est observée dans le cancer du sein pour diverses raisons. Dans le traitement médié par les ITK, la liaison du ligand se produit, ce qui initie la dimérisation activant le domaine tyrosine kinase. Le TKI présent dans la cellule inhibera la liaison de l'ATP en occupant le domaine tyrosine kinase, inactivant ainsi les voies de signalisation suivies de l'inhibition de la croissance tumorale et de la prolifération cellulaire.

2.3 Thérapies ciblées sur EGFR

Les thérapies ciblées sont actuellement en plein essor L'oncologie et ses indications connaissent une expansion rapide. Ces Les médicaments peuvent cibler les récepteurs membranaires ou des cibles intracellulaires. inhibiteur de récepteur Les membranes peuvent être divisées en deux familles Leur site d'action : Il peut s'agir d'anticorps monoclonaux, Injecter par voie intraveineuse et travailler sur le ligand du récepteur membranaire extracellulaire de ces récepteurs, ou inhibiteur de tyrosine Les kinases, petites molécules destinées à l'administration orale Agit sur la partie intracellulaire du récepteur. ce Les thérapies ciblées peuvent également être classées en fonction de leurs effets Cible ([HCL+11]).

Les traitements traditionnels de radiothérapie et de chimiothérapie contre les tumeurs sont souvent associés à des effets secondaires importants, car ils sont incapables de faire la distinction entre les cellules tumorales et les cellules normales du corps. Pour résoudre ce problème, les chercheurs se sont concentrés sur la suppression des voies de signalisation cellulaire comme approche potentielle pour développer de nouveaux médicaments anticancéreux. Des progrès encourageants ont été réalisés dans

ce domaine ([IBC+13]).

La première génération d'ITK ciblés comprend l'imatinib, le géfitinib, l'erlotinib, l'icotinib, le so-rafénib, le sunitinib, et le crizotinib. Cependant, la résistance à ces ITK, le croisement de la voie des kinases et les mécanismes compensatoires ont conduit au développement d'ITK de deuxième génération avec des cibles plus diverses. Des exemples d'ITK de deuxième génération sont le lapatinib, axitinib, l'afatinib, le dacomitinib, et le céritinib. Les ITK de troisième génération, tels que l'osimertinib, le loratinib et d'autres, sont plus sélectifs et ont des propriétés thérapeutiques supérieures. effets et sont moins toxiques que les deux premières générations ([KYK+09]).

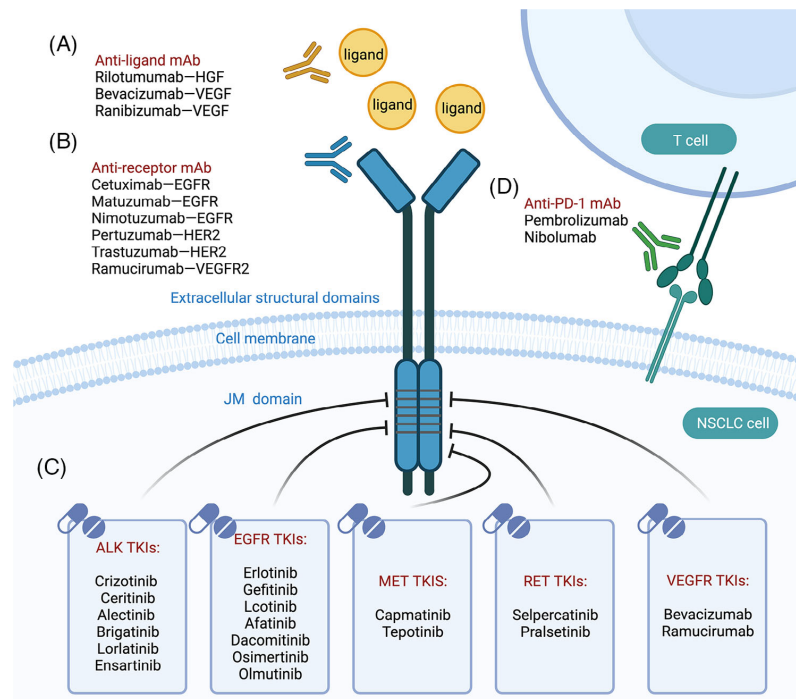


FIGURE 2.2 – Modalités thérapeutiques ciblées.([JYP+11a])

2.3.1 Inhibiteurs de tyrosine kinase de EGFR (EGFR-TKIs)

Les inhibiteurs de la tyrosine kinase (ITK) représentent une classe thérapeutique importante dans la prise en charge des patients atteints de tumeurs solides. Les ITK sont de petites molécules de la famille des quinazolines qui diffuseront à travers la membrane cellulaire en ciblant le processus de transduction du signal au niveau du récepteur tyrosine kinase. Les ITK se lient aux sites de liaison ATP des récepteurs tyrosine kinases et bloquent leur activation. Par conséquent, la prolifération des cellules cancéreuses est inhibée ([NGH01]).

Ces molécules sont particulièrement utilisées dans les formes avancées ou métastatiques de cancer. Plusieurs études ont prouvé leur efficacité en termes de survie par rapport à la chimiothérapie conventionnelle. La plupart des ITK ont une dénomination se terminant par le suffixe « IB » ([IUSU20b]).

Les inhibiteurs de la tyrosine kinase (ITK) à petites molécules entrent en compétition pour le site de liaison Mg-ATP du domaine catalytique de la tyrosine kinase de l'EGFR et inhibent l'autophosphorylation de l'EGFR et la signalisation en aval. Leur capacité à réagir avec l'EGFR mutant, couramment détecté dans les glioblastomes humains, et à réagir de manière croisée avec les kinases de la famille

EGFR telles que HER-2 et HER-4, constituent des avantages potentiels par rapport aux anticorps monoclonaux et font des inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK) à petites molécules un produit attrayant. Approche antirécepteur ([AKOT22]).

Tyrosine kinase multicible inhibiteurs (petites molécules) Le crizotinib est un inhibiteur de protéine kinase multicible compétitif pour l'ATP qui cible Met, ALK et ROS1. Les inhibiteurs d'ALK de deuxième génération tels que le céritinib, l'alectinib, le brigatinib et l'ensartinib, ainsi que le lorlatinib de troisième génération. Le lorlatinib, un inhibiteur réversible et puissant de la tyrosine kinase de troisième génération, présente une sélectivité élevée en ciblant ALK et ROS1. Le cabozantinib, un médicament anticancéreux à large spectre, a la capacité d'inhiber plusieurs cibles, notamment MET, VEGFR1/2/3, RET, KIT, FLT3, AXL, NTRK, ROS1 et autres ([ZTS09]).

Inhibiteurs spécifiques de la tyrosine kinase (petites molécules) Le tépotinib, le premier inhibiteur de tyrosine kinase MET approuvé pour le traitement du CPNPC, est actuellement en cours de développement pour traiter les tumeurs solides. Le Tivantinib, un inhibiteur de MET, agit en stabilisant la conformation inactive du MET RTK. Chez les patients atteints de CHC qui ont échoué au traitement par le sorafénib, il a été démontré que la surexpression de MET est un indicateur de pronostic négatif. Le savolitinib est un inhibiteur de MET qui a été développé pour traiter le CPNPC métastatique, le PRCC, le cancer gastrique et le CCR ([ZTS09]).

2.3.2 Anticorps anti-EGFR

Deux approches antirécepteurs ont été utilisées pour cibler l'EGFR, notamment l'utilisation d'anticorps monoclonaux (AcM) et d'inhibiteurs de tyrosine kinase à petites molécules (ITK). Ils ont la même cible mais présentent des mécanismes d'action différents et une spécificité différente pour l'EGFR. Les anticorps monoclonaux (mAb) reconnaissent le domaine extracellulaire de l'EGFR et empêchent les ligands endogènes d'accéder à l'EGFR. Cela inhibe l'activation favorisée par le ligand de la tyrosine kinase de l'EGFR en bloquant la région de liaison au ligand et en empêchant la signalisation de l'EGFR qui conduit au cycle cellulaire et/ ou à la mort cellulaire. En outre, le mécanisme immunitaire peut également contribuer à l'activité antitumorale des mAb lorsqu'ils recrutent des cellules effectrices immunitaires exprimant le récepteur Fc, ce qui conduit à une cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps (ADCC) et à l'éradication de la tumeur. Le cétuximab et le panitumumab sont deux mAb anti-EGFR largement utilisés dans le traitement du cancer colorectal métastatique et du cancer de la tête/du cou ([AKOT22]).

Bien que l'EGFR soit une cible thérapeutique validée dans de multiples indications de cancer, les réponses cliniques souvent modestes aux agents anti-EGFR actuels suggèrent la nécessité d'améliorer les traitements. L'amplification du signal pilotée par des ligands EGFR de haute affinité limite la capacité des anticorps monoclonaux anti-EGFR à bloquer la voie de signalisation et la prolifération cellulaire et que ces ligands sont généralement coexprimés avec des ligands EGFR de faible affinité dans les tumeurs épithéliales. Pour développer un traitement par anticorps amélioré capable de surmonter l'amplification du signal médiée par un ligand de haute affinité, nous avons utilisé une approche de biologie de réseau comprenant des études de signalisation et une modélisation informatique des interactions récepteur-antagoniste. Des simulations de modèles suggèrent qu'une combinaison d'anticorps oligoclonaux pourrait surmonter l'amplification du signal au sein de la voie EGFR pilotée par tous les ligands de l'EGFR ([ZJL+19]).

