



République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبو بكر بلقايد- تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEM

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

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

Département de Biologie

MÉMOIRE

Présenté par

BOUSSAID AMEL

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Sciences Biologiques

Spécialité: Biochimie

Thème

Recherche *in silico* de quelques substances naturelles dans le traitement du cancer du sein

Soutenu le 25 /06/2023, devant le jury composé de :

Présidente	Pr.Sari Lamia	Professeur	Université de Tlemcen
Encadrant	Dr. Benmansour Meriem	MCB	Université de Tlemcen
Examineur	Dr. Cherrak Ahmed Sabri	MCA	Université de Tlemcen

Année universitaire 2022/2023



Remerciement

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

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

Je tiens à remercier mon encadreur : Dr. Benmansour Meriem qui m'a aidé par ses orientations et ses précieux conseils, et qui m'a toujours consacré son temps malgré ses occupations. Veuillez trouver ici l'expression de ma profonde gratitude, de mes remerciements les plus sincères et de mon respect.

Je tiens à remercier aussi le professeur Sari Lamia Pour m'avoir fait l'honneur d'examiner ce travail. Veuillez accepter chère maitresse l'expression de toute ma reconnaissance et mon plus grand respect.

Je remercie ainsi le Dr Cherrak Sabri Ahmed d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je n'oublierai pas de remercier vivement les enseignants qui ont assuré ma formation du niveau primaire jusqu'au niveau universitaire.





Dédicace

Je dédie ce modeste travail à:

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qu'est toujours sacrifié pour me voir réussir, à toi : mon cher père Ahmed.

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur: maman que j'adore Ismahen.

A ma grande mère Kheira que Dieu lui garde dans son vaste paradis

A mon unique chère tante Fatima.

C'est un moment de plaisir de dédier cet œuvre, à ma sœur Rihab que Je lui souhaite la réussite au bac. A mes frères Yasser (bon réussite au BEM) et Yacine.

Je fais aussi une dédicace bien mérité à ma voisine Oumaima Bouklikha et ma cousine Khawla Lekhal pour leur précieux aide et support.

Je le dédie ainsi à toute la famille Boussaid et Amel un par un.

Il n'y a pas d'ascenseur pour la réussite, il faut prendre l'escalier.



Amel BOUSSAID

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Résumé

Liste d'abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Chapitre I : Généralité sur le cancer du sein

1 Généralité sur le cancer du sein 4

2 Physiopathologie du cancer du sein 5

3 Les traitements du cancer du sein 6

4 Le récepteur HER2 7

5 Rôles physiologiques du récepteur HER2 9

6 Mécanisme d'activation de récepteur HER2 9

6.1 Voie des PI3K /ATK/mTOR 10

6.2 Voies des Ras/MAPK 11

7 Surexpression du récepteur HER2 dans le cancer du sein 13

8 Thérapie anti-HER2 14

8.1 Les anticorps monoclonaux 15

8.2 Les inhibiteurs de tyrosine kinase 16

9. Les produits naturels ciblant la protéine HER2

Chapitre II : Matériels et méthodes

1 Matériels 20

1.1 Microordinateur 20

1.2 Les programmes 20

1.2.1 UCSF Chimera 20

1.2.2 Logiciel PyRx 21

1.2.3 Auto Dock Vina 22

1.2.4 Dock Prep 22

1.2.5 Discovery Studio Visualizer 23

1.2.6 SwissADME 24

1.3 Banque de donnée et site internet 24

1.3.1 « PDB » (Protéine Data Bank) 24

1.3.2 PubChem 25

2 Méthode 26

2.1 Préparation de la protéine pour l'amarrage 26

2.2 Préparation des inhibiteurs 27

2.3 Docking moléculaire 27

2.4 Discovery Studio Visualizer 26

2.5 SwissADME 26

Chapitre III : Résultats et discussion

1 Les résultats de docking moléculaires 30

2 Etude des interactions entre les inhibiteurs et la HER2 : 32

2.1 Diagrammes 2D : 33

2.1.1 Les cinq meilleurs inhibiteurs sélectionnés 34

3 L'évaluation des propriétés pharmacologiques (ADMET) 39

Conclusion générale 43

Références bibliographiques Erreur ! Signet non défini.

Annexes 57

Résumé

Le cancer du sein (CS) est l'un des cancers les plus meurtriers chez la femme dans le monde. Le récepteur de facteur de croissance épidermique humaine 2 (HER2) est considéré comme une cible moléculaire dans le traitement du cancer de sein HER2 positif par le développement réussi d'inhibiteurs anticancéreux.

Dans ce travail, nous avons tenté de proposer de nouveaux inhibiteurs de récepteur HER2, cible thérapeutique du cancer du sein à partir de substances naturelles. Pour cela nous avons réalisé un amarrage moléculaire à l'aide du programme AutoDock vina intégré dans le logiciel UCSF Chimera avec 13 composants flavonoïdes. L'analyse de nos résultats montre que sur l'ensemble des composés testés, seuls les composés 2',4'-Dihydroxy-2''-(1-hydroxy-1-méthyléthyl) dihydrofuro[2,3-h]flavanone et Isolicoflavonol possèdent un bon profil ADME et un pouvoir inhibiteur potentiellement élevé envers la cible. Par conséquent, ces composés peuvent être proposés comme nouveaux inhibiteurs de HER2 pour le traitement de cancer du sein.

Mots clés: cancer du sein, récepteur HER2, docking moléculaire, flavonoïdes AutoDock.

ملخص

يعد سرطان الثدي (CS) أحد أكثر أنواع السرطان فتناً لدى النساء في العالم، ويعتبر مستقبل عامل نمو البشرة البشري 2 (HER2) هدفاً تم التحقق منه في علاجه للسرطان من خلال التطوير الناجح لمثبط مضاد للسرطان. في هذا العمل، حاولنا اقتراح مثبطات مستقبلات HER2 جديدة، كهدف علاجي للسرطان الخاص به من المواد الطبيعية. لهذا أدركنا الالتحام الجزيئي باستخدام برنامج **AutoDock vina** المدمج في برنامج **UCSF Chimera** مع 13 مكوناً من الفلافونويد. يُظهر تحليل نتائجنا أنه في جميع المركبات التي تم اختبارها، فقط المركبات 2 و 4- ' 1- (1- **Dihydroxy-2** هيدروكسي-1-ميثيلثيل) ثنائي هيدروفورو [2 و 3-ساعة] فلافانول و **Isolicoflavonol** لديها ملف تعريف قبول جيد وقوة تثبيط عالية محتملة تجاه الهدف، وبالتالي قد يتم اقتراحها كمثبطات **HER2** الجديدة.

الكلمات الرئيسية: السرطان الخاص به، مستقبل **HER2** ، الالتحام الجزيئي، فلافونويد. **AutoDock**.

Abstract

Breast cancer (BC) is one of the deadliest cancers for women in the world, the human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) is considered as validated target in this cancer treatment by the successful development of anti-cancer inhibitor.

In this work, we have tried to propose new inhibitors of HER2 the receptor, as a therapeutic target of the breast Cancer starting from natural substances. For this we have realized a molecular docking with the help of the AutoDock program vina introduced in the software UCSF Chimera with 13 flavonoid components. the Analysis four results shows that in all the tested compounds, only the compounds 2',4'-Dihydroxy-2'-(1-hydroxy-1-methylethyl) dihydrofuro[2,3-h]flavanone and Isolicoflavonol have a good ADMET profile and a inhibitory power potentially higher towards the target, as a consequence they can be proposed as new inhibitors of HER2 for treatment of the breast cancer.

Keywords: breast cancer, receptor HER2, molecular docking, AutoDock flavonoids.

Liste d'abréviations

ADN: Acide DésoxyriboNucléique

ATM: Ataxia Teleangiectasia Mutated

CDH: Cadherin 1

CHEK2: Check point kinase 2

ECIS: Européen cancer information system

EGFR: Epidermal Growth Factor Receptor

ERK: Extracellular signal-Regulated Kinases

GDP: Guanosine diphosphate

GTP: Guanosine triphosphate

HER: Human Epidermal growth factor Receptor

IP3: Inositol trisphosphate

MAPK: Mitogen-Activated Protein Kinase

MTOR: Mammalian Target Of Rapamycin

PI3K: Phosphoinositide 3-Kinase

PTB: Polypyrimidine Tract Binding protein

PTEN: Phosphatase and TENsin homolog

RTK: Récepteur à activité Tyrosine Kinase

SH2: Domaine d'homologie de Src2

STK11: Sérine Thréonine Kinase 11

TP53: Tumor Protein 53

Liste des figures

Figure 1: la famille des récepteurs tyrosine kinase HER	07
Figure 2: organisation des domaines des récepteurs HER	08
Figure 2: la structure cristallographie du récepteur HER	08
Figure 3: Mécanisme d'activation du récepteur HER2	10
Figure 4: Voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR	11
Figure 5: Voie Ras/MAPK	12
Figure 6 : Les voies de signalisation de HER2.....	13
Figure 7: Amplification du gène HER2 et surexpression de récepteurs	14
Figure 8 : Interface de Chimera.....	21
Figure 9: Interface de logiciel PyRx.....	21
Figure 10 : L'interface d'accès au Auto Dock vina dans UCSF chimera	22
Figure 11 : Interface de la boîte DOCK Prep apparait dans UCSF Chimera.....	22
Figure 12: L'interface graphique de Discovery Studio	22
Figure 13 : L'interface graphique de SwissADME	23
Figure 14: Interface de Protein Data Ban.	24
Figure 15: Interface d'accueil du PubChem.	25
Figure 16: Représentation d'interaction du Licoflavanone dans le site actif de HER2 par DSV	34
Figure 17: Représentation d'interaction du l'Isolicoflavonol dans le site actif de HER2 par DSV	35
Figure 18: Représentation d'interaction du l'Brousoflavonol F dans le site actif de HER2 par DSV	36
Figure 19: Représentation d'interaction du 2',4'-Dihydroxy-2''-(1-hydroxy-1-méthyléthyl) dihydrofuro[2,3-h] dans le site actif de HER2 par DSV	37
Figure 20: Représentation d'interaction du 1-(3-fluorophényl)-3-[(1R,3S)-3-[[3-(3-fluorophényl)carbamoylamino]méthyl]-3,5,5-triméthylcyclohexyl]urée dans le site actif de HER2 par DSV	38
Figure 21: Radar de biodisponibilité d'Isolicoflavonol et Licoflavanone	40
Figure 22: Radar de biodisponibilité de Brousoflavonol F.....	41
Figure 23: Radar de biodisponibilité de 7-Méthoxyflavanone et 2',4'-Dihydroxy-2''-(1-hydroxy-1-méthyléthyl) dihydrofuro[2,3-h]flavanon.....	42

Liste des tableaux

Tableau 1: Les données PDB de la protéine cible	26
Tableau 2: Taille et position du centre de la grille.	28
Tableau 3: Résultats de docking moléculaire pour les 13 flavonoïdes.....	31
Tableau 4: Résultats des énergies d'interactions des 5 meilleurs inhibiteurs de la HER2 ...	33
Tableau 5: Profil ADMET des 6 meilleurs inhibiteurs obtenus par le serveur SwissADME	39

A decorative pink scroll graphic with rounded corners and three grey circular accents at the top-left, top-right, and bottom-left corners. The word "Introduction" is centered within the scroll.

Introduction

Introduction

Le cancer du sein est de loin le premier cancer chez la femme, il représentait 29% de toute la localisation du cancer. En 2018, il reste un problème de santé majeur, touchant des millions de femmes et causant un nombre important de décès (**siegel et al., 2018**). Le cancer du sein est une maladie génétiquement hétérogène et exprime une variété de protéines aberrantes (**Ferlay J et al., 2013**), il s'agit d'une tumeur maligne qui s'est formée dans les tissus mammaires, qui correspond à la multiplication désordonnée des cellules anormales, à la suite d'une exposition répétée à des facteurs carcinogènes (**nkondjock et ghadirian,2005**).

Certains cancers du sein ont la particularité de présenter à la surface de leurs cellules cancéreuses une quantité très importante de protéines HER2 ; on dit de ces tumeurs qu'elles sont HER2 positives. Parmi les tumeurs du sein, 15 à 20% sont HER2 positives (**Diéras , 2016**).

Le récepteur HER2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor 2) est un facteur de croissance épidermique humain, également connu sous le nom d'ErbB2, membre de la famille des récepteurs tyrosine kinase présent de façon physiologique chez l'espèce humaine (**Casalini P et al., 2004**). Les divers remaniements génétiques induisent sur le gène une mécanistique d'amplification c'est-à-dire une augmentation du nombre de copies. Son activité est alors dé-multipliée provoquant une signalisation cellulaire à l'origine d'une progression tumorale. Le récepteur HER2 est surexprimé dans les carcinomes du sein, les cancers de l'œsophage, de l'estomac, de l'ovaire, de l'endomètre, de la vessie, et du poumon .En bloquant ce récepteur HER2, les voies de signalisation responsables des processus de prolifération et différenciation des cellules cancéreuses seront inhibés (**vignot et soria,2008**). C'est la raison pour laquelle le récepteur HER2 représente une cible moléculaire dans le traitement du cancer du sein.

Actuellement, le traitement du cancer implique l'utilisation de la chimiothérapie, la radiothérapie, l'immunothérapie, la chirurgie et les médicaments anticancéreux, qui se sont tous avérés moins efficaces en raison des inconvénients de la récurrence, de la résistance , de l'effet non ciblé sur les cellules et d'autres effets secondaires dont la toxicité qui les accompagne (**Campone et al., 2007**).

Depuis l'antiquité, les produits naturels, notamment ceux d'origine végétale ont toujours été une source importante d'agents thérapeutiques. Maintenant, environ 25-30% de tous les médicaments disponibles sont des dérivés de produits naturels. Beaucoup d'études ont montré que les plantes médicinales sont très riches en molécules à activité biologiques comme les flavonoïdes, métabolites secondaires à structure polyphénolique largement utilisés dans différentes applications médicales, et pharmaceutiques. Il s'agit d'une grande classe de composés omniprésents dans les légumes, les graines, les fruits, les céréales, le thé, avec des propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes, anti cancérogène (**Khongkaew et al.,2021**) .

Par ailleurs, les outils informatiques jouent un rôle central dans la rationalisation de la route vers la découverte de médicaments. L'analyse d'amarrage moléculaire est une approche basée sur la bioinformatique et la première méthode in silico pour analyser l'ajustement, la liaison et les interactions entre la protéine et le ligand, en fonction de leur énergie de liaison.

Notre travail de master a pour objectif de chercher de nouveaux inhibiteurs du récepteur HER2 à partir d'un groupe de flavonoïdes à une activité anticancéreuse utilisant la méthode de docking moléculaire.

Les principaux chapitres de ce travail sont traités comme suit :

Dans le premier chapitre, nous avons effectué une synthèse bibliographique représentant un aperçu général sur le cancer du sein et le récepteur HER2.

Le deuxième chapitre est un chapitre expérimental qui explique le matériel et les méthodes bio-informatiques appliquées dans ce travail.

Le troisième chapitre présente les résultats et la discussion des différents tests réalisés.

Enfin, cette étude se termine par une conclusion générale.



Chapitre I :

Le cancer du sein

1 Le cancer du sein

La notion de « cancer du sein » relève d'une nomenclature générique qui fait référence à tout un ensemble de proliférations néoplasiques de la glande mammaire qui diffèrent tant du point de vue histologique qu'en ce qui concerne leur comportement évolutif (**Alan et al., 2004**). Il se définit comme une prolifération anarchique et incontrôlée des cellules épithéliales du sein. Qu'ils s'agissent des cellules des canaux galactophores « carcinome canalaire » ou de celles des lobules « carcinome lobulaire », on parle « d'adénocarcinome » c'est-à-dire un cancer du tissu glandulaire. Ce carcinome peut être « *in situ* ou infiltrant selon qu'il y est ou non effraction de membrane basale et possède ou non un potentiel métastatique. Rarement (moins de 1%), que cette tumeur se développe au sein de tissu conjonctif du sein. On parle alors de cancer non glandulaire ou « tumeur phyllode du sein » (**Kalluri et Zeisberg, 2006**).

Comme tout cancer, le cancer du sein est une maladie multifactorielle, ces facteurs peuvent être intrinsèques, ou extrinsèques sur lesquels on peut parfois avoir une action pour réduire le risque de survenue du cancer (**Sun et al., 2017**). Parmi les facteurs intrinsèques le sexe ou selon des études, le risque du cancer du sein est plus élevé chez la femme, ceci est dû au fait que les femmes développent une glande mammaire et sont plus exposées aux hormones (notamment aux œstrogènes) que les hommes (**Globocan, 2012 ; INCa, 2016**), il y a aussi l'âge, d'après l'Européen Cancer Information System (ECIS), le risque d'être atteint d'un cancer du sein est augmenté après 50 ans mais il peut également survenir chez des patientes plus jeunes (moins de 45 ans) et représente 12 à 20% des cas (**Liebens et al., 2008; GLOBOCAN 2012**), l'antécédents familiaux, personnels et l'hérédité génétique sont aussi des facteurs importants le risque de développer un cancer du sein serait plus élevé chez les femmes avec plusieurs cas de cancers du sein dans l'une des deux branches parentales. Le degré de parenté pourrait également influencer ce risque. (**Brewer et al., 2017**). Parmi les patientes atteintes de cancer du sein, 5% à 10% des cancers de sein sont des cancers héréditaires et donc imputables à la présence de facteurs génétiques (**Miki et al., 1994; Wooster et al., 1995; Antoniou et al., 2003**). D'autres prédispositions génétiques sont également associées à un risque de cancer du sein, telles que TP53 (**Schneider et al., 1993**), PTEN (**Tan et al., 2012**), CHEK2, ATM, STK11 et CDH1 (**Couch et al., 2017**). L'exposition hormonale et notamment aux œstrogènes peut favoriser le cancer du sein est dit « hormono-dépendant » (**Bernstein 2002**).

Les facteurs de risques extrinsèques sont représentés par la situation géographique et le statut socio-économique ou l'incidence de cancer du sein est plus grande dans les pays développés (Amérique du Nord, Europe, Australie, Argentine, Uruguay et Nouvelle-Zélande) par rapport au reste du monde (**Parkin 2004; Ferlay et al., 2014**). En Algérie, 6625 nouveaux cas ont été diagnostiqués en 2012 (**Terki et al., 2015**). Le rapport du World Cancer Research Fund International et American Institute for Cancer Research de 2007, a déclaré que le mode de vie dont l'alimentation riche en graisse, en viandes rouges et pauvre en légumes, l'alcool, le tabac et l'obésité augmente le risque de survenue du cancer du sein (**Wiseman, 2008**), de plus les hormones exogènes telles que les contraceptions orales ou les traitements hormonaux substitutifs (THS) utilisés sur une longue durée, (**CGHFBC 1996; Kumle et al., 2002; Mørch et al., 2017**), auraient une action sur la densification mammaire ce qui augmenterait le risque de survenue du cancer du sein (**Azam et al., 2018**).

Les tumeurs les plus distingués dans le cancer du sein sont les carcinomes canaux et lobulaires. Dans le carcinome intra-canalair ou carcinome canalaire in situ, la prolifération épithéliale maligne est localisée dans la lumière des canaux galactophoriques, alors que dans le carcinome intralobulaire ou carcinome lobulaire in situ, les proliférations épithéliales sont limitées par la membrane basale (**Moinnkhof, 2007**).

2 Physiopathologie du cancer du sein

Le cancer du sein se développe à partir des cellules épithéliales du sein ou des cellules souches mammaires, trois grandes étapes de la cancérisation sont la phase d'initiation : c'est la transformation de la cellule normale en une cellule cancéreuse. Cette étape résulte de multiples altérations du génome qui échappent aux processus de réparation de l'ADN affectant, par conséquent, le contrôle du cycle cellulaire. L'activation des oncogènes et/ou à l'inverse l'inhibition des gènes suppresseurs de tumeurs font partie des points clés de cette étape (**Hanahan et Weinberg 2000; Sever et Brugge 2015 ; Feng et al., 2018**).

La phase de promotion se caractérise par une prolifération anarchique qui va donner à partir de cette cellule cancéreuse un ensemble de clones et ainsi former une tumeur.

La phase de progression : est l'agrandissement de la tumeur et sa dissémination, via la circulation sanguine pour donner des métastases, (**Hanahan et Weinberg 2011**)

3 Les traitements du cancer du sein

Le but du traitement du cancer du sein d'origine métastatique, est de stabiliser la maladie et favoriser la régression tumorale et celui du cancer non métastatique est d'éloigner l'ensemble de cellules tumorales, empêchant ainsi leur persistance ou leur propagation dans d'autres organes.

