

**UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER  
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

ANNEE : 2015

THESE 2015 / TOU3 / 2089

**THESE**

**POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

Présentée et soutenue publiquement  
par

Marie-Noëlle PALUDETTO

**Inhibiteurs de Tyrosine Kinases :  
relations structure-activité, voies métaboliques et  
implications pharmacologiques des métabolites**

21/10/2015

Directeur de thèse : Dr. Cécile ARELLANO

**JURY**

Président : Pr. Pierre VERHAEGHE, PU, Toulouse  
1<sup>er</sup> assesseur : Dr. Cécile ARELLANO, MCU, Toulouse  
2<sup>ème</sup> assesseur : Dr. Jean-Marie CANONGE, PH, Toulouse  
3<sup>ème</sup> assesseur : Dr. Florent PUISSET, MCU-PH, Toulouse  
4<sup>ème</sup> assesseur : Pr. Dominique BREILH, PU-PH, Bordeaux

**PERSONNEL ENSEIGNANT**  
de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier  
au 1<sup>er</sup> octobre 2015

**Professeurs Émérites**

M. BASTIDE R.	Pharmacie Clinique
M. BERNADOU J.	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G.	Physiologie
M. CHAVANT L.	Mycologie
Mme FOURASTÉ I.	Pharmacognosie
M. MOULIS C.	Pharmacognosie
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire

**Professeurs des Universités**

**Hospitalo-Universitaires**

M. CHATELUT E.	Pharmacologie
M. FAVRE G.	Biochimie
M. HOUIN G.	Pharmacologie
M. PARINI A.	Physiologie
M. PASQUIER C. (Doyen)	Bactériologie - Virologie
Mme ROQUES C.	Bactériologie - Virologie
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie
Mme SALLERIN B.	Pharmacie Clinique
M. SIÉ P.	Hématologie
M. VALENTIN A.	Parasitologie

**Universitaires**

Mme BARRE A.	Biologie
Mme BAZIARD G.	Chimie pharmaceutique
Mme BENDERBOUS S.	Mathématiques – Biostat.
M. BENOIST H.	Immunologie
Mme BERNARDES-GÉNISSON V.	Chimie thérapeutique
Mme COUDERC B.	Biochimie
M. CUSSAC D. (Vice-Doyen)	Physiologie
Mme DOISNEAU-SIXOU S.	Biochimie
M. FABRE N.	Pharmacognosie
M. GAIRIN J-E.	Pharmacologie
Mme MULLER-STAUTMONT C.	Toxicologie - Sémiologie
Mme NEPVEU F.	Chimie analytique
M. SALLES B.	Toxicologie
M. SÉGUI B.	Biologie Cellulaire
M. SOUCHARD J-P.	Chimie analytique
Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique
M. VERHAEGHE P.	Chimie Thérapeutique

## Maitres de Conférences des Universités

### Hospitalo-Universitaires

M. CESTAC P	Pharmacie Clinique
Mme GANDIA-MAILLY P (*)	Pharmacologie
Mme JUILLARD-CONDAT B	Droit Pharmaceutique
M. PUISSET F	Pharmacie Clinique
Mme SÉRONIE-VIVIEN S	Biochimie
Mme THOMAS F	Pharmacologie

### Universitaires

Mme ARÉLLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme AUTHIER H	Parasitologie
M. BERGÉ M. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme BON C	Biophysique
M. BOUJILA J (*)	Chimie analytique
Mme BOUTET E	Toxicologie - Sémiologie
M. BROUILLET F	Pharmacie Galénique
Mme CABOU C	Physiologie
Mme CAZALBOU S (*)	Pharmacie Galénique
Mme CHAPUY-REGAUD S	Bactériologie - Virologie
Mme COSTE A (*)	Parasitologie
M. DELCOURT N	Biochimie
Mme DERAËVE C	Chimie Thérapeutique
Mme ÉCHINARD-DOUIN V	Physiologie
Mme EL GARAH F	Chimie Pharmaceutique
Mme EL HAGE S	Chimie Pharmaceutique
Mme FALLONE F	Toxicologie
Mme FERNANDEZ-VIDAL A	Toxicologie
Mme GIROD-FULLANA S (*)	Pharmacie Galénique
Mme HALOVA-LAJOIE B	Chimie Pharmaceutique
Mme JOUANJUS E	Pharmacologie
Mme LAJOIE-MAZENC I	Biochimie
Mme LEFEVRE L	Physiologie
Mme LE LAMER A-C	Pharmacognosie
M. LEMARIE A	Biochimie
M. MARTI G	Pharmacognosie
Mme MIREY G (*)	Toxicologie
Mme MONTFERRAN S	Biochimie
M. Olichon A	Biochimie
M. PERE D	Pharmacognosie
Mme PORTHE G	Immunologie
Mme REYBIER-VUATTOUX K (*)	Chimie Analytique
M. Sainte-Marie Y	Physiologie
M. Stigliani J-L	Chimie Pharmaceutique
M. SUDOR J	Chimie Analytique
Mme TERRISSE A-D	Hématologie
Mme TOURRETTE A	Pharmacie Galénique
Mme VANSTEELANDT M	Pharmacognosie
Mme WHITE-KONING M	Mathématiques

(\*) titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

## Enseignants non titulaires

### Assistants Hospitalo-Universitaires

Mme COOL C	Physiologie
Mme FONTAN C	Biophysique
Mme KELLER L	Biochimie
Mme PALUDETTO M.N (**)	Chimie thérapeutique
M. PÉRES M.	Immunologie
Mme ROUCH L	Pharmacie Clinique
Mme ROUZAUD-LABORDE C	Pharmacie Clinique

(\*\*) Nomination au 1<sup>er</sup> novembre 2015

# Remerciements

---

**A ma directrice de thèse, Mme le Docteur Cécile Arellano,**

Je vous remercie d'avoir accepté d'encadrer mon travail, de m'avoir beaucoup aidée et soutenue pour la rédaction du manuscrit tout comme pour la réalisation des figures. Veuillez trouver ici l'expression de ma profonde gratitude.

**A M. le Professeur Pierre Verhaeghe,**

Je vous remercie de m'avoir fait l'honneur d'accepter d'assurer la présidence du jury et d'évaluer mon travail.

**A Mme le Professeur Dominique Breilh,**

Je vous suis reconnaissante d'avoir bien voulu participer à mon jury de thèse.

**A M. le Docteur Jean-Marie Canonge,**

Je vous sais gré d'avoir accepté de siéger à mon jury et de l'intérêt que vous avez porté à mon travail.

**A M. le Docteur Florent Puisset,**

Je vous remercie de faire partie des membres de mon jury et de votre implication dans cette thèse. Merci de m'avoir accordé du temps pour y travailler.

**A Mme le Professeur Vania Bernardes-Genisson, M. le Professeur Pierre Verhaeghe, Mme le Docteur Céline Deraeve,**

Je vous remercie de m'accueillir dans votre service et de m'avoir donné les outils informatiques grâce auxquels les figures ont été réalisées.

**A M. le Professeur Etienne Chatelut,**

Je vous remercie de m'avoir accueillie au sein de votre laboratoire et de m'avoir guidée tout au long de la réalisation de cette thèse.

**A tous les pharmaciens et internes en pharmacie de l'IUCT-Oncopole,**

Merci de m'avoir soutenue et dégagé du temps pour travailler à cette thèse.

**A toute ma famille,**

Merci pour votre infaillible soutien et tous vos encouragements.

# Table des Matières

---

Introduction .....	10
Partie I : Les tyrosine kinases et leurs inhibiteurs.....	12
I. Les tyrosine kinases.....	12
A. Structure.....	13
B. Mécanismes d'activation .....	15
C. Implication dans l'oncogenèse .....	19
II. Les inhibiteurs de tyrosine kinases .....	21
A. Mécanisme d'action.....	22
B. Pharmacodynamie et relations structure-activité .....	25
C. Propriétés pharmacocinétiques .....	43
Partie II : Implications pharmacologiques des métabolites des ITK.....	61
I. Métabolites réactifs des ITK.....	61
II. Métabolites et réponse aux ITK.....	76
A. Métabolites plasmatiques.....	76
B. Métabolites tumoraux .....	81
Conclusion .....	85
Bibliographie.....	86

# Table des Figures

---

Figure 1 : Mécanisme d'activation des RTK, d'après Blume-Jensen <i>et al</i> (12).....	16
Figure 2 : Conformations active (A) et inactive (B) du domaine kinase de la kinase Abl, d'après Roskoski (10) .....	17
Figure 3 : Mécanisme d'activation des tyrosine kinases non membranaires sous l'effet d'interactions protéine-protéine, d'après Blume-Jensen <i>et al</i> (12).....	19
Figure 4 : Modes de liaison des inhibiteurs compétitifs de l'ATP, d'après Zhang <i>et al</i> (8) .....	24
Figure 5 : Mode de liaison de l'imatinib à Bcr-Abl, d'après Wu <i>et al</i> (15) .....	26
Figure 6 : Mode de liaison du dasatinib à Bcr-Abl, d'après Wu <i>et al</i> (15) .....	29
Figure 7 : Mode de liaison du nilotinib à Bcr-Abl, d'après Wu <i>et al</i> (15) .....	31
Figure 8 : Mode de liaison de l'erlotinib à l'EGFR, d'après Wu <i>et al</i> (15).....	34
Figure 9 : Mode de liaison du gefitinib à l'EGFR, d'après Wu <i>et al</i> (15).....	35
Figure 10 : Mode de liaison du lapatinib à l'EGFR, d'après Wu <i>et al</i> (15).....	36
Figure 11 : Mode de liaison du sunitinib à VEGFR2, d'après Wu <i>et al</i> (15) .....	39
Figure 12 : Mode de liaison du sorafenib à VEGFR2, d'après Wu <i>et al</i> (15).....	40
Figure 13 : Mode de liaison du pazopanib à VEGFR2, d'après Wu <i>et al</i> (15).....	43
Figure 14 : Principales voies métaboliques de l'imatinib, d'après Marull et Rochat (54) .....	44
Figure 15 : Principales voies métaboliques du dasatinib, d'après Christopher <i>et al</i> (62) .....	46
Figure 16 : Principales voies métaboliques du nilotinib (68) .....	47
Figure 17 : Principales voies métaboliques de l'erlotinib, d'après Ling <i>et al</i> (71).....	49
Figure 18 : Principales voies métaboliques du gefitinib, d'après McKillop <i>et al</i> (76, 77) .....	50
Figure 19 : Voies métaboliques du lapatinib, d'après Castellino <i>et al</i> (83) .....	53
Figure 20 : Métabolisme du lapatinib : mécanisme de transformation du furane en pyridine, d'après Castellino <i>et al</i> (83) .....	53
Figure 21 : Principales voies métaboliques du sunitinib, d'après Speed <i>et al</i> (84) ...	55
Figure 22 : Principales voies métaboliques du sorafenib, d'après Ghassabian <i>et al</i> (86) .....	56

Figure 23 : Principales voies métaboliques du pazopanib, d'après Deng <i>et al</i> (91) .	57
Figure 24 : Exemples de réactions de piégeage de métabolites réactifs.....	62
Figure 25 : Formation d'adduits cyanure sur l'imatinib et le <i>N</i> -desméthylimatinib, d'après Li <i>et al</i> (98) .....	64
Figure 26 : Formation d'adduits au glutathion sur le dasatinib, d'après Li <i>et al</i> (63) .	67
Figure 27 : Formation d'adduits au glutathion sur l'erlotinib, d'après Li <i>et al</i> (73).....	68
Figure 28 : Formation d'adduits au glutathion et à la méthoxylamine sur le gefitinib, d'après Li <i>et al</i> (79) et Liu <i>et al</i> (105).....	71

# Table des Tableaux

---

Tableau 1 : Principaux paramètres pharmacocinétiques des neufs premiers ITK commercialisés.....	59
Tableau 2 : Principales propriétés physico-chimiques des neufs premiers ITK commercialisés.....	60

# Liste des abréviations

---

AMM : Autorisation de mise sur le marché  
ATP : Adénosine triphosphate  
AUC : Aire sous la courbe des concentrations plasmatiques  
BCRP : Breast cancer resistance protein  
CHC : Carcinome hépatocellulaire  
 $C_{max}$  : Concentration maximale  
CYP : Cytochrome P450  
DCI : Dénomination commune internationale  
EGFR : Epidermal Growth Factor Receptor  
F : Biodisponibilité  
 $f_b$  : Fraction liée  
FDA : Food and drug administration  
FGFR : Fibroblast Growth Factor Receptor  
GIST : Gastro-intestinal stromal tumours  
GTP : Guanosine triphosphate  
HGFR : Hepatocyte Growth Factor Receptor  
ITK : Inhibiteurs de tyrosine kinase  
LMC : Leucémie myéloïde chronique  
NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate sous forme réduite  
PDGFR : Platelet-Derived Growth Factor Receptor  
P-gp : P-glycoprotéine  
PKC : Protéine kinase C  
PK-PD : Pharmacocinétique-pharmacodynamie  
PTB : Phospho-tyrosine binding  
RTK : Récepteur à activité tyrosine kinase  
SH2 : Src Homology 2  
SH3 : Src Homology 3  
STP : Suivi thérapeutique pharmacologique  
 $t_{1/2}$  : Demi-vie  
 $T_{max}$  : Temps au pic des concentrations plasmatiques  
UGT : UDP glucuronosyl transférase  
 $V_d/F$  : Volume de distribution apparent  
VEGFR : Vascular Endothelial Growth Factor Receptor

# Introduction

---

Les progrès réalisés au cours de la seconde moitié du XX<sup>ème</sup> siècle dans la compréhension des mécanismes de l'oncogenèse ont contribué au développement de l'arsenal chimiothérapeutique oncologique et notamment à l'émergence de la classe des thérapies ciblées. Contrairement aux chimiothérapies cytotoxiques, ces médicaments anticancéreux ciblent des anomalies moléculaires présentes au niveau des cellules tumorales et de leur microenvironnement, notamment des kinases présentes au sein des voies de signalisation impliquées dans l'oncogenèse. Parmi les thérapies ciblées, les inhibiteurs de tyrosine kinases (ITK) bloquent l'activation de ces voies de signalisation en se fixant au niveau du site actif de protéines membranaires ou non membranaires à activité enzymatique tyrosine kinase. Ils sont indiqués dans le traitement de nombreux cancers tels que les cancers du poumon, du sein, du rein, les carcinomes hépatocellulaire (CHC) et la Leucémie Myéloïde Chronique (LMC), entre autres. Les ITK sont des molécules de faible poids moléculaire issues de l'optimisation chimique de composés découverts par screening à haut débit dans les années 1990. Ils possèdent des caractéristiques physico-chimiques favorables à leur administration par voie orale, sont très fortement métabolisés au niveau hépatique par les cytochromes P450 (CYP) et présentent une large variabilité pharmacocinétique interindividuelle. Les ITK s'administrent en continu par voie orale, ce qui favorise la survenue d'interactions médicamenteuses d'ordre pharmacocinétique et de problèmes d'observance responsables d'une perte d'efficacité. Bien qu'étant globalement relativement bien tolérés, les ITK sont à l'origine d'effets indésirables de bas grade dont le caractère chronique contribue à réduire la compliance et sont fréquemment responsables d'effets indésirables hépatiques. Les ITK étant fortement métabolisés au niveau du foie en métabolites parfois actifs, parfois présents à fortes concentrations dans le compartiment plasmatique, on peut se demander quels rôles jouent ces métabolites dans leur activité et leur profil de toxicité. Pour répondre à cette question, nous avons effectué des recherches bibliographiques approfondies sur les différentes implications pharmacologiques des métabolites des neufs premiers ITK mis sur le marché (imatinib, dasatinib, nilotinib, erlotinib, gefitinib, lapatinib, sunitinib, sorafenib

et pazopanib). Nous présenterons les résultats de ces recherches après avoir rappelé dans une première partie les relations structure-activité et propriétés pharmacocinétiques de ces neuf ITK ainsi que la structure, l'activité et le rôle de leurs kinases cibles.

# Partie I : Les tyrosine kinases et leurs inhibiteurs

## I. Les tyrosine kinases

Les kinases sont des protéines à activité enzymatique phosphotransférase : elles catalysent des réactions de phosphorylation c'est-à-dire le transfert du groupement phosphate en  $\gamma$  d'une molécule d'ATP (ou plus rarement du GTP) sur un substrat glucidique, lipidique, protéique ou nucléotidique. Les kinases phosphorylant des protéines ou protéines kinases constituent une des plus grandes superfamilles de protéines : 518 gènes de protéines kinases ont été identifiés dans le génome humain (1). Elles peuvent être classées selon la nature de l'acide aminé qu'elles phosphorylent, selon leur localisation subcellulaire, leur structure et leur séquence. On distingue ainsi les tyrosine kinases et les sérine/thréonine kinases. Les tyrosine kinases, comme leur nom l'indique, phosphorylent le groupement hydroxyle de certains résidus tyrosine présents au sein de séquences particulières sur des substrats protéiques. Elles constituent une grande famille codée par 90 gènes, comportant 58 kinases membranaires ou récepteurs à activité tyrosine kinase (RTK) répartis en 20 sous-familles et 32 kinases non membranaires, cytoplasmiques et/ou nucléaires, réparties en 10 sous-familles (2). Les tyrosine kinases permettent d'intégrer les cellules à leur environnement : les RTK participent à la transduction de signaux extracellulaires qui sont transmis jusqu'au noyau par les protéines des voies de signalisation dont font partie les tyrosine kinases non membranaires. Les tyrosine kinases sont impliquées dans de nombreux processus cellulaires fondamentaux tels que le métabolisme, le contrôle du cycle cellulaire, la transcription, la mitogenèse, la prolifération et la différenciation cellulaire, l'apoptose, l'angiogenèse, la migration cellulaire... Leur activité est donc hautement régulée par de nombreux mécanismes dont le contrôle des transitions entre les conformations active et inactive de l'enzyme. La dérégulation du fonctionnement des tyrosine kinases étant responsable du développement de nombreux cancers, elles sont apparues comme des cibles majeures dans le domaine de l'oncologie.

## A. Structure

### 1. Récepteurs à activité tyrosine kinase

Le groupe des RTK rassemble une soixantaine de membres, dont font partie les récepteurs de nombreux facteurs de croissance tels que l'Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR), le Fibroblast Growth Factor Receptor (FGFR), le Platelet-Derived Growth Factor Receptor (PDGFR) et le Vascular Endothelial Growth Factor Receptor (VEGFR). Les RTK sont des glycoprotéines constituées d'une portion extracellulaire contenant le site de liaison d'un ligand polypeptidique, d'une hélice transmembranaire et d'une portion intracellulaire siège de l'activité catalytique (3). La plupart des RTK ne comportent qu'une seule chaîne polypeptidique à l'exception des récepteurs de la famille des récepteurs à l'insuline et de la famille de l'Hepatocyte Growth Factor Receptor (HGFR) qui sont respectivement constitués de quatre et deux chaînes polypeptidiques (3). La portion extracellulaire varie énormément d'un RTK à l'autre. Elle contient plusieurs domaines tels que des domaines riches en cystéine, riches en leucine, des domaines de type Immunoglobuline-like, EGF-like et Fibronectine III-like, dont la combinaison est à l'origine de la spécificité de l'interaction ligand-récepteur (3,4). La portion intracellulaire des RTK est subdivisée en trois parties : la région juxtamembranaire, le domaine kinase et l'extrémité C-terminale. La région juxtamembranaire, située entre l'hélice transmembranaire et le domaine kinase, n'est pas très conservée au sein du groupe des RTK, mais de nombreuses homologies de séquence sont observées à l'intérieur d'une même famille de récepteurs (4). Elle est principalement impliquée dans la régulation de l'activation des RTK, mais peut également jouer un rôle dans la signalisation cellulaire (3,4).

Le domaine kinase est le domaine le plus conservé entre les membres du groupe des RTK aussi bien en termes de séquence qu'en termes de conformation (4). Son architecture est également très similaire à celle du domaine kinase des sérine/thréonine kinases (3). Cette séquence d'environ 250 à 300 acides aminés est organisée en deux lobes séparés par une région charnière très mobile : un petit lobe contenant cinq feuillets  $\beta$  et une hélice  $\alpha$  à l'extrémité N-terminale et un grand lobe constitué principalement d'hélices  $\alpha$  à l'extrémité C-terminale (3,5–7). Le site actif,

situé entre les deux lobes au niveau de la région charnière, est formé de plusieurs segments polypeptidiques non contigus (6) :

- le site de fixation de l'ATP ou « P-loop » au niveau du lobe N-terminal

Il comporte un motif hautement conservé riche en glycine ( $GxGx\phi G$ , où  $\phi$  est le plus souvent un résidu tyrosine ou phénylalanine), impliqué dans le positionnement de l'ATP entre les deux lobes (3,5). L'adénine établit trois liaisons hydrogène avec des acides aminés présents au niveau de la région charnière (8). Le ribose et les trois groupements phosphate s'étendent vers le site de fixation du substrat et se logent dans un canal hydrophile présentant des résidus fondamentaux pour la catalyse ainsi que deux résidus lysine et glutamate liant les phosphates  $\alpha$  et  $\beta$  (3,5,8). Un résidu d'acide aminé présent au niveau de la région charnière, dit résidu « gatekeeper », contrôle l'accessibilité à deux cavités hydrophobes adjacentes au site de fixation de l'adénine grâce à la taille de sa chaîne latérale.

- la boucle d'activation ou « A-loop » au niveau du lobe C-terminal

Elle comporte deux motifs hautement conservés aspartate-phénylalanine-glycine (DFG) et alanine-proline-glutamate (APE), respectivement au début et à la fin de la boucle, et un à trois résidus tyrosine phosphorylables. Le résidu aspartate est particulièrement important pour la coordination et le positionnement du cofacteur  $Mg^{2+}$  ou  $Mn^{2+}$  à proximité de l'ATP et des résidus impliqués dans la catalyse (3,5,6). Elle joue un rôle fondamental dans la régulation de l'activité catalytique par l'intermédiaire de son positionnement : elle n'occupe pas le même emplacement selon que l'enzyme est en conformation active ou inactive.

- la boucle à activité catalytique au niveau du lobe C-terminal

Elle contient un motif hautement conservé histidine-arginine-aspartate (HRD). Le résidu aspartate est la base qui accepte le proton issu de l'attaque nucléophile du phosphate en  $\gamma$  de l'ATP par le groupement hydroxyle de la tyrosine (3,5).

- le site de fixation du substrat protéique au niveau du lobe C-terminal.

Certains RTK, comme les récepteurs de la famille de PDGFR, disposent dans leur domaine kinase d'un insert d'une centaine d'acides aminés contenant des résidus tyrosine (3,9).

L'extrémité C-terminale est la séquence qui varie le plus entre les RTK, en termes de séquence et de longueur. Elle a des activités régulatrices aussi bien que des

activités de signalisation. La région juxtamembranaire, l'insert dans le domaine kinase et l'extrémité C-terminale possèdent des résidus tyrosine qui servent, après autophosphorylation, à recruter les protéines des voies de signalisation qui possèdent des domaines d'interaction avec les phospho-tyrosines (domaines Phospho-Tyrosine Binding (PTB) et Src Homology 2 (SH2)) (3,4,7,9).

## **2. Tyrosine kinases non membranaires**

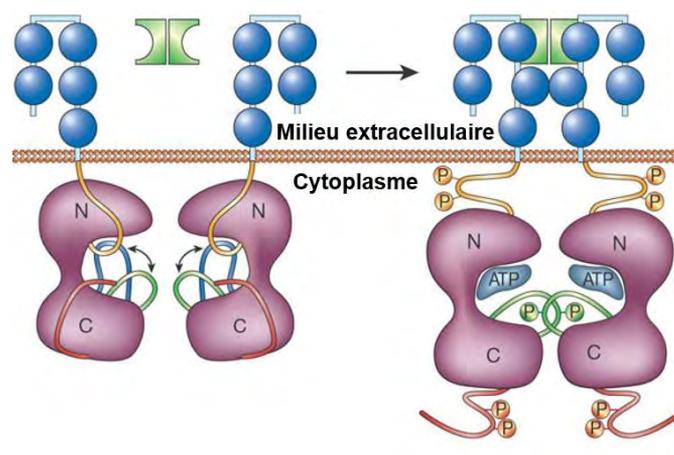
Le groupe des tyrosine kinases non membranaires rassemble une trentaine de membres parmi lesquels on retrouve entre autres les kinases des familles SRC, JAK et ABL. Elles ne comportent ni domaine extracellulaire, ni hélice transmembranaire et sont pour la plupart localisées dans le cytoplasme au sein des voies de signalisation. Certaines sont toutefois ancrées à la membrane plasmique par des modifications post-traductionnelles des résidus d'acides aminés terminaux (myristoylation ou palmitoylation). Outre le domaine kinase dont la structure est la même que celui des RTK, elles sont constituées de domaines impliqués dans des interactions protéine-protéine, protéine-lipide et protéine-nucléotide. Les principaux domaines d'interaction protéine-protéine sont de type SH2 et Src Homology 3 (SH3) : SH2 interagit avec les phospho-tyrosines présentes au sein de séquences particulières alors que SH3 interagit avec des séquences riches en proline. La kinase Abl par exemple contient un domaine kinase, des domaines SH2 et SH3, un signal de localisation nucléaire, un domaine de liaison à l'ADN et un domaine de liaison à l'actine (3).

## **B. Mécanismes d'activation**

### **1. Récepteurs à activité tyrosine kinase**

En l'absence de ligand, la plupart des RTK sont présents à la surface cellulaire sous forme de monomères inactifs, c'est-à-dire ayant une activité catalytique intrinsèque très faible (3,7), à l'exception des récepteurs de la famille de l'EGFR qui existent sous forme prédimérisée inactive (9). L'inactivité des récepteurs est la conséquence d'interactions intramonomériques qui stabilisent le positionnement des résidus du

site actif dans une conformation défavorable à la catalyse (3). Cette auto-inhibition de l'activité catalytique implique la boucle d'activation du domaine kinase, la région juxtamembranaire et l'extrémité C-terminale (6). La boucle d'activation est orientée vers la boucle à activité catalytique et le site de fixation du substrat, le résidu phénylalanine du motif DFG pointant vers l'intérieur du site actif, le résidu aspartate s'étendant vers l'extérieur (10). Dans cette conformation dite inactive ou DFG-out, la boucle d'activation révèle une cavité hydrophobe allostérique aux résidus peu conservés et empêche les deux lobes du domaine kinase de pivoter sur l'axe de la région charnière pour se rapprocher, bloquant ainsi l'accès aux sites de liaison de l'ATP et/ou du substrat (3,7). La région juxtamembranaire maintient la boucle d'activation dans la conformation inactive en interagissant avec les deux lobes du domaine kinase. L'extrémité C-terminale obstrue le site actif en se repliant en direction du site de fixation du substrat (6). L'activation d'un RTK, déclenchée par la liaison d'un ligand, correspond à l'augmentation de l'activité catalytique et à l'apparition de sites d'interaction avec les protéines des voies de signalisation sous l'effet de la phosphorylation de certains résidus tyrosine du récepteur (7). La liaison du ligand au niveau de la portion extracellulaire entraîne l'homodimérisation, l'hétérodimérisation ou l'oligomérisation des RTK (Figure 1).



**Figure 1** : Mécanisme d'activation des RTK, d'après Blume-Jensen *et al* (12)  
 Les deux lobes du domaine kinase sont représentés en violet, la région juxta-membranaire en orange, l'extrémité C-terminale en rouge et la boucle d'activation en bleu et vert selon sa conformation.

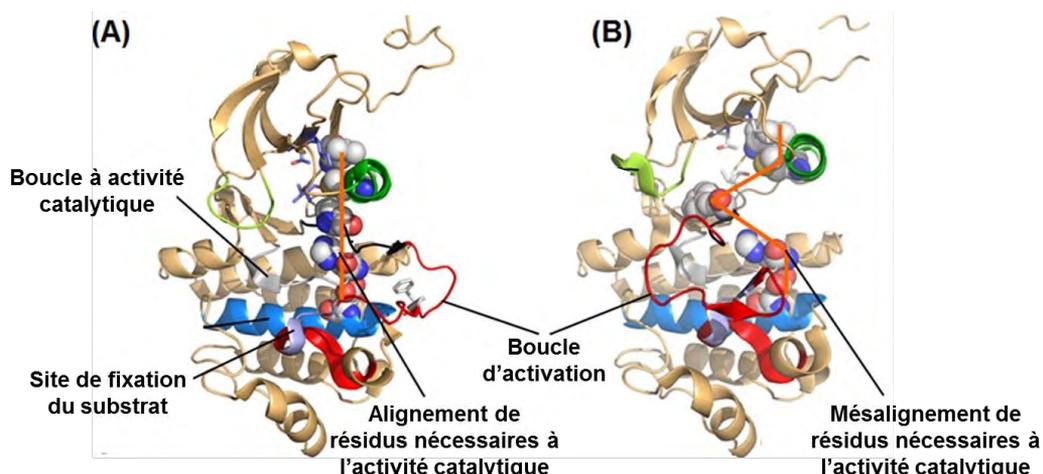
La juxtaposition de leurs portions intracellulaires facilite la trans-autophosphorylation (phosphorylation entre monomères) de plusieurs résidus tyrosine présents au niveau (9) :

- d'une part de la région juxtamembranaire et de l'extrémité C-terminale

Ces phosphorylations perturbent les interactions régulatrices intramonomériques établies avec le domaine kinase (6). Il s'ensuit des modifications conformationnelles responsables d'une levée de l'auto-inhibition exercée sur le domaine kinase.

- d'autre part de la boucle d'activation du domaine kinase

Ces phosphorylations provoquent le déplacement de la boucle d'activation vers l'extérieur du site actif, le résidu aspartate du motif DFG pointant vers l'intérieur et le résidu phénylalanine s'étendant vers l'extérieur (Figure 1) (10). Les deux lobes du domaine kinase peuvent alors pivoter de part et d'autre de la région charnière pour s'ajuster autour du site actif ainsi dégagé. Les résidus impliqués dans la catalyse et la fixation du substrat et de l'ATP sont repositionnés dans une conformation dite active ou DFG-in favorable à l'activité catalytique (Figure 2). Cette conformation est stabilisée par de nouvelles interactions impliquant les phospho-tyrosines (3,6,7). Le domaine kinase est alors capable de trans-autophosphoryler des résidus tyrosine essentiellement au niveau de l'extrémité C-terminale pour permettre des interactions avec les protéines des voies de signalisation.



**Figure 2 :** Conformations active (A) et inactive (B) du domaine kinase de la kinase Abl, d'après Roskoski (10)

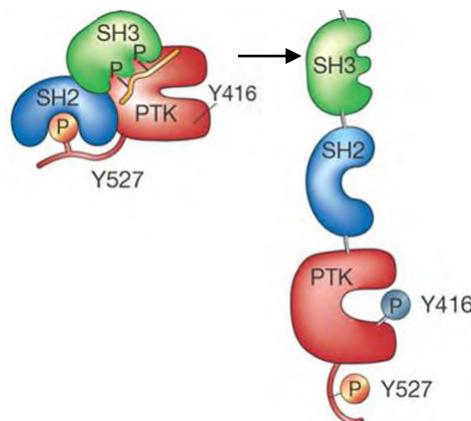
Contrairement aux autres sites d'autophosphorylation, la boucle d'activation ne peut pas être autophosphorylée au sein d'un récepteur monomérique du fait de contraintes stériques. C'est pourquoi son repliement vers l'intérieur du site actif consiste bien en un mécanisme d'auto-inhibition par obstruction de ce dernier et non en un mécanisme d'activation (7). L'activation requiert donc le regroupement des monomères en dimères ou oligomères selon le mode d'association des portions intracellulaires. Lorsqu'elles sont associées de façon transitoire, tous les résidus tyrosine peuvent être trans-autophosphorylés au sein de dimères ; lorsqu'elles forment des complexes plus stables, les résidus tyrosine proches du domaine kinase, du fait de contraintes stériques existant au sein des dimères, ne peuvent être trans-autophosphorylés qu'après oligomérisation (3).