Les altérations du métabolisme cellulaire sont essentielles à la prolifération tumorale rapide et affectent la sensibilité des cellules cancéreuses à divers médicaments. Le traitement anti-EGFR provoque un recâblage métabolique chez les patients atteints de cancer, ce qui permet d'augmenter l'efficacité des mAb anti-EGFR en ajoutant des régulateurs du métabolisme ([MMDV24]).

2.3.3 Thérapie combinée

Inhibiteurs de RTK en combinaison avec immunothérapie Bien que certaines immunothérapies, notamment le transfert de péricytes (ACT) et les inhibiteurs de points de contrôle immunitaires, se soient révélées prometteuses en termes de réponses cliniques à long terme, leur efficacité n'est pas constante et seule une partie des patients atteints de cancer peut en bénéficier. L'inflammatoire la réponse dans le TME est un facteur important contribuant à la progression tumorale et au mauvais pronostic. Cependant, le profilage précis des cellules immunitaires au sein du TME a été limité en raison de sa nature hautement hétérogène et dynamique. Heureusement, les progrès récents dans les technologies unicellulaires telles que le séquençage de l'ARN unicellulaire (scRNAseq) et la cytométrie en flux par spectrométrie de masse ont permis de détecter systématiquement les cellules immunitaires au sein du TME et d'acquérir de nouvelles connaissances sur leur diversité fonctionnelle ([JYP+11a]).

Pour améliorer les bénéfices cliniques, des médicaments ciblés peuvent être associés à différents inhibiteurs et immunothérapies pour le traitement des cancers. Actuellement, plusieurs essais cliniques sont en cours pour étudier de nouveaux médicaments ciblés ([JYP+11a]).

2.4 Effets indésirables des inhibiteurs de EGFR

Les toxicités associées à ces nouvelles thérapies ciblées sont rares dans leur forme grave et sont le plus souvent facilement prises en charge lorsqu'on sait les appréhender :

2.4.1 Toxicité cutanée

Lorsque l'EGF a été découvert, il doit son nom à sa capacité à augmenter la croissance et la kératinisation de l'épithélium cutané. L'EGFR s'est avéré exprimé dans la peau humaine au sein des kératinocytes, de l'épithélium folliculaire, des glandes sudoripares et sébacées et dans les capillaires du derme. Pour cette raison, la toxicité la plus courante des agents ciblés sur l'EGFR concerne la peau et les structures annexielles, entraînant une éruption cutanée et, plus rarement, une toxicité des ongles ([MM14]).

L'EGFR est exprimé au niveau des follicules pileux et des glandes sébacées et la liaison de ce récepteur par des inhibiteurs entraîne une perturbation de la prolifération, entraînant une réaction immunologique, réaction avec inflammation cutanée, folliculite et éruption cutanée ([MM14]).

2.4.2 Toxicité cardiaque

Une toxicité cardiaque avec des ITK anti-EGFR a été rapportée. Il est clair que la cardiotoxicité des ITK ne constitue pas un « effet de classe », puisqu'elle ne se produit pas avec tous les agents connus. Le sunitinib a provoqué une diminution de la fraction d'éjection ventriculaire gauche (FEVG) inférieure à 50 % chez 11 % des patients. Dans un essai de phase III comparant le sunitinib à l'IFN- α , 10 % des patients ont présenté une baisse de la FEVG après une durée médiane de traitement de 6

mois. Le sorafénib a induit des syndromes coronariens aigus, notamment un infarctus du myocarde ([ZB23]).

2.4.3 Toxicité digestive (diarrhées)

La diarrhée est une toxicité commune aux anti-EGFR quelle que soit leur classe (anticorps monoclonaux et EGFR-TKI). La dose d'EGFR-TKI peut être adaptée secondairement par palier de 50 mg pour l'erlotinib ; Pour le gefitinib, une reprise à la dose de 250 mg est recommandée (cf RCP) et pour les patients ne supportant pas le traitement après une interruption de la thérapie, le gefitinib doit être arrêté et un traitement alternatif doit être envisagé([CISCA+23]).

2.4.4 Perturbation de bilan hépatocellulaire

TABLE 2.2: Le bilan à réaliser face à une perturbation du bilan hépatique pendant un traitement anticancéreux. ([Shu22])

Imagerie	
Virologie	-Serologie VHA (AcVHA), VHB (AgHBs, AcHBs, AcHBc), VHC (AcVHC), PCR CMV, EBV, HSV, HHV6, HHV8, VHE, VHB, VHC
Immunologie	- Anticorps anti-tissu (anti-nucleaires, anti-mitochondries, anti-muscles lisses) - Dosage IgG, IgA, IgM
Infection bactériologique	- ECBU, radiographie du thorax, hémoculture
Toxiques	- Histoire médicale détaillée des traitements, prise de complément alimentaire, herbes, plantes - Consommation d'alcool - Recherche des toxiques dans les urines
Autres	-Antécédents récents état de choc

Certaines données suggèrent que le gefitinib et l'erlotinib pourraient être associés à un risque significativement accru d'hépatotoxicité. Bien qu'ils ne soient pas certains, ces résultats pourraient sensibiliser les cliniciens afin qu'ils puissent mieux surveiller la fonction hépatique, en particulier chez les patients qui utilisent simultanément d'autres médicaments potentiellement hépatotoxiques et qui présentent un risque élevé d'hépatotoxicité([DRF09]).

Chapitre 3

MATERIELS ET METHODES

SOMMAIRE

3.1	RÉCUPÉRATION ET PRÉPARATION DE LA PROTÉINE CIBLE	25
3.2	PRÉPARATION DES LIGANDS	25
3.3	L'AMARRAGE MOLÉCULAIRE	25
3.4	IDENTIFICATION DES INTERACTIONS	26
3.5	LES PARAMÈTRES PHARMACOCINÉTIQUES DES COMPOSÉS	26

Dans notre recherche, nous avons utilisé un micro-ordinateur dans lequel tous les programmes tous utilisés sont installés sous le système d'exploitation windows 64 bits. processeur Intel® Core i5-7e génération.

3.1 Récupération et préparation de la protéine cible

La structure cristalline tridimensionnelle de la protéine du récepteur EGFR1 portant l'ID PDB « 3W32 » (figure 3.1) a été extraite de la base de données protéique PROTEIN DATA BANK PDB du site Web ([LLM+20]). La protéine a été obtenue avec une bonne résolution (1.80 Å). Cette structure 3D comporte une seule chaîne A et doit donc être préparée avant de démarrer le processus d'amarrage moléculaire. Cela a été réalisé à l'aide du programme UCSF Chimera. Nous avons optimisé la structure « 3W32 » en supprimant les ligands, cofacteurs, ions et eau (molécules inutiles présents avec le récepteur) ([ZL23]). La conformation stable du récepteur est obtenue par relaxation, qui permet aux atomes d'hydrogène de se déplacer et aux atomes lourds minimisés de se déplacer suffisamment pour relâcher les liaisons étroites. L'optimisation est réalisée grâce au programme Dock Prep d'UCSF Chimera. Il peut être utilisé pour minimiser l'énergie requise pour obtenir la conformation la plus stable ([ZL23]). Enfin, la structure 3D modélisée a été enregistrée au format PDB.

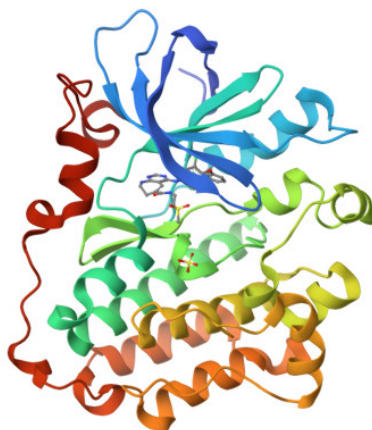


FIGURE 3.1 – structure 3D du récepteur EGFR1. ([LLM+20])

3.2 Préparation des ligands

La préparation du ligand est vitale et constitue également une étape importante dans l'étude de l'amarrage moléculaire ([NOO+21]). Les structures des ligands (environ 15512) ont été téléchargées à partir de la base de données Zinc15 ([QBB+22]) sous forme tridimensionnelle (3D) et au format SDF représentant la base de données FDA (Food and Drug Administration) en utilisant le logiciel Pyrx pour ajuster la structure tridimensionnelle des molécules, et réaliser un criblage contre la protéine ciblée ([ARS+10]). L'amarrage moléculaire est lancé par la suite afin d'obtenir les résultats recherchés.

3.3 L'amarrage moléculaire

Le Docking a été réalisé en utilisant la structure identifiée de la protéine EGFR1, Afin de mener des simulations d'amarrage à l'aide de programme Pyrx puis par le programme "ChimeraUCSF" ([NOO+21]).

La structure de la protéine préparée à l'aide de l'outil Dock prep est utilisée pour un screening avec le logiciel PYRX. Ensuite, les molécules avec les meilleures énergies de liaisons sont introduites dans le logiciel UCSF Chimera pour une validation des résultats. Ce procédé permet de déterminer les affinités de liaison des différents ligands avec la protéine principale ([KBS⁺15]). Plus l'énergie de liaison est faible, plus l'affinité entre le récepteur et le ligand est élevée. Plus l'énergie de liaison est faible, plus le récepteur et sa conformation sont stables ([ZJL21]).

3.4 Identification des interactions

Les ligands ayant le meilleur ΔG avec la protéine sont importés les uns après les autres dans le programme BIOVIA Discovery studio 2017, pour d'étudier le nombre et le type d'interactions formées avec les acides aminés de site de liaison de la cible « 3W32 » ([ARS⁺10]).