Ce traitement comporte différents volets : dont la chirurgie mammaire qui est souvent réalisée en première intention, il existe deux types : la tumorectomie : une chirurgie mammaire conservatrice et la mastectomie : une chirurgie mammaire non conservatrice,

La chimiothérapie appliquée avant ou après la chirurgie et qui a comme objectifs de bloquer la division cellulaire, diminue le risque de récurrence et améliore les chances de guérison, **(O'Neill et Twelves, 2002 ; Campone et al., 2007 ; Findlay, von Minckwitz et Wardley, 2008)**. L'hormonothérapie est utilisée chez les patientes pour lesquelles la tumeur présente une expression des récepteurs hormonosensibles, soit les récepteurs aux œstrogènes soit les récepteurs à la progestérone, représentent environ 70% des cancers du sein. L'indication de l'hormonothérapie consiste principalement à inhiber la production des œstrogènes ou à bloquer, par compétition, leur action sur les récepteurs **(Gonçalves, Anthony. 2012)**, récemment de nouvelles thérapies ciblées ont vu le jour dans les années 90' et ont apporté une révolution dans la prise en charge du cancer. Principalement composées d'immunothérapie, limitant ainsi leur prolifération. Leur principal avantage est de limiter les effets secondaires. La thérapie ciblée sont mises au point, certaines d'entre-elles visent à interagir avec la voie de signalisation HER2, comme le Trastuzumab qui est un anticorps monoclonal ciblant spécifiquement le récepteur HER2, bloquant l'activité des protéines kinase ce qui inhibe la voie HER2 et empêche ainsi la prolifération cellulaire **(Carey et al., 2007)**.

Les cancers du sein chez la femme de type HER2 amplifié représente environ 15 à 20% de la totalité des cancers du sein, ils sont plus agressifs, car les cellules de la tumeur ont à leur surface des récepteurs appelés HER2 ou ERBB2.

Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2)

4 Le récepteur HER2

HER2 (Human Epidermal growth factor Receptor 2), est une glycoprotéine transmembranaire codée par l'oncogène ErbB2/HER2, localisé sur le bras long du chromosome 17q11.q12 de 25,109 à 35,138Mb, d'un poids moléculaire de 185 k Da, et constituée de 1255 acides aminés.

HER2 fait partie de la famille des récepteur HER de type 1 des facteurs de croissance, il comprend quatre protéines homologues: HER1 (EGFR/ErbB1), HER2 (ErbB2/Neu), HER3 (ErbB3) et HER4 (ErbB4), (Gullick *et al.*, 1987) (figure1).

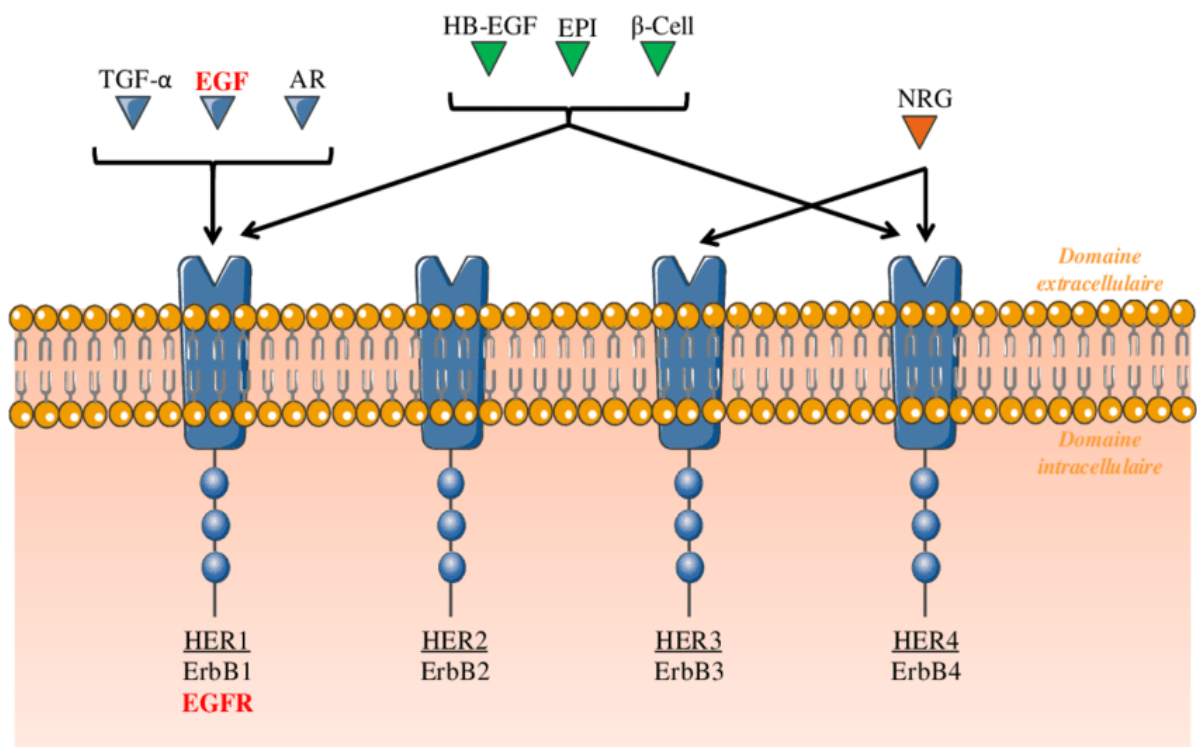


Figure 1 : la famille des récepteurs tyrosine kinase HER (Séverine Ravez, 2014)

Ces récepteurs transmembranaires partagent une structure similaire, constituent d'un domaine N-terminal extracellulaire portant le site de fixation du ligand, un domaine transmembranaire et un domaine C-terminal intracellulaire qui porte l'activité tyrosine kinase. **Figure 2**

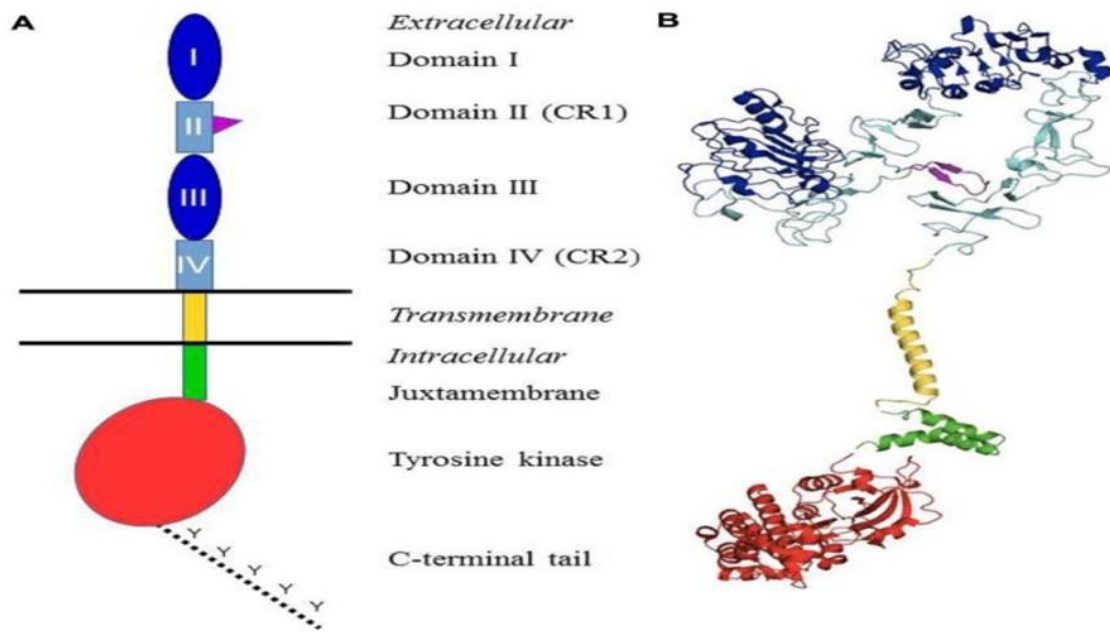


Figure 2 : A : Organisation des domaines des récepteurs HER (**Appert-Collin et al., 2015**).

B : La structure cristallographique du récepteur HER : (**Wieduwilt et Moasser, 2008**)

Le domaine extracellulaire est très diversifié et glycosylé, il comprend plusieurs domaines dont les domaines I et III, riches en leucine, responsables de la fixation du ligand. Ainsi, les domaines II et IV, riches en cystéines, sont impliqués dans la dimérisation induite par la fixation du ligand (**Wieduwilt et Moasser, 2008**), pour le domaine transmembranaire très hydrophobe, il permet l'ancrage du récepteur dans la membrane plasmique. Même si ce domaine n'a pas un rôle dans l'activation du récepteur, il joue un rôle au niveau de la conformation et la stabilisation des récepteurs dimérisés (**Mendrola et al., 2002; Sithanandam et Anderson, 2008**). Enfin le domaine intracellulaire à activité tyrosine kinase, est constitué d'une région juxta-membranaire, d'un domaine catalytique tyrosine kinase et terminé par la région C-terminale. Le domaine juxta membranaire est une région régulatrice importante, il est soumis à des phosphorylations par des protéines kinases comme la protéine kinase C (PKC) permettant de diminuer ou de moduler la signalisation par les récepteurs HER. Ce domaine a aussi un effet sur la dimérisation des récepteurs HER (**Aifa et al., 2005, 2006**). Le domaine tyrosine kinase contient l'activité catalytique des récepteurs HER, les kinases sont considérées comme des protéines avec une activité enzymatique phosphotransférase, c'est à dire elles permettent le transfert des résidus de la

tyrosine par les phosphates de la molécule d'ATP. L'activité catalytique des récepteurs HER réside dans le domaine tyrosine kinase. En effet, l'inhibition de celui-ci inhibe l'induction des réponses cellulaires (**Choi *et al.*, 2012**). La queue C-terminale contient, des sites d'autophosphorylation qui lient spécifiquement les protéines comprenant les domaines SH2 ou PTB et des motifs d'internalisation, ainsi également des sites pour la transphosphorylation, l'activation protéolytique et la dégradation (**Magné *et al.*, 2010**).

5 Rôles physiologiques du récepteur HER2

Les récepteurs présentent une forte homologie, exprimée dans des tissus d'origine épithéliale, mésenchymateuse et neuronale (**Casalini *et al.*, 2004 ; Olayioye *et al.*, 2000**), présents dans différents organes (sein, poumon, estomac, vessie, pancréas, prostate, placenta,...) (**Citri *et al.*, 2006**). Dans le cas normale, le récepteur HER2 aide à la croissance et le développement des cellules mammaires qui se, divisent et se réparent elles-mêmes. Il est impliqué dans différents processus biologiques tels que la prolifération, la migration, la différenciation cellulaire, le contrôle du métabolisme cellulaire et la survie cellulaire, ils ont aussi un effet anti-apoptotique (**Hubert, 2006**).

6 Mécanisme d'activation de récepteur HER2

Le récepteur HER2 appartient à la famille des récepteurs ERBB qui contient également EGFR (HER1), HER3 et HER4. HER2 est le seul membre de cette famille qui ne possède aucun ligand connu à ce jour (**Mombelli, 2014**). En absence de ligand, ces récepteurs existent majoritairement sous forme de monomère inactif (**Lahzaoui, 2013**). Par contre, s'il est présent son activation est seulement liée à une auto-hétérodimérisation. Une fois le ligand fixé sur la partie extracellulaire de son récepteur, il va induire un changement de conformation et une homo ou hétérodimérisation avec un autre récepteur de la même famille (HER2, HER3, HER4). Cette dimérisation nécessite l'action d'un ligand spécifique, donc l'action de l'EGF et conduira à la formation d'un hétérodimère HER1/HER2 ou des dimères HER3/HER2; HER4/HER2, ces dimères présentent une grande affinité au ligand dont le monomère autre que HER2 est spécifique. L'HER2/HER3 est le dimère le plus actif des dimères de signalisation HER. Le rapprochement des domaines tyrosine kinases favorise l'autophosphorylation en position trans ou la phosphorylation du domaine c terminal d'un monomère par la kinase de l'autre. Lorsque le récepteur subit une dimérisation, il y a un changement de conformation qui en découle

avec une capacité propre à fixer la molécule d'ATP pouvant phosphoryler les résidus de tyrosine, qui elles-mêmes pourront recruter différentes molécules et protéines cytoplasmiques reconnaissant par la suite PTB ou SH2.(**Khurshid et al.,2014**). Il en résulte la phosphorylation de seconds messagers qui assurent la transduction du signal vers l'intérieur de la cellule. Le complexe ligand/récepteur est donc internalisé puis dégradé (**Genevee, 2014**). (figure 3).

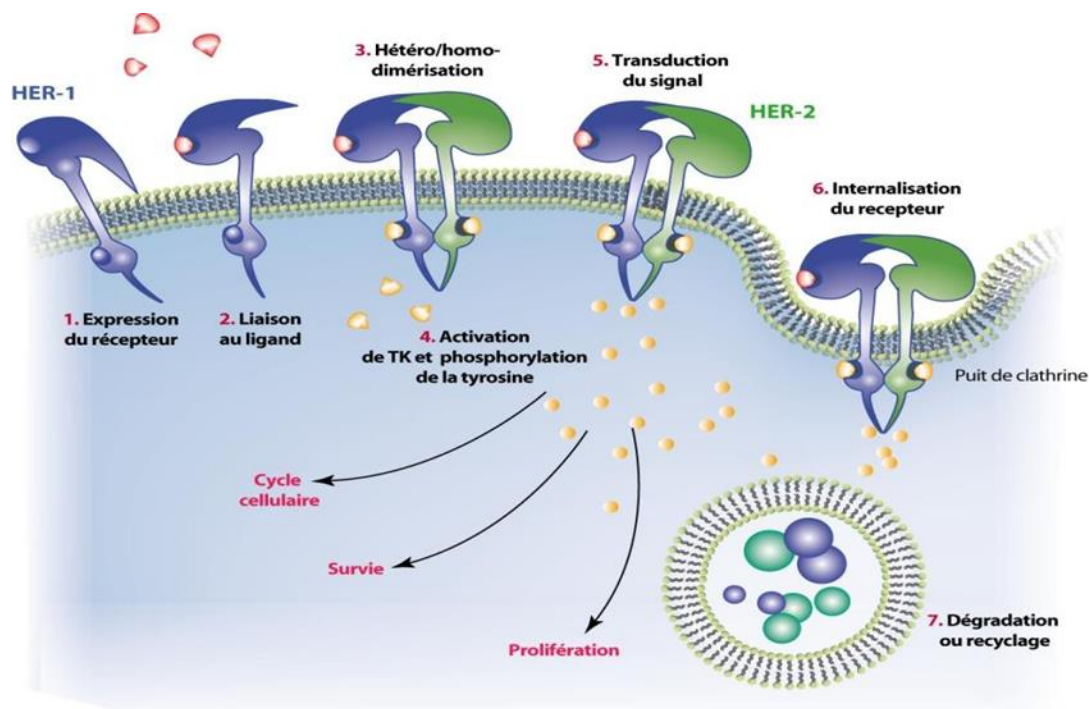


Figure 3 : Mécanisme d'activation du récepteur HER2 (**Genevee, 2014**).

Le récepteur HER2 active deux grandes voies de transduction du signal (**Figure 8**)

6.1 Voies des PI3K /AKT/mTOR

PI3K est un hétérodimère constitué de deux sous-unités, l'une régulatrice p85 et l'autre catalytique p110 (**Jiang et Liu, 2009**). On peut le diviser en trois classes selon leur structure, leur distribution, leurs substrats, leurs mécanismes d'action et leur fonction

La voie PI3K est activée par le récepteur HER2 à activité tyrosine kinase, par liaison à sa sous-unité régulatrice p85. Cette liaison entraîne une modification conformationnelle de cette dernière, qui va alors catalyser la formation du phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate (ou PI(3, 4, 5)P3) à partir de PIP2 (phosphatidylinositol 4,5 diphosphate). Sur ce dernier, vient se fixer l'AKT, une sérine protéine kinase qui est par la suite

phosphorylée par la PDK1 (phosphatidylinositol-3-dépendant kinase). Le complexe PI(3, 4, 5)P3-AKT active ensuite la protéine mTOR, une protéine clé de l'homéostasie cellulaire (**Inoki et al., 2002**). La protéine mTOR appelée aussi RAF1, FRAP ou RAPT1, est une protéine très conservée de 289 kDa à activité sérine-thréonine kinase. Elle régule la traduction, la synthèse protéique, le cycle cellulaire et l'apoptose (**Tee et al., 2002**).

La voie PI3K joue un rôle dans la croissance cellulaire, la résistance à l'apoptose, l'invasion et la migration cellulaire (**Engelman et al., 2006; Scaltriti et Baselga, 2006; Vivanco et Sawyers, 2002**).

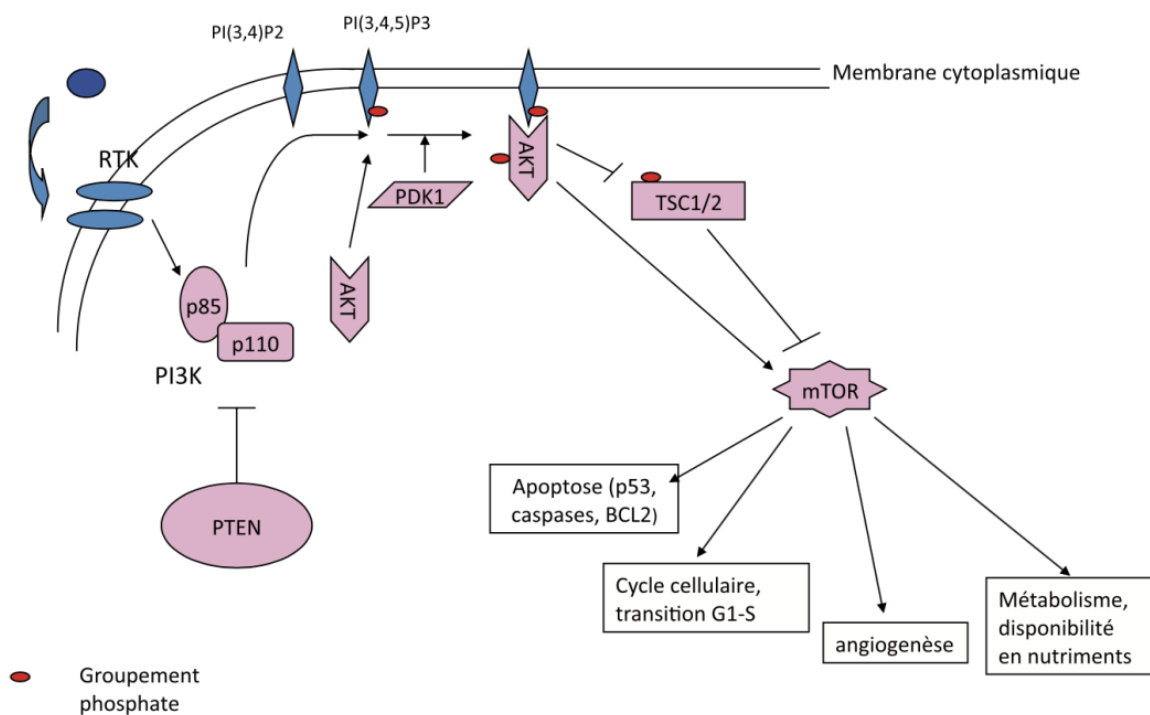


Figure 4 : Voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR (**Chantal et al., 2009**)

Dans les cancers du sein HER2+, la dimérisation des récepteurs HER2 se réalisant spontanément et sans contrôle, la voie de la PI3K est sans cesse sollicitée entraînant ainsi une activation quasi constante de la protéine mTOR avec pour conséquence un déséquilibre de la balance survie/mort cellulaire.

6.2 Voies des Ras/MAPK

La voie Ras-MAPK (mitogen activated protein kinase) ou voie ERK (extracellular signal-regulated kinase) est une voie de signalisation intracellulaire essentiel, et présente un rôle

central dans la régulation de la croissance et de la survie cellulaire d'un large spectre de tumeurs humaines, elle permet l'activation de la transcription des gènes appliqué dans la survie, la migration et la prolifération cellulaire (Robert, 2010 ; Buhrman *et al.*, 2007). L'activation des récepteurs HER provoque l'activation du complexe Sos/Grb2 qui aboutit par la suite à l'activation du RAS. Ce dernier existe sous deux formes, une inactive liée au GDP, et l'autre active liée au GTP. RAS oscille donc entre ces deux états par hydrolyse du GTP en GDP. La transition entre les états Ras-GDP et Ras-GTP est catalysée par une protéine GEF (Guanine nucleotide Exchange Factor), et la transition inverse est catalysée par une protéine GAP (GTPase-Activating Protein). La forme Ras-GTP active la protéine RAS mais également PI3K (Pratilas *et al.*, 2010). Et permet l'activation, en les phosphorylant, des protéines Raf qui sont des sérine-thréonine-kinases. Les phosphorylations se succèdent afin d'activer MEK puis ERK. La phosphorylation d'ERK va entraîner l'activation de plus d'une centaine de substrats différents ; son activation peut donc affecter différentes fonctions cellulaires telles que la différenciation, la survie, la motilité cellulaires. ERK peut également être transloquée au niveau nucléaire et activer la transcription de gènes impliqués dans la prolifération cellulaire (Lièvre *et al.*, 2010 ; Ramos *et al.*, 2008).