L'activation des récepteurs de la famille de l'EGFR ne suit pas le schéma classique d'activation des RTK. En effet, elle n'est pas liée à la phosphorylation de la boucle d'activation, bien que des résidus tyrosine y soient présents, mais à un mécanisme allostérique impliquant l'interaction au sein d'un dimère de récepteurs entre le lobe C-terminal du domaine kinase d'un monomère et le lobe N-terminal du domaine kinase de l'autre monomère (7,9). Contrairement aux autres RTK, la région juxtamembranaire de cette famille de récepteurs pourrait favoriser l'activation allostérique du domaine kinase par le biais d'interactions entre la région juxtamembranaire d'un monomère et la région juxtamembranaire et le lobe C-terminal de l'autre monomère (11).

## **2. Tyrosine kinases non membranaires**

Les tyrosine kinases non membranaires sont maintenues à l'état inactif en l'absence d'interaction protéine-protéine par des interactions auto-inhibitrices intramoléculaires (Figure 3). Dans le cas de la kinase Abl par exemple, deux mécanismes maintiennent une conformation inactive : l'interaction de 80 résidus présents à l'extrémité N-terminale avec le domaine SH3 et le lobe N-terminal du domaine kinase et le positionnement de la boucle d'activation à proximité de la boucle à activité catalytique de sorte qu'elle joue le rôle d'un pseudo-substrat qui obstrue l'entrée du site actif (6). La régulation négative d'Abl passe aussi par l'interaction du domaine SH3 avec une protéine inhibitrice cellulaire (3,6).

L'activation des tyrosine kinases non membranaires correspond à la stimulation de l'activité catalytique *via* la trans-phosphorylation de la boucle d'activation sous l'effet d'interactions protéine-protéine impliquant d'autres tyrosine kinases non membranaires et des protéines possédant des résidus phospho-tyrosine et/ou des séquences poly-proline. Ces dernières interagissent avec les domaines SH2 et SH3 et lèvent ainsi l'auto-inhibition de l'activité catalytique (Figure 3) (3,6). L'activation de Bcr-Abl passe par la trans-autophosphorylation du domaine kinase au sein d'homooligomères (12). La phosphorylation à l'extérieur du domaine kinase peut réguler négativement l'activité catalytique (3).



**Figure 3** : Mécanisme d'activation des tyrosine kinases non membranaires sous l'effet d'interactions protéine-protéine, d'après Blume-Jensen *et al* (12)

### C. Implication dans l'oncogénèse

Les tyrosine kinases interviennent dans de nombreux processus cellulaires fondamentaux tels que le contrôle du cycle cellulaire, la mitogenèse, la prolifération et la différenciation cellulaire, l'apoptose, l'angiogenèse... par le biais de leur activité de phosphorylation qui permet de modifier très rapidement la conformation, la stabilité, l'activité, la localisation subcellulaire et les interactions des protéines. La surexpression et la dérégulation de l'activité de ces kinases perturbent la signalisation cellulaire et participent au développement tumoral. Les tyrosine kinases sont en effet surreprésentées au sein de l'important groupe d'oncogènes que constituent les protéines kinases, puisqu'elles correspondent à 20% des protéines kinases et aux deux tiers des protéines kinases impliquées dans le développement tumoral (12,13). Certaines tyrosine kinases comme les différentes isoformes du

VEGFR, dérégulées par l'activation de boucles autocrine-paracrine, favorisent le développement et le maintien des tumeurs dans l'organisme. D'autres tyrosine kinases codées par des gènes présentant des altérations génétiques participent à l'acquisition du phénotype tumoral. C'est le cas de l'EGFR dans les cancers ORL et bronchiques, HER2 dans les cancers du sein et de l'estomac, KIT dans les Gastro-Intestinal Stromal Tumors (GIST), Bcr-Abl dans les Leucémies Myéloïdes Chroniques (LMC)... (8). Les altérations génétiques affectant les gènes des tyrosine kinases sont des amplifications géniques et des mutations essentiellement dominantes et activatrices c'est-à-dire responsables d'un gain de fonction. L'amplification génique entraîne la surexpression des tyrosine kinases et donc l'augmentation des capacités de recrutement des protéines des voies de signalisation. La surexpression de HER2 est par exemple observée dans 30% des cancers du sein. Les mutations sont des substitutions, des insertions, des délétions de type faux sens, non-sens ou générant un décalage du cadre de lecture et des translocations chromosomiques (13). Elles peuvent survenir n'importe où dans la séquence, même si elles sont fréquemment observées au niveau du domaine kinase et des régions régulatrices, et sont responsables par différents mécanismes de l'activation constitutive des tyrosine kinases (*i.e.* activation en l'absence de ligand ou d'interaction protéine-protéine). Certaines mutations de la région juxtamembranaire de l'EGFR stabilisent les interactions qu'elle établit pour favoriser l'activation allostérique du domaine kinase (11). Certaines mutations du site de fixation du substrat de la kinase Ret modifient le spectre des substrats, leur assurent un accès au site actif en l'absence d'autophosphorylation de la boucle d'activation et stimulent l'activité kinase. Des mutations sont parfois observées au niveau de la portion extracellulaire ou de l'hélice transmembranaire des RTK : la mutation V664E du domaine transmembranaire de HER2 et la mutation d'une cystéine extracellulaire de Ret sont responsables d'une dimérisation constitutive, dans le second cas par formation de ponts dissulfure entre deux monomères (14). Les translocations chromosomiques apposent une partie de la séquence d'un gène au niveau de la séquence d'un autre gène et créent ainsi des gènes chimériques et des protéines de fusion. Les régions régulatrices de l'activité catalytique peuvent être perdues ou déstructurées au cours de ce processus, ce qui aboutit à l'activation constitutive des

tyrosine kinases par perte des mécanismes d'autorégulation (13). C'est ce qui survient lors de la translocation t(9,22) qui génère le chromosome Philadelphie caractéristique des LMC : la perte de l'extrémité N-terminale et du signal de localisation nucléaire d'Abl est responsable de la séquestration cytoplasmique et de l'activation constitutive de la protéine de fusion Bcr-Abl, anomalie moléculaire causale des LMC (12).

Les tyrosine kinases membranaires et non membranaires, par leurs implications dans les mécanismes de l'oncogénèse, constituent donc des cibles privilégiées pour le développement de médicaments anticancéreux d'un genre nouveau : des médicaments, regroupés dans la classe des thérapies dites ciblées, qui ciblent des anomalies moléculaires plus ou moins spécifiques des cellules tumorales et non pas l'ADN présent au niveau de l'ensemble des cellules de l'organisme.

## **II. Les inhibiteurs de tyrosine kinases**

Les inhibiteurs de tyrosine kinases (ITK) constituent avec les anticorps monoclonaux l'une des deux classes de thérapies ciblées. Contrairement aux anticorps, glycopeptides injectables de haut poids moléculaire ciblant essentiellement les domaines extracellulaires des RTK, les ITK sont de petites molécules hétérocycliques de faible poids moléculaire (400-600 g/mol), administrées par voie orale, ciblant le domaine kinase de tyrosine kinases membranaires et non membranaires. La classe des ITK s'est considérablement développée depuis la mise sur le marché de l'imatinib en 2001, puisque désormais 21 des 26 inhibiteurs de kinases autorisés par la FDA dans le domaine de l'oncologie sont des ITK (15). Ce développement sans précédent s'est accéléré au cours des dernières années, une quinzaine d'inhibiteurs ayant reçus une AMM au cours des quatre dernières années. Nous avons choisi de nous focaliser sur les 9 molécules les plus anciennes : imatinib, gefitinib, erlotinib, sorafenib, sunitinib, dasatinib, lapatinib et nilotinib pour lesquelles les données de la littérature sont plus développées.

## A. Mécanisme d'action

Les ITK traversent la membrane plasmique des cellules, par diffusion passive ou par le biais de transporteurs, avant de se fixer au niveau du domaine kinase de leurs protéines cibles. Selon différentes interactions, en fonction de leurs modes de liaison, ils bloquent l'activité de phosphorylation et par là même l'activation de la protéine et des voies de signalisation en aval. La plupart des inhibiteurs interagissent au niveau du site de fixation de l'ATP et non au niveau du site de fixation du substrat car la surface d'interaction disponible y est bien supérieure (6).

### 1. Inhibiteurs irréversibles

Les inhibiteurs irréversibles possèdent dans leur structure un groupement électrophile de type acrylamide capable de réagir *via* une addition de Michael avec le groupement thiol de résidus cystéine nucléophiles du domaine kinase pour établir une liaison covalente. Ils réagissent notamment avec un résidu cystéine présent au niveau de la région charnière, à proximité du site de liaison de l'ATP, condamnant ainsi l'accès du site actif à l'ATP. Bien qu'il soit attendu qu'ils disposent de meilleures affinités et puissances que les inhibiteurs réversibles, ils sont encore peu représentés au sein de la classe des ITK en raison des risques toxiques pouvant être associés à leur réactivité potentielle. En effet, mis à part deux molécules parmi les plus récentes (afatinib et ibrutinib), tous les ITK sont des inhibiteurs réversibles. Ils pourraient toutefois être développés à l'avenir, puisque environ 200 kinases disposent de résidus cystéine exposés au niveau de leur site actif (8).

### 2. Inhibiteurs réversibles

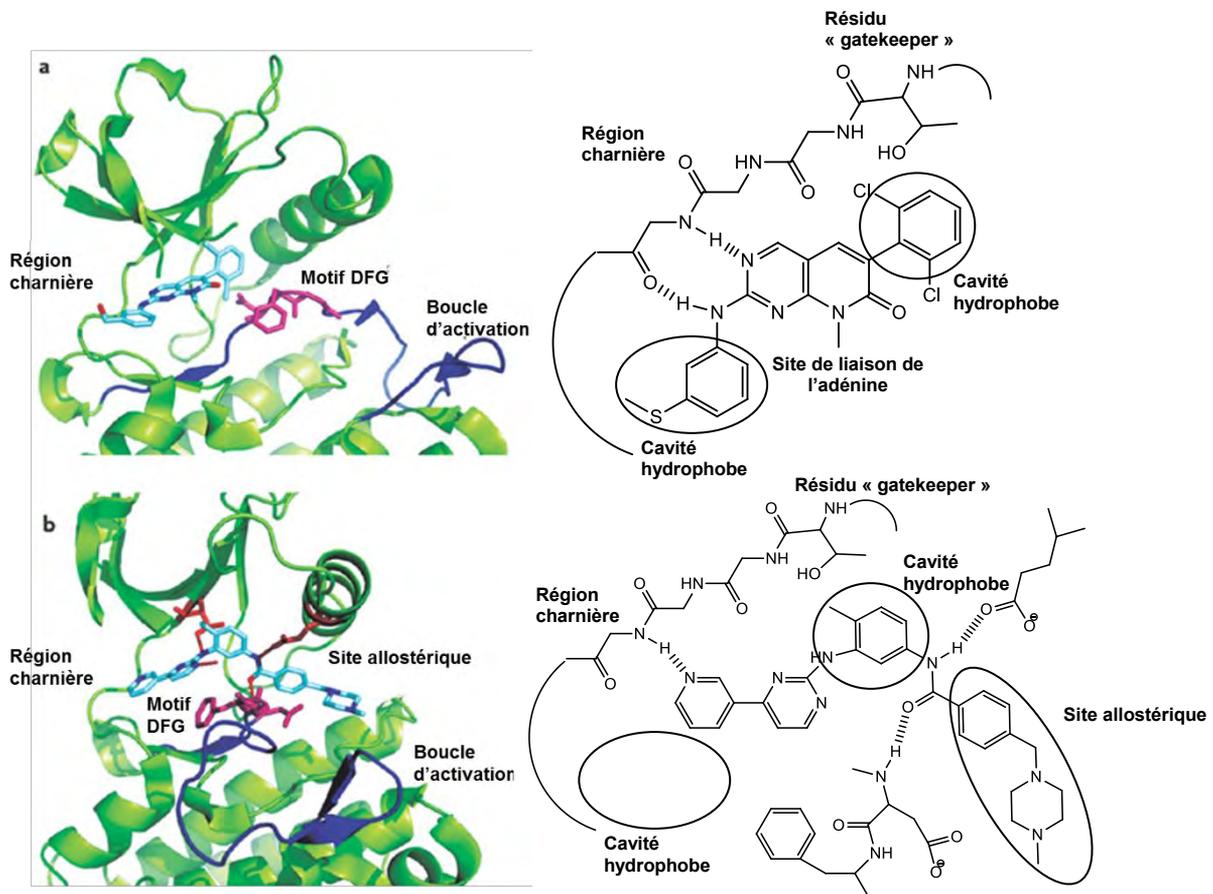
Ils sont de plusieurs types et appartiennent à deux grandes catégories selon leur site de liaison : les inhibiteurs compétitifs et les inhibiteurs allostériques (8,10). A ce jour, il n'existe sur le marché qu'une molécule, le lenvatinib, présentant plusieurs modes et/ou sites de liaison (inhibiteurs de type V) (15).

## 2. 1. Inhibiteurs compétitifs

Ils se lient dans le site actif de l'enzyme, au niveau du site de fixation de l'ATP avec lequel ils rentrent en compétition. Ils se fixent plus particulièrement à la place de l'adénine, sans généralement exploiter les sites de liaison du ribose et des groupements phosphate.

Les inhibiteurs de type I se lient à l'enzyme en conformation active, c'est-à-dire lorsque le résidu aspartate du motif DFG pointe vers l'intérieur du site actif et le résidu phénylalanine vers l'extérieur (DFG-in). Leur structure comporte généralement un noyau hétérocyclique azoté qui mime le noyau purine de l'adénine et établit une à trois liaisons hydrogène avec la région charnière et des chaînes latérales reposant au niveau de régions hydrophobes adjacentes (Figure 4). Le dasatinib, l'erlotinib et le gefitinib appartiennent à cette catégorie d'inhibiteurs (8,10).

Les inhibiteurs de type II, dont font partie l'imatinib, le nilotinib, le lapatinib, le sunitinib, le sorafenib et le pazopanib, se lient au niveau du site de fixation de l'adénine et au niveau d'une cavité hydrophobe adjacente, dite allostérique, révélée par le positionnement de la boucle d'activation lorsque l'enzyme est en conformation inactive ou DFG-out, c'est-à-dire lorsque le résidu aspartate du motif DFG est dirigé vers l'extérieur du site actif et le résidu phénylalanine vers l'intérieur. Leur structure comporte classiquement un noyau hétérocyclique qui, comme pour les inhibiteurs de type I, mime la purine de l'adénine et établit jusqu'à trois liaisons hydrogène avec la région charnière et un groupement hydrophobe interagissant avec la cavité hydrophobe par des interactions de Van der Waals. Ils forment par ailleurs une à deux liaisons avec des résidus conservés (aspartate du motif DFG et glutamate) généralement par le biais de groupements amide, urée ou d'hétéroatomes (O, N, S) (Figure 4) (8,10).



## 2. 2. Inhibiteurs allostériques

Ils se lient au niveau d'un site allostérique distinct du site de fixation de l'ATP. Ils n'interfèrent donc pas avec la liaison de l'ATP, mais entraînent des changements conformationnels qui rendent la kinase catalytiquement inactive. Les inhibiteurs de type III se fixent au niveau d'un site de liaison adjacent au site de fixation de l'ATP, alors que les inhibiteurs de type IV interagissent avec un site de liaison à distance du site de fixation de l'ATP. Parmi les 23 ITK sur le marché, il n'y a qu'un seul inhibiteur de type III, le tramétinib, et aucun inhibiteur de type IV.

La plupart des ITK réversibles sont des inhibiteurs compétitifs. Ces derniers doivent posséder certaines propriétés. Ils doivent être de suffisamment haute affinité pour pouvoir entrer en compétition avec les fortes concentrations intracellulaires d'ATP et être suffisamment sélectifs, malgré le caractère hautement conservé du domaine kinase (tout particulièrement en conformation active), pour ne cibler que quelques

kinases et éviter un large spectre d'effets indésirables. Bien qu'il existe une controverse au sujet de la supposée meilleure sélectivité des inhibiteurs de type II par rapport aux inhibiteurs de type I (basée sur leur affinité pour les résidus moins conservés de la cavité hydrophobe), il est probable que les inhibiteurs allostériques atteignent une plus grande sélectivité que les inhibiteurs compétitifs. Une limite de ces derniers est l'apparition de résistances liées à des mutations responsables de modifications de la séquence et de la conformation du domaine kinase. L'exemple le plus caractéristique est la survenue de mutations affectant le résidu dit « gatekeeper » (8). La mutation T315I de Bcr-Abl réduit drastiquement l'affinité de l'imatinib, du dasatinib et du nilotinib pour la kinase par encombrement stérique et perte d'une liaison hydrogène ; la mutation T790M réduit l'affinité de l'erlotinib et du géfitinib pour l'EGFR en augmentant l'affinité de la kinase pour l'ATP (8). Il est possible que la pression de sélection exercée par les inhibiteurs compétitifs en contact direct avec des séquences hautement conservées et régulées soit plus forte que celle exercée par les inhibiteurs allostériques.

## **B. Pharmacodynamie et relations structure-activité**

### **1. ITK ciblant Bcr-Abl et c-Kit**

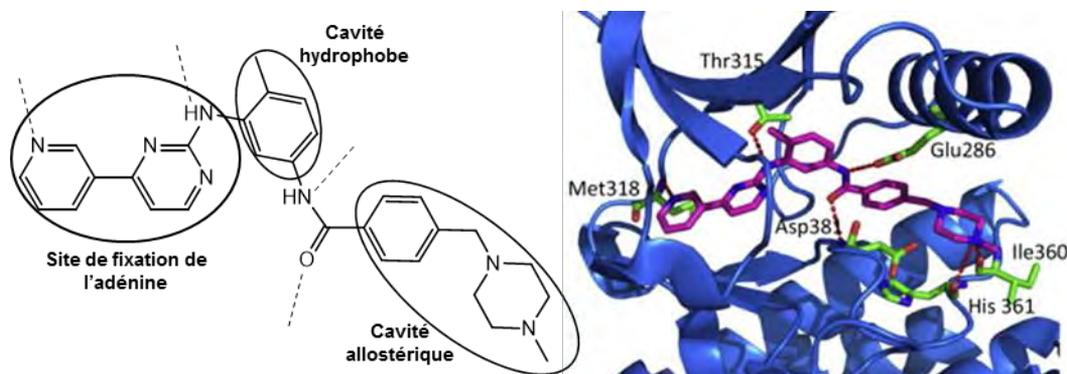
#### **Imatinib**

La structure de l'imatinib provient de l'optimisation chimique d'un motif 2-phénylaminopyrimidine, inhibiteur de faible spécificité et faible puissance de tyrosine et sérine/thréonine kinases issu d'un programme de recherche d'inhibiteurs de protéine kinase C (PKC) (16–18) :

- L'introduction d'un groupement pyridyle en position 3' de la pyrimidine augmente l'activité.
- La présence d'un groupement benzamide (l'azote de l'amide étant non substitué) en position 3 du phényle confère une activité inhibitrice vis-à-vis des tyrosine kinases, dont Bcr-Abl.
- La substitution en position 6 du phényle abolit complètement l'activité contre la PKC ; lorsque le substituant est un méthyle, l'activité contre les tyrosine kinases est de plus augmentée.

- La substitution en position 4 du benzamide par un petit groupement lipophile (méthyle ou chlore) est bénéfique à l'activité contre PDGFR.
- L'ajout d'une chaîne latérale polaire de type *N*-méthylpipérazine améliore la solubilité et donc la biodisponibilité.
- La présence d'un espaceur de type méthyle entre le benzamide et la chaîne latérale permet d'éviter le potentiel mutagène des anilines.

Ainsi est obtenu le 4-[(4-méthylpipérazin-1-yl)méthyl]-*N*-(4-méthyl-3-{[4-(pyridin-3-yl)pyrimidin-2-yl]amino}phényl)benzamide, STI571 ou imatinib (C<sub>29</sub>H<sub>31</sub>N<sub>7</sub>O, 493,6 g/mol). C'est un inhibiteur compétitif et sélectif de Bcr-Abl, PDGFR et c-Kit indiqué entre autres dans le traitement des LMC, des leucémies aigues lymphoïdes et des GIST (19). Il se lie à la conformation inactive de Bcr-Abl (Figure 5).



**Figure 5 :** Mode de liaison de l'imatinib à Bcr-Abl, d'après Wu *et al* (15)  
Les pointillés rouges et noirs représentent les liaisons hydrogène.

Dans cette conformation, le positionnement de la boucle d'activation est tel que le résidu Phe382 du motif DFG (et non le résidu Asp 381) est dirigé vers le site de liaison de l'ATP et la région autour de Tyr393 (site de phosphorylation activant la kinase, dans ce cas non phosphorylé) mime un substrat et bloque le site actif (20). L'imatinib est coudé au niveau de l'amine secondaire et enfourche la portion hautement conservée à l'extrémité N-terminale de la boucle d'activation. Mais à l'exception de cette portion, l'imatinib n'interagit pas directement avec elle (21). L'imatinib établit des relations avec 21 acides aminés, sous la forme de 6 liaisons hydrogène et d'une majorité d'interactions de Van der Waals (Figure 5) (20,21,15) :

- La pyridine et la pyrimidine, situées au niveau du site de fixation de l'adénine, établissent une liaison hydrogène avec le résidu Met318 de la région

charnière. La pyridine est insérée sous l'hélice  $\alpha$  du lobe N-terminal du domaine kinase.

- Le groupement tolyle occupe une cavité hydrophobe adjacente.
- L'amine secondaire située entre le groupement tolyle et la pyrimidine est engagée dans une liaison hydrogène avec le résidu « gatekeeper » Thr315.
- L'amide forme des liaisons hydrogène avec les résidus Glu286 et Asp381.
- Le groupement pipérazinyl-phényle est logé dans la cavité hydrophobe allostérique, l'amine de la pipérazine établissant des interactions de Van der Waals avec Val289, Phe359, Asp381 et des liaisons hydrogène avec Ile360 et His361.

L'imatinib ne peut se lier à la conformation active de Bcr-Abl car les résidus Asp381 et Leu384 de la boucle d'activation gênent la progression des noyaux phényle et pipérazine à l'intérieur du site actif (20).

Une fois lié, l'imatinib bloque l'hélice  $\alpha$  du lobe N-terminal et la boucle d'activation, prévenant un changement de conformation de la boucle d'activation (20). L'enzyme se replie alors autour de la molécule, avec un ajustement de la boucle de fixation de l'ATP, pour augmenter la surface de contact avec la pyridine et la pyrimidine, cette conformation étant maintenue en place par des liaisons hydrogène entre Tyr253 et Asn322. Un réseau de liaisons hydrogène impliquant Lys271, Glu286, Asp381, deux molécules d'eau et l'amide de l'imatinib, ainsi qu'un réseau d'interactions de Van der Waals impliquant Tyr253, Leu370, Phe382, Met290, Ile313 et les noyaux aromatiques de l'imatinib créent une surface d'interaction très importante et un ajustement serré de l'inhibiteur qui permettent peu de modifications structurales au niveau de l'inhibiteur (21).

L'imatinib se lie à la conformation inactive de c-Kit de façon assez similaire à sa liaison à Bcr-Abl. L'azote de la pyridine établit une liaison hydrogène avec Cys673 au niveau de la région charnière, l'amine secondaire avec le résidu « gatekeeper » Thr670, l'amide avec les résidus Glu640 et Asp810. Le phényle se situe entre les résidus Asp810, Glu640, Leu644. La pipérazine n'établit aucune interaction avec la protéine (22).

La résistance acquise à l'imatinib est majoritairement liée à l'apparition de mutations au niveau du domaine kinase (boucle de fixation de l'ATP, résidu « gatekeeper »,

boucle d'activation) et/ou moins fréquemment à l'extérieur du domaine kinase (au niveau de sites importants pour les mécanismes partiellement maintenus d'auto-inhibition) (19). Ces mutations se traduisent par la perte d'interactions entre la protéine et son inhibiteur et/ou par des modifications conformationnelles. Le niveau de résistance dépend du type de mutations et nécessite soit l'augmentation des doses de l'inhibiteur administré, soit le recours à un autre inhibiteur insensible à la mutation (23).

### Dasatinib

La structure du dasatinib provient de l'optimisation chimique d'un inhibiteur compétitif de faible puissance de type 2'-amino-4'-méthyl-*N*-(2,4,6-triméthylphényl)-thiazolecarboxamide de la tyrosine kinase Lck de la famille des Src kinases découvert au cours de screening à haut débit de bibliothèques chimiques (24,25) :

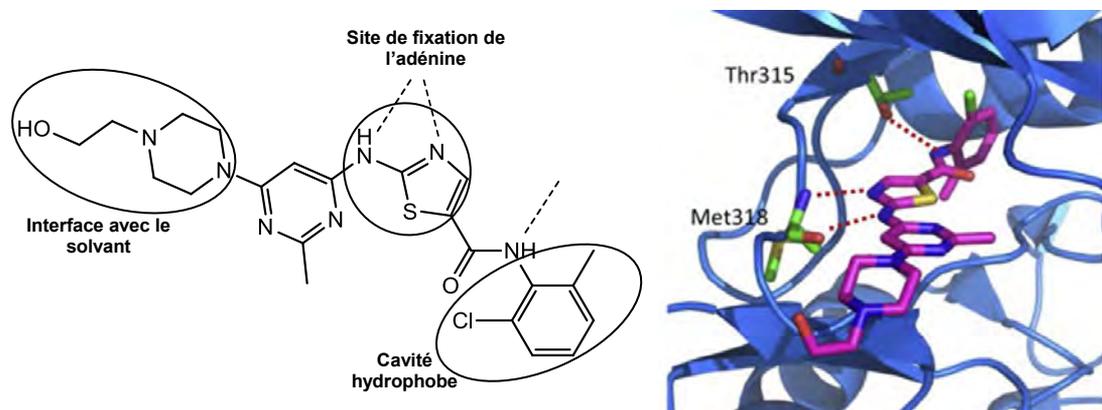
- La présence de petits substituants sur les deux positions *ortho* du groupement benzamide est nécessaire à l'activité. En effet, l'absence de substituants ou la présence de substituants encombrants se traduit par une importante perte d'activité. Ils participent probablement à l'orientation du cycle afin qu'il puisse se loger dans une étroite cavité hydrophobe du site actif.
- L'absence de substituants en position 4' du thiazole augmente l'activité.
- La dérivatisation de l'amine présente sur le thiazole améliore l'activité, en particulier lors de l'introduction de groupements aryle ou hétéroaryle, alors que des groupements encombrants la réduisent. L'introduction d'une méthylpyrimidine donne la meilleure activité.
- L'ajout d'une chaîne latérale polaire au noyau hétéroaromatique potentialise l'activité, les meilleurs résultats étant obtenus avec une 2-hydroxyéthyl-pipérazine sur la pyrimidine.

Les similarités structurales entre les domaines des Src kinases et le domaine de Bcr-Abl expliquent que l'optimisation chimique d'un inhibiteur de Lck permette de découvrir un puissant inhibiteur de Bcr-Abl et pan-inhibiteur de Src kinases : le *N*-(2-chloro-6-méthylphényl)-2-({6-[4-(2-hydroxyéthyl)pipérazin-1-yl]-2-méthylpyrimidin-4-yl}méthyl)-1,3-thiazole-5-carboxamide (C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>ClN<sub>7</sub>O<sub>2</sub>S, 488,01 g/mol) alias BMS-

354825 ou dasatinib (24). Le manque de sélectivité du dasatinib pour Bcr-Abl se révèle être un avantage pour inhiber la survie et la prolifération des cellules leucémiques (LMC et leucémies aiguës lymphoblastiques) puisque les Src kinases font partie des voies de signalisation en aval de Bcr-Abl (26).

Le dasatinib est un inhibiteur de type I. Il se lie à Bcr-Abl lorsque la boucle d'activation est en conformation active (Figure 6) (15,24,25,27) :

- La chaîne latérale polaire 4-hydroxyéthylpipérazine est à la surface de la protéine, exposée au solvant, et n'intervient pas dans les interactions entre l'inhibiteur et l'enzyme. La chaîne latérale est mobile et peut établir des interactions de type Van der Waals au niveau de la pipérazine et une liaison hydrogène entre l'hydroxyéthyle et Tyr320.
- La pyrimidine substituée est située dans une cavité hydrophobe étroite. Elle interagit avec la protéine sous la forme d'interactions de Van der Waals et d'interactions hétéroaromatiques de type  $\text{CH}\cdots\text{O}=\text{C}$  ( $\text{C}_5$  de la pyrimidine - Met318).
- L'aminothiazole occupe le site de liaison de l'adénine et forme des liaisons avec la région charnière : l'azote du thiazole et l'amine sont engagés dans des liaisons hydrogène avec Met318 et le  $\text{C}_4$  du thiazole dans des interactions hétéroaromatiques de type  $\text{CH}\cdots\text{O}=\text{C}$  avec Glu316.
- L'amide interagit avec le résidu « gatekeeper » Thr315 au travers d'une liaison hydrogène.
- Le motif 2-chloro-6-méthylphényle est situé dans une cavité hydrophobe proche du résidu « gatekeeper » Thr315 avec lequel il interagit. Il établit des interactions de Van der Waals avec la protéine.



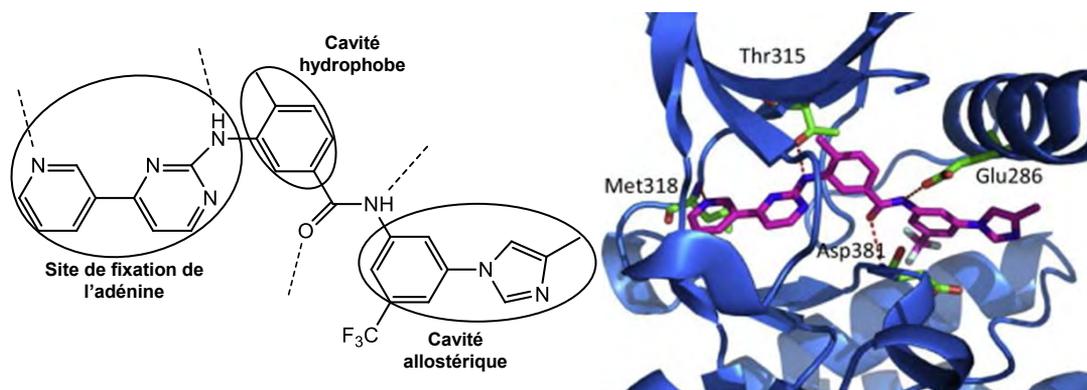
**Figure 6** : Mode de liaison du dasatinib à Bcr-Abl, d'après Wu *et al* (15)  
Les pointillés rouges et noirs représentent les liaisons hydrogène.

La comparaison des modes de liaison de l'imatinib et du dasatinib à Bcr-Abl permet d'expliquer les différences d'affinité et d'activité pour les formes sauvage et mutante. Si les noyaux centraux de l'imatinib et du dasatinib sont superposés, les chaînes latérales pointent dans des directions opposées (27). La boucle de fixation de l'ATP n'est pas essentielle à la fixation du dasatinib et ne se replie pas sur le dasatinib comme elle le fait sur l'imatinib (25,27). Cela explique que le dasatinib reste actif contre la plupart des mutants de la boucle de fixation de l'ATP qui sont résistants à l'imatinib. Le dasatinib conserve également une activité sur d'autres mutants de la boucle d'activation ou du lobe C-terminal résistants à l'imatinib car les résidus mutés sont impliqués dans la stabilisation de la conformation inactive. En revanche, le dasatinib n'a pas d'activité à l'encontre du mutant T315I du fait de l'encombrement stérique généré par l'isoleucine qui gêne la liaison du dasatinib et du fait de la perte d'une liaison hydrogène et d'une interaction de Van der Waals (27). De plus le dasatinib est un inhibiteur de type I, alors que l'imatinib est un inhibiteur de type II : la meilleure affinité du dasatinib est probablement liée au fait qu'une partie de l'énergie de liaison de l'imatinib sert à stabiliser les boucles d'activation et de fixation de l'ATP.