3.5 Les paramètres pharmacocinétiques des composés

Pour obtenir les paramètres pharmacocinétiques, nous avons extrait les codes des meilleurs ligands de la base de données zinc15 ([QBB⁺22]), puis introduit les SMILES correspondants dans la base de données SwissADME ([BRP⁺13]). Cela permettent d'obtenir une analyse complète des paramètres pharmacocinétiques pour chaque ligand.

Chapitre 4

RESULTATS ET DISCUSSION

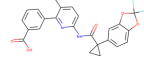
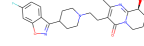
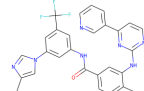
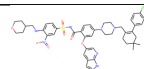
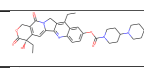
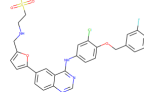
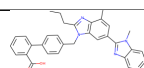
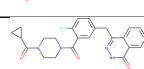
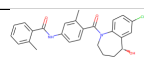
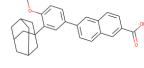
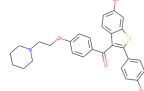
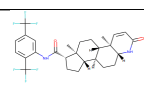
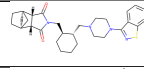
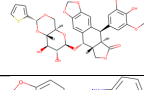
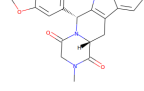
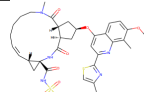
SOMMAIRE

4.1 RÉSULTATS ET DISCUSSION	28
---------------------------------------	----

4.1 Résultats et discussion

La structure tridimensionnelle cristallisée du récepteur EGFR1 (PDB ID :3W32) trouvé sur le site « RCSB PDB (Protein Data Bank) » ([LLM+20]). Dans un premier temps nous avons analysé l'inhibition de la protéine « 3W32 » par l'ensemble des ligands à l'aide de l'amarrage moléculaire, l'une des méthodes de modélisation moléculaire les plus largement utilisées, il est réalisé à l'aide de logiciel Chimera. Le site actif de la protéine déterminé à partir de la liaison du ligand déjà trouvé sur la protéine. Le Tableau 4.1 présente les résultats de Docking moléculaire obtenus pour tous les ligands testés et classés selon l'énergie de liaison.

TABLE 4.1: coordonnées et énergie de liaison de 16 ligands qui peuvent inhiber l'action du récepteur EGFR1

PUBCHEM ID	Masse Moléculaire (g/mol)	Structure	ΔG (Kcal/mol) Chimera	ΔG (Kcal/mol) Pyrx
64033452	452.413		-12.0	-11.6
4214700	426.492		-11.7	-11.0
6716957	529.526		-11.5	-11.4
150338755	868.457		-11.4	-11.1
1612996	586.689		-11.0	-11.0
1550477	581.069		-11.0	-11.3
1530886	514.629		-10.9	-11.0
40430143	434.471		-10.9	-11.5
538658	448.95		-10.9	-11.9
3784182	412.529		-10.7	-11.2
538275	473.594		-10.4	-11.3
3932831	528.537		-10.3	-11.5
3927822	492.689		-9.5	-11.7
4099009	656.662		-9.4	-11.1
3993855	389.411		-9.3	-11.0
164760874	749.956		-9.0	-11.6

ΔG est une indication de la stabilité de la liaison formée entre le récepteur et le ligand, ce qui indique le degré d'affinité. De plus, plus l'énergie de liaison est faible, plus l'efficacité de liaison est élevée, ce qui entraîne une inhibition accrue. Dans cette étude, nous avons choisi d'évaluer plus en détail 8 ligands ayant la meilleure affinité pour la protéine cible : 1530886 ; 1550477 ; 1612996 ; 4214700 ; 6716957 ; 40430143 ; 64033452 ; 150338755. Ils ont été admis au programme BIOVIA Discovery Studio pour la détermination des résidus d'acides aminés actifs dans les interactions entre la protéine majeure et ligands (médicaments).

La liaison qui se produit est appelé site actif ou site de liaison ou poche de liaison. Le complexe stable formé est appelé complexe récepteur-ligand, comme le montre la Fig4.1. Il existe de nombreux types différents de forces d'interaction non covalentes qui amènent le récepteur et le ligand à se lier pour former un complexe stable. Ce sont des torsions, des hydrophiles, des hydrophobes, des van der Waals, électrostatique, liaison hydrogène et désolvatation, etc. L'objectif principal était donc de trouver le complexe récepteur-ligand le plus stable avec une géométrie optimisée et une énergie de liaison minimale. ([ZL23])

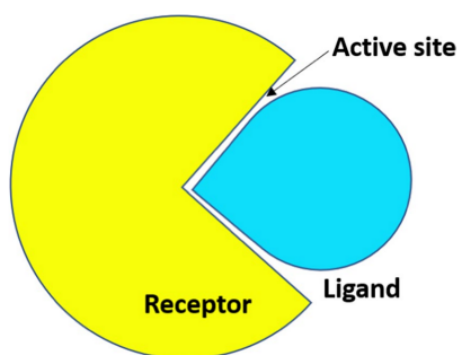


FIGURE 4.1 – Complexe amarré récepteur-ligand. Amarrage d'une petite molécule. ([ZL23])

Le tableau 4.2 montre les interactions de ces 8 ligands avec le site actif de la protéine.

TABLE 4.2: Interactions des 8 ligands les mieux ancrés contre le site actif de la protéine EGFR1

Meilleurs composés amarrés	Les acides aminés de EGFR1 qui interviennent dans les interactions du composé	Types d'interaction	ΔG kcal/mol
64033452	PHE723	Van der Waals	-12.0
	ALA722	Van der Waals	
	LEU858	Van der Waals	
	PHE856	Van der Waals	
	ARG776	Van der Waals	
	CYS775	Van der Waals	
	ILE789	Van der Waals	
	THR790	Van der Waals	
	THR854	Van der Waals	
CYS797	Van der Waals		

	ARG841	Pi-Alkyl Convontional hydrogen bond Carbon hydrogen bond	
	LYS745	Pi-Alkyl Convontional hydrogen bond Alkyl	
	VAL726	Pi-Alkyl Alkyl	
	ALA743	Pi-Alkyl	
	LEU788	Pi-Alkyl Alkyl	
	LEU777	Pi-Alkyl Alkyl Convontional hydrogen bond	
	MET766	Pi-Alkyl Convontional hydrogen bond	
	ASP855	Halogen fluorine Amide-Pi Stacked	
	ASP837	Halogen fluorine	
	LEU844	Alkyl	
	THR790	Alkyl	
	ASN842	Convontional hydrogen bond	
	GLY721	Carbon hydrogen bond	
4214700	PHE856	Van der Waals	-11.7
	THR790	Van der Waals	
	LYS745	Van der Waals	
	THR854	Van der Waals	
	PHE997	Van der Waals	
	LYS797	Van der Waals	
	LEU718	Van der Waals	
	ARG776	Carbon hydrogen bond	
	GLY796	Carbon hydrogen bond	
	LEU777	Convontional hydrogen bond Pi-Alkyl	
	ASP855	Convontional hydrogen bond Attractive charge	
	MET766	Halogen fluorine 2 Pi-Alkyl	

	CYS775	Halogen fluorine	
	LEU788	Pi-Alkyl	
	LEU858	Pi-Alkyl	
	VAL726	Pi-Alkyl	
	LEU844	Pi-Alkyl Alkyl	
	ALA743	Pi-Alkyl Alkyl	
	MET793	Alkyl	
	LEU792	Alkyl	
6716957	SER720	Van der Waals	-11.5
	GLY719	Van der Waals	
	GLY721	Van der Waals	
	ASN842	Van der Waals	
	LEU718	Van der Waals	
	ASP855	Van der Waals	
	THR790	Van der Waals	
	LYS775	Van der Waals	
	LEU788	Van der Waals	
	AGR776	Van der Waals	
	LEU777	Pi-Alkyl	
	LYS745	Pi-Alkyl	
	LEU844	Pi-Alkyl Alkyl	
	ALA743	Pi-Alkyl Alkyl	
	ARG841	Pi-Alkyl Pi-cation	
	VAL726	Pi-sigma	
	MET766	Pi-sulfur	
	PHE856	Pi-Pi T-shaped	
	ALA722	Alkyl Pi-donor hydrogen bond	
	THR854	Convontional hydrogen bond	
150338755	PHE723	Van der Waals	-11.4
	GLY721	Van der Waals	
	PHE997	Van der Waals	
	LEU718	Van der Waals	
	ASN842	Van der Waals	
	GLY796	Van der Waals	
	THR790	Van der Waals	
	LEU777	Van der Waals	
	THR854	Van der Waals	
	ASP800	Van der Waals	
	ARG803	Van der Waals	
	SER912	Van der Waals	
	GLU906	Van der Waals	