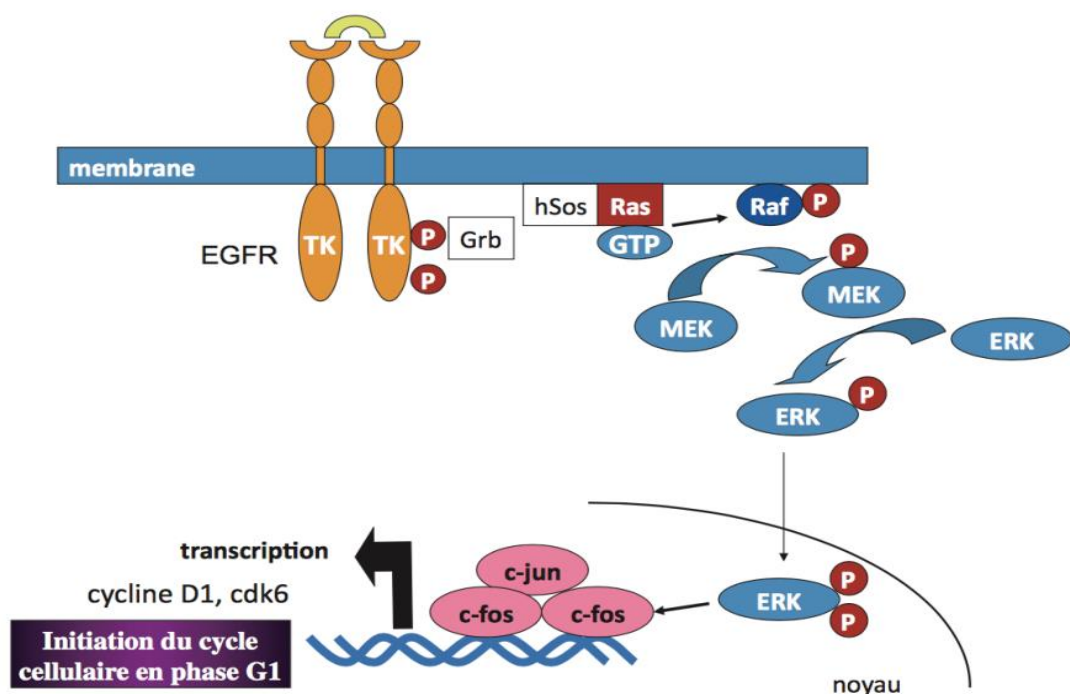


Figure 5 : Voie Ras/MAPK (Lièvre *et al.*, 2010)

Les voies Ras/MAPK et PI3K/AKT/mTOR sont intimement imbriquées. En effet, la voie PI3K peut être activée soit directement par les récepteurs EGFR soit indirectement par stimulation de la PI3K par la protéine Ras. On comprend alors aisément que lors de mutations au niveau du gène KRAS, la voie PI3K est également activée.

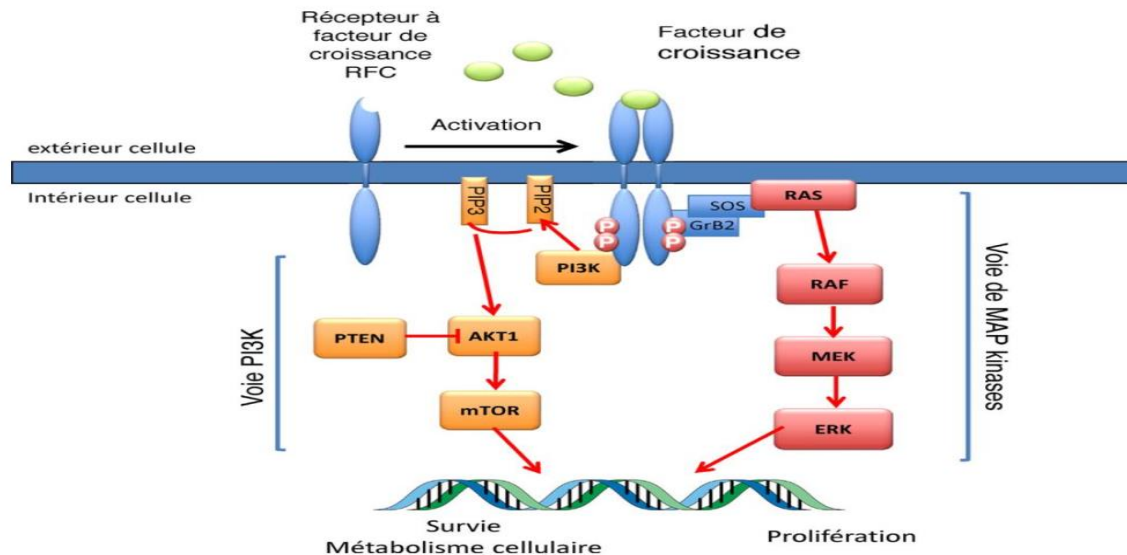


Figure 6 : Les voies de signalisation de HER2 (Lehmann-Che *et al.*, 2017)

7 Surexpression du récepteur HER2 dans le cancer du sein

L'amplification du gène HER2 ou une surexpression de la protéine HER2 représente 15 à 20% des cancers du sein. Elle est augmentée chez les femmes avec un âge de moins de quarante ans (Morère *et al.*, 2011). Elle joue un rôle dans la carcinogenèse et la progression du cancer du sein, dans les tissus mammaires sains, on compte environ 20000 récepteurs HER2 par cellule, dans les cancers de sein présentant une amplification du gène HER2, ont énuméré jusqu'à 100 fois plus de récepteurs par cellule (Diéras, 2016). (Figure 7). Il y a quelques années, un diagnostic de cancer du sein HER2 positif (HER2+), était synonyme d'un pronostic sombre, le fait que ces tumeurs avaient une capacité de prolifération considérable et un risque métastatique important notamment au niveau viscéral et cérébral. Tout en exprimant le plus souvent à leur surface des récepteurs aux œstrogènes, les tumeurs HER2+ sont également moins sensibles à l'hormonothérapie et plus résistantes à la chimiothérapie conventionnelle. En comparant les cancers du sein HER2+ à d'autres tumeurs mammaires, pour des femmes non traitées, une mortalité plus élevée et un risque de rechute plus important sont constatés. Mais avec le développement

des thérapies ciblées, une amélioration notable du pronostic et de la survie est observée (Hubert et Faivre, 2008). Des études *in vitro* ont montré que l'inhibition de l'expression HER2 induit une apoptose significative dans les cellules cancéreuses du sein (Falus *et al.*, 2004; Yang *et al.*, 2004). Par conséquent, HER2 est devenue une cible logique pour le traitement du cancer du sein. Les valeurs pronostiques et thérapeutiques de HER2 dans le cancer du sein ont été établies (Pils *et al.*, 2007). Plus particulièrement, l'anticorps monoclonal humanisé contre le HER2 (Trastuzumab) a été approuvé en 1998 par la FDA pour le traitement du cancer du sein HER2 positif (Shawver *et al.*, 2002). En outre, il a été démontré *in vitro* que la réduction de l'expression de HER2 par siRNA a entraîné une inhibition de la croissance et une apoptose dans les cellules du cancer du sein HER2 (Roh *et al.*, 2000). Toutes ces données indiquent le rôle essentiel de HER2 dans la prolifération et l'anti-apoptose dans le cancer du sein HER2 positif.

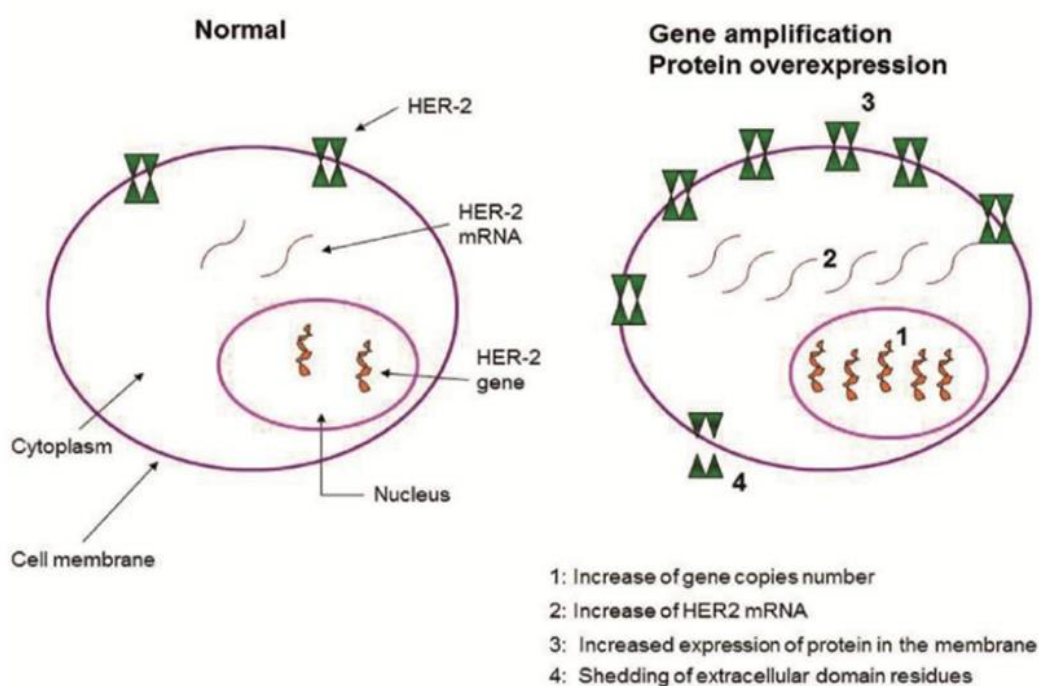


Figure 7 : Amplification du gène HER2 et surexpression de récepteurs HER2 (Lin *et al.*, 2012).

8 Thérapie anti-HER2

Le récepteur HER2 représente une cible thérapeutique importante dans la thérapie anti cancéreuse, En raison du niveau d'expression d'HER2 qui est fortement corrélé au

pronostic du cancer, et par la surexpression d'HER2 qui se trouve à la fois dans la tumeur primaire et dans les sites métastatiques, indiquant que la thérapie anti-HER2 peut être efficace dans tous les sites de la maladie (**INCa, 2015**).

A l'heure actuelle, deux stratégies thérapeutiques principales se sont révélées efficaces et/ou prometteuses pour cibler le récepteur HER2 : des anticorps monoclonaux et des inhibiteurs de l'activité kinase.

8.1 Les anticorps monoclonaux

Les anticorps monoclonaux inhibent le site de fixation extracellulaire du ligand, qui empêche la dimérisation du récepteur qui est à l'origine de l'initiation du processus d'activation.

Le muMab 4D5 est le premier anticorps anti-HER2, d'origine murine qui lie spécifiquement le domaine extracellulaire CR2 d'HER2 et inhibe la croissance des cellules du cancer du sein (**Fendly et al., 1990; Lewis et al., 1993**). L'utilisation de cet anticorps murin pour la thérapie humaine produisait cependant une réponse immunitaire rapide chez l'humain. Cependant les complications des premiers anticorps utilisés, les chercheurs ont découverts un autre anticorps le rhuMab HER2, le trastuzumab (commercialisé sous le nom d'Herceptine®) avec une immunogénicité réduite (**Carter et al., 1992**).

Le trastuzumab a plusieurs modes d'action, par régulation de l'expression d'HER2 et l'augmentant de son endocytose et sa dégradation, promouvant l'activité de la tyrosine kinase - ubiquitine ligase c-Cbl (**Klapper et al., 2000**). Cela s'accompagne d'une inhibition des voies des MAPK et PI3K (**Nahta et Esteva, 2007**).

Le trastuzumab interagit aussi avec le complexe récepteur-ligand ce qui empêche ainsi la phosphorylation du récepteur HER2 et donc les signalisations en aval (**Cho et al., 2003**). HER2 est rapidement déphosphorylé par le trastuzumab (**Lane et al., 2000**). Il induit des réponses antitumorales, mais son utilisation est combiné à la chimiothérapie (**Baselga et al., 2010**). D'autres anticorps monoclonaux ont été développés, ainsi, le pertuzumab est un anticorps monoclonal anti-HER2 se fixant sur un épitope différent de celui du trastuzumab et empêchant sa dimérisation (**Franklin et al., 2004**). Ainsi, il bloque la faculté du récepteur HER2 à former des hétérodimères avec les autres membres de la famille HER,

empêchant la transmission du signal (Agus *et al.*, 2005; Herbst *et al.*, 2007; Mendoza *et al.*, 2002).

8.2 Les inhibiteurs de tyrosine kinase

Les inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK) sont des molécules de petite taille, qui inhibe de façon spécifique l'activité tyrosine kinase des récepteurs HER, par concurrence avec le site de fixation de l'ATP au niveau intracellulaire, empêchant ainsi la phosphorylation du récepteur et par la suite le blocage des voies de signalisation (Ciardiello, 2000).

Le Erlotinib : Tarcéva® et Gefitinib : Iressa® sont les premiers à être utilisés comme inhibiteurs de tyrosine kinase, ils induisent l'arrêt du cycle cellulaire en phase G1 et inhibe la prolifération cellulaire tumorale, l'angiogenèse, et la croissance tumorale. (Albanell *et al.*, 2002; Normanno *et al.*, 2002).

Cependant, ces traitements montrent des effets indésirables, les plus fréquents avec trastuzumab sont des dysfonctionnements cardiaques, une hémato-toxicité, des infections, et des réactions indésirables pulmonaires. Avec la forme sous-cutanée, les réactions au site d'administration telles qu'un érythème, un prurit ou un œdème sont plus courants et ceux de erlotinib et gefitinib sont : l'hyperglycémie, diarrhée, nausée, vomissement, mucite et aphtose.

9. Les produits naturels ciblant la protéine HER2

Dans les cancers du sein, la surexpression du récepteur du facteur de croissance épidermique humain 2 (HER2) joue un rôle essentiel dans le développement de la maladie. Les traitements inhibiteurs de HER2 utilisés actuellement sur le marché tel que le nératinib, erlotinib et gefitinib ciblent spécifiquement le site de liaison à l'ATP des récepteurs et empêchent la phosphorylation et inhibent plusieurs voies de signalisation en aval de HER. Cependant, ces traitements présentent des effets indésirables, c'est pourquoi l'utilisation des substances naturelles phytochimiques est en plein essor. En effet, depuis quelques années, on note un regain d'intérêt pour les produits naturels dans le domaine du cancer. Effectivement, il y a beaucoup d'études dans cet axe, qui ont montré que les composés naturels pouvaient être puissants agents anticancéreux, avec plus d'avantages que les composés synthétiques, ces composés sont plus abondants, faciles à extraire et moins toxiques (Atanasov *et al.*, 2015). Il y a plusieurs expériences in vitro sur l'effet des

substances naturelles dans le cancer. On montre l'étude de William et al., (2012), qui a utilisé l'effet de Crocétine dérivé du safran contre plusieurs types de cancer. La crocétine affecte la croissance des cellules cancéreuses en inhibant la synthèse des acides nucléiques, en améliorant le système anti-oxydant, en induisant l'apoptose et en entravant les voies de signalisation du facteur de croissance (**William et al., 2012**). Il y a une autre étude de Parc min yeong et al., (2022), in vitro, cette étude se concentre sur le rôle des flavonoïdes dans la suppression du cancer du sein. Les flavonoïdes sont un large groupe de composés végétaux qui sont répandus dans les fruits, les légumes et les herbes et se présentent sous différentes couleurs allant du jaune au rouge au bleu. Ces flavonoïdes peuvent traiter les cellules cancéreuses en ciblant leurs effets anticancéreux. par conséquent les flavonoïdes diminuent la prolifération et le caractère invasif des cellules cancéreuses en modulant les activités enzymatiques de piégeage des ROS, en participant à l'arrêt du cycle cellulaire, en induisant l'apoptose et l'autophagie et en supprimant la prolifération (Parc min yeong et al., 2022). On outre, la recherche in silico, l'expérience de Prabhavathi et al., (2020), a montrés que parmi 131 substances extrait de 51 familles de plantes, les 16 composés ont présenté une faible énergie de liaison comparée au récepteur HER2 (**Prabhavathi et al., 2020**). Dans une autre étude de Matada et al., (2021), qui a examiné les composants photochimiques et l'affinités de liaison des ligands vers HER2. Il a testé 573 composants photochimiques trouvés dans diverses parties des plantes telles que les fruits, les fleurs, les graines, les racines, les rhizomes, les feuilles et les tiges. En Plus, ces composants ont été filtré selon les critères physicochimiques, propriétés moléculaires, leur ressemblance aux médicaments et les règles de Lipinski , il a obtenu 33 composants , Parmi ces 33 photochimiques examinés, le meilleur amarrage énergie pour HER2 est (Pristimerin , Ixocarpalactone A ,Viscosalactone B et Zhankuic acid A) ses quatre composés ont été comparée avec les médicament standard (Erlotinib ,Lapatinib ,Tamoxifene et Daunorubicin) (**Matada et al., 2021**). Dont étude de Sanjib Kumar Das et al.,(2021), qui a utilisé la méthode in silico. Le Houltuynia cordata Thunb est une plante médicinale originaire du nord-est de l'Inde, du Népal, du Bhoutan, de la Chine, du Japon, Corée, Myanmar, pays d'Asie du Sud-Est en Indochine (**Govaerts, 2020; Jiangan et al., 2013**). Qui contient divers groupes de composés phytochimiques principalement flavonoïdes, alcaloïdes et huiles essentielles (**Jiangan et al., 2013**). Une approche d'amarrage moléculaire fournit des affinités de liaison probables entre les récepteurs et les composés phytochimiques (ligands) qui initient la première étape de la découverte et du développement de médicaments anticancéreux. Dans la présente étude, des approches

d'amarrage *in silico* ont été utilisées pour identifier les composés photochimiques les plus performants de *H. cordata* en tant qu'inhibiteurs potentiels des gènes du cancer du sein HER2 surexprimés. Un total de 100 composés photochimiques biologiquement actifs de *H. cordata* ont été criblés et amarrés contre la poche de liaison au ligand des domaines HER2 kinase. Les résultats d'amarrage n'ont révélé que quelques composés photochimiques qui s'intègrent de manière appropriée dans la poche de liaison au ligand avec une affinité de liaison supérieure à celle du ligand ATP naturel. Un amarrage compétitif a été utilisé pour déterminer les composés phytochimiques les plus performants qui se lient parfaitement à la poche de liaison au ligand ATP. Parmi les composés phytochimiques les plus populaires issus de *H. cordata*, le β -sitostérol et la quercétine ont montré l'affinité de liaison la plus élevée envers les récepteurs HER2 en utilisant à la fois des interactions hydrogène et hydrophobes. Cette étude a confirmé que le β -sitostérol et la quercétine étaient des candidats-médicaments potentiels contre le HER2 (**Sanjib Kumar Das *et al.*, 2021**). Par ailleurs, l'étude de Hemalatha *et al.*, (2022) des composés inhibiteurs à partir de composés naturels a permis de sélectionner 14 molécules ciblant le récepteur HER2 parmi les 50 testés (**Hemalatha *et al.*, 2022**).

Parmi ces molécules, les flavonoïdes représentent une classe de substances naturelles à structures phénoliques différentes et présentes dans les plantes, les fruits, le thé, le raisin rouge, les céréales et les légumes (**Kumar *et al.*, 2013**). Les flavonoïdes sont classés en six sous-catégories: les flavonols, les flavanones, les isoflavones, les flavan-3-ols (également appelés flavanols ou cate-chins), les flavones et les anthocyanidines (**Fantini *et al.*, 2015**). Ils possèdent plusieurs propriétés anti-inflammatoires, antivirales, antiallergiques, antioxydant, anti-tumorales, anticancéreuses, et antibactériennes. L'utilisation des flavonoïdes adjuvants peut réduire le risque de cancer du sein et les effets secondaires systémiques, ce qui peut améliorer la qualité de vie des survivantes du cancer du sein. En notant que ces flavonoïdes ont des effets *in vivo*, la possibilité que les flavonoïdes soient utilisés dans le traitement du cancer du sein est augmentée (**Khongkaew *et al.*, 2021**).



Chapitre II : Matériel et méthodes

1 Matériel

1.1 Microordinateur

Dans cette étude nous avons utilisé deux micro-ordinateurs. Un micro-ordinateur dans lequel tous les programmes utilisés sont installés sous le système d'exploitation linux, 64 bits. Ce micro-ordinateur dispose de 4 Go de mémoire libre et d'un processeur Intel® Core i5-7th Gen. Et le deuxième micro-ordinateur avec une mémoire de 4GB, un processeur Intel® Core™ i7CPU M620@ 2.67GHz. Tous les programmes utilisés sont installés sous le système d'exploitation Windows 7- 32 bits.

1.2 Les programmes

Les différents logiciels utilisés dans ce travail sont:

1.2.1 UCSF Chimera

Le logiciel Chimera de l'UCSF (Université de Californie, San Francisco) est un programme utilisé pour la visualisation et l'analyse interactives des structures moléculaires et des données associées, y compris les cartes de densité, la microscopie 3D (**Goddard et al., 2007**). Chimera est un logiciel disponible gratuitement sur <http://www.rbvi.ucsf.edu/chimera/> (figure 8), pour une utilisation non commerciale et montre des progrès en particulier dans ses performances, son extensibilité, sa visualisation et sa convivialité .