### **Nilotinib**

L'émergence de résistances à l'imatinib a nécessité l'initiation d'un programme de recherche de nouveaux inhibiteurs de Bcr-Abl pour traiter les LMC. Il a conduit au développement de l'AMN107 ou nilotinib 4-méthyl-*N*-[3-(4-méthyl-1*H*imidazol-1-yl)-5-(trifluorométhyl)phényl]-3-{[4-(3-pyridinyl)-2-pyrimidinyl]amino}benzamide ( $C_{28}H_{22}F_3N_7O$ , 529,52 g/mol). L'hypothèse initiale de ce développement était que l'optimisation de l'affinité et du profil d'interactions avec Bcr-Abl de l'imatinib pourrait permettre de disposer d'un inhibiteur sélectif, actif et puissant contre la plupart des mutants de Bcr-Abl. La cristallisation de l'imatinib dans le site actif de Bcr-Abl a permis de révéler que peu de modifications structurales seraient tolérées au niveau du noyau pyridinyl-pyrimidinyl-aniline, du fait d'un ajustement étroit avec Met318, Phe317 et Thr315 au niveau de la région charnière, alors que des modifications de la chaîne latérale *N*-méthylpipérazine apparaissaient possibles. Le nilotinib partage donc avec l'imatinib les groupements pyridine, pyrimidine et aminotolyle, mais

diffère par sa chaîne latérale trifluorométhylphénylimidazole. Celle-ci est orientée différemment, de sorte qu'elle comble davantage la cavité allostérique partiellement hydrophobe au sein de laquelle elle est profondément et fortement liée (Figure 7) (15,28,29). L'imidazole est la portion de la chaîne latérale exposée au solvant dans cette cavité à la surface de la protéine. La fonction amide a été conservée dans la structure du nilotinib afin de maintenir les liaisons hydrogène avec Glu286 et Asp381 (29,30).



**Figure 7 :** Mode de liaison du nilotinib à Bcr-Abl, d'après Wu *et al* (15)  
Les pointillés rouges et noirs représentent les liaisons hydrogène.

L'amélioration de l'affinité et la puissance du nilotinib s'explique par le remplacement de la *N*-méthylpipérazine par un trifluorométhylphénylimidazole car il permet :

- la diversification des interactions entre l'inhibiteur et la protéine.

Le nilotinib établit quatre liaisons hydrogène avec le domaine kinase (entre l'azote de la pyridine et Met318, entre l'azote de l'aniline et Thr315, entre l'amide et Glu286 et Asp381), alors que l'imatinib en établit six (30,31). Mais de nombreuses autres interactions sont aussi importantes pour l'affinité : des interactions arène-arène impliquant les cycles aromatiques pyridine, pyrimidine et phényle (32), des interactions lipophiles, en particulier autour de la pyridine, du méthylimidazole, du substituant trifluorométhyle, et une interaction dipolaire  $F \cdots C=O$  entre un atome de fluor électro-négatif et le carbone polarisé positivement du carbonyle de Asp381 (le remplacement du fluor par un méthyle diminue en effet l'affinité) (30,33).

- l'absence de désolvatation et déprotonation du groupement basique car le nilotinib est une base plus faible et moins protonée au pH physiologique que l'imatinib (29).

- un meilleur ajustement de la molécule au niveau de la cavité hydrophobe ; il s'ensuit une augmentation du nombre de groupements fondamentaux pour l'affinité : si elle repose essentiellement sur les groupements pyridine et pyrimidine pour l'imatinib, le substituant trifluorométhyle y contribue grandement en sus de la pyridine et la pyrimidine dans le cas du nilotinib (34).

Cela explique pourquoi des mutations affectant des résidus en contact avec les noyaux pyridine et pyrimidine ont moins d'impact sur l'activité du nilotinib. Des mutations au niveau du lobe C-terminal influencent peu l'activité du nilotinib, puisque contrairement à l'imatinib il interagit peu avec ces résidus et n'établit pas de liaisons hydrogène avec Ile360 et His361 (34). Le nilotinib reste par contre inactif contre la mutation T315I du résidu « gatekeeper », car l'encombrement stérique lié à l'introduction d'un résidu isoleucine gêne l'accès du groupement tolyle à la cavité allostérique. De plus, la substitution de la thréonine s'accompagne de la perte d'une liaison hydrogène (15,30). Le nilotinib a donc une affinité 20 fois supérieure à celle de l'imatinib pour Bcr-Abl sauvage et ses mutants, à l'exception de T315I (28).

## 2. ITK ciblant les récepteurs de la famille de l'EGFR

L'erlotinib, le gefitinib et le lapatinib sont des inhibiteurs puissants et sélectifs des récepteurs de la famille de l'EGFR. Ils partagent un noyau de type 4-anilinoquinazoline, dont les relations structure-activité sont les suivantes (35,36) :

- L'aniline est nécessaire à l'activité. En effet, la substitution de l'aniline par des groupements benzyle, phénéthyle ou *N*-méthylaniline a été testée et seule l'introduction du benzyle est acceptable en termes d'activité.
- La substitution de l'aniline en position 3 par de petits groupements lipophiles (chlore, brome, trifluorométhyle) est bénéfique à l'activité.
- Les deux atomes d'azote du noyau quinazoline sont nécessaires à l'activité. L'introduction d'atomes d'azote supplémentaires sur d'autres positions du cycle est possible et conduit à une autre classe d'anti-EGFR : les pyridopyrimidines.
- La substitution du noyau quinazoline par des groupements électro-donneurs de type amine ou alkoxy en position 6 et/ou 7 est favorable à l'activité, alors

que les groupements électro-attracteurs sont délétères à l'activité quelle que soit leur position sur le noyau, mais tout particulièrement en position 8, où il doit y avoir une forte densité électronique. Certaines combinaisons de substituants à ces positions démontrent des effets supra-additifs sur l'activité.

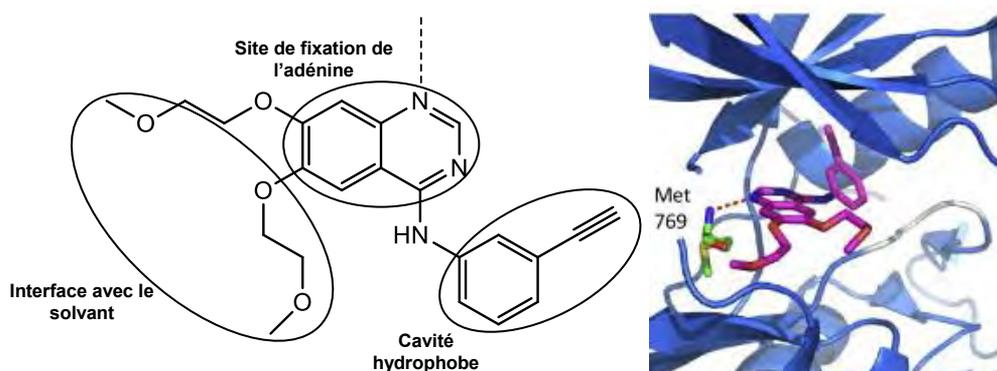
- Un certain degré d'encombrement stérique au niveau des positions 6 et 7 (surtout 6) est autorisé. Cette possibilité est exploitée pour améliorer la solubilité des dérivés en fixant en 6 et/ou 7 des chaînes latérales dont les plus favorables sont faiblement basiques, contenant entre autres des amines. Par ailleurs, la fusion des substituants à ces positions pour former un cycle supplémentaire conduit à des dérivés très actifs.

La quinazoline se lie au niveau du site de fixation de l'adénine, l'azote N<sub>1</sub> établissant une liaison hydrogène avec Met769 et l'azote N<sub>3</sub> avec Thr766. La liaison de l'aniline dans une cavité hydrophobe adjacente confère la sélectivité vis-à-vis de l'EGFR. Le site de liaison de ses deux entités est assez confiné, alors que les chaînes latérales fixées sur la quinazoline sont situées à l'entrée du site actif, au niveau d'une zone tolérant l'encombrement stérique (36). Elles sont présentes à l'interface avec le solvant et améliorent donc la solubilité de la molécule (15).

### **Erlotinib**

L'erlotinib ou *N*-(3-éthynylphényl)-6,7-bis(2-méthoxyéthoxy)quinazolin-4-amine (C<sub>22</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, 393,4 g/mol) est indiqué dans le traitement des cancers bronchiques non à petites cellules et des cancers du pancréas. Il respecte en tous points les relations structure-activité des dérivés synthétiques de type 4-anilinoquinazoline : il possède des groupements méthoxyéthoxy électro-donneurs en positions 6 et 7 de la quinazoline et un groupement éthynyle lipophile en position 3 de l'aniline. Cet inhibiteur de type I se lie à la conformation active du domaine kinase de l'EGFR, la molécule étant coudée au niveau du site actif de telle sorte que les deux cycles font entre eux un angle d'environ 40° (Figure 8). La quinazoline se loge dans le site de liaison de l'adénine, les atomes d'azote en position 1 et de carbone en position 8 faisant face à la région charnière. Les deux atomes d'azote sont engagés dans des liaisons hydrogène avec Met769 et Thr766. Les chaînes latérales et l'aniline sont projetées dans des directions différentes, les premières vers l'entrée du site actif

exposée au solvant, la seconde vers une cavité hydrophobe, le groupement éthylnyle étant entouré par Thr766, Lys721 et Leu764 (37).



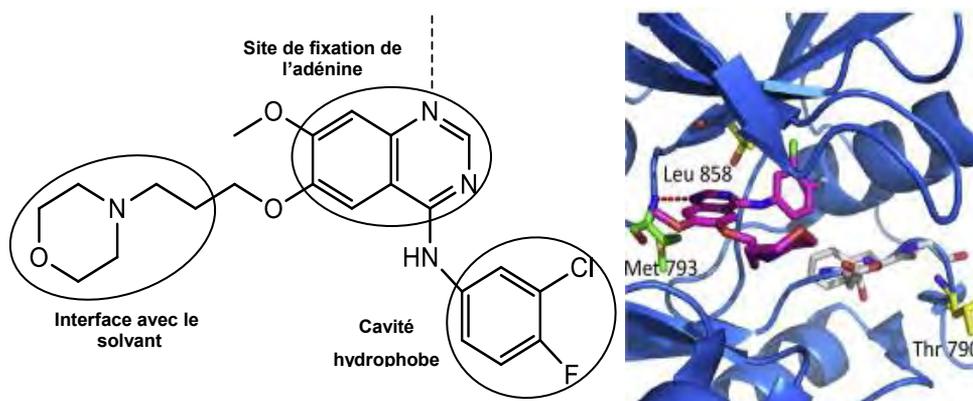
**Figure 8** : Mode de liaison de l'erlotinib à l'EGFR, d'après Wu *et al* (15)  
Les pointillés rouges et noirs représentent les liaisons hydrogène.

## Gefitinib

Le gefitinib ou *N*-(3-chloro-4-fluorophényl)-7-méthoxy-6-[3-(morpholin-4-yl)propoxy]quinazolin-4-amine ( $C_{22}H_{24}ClFN_4O_3$ , 446,9 g/mol) est indiqué dans le traitement des cancers bronchiques non à petites cellules. Il présente sur un noyau 4-anilinoquinazoline les éléments structuraux nécessaires à l'activité des dérivés de cette série : des groupements électro-donneurs de type alkoxy (méthoxy et propoxymorpholine) en positions 6 et 7 du noyau quinazoline et un atome de chlore lipophile en position 3 de l'aniline. L'introduction d'un atome de fluor sur l'aniline en position *para* permet d'améliorer la stabilité et donc l'activité de la molécule *in vivo*. En effet, le chromophore de la série d'analogues 4-anilinoquinazoline subit un métabolisme oxydatif rapide produisant deux principaux métabolites : un phénol par oxydation de la position *para* de l'aniline et un alcool benzylique par oxydation du substituant en *meta* de l'aniline lorsqu'il s'agit d'un méthyle (38).

Tout comme l'erlotinib, le gefitinib est un inhibiteur de type I qui se lie au domaine kinase de l'EGFR en conformation active (Figure 9). La quinazoline située au niveau du site de liaison de l'adénine et l'aniline logée dans une cavité hydrophobe adjacente forment entre elles un angle de 45°. L'azote en position 1 de la quinazoline est orienté vers la région charnière et établit une liaison hydrogène avec Met793. Les atomes de chlore et de fluor présents sur l'aniline sont entourés respectivement par les résidus Lys745, Leu788, Thr790 et Leu788, Glu762 de la

cavité hydrophobe. Le groupement méthoxy en position 6 de la quinazoline est impliqué dans une interaction de Van der Waals avec Gly796. La chaîne latérale propoxymorpholine, peu structurée, est exposée au solvant, d'où son rôle dans l'amélioration des propriétés pharmacocinétiques de la molécule. Le géfitinib n'établit donc qu'une liaison hydrogène avec le domaine kinase (39).



**Figure 9** : Mode de liaison du géfitinib à l'EGFR, d'après Wu *et al* (15)  
Les pointillés rouges et noirs représentent les liaisons hydrogène.

## Lapatinib

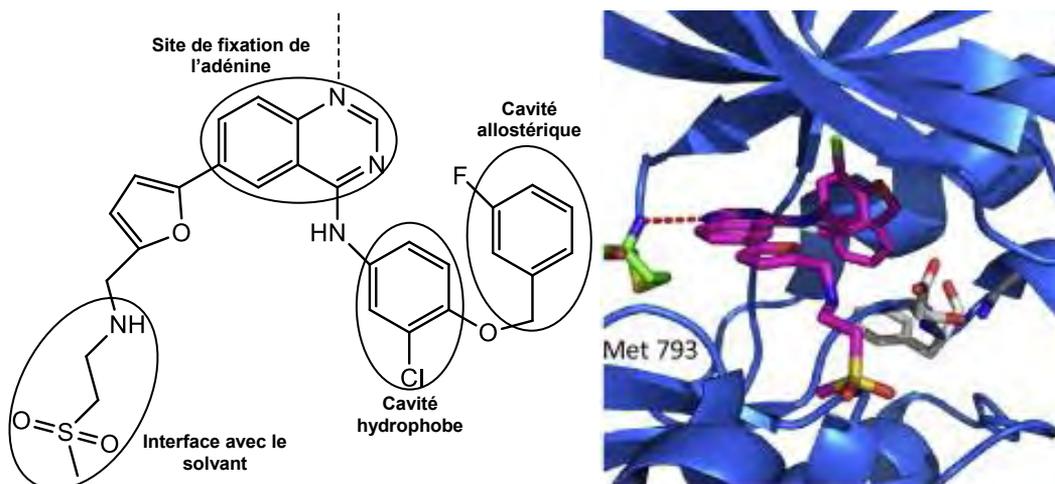
Le lapatinib, GW572016 ou *N*-{3-chloro-4-[(3-fluorobenzyl)oxy]phényl}-6-[5-({[2-(méthylsulfonyl)éthyl]amino}méthyl)furan-2-yl]quinazolin-4-amine (C<sub>29</sub>H<sub>26</sub>ClFN<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S, 581,06 g/mol) est un dérivé synthétique de la 4-anilinoquinazoline, inhibiteur mixte EGFR/HER2 de la série des 6-furanylquinazolines indiqué dans le traitement des cancers du sein. Les relations structure-activité sont les suivantes (40,41) :

- L'introduction de groupements volumineux sur l'aniline est nécessaire à la dualité de l'activité. Parmi les dérivés benzyloxy, phénylsulfonyl et benzylindazolyle, les 4-benzyloxyanilines semblent les plus intéressants. En effet, la substitution de l'aniline par de petits groupements permet d'obtenir des inhibiteurs de l'EGFR, alors que l'introduction sur l'aniline de petits substituants en 3 et de substituants volumineux en 4 permet de cibler HER2.
- La présence de substituants sur le groupement benzyloxy en *meta* améliore l'activité, notamment lorsqu'il s'agit d'un atome de fluor, alors que de plus gros substituants la réduisent.
- L'introduction de substituants sur l'aniline en *ortho* (positions 2 et 6) est défavorable à l'activité. Celle-ci est au contraire optimale lorsque la position

*meta* est occupée par un atome de chlore, les groupements plus encombrants étant délétères à l'activité. La présence de petits substituants lipophiles en position 3 de l'aniline est donc aussi importante pour cibler l'EGFR que pour cibler HER2.

- La présence d'une chaîne latérale sur le furane est favorable à l'activité. Elle doit être fixée en 5' afin que les substituants du furane soient en 2' et 5'.
- Les modifications de la chaîne latérale située à l'interface protéine/solvant sont bien tolérées :
  - o Aucun des substituants introduits sur le groupement sulfonyle ne permet de surpasser l'activité obtenue avec un simple méthyle.
  - o Petrov *et al* n'observent pas de différence d'activité entre les amines secondaires et tertiaires. A l'inverse, Zhang *et al* mettent en évidence la supériorité des amines secondaires sur les amines tertiaires, que les substituants soient électro-donneurs ou électro-accepteurs. Le choix s'est donc porté vers une amine secondaire pour limiter le poids moléculaire et le nombre d'étapes de synthèse.

Wood *et al* ont étudié la liaison du lapatinib au niveau du site actif de l'EGFR (Figure 10) (42).



**Figure 10** : Mode de liaison du lapatinib à l'EGFR, d'après Wu *et al* (15)  
Les pointillés rouges et noirs représentent les liaisons hydrogène.

La quinazoline se place au site de liaison de l'adénine, les résidus Ala719 et Leu820 étant situés de part et d'autre, et établit des liaisons hydrogène avec la région charnière (l'azote en position 1 avec Met769 et l'azote en position 3 avec Thr830). Le groupement benzyloxylaniline se loge dans des cavités hydrophobes (la 3-

chloroaniline étant entourée par Val702, Lys721, Leu764, Thr766, Thr830 et Asp831, le 3-fluorobenzoyloxy étant entouré par Met742, Leu753, Thr766, Thr830, Phe832 et Leu834) et établit donc principalement des interactions hydrophobes avec la protéine. L'azote de l'aniline et l'oxygène du groupement benzyloxy ne sont impliqués dans aucune liaison hydrogène. La chaîne latérale méthylsulfonyléthylaminométhylfurane s'étend vers la surface de la protéine, à l'interface avec le solvant, d'où son rôle dans l'amélioration de la solubilité et des propriétés pharmacocinétiques de la molécule (40,41). Elle est à proximité d'Asp766, mais n'établit pas d'interactions avec la protéine. Le lapatinib, en tant qu'inhibiteur de type II, se lie à la conformation inactive du domaine kinase de l'EGFR. Ainsi, les résidus Asp831 et Phe832 de la boucle d'activation, au lieu de lier l'ATP, sont intégrés aux cavités hydrophobes interagissant avec la benzyloxyaniline. De même, le groupement 3-fluorobenzoyloxy occupe l'emplacement laissé vacant par le résidu Met742 lors du déplacement de l'hélice à laquelle elle appartient. Bien qu'il s'agisse d'un inhibiteur réversible, le lapatinib exerce une inhibition prolongée de la phosphorylation des récepteurs, qui peut s'expliquer soit par une forte affinité, l'inhibiteur se liant profondément au niveau du site actif jusqu'à la cavité hydrophobe allostérique, soit par la nécessité d'induire une modification de la conformation avant que la dissociation puisse avoir lieu (notamment au niveau de l'extrémité C-terminale car elle obstrue l'entrée du site de liaison de l'inhibiteur) (42).

### **3. ITK ciblant les récepteurs à activité pro-angiogénique**

Les trois ITK étudiés au sein de cette classe, le sunitinib, le sorafenib et le pazopanib, possèdent des indications communes, mais présentent des propriétés pharmacodynamiques différentes. En effet, si les trois molécules ciblent des récepteurs à activité pro-angiogénique tels que VEGFR, le sorafenib est également un inhibiteur de sérine/thréonine kinases dont Raf. De plus, leurs structures chimiques, résultant de processus de développement initiés à partir de screening à haut débit, sont également très différentes (indolinone, diphenylurée et phénylaminopyrimidine).

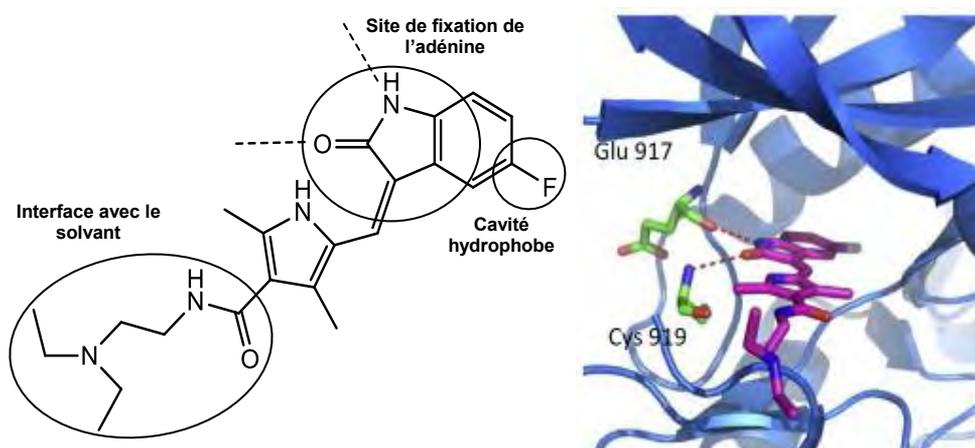
## Sunitinib

Le sunitinib, SU011248 ou *N*-[2-(diéthylamino)éthyl]-5-[(*Z*)-(5-fluoro-2-oxo-1,2-dihydro-3*H*-indol-3-ylidène)méthyl]-2,4-diméthyl-1*H*-pyrrole-3-carboxamide ( $C_{22}H_{27}FN_4O_2$ , 398,5 g/mol) est indiqué entre autres dans le traitement des GIST et des cancers du rein. Il est issu de l'optimisation chimique après screening à haut débit d'un noyau de type indolin-2-one substitué par un pyrrole en position 3 *via* un motif méthylidène de configuration *Z* (43). Les dérivés de cette série sont en effet des inhibiteurs sélectifs de VEGFR et PDGFR, mais ont des propriétés pharmacocinétiques défavorables (faible solubilité, forte liaison aux protéines plasmatiques). L'amélioration a donc d'abord porté sur la chaîne latérale en position 4' du pyrrole, d'une part parce qu'elle est située à l'entrée du site actif et peut donc améliorer les propriétés pharmacocinétiques, d'autre part parce qu'elle peut influencer la sélectivité des inhibiteurs (les dérivés neutres sont sélectifs de VEGFR, les dérivés acides de PDGFR et les dérivés basiques sont des inhibiteurs mixtes). L'introduction d'une amine à la place du carboxylate au niveau de la chaîne latérale en 4' permet d'augmenter l'activité contre VEGFR tout en maintenant celle contre PDGFR. La meilleure solubilité en milieux acide et neutre est obtenue avec une diéthylamine. La solubilité est moins bonne avec une diméthylamine ou une pyrrolidine. Une *N*-méthylpipéridine est plus soluble, mais plus cytotoxique et davantage métabolisée (*N*-déméthylation). Les analogues morpholine sont davantage solubles en milieu acide, mais moins en milieu neutre. L'activité et la solubilité sont encore améliorées lorsque la chaîne latérale est fixée en 4' par l'intermédiaire d'un amide substitué (44). L'optimisation s'est ensuite poursuivie sur le reste de la molécule (43,44) :

- L'introduction de petits groupements alkyle ou de groupements électro-attracteurs polaires en 3' et 4' du pyrrole conduit à des inhibiteurs sélectifs de VEGFR. L'introduction de substituants en 3' et 5' du pyrrole maintient l'activité anti-VEGFR mais diminue l'activité anti-PDGFR.
- Le « linker » méthylidène génère des dérivés plus puissants et sélectifs vis-à-vis de VEGFR que le « linker » benzylidène. La présence d'un proton vinylique et d'un isomère *Z* est requise pour l'inhibition de VEGFR et PDGFR.

- L'alkylation en position 1 de l'indolinone diminue considérablement l'activité contre VEGFR et PDGFR.
- La substitution du noyau indolinone en position 4 est défavorable à l'activité contre VEGFR et PDGFR, tout comme l'introduction de substituants électro-attracteurs en position 5.
- L'introduction d'halogènes plus encombrants que le fluor (chlore ou brome) sur l'indolinone est à l'origine d'effets cytotoxiques.

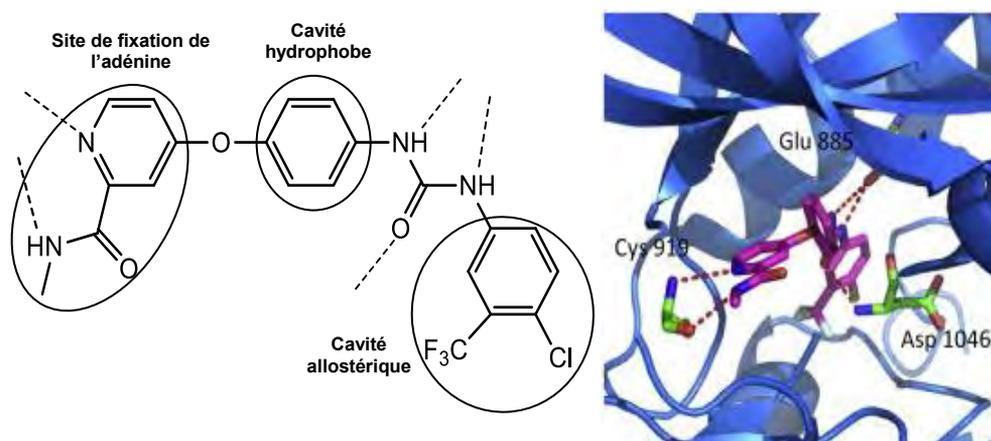
Les dérivés les plus puissants dans cette série sont de type indolin-2-ones substituées en position 3 *via* un motif méthylidène par un 3',5'-diméthylpyrrole et en position 4 ou 5 par un petit substituant électro-donneur. Dans le site actif de VEGFR2, les cycles indolinone et pyrrole sont quasiment coplanaires du fait d'une liaison hydrogène intramoléculaire entre l'atome d'oxygène de l'indolinone et l'azote du pyrrole (Figure 11). L'azote et l'oxygène de l'indolinone, fixée au niveau du site de liaison de l'adénine, établissent des liaisons hydrogène avec les résidus Glu917 et Cys919 de la région charnière de VEGFR2. La chaîne latérale s'étend vers la surface de la protéine : le pyrrole se place à l'entrée du site actif (l'azote forme une liaison hydrogène) et le reste de la chaîne latérale est exposée au solvant, ce qui améliore la solubilité de la molécule. Le sunitinib pénètre donc le site actif peu profondément, à peine plus loin que le site de fixation de l'adénine. Bien qu'il soit un inhibiteur de type II, il ne se lie pas au niveau de la cavité hydrophobe allostérique et à peine au niveau du canal allostérique reliant cette dernière au site de fixation de l'adénine (15,43,45).



**Figure 11** : Mode de liaison du sunitinib à VEGFR2, d'après Wu *et al* (15)  
Les pointillés rouges et noirs représentent les liaisons hydrogène.

## Sorafenib

Le sorafenib, BAY43-9006 ou 4-[4-[[4-chloro-3-(trifluorométhyl)phényl]carbamoyl amino]phénoxy]-*N*-méthyl-pyridine-2-carboxamide ( $C_{21}H_{16}ClF_3N_4O_3$ , 464,8 g/mol) est indiqué entre autres dans le traitement des CHC et des cancers du rein. Il est issu d'un programme de recherche d'inhibiteurs de la sérine/thréonine kinase Raf1 par screening à haut débit. Un dérivé de type 3-thiénylurée, inhibiteur réversible et peu actif de Raf1 a été identifié et développé, en partie car des dérivés de la série des 2-thiénylurées ont aussi été décrits comme inhibiteurs de tyrosine kinases. En effet, le sorafenib se révèle être un inhibiteur mixte de tyrosine et sérine/thréonine kinases, le caractère hautement conservé du domaine kinase lui permettant de se lier au niveau du site actif de Raf1 et VEGFR2 de façon assez similaire. Il se fixe à la conformation inactive de Raf1. La pyridine se place au niveau du site de liaison de l'adénine et interagit avec la région charnière. L'urée établit deux liaisons hydrogène capitales, dont une avec le résidu aspartate du motif DFG de la boucle d'activation. Le groupement trifluorométhylphényle se loge dans une cavité hydrophobe (46,47). Avec VEGFR2, le sorafenib se comporte aussi comme un inhibiteur de type II. Il pénètre profondément dans le site actif et n'est absolument pas exposé au solvant (Figure 12). Le groupement picolinamide (pyridine-2-carboxamide) se fixe au niveau du site de liaison de l'adénine et établit une liaison hydrogène avec le résidu Cys919 de la région charnière. Les groupements phénoxy et urée sont situés dans le canal allostérique, l'urée étant engagée dans des liaisons hydrogène avec les résidus Glu885 du lobe N-terminal et Asp1046 de la boucle d'activation. Le groupement 4-chloro-3-(trifluorométhyl)phényle se lie au niveau de la cavité hydrophobe allostérique (15,45).



**Figure 12** : Mode de liaison du sorafenib à VEGFR2, d'après Wu *et al* (15)  
Les pointillés rouges et noirs représentent les liaisons hydrogène.

Le développement du sorafenib s'est déroulé en deux étapes, la première démarrant avec le dérivé thiénylphénylurée (46,47) :

- L'activité est améliorée par l'introduction de petits substituants lipophiles (méthyle, chlore) en *para* sur le phényle, alors que de petits substituants lipophiles (méthyle, chlore) en *ortho* ou *meta* ainsi que des substituants encombrants en *para* sont délétères à l'activité.
- Des modifications sur le cycle thiophène ont été entreprises, mais les meilleurs substituants sont le tert-butyle et le carbométhoxy initialement présents.

Aucune des modifications structurales, en dehors de l'introduction d'un substituant méthyle en position *para* sur le phényle, n'a permis d'augmenter l'activité de ces dérivés qui reste donc assez faible, de l'ordre du micromolaire. Des analogues de thiénylurée ont ensuite été étudiés, dont les isoxazolylurées.

La deuxième étape de l'optimisation chimique débute avec une isoxazolylurée présentant un groupement phénoxy en *para* sur le phényle :

- Le motif urée est nécessaire à l'inhibition de Raf1, mais des modifications de l'hétérocycle sont tolérées, aboutissant à l'apparition de diphénylurée.
- Le remplacement du phényle distal par une pyridine diminue la lipophilie et accroît la solubilité des dérivés. La modification des substituants de la pyridine conduit par la suite au sorafenib.