	ASP837	Convontional hydrogen bond	
	LYS745	2 Convontional hydrogen bond Pi-Alkyl	
	ASP855	2 Convontional hydrogen bond Attractive chage	
	CYS797	Pi-sulfur	
	TRP880	Pi-Pi T-shaped	
	ALA743	Pi-Alkyl	
	VAL726	Pi-Alkyl	
	LEU844	Pi-Alkyl	
	LYS913	Pi-Alkyl Alkyl	
	ARG841	Pi-Alkyl Pi-Donor hydrogen bond	
	LEU788	Pi-Alkyl	
	ALA722	Pi-Alkyl Alkyl	
	PRO914	Alkyl	
	LEU799	Alkyl	
	PRO877	Alkyl	
1612996	GLY719	Van der Waals	-11.0
	THR790	Van der Waals	
	LYS775	Van der Waals	
	ARG776	Van der Waals	
	LEU788	Van der Waals	
	LEU858	Van der Waals	
	LEU844	Van der Waals	
	LEU1001	Van der Waals	
	PHE997	Van der Waals	
	LEU718	2 Pi-Alkyl	
	VAL726	Pi-Alkyl Pi-sigma	
	ALA743	Pi-Alkyl	
	LYS745	Pi-Alkyl	
	MET766	Alkyl	
	LEU777	Alkyl	
	PHE856	Alkyl Pi-sigma	
	ASP855	Carbon hydrogen bond Attractive charge	
	THR854	Carbon hydrogen bond	
1550477	CYS775	Van der Waals	-11.0
	ARG776	Van der Waals	

	THR854	Van der Waals	
	THR790	Van der Waals	
	LEU792	Van der Waals	
	LEU1001	Van der Waals	
	GLY796	Van der Waals	
	PHE997	Van der Waals	
	GLY719	Van der Waals	
	ASP855	Van der Waals	
	ILE744	Van der Waals	
	LEU858	Van der Waals	
	SER720	Van der Waals	
	ARG841	Van der Waals	
	LEU777	Pi-Alkyl Convontional hydrogen bond	
	MET766	Pi-Alkyl Halogen fluorine	
	LEU788	Pi-Alkyl	
	VAL726	Pi-Alkyl	
	ALA743	3 Pi-Alkyl Alkyl	
	LYS745	Pi-Alkyl Alkyl	
	LEU844	Pi-Alkyl	
	LEU718	Pi-Alkyl Pi-sigma	
	PHE856	Pi-Pi T-shaped	
	MET793	Convontional hydrogen bond	
1530886	GLY719	Van der Waals	-10.9
	SER720	Van der Waals	
	GLY721	Van der Waals	
	PRO877	Van der Waals	
	ASP837	Van der Waals	
	PHE723	Van der Waals	
	ILE744	Van der Waals	
	THR790	Van der Waals	
	LEU788	Van der Waals	
	ILE789	Van der Waals	
	LEU777	Van der Waals	
	THR854	Van der Waals	
	LEU792	Van der Waals	
	ARG841	Pi-Alkyl Carbon hydrogen bond Pi-cation	
	ALA743	Pi-Alkyl Alkyl	
	LYS745	Pi-Alkyl	

	VAL726	2Pi-Alkyl	
	LEU844	Alkyl	
	LEU718	Alkyl	
	ASP855	2 Convontional hydrogen bond Carbon hydrogen bond	
	ASN842	Carbon hydrogen bond	
	ALA722	Pi-donor hydrogen bond	
40430143	CYS776	Van der Waals	-10.9
	ILE744	Van der Waals	
	THR854	Van der Waals	
	CYS797	Van der Waals	
	LEU858	Van der Waals	
	MET793	Van der Waals	
	GLY796	Van der Waals	
	LYS745	Pi-Alkyl Convontional hydrogen bond	
	LEU788	Pi-Alkyl	
	MET766	Pi-Alkyl	
	LEU777	2 Pi-Alkyl	

En analysant ces résultats, il apparait que le composé 64033452 a présenté le meilleur score de liaison -12.0 kcal/mol mais les autres composés sont présentent des ΔG proches. La molécule a formé cinq liaisons hydrogènes conventionnelles, sept liaisons Pi-Alkyl, six liaisons Alkyl, deux liaisons fluor halogène, deux liaisons hydrogène-carbone, une liaison Amide-Pi Stacked, respectivement avec les acides aminés ASN842, ARG841, LYS745, MET766, LEU777, VAL726, ALA743, LEU788, LEU844, THR790, ASP855, ASP837, GLY721. Il y avait également dix liaisons de type Van der Waals avec les résidus PHE723, ALA722, LEU858, PHE856, ARG776, CYS775, ILE789, THR790, THR854, CYS797. (figure(4.2) et tableau(4.2))

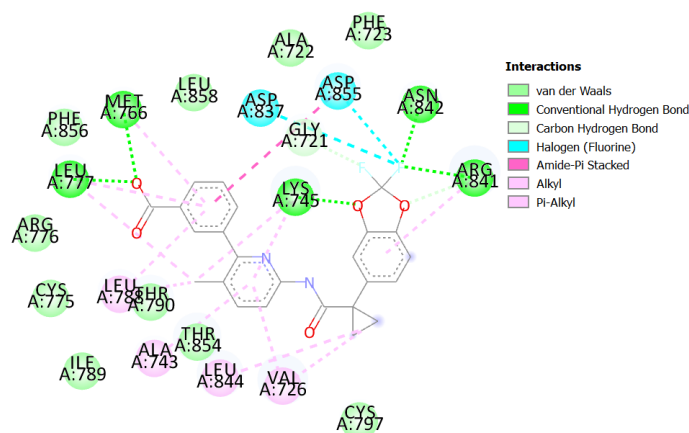


FIGURE 4.2 – Interaction 2D du composé 64033452 avec la protéine 3W32.

Le composé 4214700 se lie à la protéine avec une affinité de -11.7 Kcal/mol, ce composé forme deux liaisons hydrogène-carbone avec les résidus ARG776 , GLY769, deux liaisons fluor halogène avec MET766, CYS775, une liaison attractive charge avec ASP855, huit Pi-Alkyl et quatre Alkyl avec les résidus LEU788, LEU858, MET766, LEU777, LEU844, VAL726, ALA743, MET793, LEU792 ainsi que les liaisons hydrogènes conventionnels qui stabilise le complexe protéine-ligand de plus sept van der waals qui entoures le site actif. (figure(4.3) et tableau(4.2))

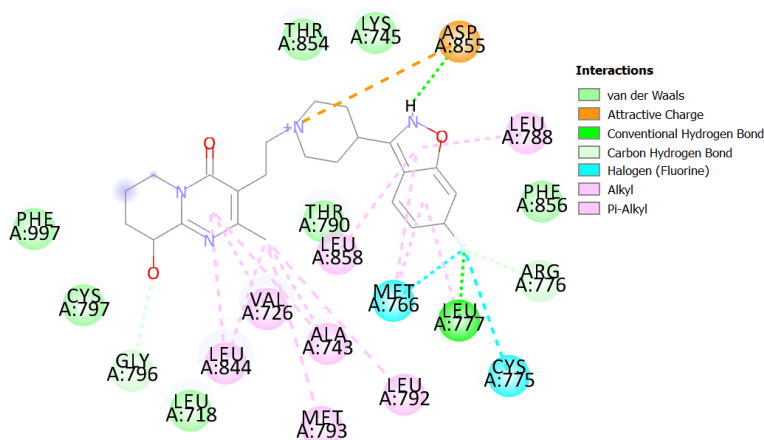


FIGURE 4.3 – Interaction 2D du composé 4214700 avec la protéine 3W32.

Le composé 6716957 a présenté un score de liaison de -11.5 Kcal/mol et formé une liaison Pi-cation, Pi-sigma, Pi-sulfur, Pi-Pi T-shaped et Pi hydrogène donneur avec les résidus ARG841, ALA722, VAL726, MET766, PHE856 par ailleurs cinq liaisons Pi-Alkyl et trois Alkyl avec LEU777, LYS745, LEU844, ALA743, ARG841, ALA722. Il y avait également une liaison hydrogène conventionnel avec THR854 et dix interaction de type van der waals. (figure(4.4) et tableau(tab :tableau02))

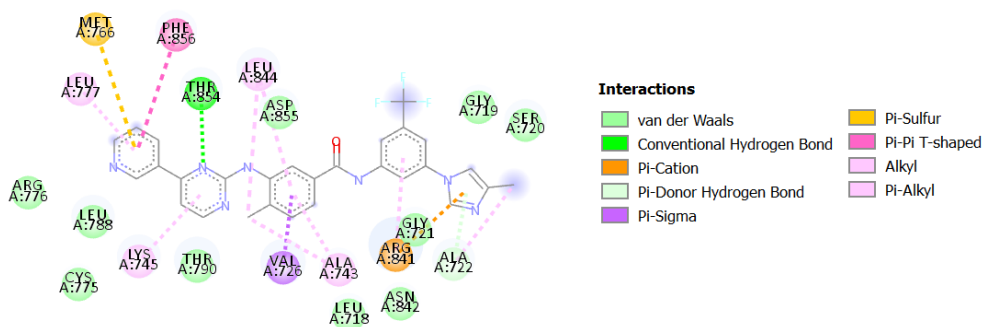


FIGURE 4.4 – Interaction 2D du composé 6716957 avec la protéine 3W32.