Concernant le programme du docking moléculaire, nous avons utilisé AutoDock vina intégré dans Chimera afin de simuler les interactions protéine-inhibiteur pour chercher les différents sites de contact. Notre choix est porté sur Chimera avec Autodock Vina en raison de la facilité de son interface, contrairement aux autres programmes tels que Gold Suite et Molecular Operating Environment (**Goddard et al., 2007**) .

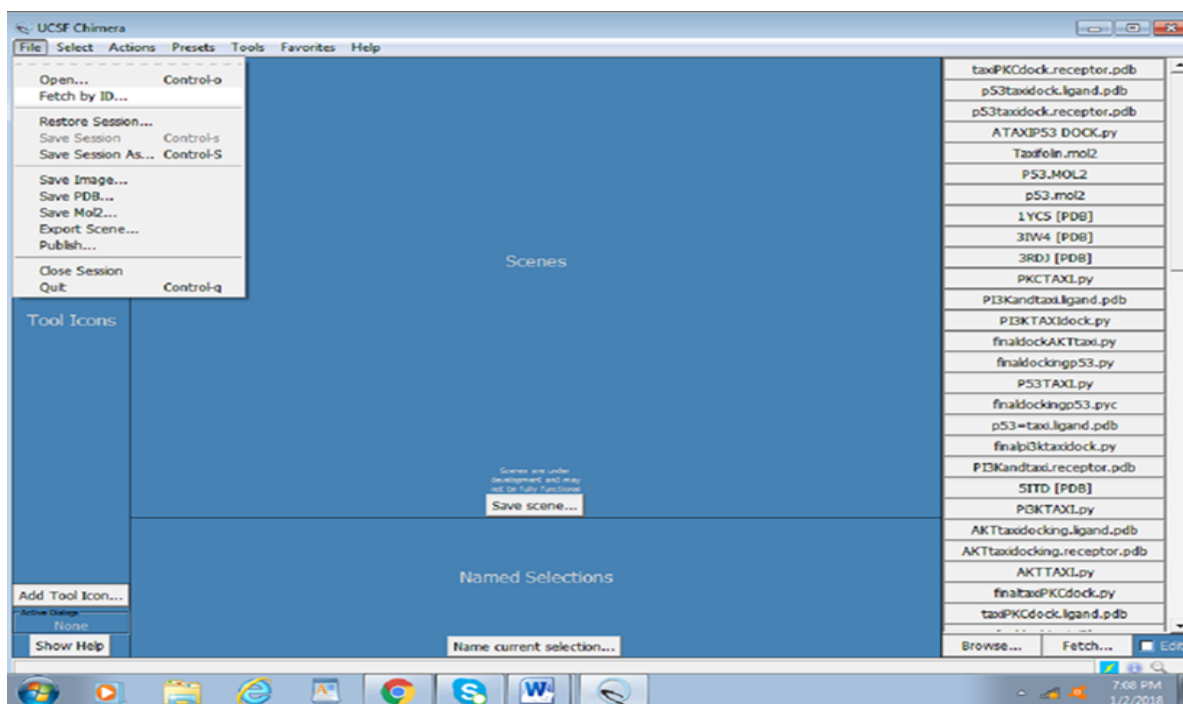


Figure 8 : Interface graphique de Chimera.

1.2.2 Logiciel PyRx

PyRx est un programme de criblage virtuel utilisé pour dockeur entre des ligands et des protéines, sert à la découverte des médicaments qui peut être utilisé pour cribler des composés par rapport à des cibles médicamenteuses potentielles.

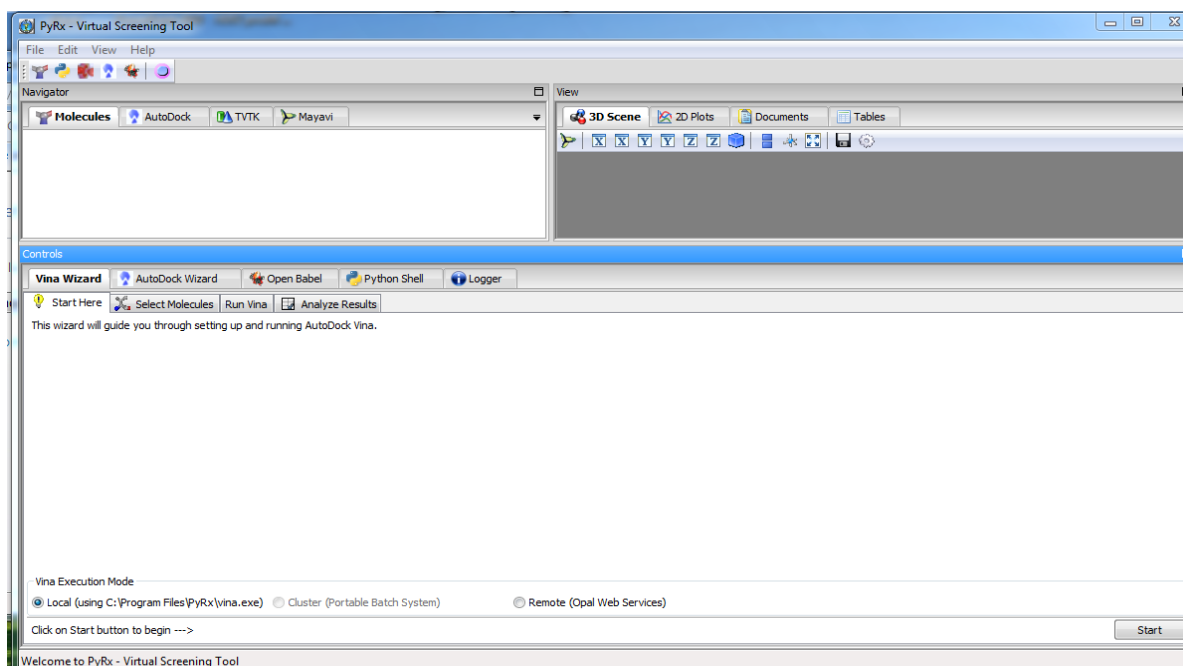


Figure 9: Interface graphique de logiciel PyRx

1.2.3 Auto Dock Vina

AutoDock Vina version 1.14 sous UCSF chimera est un programmes open source les plus rapides et les plus utilisés pour faire l'amarrage moléculaire. Il a été conçu et mis en œuvre à l'origine par le Dr Oleg Trott du Molecular Graphics Lab (maintenant CCSB) du Scripps Research Institute accessible librement sur : <http://vina.scripps.edu> (Trott,et Olson, 2010). (figure 10)

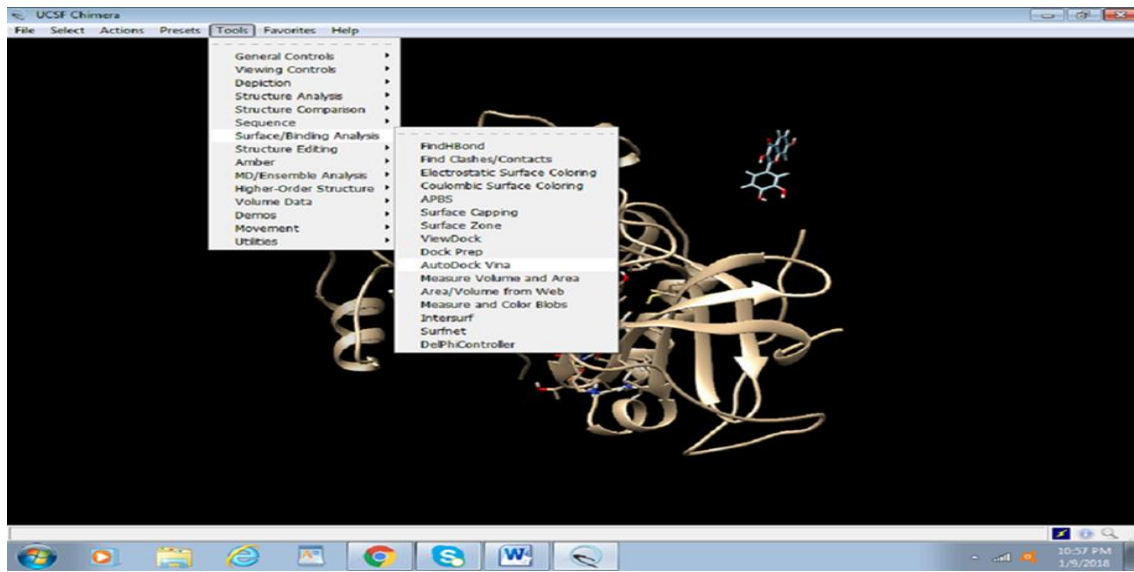


Figure 10 : L'interface d'accès au Auto Dock vina dans UCSF chimera

1.2.4 Dock Prep

Dock Prep est un outil disponible dans Chimera qui sert à préparer les structures des molécules étudiés avant l'amarrage (Qawoogha & Shahiwala, 2020). (figure 11)

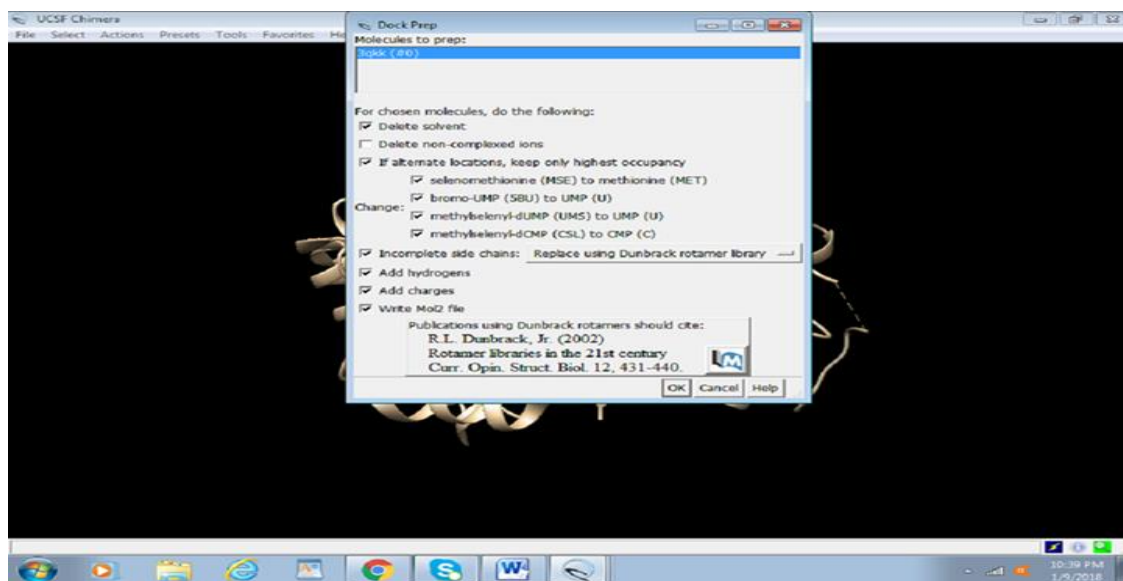


Figure 11 : Interface de la boîte DOCK Prep apparaît dans UCSF Chimera

1.2.5 Discovery Studio Visualizer

Discovery Studio Visualizer c'est un logiciel gratuit qui permet de construire une représentation 3D d'une molécule, de la visualiser et de sauvegarder les coordonnées cartésiennes sous différent format lisible par d'autre logiciel. Dans notre étude ce logiciel nous a permet de générer des images 2D montrant les résidus d'acides aminés impliqués dans les interactions entre le site actif de la protéine cible HER2 et les différents inhibiteurs.(figure)

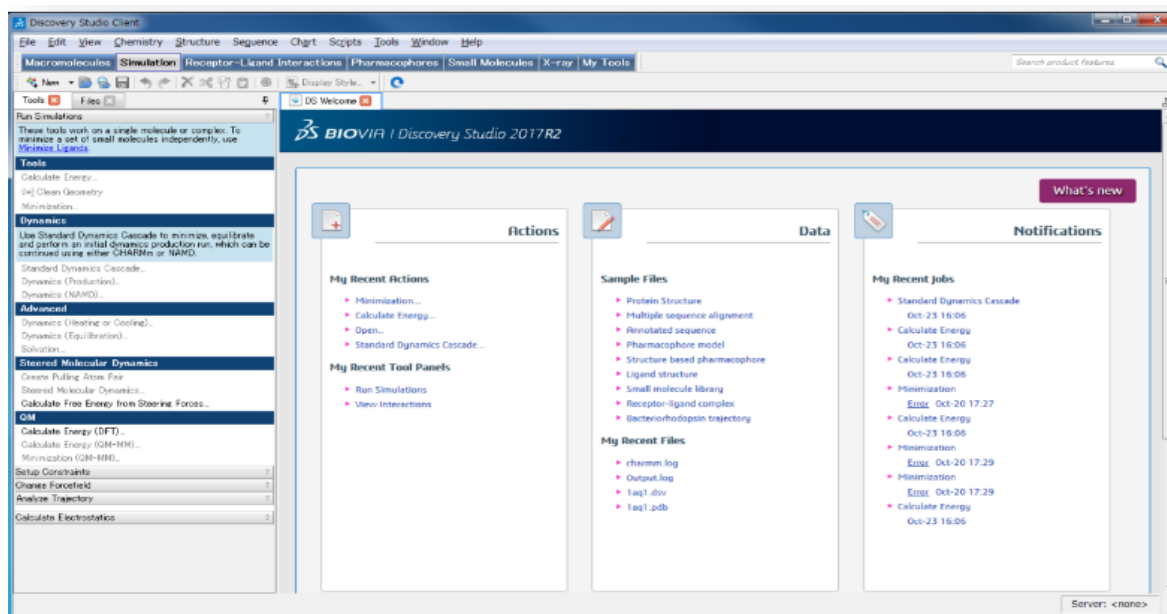


Figure 12: L'interface graphique de Discovery Studio

1.2.6 SwissADME

C'est un nouvel outil web qui donne un accès gratuit à un ensemble de modèles prédictifs afin de calculer la physicochimie, et d'estimer les paramètres ADME, les propriétés pharmacocinétiques des composés et la convivialité de la chimie médicinale d'une ou plusieurs petites molécules pour faciliter la découverte de médicaments (**Donia et al., 2017**). L'outil SwissADME présenté est librement accessible sur Le site Web <http://www.swissadme.ch> et destiné à une soumission conviviale et à une analyse facile des résultats. (figure 13)



Figure 13 : L'interface graphique de SwissADME

1.3 Banque de donnée et site internet

1.3.1 « PDB» (Protéine Data Bank)

La banque de données protéique (Protéine Data Bank) est la principale source et la seule archive mondiale de données en biologie structurale qui permet en particulier d'accéder à des structures 3D de protéines (**Parasuraman, 2012**). Ces structures sont principalement déterminées par les méthodes de cristallographie à rayons X et par spectroscopie RMN ou, de plus en plus, par microscopie cryo-électronique. Elles sont soumises par des biologistes et des biochimistes du monde entier, sont en accès libre (**Berman, 2000**). (Figure 13)



Figure 14 : Interface graphique de Protein Data Ban.

1.3.2 PubChem

C'est une banque de données américaine des molécules chimiques gérée par NCBI (National Center for Biotechnology Information) (**Kim et al., 2016**). C'est une branche de la Bibliothèque nationale de médecine des États-Unis sous l'autorité de la National Institute of Health (NIH) (**Murray, 2001**), elle est utilisée pour retrouver la structure 3D des ligands. La base de données PubChem englobe plusieurs millions de composés mis en ligne, principalement des petites molécules, mais également des molécules plus grandes telles que les nucléotides, les glucides, les lipides et les peptides. (Figure 14)



Figure 15: Interface graphique d'accueil du PubChem.

2 Méthodes

2.1 Préparation de la protéine pour l'amarrage

La protéine cible étudiée dans ce travail est HER2 dont la structure cristalline du domaine kinase de HER2 humaine a été obtenue à partir de Protein Data Bank (PDB) <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do> avec PDB ID: 3PP0. Nous avons utilisé que la structure du domaine kinase en complexe avec le ligand 03Q (2-{2-[4-({5-chloro-6-[3-(trifluorométhyl)phénoxy]pyridin-3-yl}amino)-5H-pyrrolo[3,2-d]pyrimidine-5yl]éthoxy}éthanol). La structure a été téléchargée au format pdb et ensuite préparée avant les simulations d'amarrage à l'aide du module de préparation des protéines mis en œuvre dans le programme Chimera (Dock Prep). Enfin, les résidus manquants et les hydrogènes polaires ont été ajoutés (tableau 1).

Tableau 1: Les données PDB de la protéine cible

/ID PDB	Le poids total (kDa)	Résolution (Å)	Méthode
3PP0	70,36	2,25	Diffraction des rayons X

Après le téléchargement, on observe que la protéine HER2, possède deux chaîne A et B. Cette dernière doit être modifiée par l'élimination de la chaîne B, les molécules d'eau et l'inhibiteur pour obtenir une structure (3PP0) simplifiée. Après ajouter d'atomes d'hydrogènes et attribution des charges partielles à la protéine le fichier est enregistré sous forme PDB. Les étapes de la préparation de la protéine HER2 sont résumées en annexe (1)

2.2 Préparation des inhibiteurs

Cinquante flavonoïdes provenant de différentes sources végétales rassemblés à partir d'une base de données publique ont été téléchargés à partir de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> sous forme SDF. Dans notre choix des 50 flavonoïdes on s'est basée sur leur action anti cancéreuse anti oxydant anti inflammatoire et sur sa faible cytotoxicité (Tableau des 50 flavonoïdes en annexe)

2.3 Docking moléculaire

Après l'obtention de la protéine selon protocole cité précédemment et téléchargement des inhibiteurs à partir de la base de données pubchem, on passe à l'étape du docking moléculaire qui consiste à positionner, les inhibiteurs sur le site actif de la protéine HER2 en utilisant le logiciel Pyrx. Il permet d'amarrer les 50 flavonoïdes avec la protéine HER2, afin de déterminer les flavonoïdes de faibles ΔG . Les étapes de docking par logiciel Pyrx sont résumées en annexe (1).

Ensuite, une deuxième docking est effectué à l'aide d'Autodock vina sous Chimera pour les 13 meilleurs composés sélectionnés selon leur faibles ΔG . La procédure de docking avec Chimera se décompose en plusieurs étapes : à savoir la préparation des simulations de docking qui consiste à ouvrir avec UCSF Chimera les structures PDB du récepteur (HER2) puis du ligand (Flavonoïdes). Les étapes du docking par chimera sont résumées en annexes (2).

Les résultats de l'amarrage sont enregistrés dans un fichier texte plus un fichier PDBQT pour la visualisation tridimensionnelle des interactions moléculaires entre la protéine cible et les ligands via le logiciel « Discovery Studio Visualizer ». Puis étudies les propriétés pharmacologiques par « SwissADME »

2.4 Discovery Studio Visualizer

Les résultats de docking effectués par le programme AutoDock sont enregistrés dans un fichier PDB.

Parmi les 13 ligands nous avons choisis les Cinq meilleurs selon leur ΔG obtenus et nous avons enregistré les conformations spatiales de la meilleure position dans le site actif de récepteur HER2 de chacun de ces 5 meilleurs ligands. La lecture du fichier PDB par Discovery Studio Visualizer permet la visualisation du mode d'interaction entre les meilleures conformations du ligand et le site actif tout en affichant les différents types des liaisons formées.

2.5 SwissADME

Les propriétés physico-chimiques de cinq molécules testées ont été étudiées par SwissADME pour qu'elles deviennent biodisponible par voie orale.



Chapitre III : Résultats

Et discussion

Dans notre étude, nous avons exploré plusieurs outils de docking moléculaire par leur application *in silico* dans le cadre de la découverte de nouveaux inhibiteurs du récepteur HER2. Nous nous sommes intéressés à l'étude des interactions moléculaires entre la protéine HER2 et treize inhibiteurs par Docking moléculaire en utilisant UCSF Chimera, pour mieux comprendre le mécanisme d'inhibition de ce récepteur. Ensuite, une analyse visuelle de ces composés naturels est réalisée à l'aide de DSV. Enfin, nous avons étudié les propriétés ADME pour déterminer les meilleurs candidats.

1 Les résultats de docking moléculaires

Les résultats obtenus par le logiciel pyrx pour les 50 flavonoïdes sont mentionnés dans le tableau au niveau des annexes 1.

Nous avons analysé les interactions moléculaires entre un domaine kinase de récepteur HER2 (3PP0) pour chaque inhibiteur d'origine naturel afin d'indiquer la meilleure conformation générée par AutoDock Vina. Les résultats obtenus de 13 flavonoïdes sont classés par ordre d'énergie de liaison dans le tableau suivant (tableau 3) :

Tableau 3: Résultats de docking moléculaire pour les 13 flavonoïdes.