## Pazopanib

Le pazopanib ou 5-({4-[(2,3-diméthyl-2*H*-indazol-6-yl)(méthyl)amino]pyrimidin-2-yl}amino)-2-méthylbenzenesulfonamide (C<sub>21</sub>H<sub>23</sub>N<sub>7</sub>O<sub>2</sub>S, 437,5 g/mol) est indiqué dans le traitement des cancers du rein et des sarcomes des tissus mous. Sa structure provient de l'optimisation chimique d'un noyau dianilinopyrimidine provenant d'un screening à haut débit (48) :

- L'introduction d'un groupement 4-méthyl-3-hydroxyaniline en position 4 de la pyrimidine permet d'améliorer l'activité *in vitro*, probablement grâce à l'établissement d'une liaison hydrogène entre le groupement hydroxyle et un

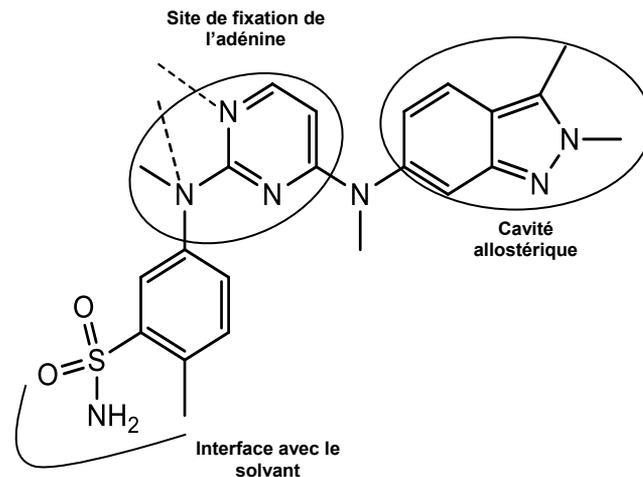
résidu d'acide aminé. Le choix de ces substituants n'est pas le fruit du hasard : il vise à mimer ceux présents sur un dérivé de type 4-anilinoquinazoline qui possède *in vitro* une activité contre VEGFR2 et se lie au FGFR (qui présente une forte homologie de séquence à VEGFR2) de façon similaire à la dianilinopyrimidine (la pyrimidine et la quinazoline d'une part et les anilines en position 4 d'autre part se superposent). Malheureusement, ces substitutions ne s'accompagnent pas de propriétés pharmacocinétiques favorables : la molécule présente une faible biodisponibilité et une forte clairance, vraisemblablement du fait de réactions de phases II (sulfo- ou glucurono-conjugaisons).

- Le remplacement de la 4-méthyl-3-hydroxyaniline par un 3-méthylindazole permet d'améliorer ces propriétés pharmacocinétiques, tout en conservant l'activité.
- L'introduction de substituants supplémentaires sur le méthylindazole vise à générer un encombrement stérique au niveau de ce noyau pour éviter l'interaction entre les atomes d'azote et le fer de l'hème des cytochromes P450. Le dérivé 2,3-diméthylindazole représente le meilleur compromis en termes d'activité et de profil d'inhibition des cytochromes.
- La modification des substituants de l'aniline en position 2 de la pyrimidine est favorable à l'activité, les meilleures combinaisons comportant un sulfonamide ou une sulfone.
- L'alkylation de l'amine en position 4 de la pyrimidine améliore l'activité lorsque le substituant est peu encombrant (méthyle ou éthyle). En effet, Jia et al mettent aussi en évidence que les amines tertiaires en position 4 de l'indazole ont une activité légèrement meilleure à celle des amines secondaires (49).

La synthèse de dérivés du pazopanib permet de réaffirmer les relations structure activité du pazopanib et notamment les rôles essentiels des groupements pyrimidine et benzenesulfonamide (49).

Le pazopanib est un inhibiteur de type II : il se lie à la conformation inactive de VEGFR2 (Figure 13). La pyrimidine se lie au site de fixation de l'adénine et établit une liaison hydrogène avec Cys919 par le biais de l'azote en position 1. L'indazole

se fixe au niveau de la cavité hydrophobe allostérique et pourrait former une liaison hydrogène *via* un de ses atomes d'azote. L'azote de l'aniline établit également une liaison hydrogène avec Cys919. La chaîne latérale méthylphénylsulfonamide est située à l'entrée du site actif, le groupement sulfonamide étant exposé au solvant (45,48,49).



**Figure 13** : Mode de liaison du pazopanib à VEGFR2, d'après Wu *et al* (15)  
Les pointillés noirs représentent les liaisons hydrogène.

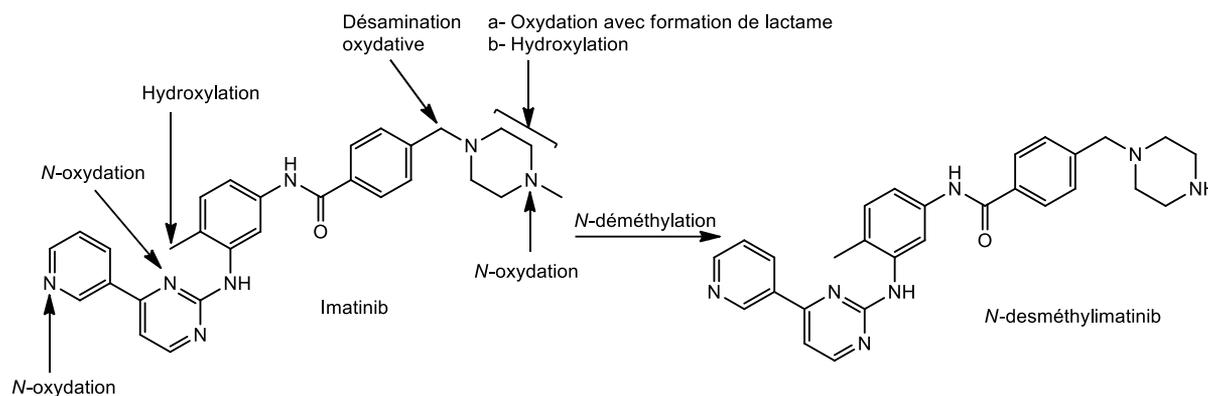
## C. Propriétés pharmacocinétiques

### 1. ITK ciblant Bcr-Abl et c-Kit

#### Imatinib

Après administration par voie orale, l'imatinib est rapidement et presque complètement absorbé ( $T_{max}$  : 2-4h,  $F \approx 98\%$ ), du fait d'une haute perméabilité intrinsèque et d'une dissolution rapide à pH acide (50–52). Bien que l'alimentation n'ait pas d'effet sur l'absorption, il est recommandé d'administrer l'imatinib au cours des repas pour améliorer la tolérance. Il est très largement distribué au niveau des tissus ( $V_d/F \approx 300L$ ) et très fortement lié aux protéines plasmatiques (95%), principalement à l'albumine et à l' $\alpha$ 1-glycoprotéine (52,53). L'imatinib subit un métabolisme oxydatif très intense, essentiellement au niveau du foie. Les principales enzymes impliquées dans ce métabolisme sont les cytochromes CYP3A4, CYP3A5 et CYP2C8, les cytochromes CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19 et CYP2D6 ne jouant qu'un rôle mineur. Un métabolisme au niveau des cellules du système hématopoïétique impliquant les cytochromes CYP1A1, CYP1B1 et la flavine

monoxygénase FMO3 a été décrit. Les principales voies métaboliques sont la *N*-déméthylation, l'oxydation de la pipérazine avec formation de lactame, la *N*-oxydation de la pyrimidine, de la pyridine et de la pipérazine, l'hydroxylation de la pyridine et du benzyle et la désamination oxydative avec perte de la pipérazine et formation d'un intermédiaire aldéhyde secondairement oxydé en acide carboxylique (Figure 14) (51,52,54).



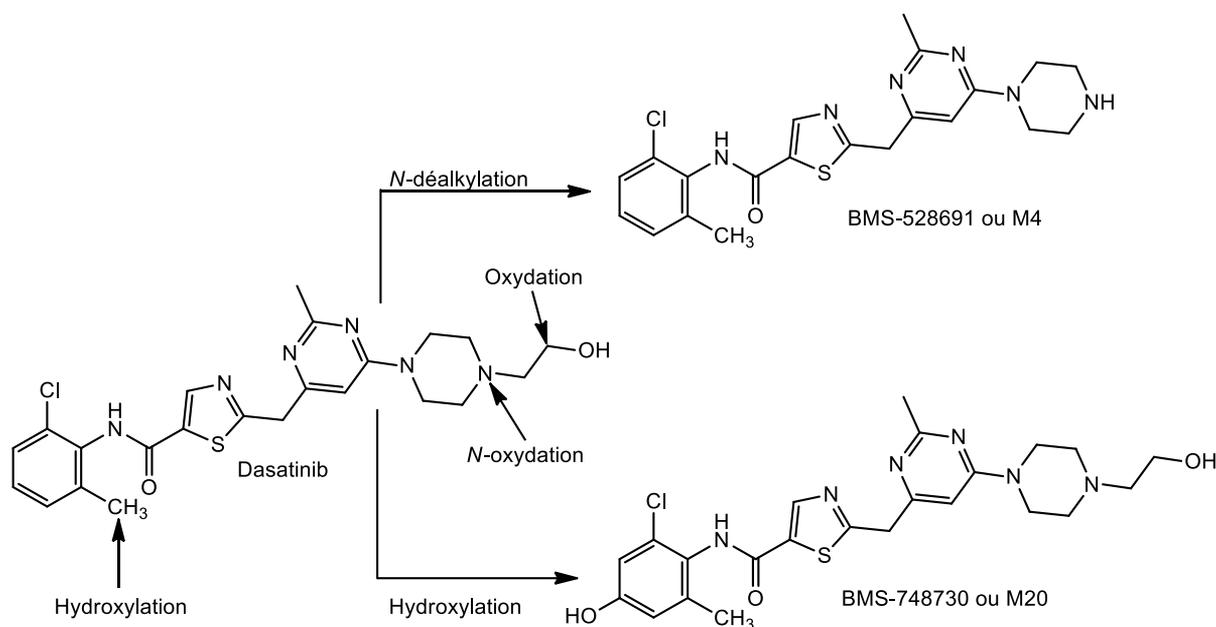
**Figure 14** : Principales voies métaboliques de l'imatinib, d'après Marull et Rochat (54)

L'imatinib et ses métabolites sont pris en charge par les uridine di-phosphate glucuronosyl-transférases (UGT) pour être *N*- et *O*-glucurono-conjugués. Le *N*-desméthylimatinib ou CGP74588 est le principal métabolite de l'imatinib et le seul métabolite actif, démontrant *in vitro* une puissance similaire à celle de l'imatinib. Il présente un  $T_{max}$  de 30min, est encore plus largement distribué dans l'organisme que l'imatinib, est très fortement lié aux protéines plasmatiques (>95%), a une demi-vie encore plus longue que l'imatinib (40h contre 18-22h). Il est substrat des cytochromes CYP3A et représente 9 à 18% de l'exposition plasmatique quand l'imatinib en représente 70% (50,52,55). Du fait de cette exposition élevée et prolongée, le *N*-desméthylimatinib doit être pris en compte en termes d'efficacité, toxicité et interactions médicamenteuses (56). L'évolution du métabolisme de l'imatinib au cours du temps est un sujet de controverse : certaines études ont montré une modification de la clairance d'élimination de l'imatinib lors d'expositions prolongées, alors que d'autres études n'ont pas rapporté d'évolution de cette dernière (57–59). L'imatinib et ses métabolites sont principalement éliminés par voie fécale : 68% de la dose est excrétée dans les selles (23% sous forme d'imatinib,

11% sous forme de *N*-desméthylimatinib) et 13% dans l'urine (5% sous forme d'imatinib, 1,8% sous forme de *N*-desméthylimatinib). La présence d'imatinib inchangé dans les selles n'est pas liée à une absorption incomplète, mais à une sécrétion biliaire et intestinale ainsi qu'à la reconversion des métabolites conjugués et oxydés dans la lumière intestinale sous l'action des enzymes de la flore. En effet, les métabolites conjugués, la pipérazine-*N*<sub>4</sub>-oxyde et la pyridine-*N*-oxyde, entre autres, ne sont retrouvés que dans le sang et l'urine. Cette reconversion participe à la constitution d'un cycle entéro-hépatique et explique la lente élimination. Il existe une forte variabilité interindividuelle de l'exposition plasmatique (40-60%), liée en partie à la variabilité d'activité du CYP3A4 et à la variabilité de l'excrétion biliaire (50–52). En effet, Schiavon *et al* ainsi que Ramalingam *et al* ont étudié la sécrétion biliaire de l'imatinib et du *N*-desméthylimatinib chez respectivement un et deux patients et ont montré que 0,2 à 18% de la dose est excrétée dans la bile sous forme d'imatinib et 0,4 à 2% sous forme de *N*-desméthylimatinib (60,61).

### **Dasatinib**

Après administration par voie orale, le dasatinib est rapidement absorbé ( $T_{max}$  : 30 min-6h) (52,53). La biodisponibilité absolue n'a pas été étudiée, mais des données issues d'une étude chez 8 sujets sains suggèrent que le dasatinib est bien absorbé au travers du tractus gastro-intestinal et peut être administré au cours ou en dehors des repas. Le dasatinib est très largement distribué dans l'organisme ( $V_d/F \approx 2500L$ ) et très fortement lié aux protéines plasmatiques (92-97%) (52,53). Le dasatinib est très intensément métabolisé au niveau hépatique, principalement par le cytochrome CYP3A4, les cytochromes CYP3A5, CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1, CYP2C9, la FMO3 et une oxydoréductase NAD dépendante cytosolique ne jouant qu'un rôle mineur. En effet, la clairance métabolique correspond à 81% de la clairance totale et la demi-vie est comprise entre 3 et 5h (52,53). Les différentes voies métaboliques sont la *N*-déalkylation de la pipérazine avec perte de la chaîne latérale hydroxyéthyle, la *N*-oxydation de la pipérazine, l'hydroxylation du cycle 2-chloro-6-méthylphényle en position *ortho* et *para* et l'oxydation en acide carboxylique de l'alcool porté par la chaîne latérale (Figure 15).

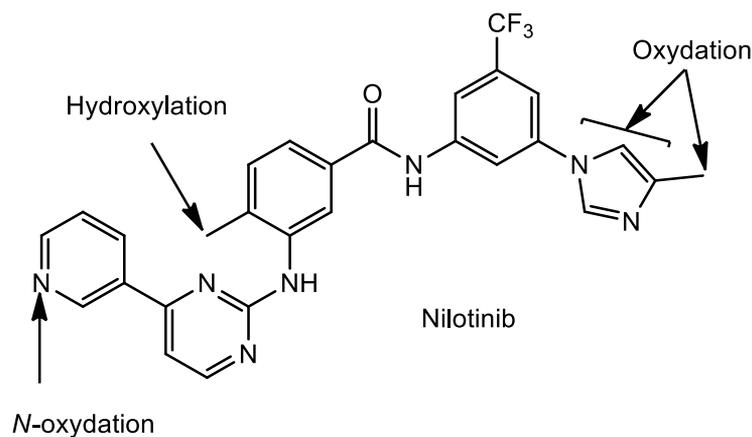


**Figure 15** : Principales voies métaboliques du dasatinib, d'après Christopher *et al* (62)

Les principaux métabolites du dasatinib sont un métabolite *N*-déalkylé (BMS-528691, M4) et deux métabolites hydroxylés (BMS-748730 ou M20, BMS-749426 ou M24) principalement formés par le CYP3A4, un métabolite de type *N*-oxyde (BMS-606181, M5) produit essentiellement par la FMO3 et un métabolite acide carboxylique (BMS-573188, M6) provenant de l'activité de l'oxydoréductase cytosolique. Ils sont actifs, mais ne contribuent probablement pas significativement à l'activité *in vivo* du fait de leurs niveaux d'exposition : M4 démontre *in vitro* une activité similaire à celle du dasatinib, mais ne représente que 5% de son AUC, M20 correspond à 45% de l'AUC du dasatinib, mais est 10 à 20 fois moins puissant, tout comme M5, et M6 et M24 sont plus de 50 fois moins puissants (62). Des sulfo- et glucurono-conjugués sont également formés (62–64). Le dasatinib est principalement éliminé par voie fécale : 85% de la dose est excrétée dans les selles (19% sous forme inchangée) et moins de 4% dans l'urine (moins de 1% sous forme inchangée). Cela témoigne d'une bonne absorption puisque la présence de dasatinib inchangé dans les selles est la résultante de la fraction non absorbée et de la reconversion des métabolites oxydés et conjugués par les enzymes de la flore (62). L'exposition en dasatinib, dérivé majoritaire au niveau plasmatique, montre une forte variabilité inter- et intra-individuelle, qui est en partie attribuée à la variabilité de l'absorption (52,53).

## Nilotinib

Après administration par voie orale, le nilotinib est rapidement absorbé ( $T_{max}$  : 2-4h). La biodisponibilité absolue n'est pas connue, mais supposée assez faible ( $F \approx 30\%$ ), du fait d'une forte augmentation de l'exposition en cas d'administration au cours d'un repas riche en graisses (52,53,65). Il doit cependant être administré à distance des repas afin d'éviter l'exposition à de fortes concentrations plasmatiques et ainsi améliorer la tolérance, puisqu'il est responsable d'un allongement dose-dépendant du QT (66). Il s'administre en deux prises journalières car l'absorption est ainsi améliorée (67). Le nilotinib est très largement distribué dans l'organisme ( $V_d/F \approx 580-800L$ ) et très fortement lié aux protéines plasmatiques (98%) (52,53). Le nilotinib est métabolisé au niveau du foie, principalement par le cytochrome CYP3A4, avec une contribution mineure des cytochromes CYP1A2 et CYP2C8. Les principales voies métaboliques sont l'oxydation du méthylimidazole (essentiellement hydroxylation du groupement méthyle avec formation d'un alcool secondairement oxydé en acide carboxylique, clivage oxydatif de l'imidazole avec formation d'une aniline), l'oxydation des cycles pyridine, pyrimidine et aminométhylbenzamide (hydroxylation du groupement méthyle et *N*-oxydation de la pyridine essentiellement), l'hydrolyse de l'amide et la glucurono-conjugaison (Figure 16).



**Figure 16** : Principales voies métaboliques du nilotinib (68)

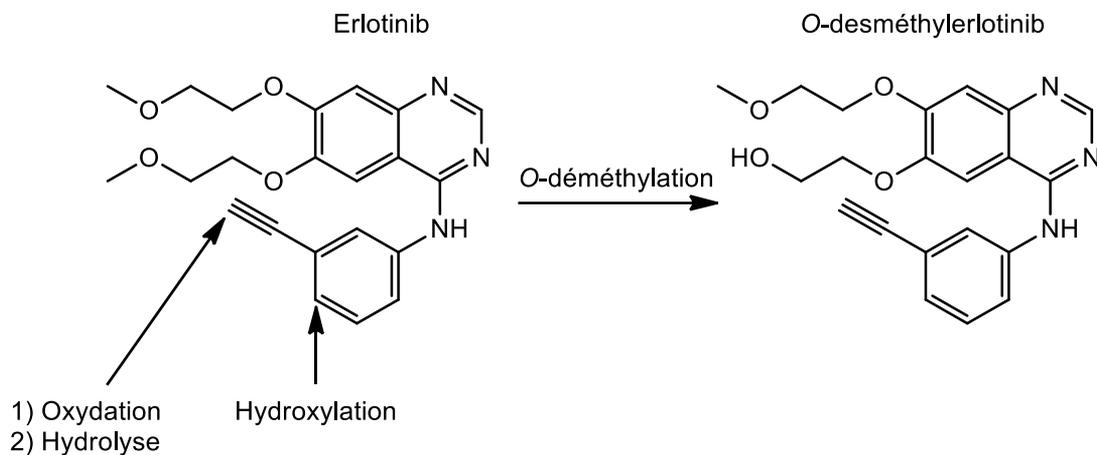
Le métabolisme oxydatif permet d'éliminer environ 25% de la dose. La combinaison de ces différentes voies permet de former une vingtaine de métabolites, tous inactifs, dont les principaux sont les dérivés du méthylimidazole de type alcool et acide carboxylique, l'hydroxyméthylbenzamide et la pyridine-*N*-oxyde (68). Le nilotinib représente 75 à 88% de l'exposition plasmatique, la contribution des métabolites est

très largement inférieure (chacun des 4 métabolites principaux représente moins de 7% de l'exposition plasmatique) (65,68). Le nilotinib est éliminé quasi exclusivement par voie fécale : 90-95% de la dose est excrétée dans les selles (69% sous forme inchangée, 4% respectivement sous forme de dérivés du méthylimidazole de type alcool et acide carboxylique) et 4% dans l'urine (65,68). Une forte variabilité interindividuelle de l'exposition plasmatique en nilotinib a été décrite, de l'ordre de 30 à 60%, probablement en lien avec la variabilité de la solubilité dans le tube digestif et donc de l'absorption et avec la variabilité d'activité du CYP3A4 (52,67,69).

## 2. ITK ciblant les récepteurs de la famille de l'EGFR

### Erlotinib

Après administration par voie orale, l'erlotinib est rapidement absorbé ( $T_{max}$  : 1,5-4h). La biodisponibilité absolue est modeste, d'environ 60-75% (53,70-72). La prise alimentaire permet d'améliorer l'absorption, mais constitue une source de variabilité de l'exposition en erlotinib : il est donc recommandé de l'administrer à jeun (72). L'erlotinib est largement distribué dans l'organisme ( $V_d/F \approx 230L$ ) et très fortement lié aux protéines plasmatiques (92-95%) (53,72). L'erlotinib est très fortement métabolisé au niveau hépatique par le cytochrome CYP3A4, les cytochromes CYP3A5, CYP1A1, CYP1A2, CYP2D6 et CYP2C8 jouant un rôle plus accessoire, et au niveau pulmonaire et tumoral par les cytochromes CYP1A1 et CYP1B1 (70,72,73). L'observation de plus fortes clairances et de plus faibles expositions plasmatiques en erlotinib chez les fumeurs a en effet permis de révéler l'existence d'un métabolisme tumoral. Les trois principales voies métaboliques éliminant respectivement 30%, 20% et 10% de la dose sont la *O*-déméthylation de la chaîne latérale avec ou sans oxydation secondaire en acide carboxylique, l'oxydation du groupement acétylène suivie d'une hydrolyse en acide carboxylique et l'hydroxylation du phényle avec formation d'un *para*-aminophénol (Figure 17) (71).



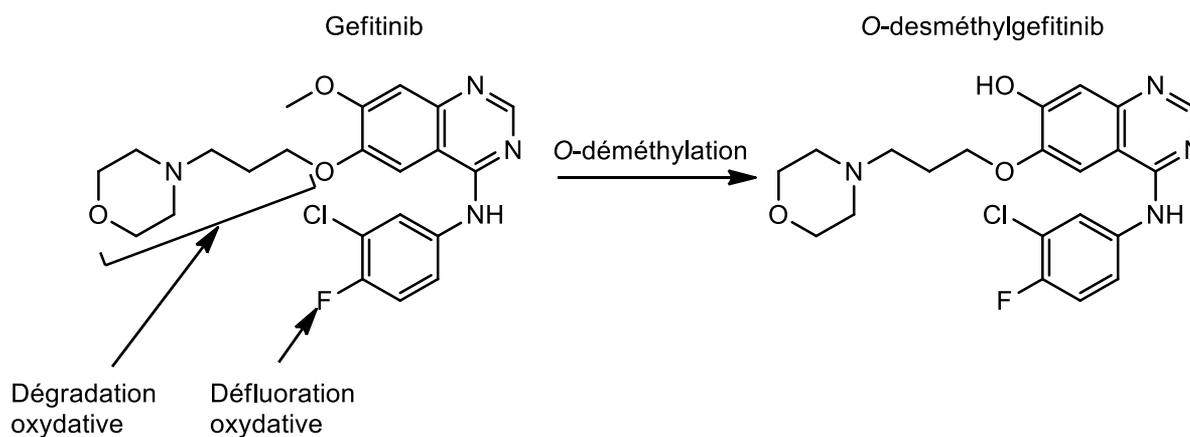
**Figure 17** : Principales voies métaboliques de l'ertotinib, d'après Ling *et al* (71)

Le reste du métabolisme correspond à des réactions d'oxydation de métabolites intermédiaires et de sulfo- et glucurono-conjugaison. L'ertotinib est le dérivé majoritaire au niveau plasmatique, le *O*-desméthylertotinib (OSI-420 ou M14), métabolite principal et seul métabolite actif, ne représentant que 5 à 10% de l'exposition en ertotinib. Sa participation à l'activité *in vivo* n'est pas claire, notamment faute d'étude pharmacocinétique menée au niveau tumoral (72). L'ertotinib est principalement éliminé par voie fécale après excrétion biliaire : 83% de la dose est excrétée dans les selles et 8% dans l'urine, principalement sous forme de métabolites (plus de 90% de la dose est excrétée sous forme de métabolites et moins de 2% sous forme inchangée) (70,71). Il existe une très forte variabilité interindividuelle de l'exposition en ertotinib (jusqu'à un facteur 7) et de sa clairance d'élimination (de l'ordre de 52%) (72,74).

### Gefitinib

Après administration par voie orale, le gefitinib est rapidement absorbé ( $T_{max}$  : 3-7h) (53,72,75). La biodisponibilité absolue est de 60% et n'est pas influencée par la prise alimentaire : le gefitinib peut donc être administré au cours ou en dehors des repas. Il est largement distribué dans l'organisme ( $V_d/F \approx 1400-1700L$ ) et très fortement lié aux protéines plasmatiques (91-97%) (53,72). Le gefitinib subit un métabolisme oxydatif très intense, principalement au niveau hépatique (Figure 18). Les voies métaboliques identifiées sont la *O*-déméthylation du groupement méthoxy porté par la quinazoline et la dégradation oxydative de la chaîne latérale propoxymorpholine

avec ouverture du cycle et perte plus ou moins complète, par *N*- et *O*-déalkylations successives, de la morpholine et du groupement propoxy. Les produits d'oxydation de la chaîne latérale sans ouverture du cycle sont vraiment minoritaires. La défluoration oxydative du noyau phényle avec remplacement du fluor par un groupement hydroxyle est une voie métabolique mineure (76–79).



**Figure 18** : Principales voies métaboliques du gefétinib, d'après McKillop *et al* (76, 77)

Les principaux métabolites sont le *O*-desméthylgefétinib ou M523595, deux métabolites issus de l'oxydation de la morpholine (M537194, M608236) et un métabolite défluoré. Ils sont pris en charge à leur tour par les mêmes voies métaboliques que le gefétinib : la voie majoritaire est l'oxydation de la chaîne latérale et la voie minoritaire la défluoration oxydative, sachant qu'elle confère une stabilité métabolique au groupement méthoxy qui n'est pas déméthylé après défluoration (76). Les enzymes impliquées dans le métabolisme du gefétinib sont essentiellement les cytochromes CYP3A4, CYP3A5, CYP2D6 et CYP1A1. Le CYP3A5 génère le même spectre de métabolites que le CYP3A4 avec une activité catalytique plus faible, tandis que le CYP2D6 est principalement responsable de la formation du *O*-desméthylgefétinib. C'est un métabolite actif présent dans le plasma à des concentrations similaires à celles du gefétinib, même s'il existe une forte variabilité interindividuelle du fait du polymorphisme du cytochrome CYP2D6. Bien qu'il soit le métabolite majoritaire du compartiment plasmatique, il n'est qu'un métabolite parmi tant d'autres dans les selles. Cela signifie que la *O*-déméthylation n'a pas un rôle quantitatif majeur dans l'élimination et que le *O*-desméthylgefétinib n'est le principal métabolite circulant que parce qu'en tant que dérivé phénol il est beaucoup moins

distribué dans les tissus que le gefitinib (77,78). Cela a d'ailleurs été confirmé par l'étude des concentrations en gefitinib et ses métabolites au sein de tumeurs xénogreffées chez la souris et de tumeurs issues de patients atteints de cancer du sein (77,80). Par ailleurs, l'absence de formation de *O*-desméthylgefitinib chez les métaboliseurs lents pour le cytochrome CYP2D6 n'a pas de conséquence clinique (75). Le *O*-desméthylgefitinib ne contribuerait donc que très peu à l'effet du gefitinib *in vivo*. Le gefitinib est principalement éliminé par voie fécale après excrétion biliaire (12% sous forme inchangée, 26% sous forme de *O*-desméthylgefitinib), moins de 7% de la dose (essentiellement sous forme de métabolites) étant éliminée dans l'urine (77). Il existe une forte variabilité interindividuelle de l'exposition en gefitinib : les concentrations résiduelles moyennes peuvent varier d'un facteur 18 au cours du premier mois de traitement (74). Elle est en partie expliquée par la variabilité interindividuelle d'activité du CYP3A et par le polymorphisme du CYP2D6. Le polymorphisme du CYP3A5 n'a pas d'impact sur cette variabilité du fait de son rôle mineur dans le métabolisme du gefitinib (75).

### Lapatinib

Après administration par voie orale, le lapatinib est rapidement absorbé ( $T_{max} \approx 3-4h$ ) (53,72,81). La biodisponibilité absolue n'est pas connue, mais supposée assez faible du fait d'une faible solubilité dans le tube digestif et d'un fort effet de premier passage hépatique (53,72,82). L'exposition augmente fortement en cas d'administration concomitante à la prise alimentaire et lors de la répartition de la dose en deux prises journalières. Le lapatinib s'administre donc en deux prises à distance des repas afin de limiter la variabilité intra- et interindividuelle. Il est très largement distribué dans l'organisme ( $V_d/F > 2200L$ ) et très fortement lié aux protéines plasmatiques (>99%) (53,72). Le lapatinib est très fortement métabolisé au niveau hépatique par les cytochromes CYP3A4 et CYP3A5, avec une contribution mineure des cytochromes CYP2C8 et CYP2C19. Les principales voies métaboliques sont :

- l'oxydation de la chaîne latérale initiée par la *N*-oxydation de l'amine ou par l'oxydation du carbone  $\alpha$  (C<sub>6</sub> ou C<sub>8</sub>) (Figure 19) (83) :

- La *N*-oxydation génère une hydroxylamine secondaire. L'oxydation secondaire de cette dernière suivie d'une élimination produit deux isomères de type nitroène N<sub>7</sub>C<sub>6</sub> et N<sub>7</sub>C<sub>8</sub>, dont l'hydrolyse conduit respectivement à un furfuraldéhyde et l'acide carboxylique correspondant et à deux isomères oximes (*via* une hydroxylamine primaire et un dérivé nitroso).
- L'oxydation de C<sub>6</sub> suivie d'une élimination génère un métabolite furfuraldéhyde, secondairement oxydé en acide carboxylique.
- L'oxydation de C<sub>8</sub> suivie d'une hydrolyse conduit à la formation d'un métabolite *N*-déalkylé. Celui-ci est minoritaire car il sert d'intermédiaire à deux voies métaboliques : la formation d'une hydroxypyridine et l'oxydation en une hydroxylamine primaire secondairement oxydée en un dérivé nitroso qui se tautomérise en oxime pouvant exister sous forme de deux isomères (*Z* et *E*).

- la formation d'une hydroxypyridine à l'emplacement du noyau furane :

Castellino *et al* proposent deux voies différentes à l'origine de la formation de l'hydroxypyridine (83) :

- une bioactivation du dihydrofurane (*via* le Fe<sup>V</sup> de l'hème) suivie d'une cyclisation intramoléculaire impliquant l'amine secondaire de la chaîne latérale (Figure 20, voie 1)).
- la photo-oxydation du lapatinib qui pourrait intervenir lors des manipulations *ex vivo* par le biais d'intermédiaires dicarbonyle et pyridinium (Figure 20, voie 2)).

La perte du groupement éthylsulfone par l'intermédiaire pyridinium formé dans les deux voies conduit *in fine* à l'hydroxypyridine.

- la *O*-déalkylation ou clivage oxydatif du groupement fluorobenzyle avec formation d'un *para*-aminophénol. Ce dernier peut être secondairement oxydé en quinone-imine (Figure 19).
- la sulfo- et glucurono-conjugaison.