La molécule 150338755 a présenté un score de liaison -11.4 Kcal/mol elle constitue de quatre liaisons hydrogènes conventionnelles, deux avec LYS745 et deux avec ASP837, ASP855, une liaison Attractive charge, Pi-sulfur, Pi-Pi T-shaped et Pi- hydrogène donneur avec ASP855, CYS797, TRP880, ARG841. Et aussi stabilisé par des interactions hydrophobes de type alkyle et Pi-Alkyle avec ALA743, VAL726, LEU844, LYS913, ARG841, LEU788, ALA722, LYS745, PRO914, LEU799, PRO877, sans oublier treize liaisons de Van Der Waals. (figure(4.5) et tableau(4.2))

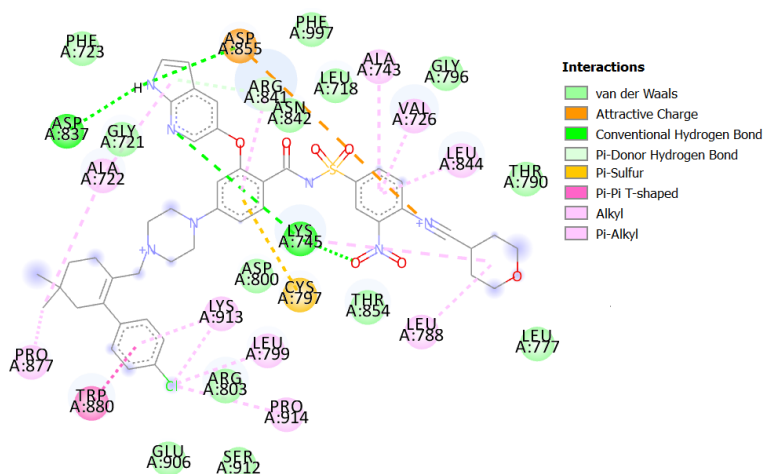


FIGURE 4.5 – Interaction 2D du composé 150338755 avec la protéine 3W32.

La molécule 1612996 a un score de liaison de -11.0kcal/mol, elle forme deux liaisons carbone hydrogène avec les résidus ASP855, THR854, deux liaisons Pi-sigma avec VAL726, PHE856, une liaison Attractive charge avec ASP855 en plus des liaisons de type Alkyl et Pi-Alkyle avec LEU718, VAL726, ALA743, LYS745, MET766, LEU777, PHE856 et neuf liaisons de Van Der Waals entourées de site actif. (figure(4.6) et tableau(4.2))

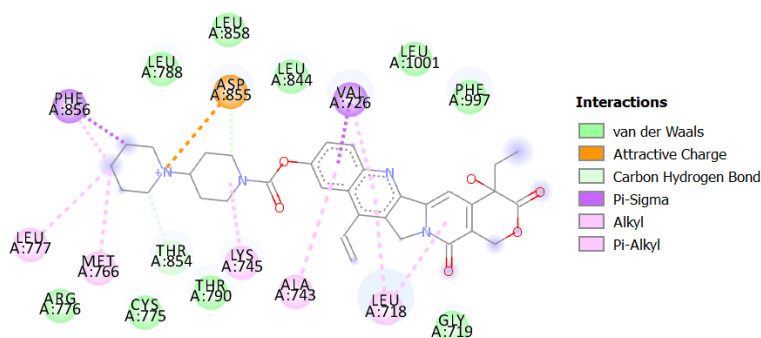


FIGURE 4.6 – Interaction 2D du composé 1612996 avec la protéine 3W32.

Le composé 1550477 a un score de liaison avec la protéine 3W32 égale à -11.0 kcal/mol, il constitue 14 liaisons Van der Waals, deux liaisons hydrogènes conventionnelles avec les résidus MET793, LEU777, une liaison fluor halogène, Pi-sigma, Pi-Pi T-shaped respectivement avec MET766, LEU718, PHE856, dix liaisons Pi-Alkyl et deux Alkyle avec les résidus LEU777, MET766, LEU788, VAL726, ALA743, LYS745, LEU844, LEU718. (figure(4.7) et tableau(4.2))

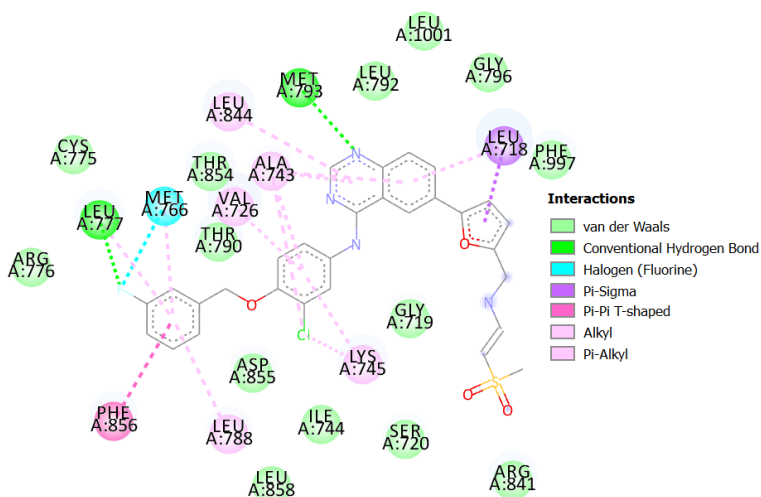


FIGURE 4.7 – Interaction 2D du composé 1550477 avec la protéine 3W32.

La molécule 1530886 a présenté un score de liaison -10.9 kcal/mol avec la protéine, il constitue deux liaisons hydrogènes conventionnelles avec ASP855, trois liaisons carbone hydrogène avec ARG841, ASN842, ASP855, ainsi une liaison Pi- hydrogène donneur, Pi-cation avec ALA722, ARG841. Il y avait aussi des interactions hydrophobes de type alkyle et Pi-Alkyle avec LYS745, VAL726, ALA743, LEU844, LEU718, ARG841 et treize liaisons van de waals. (figure(4.8) et tableau(4.2))

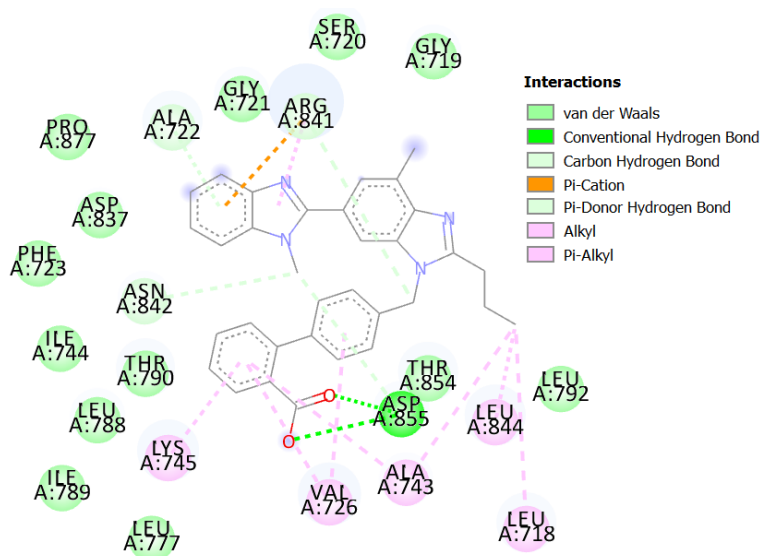


FIGURE 4.8 – Interaction 2D du composé 1530886 avec la protéine 3W32.

La molécule 40430143 a présenté un score de liaison -10.9 kcal/mol avec la protéine, elle constitue deux liaisons Pi-Pi T-shaped avec PHE856, deux liaisons alkyle avec PHE997 et LEU844, quatre liaisons Carbone Hydrogène avec ARG841, ASN842, THR790, ARG776, une liaison hydrogène conventionnelle avec LYS745, une liaison Amide-Pi stacked avec ASP855, et huit liaisons Pi-Alkyl avec LEU788, MET766, LEU777, ALA743, VAL726, LYS745, LEU718, aussi avec sept liaisons de Van Der Waals. (figure(4.9) et tableau(4.2))

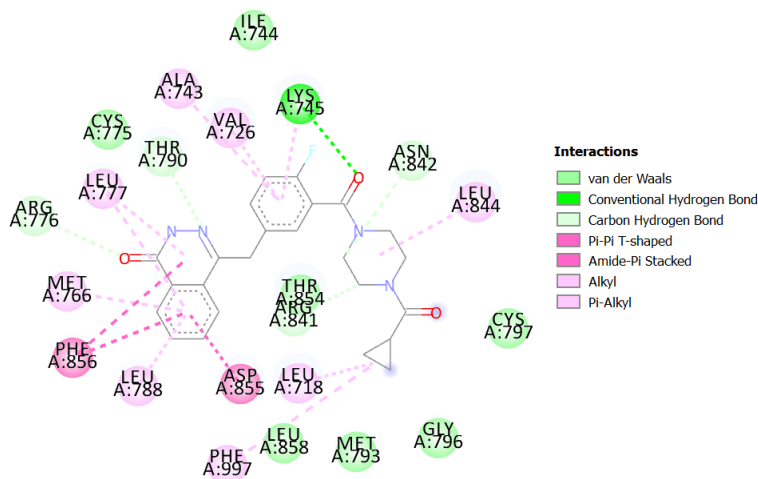


FIGURE 4.9 – Interaction 2D du composé 40430143 avec la protéine 3W32.

Les interactions les plus fréquemment observées dans les protéines impliquent généralement des motifs tels que Van der Waals, Pi-Alkyl, Alkyle, liaison hydrogène conventionnelle, liaison carbone hydrogène, tandis que les résidus d'acides aminés les plus récurrents dans ces interactions sont LEU777, LEU718, LEU788, ASP855, THR790, LEU844, VAL726, ALA743, PHE856, THR854, CYS797, LEU858, LYS745, ARG841, MET766, PHE723, ARG776, CYS775, ASP856, LEU858, MET793. Cette récurrence suggère que ces résidus pourraient jouer un rôle central dans la structure du site actif protéique. En effet la spécificité de liaison du ligand pourrait être attribuée à ces résidus spécifiques, soulignant ainsi leur importance fonctionnelle dans la reconnaissance et l'interaction avec le ligand.