Le nom	Le code Pupchem	ΔG° (Kcal/mo)	Formule	Poids moléculaire (g/mol)
Licoflavanone	14218027	-10.9	C ₂₀ H ₂₀ O ₅	340,4
Isolicoflavonol	5318585	-10.7	C ₂₀ H ₁₈ O ₆	354,4
Brousoflavonol F	9866908	-10.5	C ₂₅ H ₂₆ O ₆	422,5
7,3',4'-Trihydroxyflavone	5322065	-10.2	C ₁₆ H ₁₄ O ₅	286,28
(E)-3-(2,4diméthylphényl)-1-phénylprop-2-èn-1-one	6176082	-10.0	C ₁₇ H ₁₆ O	236,31
3',4'-dihydroxyflavanone 3'-sulfate	53247995	-9.9	C ₁₅ H ₁₂ O ₇ S	336,3
6-bêta-D-glucopyranosyl	44258213	-9.9	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	462,4
7,3',4',5'-tétrahydroxyflavone	5393164	-9.9	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286,24
7-Méthoxyflavone	466268	-9.9	C ₁₆ H ₁₂ O ₃	252,26
Lutéoline	5280445	-9.9	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286,24
Coumestrol	5281707	-9.9	C ₁₅ H ₈ O ₅	268,22
7-Méthoxyflavanone	2825024	-9.8	C ₁₆ H ₁₄ O ₃	254,28
2',4'-Dihydroxy	10291777	-9.8	C ₂₀ H ₂₀ O ₆	356,4

Plus l'énergie de la liaison est réduite, plus la force de la liaison est élevée, ce qui conduit à une bonne inhibition. D'après les valeurs de ΔG° obtenue (tableau), la licoflavone présente une meilleure affinité avec le récepteur HER2, suivi par Isolicoflavonol de valeur de ΔG° (-10.7) exprimant une interaction similaire avec la protéine cible. La 3',4'-dihydroxyflavanone 3'-sulfate, 6-bêta-D-glucopyranosyl-5,7,3'-trihydroxy-4'-méthoxyflavone, 7,3',4',5'-tétrahydroxyflavone, 7-méthoxy-2-phényl-4H-chromène-4-one, Lutéoline, Coumestrol dont les six ayant la même valeur de ΔG° (-9.9). 7-méthoxy-2-phényl-2,3-dihydrochromène-4-one, 2',4'-Dihydroxy-2''-(1-hydroxy-1-méthyléthyl) dihydrofuro[2,3-h]flavanone montre la affinité la plus faible avec la valeurs de -8.9.

2 Etude des interactions entre les inhibiteurs et la HER2

Dans le but d'étudier l'interaction des ligands dans le site actif de la HER2, nous avons choisi les 13 inhibiteurs de faible énergie d'interaction, ensuite parmi ces treize inhibiteurs, cinq sont sélectionné en fonction de leur faible énergie d'interaction et leur meilleure activité pharmacocinétique qui portant les codes suivantes : 14218027, 5318585, 9866908, 10291777, 28250424. (Tableau 4)

Tableau 4 : Résultats des énergies d'interactions des 5 meilleurs inhibiteurs de la HER2

Nom	Interactions
Licoflavanone 14218027	leu852, Ala751, Val734, Lys753 liaison alkyl leu796, Phe864, leu785, Met774 liaison pi-alkyl Asp863 Conventional H bonds
Isolicoflavonol 5318585	Gly729 liaison carbone hydrogène Met774, Phe864, Leu796, Leu785 liaison alkyl Lys753, Val734, Leu852, Leu726, Ala751 liaison pi-alkyl
Brousoflavonol F 9866908	Met801, Leu726 Conventional H bonds Leu726 Pi-Sigma Leu796, Leu785, Phe864, Arg849, Cys805, Met774 liaison alkyl Val734, Ala751, Leu852, Lys753 liaison pi-alkyl
2',4'-Dihydroxy-2''-(1-hydroxy-1-méthyléthyl) dihydrofuro[2,3-h] 10291777	Asp863, Ser728 Conventional H bonds Lys753, Val734, Ala751, Leu726, Leu852, Cys805 liaison pi-alkyl
1-(3-fluorophényl)-3-[(1R,3S)-3fluorophényl]carbamoylamino]méthyl]-3,5,5-triméthylcyclohexyl]urée 28250424	Leu796, Lys753, Val734, Val734 liaison carbone hydrogène Asp863, Leu852 Conventional H bonds

2.1 Diagrammes 2D

La conformation des ligands dockés est faite à l'aide de logiciel DSV qui permet de visualiser les fichiers au format PDB, cette analyse est basée sur deux paramètres ; le nombre de liaisons, et le nombre d'acides aminés entre le site actif de récepteur HER2 et les inhibiteurs.

Les cinq meilleurs inhibiteurs sélectionnés

➤ Interactions entre le Licoflavanone et le site actif :

Licoflavanone présente la valeur de score d'interaction la plus élevée de -10,9 Kcal/mol, cela indique que ce composé est bien placé dans le site actif de HER2 à travers 9 résidus d'acides aminés suivant : Leu852, Asp863, Val734, Leu796, Phe864, Leu785, Met774, Lys753, Ala751 (figure15) . Asp863 interagit par une liaison hydrogène conventionnelle. Et les acides aminés suivants : Leu852, Val734, Leu796, Phe864, Leu785, Met774, Lys753, Ala75 interagissant par des interactions pi –alkyle et Alkyl.

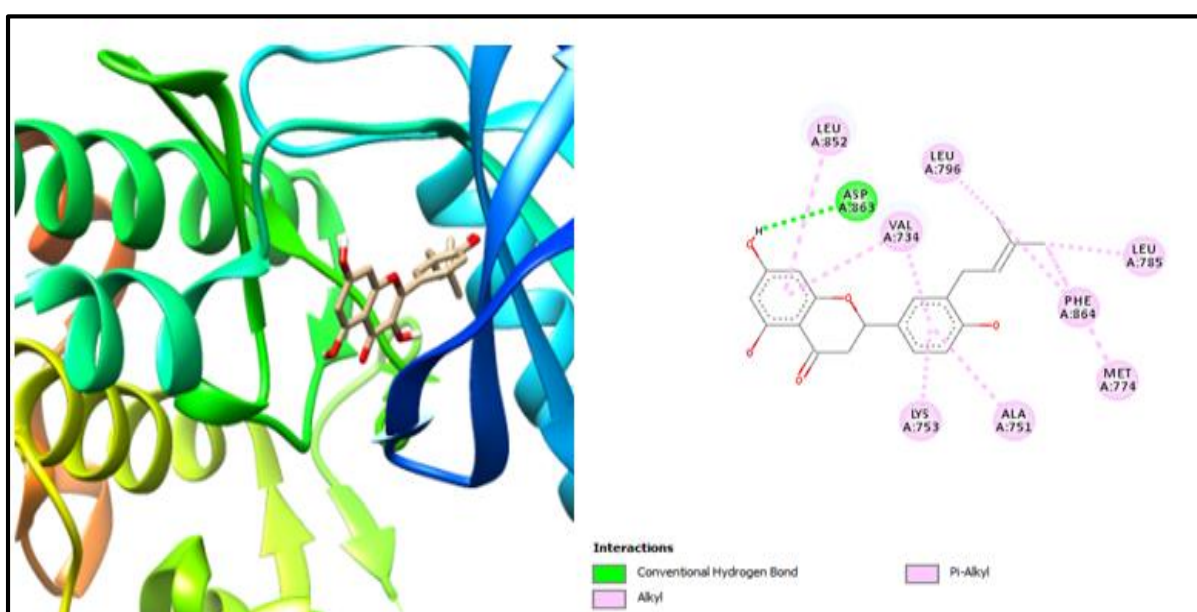


Figure 15 : Représentation d'interaction du Licoflavanone dans le site actif de HER2 par DSV

➤ Interactions entre l'Isolicoflavonol et le site actif :

Isolicoflavonol présente un score de liaison égale -10,7 Kcal/mol, l'analyse visuelle réalisée par DSV montre que l'inhibiteur est bien placé dans le site actif de HER2 où il est stabilisé par de nombreuses liaisons grâce à 10 acides aminés suivant : Leu785, Met774, Phe864, Leu796, Ala751, Gly729, Lys753, Val734, Leu852, Leu726 (figure 16). La Gly729 associés par des liaisons hydrogènes conventionnelles, et Leu785, Met774, Phe864, Leu796, Ala751, Lys753, Val734, Leu852, Leu726 est interagi par déférentes interaction hydrophobe de type pi- alkyle et alkyle.

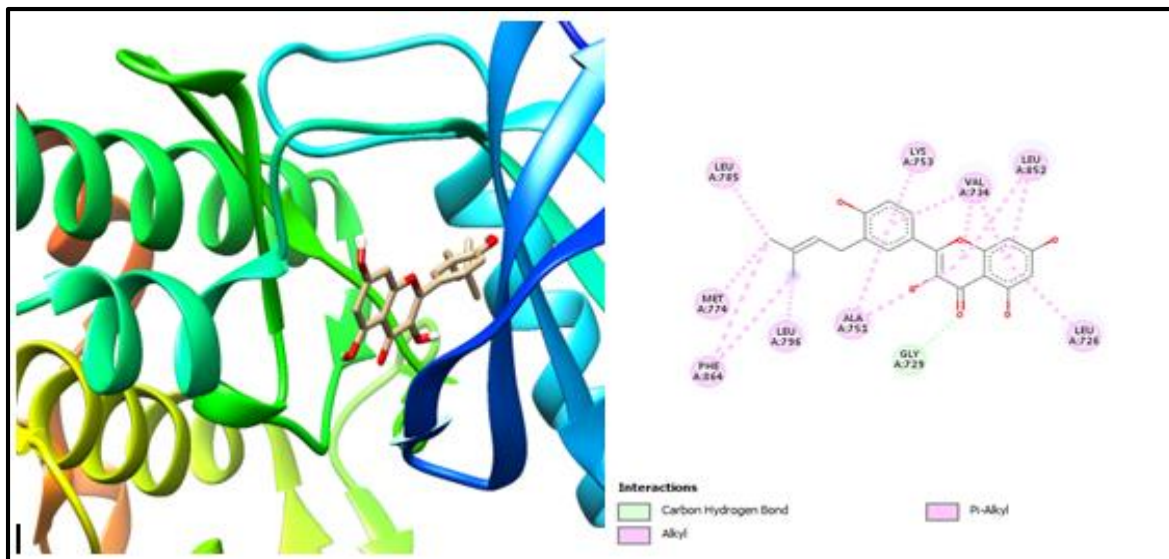


Figure 16 : Représentation d'interaction du l'Isicoflavonol dans le site actif de HER2 par DSV

➤ **Interactions entre Brousoflavonol F et le site actif :**

Brousoflavonol F présente une énergie d'interaction égale à -10,5 Kcal/mol, l'analyse visuelle réalisée par DSV montre que ce composé est bien placé dans le site actif de la HER2 où il est stabilisé par de nombreuses liaisons grâce à 12 acides aminés suivants : Leu796, Lys753, Arg849, Cys805, Leu785, Met774, Phe864, Val734, Ala751, Met801, Leu852, Leu726 (figure 17). Met801, Leu726 interagissent par une liaison hydrogène conventionnelle, et Leu 726 avec deux interactions hydrophobes de types différents : alkyle et pi-sigma, et Leu796, Lys753, Arg849, Cys805, Leu785, Met774, Phe864, Val734, Ala751, Leu852. Leu 370 présente plus de l'interaction alkyle, une interaction hydrophobe de type pi-alkyle.

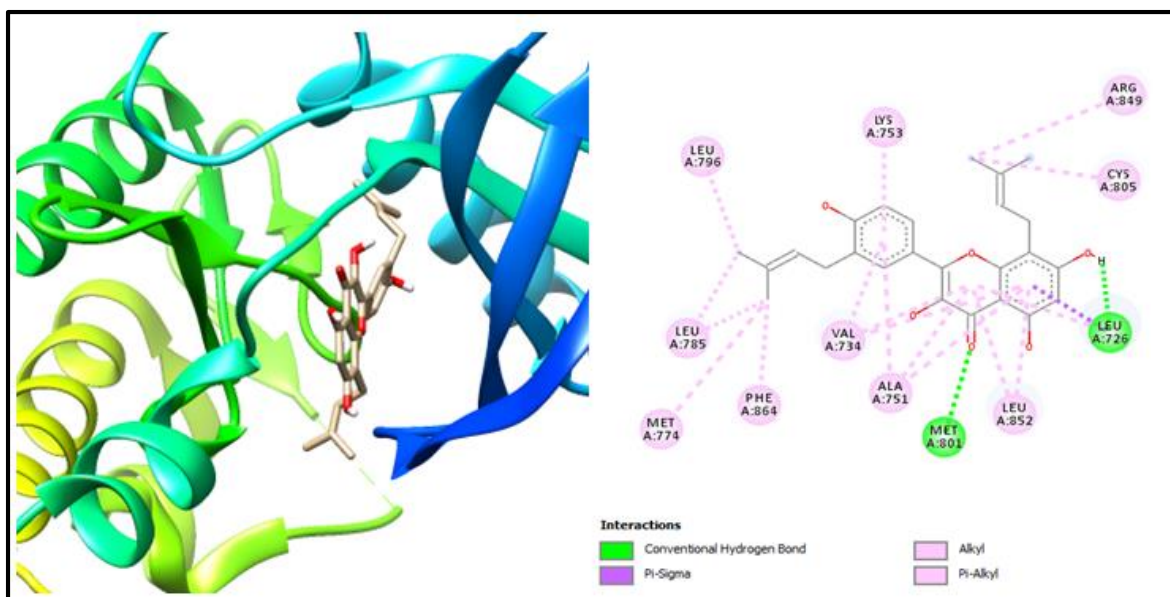


Figure 17 : Représentation d'interaction du l'Brousoflavonol F dans le site actif de HER2 par DSV

➤ **Interactions entre le 2',4'-Dihydroxy-2''-(1-hydroxy-1-méthyléthyl) dihydrofuro[2,3-h]flavanone et le site actif**

2',4'-Dihydroxy-2''-(1-hydroxy-1-méthyléthyl) dihydrofuro[2,3-h]flavanone présente une énergie d'interaction égale à -9,8 Kcal/mol, l'analyse visuelle montre que ce composé est bien placé dans le site actif de la HER2 où il est stabilisé par de nombreuses liaisons grâce à 8 acides aminés suivant : Asp863, Ser728, Lys753, Val734, Ala751, Leu726, Leu852, Cys805 (figure 18). La Asp863 et Ser728 interagit avec des liaisons hydrogènes conventionnelles, ainsi que d'autres comme Lys753, Val734, Ala751, Leu726, Leu852, Cys805 avec des liaisons de types pi-alkyle et alkyles.

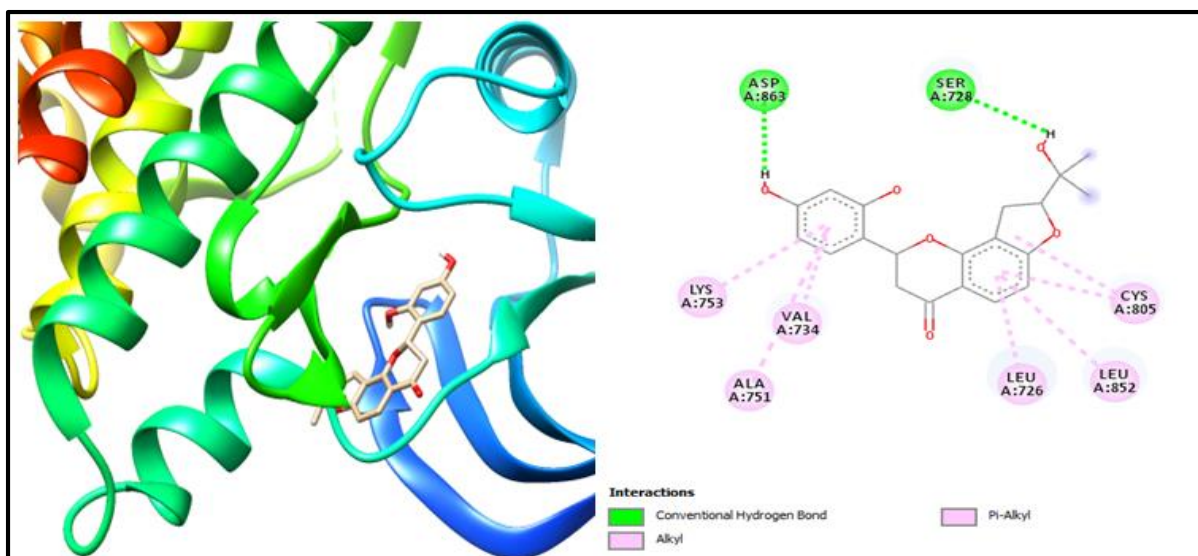


Figure 18: Représentation d'interaction du 2',4'-Dihydroxy-2''-(1-hydroxy-1-méthyléthyl) dihydrofuro[2,3-h] dans le site actif de HER2 par DSV

➤ **Intracation entre 1-(3-fluorophényl)-3-[(1R,3S) 3fluorophényl) carbamoylamino] méthyl] -3,5,5-triméthylcyclohexyl]urée et le site actif**

1-(3-fluorophényl)-3-[(1R,3S)-3-[(3-fluorophényl)carbamoylamino]méthyl]-3,5,5-triméthylcyclohexyl]urée présente une énergie d'interaction égale à -9,8 Kcal/mol, l'analyse visuelle montre que ce composé est bien placé dans le site actif de la HER2 où il est stabilisé par de nombreuses liaisons grâce à 5 acides aminés suivant :Leu796,Lys753,Asp863,Val734,Leu852 (figure 19).En forme des différentes liaison, Une liaison hydrogène conventionnelle pour Lys753et Asp863ainsi la Val734 pour une liaison carbone hydrogène et présente une interaction de type pi-alkyle, l'autre acide aminé Leu796 et Leu852 interagie avec des liaisons de types pi-alkyle.

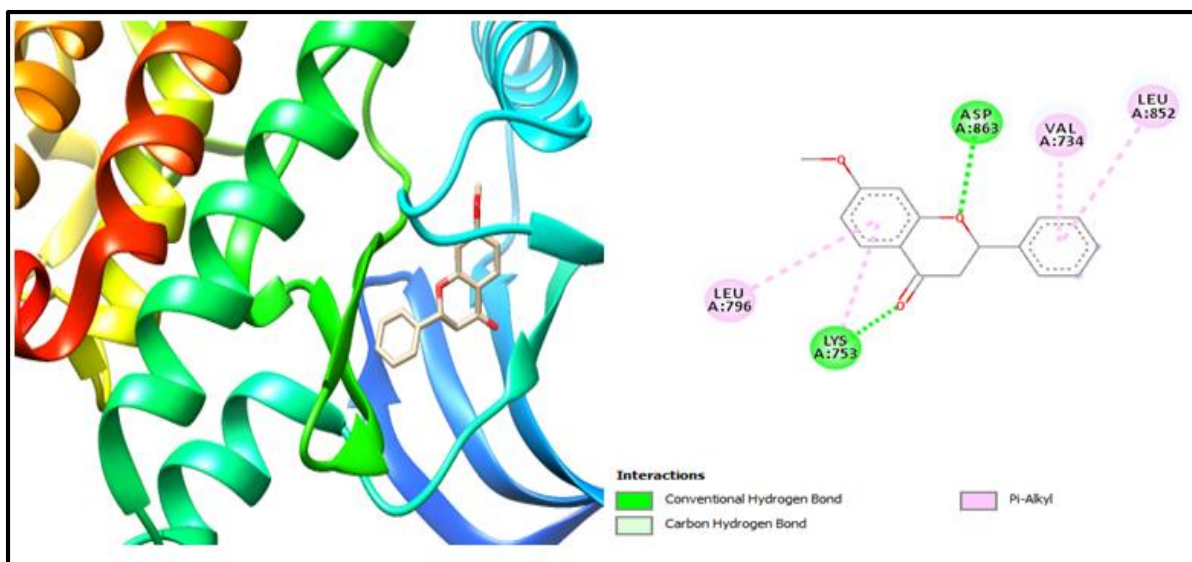


Figure 19 : Représentation d'interaction du 1-(3-fluorophényl)-3-[(1R,3S)-3-[[3-fluorophényl]carbamoylamino]méthyl]-3,5,5-triméthylcyclohexyl]urée dans le site actif de HER2 par DSV

Le docking moléculaire de ces composés envers le site actif de la cible fait ressortir les cinq composés : Licoflavanone , Isolicoflavonol, Brousoflavonol F, 2',4'-Dihydroxy-2''-(1-hydroxy-1-méthyléthyl)dihydrofuro[2,3-h]flavanone, 1-(3-fluorophényl)-3-[(1R,3S)-3-[[3-fluorophényl]carbamoylamino]méthyl]-3,5,5-triméthylcyclohexyl] urée comme meilleure inhibiteurs du récepteur HER2 avec des scores entre -10.9 et -9.8 Kcal/mole.

Après comparaison entre la structure du site actif de la protéine cible (HER2) et la représentation des interactions de chaque complexe protéine-ligand obtenu dans notre étude par le docking, on constate que ces interactions ont lieu au niveau de mêmes acides aminés qui constituent le site actif de la HER2.

Nos résultats sont comparables à ceux des travaux antérieurs sur l'inhibition in silico du récepteur HER2 (Prabhavathi et al., (2020))qui montrent les inhibiteurs ; Emetine/10219 , Alpha-Peltatin/92129, Panaxadiol/73498 se fixent sur des résidus ; Leu852, Val734, Leu796, Met774, Lys753, Ala751, Asp863,Leu785, Met801 (**Prabhavathi et al., 2020**).