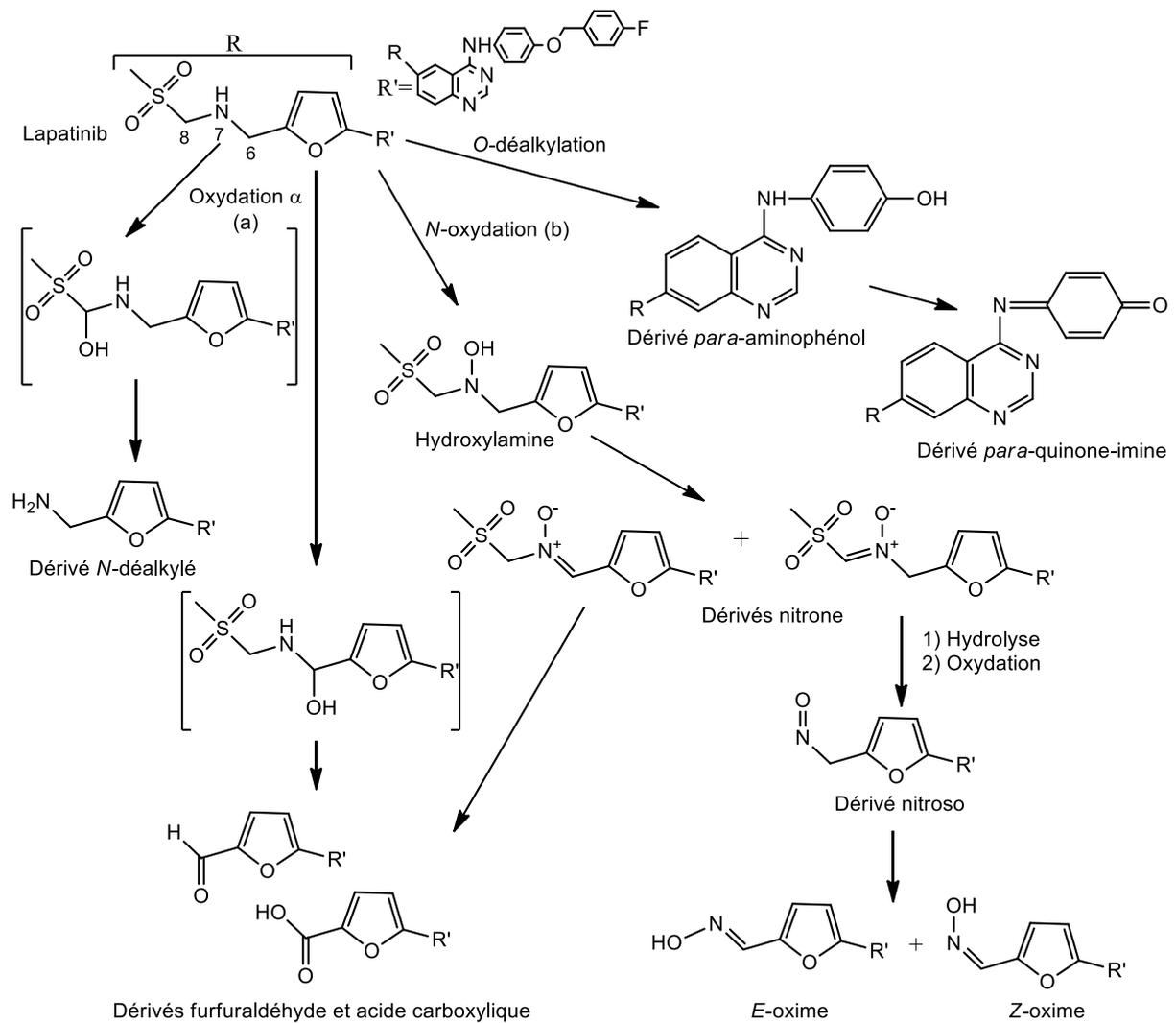


Figure 19 : Voies métaboliques du lapatinib, d'après Castellino *et al* (83)

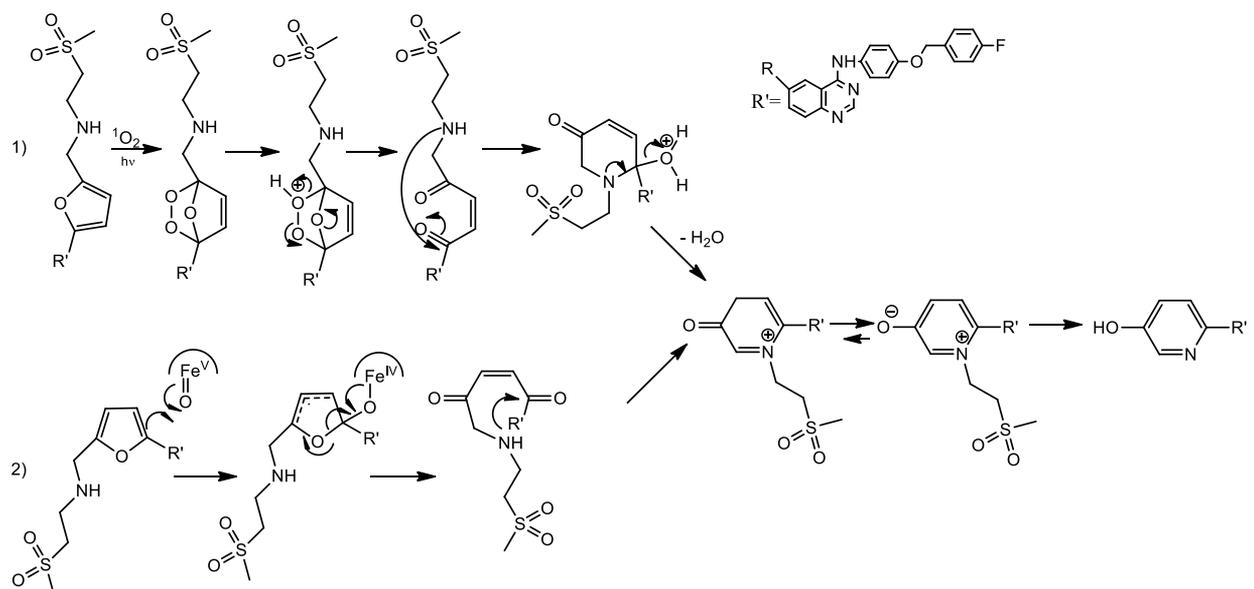


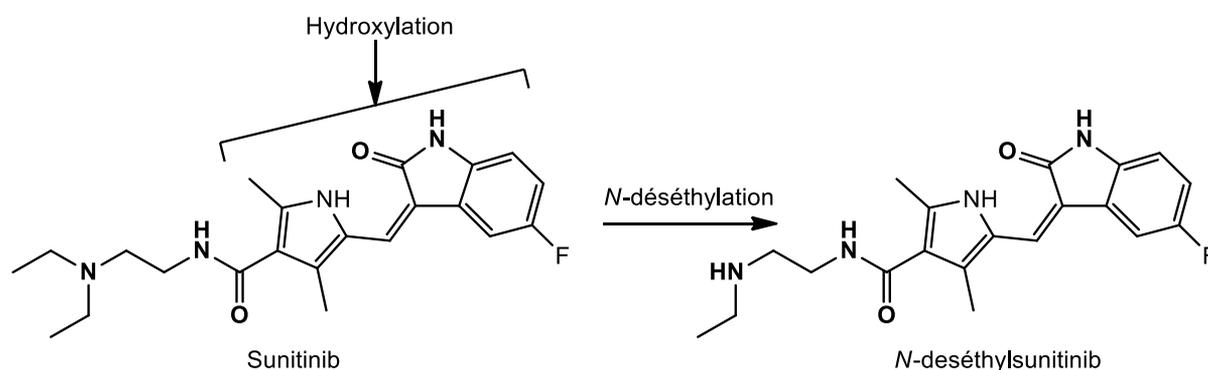
Figure 20 : Métabolisme du lapatinib : mécanisme de transformation du furane en pyridine, d'après Castellino *et al* (83)

Seuls le métabolite *O*-déalkylé GW690006 et le métabolite de type acide carboxylique GSK342393 sont actifs : le premier est aussi puissant que le lapatinib contre l'EGFR, mais 100 fois moins puissant contre HER2, le second est 40 fois moins puissant que le lapatinib contre l'EGFR et HER2 (53,72). Aucun des métabolites ne représente plus de 10% de l'exposition plasmatique en lapatinib. Si le rôle des métabolites dans l'efficacité du lapatinib *in vivo* reste à définir, de nombreuses études suggèrent l'implication des métabolites réactifs électrophiles (furfuraldéhyde, dérivé nitroso, quinone-imine) dans les effets indésirables, notamment l'hépatotoxicité, et les interactions médicamenteuses générés par le lapatinib. Nous reviendrons plus en détails sur ces questions dans la deuxième partie. Il est principalement éliminé par voie fécale : 92% de la dose est excrétée dans les selles (27% sous forme inchangée) et moins de 2% dans l'urine (83). La majorité de la dose administrée reste donc dans le tube digestif et serait responsable des diarrhées fréquemment observées chez les patients sous lapatinib (53). Une forte variabilité interindividuelle de l'exposition en lapatinib a été décrite ( $\approx 70\%$ ), expliquée en partie par la variabilité d'activité des cytochromes CYP3A4 et CYP3A5 (53,82).

### 3. ITK ciblant les récepteurs à activité pro-angiogénique

#### Sunitinib

Après administration par voie orale, le sunitinib est lentement absorbé ( $T_{\max}$  : 6-12h). La biodisponibilité absolue n'a pas été étudiée chez l'homme, mais elle pourrait être d'environ 50% en se basant sur des données animales. L'absorption n'est pas modifiée par la prise alimentaire : le sunitinib s'administre donc au cours ou en dehors des repas. Il est largement distribué dans les tissus ( $V_d/F \approx 2200L$ ) et fortement lié aux protéines plasmatiques (95%). Sa demi-vie est comprise entre 40 et 60 heures (52,53). Le sunitinib est fortement métabolisé par le cytochrome CYP3A4 selon deux principales voies métaboliques : la *N*-déséthylation de la diéthylamine et l'hydroxylation oxydative du groupement indolylidène/diméthylpyrrole (Figure 21).



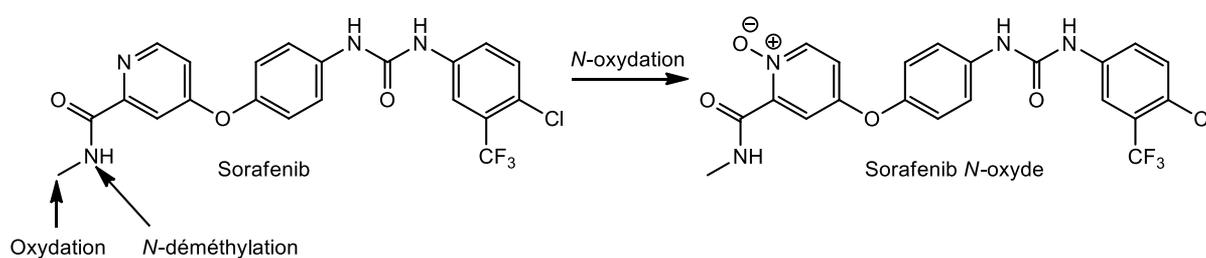
**Figure 21** : Principales voies métaboliques du sunitinib, d'après Speed *et al* (84)

La défluoration oxydative avec substitution du fluor par un groupement hydroxyle ainsi que la *N*-oxydation, l'hydroxylation, l'introduction d'insaturation et la désamination de la diéthylamine sont des voies minoritaires. Le principal métabolite du sunitinib est le *N*-deséthylsunitinib ou SU12662 (84). Il présente une activité comparable à celle du sunitinib *in vitro*, une exposition plasmatique élevée et prolongée correspondant à 23 à 47% de l'exposition plasmatique totale ( $t_{1/2}$  : 80-100h) et une distribution dans l'organisme encore plus large que celle du sunitinib. Il est fortement lié aux protéines plasmatiques (90%) et métabolisé par le CYP3A4 en métabolites inactifs (52,53). Le *N*-deséthylsunitinib contribue significativement à l'effet du sunitinib *in vivo* et l'activité plasmatique totale est représentée par la somme des expositions en sunitinib et *N*-deséthylsunitinib (52,85). Le sunitinib est éliminé principalement par voie fécale : 61% de la dose est excrétée dans les selles (14% de la dose sous forme inchangée et 25% sous forme de *N*-deséthylsunitinib) et 16% dans l'urine (6-7% sous forme inchangée et 6-7% sous forme de *N*-deséthylsunitinib) (53,84). Il existe une forte variabilité interindividuelle de l'exposition en sunitinib (environ 40%) et des clairances apparentes d'élimination du sunitinib et du *N*-deséthylsunitinib (4 et 50% respectivement) en partie liées à la variabilité de l'activité du CYP3A4 (52,53).

### Sorafénib

Après administration par voie orale, le sorafénib est rapidement absorbé ( $T_{max} \approx 3h$ ). La biodisponibilité absolue n'est pas connue, mais elle est probablement assez faible, inférieure à 50%, du fait d'une faible solubilité dans le tractus gastro-intestinal. L'absorption diminue en cas d'administration concomitante à la prise alimentaire : il

est donc recommandé d'administrer le sorafénib à distance des repas. Il est largement distribué dans l'organisme ( $V_d/F \approx 210-400L$ ) et très fortement lié aux protéines plasmatiques (99,5%) (52,53). Le sorafénib subit un métabolisme hépatique impliquant le cytochrome CYP3A4, l'UGT1A9 et accessoirement le cytochrome CYP3A5. Les principales voies métaboliques sont la *N*-oxydation de la pyridine, l'oxydation de l'amidométhyle terminal, la *N*-déméthylation de l'amide, de sorte que les principaux métabolites de phase I sont le sorafénib-*N*-oxyde, le *N*-hydroxyméthylsorafénib et le *N*-desméthylsorafénib, formés dans un rapport 65/34/1 (Figure 22).



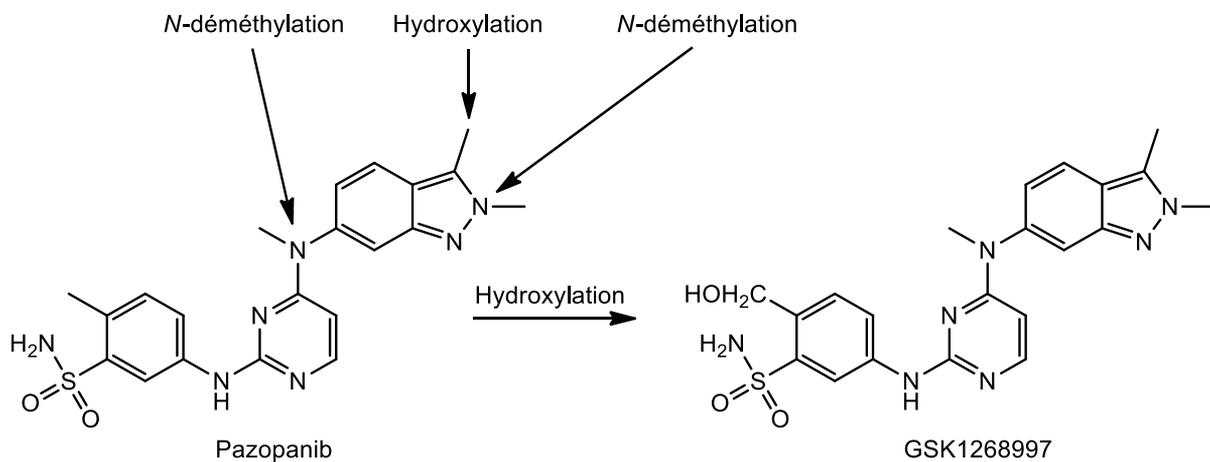
**Figure 22** : Principales voies métaboliques du sorafénib, d'après Ghassabian *et al* (86)

Des métabolites mineurs proviennent d'une combinaison de ces trois voies métaboliques (52,86,87). La glucurono-conjugaison joue un rôle important dans l'élimination du sorafénib puisque 19% de la dose est éliminée par ce biais et moins de 30% par métabolisme oxydatif (87). Le sorafénib-*N*-oxyde est plus puissant que le sorafénib contre VEGFR2 et PDGFR $\beta$  et représente 6 à 17% de l'exposition plasmatique en la somme du sorafénib et de l'ensemble des autres métabolites plasmatiques, quand le sorafénib contribue à 70 à 85% de l'exposition plasmatique totale (52,87). Le sorafénib-*N*-oxyde pourrait donc participer à l'effet thérapeutique *in vivo*. Le sorafénib et ses métabolites sont excrétés dans la bile, en partie grâce à des transporteurs actifs tels que la P-gp ou la BCRP. Dans la lumière du tube digestif, les métabolites oxydés et glucurono-conjugués sont pris en charge par des réductases et des glucuronidases bactériennes et reconvertis en sorafénib. A l'issue d'un cycle entéro-hépatique, dont l'existence est étayée par la présence de pics secondaires dans la cinétique du sorafénib, 77% de la dose est excrétée dans les selles (50% sous forme inchangée du fait de l'absorption incomplète, de l'excrétion biliaire et de la reconversion des métabolites par les enzymes de la flore) et 19% dans l'urine

(15% sous forme de glucurono-conjugués) (87,88). Une forte variabilité interindividuelle de l'exposition en sorafenib et sorafenib-*N*-oxyde a été décrite (52,89).

## Pazopanib

Après administration par voie orale, le pazopanib est incomplètement absorbé ( $T_{\max}$  : 2-8h, F : 14-39%) du fait d'une faible solubilité dans le tube digestif (52). L'exposition en pazopanib et ses métabolites double en cas d'administration au cours d'un repas riche ou pauvre en graisses : il doit donc être administré à distance des repas pour limiter la variabilité intra- et interindividuelle (52,90). Le pazopanib présente un volume de distribution plutôt faible ( $V_d/F$  : 9-13L), pratiquement limité au compartiment plasmatique, et une très forte liaison aux protéines plasmatiques (>99%) (52). Le pazopanib subit au niveau hépatique un métabolisme oxydatif impliquant principalement le cytochrome CYP3A4, les cytochromes CYP1A2 et CYP2C8 ayant un rôle accessoire. Il n'est pas intensément métabolisé : il présente un faible coefficient d'extraction hépatique et le métabolisme contribue à l'élimination de la moitié environ de la dose absorbée. Les principales réactions du métabolisme sont des réactions de mono- et di-oxygénation (hydroxylation des groupements méthyle portés par les cycles phényle et indazole, oxydation avec formation de dérivés de type acide carboxylique), de *N*-déméthylation oxydative et de sulfo- et glucurono-conjugaison (Figure 23).

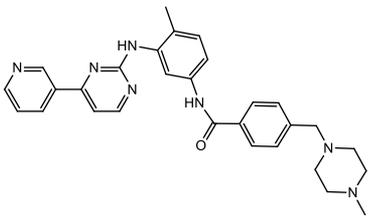
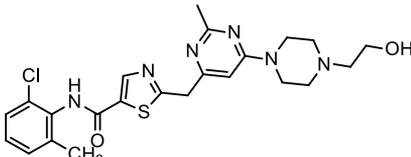
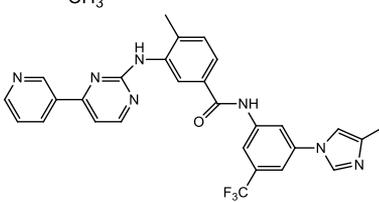
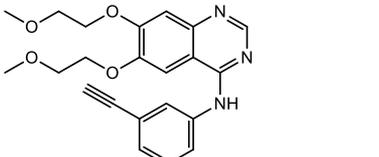
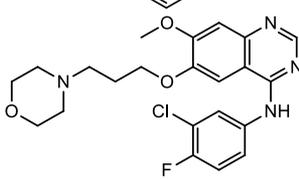
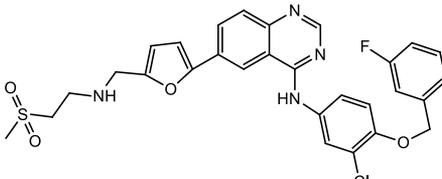
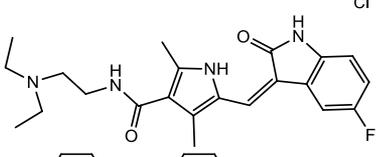
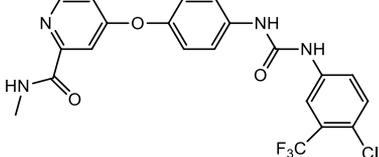
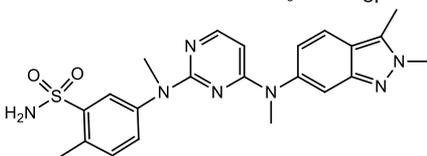


**Figure 23** : Principales voies métaboliques du pazopanib, d'après Deng *et al* (91)

Parmi les nombreux métabolites du pazopanib, deux métabolites hydroxylés (GSK1268992, GSK1268997) et deux métabolites *N*-déméthylés (GSK1071306, GW700201) sont actifs : GSK1268997 est aussi puissant que le pazopanib, alors que les trois autres métabolites sont 10 à 20 fois moins actifs. Mais au vu de leurs concentrations plasmatiques (chacun représente moins de 4% de l'exposition plasmatique totale, alors que le pazopanib correspond à 87% de l'exposition), leur contribution à l'effet pharmacologique *in vivo* est probablement faible (52,91). Le pazopanib est principalement éliminé par voie fécale : 82% de la dose est excrétée dans les selles (67% sous forme inchangée, vraisemblablement du fait de l'absorption incomplète, 10% sous forme de métabolites oxydés) et moins de 3% dans l'urine (principalement sous forme de métabolites hydroxylés et glucurono-conjugués) (52,91). L'exposition plasmatique en pazopanib présente une forte variabilité interindividuelle (52).

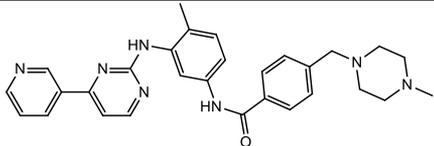
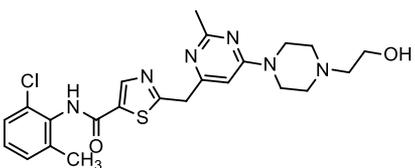
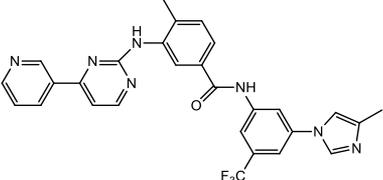
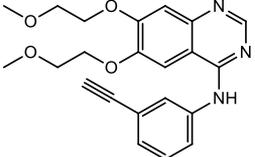
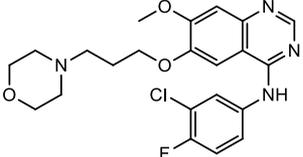
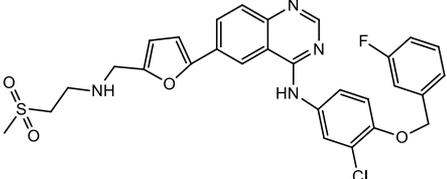
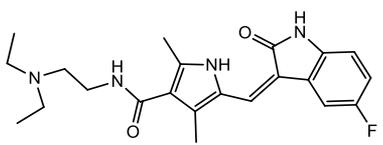
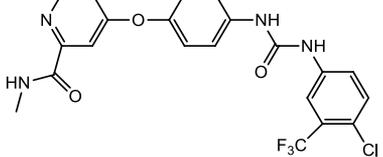
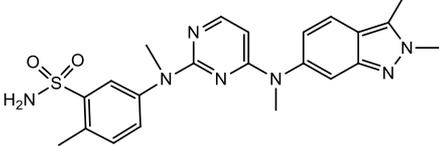
Les principales caractéristiques pharmacocinétiques et physico-chimiques des neuf ITK que nous venons de présenter sont rassemblées dans les tableaux 1 et 2.

**Tableau 1** : Principaux paramètres pharmacocinétiques des neuf premiers ITK commercialisés, d'après Di Gion *et al*, Scheffler *et al* et Van Erp *et al* (52, 53, 72)

	Structure	F (%)	T <sub>max</sub> (h)	f <sub>b</sub> <sup>1</sup> (%)	V <sub>d</sub> /F (L)	t <sub>1/2</sub> (h)
Imatinib		98	2-4	95	295	18-22
Dasatinib		ND	0,5-6	92-97	2500	3-5
Nilotinib		≈30	2-4	98	580-800	17
Erlotinib		60-75	1,5-4	92-95	230	36-41
Gefitinib		60	3-7	91-97	1400-1700	48
Lapatinib		ND	3-4	>99	>2200	24
Sunitinib		ND	6-12	95	2200-2300	40-60
Sorafenib		<50	2-14 (médiane ≈3)	99,5	210-400	25-48
Pazopanib		14-39	2-8	>99	9-13	31

<sup>1</sup> : Fraction liée

**Tableau 2 : Principales propriétés physico-chimiques des neufs premiers ITK commercialisés**

Structure	DCI <sup>1</sup> Formule Brute	PM <sup>2</sup> (g/mol)	cLogP	pKa <sub>1</sub>	pKa <sub>2</sub>
	Imatinib C <sub>29</sub> H <sub>31</sub> N <sub>7</sub> O	493,6	2,48* - 3**	7,55*	13,28*
	Dasatinib C <sub>22</sub> H <sub>26</sub> ClN <sub>7</sub> O <sub>2</sub> S	488,01	0,14* - 1,8**	7,29*	10,94*
	Nilotinib C <sub>28</sub> H <sub>22</sub> F <sub>3</sub> N <sub>7</sub> O	529,52	5,01** - 5,15***	6,3***	11,86***
	Erlotinib C <sub>22</sub> H <sub>23</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	393,4	2,69** - 3,03*	5,32*	/
	Gefitinib C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> ClFN <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	446,9	2,70* - 3,2**	5,4 <sup>(72)</sup>	7,2 <sup>(72)</sup>
	Lapatinib C <sub>29</sub> H <sub>26</sub> ClFN <sub>4</sub> O <sub>4</sub> S	581,06	5,4** - 6,30*	6,34*	15,9***
	Sunitinib C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> FN <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	398,5	2,27* - 3,1**	9,09*	11,70*
	Sorafenib C <sub>21</sub> H <sub>16</sub> ClF <sub>3</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	464,8	3,8** - 4,82*	2,66*	12,89*
	Pazopanib C <sub>21</sub> H <sub>23</sub> N <sub>7</sub> O <sub>2</sub> S	437,5	3,12* - 3,2**	5,56*	10,19*

<sup>1/2</sup> Dénomination commune internationale / Poids Moléculaire

\* Valeurs issues de Chemical Abstracts Service [SciFinder] (<http://www.cas.org/products/scifinder>)

\*\* Valeurs issues de Pubchem server (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

\*\*\* Valeurs issues de ChemSpider [Royal Society of Chemistry] (<http://www.chemspider.com/>)

# Partie II : Implications pharmacologiques des métabolites des ITK

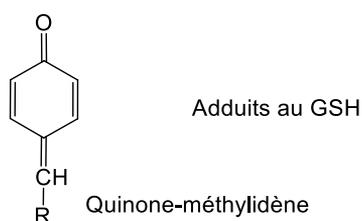
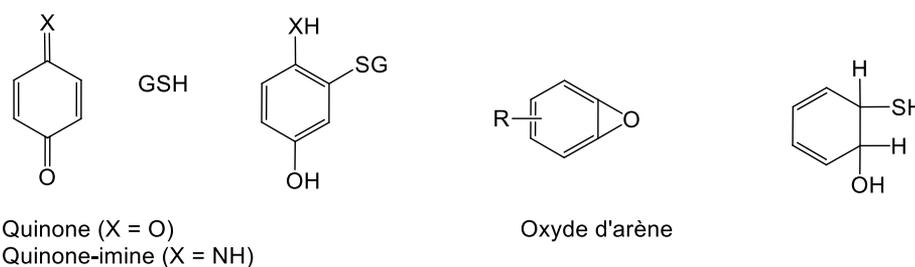
---

## I. Métabolites réactifs des ITK

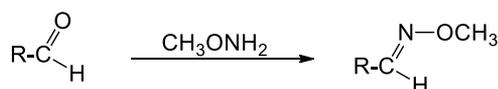
Bien que le métabolisme des médicaments consiste généralement en un ensemble de réactions visant à détoxifier l'organisme, il peut contribuer à la formation de métabolites présentant une toxicité directe ou indirecte par mise en jeu du système immunitaire. On parle de métabolites « réactifs » qui sont capables, *via* différents mécanismes (oxydation, formation d'adduits...), d'interagir de façon covalente ou non avec des biomolécules (glutathion, ADN, protéines), induisant des effets toxiques, certains adduits constituant des haptènes susceptibles d'activer le système immunitaire. Sur le plan de la structure, la réactivité est liée à la présence de groupements électrophiles, à la présence d'un groupement *para*-aminophénol susceptible de conduire à un intermédiaire *para*-benzoquinone-imine ou à la possibilité de former des espèces radicalaires. Plusieurs critères permettent de déterminer si la formation de métabolites réactifs à l'échelle cellulaire s'accompagne de manifestations cliniques : l'efficacité des systèmes de détoxification de l'organisme, le degré de réactivité des métabolites et la quantité de métabolites formée dans l'organisme. Celle-ci dépend de facteurs liés à la molécule mère (structure, dose, coefficient de partage, fraction libre, durée d'exposition), de facteurs génétiques (polymorphismes des cytochromes) et environnementaux (exposition à des inducteurs ou inhibiteurs enzymatiques). Les métabolites réactifs sont fréquemment associés à l'hépatotoxicité des médicaments depuis que leur rôle dans l'hépatotoxicité du paracétamol et du diclofenac a été formellement établi. Les métabolites réactifs sont également impliqués dans l'inactivation des cytochromes P450 (92). En effet, l'inactivation enzymatique correspond à une inhibition temps-, concentration- et NADPH-dépendante, d'installation progressive et manifestation prolongée, liée à l'interaction entre l'enzyme et un métabolite intermédiaire réactif formé au cours du métabolisme d'une molécule mère. L'inactivation peut être quasi-irréversible par formation d'un complexe de coordination entre le métabolite réactif

et le fer de l'hème ou irréversible par alkylation de l'hème ou de l'apoprotéine. Dans les deux cas, la restauration de l'activité enzymatique nécessite la synthèse *de novo* de l'enzyme (93). L'inactivation des cytochromes a pour conséquences l'auto-inhibition du métabolisme de la molécule mère et la survenue d'interactions médicamenteuses avec les autres substrats de l'enzyme inactivée (94). L'existence de processus d'inactivation des cytochromes peut être démontrée *in vitro* en incubant des microsomes hépatiques ou des cytochromes recombinants en présence du médicament supposé inactivateur enzymatique et de substrats de référence. Le recours à certains dérivés nucléophiles au cours de ces expériences permet de mettre en évidence la nature des métabolites réactifs grâce aux adduits formés : la méthoxylamine permet de détecter des aldéhydes, le cyanure de potassium des dérivés iminium et le glutathion des électrophiles faibles de type quinone, quinone-imine et imine-méthylidène (95). Ces réactions de conjugaison au glutathion sont bien connues ; les principales sont rappelées dans la figure 24.