Dans une précédente étude sur la double activité des inhibiteurs de l'EGFR utilisant un médicament basé sur la structure. Dans cette étude, des analyses des propriétés chimiques d'un groupe de substances ayant une affinité à la fois pour HER-2 et pour l'EGFR ont été réalisées montrant les principales interactions au niveau du site actif se produisent entre ce ligand et les résidus suivants : Met793/Thr854 ([HZS⁺09]). Les deux résidus ont déjà été identifiés dans les résultats de notre Docking.

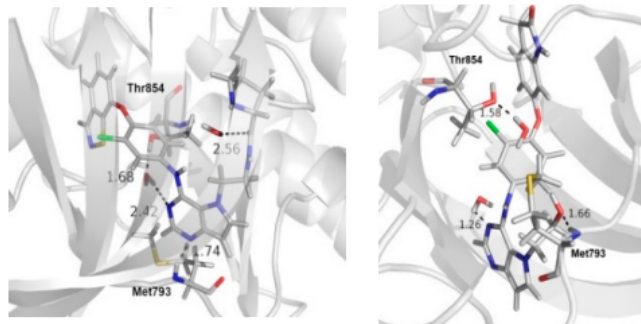


FIGURE 4.10 – Les composés les plus et les moins actifs au niveau du site actif de l'EGFR, ainsi que les principaux résidus (Met793 et Thr854) et deux molécules d'eau structurales.([HZS⁺09])

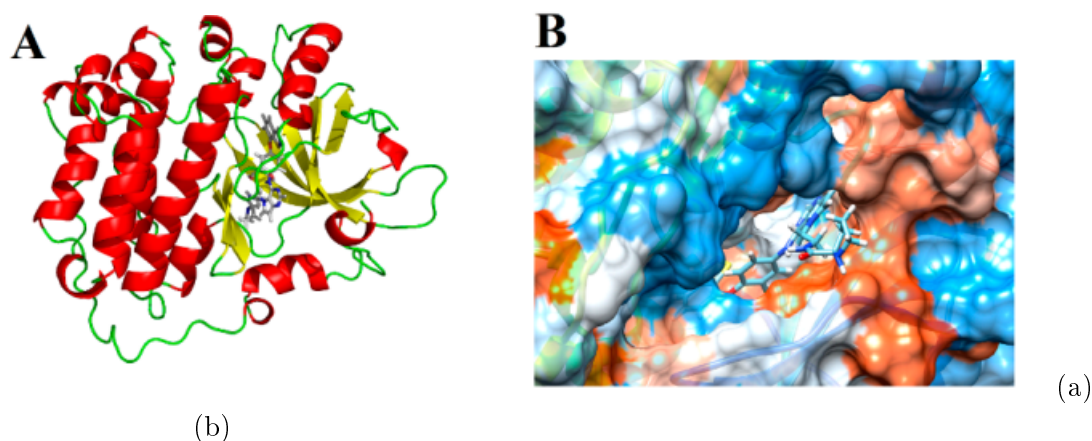


FIGURE 4.11 – (A) Structure tridimensionnelle de l'EGFR; et (B) surfaces hydrophobes (orange) et hydrophiles (bleu) des sites actifs EGFR.([HZS⁺09])

D'un autre côté et parmi leur expériences ils ont étudié les liaisons entre les dérivés de 594832 et EGFR dans le site actif ciblé ([RB10]), La conformation des liaisons entre les dérivés de 594832 et EGFR est illustrée à la Figure (4.12 et 4.13). Les résultats ont montré dix résidus en commun avec les résultats de recherche que nous avons obtenus, qui sont LEU777, LEU718, LEU788, LEU844, VAL726, ALA743, THR854, CYS797, CYS775, LEU858.

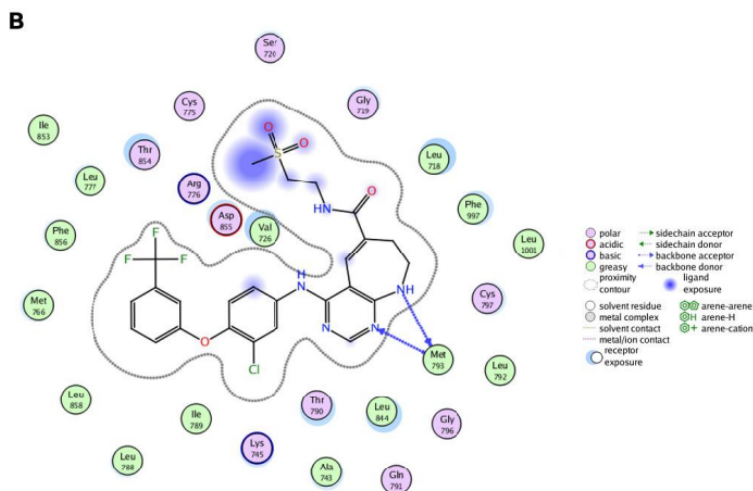


FIGURE 4.12 – La fente de liaison de 3W32 ayant des ligands cocrystallisés.([RB10])

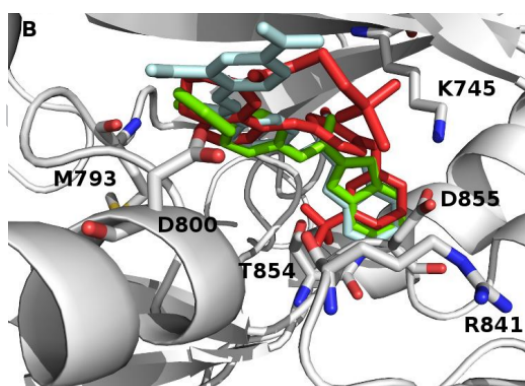


FIGURE 4.13 – Les domaines kinases de (B) 3W32 s’adapte à la pose ancrée des ligands cocrystallisés.([RB10])

L’examen visuel en deux dimension des résultats de docking des composés précédents, combiné aux recherches scientifiques, révèle que nos ligands sont positionnés de manière adéquats dans la cavité catalytique du récepteur. De plus, ils démontrent la capacité à établir des liaisons hydrogène et des interactions hydrophobes, des éléments cruciaux pour stabiliser le complexe protéine-ligand avec une affinité élevée.([RB10])

TABLE 4.3: Les paramètres pharmacocinétiques des composés.

Analogue (Code zinc 15)	Lipo -0.7< XLOGP3 <+5.0	Masse Volumi- neuse 150g/mol <MV <500g/mol	Polarité 20Å <TPSA <130Å ²	Insolubilité -6<ESOL <0	Insaturation 0.25< Fraction (Csp3) <1	Flexibilité 0<Num. rotatable bonds<9	Lipinski
64033452	4.44	452.41	97.75	-5.45	0.21	6	Yes,0 Violation
4214700	2.17	426.48	84.39	-3.95	0.52	4	Yes,0 Violation
6716957	4.90	529.52	97.62	-6.23	0.11	8	Yes, 1 Violation
150338755	8.18	868.44	183.09	-9.78	0.38	14	No, 2 Violation
1612996	3.74	586.68	114.20	-5.71	0.52	6	Yes , 1 Violation
1550477	5.12	581.06	114.73	-6.44	0.17	11	Yes , 1 Violation
1530886	6.92	514.62	72.94	-7.50	0.18	7	No,2 Violation
40430143	1.90	434.46	86.37	-3.70	0.33	6	Yes,0 Violation

L'ensemble des composés 64033452 ,4214700 ,40430143 présenté un profil pharmacocinétique favorable, permettent d'améliorer la biodisponibilité, stabilité et efficacité des molécules et par extension innover en termes de stratégies thérapeutiques. Le reste des ligands présente des valeurs hors la normale des paramètres. ([WCD+21])

Ces variations pharmacocinétiques peuvent concerner l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion des médicaments, Les recherches de pharmacologie clinique depuis de nombreuses années ont apporté bon nombre d'éléments permettant une utilisation plus rationnelle des médicaments chez les personnes de plus de 65 ans. ([?])

Conclusion générale

Notre recherche avait pour objectif de découvrir de nouvelles molécules inhibitrices du récepteur EGFR1, visant à traiter le cancer et ces complications. Le criblage virtuel de ligands a identifié des composés qui pourraient avoir un effet inhibiteur du EGFR1.

Les études récentes ont montré que les meilleures molécule possédaient des ΔG variant dans un intervalle de -9,21 à -8,64 Kcal/mol. Cependant, lors de notre étude de docking moléculaire, 16 de nos molécules ont montré une excellente affinité avec le récepteurs EGFR1. Huit de ces composés ont démontré une capacité de liaison remarquable, avec un ΔG se situant entre -12,0 et -10,9 Kcal/mol, suggérant ainsi une amélioration significative de leur potentiel d'interaction avec la cible biologique par rapport à la molécule initiale. On a constaté que les acides aminés concernés par les liaisons sont LEU777, LEU718, LEU788, LEU844, VAL726, ALA743, THR854, CYS797, CYS775, LEU858. Ces résultats impliquent que ces produits chimiques pourraient avoir un potentiel pour le traitement du cancer. Une étude expérimentale complémentaire in vitro et / ou in vivo devra permettre de vérifier ces résultats théoriques obtenus in silico.