Des résultats similaires trouvés dans l'étude de Matada et al., (2021), qui ont montré que le Pristimerin, l'Ixocarpalactone A, le Viscosalactone B et le Zhankuic acid A sont de puissants inhibiteurs de HER2, en interagissant avec les résidus des acides aminés; Lys860, Ala751, Leu852, Phe864 (**Matada et al., 2021**) .

Une autre étude du Sanjib Kumar Das et al., (2021)

Qui testé le β -sitostérol et la quercétine, principes actifs de la plante *H. cordata*, a montré qu'ils prouvaient être de excellents inhibiteurs de la protéine HER2 au niveau de son site actif. En effet ces composés interagissent avec le récepteur HER2 via les résidus d'acides aminés inhérents de la poche du domaine kinase (Ser 728, Cys 805, Leu 852, Leu 726, Ala751, Leu 800, Val 734, Thr 862, Gly 729 et Gly727) (Sanjib Kumar Das et al., 2021).

3 L'évaluation des propriétés pharmacologiques (ADMET)

Beaucoup d'études sont en d'accord sur le fait qu'un bon candidat médicament doit posséder une activité élevée envers la cible, en plus des propriétés ADMET compatibles avec une application biologique. Afin de déterminer le potentiel pharmacologique de chacun de ces composés nous avons conforté notre étude par l'évaluation de certaines propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques régissant les critères ADMET des meilleurs composés par le serveur SwissADME selon la règle des cinq de Lipinski.

Le serveur SwissADME possède une zone rose représentant la gamme optimale pour chaque propriété pharmacologique (lipophilie, la taille, polarité, l'insolubilité, l'instauration et la flexibilité).

Tableau 5: Profil ADMET des 5 meilleurs inhibiteurs obtenus par le serveur SwissADME

Ligand	PM (g/mol)	Lipophilie X log P3	Log S	GI absorption	Flexibilité	Instauration Fraction CSP3	Polarité TPSA(Å)
14218027	340.4	3.82	-4.70	High	3	0.15	111.13
5318585	354.4	3.82	-4.70	High	3	0.25	111.13
9866908	422.5	6,37	-6.52	Low	5	0.24	111.13
10291777	356.4	2.20	-3.65	High	2	0.35	96.22
28250424	254.28	4.58	-5.16	High	9	0.42	82.26

Licoflavanone et Isolicoflavonol présentent les meilleures affinités pour la HER2 parmi tous les inhibiteurs testés, et partagent le même radar de biodisponibilité sans dépasser la gamme optimale pour l'Isolicoflavonol, les deux composés ont des propriétés

pharmacologique similaires (tableau 5). De plus, en répondant parfaitement à la règle de cinq de Lipinski (0 violation). C'est pour cela, ils sont capables d'être utilisés comme inhibiteurs de la HER2 biodisponible par voie orale (**figure 20**).

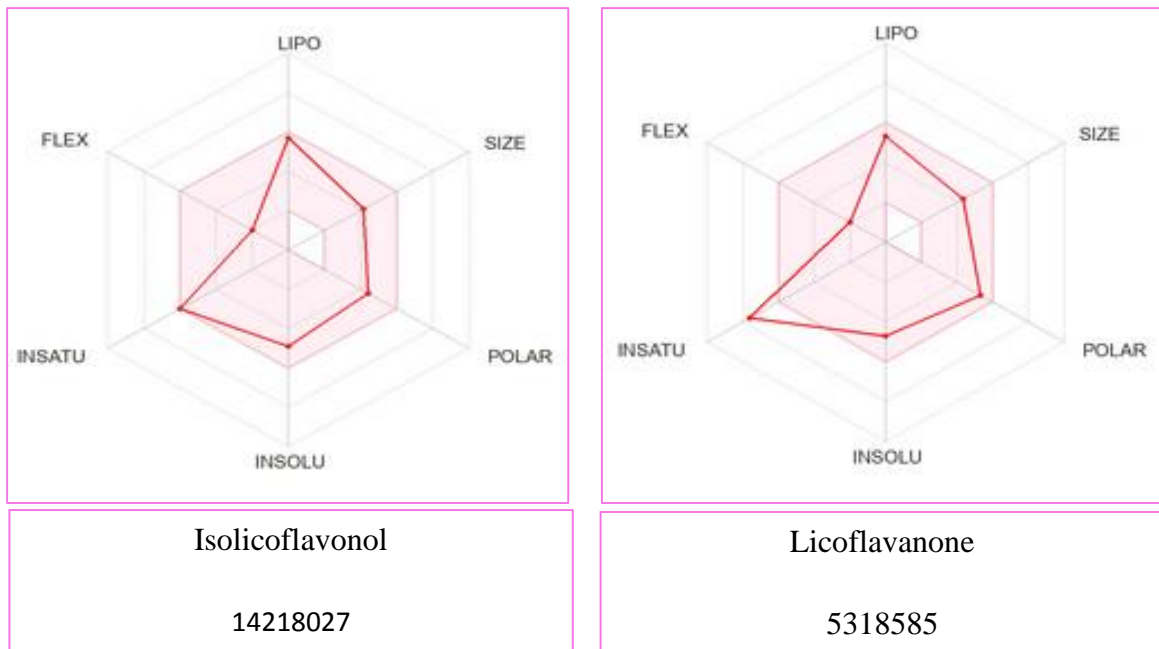


Figure 20 : Radar de biodisponibilité d'Isicoflavonol et Licoflavanone

Broussoflavonol F répond parfaitement à la règle de cinq de Lipinski (0 violation). C'est pour cela, qu'ils peuvent être utilisés comme inhibiteur de la HER2 biodisponible par voie orale, où il dépasse la gamme optimale par un taux d'Insolubilité et Lipophilicité (tableau 5). Figure 21

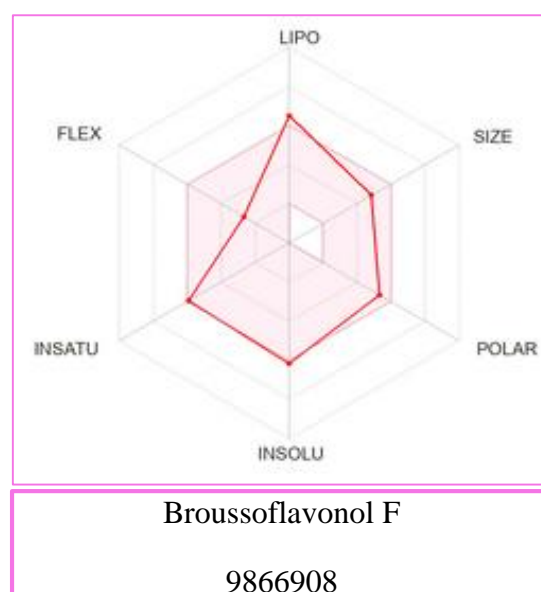


Figure 21 : Radar de biodisponibilité de Broussoflavonol F

7-Méthoxyflavanone et 2',4'-Dihydroxy-2''-(1-hydroxy-1-méthyléthyl) dihydrofuro[2,3-h]flavanone désignent approximativement le même radar de biodisponibilité sans passer la gamme optimale, quel que soit la différence de l'instauration (tableau 5). De plus, ces composés étudiés répandent parfaitement à la règle de cinq de Lipinski (0 violation), la raison pour laquelle on peut les utiliser comme inhibiteurs de la HER2 biodisponible par voie orale (**figure 22**).

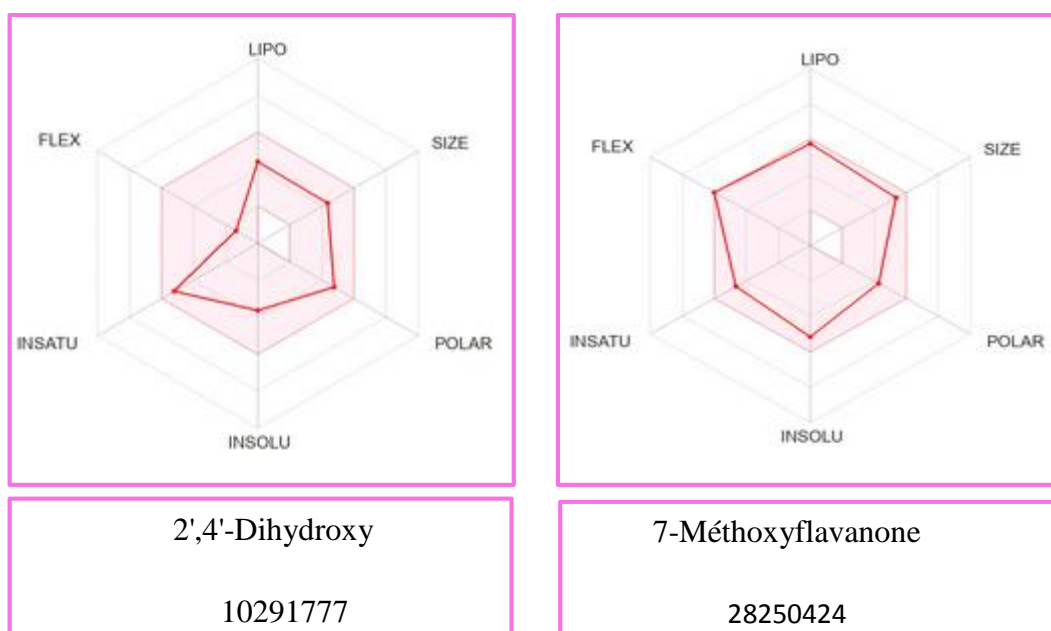


Figure 22 : Radar de biodisponibilité de 7-Méthoxyflavanone et 2',4'-Dihydroxy-2''-(1-hydroxy-1-méthyléthyl) dihydrofuro[2,3-h]flavanone

➤ Propriétés physico-chimiques

La règle de Lipinski, aussi connu sous le nom : Règle de 5, permet de vérifier la biodisponibilité orale d'un composé à partir de sa structure 2D. D'après cette règle, les composés qui ne valident pas au moins trois des cinq critères suivants sont susceptibles de poser des problèmes d'administration par voie orale (**Zemour,2019**) :

- Poids moléculaire (PM) ≤ 500 Da.
- Coefficients de partage octanol-eau ($\log P$) ≤ 5 .
- Le nombre d'accepteur d'hydrogène (n.ON) ≤ 10 .
- Le nombre de donneur d'hydrogène (n.OH/NH) ≤ 5 .

- Le nombre de liaisons flexibles (n.LF) <15.

Le Tableau 5 montre que les composés Licoflavanone ; Isolicoflavonol ; Brousoflavonol F ; 2',4'-Dihydroxy-2''-(1-hydroxy-1-méthyléthyl) dihydrofuro[2,3-h] ; 1-(3-fluorophényl)-3-[(1R,3S)-3fluorophényl]carbamoyleamino]méthyl]-3,5,5-triméthylcyclohexyl]urée répondent aux règles de Lipinski, ce qui indique que ces composés peuvent être administrés par voie orale sans poser de problèmes.

Parmi les treize inhibiteurs testés dans ce travail, seulement les cinq respectant les paramètres pharmacocinétiques et les règles de biodisponibilité, peuvent être utilisés comme des médicaments biodisponibles par voie orale.

À la lumière de ce travail, nous pouvons postuler que les composés 2',4'-Dihydroxy-2''-(1-hydroxy-1-méthyléthyl) dihydrofuro[2,3-h]flavanone et Isolicoflavonol possèdent un bon profil ADMET et un pouvoir inhibiteur potentiellement élevé envers la cible.

Par conséquent, ils peuvent être proposés comme nouveaux inhibiteurs de HER2 pour le traitement de cancer du sein. Les informations que nous avons fournies seront très utiles lors de leur optimisation pour devenir des médicaments candidats.



Conclusion générale

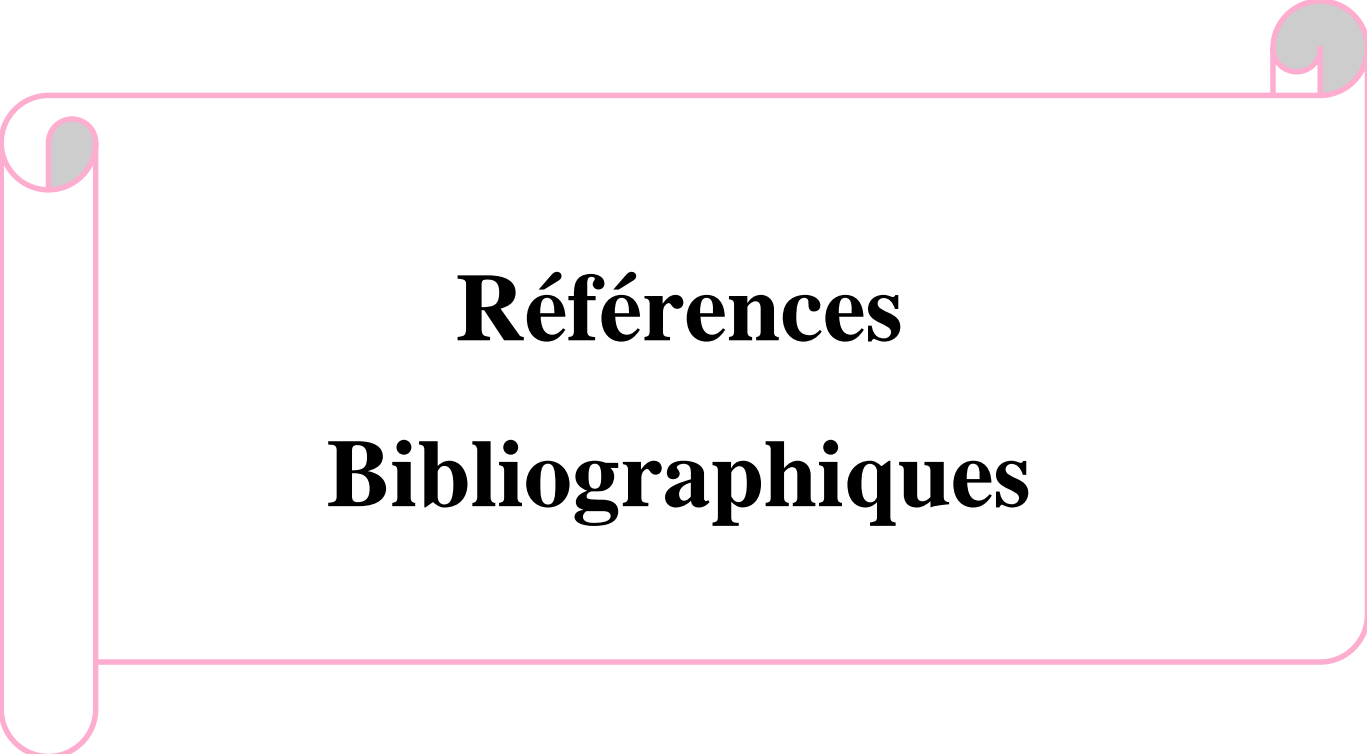
Conclusion

La découverte de nouveaux médicaments «*in-silico*» est l'une des stratégies les plus prometteuses visant à accélérer le processus de développement de médicaments. Le Docking moléculaire «Amarrage moléculaire», est l'une des premières étapes du processus de découverte de médicaments, l'objectif primordial de mon travail est l'inhibition de la protéine HER2 responsable du cancer du sein par des composantes naturelles «les flavonoïdes» par la méthode du docking moléculaire. Il repose sur la sélection «*in-silico*» des meilleures inhibitions potentiels qui peuvent interagir sur la protéine cible HER2.

A l'aide des logiciels utilisés pour accomplir ce travail sont Autodock Vina pour le docking moléculaire, DSV pour l'analyse des interactions des inhibiteurs avec la HER2 et SwissADME pour la prédiction de la biodisponibilité des inhibiteurs par voie orale.

Le but de mon travail était de tester nos résultats sélectionnent treize inhibiteurs naturels avec la protéine membranaire HER2, dont on a choisi que cinq composées: Licoflavanone, Isolicoflavonol, Brousoflavonol F, 2',4'-Dihydroxy-2''-(1-hydroxy-1-méthyléthyl) dihydrofuro[2,3-h]flavanone et 1-(3-fluorophényl)-3-[(1R,3S)-3-[[3-(3-fluorophényl)carbamoylamino]méthyl]-3,5,5-triméthylcyclohexyl]urée qui présentent une meilleures énergies de liaison (-10,7 kcal/mole) par rapport aux autres inhibiteur, ainsi que des propriétés physicochimiques et pharmaceutiques intéressantes et peuvent être donc proposés comme inhibiteurs potentiels de la HER2.

A l'avenir et comme perspectives, on passe à l'étape de dynamique moléculaire pour confirme la stabilité. Il serait intéressant de tester l'activité biologique du l'inhibiteur 2',4'-Dihydroxy-2''-(1-hydroxy-1-méthyléthyl) dihydrofuro[2,3-h]flavanone et Isolicoflavonol nouvellement proposé par une étude expérimentale *in vitro* et/ou *in vivo* pour confirmer les résultats théoriques réalisés *in silico*.



Références Bibliographiques

Références bibliographiques

1. (INC), Institut national du cancer. 2012 : <http://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-sante/Leschiffres-du-cancer-en-France/Epidemiologie-des-cancers>.
2. Agus, D.B., Gordon, M.S., Taylor, C., Natale, R.B., Karlan, B., Mendelson, D.S., Press, M.F., Allison, D.E., Sliwkowski, M.X., Lieberman, G., et al. (2005). Phase I Clinical Study of Pertuzumab, a Novel HER Dimerization Inhibitor, in Patients With Advanced Cancer. *J. Clin. Oncol.* 23, 2534–2543.
3. Aifa, S., Aydin, J., Nordvall, G., Lundström, I., Svensson, S.P.S., et Hermanson, O. (2005). A basicpeptide within the juxtamembrane region is required for EGF receptor dimerization. *Exp. Cell Res.*302, 108–114.
4. Aifa, S., Miled, N., Frikha, F., Aniba, M.R., Svensson, S.P.S., et Rebai, A. (2006). Electrostatic interactions of peptides flanking the tyrosine kinase domain in the epidermal growth factor receptor provides a model for intracellular dimerization and autophosphorylation. *Proteins* 62,1036–1043.
5. Alan .S, James L et Barbara Y. Anatomie pathologique, Atlas de Wheater.4 ed, deboek,2004.
6. Albanell, J., Rojo, F., Averbuch, S., Feyereislova, A., Mascaro, J.M., Herbst, R., LoRusso, P., Rischin, D., Sauleda, S., Gee, J., et al. (2002). Pharmacodynamic studies of the epidermal growth factor receptor inhibitor ZD1839 in skin from cancer patients: histopathologic and molecular consequences of receptor inhibition. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 20, 110–124.
7. Aline Appert-Collin, PierreHubert, Gérard Crémel and Amar Bennisroune.2015. Role of ErbB Receptors in Cancer Cell Migration and Invasion. 24 November 2015. *Frontiers in Pharmacology*. France, p 1-10
8. Antoniou, A., Pharoah, P.D.P., Narod, S., Risch, H.A., Eyfjord, J.E., Hopper, J.L., Loman, N., Olsson, H., Johannsson, O., Borg, Å., Pasini, B., Radice, P., Manoukian, S., Eccles, D.M., Tang, N., Olah, E., Anton-Culver, H., Warner, E., Lubinski, J., Gronwald, J., Gorski, B., Tulinius, H., Thorlacius, S., Eerola, H., Nevanlinna, H., Syrjäkoski, K., Kallioniemi, O.-P., Thompson, D., Evans, C., Peto, J., Lalloo, F., Evans, D.G., and Easton, D.F. 2003. Average Risks of Breast and Ovarian Cancer Associated with BRCA1 or BRCA2 Mutations Detected in Case Series Unselected for Family History: A Combined Analysis of 22 Studies. *Am. J. Hum. Genet.* 72(5): 1117–1130.