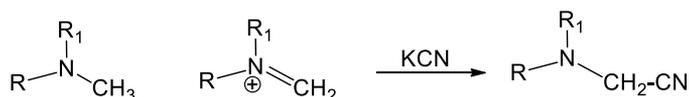
a) Exemples d'adduits au glutathion (GSH)



b) Réaction des aldéhydes avec la méthoxylamine



c) Réaction des ions iminium avec le cyanure de potassium



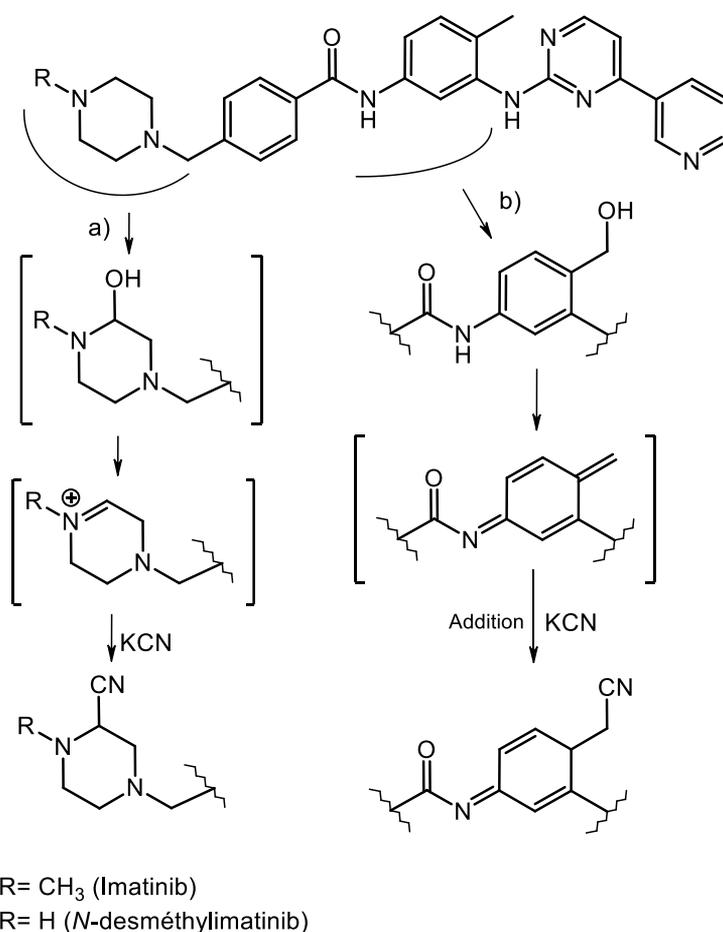
**Figure 24** : Exemples de réactions de piégeage de métabolites réactifs

Les adduits formés au cours de ces expériences sont facilement identifiés grâce à des méthodes de chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse. Plusieurs études de ce type ont montré que les ITK sont impliqués *in vitro* dans l'inactivation des cytochromes P450 *via* la formation de métabolites réactifs (95,96). Kenny *et al* ont montré que les neuf ITK les plus anciens sont tous bioactivés en métabolites réactifs. Le dasatinib, le nilotinib, l'erlotinib, le gefitinib, le lapatinib, le sunitinib, le sorafenib et le pazopanib forment tous des adduits en présence de glutathion. L'imatinib et le gefitinib réagissent en présence de cyanure de potassium, révélant ainsi la formation d'ions iminium, tandis que la méthoxylamine révèle la formation d'aldéhydes par l'imatinib, le dasatinib, le nilotinib, l'erlotinib, le gefitinib, le lapatinib et le pazopanib. Ils ont aussi montré que ces ITK, à l'exception du sorafenib, sont de faibles inactivateurs du CYP3A (95). Au contraire, Zimmerlin *et al* ont étudié l'effet de l'imatinib, de l'erlotinib, du gefitinib, du sunitinib et du sorafenib sur l'activité du cytochrome CYP3A et mis en évidence que seul le sorafenib est capable de l'inactiver (97). Filppula *et al* ont quant à eux montré que le dasatinib, le nilotinib, l'erlotinib, le gefitinib, le sunitinib, le sorafenib et le pazopanib sont des inactivateurs du cytochrome CYP3A4 (94). Les mécanismes de bioactivation proposés à l'issue d'autres études menées pour l'imatinib, le dasatinib, l'erlotinib, le gefitinib et le lapatinib pourraient éclairer les résultats contradictoires des études précédemment citées. Nous allons les présenter en détail pour chacune de ces cinq molécules, en les confrontant aux structures et voies métaboliques des molécules mères et en les mettant en perspectives à l'aide de données cliniques.

### **Imatinib**

Li *et al* ont recherché la formation d'adduits sur l'imatinib en l'incubant en présence de microsomes hépatiques et de glutathion, de cyanure de potassium ou de méthoxylamine (98). Contrairement aux nombreux adduits au cyanure de potassium, les adduits à la méthoxylamine n'ont pas pu être caractérisés du fait de leur faible abondance et aucun adduit au glutathion n'a été détecté. Les auteurs proposent que l'imatinib est bioactivé en métabolites intermédiaires de type imine et imine-méthylidène par le biais de réactions de désaturation oxydative (oxydation suivie de

déshydratation ou déshydrogénation) siégeant au niveau de la pipérazine et de la *para*-toluidine. L'hydroxylation de la pipérazine (voie a)) aboutit à la formation d'un iminium qui subit l'attaque nucléophile du cyanure de potassium, le groupement cyano se fixant en C<sub>3</sub> ou C<sub>5</sub> de la pipérazine (Figure 25). L'hydroxylation du groupement méthyle de la *para*-toluidine (voie b)) suivie d'une déshydratation contribue à la formation d'une imine-méthylidène qui réagit avec le cyanure de potassium selon une addition de Michael (Figure 25). Bien que cet intermédiaire soit un électrophile doux susceptible de réagir avec le glutathion, aucun adduit de ce type n'a été détecté, vraisemblablement du fait de l'encombrement stérique.



**Figure 25** : Formation d'adduits cyanure sur l'imatinib et le *N*-desméthylimatinib, d'après Li *et al* (98)

D'autres adduits au cyanure peuvent se former au niveau de la pipérazine d'un dérivé carbonylé du *N*-desméthylimatinib, le métabolite réactif pouvant être un intermédiaire imine-amide insaturé conjugué ou non. L'existence de ces voies de bioactivation est confortée par l'étude du métabolisme de l'imatinib présentée dans

la première partie : un dérivé hydroxylé au niveau de la *para*-toluidine et une lactame, qui pourrait provenir de la déshydrogénation de dérivés hydroxylés au niveau de la pipérazine, ont en effet été décrits (98). Ces métabolites intermédiaires pourraient être impliqués dans l'inactivation du cytochrome CYP3A4, comme cela a été mis en évidence *in vitro* par Filppula *et al.* En incubant des microsomes hépatiques en présence d'imatinib et d'un substrat de référence du cytochrome CYP3A4, le midazolam, ils ont observé une inhibition temps-dépendante du métabolisme du midazolam, cet effet étant réduit de façon dose-dépendante par le ketoconazole, inhibiteur connu du cytochrome CYP3A4. Ils en ont déduit que l'imatinib est capable d'inactiver le cytochrome CYP3A4 par l'intermédiaire de ses métabolites (99). Bien que le *N*-desméthylimatinib puisse être bioactivé, en particulier par oxydation de la pipérazine, l'inactivation du cytochrome CYP3A4 en présence de *N*-desméthylimatinib ou pipérazine *N*-oxyde n'a pas été observée. L'inactivation du cytochrome CYP3A4 causée vraisemblablement par les métabolites intermédiaires de l'imatinib est susceptible d'avoir des conséquences cliniques. En effet, Filppula *et al* prédisent à l'aide d'un modèle *in silico* que la perte d'activité catalytique, en s'élevant jusqu'à 90%, pourrait causer des interactions médicamenteuses avec les substrats du cytochrome CYP3A4, l'ampleur des interactions prédites par le modèle étant le reflet de celle observée *in vivo*, en particulier entre l'imatinib et la simvastatine (53,99). L'inactivation du cytochrome CYP3A4 par l'imatinib se traduit également par l'auto-inhibition de son métabolisme par le cytochrome CYP3A4 qui est alors relayé par le cytochrome CYP2C8 (99). Plusieurs observations permettent de confirmer l'implication respective des cytochromes CYP3A4 et CYP2C8 dans le métabolisme de l'imatinib au cours du temps. Filppula *et al* estiment à l'aide d'un modèle *in silico* que la fraction de la clairance hépatique impliquant le cytochrome CYP3A4 passe de 60% en début de traitement à 25-35% lors d'expositions prolongées, alors que celle reposant sur le cytochrome CYP2C8 passe respectivement de 40% à 65-75% (100). *In vivo*, la clairance de l'imatinib est davantage corrélée au phénotype CYP3A au début du traitement qu'à l'état d'équilibre au bout d'un mois de traitement (101). Si l'exposition en imatinib, après administration d'une dose unique, est sensible à la présence d'inducteurs et inhibiteurs du cytochrome CYP3A4 tels que la rifampicine,

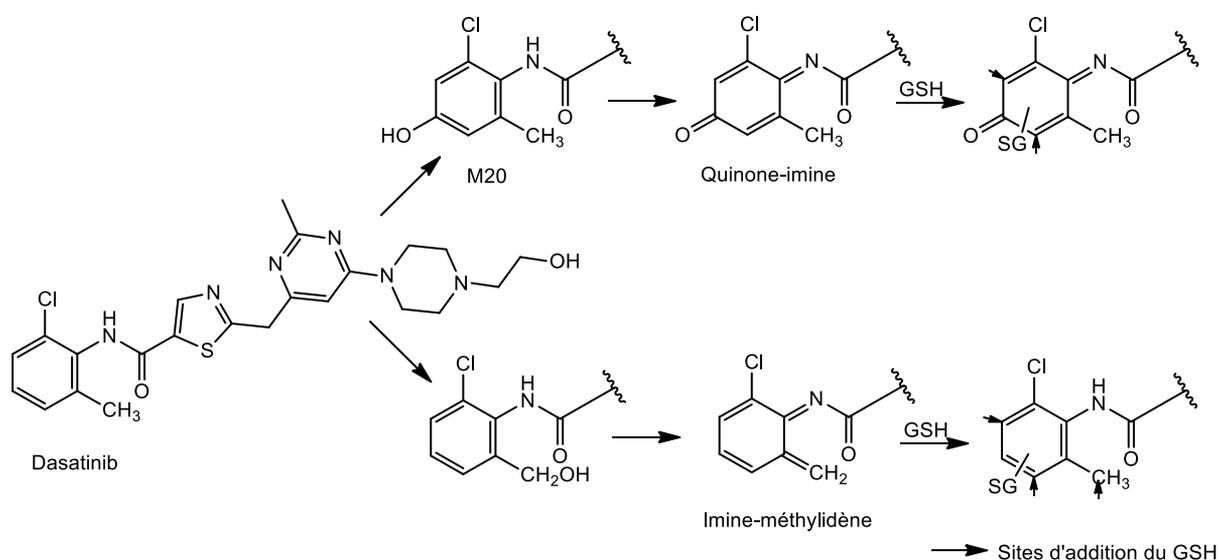
le millepertuis et le ketoconazole, à l'état d'équilibre elle n'est pas influencée par l'administration de ritonavir, puissant inhibiteur du cytochrome CYP3A4 (53). Le relais s'opérant entre les cytochromes CYP3A4 et CYP2C8 n'est pas sans conséquences car les deux enzymes n'ont pas les mêmes caractéristiques vis-à-vis de l'imatinib et son métabolisme. Le cytochrome CYP2C8, contrairement au cytochrome CYP3A4, est une enzyme polymorphique de haute affinité pour l'imatinib. En effet, sa structure se superpose mieux au chromophore des substrats du cytochrome CYP2C8 qu'à celui des substrats du cytochrome CYP3A4. Le cytochrome CYP2C8 est saturable en présence de fortes concentrations en imatinib. Les deux enzymes génèrent des spectres de métabolites différents, bien qu'elles partagent de nombreux substrats, car leurs sites actifs sont de même taille mais de conformations différentes (94). Le cytochrome CYP2C8 est ainsi principalement impliqué dans la *N*-déméthylation de l'imatinib qu'il catalyse plus efficacement que le cytochrome CYP3A4, alors que plus des deux tiers de l'activité catalytique de ce dernier correspond à d'autres voies métaboliques (100,101). Il semble donc nécessaire, du fait de l'inactivation du cytochrome CYP3A4, de davantage considérer le rôle joué par le cytochrome CYP2C8 dans la pharmacologie de l'imatinib, ses polymorphismes génétiques, inducteurs et inhibiteurs étant des sources de variabilité de l'exposition plasmatique en imatinib et *N*-desméthylimatinib (100).

### **Dasatinib**

L'étude du métabolisme du dasatinib a montré que l'hydroxylation du chlorométhylphényle en position *ortho* et *para* constitue une voie métabolique majeure. Le métabolite M20 de type *para*-aminophénol et son sulfate sont en effet les principaux métabolites plasmatiques, l'exposition en M20 correspondant à 45% de l'exposition en dasatinib (62). La structure du dasatinib associée à la survenue de réactions d'hydroxylation du chlorométhylphényle laissent supposer que des métabolites intermédiaires réactifs de type quinone-imine et imine-méthylidène peuvent se former. La détection d'adduits du dasatinib inchangé et du dasatinib hydroxylé et dihydroxylé au glutathion après incubation de microsomes hépatiques en présence de dasatinib permet de confirmer cette hypothèse, tout comme

l'absence de détection d'adduits en présence de ketoconazole (63). Les adduits se forment tous au niveau du motif chlorométhylphényle, les auteurs proposent deux voies concourant à leur formation (Figure 26) (63) :

- l'hydroxylation du chlorométhylphényle en position *para* suivie d'une oxydation en une quinone-imine qui subit l'attaque nucléophile du glutathion au niveau de C<sub>3</sub> ou C<sub>5</sub> (plutôt en position 3 du fait de l'effet électroattracteur du Chlore et électrodonneur du groupement méthyle).
- l'oxydation du groupement méthyle du chlorométhylphényle en position *ortho* pour former un imine-méthylidène qui subit l'attaque nucléophile du glutathion au niveau du méthyle ou du C<sub>5</sub> adjacent.



**Figure 26** : Formation d'adduits au glutathion sur le dasatinib, d'après Li *et al* (63)

La synthèse d'analogues du dasatinib a permis de confirmer que les métabolites intermédiaires réactifs se forment par activation du cycle chlorométhylphényle. Des adduits au glutathion sont détectés qu'elles que soient les modifications réalisées au niveau de la pyridine et de la méthylpyrimidine. Les analogues ne possédant de groupement méthyle ni en position *ortho*, ni en position *para* ne forment que des adduits oxygénés au glutathion, vraisemblablement par absence de formation d'imine-méthylidène. Les analogues halogénés en position *para* sont capables de former des adduits déshalogénés et hydroxylés en présence de glutathion, probablement par déshalogénéation oxydative et formation d'une quinone-imine. Li *et*

*a/* ont également mis en évidence une inactivation du cytochrome CYP3A4 dans les incubations où des adduits au glutathion ont été détectés, suggérant ainsi que les métabolites réactifs du dasatinib pourraient être impliqués dans l'inactivation du cytochrome CYP3A4 (63). La bioactivation du dasatinib pourrait par ailleurs être impliquée dans son hépatotoxicité, son métabolite *para*-aminophénol ayant une structure similaire à celle du paracétamol, médicament hépatotoxique à forte dose par formation d'une quinone-imine.

## Erlotinib

L'étude du métabolisme de l'erlotinib révèle que deux des trois principales voies métaboliques pourraient concourir à la formation de métabolites intermédiaires réactifs (Figure 27, voie a) et b)).

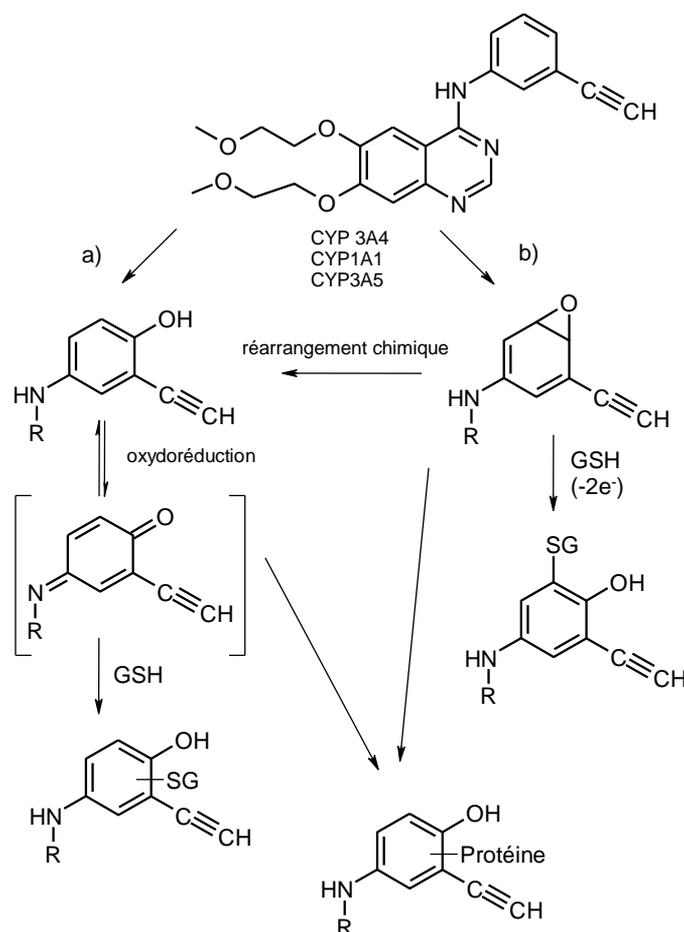


Figure 27 : Formation d'adduits au glutathion sur l'erlotinib, d'après Li *et al* (73)

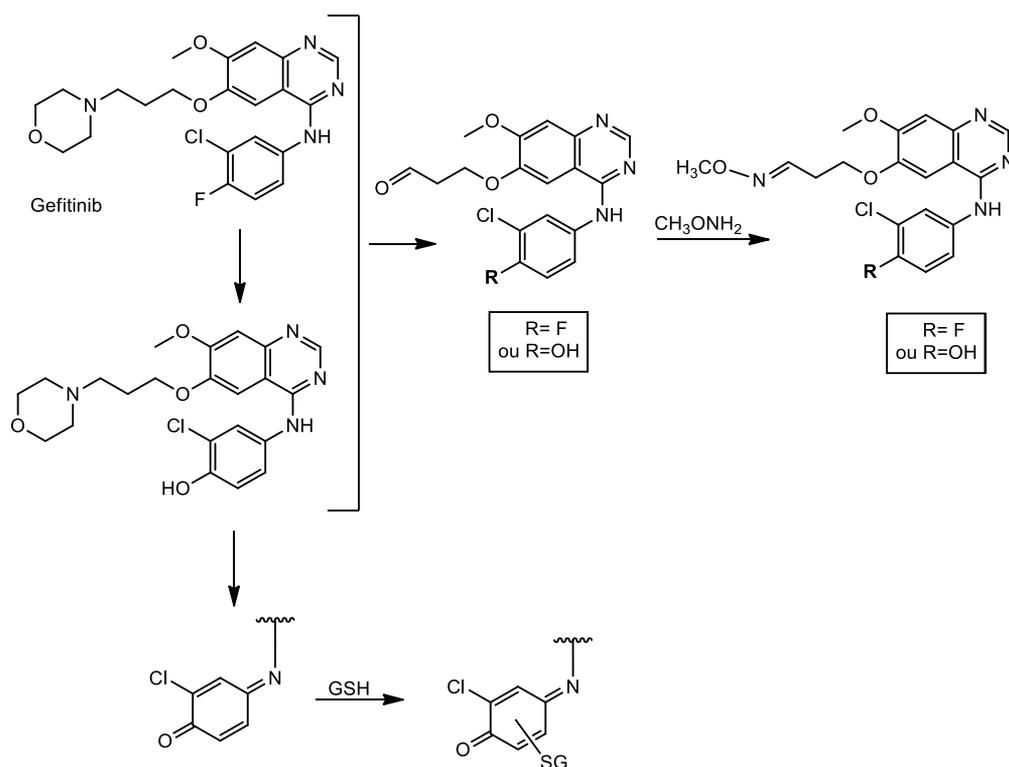
En incubant des microsomes hépatiques et des cytochromes recombinants (CYP3A4, CYP1A1, CYP2D6, CYP3A5, CYP1A2) en présence d'erlotinib et de glutathion, Li *et al* ont mis en évidence la formation d'adduits d'erlotinib monohydroxylé au glutathion, révélant ainsi la formation de métabolites intermédiaires électrophiles (73). Les cytochromes CYP3A4 et CYP1A1 sont les deux enzymes pour lesquelles les taux d'adduits détectés sont les plus élevés. L'absence de formation d'adduits au glutathion en présence d'inhibiteurs enzymatiques (ketoconazole et  $\alpha$ -naphthoflavone) permet d'impliquer le cytochrome CYP3A4 hépatique et le cytochrome CYP1A1 pulmonaire dans la bioactivation de l'erlotinib. Les auteurs proposent qu'elle passe par l'oxydation de l'erlotinib en dérivé *para*-aminophénol puis *para*-quinone-imine (Figure 27, voie a)) ou par la formation d'un époxyde (Figure 27, voie b)). En effet, il existe une corrélation entre la formation d'hydroxyerlotinib (dérivé *para*-aminophénol) et la formation d'adduits, sachant que les mêmes adduits sont détectés, que les incubations soient réalisées en présence d'erlotinib ou d'hydroxyerlotinib. Par ailleurs, l'utilisation d'époxyde hydrolase permet de réduire la formation d'adduits au glutathion. Une troisième voie de bioactivation pourrait générer des dérivés de type oxirène ou kétène *via* l'oxydation du groupement acétylène, mais Li *et al* réfutent cette hypothèse (73). D'une part, aucun adduit n'est observé en présence de *N*-acétyl-lysine, réactif mieux adapté que le glutathion pour la détection d'électrophiles forts tels que les oxirènes et kétènes. D'autre part, la substitution du groupement acétylène par un groupement cyano ou éthyle ne permet pas d'abolir la formation d'adduits. Li *et al* ont mis en évidence une inactivation irréversible des cytochromes CYP3A4 et CYP3A5, mais pas des cytochromes CYP1A1, CYP1A2 et CYP2D6, bien qu'ils soient également impliqués dans la formation d'adduits (73). Ils relient donc la formation de métabolites réactifs de l'erlotinib à la survenue d'interactions médicamenteuses par inactivation des cytochromes CYP3A4 et CYP3A5, mais aussi au développement de toxicités, notamment hépatiques et pulmonaires. Si les concentrations intra-hépatiques en erlotinib sont inconnues chez l'homme, l'erlotinib s'accumule dans le foie chez la souris, où il est trois fois plus concentré que dans le plasma (73). De plus, l'hydroxyerlotinib a une structure *para*-aminophénol capable de s'oxyder en quinone-imine, ce qui n'est pas sans rappeler le mécanisme d'hépatotoxicité du

paracetamol à forte dose. Par ailleurs, un faisceau d'arguments est en faveur de l'implication des métabolites réactifs dans la toxicité pulmonaire de l'erlotinib. L'erlotinib et son métabolite hydroxylé sont présents de façon prolongée dans les tissus tumoraux bronchiques, puisqu'ils sont détectables respectivement jusqu'à 13 et 7 jours après la dernière prise d'erlotinib (102). La pharmacocinétique de l'erlotinib et de l'hydroxyerlotinib diffèrent selon que les patients sont fumeurs ou non-fumeurs, les fumeurs étant plus susceptibles de développer des effets indésirables pulmonaires que les non-fumeurs (103). Or, la fumée de cigarettes se comporte comme un inducteur du cytochrome CYP1A1 pulmonaire capable d'accroître le métabolisme de l'erlotinib et donc la formation des métabolites réactifs. Enfin, ter Heine *et al* rapportent sous erlotinib un cas de pneumopathie interstitielle d'évolution fatale par insuffisance respiratoire, alors que les concentrations plasmatiques en erlotinib et hydroxyerlotinib sont très élevées du fait d'une interaction médicamenteuse avec un inhibiteur du cytochrome CYP3A4 (104).

### **Gefitinib**

La défluoration oxydative du gefitinib est une voie métabolique mineure caractérisée par le remplacement de l'atome de fluor présent en *para* sur le noyau phényle par un groupement hydroxyle. Elle est susceptible de générer des métabolites réactifs car la formation du métabolite *para*-aminophénol défluoré pourrait passer par l'époxydation de l'aniline en C<sub>4</sub>/C<sub>5</sub> et la formation d'une quinone-imine. La bioactivation et l'adduction au glutathion d'analogues chlorés et fluorés du dasatinib par déshalogénéation oxydative a déjà été décrite (63). En incubant des cytochromes recombinants en présence de gefitinib et de glutathion, Li *et al* ont mis en évidence que les cytochromes CYP3A4 et CYP1A1 sont les principales enzymes impliquées dans la défluoration oxydative du gefitinib et dans la formation d'adduits au glutathion (79). Ces derniers sont les produits de l'addition du glutathion au niveau de l'aniline de métabolites *para*-hydroxylés du gefitinib (*via* la formation d'intermédiaires quinone-imine comme nous l'avons déjà précédemment signalé pour d'autres ITK), leur formation étant corrélée à celle du métabolite *para*-aminophénol défluoré. L'utilisation d'inhibiteurs enzymatiques (ketoconazole et  $\alpha$ -naphthoflavone) permet de bloquer la formation d'adduits au glutathion. L'ajout

d'époxyde hydrolase dans les incubations n'a pas d'effet sur la formation des adduits par le cytochrome CYP3A4, alors qu'elle réduit leur production par le cytochrome CYP1A1. L'incubation des cytochromes recombinants CYP3A4 et CYP1A1 en présence du métabolite *para*-aminophénol défluoré conduit à la formation d'adduits monohydroxylés au glutathion, démontrant ainsi que ces enzymes sont capables d'oxyder le *para*-aminophénol en un métabolite réactif. Le gefitinib est donc bioactivé par les cytochromes CYP3A4 hépatiques et CYP1A1 pulmonaires en un métabolite intermédiaire réactif, principalement de type quinone-imine (79). La formation de cette quinone-imine est confirmée par les expériences réalisées par Liu *et al* dans le cadre de l'étude de la bioactivation du gefitinib qui mettent également en évidence d'autres métabolites réactifs : deux aldéhydes et un dérivé iminium (105). Les auteurs évoquent également la possible formation de dérivés nitroso à partir des amines primaires observées dans leurs incubations, bien qu'ils n'aient pas exploré davantage cette voie de bioactivation. La formation d'intermédiaires de type aldéhyde est suggérée par la détection de métabolites de type alcool et acide carboxylique et par la formation d'oximes en présence de méthoxylamine (Figure 28).



**Figure 28** : Formation d'adduits au glutathion et à la méthoxylamine sur le gefitinib, d'après Li *et al* (79) et Liu *et al* (105)

Les deux aldéhydes sont issus de l'oxydation de la chaîne latérale propoxymorpholine avec perte de la morpholine. Ces électrophiles forts sont secondairement détoxifiés par réduction en métabolites hydroxylés ou oxydation en acide carboxylique. Par ailleurs, la détection d'un métabolite hydroxylé ayant complètement perdu la chaîne latérale propoxymorpholine signe vraisemblablement la libération de morpholinopropanal, bien qu'il n'ait pas été mis en évidence du fait d'un métabolisme secondaire avec ouverture de la morpholine. L'absence de détection d'oximes lors de l'utilisation de ketoconazole ou de microsomes hépatiques issus de souris transgéniques n'exprimant pas le cytochrome CYP3A permet de confirmer la formation d'intermédiaires de type aldéhyde au cours du métabolisme du gefitinib. La formation d'un adduit en présence de cyanure de potassium suggère la formation d'un ion iminium au niveau de la morpholine. Le cytochrome CYP3A est la principale enzyme responsable de la formation des aldéhydes et de la quinone-imine, alors que de nombreux cytochromes (CYP3A4, CYP1A2, CYP2C, CYP2D6) sont impliqués dans la formation de l'ion iminium (105). La bioactivation du gefitinib par les cytochromes CYP3A4 et CYP1A1 hépatique et pulmonaire pourrait être impliquée dans la survenue de toxicités sous gefitinib. En se basant sur des données animales, il est probable que le gefitinib s'accumule dans le foie et les poumons chez l'homme (les concentrations intra-hépatiques et intra-pulmonaires sont 10 fois supérieures aux concentrations plasmatiques chez la souris) (79). Les effets indésirables pulmonaires sous gefitinib sont plus fréquemment décrits chez les patients fumeurs, chez qui le cytochrome CYP1A1 est induit par la fumée de cigarette. De plus, Li *et al* ont mis en évidence que les microsomes pulmonaires issus de sujets fumeurs sont capables de former 12 fois plus d'adduits au glutathion que ceux issus de sujets non-fumeurs (79). Par ailleurs, il a été observé que les patients sous gefitinib prétraités par cisplatine et docetaxel ou cisplatine et pemetrexed développent fréquemment des effets indésirables hépatiques. Cette augmentation de l'incidence de l'hépatotoxicité du gefitinib pourrait s'expliquer par l'induction du cytochrome CYP3A4 par le cisplatine *via* l'activation de Pregnane X Receptor (PXR) et donc par une bioactivation accrue du gefitinib en métabolites réactifs (105). Enfin Takeda *et al* imputent un cas d'hépatite

immuno-allergique documenté par un test de stimulation lymphocytaire positif en présence de gefitinib à l'activation du système immunitaire par un haptène issu de l'adduction d'un métabolite réactif aux protéines cellulaires (106).

## Lapatinib

L'étude du métabolisme du lapatinib a permis de mettre en évidence la formation de nombreux métabolites intermédiaires électrophiles réactifs (83). L'oxydation de la chaîne latérale du lapatinib peut être initiée par la *N*-oxydation de l'amine secondaire ou par l'oxydation du carbone  $\alpha$ , générant ainsi des dérivés nitroso, furfuraldéhyde et méthylsulfonylacétaldéhyde. La *O*-déalkylation est à l'origine du principal métabolite du lapatinib, un dérivé de type *para*-aminophénol qui peut être secondairement oxydé en quinone-imine (Figure 19, partie I, page 53) (83). Ces métabolites réactifs ont été impliqués dans l'inactivation des cytochromes CYP3A4 et CYP3A5 selon des mécanismes qui diffèrent entre les deux enzymes car elles ne catalysent pas les mêmes réactions : le cytochrome CYP3A4 est principalement impliqué dans la *N*-hydroxylation et la *N*-déalkylation du lapatinib, alors que le cytochrome CYP3A5 catalyse essentiellement des réactions de *O*-déalkylation et *C*-hydroxylation (107,108). En effet, un résidu phénylalanine à la position 108 de l'apoprotéine du cytochrome CYP3A4 permet d'orienter la chaîne latérale alkylamine vers le centre de l'hème par le biais d'une interaction avec le groupement chlorométhoxyphényle, alors qu'un résidu leucine chez le cytochrome CYP3A5 favorise plutôt l'interaction du groupement fluorobenzyle avec l'hème. Takakusa *et al*/et Barbara *et al*/ont mis en évidence que l'inactivation du cytochrome CYP3A4 par le lapatinib est un phénomène quasi-irréversible lié à la formation d'un complexe entre l'enzyme et un métabolite intermédiaire de type nitroso (107,108). La formation de cet intermédiaire capable de donner une paire d'électrons au fer ferreux de l'hème pour établir une liaison de coordination est attestée par la détection de son tautomère oxime dans des incubations de microsomes hépatiques en présence de lapatinib. Deux voies métaboliques peuvent concourir à la formation de dérivés nitroso/oxime par oxydation d'alkylamines secondaires telle que le lapatinib :

- la voie de la *N*-déalkylation ou voie de l'hydroxylamine primaire : elle consiste en une *N*-déalkylation initiale de l'alkylamine secondaire en

alkylamine primaire, suivie d'une *N*-hydroxylation en hydroxylamine primaire et d'une déshydrogénation oxydative en dérivé nitroso.

- la voie de la *N*-hydroxylation ou voie de l'hydroxylamine secondaire : elle débute par la *N*-hydroxylation de l'alkylamine primaire en hydroxylamine secondaire. Celle-ci subit alors une déshydrogénation oxydative en dérivé nitroène secondairement *N*-déalkylé en dérivé nitroso.