Bibliographie

- [AKOT22] Tasia Amelia, Rahmana Emran Kartasasmita, Tomohiko Ohwada, and Daryono Hadi Tjahjono. Structural insight and development of egfr tyrosine kinase inhibitors. *Molecules*, 27(3) :819, 2022.
- [AMZX24] Parisa Aris, Masoud Mohamadzadeh, Maarooof Zarei, and Xuhua Xia. Computational design of novel griseofulvin derivatives demonstrating potential antibacterial activity : Insights from molecular docking and molecular dynamics simulation. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(2) :1039, 2024.
- [ARMT+24] Imad M Al-Rubaye, Ammar A Razzak Mahmood, Lubna H Tahtamouni, Mai F Al-Sakhen, Sana I Kanaan, Khaled M Saleh, and Salem R Yasin. In silico and in vitro evaluation of novel carbothioamide-based and heterocyclic derivatives of 4-(tert-butyl)-3-methoxybenzoic acid as egfr tyrosine kinase allosteric site inhibitors. *Results in Chemistry*, 7 :101329, 2024.
- [ARS+10] Igor Astsaturov, Vladimir Ratushny, Anna Sukhanova, Margret B Einarson, Tetyana Bagnyukova, Yan Zhou, Karthik Devarajan, Joshua S Silverman, Nadezhda Tikhmyanova, Natalya Skobeleva, et al. Synthetic lethal screen of an egfr-centered network to improve targeted therapies. *Science signaling*, 3(140) :ra67–ra67, 2010.
- [biba] <https://www.rcsb.org/>. Consulté le 10 février 2024.
- [bibb] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Consulté le 10 Février 2024.
- [bibc] <https://zinc15.docking.org/>. Consulté le 1 mars 2024.
- [BRP+13] Claude Bachmeyer, Ziad Reguiaï, Lucie Peuvrel, Jean-Baptiste Bachet, René-Jean Bensadoun, Marc Ychou, Thierry André, Olivier Bouché, and Brigitte Dréno. Toxicité cutanée des anti-egfr (epidermal growth factor receptor) : algorithme thérapeutique du groupe français procur. *Bulletin du cancer*, 100(5) :417–426, 2013.
- [CISCA+23] S Chemmalar, AR Intan Shameha, Che Azurahaman Che Abdullah, Nor Asma Ab Razak, Loqman Mohamad Yusof, Mokrish Ajat, Kim Wei Chan, Md Zuki Abu Bakar Zakaria, et al. Busting the breast cancer with astrazenecas gefitinib. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 2023, 2023.
- [DAADPH18] Rafaela Molina De Angelo, Michell de Oliveira Almeida, Heberth De Paula, and Kathia Maria Honorio. Studies on the dual activity of egfr and her-2 inhibitors using structure-based drug design techniques. *International journal of molecular sciences*, 19(12) :3728, 2018.
- [DGP+16] Delphine Dayde, Marie Guerard, Pascal Perron, Anne-Sophie Hatat, Celine Barrial, Béatrice Eymin, and Sylvie Gazeri. Nuclear trafficking of egfr by vps34 represses arf expression to promote lung tumor cell survival. *Oncogene*, 35(30) :3986–3994, 2016.
- [DRF09] C Dreyer, E Raymond, and S Faivre. Les thérapies ciblées et leurs indications dans les tumeurs solides. *La Revue de médecine interne*, 30(5) :416–424, 2009.

- [DSH⁺14] Y Du, J Shen, JL Hsu, Z Han, MC Hsu, CC Yang, HP Kuo, YN Wang, H Yamaguchi, SA Miller, et al. Syntaxin 6-mediated golgi translocation plays an important role in nuclear functions of egfr through microtubule-dependent trafficking. *Oncogene*, 33(6) :756–770, 2014.
- [EC08] Jeffrey A Engelman and Lewis C Cantley. A sweet new role for egfr in cancer. *Cancer cell*, 13(5) :375–376, 2008.
- [GCP⁺22] Lola Féré Gély, Joséphine Camboulive, Louis Petipre, Yohann Corvis, Emmanuel Curis, Dorota Desaulle, Brice Martin, Nathalie Mignet, and Johanne Seguin. Pharmacocinétique de deux formulations d'étoposide. *Acta discipulorum academiae medicamentariae artis*, 4, 2022.
- [GDS23] Yingzhe Guo, Zeqian Du, and Ting Shi. Structural analysis of interactions between epidermal growth factor receptor (egfr) mutants and their inhibitors. *Biophysica*, 3(1) :203–213, 2023.
- [GML⁺02] Thomas PJ Garrett, Neil M McKern, Meizhen Lou, Thomas C Elleman, Timothy E Adams, George O Lovrecz, Hong-Jian Zhu, Francesca Walker, Morry J Frenkel, Peter A Hoyne, et al. Crystal structure of a truncated epidermal growth factor receptor extracellular domain bound to transforming growth factor α . *Cell*, 110(6) :763–773, 2002.
- [GOP⁺13] Gokhan Gorgisen, Derya Ozes, Suray Pehlivanoglu, Abdullah Erdogan, Levent Dertsiz, Gulay Ozbilim, Irem Hicran Ozbudak, Burhan Savas, and Osman Nidai Ozes. Differential expression and activation of epidermal growth factor receptor 1 (egfr1), erk, akt, stat3, and twist1 in nonsmall cell lung cancer (nslc). *Experimental Lung Research*, 39(9) :387–398, 2013.
- [HCL⁺11] Wei-Chien Huang, Yun-Ju Chen, Long-Yuan Li, Ya-Ling Wei, Sheng-Chieh Hsu, Shing-Ling Tsai, Pei-Chun Chiu, Wei-Pang Huang, Ying-Nai Wang, Chung-Hsuan Chen, et al. Nuclear translocation of epidermal growth factor receptor by akt-dependent phosphorylation enhances breast cancer-resistant protein expression in gefitinib-resistant cells. *Journal of Biological Chemistry*, 286(23) :20558–20568, 2011.
- [HLWR23] Qingmin He, Chuan Liu, Xiaohan Wang, and Kang Rong. Exploring the mechanism of curcumin in the treatment of colon cancer based on network pharmacology and molecular docking. *Frontiers in Pharmacology*, 14 :1102581, 2023.
- [HWX⁺10] Longfei Huo, Ying-Nai Wang, Weiya Xia, Sheng-Chieh Hsu, Chien-Chen Lai, Long-Yuan Li, Wei-Chao Chang, Yan Wang, Ming-Chuan Hsu, Yung-Luen Yu, et al. Rna helicase a is a dna-binding partner for egfr-mediated transcriptional activation in the nucleus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(37) :16125–16130, 2010.
- [HZS⁺09] Amir Harandi, Aisha S Zaidi, Abigail M Stocker, Damian A Laber, et al. Clinical efficacy and toxicity of anti-egfr therapy in common cancers. *Journal of Oncology*, 2009, 2009.
- [IBC⁺13] Mari Iida, Toni M Brand, David A Campbell, Chunrong Li, and Deric L Wheeler. Yes and lyn play a role in nuclear translocation of the epidermal growth factor receptor. *Oncogene*, 32(6) :759–767, 2013.
- [IUSU20a] Muhammad Tukur Ibrahim, Adamu Uzairu, Gideon Adamu Shallangwa, and Sani Uba. Structure-based design of some quinazoline derivatives as epidermal growth factor receptor inhibitors. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, 21 :1–12, 2020.
- [IUSU20b] Muhammad Tukur Ibrahim, Adamu Uzairu, Gideon Adamu Shallangwa, and Sani Uba. Structure-based design of some quinazoline derivatives as epidermal growth factor receptor inhibitors. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, 21 :1–12, 2020.