9. Available from <http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-dusein/Facteurs-de-risque/Antecedents-familiaux>
10. Azam, S., Lange, T., Huynh, S., Aro, A.R., von Euler-Chelpin, M., Vejborg, I., Tjønneland, A., Lynge, E., and Andersen, Z.J. 2018. Hormone replacement therapy, mammographic density, and breast cancer risk: a cohort study. *Cancer Causes Control CCC* 29(6): 495–505. doi:10.1007/s10552-018-1033-0.
11. Baselga, J., Gelmon, K.A., Verma, S., Wardley, A., Conte, P., Miles, D., Bianchi, G., Cortes, J., McNally, V.A., Ross, G.A., et al. (2010). Phase II Trial of Pertuzumab and Trastuzumab in Patients With Human Epidermal Growth Factor Receptor 2–Positive Metastatic Breast Cancer That Progressed During Prior Trastuzumab Therapy. *J. Clin. Oncol.* 28, 1138–1144.
12. Berman, H.M. (2000). The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research* 28, 235–242. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>.
13. Bernstein, L. 2002. Epidemiology of Endocrine-Related Risk Factors for Breast Cancer. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia* 7(1): 3–15..
14. Borner, M., Scheithauer, W., Twelves, C., Maroun, J., Wilke, H. (2001). Answering patients'needs: Oral alternatives to intravenous therapy. *Oncologist.* 6(suppl 4):12–16.
15. Brewer, H.R., Jones, M.E., Schoemaker, M.J., Ashworth, A., and Swerdlow, A.J. 2017. Family history and risk of breast cancer: an analysis accounting for family structure. *Breast Cancer Res. Treat.* 165(1): 193–200. doi:10.1007/s10549-017-4325-2.
16. Buhrman G, Wink G, Mattos C. Transformation efficiency of RasQ61 mutants linked to structural features of the switch regions in the presence of Raf. *Structure.* 2007 Dec;15(12):1618-29.
17. Campone, M., Berton-Rigaud, D., Bourbouloux, E., Le Pourhiet, A. (2007) Avantages et inconvénients des thérapies orales pour les patients. *Eurocancer 2007, compte rendu du XXe congrès.* Montrouge John Libbey Eurotext, 97–100.
18. Carey, L.A., Dees, E.C., Sawyer, L., Gatti, L., Moore, D.T., Collichio, F., Ollila, D.W., Sartor, C.I., Graham, M.L., and Perou, C.M. 2007. The Triple Negative Paradox: Primary Tumor Chemosensitivity of Breast Cancer Subtypes. *Clin. Cancer Res.* 13(8): 2329–2334. doi:10.1158/1078-0432.CCR-06-1109.
19. Carter, P., Presta, L., Gorman, C.M., Ridgway, J.B., Henner, D., Wong, W.L., Rowland, A.M., Kotts, C., Carver, M.E., et Shepard, H.M. (1992). Humanization of

- an anti-p185HER2 antibody for human cancer therapy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 89, 4285–4289.
20. Casalini P, Lorio M, Galmozzi E, Ménard S. 2004. Role of HER receptors family in development and differentiation. *J Cell Physiol*; 200: 343-50.
21. CGHFBC. 1996. Breast cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data on 53 297 women with breast cancer and 100 239 women without breast cancer from 54 epidemiological studies. *The Lancet* 347(9017): 1713–1727. doi:10.5555/uri:pii:S0140673696908065.
22. Chantal Dreyer, ERIC RAYMOND, SANDRINE FAIVRE. « La voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR ». *Cancéro Dig.* [En ligne]. 2009. Vol. 1, n°3, p. 187. Disponible sur : < <https://doi.org/10.4267/2042/28434> >
23. Cho, H.-S., Mason, K., Ramyar, K.X., Stanley, A.M., Gabelli, S.B., Denney, D.W., et Leahy, D.J. (2003). Structure of the extracellular region of HER2 alone and in complex with the Herceptin Fab. *Nature* 421, 756–760.
24. Choi, B.-K., Cai, X., Yuan, B., Huang, Z., Fan, X., Deng, H., Zhang, N., et An, Z. (2012). HER3 intracellular domains play a crucial role in HER3/HER2 dimerization and activation of downstream signaling pathways. *Protein Cell* 3, 781–789.
25. Ciardiello, F. (2000). Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors as anticancer agents. *Drugs* 60 Suppl 1, 25-32-42.
26. Citri Ami & Yosef Yarden. 2006. EGF-ERBB signalling: towards the systems level. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 7, 505-516. July 2006).
27. Couch, F.J., Shimelis, H., Hu, C., Hart, S.N., Polley, E.C., Na, J., Hallberg, E., Moore, R., Thomas, A., Lilyquist, J., Feng, B., McFarland, R., Pesaran, T., Huether, R., LaDuca, H., Chao, E.C., Goldgar, D.E., and Dolinsky, J.S. 2017. Associations Between Cancer Predisposition Testing Panel Genes and Breast Cancer. *JAMA Oncol.* 3(9): 1190– 1196. doi:10.1001/jamaoncol.2017.0424.
28. Daina, Antoine; Michielin, Olivier; Zoete, Vincent 2017 SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules
29. Diéras V. « Thérapie ciblée anti-HER2 : principes, validation, indication ». In : *Cancer Sein* [En ligne]. [s.l.] : Elsevier, 2016. p. 89-94. Disponible sur : < <https://doi.org/10.1016/B978-2-294-74449-5.00011-3> > ISBN : 978-2-294-74449-5).

30. Engelman, J.A., Luo, J., et Cantley, L.C. (2006). The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism. *Nat. Rev. Genet.* 7, 606–619.
31. Faltus T, et al. Silencing of the HER2/neu gene by siRNA inhibits proliferation and induces apoptosis in HER2/neu-overexpressing breast cancer cells. *Neoplasia.* 2004; 6(6):786–95. [PubMed: 15720805]
32. Fendly, B.M., Kotts, C., Vetterlein, D., Lewis, G.D., Winget, M., Carver, M.E., Watson, S.R., Sarup, J., Saks, S., et Ullrich, A. (1990). The extracellular domain of HER2/neu is a potential immunogen for active specific immunotherapy of breast cancer. *J. Biol. Response Mod.* 9, 449–455.
33. Feng, Spezia, Huang, Yuan, Zeng, Zhang, Ji, Liu, and Huang. 2018. Breast cancer development and progression: Risk factors, cancer stem cells, signaling pathways, genomics, and molecular pathogenesis - ScienceDirect. Available from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352304218300680#bib74>
34. Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2013. *Int J Cancer* 2010; 127:2893-2917.
35. Ferlay, J., Soerjomataram, I, Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., Parkin, D.M., Forman, D., and Bray, F. 2014. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 201'. *Int. J. Cancer* 136(5): E359–E386. doi:10.1002/ijc.29210.
36. Findlay, M., von Minckwitz, G., Wardley, A. (2008). Effective oral chemotherapy for breast cancer: pillars of strength. *Annals of Oncology.* 19:212–222.
37. Franklin, M.C., Carey, K.D., Vajdos, F.F., Leahy, D.J., de Vos, A.M., et Sliwkowski, M.X. (2004). Insights into ErbB signaling from the structure of the ErbB2-pertuzumab complex. *Cancer Cell* 5, 317–328.
38. Genevee T., 2014 . Prescription de Trastuzumab IV dans le carcinome mammaire métastatique HER2+ : données épidémiologiques, modalités de prescription, évaluation de l'efficacité au sein d'un CLCC et proposition d'une dose IV standardisée. Thèse de doctorat. UNIVERSITE DE BORDEAUX 2.P98.
39. Globocan 2012 age-specific table. (n.d.). Available from http://globocan.iarc.fr/old/agespecific_table_r.asp?selection=224900&title=World&sex=2&type=0&stat=0&windo
[w=1&sort=0&submit=%C2%A0Execute%C2%A0](http://globocan.iarc.fr/old/agespecific_table_r.asp?selection=224900&title=World&sex=2&type=0&stat=0&windo)

40. Goddard TD, Huang CC, Ferrin TE. Visualisation des cartes de densité avec UCSF Chimera. *J Struct Biol* 2007 janvier;157(1):281-287.
41. Gonçalves, Anthony. 2012. “Combinaisons de Thérapies Anti-HER2 : Deux Balles Pour Une Même Cible!” *Bulletin cancer*
42. Govaerts, R. (2020). World Checklist of Saururaceae. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet; <http://wmsp.science.kew.org/> Retrieved.
43. Gullick WJ, Love SB, Wright C, et al. C-erbB-2 protein overexpression in breast cancer is a risk factor in patients with involved and uninvolved lymph nodes. *Br J Cancer* 1991; 63:434-438
44. Gurubasavaraj Swamy Purawarga MatadaORCID Icon,Prasad Sanjay DhiwarORCID Icon,Nahid AbbasORCID Icon,Ekta SinghORCID Icon,Abhishek GharaORCID (2021), Molecular docking and molecular dynamic studies: screening of phytochemicals against EGFR, HER2, estrogen and NF-KB receptors for their potential use in breast cancer, *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* , Volume 40, doi: <https://doi.org/10.1080/07391102.2021.1877823>
45. H. Prabhavathi,K. R. Dasegowda,K. H. Renukananda,Prashantha Karunakar,K. Lingaraju &H. Raja Naika (2022), Molecular docking and dynamic simulation to identify potential phytocompound inhibitors for EGFR and HER2 as anti-breast cancer agents , *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, Volume 40, doi: <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1861982>
46. Hanahan, D., and Weinberg, R.A. 2000. The hallmarks of cancer. *Cell* 100(1): 57–70.
47. Hanahan, D., and Weinberg, R.A. 2011. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell* 144(5): 646–674. doi:10.1016/j.cell.2011.02.013.
48. Herbst, R.S., Davies, A.M., Natale, R.B., Dang, T.P., Schiller, J.H., Garland, L.L., Miller, V.A., Mendelson, D., Van den Abbeele, A.D., Melenevsky, Y., et al. (2007). Efficacy and Safety of SingleAgent Pertuzumab, a Human Epidermal Receptor Dimerization Inhibitor, in Patients with Non– Small Cell Lung Cancer. *Clin. Cancer Res.* 13 , 6175–6181.
49. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/#query=CID5280805%20structure&tab=similarity&mw_lte=400.
50. Hubert P., Faivre S. Ciblage des récepteurs Erb-B/HER [En ligne]. [s.l.] : [s.n.], 2008.Disponible sur :

- <<http://sbiproxy.uqac.ca/login?url=http://international.scholarvox.com/book/88821247>> ISBN : 978-2-7420-0681-6.
51. Hubert Pierre. 2006. Les facteurs de croissance de la famille de l'egf et leur récepteurs. Bull cancer 2006. Marseille, 17p).
 52. INCa. 2015. Antécédents familiaux - Facteurs de risque | Institut National Du Cancer.
 53. INCa. 2016. INCA - Les cancers en France. Available from https://www.ecancer.fr/ressources/cancers_en_france/
 54. Inoki, K., Li, Y., Zhu, T., Wu, J., et Guan, K.-L. (2002). TSC2 is phosphorylated and inhibited by Akt and suppresses mTOR signalling. Nat. Cell Biol. 4, 648–657
 55. Jiang BH, Liu LZ. PI3K/PTEN signaling in angiogenesis and tumorigenesis. Adv Cancer Res. 2009;102:19-65.
 56. Kalluri R. et Zeisberg M. Fibroblasts in cancer. Nat. Rev. Cancer 2006; 6, 392-401.
 57. Khongkaew, P.; Wattanaarsakit, P.; Papadopoulos, KI; Chaemsawang, W. Effets antioxydants et cytotoxicité in vitro sur les lignées cellulaires cancéreuses humaines d'extrait de fleur flamboyant riche en flavonoïdes (*Delonix regia* (Bojer) Raf.). Courant. Pharm. Biotechnol. 2021 , 22 , 1821–1831.
 58. Khurshid, Rukhshan, and al. 2014. "Phosphorylation Sites of HER2/c-erbB-2: Role in Cell Growth and in Disease." ABP Biochimica Polonica Vol. 61 (No 4/2014 699–703).
 59. Kim, S., Thiessen, P.A., Bolton, E.E., Chen, J., Fu, G., Gindulyte, A., Han, L., He, J., He, S., Shoemaker, B.A., et al. (2016). PubChem Substance and Compound databases. Nucleic Acids Res 44, D1202–D1213. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv951>
 60. Klapper, L.N., Waterman, H., Sela, M., et Yarden, Y. (2000). Tumor-inhibitory antibodies to HER-2/ErbB-2 may act by recruiting c-Cbl and enhancing ubiquitination of HER-2. Cancer Res. 60, 3384–3388.
 61. Kumle, M., Weiderpass, E., Braaten, T., Persson, I., Adami, H.-O., and Lund, E. 2002. Use of oral contraceptives and breast cancer risk: The Norwegian-Swedish Women's Lifestyle and Health Cohort Study. Cancer Epidemiol. Biomark. Prev. Publ. Am. Assoc. Cancer Res. Cosponsored Am. Soc. Prev. Oncol. 11(11): 1375–1381
 62. Lahzaoui T. 2013. L'expression du récepteur HER2 dans le cancer gastrique ou de jonction oeso- gastrique métastatique étude prospective à propos de 30 cas, faculté

- de médecine et de pharmacie. Université Sidi Mohammed ben Abdellah Faculté de médecine et de pharmacie.
63. Lane, H.A., Beuvink, I., Motoyama, A.B., Daly, J.M., Neve, R.M., et Hynes, N.E. (2000). ErbB2 potentiates breast tumor proliferation through modulation of p27(Kip1)-Cdk2 complex formation: receptor overexpression does not determine growth dependency. *Mol. Cell. Biol.* 20, 3210–3223.
 64. Lewis, G.D., Figari, I., Fendly, B., Wong, W.L., Carter, P., Gorman, C., et Shepard, H.M. (1993). Differential responses of human tumor cell lines to anti-p185HER2 monoclonal antibodies. *Cancer Immunol. Immunother.* CII 37, 255–263.
 65. Liebens, F., Carly, B., Pastijn, A., Fastrez, M., and Vandromme, J. 2008. Desire for a Child and Breast Cancer. *Acta Chir. Belg.* 108(1): 83–87. doi:10.1080/00015458.2008.11680181.
 66. Lièvre A., Laurent-Puig P. « La voie de signalisation RAS/MAPK ». *Cancéro Dig.* [En ligne]. 2010. Vol. II, n°1, Disponible sur : < <https://doi.org/10.4267/2042/30747> >
 67. Lièvre Astrid, et al. La voie de signalisation RAS/MAPK. *Cancérologie digest.* 2010, Vol. 2 (1), pp. 38-42.
 68. Magné N., Chargari C., Conforti R., Toillon R.-A., Bauduceau O., Védrine L., Khayat D., Spano J.-P. Mécanismes de résistance aux thérapies moléculaires ciblées dans le cancer du sein : constats et perspectives, Service d'oncologie médicale, hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, 47-83, boulevard de l'Hôpital, 75013 Paris, France, Volume 97 N° 3, mars 2010.
 69. Mendoza, N., Phillips, G.L., Silva, J., Schwall, R., et Wickramasinghe, D. (2002). Inhibition of ligand-mediated HER2 activation in androgen-independent prostate cancer. *Cancer Res.* 62, 5485–5488.
 70. Mendrola, J.M., Berger, M.B., King, M.C., et Lemmon, M.A. (2002). The single transmembrane domains of ErbB receptors self-associate in cell membranes. *J. Biol. Chem.* 277, 4704–4712.
 71. Miki, Y., Swensen, J., Shattuck-Eidens, D., Futreal, P.A., Harshman, K., Tavtigian, S., Liu, Q., Cochran, C., Bennett, L.M., and Ding, W. 1994. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science* 266(5182): 66–71.
 72. Mombelli S., 2014. cancer du sein et immunologie anti-tumorale. thèse de doctorat. université de Reims Champagne-Ardenne. p184

73. Monninkhof E.M., Elias S.G., Vlems F.A., van der Tweel I., Schuit A.J., Voskuil D.W., et al. Physical activity and breast cancer: a systematic review *Epidemiology* 2007 et 137- 157, 18
74. Mørch, L.S., Skovlund, C.W., Hannaford, P.C., Iversen, L., Fielding, S., and Lidegaard, Ø. 2017. Contemporary Hormonal Contraception and the Risk of Breast Cancer. *N. Engl. J. Med.* 377(23): 2228–2239. doi:10.1056/NEJMoa1700732.
75. Morère J.-F., MORNEX F., SOULIÈRES D. *Thérapeutique du cancer*. 2. éd. Paris : Springer, 2011. 1027 p. ISBN : 978-2-8178-0020-2.
76. Murray, C.; Verdonk, M. The consequences of translational and rotational entropy lost by small molecules on binding to proteins. *J. Comput. Aided Mol. Des.*, 2002, 16 (10), 741- 753.
77. Nahta, R., et Esteva, F.J. (2007). Trastuzumab: triumphs and tribulations. *Oncogene* 26, 3637–3643. Sarup, J.C., Johnson, R.M., King, K.L., Fendly, B.M., Lipari, M.T., Napier, M.A., Ullrich, A., et Shepard, H.M. (1991). Characterization of an anti-p185HER2 monoclonal antibody that stimulates receptor function and inhibits tumor cell growth. *Growth Regul.* 1, 72–82.
78. Nkondjock A., Ghadirian P. « Facteurs de risque du cancer du sein ». *Médecine/sciences* [En ligne]. 1 février 2005. Vol. 21, n°2, p. 175-180. Disponible sur : < <https://doi.org/10.1051/medsci/2005212175> >
79. Normanno, N., Campiglio, M., De, L.A., Somenzi, G., Maiello, M., Ciardiello, F., Gianni, L., Salomon, D.S., et Menard, S. (2002). Cooperative inhibitory effect of ZD1839 (Iressa) in combination with trastuzumab (Herceptin) on human breast cancer cell growth. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol. ESMO* 13, 65–72.
80. O'Neill, V. J., Twelves, C. J. (2002). Oral cancer treatment: Developments in chemotherapy and beyond. *British Journal of Cancer.* 87, 933–937.
81. Olayioye, M. A., Neve, R. M., Lane, H. A., and Hynes, N. E. 2000. The ErbB signaling network: receptor heterodimerization in development and cancer. *Embo J* 19, 3159-3167.
82. Parasuraman, S. (2012). Protein data bank. *J Pharmacol Pharmacother* 3, 351. <https://doi.org/10.4103/0976-500X.103704>.
83. Parkin, D.M. 2004. International variation. *Oncogene* 23(38): 6329–6340. doi:10.1038/sj.onc.1207726.)
84. PDB. Protein Data Bank [Available from: <https://www.rcsb.org/>].

85. Pils D, et al. In ovarian cancer the prognostic influence of HER2/neu is not dependent on the CXCR4/SDF-1 signalling pathway. *Br J Cancer*. 2007; 96(3):485–91. [PubMed: 17245339]
86. Pour le traitement de l'arthrose. . 2019.
87. Pratilas CA, Solit DB. Targeting the mitogen-activated protein kinase pathway: physiological feedback and drug response. *Clin Cancer Res*. 2010 Jul 1;16(13):3329-34.
88. Ramos JW. The regulation of extracellular signal-regulated kinase (ERK) in mammalian cells. *Int J Biochem Cell Biol*. 2008;40(12):2707-19.
89. Robert, S.A., Strombom, I., Trentham-Dietz, A., Hampton, J.M., McElroy, J.A., Newcomb, P.A., and Remington, P.L. 2004. Socioeconomic risk factors for breast cancer: distinguishing individual- and community-level effects. *Epidemiol. Camb. Mass* 15(4): 442–450.
90. Roh H, Pippin J, Drebin JA. Down-regulation of HER2/neu expression induces apoptosis in human cancer cells that overexpress HER2/neu. *Cancer Res*. 2000; 60(3):560–5. [PubMed: 10676637]
91. Sanjib Kumar Das, Suman Jyoti Deka, Dipayan Paul, Debmalya Das Gupta, Tridip Jyoti Das, Devendra Kumar Maravi (2021), In-silico based identification of phytochemicals from *Houttuynia cordata* Thunb. as potential inhibitors for overexpressed HER2 and VEGFR2 cancer genes , *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* , Volume 40, doi: <https://doi.org/10.1080/07391102.2021.1891136>
92. Scaltriti, M., et Baselga, J. (2006). The epidermal growth factor receptor pathway: a model for targeted therapy. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 12, 5268–5272.
93. Schneider, K., Zelle, K., Nichols, K.E., and Garber, J. 1993. Li-Fraumeni Syndrome. In *GeneReviews®*. Edited by M.P. Adam, H.H. Ardinger, R.A. Pagon, S.E. Wallace, L.J. Bean, K. Stephens, and A. Amemiya. University of Washington, Seattle, Seattle (WA). Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1311/> [accessed 12 June 2018].
94. Sever, R., and Brugge. 2015. Signal Transduction in Cancer. Available from <http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/content/5/4/a006098.short>
95. Shawver LK, Slamon D, Ullrich A. Smart drugs: tyrosine kinase inhibitors in cancer therapy. *Cancer Cell*. 2002; 1(2):117–23. [PubMed: 12086869]