Le dérivé nitroso issu de l'oxydation de l'amine secondaire du lapatinib située entre le furane et le groupement méthanesulfonyle est vraisemblablement issu de la voie de la *N*-hydroxylation : tous les métabolites intermédiaires de cette voie sont détectés (hydroxylamine secondaire, nitroène, oxime), alors que l'hydroxylamine primaire ne l'est pas, malgré la formation de l'alkylamine primaire (Figure 19, partie I, page 53). Par ailleurs, les auteurs écartent l'hypothèse d'une inactivation irréversible du cytochrome CYP3A4 par établissement d'une liaison covalente avec la quinone-imine issue de l'oxydation du métabolite *O*-déalkylé de type *para*-aminophénol car aucun adduit n'a été détecté en présence de glutathion (107). Teng *et al* tirent la conclusion inverse puisqu'ils ont observé ces adduits et non les complexes enzyme-métabolite intermédiaire dans leurs incubations de microsomes hépatiques en présence de lapatinib ou de son métabolite *O*-déalkylé (93). Les différences entre ces trois études pourraient s'expliquer par les différentes orientations qu'adoptent les métabolites réactifs dans le site actif en fonction de sa conformation. Etant davantage impliqué dans la *N*-hydroxylation et la *N*-déalkylation du lapatinib que dans sa *O*-déalkylation, le cytochrome CYP3A4 semble majoritairement inactivé de façon quasi-irréversible par la formation d'un complexe avec un dérivé nitroso. Chan *et al* ont montré que le cytochrome CYP3A5 est inactivé de façon irréversible par établissement d'une liaison covalente entre l'enzyme et un métabolite intermédiaire issu de la *O*-déalkylation du lapatinib (109). En effet, des adduits du lapatinib *O*-déalkylé au glutathion ont été détectés lorsque le cytochrome CYP3A5 est incubé en présence de lapatinib. Dans ce cas, le métabolite réactif est vraisemblablement une quinone-imine puisque le métabolite *O*-déalkylé a une structure de type *para*-aminophénol, mais des études sont encore en cours pour déterminer le rôle dans l'inactivation du cytochrome CYP3A5 de deux métabolites *O*-déalkylés ayant également subis une hydroxylation du noyau quinazoline (110). Aucun intermédiaire

de type hydroxylamine ou oxime révélant la formation de dérivés nitroso n'est détecté au cours de ces incubations, ce qui concorde avec une activité catalytique davantage orientée vers la *O*-déalkylation que vers la *N*-hydroxylation du lapatinib et confirme que l'inactivation du cytochrome CYP3A5 n'est pas liée à la formation d'un complexe enzyme-métabolite intermédiaire. L'inactivation du cytochrome CYP3A5 par le lapatinib a été mise en évidence lorsque la testostérone est utilisée comme substrat de référence, mais pas avec le midazolam. Cela peut s'expliquer par le fait que la largeur du site actif du cytochrome CYP3A5 autorise de multiples modes de liaison à ses substrats (109). La bioactivation du lapatinib ne se traduira donc pas par des interactions médicamenteuses avec l'ensemble des substrats du cytochrome CYP3A5, mais sans doute surtout avec des substrats ne disposant pas de voies métaboliques alternatives et présentant un faible coefficient d'extraction hépatique (la clairance d'élimination étant alors fortement dépendante de la clairance intrinsèque) (109,110). Outre la survenue d'interactions médicamenteuses, l'inactivation des cytochromes CYP3A4 et CYP3A5 est responsable de l'auto-inhibition du métabolisme du lapatinib. Bence *et al* ont en effet observé au cours d'un essai de phase I une diminution de la clairance d'élimination du lapatinib au cours du temps, cette diminution s'accompagnant d'un allongement de la demi-vie et d'une augmentation de l'exposition en lapatinib au cours du temps (81). Les métabolites réactifs seraient par ailleurs impliqués dans la survenue d'effets indésirables hépatiques sous lapatinib, tout particulièrement la quinone-imine qui rappelle l'entité électrophile hépatotoxique du paracétamol. Aucun signal d'hépatotoxicité n'a été rapporté chez le rat et le chien, chez qui les métabolites de type *para*-aminophénol issus de la *O*-déalkylation (principale voie métabolique) sont si intensément sulfo- et glucurono-conjugués qu'ils sont indétectables dans le plasma. A l'inverse, chez l'homme, chez qui 4% de la dose en moyenne (et jusqu'à 19%) est éliminée sous forme de métabolite de ce type, l'hépatotoxicité du lapatinib a fait l'objet d'une alerte sanitaire de type « Black Box Warning » (83). De plus, sur la base de données obtenues chez le rat, le lapatinib semble s'accumuler dans le foie (111). Une étude rétrospective monocentrique a mis en évidence une augmentation de l'incidence de l'hépatotoxicité du lapatinib en cas d'administration concomitante à la dexaméthasone : les patients exposés à cette association ont 4,5 fois plus de

risque de développer une hépatotoxicité que les patients sous lapatinib seul. Cette observation permet de relier l'hépatotoxicité du lapatinib à la formation de métabolites réactifs puisque la dexaméthasone induit le métabolisme du lapatinib par le cytochrome CYP3A4 (112). Cette relation est confirmée par plusieurs observations réalisées *in vitro*. L'incubation d'hépatocytes murins en présence de lapatinib et dexaméthasone se traduit par une diminution de la viabilité cellulaire par rapport aux hépatocytes traités par lapatinib seul (112). Il en est de même dans les incubations d'hépatocytes humains en présence de lapatinib et dexaméthasone ou rifampicine, l'induction enzymatique majorant la formation de lapatinib *O*-déalkylé et d'adduits au glutathion et à la cystéine. *In vitro*, ce métabolite *O*-déalkylé est plus hépatotoxique que le lapatinib, ce qui suggère que l'hépatotoxicité du lapatinib est en partie due à sa bioactivation *via* *O*-déalkylation en un métabolite réactif (111).

## II. Métabolites et réponse aux ITK

### A. Métabolites plasmatiques

De plus en plus d'études sont en faveur de la réalisation d'un suivi thérapeutique pharmacologique (STP) pour les ITK (113). Le STP est un outil qui permet d'améliorer l'efficacité et la tolérance de certains médicaments grâce à l'individualisation de leur posologie basée sur la mesure de leurs concentrations plasmatiques. Il n'est mis en place que pour des médicaments présentant certaines caractéristiques telles qu'une marge thérapeutique étroite et/ou une forte variabilité pharmacocinétique interindividuelle et pour lesquels des relations pharmacocinétique-pharmacodynamie (PK-PD), c'est-à-dire des relations concentration-réponse et/ou concentration-toxicité, ont été décrites (114). Du fait de leur forte variabilité pharmacocinétique interindividuelle, les ITK sont donc de bons candidats à la mise en place d'un STP : une même dose administrée à différents patients se traduit par des concentrations plasmatiques très variables potentiellement responsables d'une inefficacité thérapeutique par sous-exposition ou de la survenue de toxicités par surexposition. Les ITK ont des métabolites actifs qui présentent parfois de fortes expositions plasmatiques et qui pourraient

contribuer à leur activité *in vivo*. Le suivi thérapeutique des concentrations plasmatiques de ces métabolites pourrait ainsi permettre, au même titre que celui des molécules mères, d'améliorer l'efficacité et la tolérance des ITK. Plusieurs travaux que nous allons présenter ici ont donc tenté de mettre en évidence des relations PK-PD pour certains métabolites des ITK.

### **Sunitinib**

De nombreuses relations PK-PD ont été mises en évidence pour le principal métabolite actif du sunitinib, le *N*-deséthylsunitinib, qui présente une exposition plasmatique élevée, correspondant à 23 à 47% de celle du sunitinib, et une puissance comparable à celle du sunitinib *in vitro* (52). Au cours d'un essai de phase I, la plupart des toxicités dose-limitante ont été observées chez des patients présentant des concentrations plasmatiques en sunitinib + *N*-deséthylsunitinib supérieures ou égales à 100 ng/ml (115). Plusieurs études ont par la suite confirmé l'existence de relations entre l'exposition plasmatique en sunitinib + *N*-deséthylsunitinib et d'une part la survenue de toxicités, d'autre part la réponse au traitement. Kloth *et al* ont rapporté l'existence d'une corrélation entre les concentrations plasmatiques résiduelles à l'équilibre en sunitinib + *N*-deséthylsunitinib et l'apparition d'une asthénie, alors que Houk *et al* la relie à l'AUC du sunitinib + *N*-deséthylsunitinib à l'état d'équilibre (116,117). Ces derniers ont également observé une relation entre les concentrations résiduelles en sunitinib + *N*-deséthylsunitinib et l'élévation de la pression artérielle diastolique ainsi qu'entre l'AUC<sub>0-28j</sub> du sunitinib + *N*-deséthylsunitinib et le développement de neutropénies (117). Nagata *et al* ont construit un modèle PK-PD décrivant l'évolution du chiffre des plaquettes grâce auquel ils prédisent que la survenue de thrombopénies sévères pourrait être évitée lorsque les concentrations plasmatiques en sunitinib + *N*-deséthylsunitinib sont maintenues en dessous d'un seuil de 100 ng/ml (118). Noda *et al* ont mis en évidence une augmentation de l'incidence des toxicités de haut grade ainsi qu'une réduction du temps jusqu'à échec du traitement et de la survie sans progression au-delà de ce même seuil de 100 ng/ml, la survenue de toxicités ayant des répercussions négatives sur la réponse au sunitinib du fait de réductions posologiques ou arrêts thérapeutiques secondaires. Par ailleurs, la majorité des

patients de cette étude présentant des concentrations en sunitinib + *N*-deséthylsunitinib supérieures à 50 ng/ml atteignent soit une stabilisation de la maladie soit une réponse partielle aux premières évaluations de leurs pathologies (119). Lankheet *et al*/n'ont pas mis en évidence de différences en termes de toxicités de haut grade entre les patients ayant des concentrations résiduelles en sunitinib + *N*-deséthylsunitinib supérieures et inférieures à 50 ng/ml (120). Houk *et al*/ ont par ailleurs mis en évidence des relations entre l'AUC du sunitinib + *N*-deséthylsunitinib à l'état d'équilibre et le temps jusqu'à progression et la survie globale (117). Ces relations PK-PD ont permis de formuler des seuils d'exposition en sunitinib + *N*-deséthylsunitinib exprimés sous forme de concentrations résiduelles, puisque l'existence d'une forte corrélation entre l'AUC<sub>0-24h</sub> du sunitinib + *N*-deséthylsunitinib à l'état d'équilibre et les concentrations résiduelles correspondantes permet de s'affranchir de la détermination de l'AUC (121). Il s'agit d'un seuil de 50 ng/ml à atteindre pour que le traitement soit efficace et d'un seuil de 100 ng/ml à ne pas dépasser pour éviter la survenue d'effets indésirables, le seuil de 50 ng/ml étant abaissé à 37,5 ng/ml lorsque le sunitinib est administré en continu et non selon le schéma discontinu habituel 4 semaines/6 (115,118,119,122). Ces seuils définissent une plage de concentrations efficaces en sunitinib + *N*-deséthylsunitinib qui correspond à la fourchette des concentrations plasmatiques efficaces chez la souris (123). Bien que ces seuils doivent être validés prospectivement avant qu'ils puissent être utilisés dans le cadre d'un STP, Lankheet *et al*/ ont d'ores et déjà montré qu'il est possible d'atteindre le seuil de 50 ng/ml chez des patients ayant des concentrations en sunitinib + *N*-deséthylsunitinib initialement inférieures en adaptant la posologie du sunitinib en fonction des résultats des dosages des concentrations résiduelles (120).

### **Imatinib**

Les données relatives à l'intérêt de suivre les concentrations plasmatiques en *N*-desméthylimatinib sont moins nombreuses et moins univoques que celles concernant le *N*-deséthylsunitinib. L'étude de Larson *et al*/, qui a contribué à la mise en place du suivi thérapeutique des concentrations plasmatiques en imatinib chez les patients atteints de LMC, suggère l'existence d'une relation inverse entre l'activité

catalytique de *N*-déméthylation et la réponse à l'imatinib. En effet, le ratio métabolique (rapport des concentrations plasmatiques résiduelles en *N*-desméthylimatinib sur les concentrations plasmatiques résiduelles en imatinib) et son écart type sont de 0,32 (0,15-0,84) dans le groupe de patients présentant le taux de réponse moléculaire majeure le plus faible, alors qu'ils sont légèrement inférieurs (0,21, [0,13-0,36]) dans le groupe de patients présentant le taux de réponse moléculaire majeure le plus élevé (124). A l'inverse, Green *et al* ont mis en évidence que l'activité catalytique du cytochrome CYP3A4 est plus importante chez les patients atteints de LMC en réponse moléculaire complète après 12 mois de traitement par imatinib que chez les patients atteignant seulement une réponse moléculaire partielle. Par ailleurs, ils n'ont observé aucune relation entre l'activité du cytochrome CYP3A4 et la survenue de neutropénies ou de thrombopénies (125). Cependant, les résultats de Green *et al* doivent être interprétés avec prudence et cela pour plusieurs raisons. D'une part, ils émanent d'une étude pilote n'ayant porté que sur 14 patients, alors que l'étude de Larson *et al* a comporté environ 350 patients. D'autre part, l'activité catalytique du cytochrome CYP3A4 a été déterminée en phénotypant les patients à différents moments (avant l'instauration du traitement par imatinib, sous imatinib ou après l'arrêt du traitement). Or, comme nous l'avons vu précédemment, l'imatinib est capable de modifier l'activité catalytique du cytochrome CYP3A4 par l'intermédiaire de son inactivation. Bien que la réalisation d'autres études sur les relations PK-PD du *N*-desméthylimatinib soit nécessaire avant qu'un STP ne soit mis en place, Gandia *et al* suggèrent que le suivi des concentrations plasmatiques en imatinib et *N*-desméthylimatinib pourrait permettre de mieux mettre en évidence la survenue d'interactions médicamenteuses ou de mauvaise observance que le suivi des seules concentrations plasmatiques en imatinib grâce à la détermination et au suivi du ratio métabolique (126).

## **Erlotinib**

Des données de corrélation PK-PD commencent à émerger pour le desméthylelertinib, mais elles ne permettent pas encore de statuer sur l'intérêt de réaliser un STP. Au cours d'une étude de phase II réalisée chez 18 patients atteints de cancers ORL avancés, Calvo *et al* ont mis en évidence une corrélation entre les

concentrations résiduelles à l'équilibre en desméthylertotinib et le temps jusqu'à progression et la survie globale. Ils n'ont par contre observé aucune relation entre les concentrations résiduelles à l'équilibre en desméthylertotinib et l'obtention d'une réponse partielle ou complète, vraisemblablement du fait du faible nombre de patients dans chaque catégorie de réponse objective, ni entre les concentrations résiduelles à l'équilibre en desméthylertotinib et la survenue de toxicités cutanées (127). A l'inverse, Mita *et al* n'ont pas pu relier l'exposition en desméthylertotinib ( $AUC_{0-24}$  et  $C_{max}$ ) et la réponse au traitement au cours d'une étude de phase II menée chez 42 patients atteints de cancers bronchiques avancés, mais le nombre limité de patients et la très forte variabilité inter- et intra-individuelle de l'exposition en desméthylertotinib a pu gêner la mise en évidence d'une telle relation (128).

### **Gefitinib**

Aucune corrélation PK-PD n'a encore été décrite pour le principal métabolite du gefitinib, le desméthylgefitinib, car son implication dans l'activité du gefitinib *in vivo* reste incertaine. Il a été rapporté que le desméthylgefitinib est 15 fois moins actif que le gefitinib pour inhiber la croissance cellulaire, vraisemblablement du fait d'une mauvaise pénétration à l'intérieur des cellules puisqu'il est aussi puissant et sélectif que le gefitinib à l'échelle subcellulaire (129). A l'inverse, Alfieri *et al* ont récemment mis en évidence que le desméthylgefitinib est capable de pénétrer à l'intérieur des cellules de lignées de cancers bronchiques sensibles au gefitinib pour inhiber la phosphorylation de l'EGFR et la prolifération cellulaire (130). Par ailleurs, comme le souligne son faible volume de distribution, le desméthylgefitinib serait principalement présent dans le compartiment plasmatique et peu distribué dans les tissus (77). L'intérêt de suivre ses concentrations plasmatiques, qui ne reflèteraient pas les concentrations intra-tumorales, serait alors limité. En effet, les concentrations intra-tumorales en desméthylgefitinib observées au cours d'études précliniques sont inférieures à ses concentrations plasmatiques (80,129). De plus, l'administration de desméthylgefitinib à des souris xénogreffées n'a aucun effet sur la croissance tumorale (129). Des résultats similaires ont été obtenus en étudiant les concentrations en desméthylgefitinib dans les tissus tumoraux de patientes atteintes de cancer du sein, où elles ne représentent que 40% des concentrations

plasmatiques (80). Toutefois, ces résultats doivent être interprétés avec prudence puisque ces différents travaux n'ont pas analysé les concentrations en desméthylgefitinib dans des tissus tumoraux bronchiques, mais dans des xénogreffes de lignées colorectales et des tumeurs du sein. La réalisation d'études chez des animaux porteurs de xénogreffes de lignées bronchiques ou chez des patients atteints de cancers bronchiques devrait permettre de statuer sur l'intérêt de suivre les concentrations plasmatiques en desméthylgefitinib pour améliorer l'efficacité et/ou la tolérance du gefitinib.

## B. Métabolites tumoraux

Bien que le métabolisme des ITK siège essentiellement au niveau du foie, plusieurs études suggèrent qu'ils peuvent être métabolisés au niveau des tissus tumoraux et que l'existence d'un tel métabolisme peut influencer la réponse au traitement (130–132). En effet, certains cytochromes comme CYP1A1 et CYP1B1 sont exprimés dans les cellules tumorales et l'induction de leur expression a été décrite pour plusieurs ITK (erlotinib, gefitinib, lapatinib, sunitinib, sorafenib) (130,132–134). Ces cytochromes, en générant des métabolites actifs ou inactifs, contribuent à l'activité anti-tumorale ou à l'instauration d'un mécanisme de résistance au traitement, ce qui explique que des différences d'expression et/ou d'activité des cytochromes sont parfois observées entre les patients répondeurs et les patients non répondeurs (132,135). Pour illustrer le rôle du métabolisme dans la réponse aux ITK, nous allons présenter des éléments du métabolisme tumoral de l'imatinib, du sorafenib et du gefitinib.

### Imatinib

En incubant des microsomes et des cytochromes recombinants en présence d'imatinib, RoCHAT *et al* ont montré que les cytochromes CYP1A1 et CYP1B1, qui sont exprimés au niveau des myéloblastes et des cellules lymphoïdes, participent au métabolisme de l'imatinib (132). Ils catalysent en effet des réactions de *N*-oxydation de la pyrimidine et d'hydroxylation de la pyridine et de la *para*-toluidine avec des valeurs de clairance intrinsèque équivalentes ou supérieures à celle du cytochrome CYP3A4 pour la formation du *N*-desméthylimatinib. Des études de docking *in silico*

révèlent non seulement qu'aucune de ces modifications structurales n'empêche la liaison de ces métabolites oxydés et hydroxylés à Bcr-Abl, mais qu'ils présentent des modes de liaison assez similaires à celui de l'imatinib. Selon sa position sur la pyridine, l'introduction du groupement hydroxyle peut générer un encombrement stérique qui empêche certains métabolites d'adopter l'exact mode de liaison de l'imatinib. Il s'ensuit alors une réorientation de la pyridine dans le site actif de Bcr-Abl, ce qui peut se traduire par une modification de l'affinité des métabolites pour l'enzyme. Celle-ci peut diminuer par perte de la liaison hydrogène observée chez l'imatinib inchangé entre la pyridine et le résidu Met318 de Bcr-Abl ou augmenter par établissement d'une liaison hydrogène supplémentaire entre le groupement hydroxyle et ce même résidu. Des données préliminaires suggèrent que les métabolites pourraient être rapidement pris en charge par des transporteurs d'efflux. A condition que leur exposition cellulaire soit suffisante, certains métabolites pourraient donc participer à l'activité de l'imatinib dans ses cellules cibles. La réalisation d'études supplémentaires tenant compte de leurs concentrations intracellulaires permettra sans doute de confirmer ou d'infirmer leur rôle dans l'activité anti-tumorale de l'imatinib (132).

### **Sorafenib**

Plusieurs études ont montré que les principaux métabolites du sorafenib, dont le sorafenib *N*-oxyde, subissent un métabolisme secondaire conduisant à la formation de métabolites mineurs (87,131,136). Si ce métabolisme secondaire consiste essentiellement en des réactions d'oxydation catalysées par le cytochrome CYP3A4, il a été mis en évidence que le sorafenib *N*-oxyde peut être réduit en sorafenib par les cytochromes CYP2B6 et CYP1A1 respectivement au niveau du foie et des tissus (131). En effet, l'atome d'oxygène du sorafenib *N*-oxyde peut interagir avec le fer ferreux de l'hème pour former un complexe de coordination qui facilite la rupture de la liaison entre les atomes d'azote et d'oxygène et donc sa réduction en sorafenib (131). Il est probable qu'à l'instar du tamoxifène et de son métabolite *N*-oxyde le sorafenib et le sorafenib *N*-oxyde subissent dans les tissus sous l'action des cytochromes CYP3A4 et CYP2B6/CYP1A1 des cycles d'oxydoréduction qui concourent à l'instauration d'un stress oxydant en partie responsable de l'effet anti-

tumoral (131). En effet, Coriat *et al*/ ont observé une augmentation de la production d'espèces oxygénées réactives (anion superoxyde, peroxyde d'hydrogène, monoxyde d'azote) dans des lignées de carcinome hépatocellulaire (CHC) exposées au sorafenib et ont pu relier sa capacité à induire un stress oxydant à ses effets cytostatique et cytotoxique aussi bien *in vitro* qu'*in vivo* (lignées cellulaires, modèle murin de CHC) (137). De plus, l'élévation des taux plasmatiques de protéines oxydées chez des patients atteints de CHC après 15 jours de traitement par sorafenib est corrélée à la survie sans progression et à la survie globale (137). Le sorafenib *N*-oxyde contribue donc probablement à l'activité du sorafenib *in vivo* par l'intermédiaire de sa réduction tumorale en sorafenib.

### **Gefitinib**

Plusieurs éléments observés dans des lignées cellulaires de cancer bronchique exposées au gefitinib ont permis à Alfieri *et al*/ de mettre en évidence que le gefitinib subit un métabolisme au niveau tumoral : la diminution des concentrations intracellulaires en gefitinib, l'apparition de métabolites dans le milieu extracellulaire et l'induction du cytochrome CYP1A1 après plusieurs heures d'incubation (130). De plus, l'ajout d'un inhibiteur du cytochrome CYP1A1, l' $\alpha$ -naphthoflavone, dans les incubations prévient la chute des concentrations intracellulaires en gefitinib. Bien qu'ils n'aient pas été bien définis, les métabolites détectés sont distincts des principaux métabolites plasmatiques (M523595, M537194, M387783). Ils sont inactifs *in vitro*, puisque l'inhibition de l'EGFR s'amoinde après plusieurs heures d'incubation, et ne participent probablement pas à l'activité du gefitinib *in vivo*. En effet, les patients présentant une forte activité du cytochrome CYP1A1 (génotype 3801 : T/C ou C/C) répondent moins bien aux ITK anti-EGFR que les patients ayant une activité enzymatique normale (génotype 3801 : T/T) et le polymorphisme CYP1A1\*2A (3801 : T→C) est un facteur prédictif de réponse au traitement (130,135). Bien qu'ils soient inactifs, l'étude des métabolites tumoraux du gefitinib pourrait se révéler intéressante. L'induction du métabolisme tumoral du gefitinib étant la conséquence de l'inhibition de voies de signalisation situées en aval de l'EGFR et impliquées dans la régulation de la transcription de nombreux gènes, dont celui du cytochrome CYP1A1, elle n'est observée que dans les lignées sensibles au

gefitinib. La détection de métabolites dans les tissus tumoraux pulmonaires pourrait donc constituer une évaluation précoce de la sensibilité au gefitinib. Par ailleurs, Alfieri *et al* évoquent la possibilité d'optimiser le traitement des patients présentant un fort métabolisme tumoral en améliorant l'exposition de la tumeur au gefitinib *via* l'administration d'inhibiteurs du cytochrome CYP1A1 (130).

## Conclusion

---

Au cours des dernières années, l'étude des mécanismes de l'oncogenèse et des relations structure-activité des ITK a très fortement contribué au développement de cette famille thérapeutique. Ces médicaments anticancéreux oraux sont très fortement métabolisés au niveau hépatique en métabolites actifs, inactifs et réactifs, dont les différentes implications pharmacologiques ont été illustrées par les études que nous venons de présenter. Les métabolites réactifs électrophiles sont capables d'interagir avec les groupements nucléophiles des protéines pour former des complexes de coordination ou des adduits. Ces derniers sont impliqués dans l'inactivation des cytochromes qui les génèrent, avec pour conséquences l'auto-inhibition du métabolisme de la molécule mère et la survenue d'interactions médicamenteuses avec les autres substrats de l'enzyme inactivée. Les métabolites réactifs, en modulant l'activité des cytochromes, contribuent à la forte variabilité pharmacocinétique interindividuelle des ITK. De plus, leurs métabolites réactifs pourraient être responsables du développement de toxicités, notamment hépatiques et pulmonaires, *via* la formation d'adduits aux protéines. Par ailleurs, les ITK ont des métabolites actifs parfois présents à fortes concentrations dans le compartiment plasmatique qui peuvent contribuer à leur activité *in vivo*, comme le montrent les relations PK-PD que nous avons décrites. Lorsqu'elles existent, ces relations permettent de justifier la réalisation d'un suivi thérapeutique pharmacologique (STP) des concentrations plasmatiques des métabolites actifs des ITK pour améliorer l'efficacité et la tolérance du traitement. Il sera toutefois nécessaire de prouver cliniquement la faisabilité et l'utilité du STP avant qu'il ne soit réalisé en routine. Enfin, les ITK peuvent être métabolisés au niveau tumoral en métabolites actifs ou inactifs qui contribuent à influencer la réponse au traitement *via* leur participation à l'activité anti-tumorale ou à l'instauration d'un mécanisme de résistance au traitement. L'étude des métabolites des ITK présents dans le compartiment plasmatique ou dans les tissus tumoraux pourrait donc constituer un outil menant à une optimisation et une personnalisation du traitement des cancers par les ITK.

# Bibliographie

---

1. Manning G, Whyte DB, Martinez R, Hunter T, Sudarsanam S. The protein kinase complement of the human genome. *Science*. 2002;298(5600):1912-34.
2. Robinson DR, Wu YM, Lin SF. The protein tyrosine kinase family of the human genome. *Oncogene*. 2000;19(49):5548-57.
3. Hubbard SR, Till JH. Protein tyrosine kinase structure and function. *Annu Rev Biochem*. 2000;69:373-98.
4. Bennisroune A, Gardin A, Aunis D, Crémel G, Hubert P. Tyrosine kinase receptors as attractive targets of cancer therapy. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2004;50(1):23-38.
5. Hanks SK, Hunter T. Protein kinases 6. The eukaryotic protein kinase superfamily: kinase (catalytic) domain structure and classification. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. 1995;9(8):576-96.
6. Hubbard SR. Protein tyrosine kinases: autoregulation and small-molecule inhibition. *Curr Opin Struct Biol*. 2002;12(6):735-41.
7. Hubbard SR. Structural analysis of receptor tyrosine kinases. *Prog Biophys Mol Biol*. 1999;71(3-4):343-58.
8. Zhang J, Yang PL, Gray NS. Targeting cancer with small molecule kinase inhibitors. *Nat Rev Cancer*. 2009;9(1):28-39.
9. Hubbard SR, Miller WT. Receptor tyrosine kinases: mechanisms of activation and signaling. *Curr Opin Cell Biol*. 2007;19(2):117-23.
10. Roskoski R. A historical overview of protein kinases and their targeted small molecule inhibitors. *Pharmacol Res*. 2015;100:1-23.
11. Lemmon MA, Schlessinger J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell*. 2010;141(7):1117-34.
12. Blume-Jensen P, Hunter T. Oncogenic kinase signalling. *Nature*. 2001;411(6835):355-65.
13. Futreal PA, Coin L, Marshall M, Down T, Hubbard T, Wooster R, et al. A census of human cancer genes. *Nat Rev Cancer*. 2004;4(3):177-83.
14. Porter AC, Vaillancourt RR. Tyrosine kinase receptor-activated signal transduction pathways which lead to oncogenesis. *Oncogene*. 1998;17(11 Reviews):1343-52.
15. Wu P, Nielsen TE, Clausen MH. FDA-approved small-molecule kinase inhibitors. *Trends Pharmacol Sci*. 2015;36(7):422-39.

16. Capdeville R, Buchdunger E, Zimmermann J, Matter A. Glivec (STI571, imatinib), a rationally developed, targeted anticancer drug. *Nat Rev Drug Discov.* 2002;1(7):493-502.
17. Zimmermann J, Buchdunger E, Mett H, Meyer T, Lydon NB, Traxler P. Phenylamino-pyrimidine (PAP) — derivatives: a new class of potent and highly selective PDGF-receptor autophosphorylation inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett.* 1996;6(11):1221-6.
18. Zimmermann J, Buchdunger E, Mett H, Meyer T, Lydon NB. Potent and selective inhibitors of the Abl-kinase: phenylamino-pyrimidine (PAP) derivatives. *Bioorg Med Chem Lett.* 1997;7(2):187-92.
19. Deininger M, Buchdunger E, Druker BJ. The development of imatinib as a therapeutic agent for chronic myeloid leukemia. *Blood.* 2005;105(7):2640-53.
20. Nagar B, Bornmann WG, Pellicena P, Schindler T, Veach DR, Miller WT, et al. Crystal structures of the kinase domain of c-Abl in complex with the small molecule inhibitors PD173955 and imatinib (STI-571). *Cancer Res.* 2002;62(15):4236-43.
21. Schindler T, Bornmann W, Pellicena P, Miller WT, Clarkson B, Kuriyan J. Structural mechanism for STI-571 inhibition of abelson tyrosine kinase. *Science.* 2000;289(5486):1938-42.
22. Mol CD, Dougan DR, Schneider TR, Skene RJ, Kraus ML, Scheibe DN, et al. Structural basis for the autoinhibition and STI-571 inhibition of c-Kit tyrosine kinase. *J Biol Chem.* 2004;279(30):31655-63.
23. Deininger M, Deininger MVN. Imatinib – an overview. *Hematol Meet Rep Former Haematol Rep* [Internet]. 2009;1(8). Disponible sur: <http://www.pagepress.org/journals/index.php/hmr/article/view/277>
24. Das J, Chen P, Norris D, Padmanabha R, Lin J, Moquin RV, et al. 2-aminothiazole as a novel kinase inhibitor template. Structure-activity relationship studies toward the discovery of *N*-(2-chloro-6-methylphenyl)-2-[[6-[4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinyl]-2-methyl-4-pyrimidinyl]amino)]-1,3-thiazole-5-carboxamide (dasatinib, BMS-354825) as a potent pan-Src kinase inhibitor. *J Med Chem.* 2006;49(23):6819-32.
25. Lombardo LJ, Lee FY, Chen P, Norris D, Barrish JC, Behnia K, et al. Discovery of *N*-(2-chloro-6-methylphenyl)-2-(6-(4-(2-hydroxyethyl)piperazin-1-yl)-2-methylpyrimidin-4-ylamino)thiazole-5-carboxamide (BMS-354825), a dual Src/Abl kinase inhibitor with potent antitumor activity in preclinical assays. *J Med Chem.* 2004;47(27):6658-61.
26. Manley PW, Cowan-Jacob SW, Mestan J. Advances in the structural biology, design and clinical development of Bcr-Abl kinase inhibitors for the treatment of chronic myeloid leukaemia. *Biochim Biophys Acta.* 2005;1754(1-2):3-13.