- [JYP⁺11a] Soumya Jaganathan, Peibin Yue, David C Paladino, Jelena Bogdanovic, Qun Huo, and James Turkson. A functional nuclear epidermal growth factor receptor, src and stat3 heteromeric complex in pancreatic cancer cells. *PloS one*, 6(5) :e19605, 2011.
- [JYP⁺11b] Soumya Jaganathan, Peibin Yue, David C Paladino, Jelena Bogdanovic, Qun Huo, and James Turkson. A functional nuclear epidermal growth factor receptor, src and stat3 heteromeric complex in pancreatic cancer cells. *PloS one*, 6(5) :e19605, 2011.
- [KBS⁺15] Jeffrey D Kearns, Raghida Bukhalid, Mark Sevecka, Gege Tan, Nastaran Gerami-Moayed, Shannon L Werner, Neeraj Kohli, Olga Burenkova, Callum M Sloss, Anne M King, et al. Enhanced targeting of the egfr network with mm-151, an oligoclonal anti-egfr antibody therapeutic. *Molecular Cancer Therapeutics*, 14(7) :1625–1636, 2015.
- [KYK⁺09] Hwang-Phill Kim, Young-Kwang Yoon, Jin-Won Kim, Sae-Won Han, Hyung-Seok Hur, Jinah Park, Ju-Hee Lee, Do-Youn Oh, Seock-Ah Im, Yung-Jue Bang, et al. Lapatinib, a dual egfr and her2 tyrosine kinase inhibitor, downregulates thymidylate synthase by inhibiting the nuclear translocation of egfr and her2. *PloS one*, 4(6) :e5933, 2009.
- [LASW⁺06] Hui-Wen Lo, Mohamed Ali-Seyed, Yadi Wu, Geoffrey Bartholomeusz, Sheng-Chieh Hsu, and Mien-Chie Hung. Nuclear-cytoplasmic transport of egfr involves receptor endocytosis, importin β 1 and crm1. *Journal of cellular biochemistry*, 98(6) :1570–1583, 2006.
- [LHAS⁺05] Hui-Wen Lo, Sheng-Chieh Hsu, Mohamed Ali-Seyed, Mehmet Gunduz, Weiya Xia, Yongkun Wei, Geoffrey Bartholomeusz, Jin-Yuan Shih, and Mien-Chie Hung. Nuclear interaction of egfr and stat3 in the activation of the inos/no pathway. *Cancer cell*, 7(6) :575–589, 2005.
- [LLM⁺20] JJ Lin, SV Liu, CE McCoach, VW Zhu, AC Tan, S Yoda, J Peterson, A Do, K Prutisto-Chang, I Dagogo-Jack, et al. Mechanisms of resistance to selective ret tyrosine kinase inhibitors in ret fusion-positive non-small-cell lung cancer. *Annals of Oncology*, 31(12) :1725–1733, 2020.
- [MM14] Petar M Mitrasinovic. Structural elucidation of unique inhibitory activities of two thiazolo [4, 5-d] pyrimidines against epidermal growth factor receptor (egfr) : Implications for successful drug design. *Medicinal Chemistry*, 10(1) :46–58, 2014.
- [MM23] Madhuchhanda Mohanty and Priti S Mohanty. Molecular docking in organic, inorganic, and hybrid systems : A tutorial review. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*, 154(7) :683–707, 2023.
- [MMDV24] Heather C Murray, Kasey Miller, Matthew D Dun, and Nicole M Verrills. Phosphoproteomic analysis of cancer-associated kit mutations d816v and v560g. *Proteomics*, page 2300309, 2024.
- [MVS22] Shruthi Muralidharan, A Antony Joseph Velanganni, and Kumaran Shanmugam. Inhibition of breast cancer proteins by the flavonoid naringenin and its derivative : A molecular docking study. *Journal of Natural Remedies*, pages 51–64, 2022.
- [MY10] Tetsuya Mitsudomi and Yasushi Yatabe. Epidermal growth factor receptor in relation to tumor development : Egfr gene and cancer. *The FEBS journal*, 277(2) :301–308, 2010.
- [NGH01] Robert Ian Nicholson, Julia Margaret Wendy Gee, and Maureen Elaine Harper. Egfr and cancer prognosis. *European journal of cancer*, 37 :9–15, 2001.
- [NOO⁺21] Lamyae Nouiakh, Karima Oualla, Imane Ouafki, Soumia Berrad, Hayat Erraichi, Lamiae Amaadour, Zineb Benbrahim, Samia Arifi, and Nawfel Mellas. Tyrosine kinase inhibitors against cancer : Their safety in 216 moroccan patients. *Journal of Cancer Therapy*, 12(3) :116–126, 2021.

- [PM04] F P  hourcq and M Molimard. Pharmacocin  tique chez le sujet   g  . *Revue des maladies respiratoires*, 21(5) :25–32, 2004.
- [PXZ+24] Wang Peng, Qinxuan Xia, Yue Zhang, Danfeng Cao, and Xiangrong Zheng. Vegf and egfr signaling pathways are involved in the baicalein attenuation of ova-induced airway inflammation and airway remodeling in mice. *Respiratory Research*, 25(1) :10, 2024.
- [QBB+22] Samia Qureshi, Gino Boily, Jim Boulanger, Kossi Thomas Golo, Aude-Christine Gu  don, Camille Lehu  d  , Ferdaous Roussafi, Catherine Truchon, and Erin Strumpf. Advanced lung cancer patients use of egfr tyrosine kinase inhibitors and overall survival : Real-world evidence from quebec, canada. *Current Oncology*, 29(11) :8043–8073, 2022.
- [Rai18] Judith Raimbourg. *Effets du cisplatine sur la sensibilité des cancers bronchiques non    petites cellules EGFR sauvage aux inhibiteurs de tyrosine kinase anti EGFR*. PhD thesis, Nantes, 2018.
- [RB10] M Ravoire and F Barl  si. Prise en charge des effets indésirables des anti-angiogéniques et des tki. *Revue des Maladies Respiratoires Actualités*, 2(3) :269–274, 2010.
- [RB20] Roberta Romano and Cecilia Bucci. Role of egfr in the nervous system. *Cells*, 9(8) :1887, 2020.
- [RJM+24] Ruby Mariam Raju, Joy A Jeffin, Raghavendra Nulgumnalli Manjunathaiah, Antony Justin, and BR Prashantha Kumar. Egfr as therapeutic target to develop new generation tyrosine kinase inhibitors against breast cancer : A critical review. *Results in Chemistry*, page 101490, 2024.
- [RWP+11] A-M Ruppert, M Wislez, V Poulot, R Lacave, M Antoine, and J Cadranel. Un regard simple sur la biologie du cancer bronchique : Egfr. *Revue des maladies respiratoires*, 28(4) :565–577, 2011.
- [SAGB16] Davinder Singh, Bhupinder Kumar Attri, Rupinder Kaur Gill, and Jitender Bariwal. Review on egfr inhibitors : critical updates. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 16(14) :1134–1166, 2016.
- [SAL18a] Sara Sigismund, Daniele Avanzato, and Letizia Lanzetti. Emerging functions of the egfr in cancer. *Molecular oncology*, 12(1) :3–20, 2018.
- [SAL18b] Sara Sigismund, Daniele Avanzato, and Letizia Lanzetti. Emerging functions of the egfr in cancer. *Molecular oncology*, 12(1) :3–20, 2018.
- [SHC+16] Priyanka Soni, Nuzhat Husain, Anil Chandra, Bal Krishan Ojha, Madan Lal Brahma Bhatt, and Rakesh Kumar Gupta. Do phosphatase of regenerating liver-3, matrix metalloproteinases-2, matrix metalloproteinases-9, and epidermal growth factor receptor-1 predict response to therapy and survival in glioblastoma multiforme ? *Indian Journal of Pathology and Microbiology*, 59(3) :287–293, 2016.
- [SHS20] Dima A Sabbah, Rima Hajjo, and Kamal Sweidan. Review on epidermal growth factor receptor (egfr) structure, signaling pathways, interactions, and recent updates of egfr inhibitors. *Current topics in medicinal chemistry*, 2020.
- [Shu22] Sian L Shuel. Therapies ciblées contre le cancer : Perles cliniques    l'intention des soins primaires. *Canadian Family Physician*, 68(7) :e199, 2022.
- [SSB+16] Kamal Sweidan, Dima A Sabbah, Sanaa Bardaweel, Khadeja Abu Dush, Ghassan Abu Sheikha, and Mohammad S Mubarak. Computer-aided design, synthesis, and biological evaluation of new indole-2-carboxamide derivatives as pi3k  /egfr inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 26(11) :2685–2690, 2016.
- [TW19] Rintu Thomas and Zhang Weihua. Rethink of egfr in cancer with its kinase independent function on board. *Frontiers in oncology*, 9 :800, 2019.

- [UMY21] Mary Luz Uribe, Ilaria Marrocco, and Yosef Yarden. Egfr in cancer : Signaling mechanisms, drugs, and acquired resistance. *Cancers*, 13(11) :2748, 2021.
- [WCD⁺21] Ziyang Wu, Suhua Chen, Xin Du, Yibo Wu, and Xiaohui Xie. Hepatotoxicity with epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small-cell lung cancer patients : A network meta-analysis. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 46(2) :310–318, 2021.
- [WMK⁺08] Gabriele Wanner, Claus Mayer, Rainer Kehlbach, H Peter Rodemann, and Klaus Dittmann. Activation of protein kinase ϵ stimulates dna-repair via epidermal growth factor receptor nuclear accumulation. *Radiotherapy and Oncology*, 86(3) :383–390, 2008.
- [WYH⁺10] Ying-Nai Wang, Hirohito Yamaguchi, Longfei Huo, Yi Du, Hong-Jen Lee, Heng-Huan Lee, Hongmei Wang, Jung-Mao Hsu, and Mien-Chie Hung. The translocon $\text{sec61}\beta$ localized in the inner nuclear membrane transports membrane-embedded egf receptor to the nucleus. *Journal of Biological Chemistry*, 285(49) :38720–38729, 2010.
- [WYHH10] YN Wang, H Yamaguchi, JM Hsu, and MC Hung. Nuclear trafficking of the epidermal growth factor receptor family membrane proteins. *Oncogene*, 29(28) :3997–4006, 2010.
- [ZB23] Tanzida Zubair and Debasish Bandyopadhyay. Small molecule egfr inhibitors as anti-cancer agents : discovery, mechanisms of action, and opportunities. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3) :2651, 2023.
- [ZJL⁺19] Min Zou, Bo Jin, Yanrong Liu, Huiping Chen, Zhuangli Zhang, Changzheng Zhang, Zhihong Zhao, and Liyun Zheng. Synthesis and biological evaluation of some novel thiophene-bearing quinazoline derivatives as egfr inhibitors. *Letters in Drug Design & Discovery*, 16(2) :102–110, 2019.
- [ZJL21] Jing Zhou, Qing Ji, and Qi Li. Resistance to anti-egfr therapies in metastatic colorectal cancer : underlying mechanisms and reversal strategies. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 40 :1–17, 2021.
- [ZL23] Nan Zhang and Yongsheng Li. Receptor tyrosine kinases : biological functions and anticancer targeted therapy. *MedComm*, 4(6) :e446, 2023.
- [ZTS09] Haizhen Zhong, Ly M Tran, and Jenna L Stang. Induced-fit docking studies of the active and inactive states of protein tyrosine kinases. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 28(4) :336–346, 2009.