27. Tokarski JS, Newitt JA, Chang CYJ, Cheng JD, Wittekind M, Kiefer SE, et al. The structure of Dasatinib (BMS-354825) bound to activated ABL kinase domain elucidates its inhibitory activity against imatinib-resistant ABL mutants. *Cancer Res.* 2006;66(11):5790-7.
28. O'Hare T, Walters DK, Deininger MWN, Druker BJ. AMN107: tightening the grip of imatinib. *Cancer Cell.* 2005;7(2):117-9.
29. Manley PW, Stiefl N, Cowan-Jacob SW, Kaufman S, Mestan J, Wartmann M, et al. Structural resemblances and comparisons of the relative pharmacological properties of imatinib and nilotinib. *Bioorg Med Chem.* 2010;18(19):6977-86.
30. Weisberg E, Manley P, Mestan J, Cowan-Jacob S, Ray A, Griffin JD. AMN107 (nilotinib): a novel and selective inhibitor of BCR-ABL. *Br J Cancer.* 2006;94(12):1765-9.
31. Shukla S, Chufan EE, Singh S, Skoumbourdis AP, Kapoor K, Boxer MB, et al. Elucidation of the structural basis of interaction of the BCR-ABL kinase inhibitor, nilotinib (Tasigna) with the human ABC drug transporter P-glycoprotein. *Leukemia.* 2014;28(4):961-4.
32. Shukla S, Kouanda A, Silverton L, Talele TT, Ambudkar SV. Pharmacophore modeling of nilotinib as an inhibitor of ATP-binding cassette drug transporters and BCR-ABL kinase using a three-dimensional quantitative structure-activity relationship approach. *Mol Pharm.* 2014;11(7):2313-22.
33. Manley PW, Cowan-Jacob SW, Fendrich G, Mestan J. Molecular Interactions between the Highly Selective pan-Bcr-Abl Inhibitor, AMN107, and the Tyrosine Kinase Domain of Abl. In: *ASH Annual Meeting Abstracts.* 2005. p. 3365.
34. Weisberg E, Manley PW, Breitenstein W, Brügger J, Cowan-Jacob SW, Ray A, et al. Characterization of AMN107, a selective inhibitor of native and mutant Bcr-Abl. *Cancer Cell.* 2005;7(2):129-41.
35. Denny WA, Rewcastle GW, Bridges AJ, Fry DW, Kraker AJ. Structure-activity relationships for 4-anilinoquinazolines as potent inhibitors at the ATP binding site of the epidermal growth factor receptor in vitro. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 1996;23(5):424-7.
36. Denny WA. The 4-anilinoquinazoline class of inhibitors of the erbB family of receptor tyrosine kinases. *Farm Soc Chim Ital* 1989. 2001;56(1-2):51-6.
37. Stamos J, Sliwkowski MX, Eigenbrot C. Structure of the epidermal growth factor receptor kinase domain alone and in complex with a 4-anilinoquinazoline inhibitor. *J Biol Chem.* 2002;277(48):46265-72.
38. Barker AJ, Gibson KH, Grundy W, Godfrey AA, Barlow JJ, Healy MP, et al. Studies leading to the identification of ZD1839 (IRESSA): an orally active, selective epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor targeted to the treatment of cancer. *Bioorg Med Chem Lett.* 2001;11(14):1911-4.

39. Yun C-H, Boggon TJ, Li Y, Woo MS, Greulich H, Meyerson M, et al. Structures of lung cancer-derived EGFR mutants and inhibitor complexes: mechanism of activation and insights into differential inhibitor sensitivity. *Cancer Cell*. 2007;11(3):217-27.
40. Petrov KG, Zhang Y-M, Carter M, Cockerill GS, Dickerson S, Gauthier CA, et al. Optimization and SAR for dual ErbB-1/ErbB-2 tyrosine kinase inhibition in the 6-furanylquinazoline series. *Bioorg Med Chem Lett*. 2006;16(17):4686-91.
41. Zhang Y-M, Cockerill S, Guntrip SB, Rusnak D, Smith K, Vanderwall D, et al. Synthesis and SAR of potent EGFR/erbB2 dual inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*. 2004;14(1):111-4.
42. Wood ER, Truesdale AT, McDonald OB, Yuan D, Hassell A, Dickerson SH, et al. A unique structure for epidermal growth factor receptor bound to GW572016 (Lapatinib): relationships among protein conformation, inhibitor off-rate, and receptor activity in tumor cells. *Cancer Res*. 2004;64(18):6652-9.
43. Sun L, Tran N, Tang F, App H, Hirth P, McMahon G, et al. Synthesis and biological evaluations of 3-substituted indolin-2-ones: a novel class of tyrosine kinase inhibitors that exhibit selectivity toward particular receptor tyrosine kinases. *J Med Chem*. 1998;41(14):2588-603.
44. Sun L, Liang C, Shirazian S, Zhou Y, Miller T, Cui J, et al. Discovery of 5-[5-fluoro-2-oxo-1,2-dihydroindol-(3Z)-ylidenemethyl]-2,4-dimethyl-1H-pyrrole-3-carboxylic acid (2-diethylaminoethyl)amide, a novel tyrosine kinase inhibitor targeting vascular endothelial and platelet-derived growth factor receptor tyrosine kinase. *J Med Chem*. 2003;46(7):1116-9.
45. McTigue M, Murray BW, Chen JH, Deng Y-L, Solowiej J, Kania RS. Molecular conformations, interactions, and properties associated with drug efficiency and clinical performance among VEGFR TK inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(45):18281-9.
46. Wilhelm S, Carter C, Lynch M, Lowinger T, Dumas J, Smith RA, et al. Discovery and development of sorafenib: a multikinase inhibitor for treating cancer. *Nat Rev Drug Discov*. 2006;5(10):835-44.
47. Smith RA, Barbosa J, Blum CL, Bobko MA, Caringal YV, Dally R, et al. Discovery of heterocyclic ureas as a new class of raf kinase inhibitors: identification of a second generation lead by a combinatorial chemistry approach. *Bioorg Med Chem Lett*. 2001;11(20):2775-8.
48. Harris PA, Bloor A, Cheung M, Kumar R, Crosby RM, Davis-Ward RG, et al. Discovery of 5-[[4-[(2,3-dimethyl-2H-indazol-6-yl)methylamino]-2-pyrimidinyl]amino]-2-methyl-benzenesulfonamide (Pazopanib), a novel and potent vascular endothelial growth factor receptor inhibitor. *J Med Chem*. 2008;51(15):4632-40.

49. Jia Y, Zhang J, Feng J, Xu F, Pan H, Xu W. Design, synthesis and biological evaluation of pazopanib derivatives as antitumor agents. *Chem Biol Drug Des.* 2014;83(3):306-16.
50. Peng B, Hayes M, Resta D, Racine-Poon A, Druker BJ, Talpaz M, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of imatinib in a phase I trial with chronic myeloid leukemia patients. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2004;22(5):935-42.
51. Gschwind H-P, Pfaar U, Waldmeier F, Zollinger M, Sayer C, Zbinden P, et al. Metabolism and disposition of imatinib mesylate in healthy volunteers. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem.* 2005;33(10):1503-12.
52. Di Gion P, Kanefendt F, Lindauer A, Scheffler M, Doroshenko O, Fuhr U, et al. Clinical pharmacokinetics of tyrosine kinase inhibitors: focus on pyrimidines, pyridines and pyrroles. *Clin Pharmacokinet.* 2011;50(9):551-603.
53. Van Erp NP, Gelderblom H, Guchelaar H-J. Clinical pharmacokinetics of tyrosine kinase inhibitors. *Cancer Treat Rev.* 2009;35(8):692-706.
54. Marull M, Rochat B. Fragmentation study of imatinib and characterization of new imatinib metabolites by liquid chromatography-triple-quadrupole and linear ion trap mass spectrometers. *J Mass Spectrom JMS.* 2006;41(3):390-404.
55. Bolton AE, Peng B, Hubert M, Krebs-Brown A, Capdeville R, Keller U, et al. Effect of rifampicin on the pharmacokinetics of imatinib mesylate (Gleevec, STI571) in healthy subjects. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2004;53(2):102-6.
56. Bornhäuser M, Pursche S, Bonin M, Freiberg-Richter J, Jenke A, Illmer T, et al. Elimination of imatinib mesylate and its metabolite *N*-desmethyl-imatinib. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2005;23(16):3855-6; author reply 3857-8.
57. Eechoute K, Fransson MN, Reyners AK, de Jong FA, Sparreboom A, van der Graaf WTA, et al. A long-term prospective population pharmacokinetic study on imatinib plasma concentrations in GIST patients. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 2012;18(20):5780-7.
58. Judson I, Ma P, Peng B, Verweij J, Racine A, di Paola ED, et al. Imatinib pharmacokinetics in patients with gastrointestinal stromal tumour: a retrospective population pharmacokinetic study over time. EORTC Soft Tissue and Bone Sarcoma Group. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2005;55(4):379-86.
59. Guilhot F, Hughes TP, Cortes J, Druker BJ, Baccarani M, Gathmann I, et al. Plasma exposure of imatinib and its correlation with clinical response in the Tyrosine Kinase Inhibitor Optimization and Selectivity Trial. *Haematologica.* 2012;97(5):731-8.
60. Schiavon G, Eechoute K, Mathijssen RHJ, de Bruijn P, van der Bol JM, Verweij J, et al. Biliary excretion of imatinib and its active metabolite CGP74588 during severe hepatic dysfunction. *J Clin Pharmacol.* 2012;52(7):1115-20.

61. Ramalingam S, Lagattuta TF, Egorin MJ, Hayes MJ, Ramanathan RK. Biliary excretion of imatinib mesylate and its metabolite CGP 74588 in humans. *Pharmacotherapy*. 2004;24(9):1232-5.
62. Christopher LJ, Cui D, Wu C, Luo R, Manning JA, Bonacorsi SJ, et al. Metabolism and disposition of dasatinib after oral administration to humans. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem*. 2008;36(7):1357-64.
63. Li X, He Y, Ruiz CH, Koenig M, Cameron MD, Vojtkovsky T. Characterization of dasatinib and its structural analogs as CYP3A4 mechanism-based inactivators and the proposed bioactivation pathways. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem*. 2009;37(6):1242-50.
64. Wang L, Christopher LJ, Cui D, Li W, Iyer R, Humphreys WG, et al. Identification of the human enzymes involved in the oxidative metabolism of dasatinib: an effective approach for determining metabolite formation kinetics. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem*. 2008;36(9):1828-39.
65. Kagan M, Tran P, Fischer V, Savage P, Smith T, Tanaka C, et al. Safety, Pharmacokinetics (PK), Metabolism, and Mass Balance of [14C]-AMN107, a Novel Aminopyrimidine Inhibitor of Bcr-Abl Tyrosine Kinase, in Healthy Subjects. In: *ASH Annual Meeting Abstracts*. 2005. p. 4887.
66. FDA Drug Approval Package Application Number 22-068 (Nilotinib) - Clinical Pharmacology and Biopharmaceutics Review(s) [Internet]. [cité 11 août 2015]. Disponible sur: [http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/nda/2007/022068s000\\_ClinPharmR.pdf](http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2007/022068s000_ClinPharmR.pdf)
67. Tanaka C, Yin OQP, Sethuraman V, Smith T, Wang X, Grouss K, et al. Clinical pharmacokinetics of the BCR-ABL tyrosine kinase inhibitor nilotinib. *Clin Pharmacol Ther*. 2010;87(2):197-203.
68. FDA Drug Approval Package Application Number 22-068 (Nilotinib) - Pharmacology Review [Internet]. [cité 11 août 2015]. Disponible sur: [http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/nda/2007/022068s000\\_PharmR\\_P1.pdf](http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2007/022068s000_PharmR_P1.pdf)
69. Yin OQP, Gallagher N, Tanaka C, Fisher D, Sethuraman V, Zhou W, et al. Effects of hepatic impairment on the pharmacokinetics of nilotinib: an open-label, single-dose, parallel-group study. *Clin Ther*. 2009;31 Pt 2:2459-69.
70. Li J, Zhao M, He P, Hidalgo M, Baker SD. Differential metabolism of gefitinib and erlotinib by human cytochrome P450 enzymes. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2007;13(12):3731-7.
71. Ling J, Johnson KA, Miao Z, Rakhit A, Pantze MP, Hamilton M, et al. Metabolism and excretion of erlotinib, a small molecule inhibitor of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase, in healthy male volunteers. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem*. 2006;34(3):420-6.

72. Scheffler M, Di Gion P, Doroshenko O, Wolf J, Fuhr U. Clinical pharmacokinetics of tyrosine kinase inhibitors: focus on 4-anilinoquinazolines. *Clin Pharmacokinet*. 2011;50(6):371-403.
73. Li X, Kamenecka TM, Cameron MD. Cytochrome P450-mediated bioactivation of the epidermal growth factor receptor inhibitor erlotinib to a reactive electrophile. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem*. 2010;38(7):1238-45.
74. Li J, Karlsson MO, Brahmer J, Spitz A, Zhao M, Hidalgo M, et al. CYP3A phenotyping approach to predict systemic exposure to EGFR tyrosine kinase inhibitors. *J Natl Cancer Inst*. 2006;98(23):1714-23.
75. Swaisland HC, Cantarini MV, Fuhr R, Holt A. Exploring the relationship between expression of cytochrome P450 enzymes and gefitinib pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet*. 2006;45(6):633-44.
76. McKillop D, McCormick AD, Miles GS, Phillips PJ, Pickup KJ, Bushby N, et al. In vitro metabolism of gefitinib in human liver microsomes. *Xenobiotica Fate Foreign Compd Biol Syst*. 2004;34(11-12):983-1000.
77. McKillop D, Hutchison M, Partridge EA, Bushby N, Cooper CMF, Clarkson-Jones JA, et al. Metabolic disposition of gefitinib, an epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, in rat, dog and man. *Xenobiotica Fate Foreign Compd Biol Syst*. 2004;34(10):917-34.
78. McKillop D, McCormick AD, Millar A, Miles GS, Phillips PJ, Hutchison M. Cytochrome P450-dependent metabolism of gefitinib. *Xenobiotica Fate Foreign Compd Biol Syst*. 2005;35(1):39-50.
79. Li X, Kamenecka TM, Cameron MD. Bioactivation of the epidermal growth factor receptor inhibitor gefitinib: implications for pulmonary and hepatic toxicities. *Chem Res Toxicol*. 2009;22(10):1736-42.
80. McKillop D, Partridge EA, Kemp JV, Spence MP, Kendrew J, Barnett S, et al. Tumor penetration of gefitinib (Iressa), an epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor. *Mol Cancer Ther*. 2005;4(4):641-9.
81. Bence AK, Anderson EB, Halepota MA, Doukas MA, DeSimone PA, Davis GA, et al. Phase I pharmacokinetic studies evaluating single and multiple doses of oral GW572016, a dual EGFR-ErbB2 inhibitor, in healthy subjects. *Invest New Drugs*. 2005;23(1):39-49.
82. Burris HA, Hurwitz HI, Dees EC, Dowlati A, Blackwell KL, O'Neil B, et al. Phase I safety, pharmacokinetics, and clinical activity study of lapatinib (GW572016), a reversible dual inhibitor of epidermal growth factor receptor tyrosine kinases, in heavily pretreated patients with metastatic carcinomas. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2005;23(23):5305-13.

83. Castellino S, O'Mara M, Koch K, Borts DJ, Bowers GD, MacLauchlin C. Human metabolism of lapatinib, a dual kinase inhibitor: implications for hepatotoxicity. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem*. 2012;40(1):139-50.
84. Speed B, Bu H-Z, Pool WF, Peng GW, Wu EY, Patyna S, et al. Pharmacokinetics, distribution, and metabolism of [14C]sunitinib in rats, monkeys, and humans. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem*. 2012;40(3):539-55.
85. Bello CL, Garrett M, Sherman L, Smeraglia J, Ryan B, Toh M. Pharmacokinetics of sunitinib malate in subjects with hepatic impairment. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2010;66(4):699-707.
86. Ghassabian S, Rawling T, Zhou F, Doddareddy MR, Tattam BN, Hibbs DE, et al. Role of human CYP3A4 in the biotransformation of sorafenib to its major oxidized metabolites. *Biochem Pharmacol*. 2012;84(2):215-23.
87. Lathia C, Lettieri J, Cihon F, Gallentine M, Radtke M, Sundaresan P. Lack of effect of ketoconazole-mediated CYP3A inhibition on sorafenib clinical pharmacokinetics. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2006;57(5):685-92.
88. Swift B, Nebot N, Lee JK, Han T, Proctor WR, Thakker DR, et al. Sorafenib hepatobiliary disposition: mechanisms of hepatic uptake and disposition of generated metabolites. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem*. 2013;41(6):1179-86.
89. Strumberg D, Awada A, Hirte H, Clark JW, Seeber S, Piccart P, et al. Pooled safety analysis of BAY 43-9006 (sorafenib) monotherapy in patients with advanced solid tumours: Is rash associated with treatment outcome? *Eur J Cancer Oxf Engl 1990*. 2006;42(4):548-56.
90. Heath EI, Chiorean EG, Sweeney CJ, Hodge JP, Lager JJ, Forman K, et al. A phase I study of the pharmacokinetic and safety profiles of oral pazopanib with a high-fat or low-fat meal in patients with advanced solid tumors. *Clin Pharmacol Ther*. 2010;88(6):818-23.
91. Deng Y, Sychterz C, Suttle AB, Dar MM, Bershas D, Negash K, et al. Bioavailability, metabolism and disposition of oral pazopanib in patients with advanced cancer. *Xenobiotica Fate Foreign Compd Biol Syst*. 2013;43(5):443-53.
92. Teo YL, Ho HK, Chan A. Formation of reactive metabolites and management of tyrosine kinase inhibitor-induced hepatotoxicity: a literature review. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2015;11(2):231-42.
93. Teng WC, Oh JW, New LS, Wahlin MD, Nelson SD, Ho HK, et al. Mechanism-based inactivation of cytochrome P450 3A4 by lapatinib. *Mol Pharmacol*. 2010;78(4):693-703.
94. Filppula AM, Neuvonen PJ, Backman JT. In vitro assessment of time-dependent inhibitory effects on CYP2C8 and CYP3A activity by fourteen protein kinase inhibitors. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem*. 2014;42(7):1202-9.

95. Kenny JR, Mukadam S, Zhang C, Tay S, Collins C, Galetin A, et al. Drug-drug interaction potential of marketed oncology drugs: in vitro assessment of time-dependent cytochrome P450 inhibition, reactive metabolite formation and drug-drug interaction prediction. *Pharm Res.* 2012;29(7):1960-76.
96. Teo YL, Ho HK, Chan A. Risk of tyrosine kinase inhibitors-induced hepatotoxicity in cancer patients: a meta-analysis. *Cancer Treat Rev.* 2013;39(2):199-206.
97. Zimmerlin A, Trunzer M, Faller B. CYP3A time-dependent inhibition risk assessment validated with 400 reference drugs. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem.* 2011;39(6):1039-46.
98. Li AC, Yu E, Ring SC, Chovan JP. Structural identification of imatinib cyanide adducts by mass spectrometry and elucidation of bioactivation pathway. *Rapid Commun Mass Spectrom RCM.* 2014;28(1):123-34.
99. Filppula AM, Laitila J, Neuvonen PJ, Backman JT. Potent mechanism-based inhibition of CYP3A4 by imatinib explains its liability to interact with CYP3A4 substrates. *Br J Pharmacol.* 2012;165(8):2787-98.
100. Filppula AM, Neuvonen M, Laitila J, Neuvonen PJ, Backman JT. Autoinhibition of CYP3A4 leads to important role of CYP2C8 in imatinib metabolism: variability in CYP2C8 activity may alter plasma concentrations and response. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem.* 2013;41(1):50-9.
101. Nebot N, Crettol S, d'Esposito F, Tattam B, Hibbs DE, Murray M. Participation of CYP2C8 and CYP3A4 in the *N*-demethylation of imatinib in human hepatic microsomes. *Br J Pharmacol.* 2010;161(5):1059-69.
102. Lankheet NAG, Schaake EE, Burgers SA, van Pel R, Beijnen JH, Huitema ADR, et al. Concentrations of Erlotinib in Tumor Tissue and Plasma in Non-Small-Cell Lung Cancer Patients After Neoadjuvant Therapy. *Clin Lung Cancer.* 2015;16(4):320-4.
103. Hamilton M, Wolf JL, Rusk J, Beard SE, Clark GM, Witt K, et al. Effects of smoking on the pharmacokinetics of erlotinib. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 2006;12(7 Pt 1):2166-71.
104. Ter Heine R, van den Bosch RTA, Schaefer-Prokop CM, Lankheet N a. G, Beijnen JH, Staaks GHA, et al. Fatal interstitial lung disease associated with high erlotinib and metabolite levels. A case report and a review of the literature. *Lung Cancer Amst Neth.* 2012;75(3):391-7.
105. Liu X, Lu Y, Guan X, Dong B, Chavan H, Wang J, et al. Metabolomics reveals the formation of aldehydes and iminium in gefitinib metabolism. *Biochem Pharmacol.* 2015;97(1):111-21.

106. Takeda M, Okamoto I, Fukuoka M, Nakagawa K. Successful treatment with erlotinib after gefitinib-related severe hepatotoxicity. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2010;28(17):e273-4.
107. Takakusa H, Wahlin MD, Zhao C, Hanson KL, New LS, Chan ECY, et al. Metabolic intermediate complex formation of human cytochrome P450 3A4 by lapatinib. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem*. 2011;39(6):1022-30.
108. Barbara JE, Kazmi F, Parkinson A, Buckley DB. Metabolism-dependent inhibition of CYP3A4 by lapatinib: evidence for formation of a metabolic intermediate complex with a nitroso/oxime metabolite formed via a nitrone intermediate. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem*. 2013;41(5):1012-22.
109. Chan ECY, New LS, Chua TB, Yap CW, Ho HK, Nelson SD. Interaction of lapatinib with cytochrome P450 3A5. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem*. 2012;40(7):1414-22.
110. Ho HK, Chan JCY, Hardy KD, Chan ECY. Mechanism-based inactivation of CYP450 enzymes: a case study of lapatinib. *Drug Metab Rev*. 2015;47(1):21-8.
111. Hardy KD, Wahlin MD, Papageorgiou I, Unadkat JD, Rettie AE, Nelson SD. Studies on the role of metabolic activation in tyrosine kinase inhibitor-dependent hepatotoxicity: induction of CYP3A4 enhances the cytotoxicity of lapatinib in HepaRG cells. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem*. 2014;42(1):162-71.
112. Teo YL, Saetaew M, Chanthawong S, Yap YS, Chan ECY, Ho HK, et al. Effect of CYP3A4 inducer dexamethasone on hepatotoxicity of lapatinib: clinical and in vitro evidence. *Breast Cancer Res Treat*. 2012;133(2):703-11.
113. Widmer N, Bardin C, Chatelut E, Paci A, Beijnen J, Levêque D, et al. Review of therapeutic drug monitoring of anticancer drugs part two--targeted therapies. *Eur J Cancer Oxf Engl 1990*. 2014;50(12):2020-36.
114. Widmer N, Csajka C, Werner D, Grouzmann E, Decosterd LA, Eap CB, et al. [Principles of therapeutic drug monitoring]. *Rev Médicale Suisse*. 2008;4(165):1644-8.
115. Faivre S, Delbaldo C, Vera K, Robert C, Lozahic S, Lassau N, et al. Safety, pharmacokinetic, and antitumor activity of SU11248, a novel oral multitarget tyrosine kinase inhibitor, in patients with cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2006;24(1):25-35.
116. Kloth JSL, Klümpen H-J, Yu H, Eechoute K, Samer CF, Kam BLR, et al. Predictive value of CYP3A and ABCB1 phenotyping probes for the pharmacokinetics of sunitinib: the ClearSun study. *Clin Pharmacokinet*. 2014;53(3):261-9.
117. Houk BE, Bello CL, Poland B, Rosen LS, Demetri GD, Motzer RJ. Relationship between exposure to sunitinib and efficacy and tolerability endpoints in patients

- with cancer: results of a pharmacokinetic/pharmacodynamic meta-analysis. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2010;66(2):357-71.
118. Nagata M, Ishiwata Y, Takahashi Y, Takahashi H, Saito K, Fujii Y, et al. Pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis of sunitinib-induced thrombocytopenia in Japanese patients with renal cell carcinoma. *Biol Pharm Bull*. 2015;38(3):402-10.
  119. Noda S, Otsuji T, Baba M, Yoshida T, Kageyama S, Okamoto K, et al. Assessment of Sunitinib-Induced Toxicities and Clinical Outcomes Based on Therapeutic Drug Monitoring of Sunitinib for Patients With Renal Cell Carcinoma. *Clin Genitourin Cancer*. 2015;13(4):350-8.
  120. Lankheet N a. G, Kloth JSL, Gadellaa-van Hooijdonk CGM, Cirkel GA, Mathijssen RHJ, Lolkema MPJK, et al. Pharmacokinetically guided sunitinib dosing: a feasibility study in patients with advanced solid tumours. *Br J Cancer*. 2014;110(10):2441-9.
  121. De Wit D, Gelderblom H, Sparreboom A, den Hartigh J, den Hollander M, König-Quartel JMC, et al. Midazolam as a phenotyping probe to predict sunitinib exposure in patients with cancer. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2014;73(1):87-96.
  122. Yu H, Steeghs N, Kloth JSL, de Wit D, van Hasselt JGC, van Erp NP, et al. Integrated semi-physiological pharmacokinetic model for both sunitinib and its active metabolite SU12662. *Br J Clin Pharmacol*. 2015;79(5):809-19.
  123. Mendel DB, Laird AD, Xin X, Louie SG, Christensen JG, Li G, et al. In vivo antitumor activity of SU11248, a novel tyrosine kinase inhibitor targeting vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor receptors: determination of a pharmacokinetic/pharmacodynamic relationship. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2003;9(1):327-37.
  124. Larson RA, Druker BJ, Guilhot F, O'Brien SG, Riviere GJ, Krahnke T, et al. Imatinib pharmacokinetics and its correlation with response and safety in chronic-phase chronic myeloid leukemia: a subanalysis of the IRIS study. *Blood*. 2008;111(8):4022-8.
  125. Gréen H, Skoglund K, Rommel F, Mirghani RA, Lotfi K. CYP3A activity influences imatinib response in patients with chronic myeloid leukemia: a pilot study on in vivo CYP3A activity. *Eur J Clin Pharmacol*. 2010;66(4):383-6.
  126. Gandia P, Arellano C, Lafont T, Huguet F, Malard L, Chatelut E. Should therapeutic drug monitoring of the unbound fraction of imatinib and its main active metabolite *N*-desmethyl-imatinib be developed? *Cancer Chemother Pharmacol*. 2013;71(2):531-6.
  127. Calvo E, Malik SN, Siu LL, Baillargeon GM, Irish J, Chin SF, et al. Assessment of erlotinib pharmacodynamics in tumors and skin of patients with head and neck cancer. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol ESMO*. 2007;18(4):761-7.

128. Mita AC, Papadopoulos K, de Jonge MJA, Schwartz G, Verweij J, Mita MM, et al. Erlotinib « dosing-to-rash »: a phase II inpatient dose escalation and pharmacologic study of erlotinib in previously treated advanced non-small cell lung cancer. *Br J Cancer*. 2011;105(7):938-44.
129. McKillop D, Guy SP, Spence MP, Kendrew J, Kemp JV, Bushby N, et al. Minimal contribution of desmethyl-gefitinib, the major human plasma metabolite of gefitinib, to epidermal growth factor receptor (EGFR)-mediated tumour growth inhibition. *Xenobiotica Fate Foreign Compd Biol Syst*. 2006;36(1):29-39.
130. Alfieri RR, Galetti M, Tramonti S, Andreoli R, Mozzoni P, Cavazzoni A, et al. Metabolism of the EGFR tyrosin kinase inhibitor gefitinib by cytochrome P450 1A1 enzyme in EGFR-wild type non small cell lung cancer cell lines. *Mol Cancer*. 2011;10:143.
131. Gillani TB, Rawling T, Murray M. Cytochrome P450-Mediated Biotransformation of Sorafenib and Its *N*-Oxide Metabolite: Implications for Cell Viability and Human Toxicity. *Chem Res Toxicol*. 2015;28:92-102.
132. Rochat B, Zoete V, Grosdidier A, von Grünigen S, Marull M, Michielin O. In vitro biotransformation of imatinib by the tumor expressed CYP1A1 and CYP1B1. *Biopharm Drug Dispos*. 2008;29(2):103-18.
133. Kuczynski EA, Lee CR, Man S, Chen E, Kerbel RS. Effects of Sorafenib Dose on Acquired Reversible Resistance and Toxicity in Hepatocellular Carcinoma. *Cancer Res*. 2015;75(12):2510-9.
134. Maayah ZH, El Gendy MAM, El-Kadi AO, Korashy HM. Sunitinib, a tyrosine kinase inhibitor, induces cytochrome P450 1A1 gene in human breast cancer MCF7 cells through ligand-independent aryl hydrocarbon receptor activation. *Arch Toxicol*. 2013;87(5):847-56.
135. Nie Q, Yang X-N, An S-J, Zhang X-C, Yang J-J, Zhong W-Z, et al. CYP1A1\*2A polymorphism as a predictor of clinical outcome in advanced lung cancer patients treated with EGFR-TKI and its combined effects with EGFR intron 1 (CA)<sub>n</sub> polymorphism. *Eur J Cancer Oxf Engl 1990*. 2011;47(13):1962-70.
136. Cui PH, Rawling T, Gillani TB, Bourget K, Wang X-S, Zhou F, et al. Anti-proliferative actions of *N*'-desmethylsorafenib in human breast cancer cells. *Biochem Pharmacol*. 2013;86(3):419-27.
137. Coriat R, Nicco C, Chéreau C, Mir O, Alexandre J, Ropert S, et al. Sorafenib-induced hepatocellular carcinoma cell death depends on reactive oxygen species production in vitro and in vivo. *Mol Cancer Ther*. 2012;11(10):2284-93.

---

**RESUME en français :**

Les inhibiteurs de Tyrosine kinases (ITK) font partie des thérapies ciblées indiquées dans le traitement des cancers. Ces petites molécules issues de l'optimisation chimique de composés découverts par screening à haut débit sont très fortement métabolisées par les cytochromes P450 hépatiques. Les métabolites réactifs des ITK contribuent, via l'inactivation des cytochromes, à la forte variabilité pharmacocinétique interindividuelle, à l'auto-inhibition de leur métabolisme, à la survenue d'interactions médicamenteuses et pourraient participer au développement de toxicités. Le suivi thérapeutique pharmacologique des métabolites actifs des ITK pourrait améliorer l'efficacité et la tolérance du traitement. Enfin les métabolites des ITK formés au niveau tumoral contribuent à l'activité anti-tumorale ou à l'instauration d'un mécanisme de résistance au traitement. L'étude des métabolites des ITK pourrait donc constituer un outil d'optimisation et d'individualisation du traitement des cancers.

---

**TITRE en anglais :** Tyrosine kinase inhibitors (TKIs) : structure-activity relationships, metabolic pathways and TKI metabolites' pharmacological involvements

---

**RESUME en anglais :** Among targeted therapies, tyrosine kinase inhibitors (TKIs) are approved in the treatment of cancer. Developed through chemical optimization of lead compounds identified through high-throughput screening, these small molecule inhibitors are highly metabolized by hepatic cytochrome P450s (CYP). CYP-induced TKI reactive metabolites may result, through cytochrome inactivation, in large inter-patient pharmacokinetic variability, auto-inhibition of TKI metabolism, possible drug-drug interactions and toxic side effects. Therapeutic drug monitoring of TKI active metabolites could potentially improve treatment efficacy and safety. Furthermore, TKI metabolites found in tumours contribute to antitumor activity or resistance mechanisms. Hence studies of TKI metabolites could therefore be a tool for optimizing and individualizing cancer treatment.

---

**DISCIPLINE administrative :** DES de Pharmacie Hospitalière

---

**MOTS-CLES :** Inhibiteurs de Tyrosine kinases, Métabolites, Relations structure-activité, Pharmacocinétique

---

**INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :**

EA4553 – Individualisation des traitements des cancers ovariens et ORL  
Laboratoire de Biologie Médicale Oncologique – Secteur Pharmacologie  
Institut Universitaire du Cancer de Toulouse – Oncopole  
1 avenue Irène Joliot-Curie  
31059 Toulouse Cedex 9

**Directeur de thèse :** Dr. Cécile ARELLANO