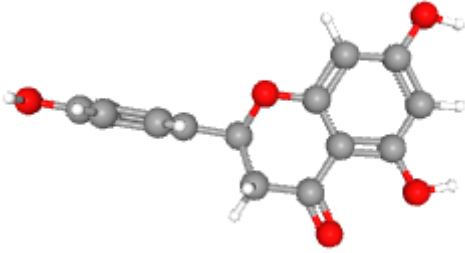
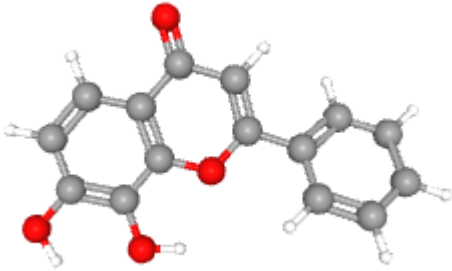
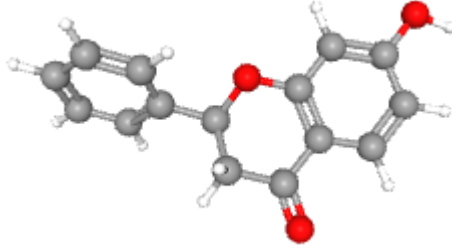
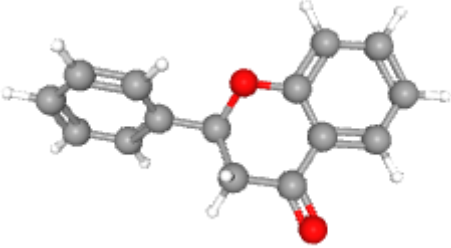
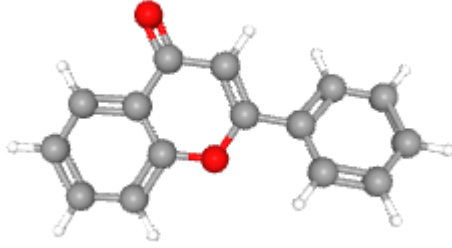
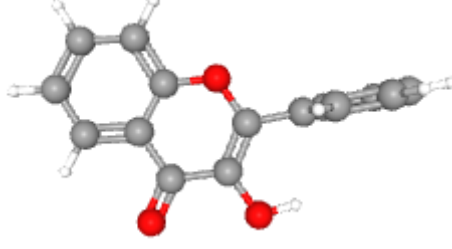
96. Sithanandam, G., et Anderson, L. (2008). The ERBB3 receptor in cancer and cancer gene therapy. *Cancer Gene Ther.* 15, 413–448.
97. Sun, Y.-S., Zhao, Z., Yang, Z.-N., Xu, F., Lu, H.-J., Zhu, Z.-Y., Shi, W., Jiang, J., Yao, P.-P., and Zhu, H.-P. 2017. Risk Factors and Preventions of Breast Cancer. *Int. J. Biol. Sci.* 13: 1387–1397. doi:10.7150/ijbs.21635.
98. swissadme. [SwissADME [En ligne]]. Available from: <http://www.swissadme.ch/>.
99. Tai W, Qin B, Cheng K. Inhibition of breast cancer cell growth and invasiveness by dual silencing of HER-2 and VEGF. *Mol Pharm.*
100. Tan, M.-H., Mester, J.L., Ngeow, J., Rybicki, L.A., Orloff, M.S., and Eng, C. 2012. Lifetime Cancer Risks in Individuals with Germline PTEN Mutations. *Clin. Cancer Res.* 18(2): 400–407. doi:10.1158/1078-0432.CCR-11-2283.
101. Tee, A.R., Fingar, D.C., Manning, B.D., Kwiatkowski, D.J., Cantley, L.C., et Blenis, J. (2002). Tuberous sclerosis complex-1 and -2 gene products function together to inhibit mammalian target of rapamycin (mTOR)-mediated downstream signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99, 13571– 13576.
102. Terki N. et al., 2015 Incidence annuelle du cancer du sein dans la population Algérienne diagnostiquée au niveau des centres de référence d’anatomopathologie en Algérie. Le fascicule de la santé n°19-Avril 2015.
103. Trott O., Olson A.J. (2010). AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J. Comput. Chem.* 31, 455-461.
104. Vignot S., Soria J.-C. Thérapies moléculaires ciblées : de la biologie aux applications cliniques [En ligne]. [s.l.] : [s.n.], 2008. Disponible sur : < <http://public.ebib.com/choice/publicfullrecord.aspx?p=3317978> > ISBN : 978-2-7420-0978-7.
105. Vivanco, I., et Sawyers, C.L. (2002). The phosphatidylinositol 3-Kinase AKT pathway in human cancer. *Nat. Rev. Cancer* 2, 489–501.
106. Wieduwilt, M.J., et Moasser, M.M. (2008). The epidermal growth factor receptor family: Biology driving targeted therapeutics. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* 65, 1566–1584.
107. William G. Gutheil, Gregory Reed, Amitabha Ray, Shrikant Anant and Animesh Dhar, 2012, Crocetin: an Agent Derived from Saffron for Prevention and Therapy for Cancer Volume 13, Issue 1, DOI: 10.2174/138920112798868566

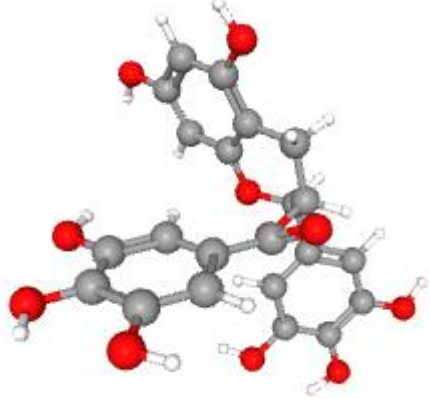
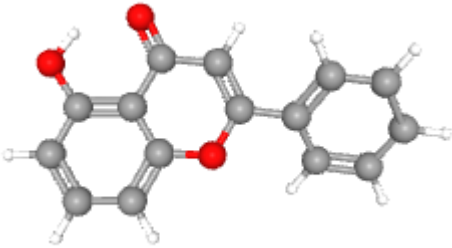
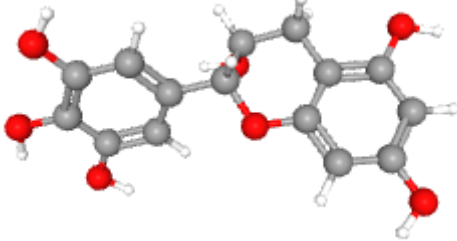
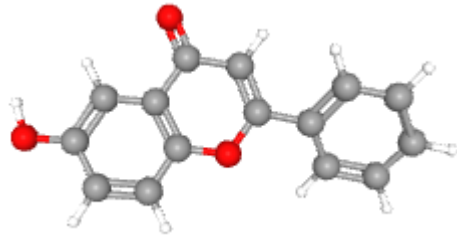
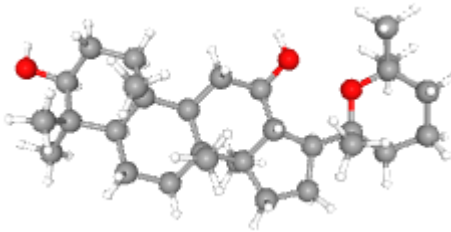
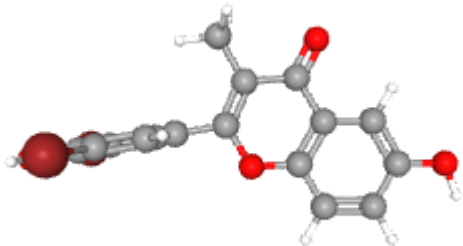
108. Wiseman, M. 2008. The Second World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research Expert Report. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: A Global Perspective. *Proc. Nutr. Soc.* 67(03): 253–256. doi:10.1017/S002966510800712X.
109. Wooster, R., Bignell, G., Lancaster, J., Swift, S., Seal, S., Mangion, J., Collins, N., Gregory, S., Gumbs, C., and Micklem, G. 1995. Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature* 378(6559): 789–792. doi:10.1038/378789a0.
110. Yang G, et al. Inhibition of breast and ovarian tumor growth through multiple signaling pathways by using retrovirus-mediated small interfering RNA against Her-2/neu gene expression. *J Biol Chem.* 2004; 279(6):4339–45. [PubMed: 14625284]
111. Zemouri Rania DA. Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de l'adamts-5

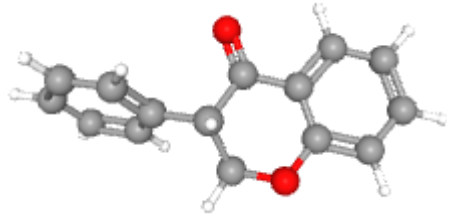
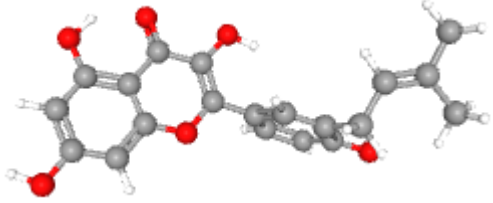
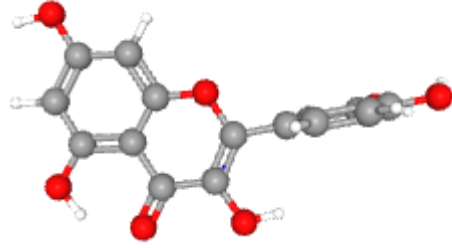
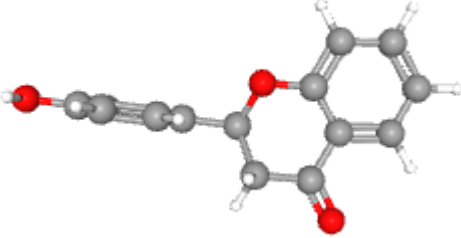
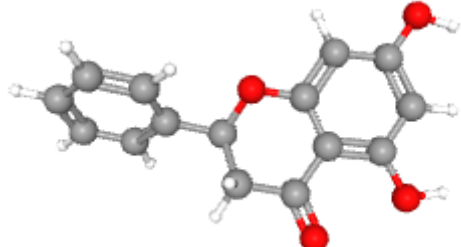
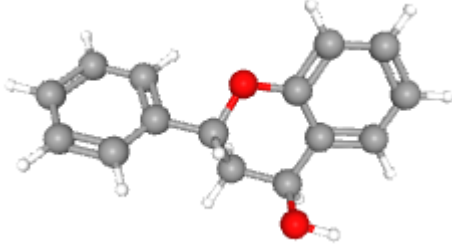


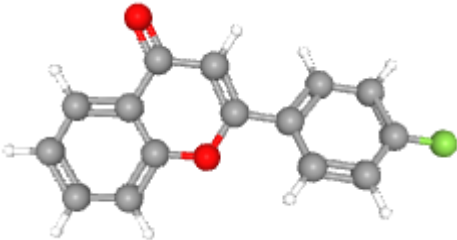
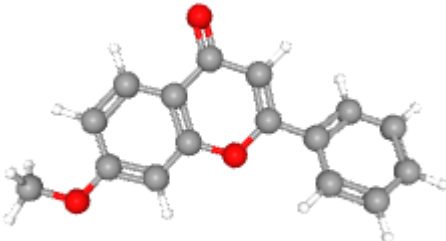
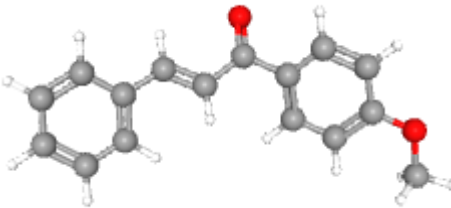
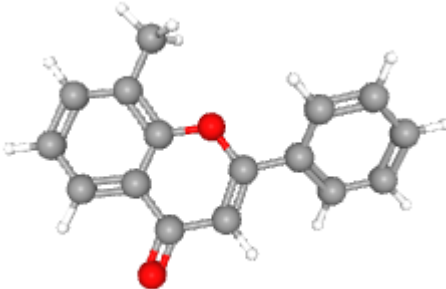
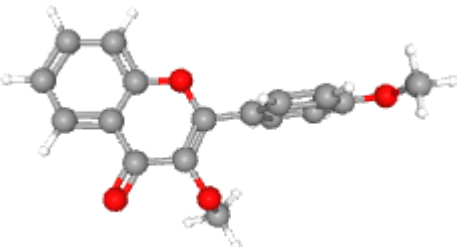
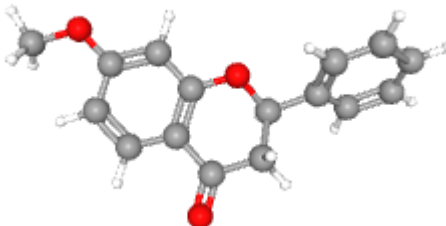
Annexes

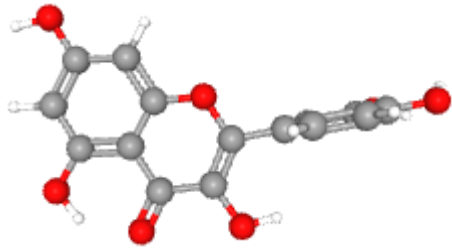
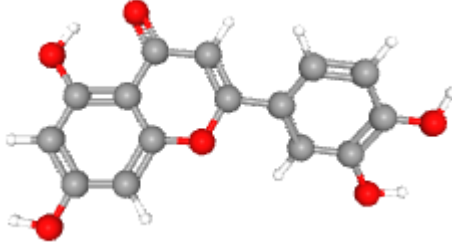
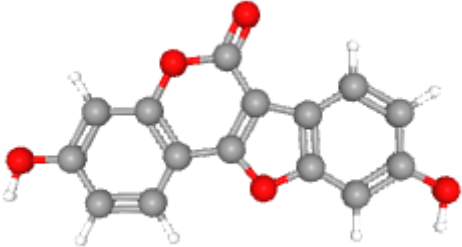
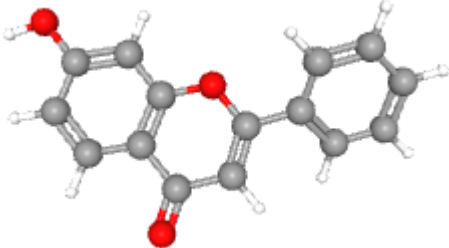
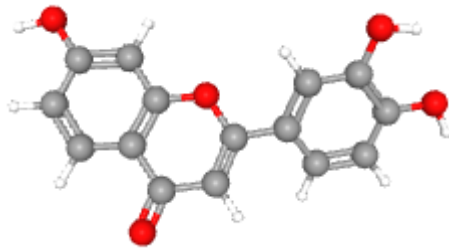
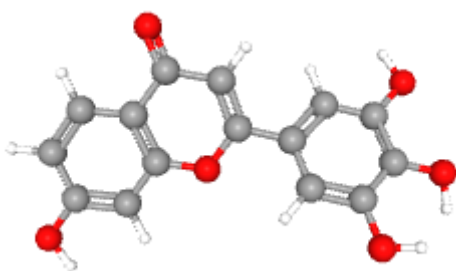
ANNEXE 1 : les résultats de docking moléculaire par pryx

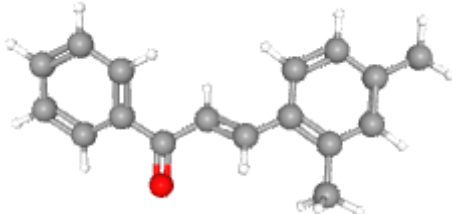
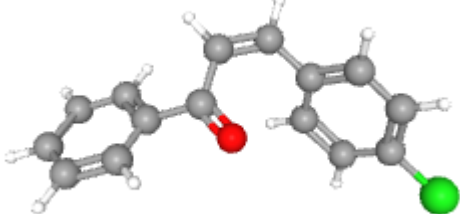
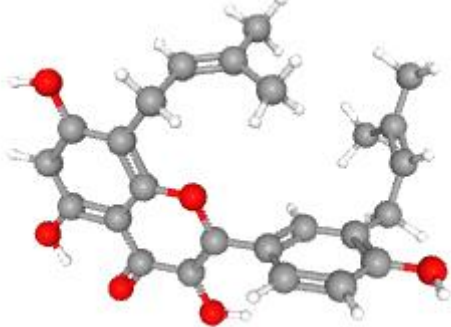
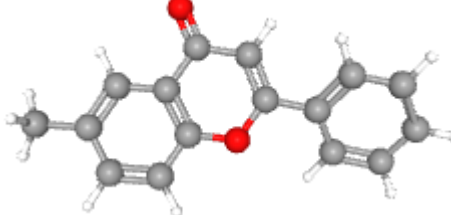
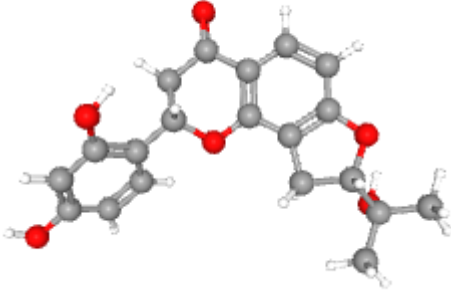
Le nom	ΔG	Structure
5,7-Dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman-4-one Code : 932	-9.3	
7,8-Dihydroxyflavone Code : 1880	-9.5	
7-Hydroxyflavanone Code : 1890	-9.5	
Flavanone Code : 10251	-9.7	
Flavone Code : 10680	-9.8	
3-Hydroxyflavone Code : 11349	-9.1	


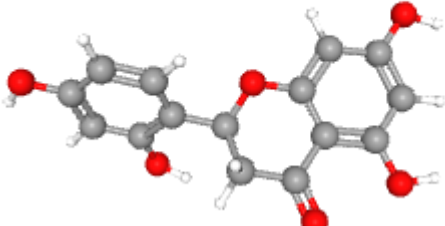
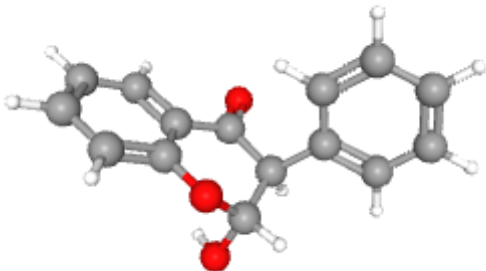
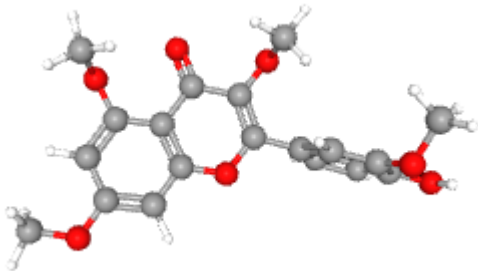
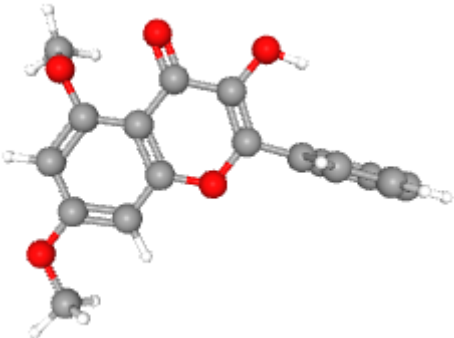
<p>Epigallocatechin Gallate Code : 65064</p>	<p>-8.8</p>	
<p>5-Hydroxyflavone Code : 68112</p>	<p>-9.4</p>	
<p>Epigallocatechin Code : 72277</p>	<p>-9.1</p>	
<p>6-Hydroxyflavone Code : 72279</p>	<p>-9.3</p>	
<p>Panaxadiol Code : 73498</p>	<p>-9.5</p>	
<p>6,4'-Dihydroxy-3-methyl-3',5'-dibromoflavone Code : 128600</p>	<p>-9.4</p>	

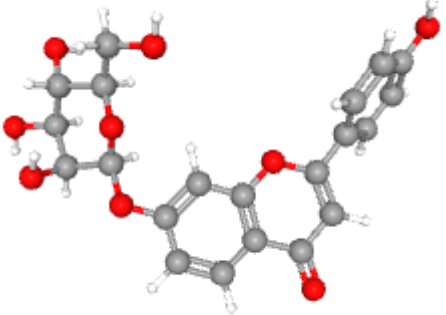
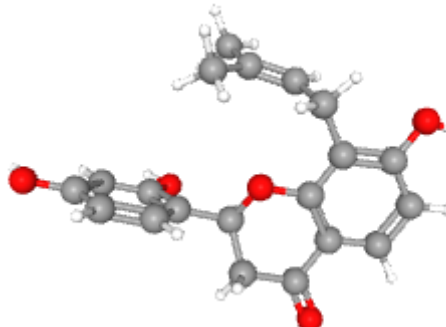
Isoflavanone Code : 160767	-9.6	
Isolicoflavonol Code : 5280343	-10.6	
Quercetin Code : 5280343	-9.4	
4'-Hydroxyflavanone Code : 165506	-9.7	
5,7Dihydroxyflavanone Code : 238782	-9.2	
4-Flavanol Code : 253959	-9.2	

4'-Fluoroflavone Code : 261391	-7.7	
7-Methoxyflavone Code : 466268	-9.5	
4'-Methoxychalcone Code : 641818	-9.5	
8-Methylflavone Code : 676036	-9.6	
3,4'-Dimethoxyflavone Code : 688666	-9.4	
7-Methoxyflavanone Code : 2825024	-9.9	

Quercetin Code : 5280343	-9.4	
Luteolin Code : 5280445	-9.9	
Coumestrol Code : 5281707	-9.9	
7-Hydroxyflavone Code : 5281894	-9.7	
7,3',4'Trihydroxyflavone Code : 5322065	-10.2	
7,3',4',5'Tetrahydroxyflavone Code : 5393164	-10.0	

<p>(E)-3-(2,4-dimethylphenyl)-1-phenylprop-2-en-1-one Code: 6176082</p>	<p>- 10.0</p>	
<p>(2Z)-3-(4-chlorophenyl)-1-phenylprop-2-en-1-one Code: 7292267</p>	<p>-9.5</p>	
<p>Brousoflavonol F Code: 9866908</p>	<p>- 10.8</p>	
<p>6-Methylflavone Code: 689013</p>	<p>-9.7</p>	
<p>2',4'-Dihydroxy-2''-(1-hydroxy-1-methylethyl)dihydrofuro[2,3-h]flavanone Code : 10291777</p>	<p>-9.9</p>	

<p>5,7,2',4'-Tetrahydroxy-3-geranylflavone Code : 10295791</p>	<p>-9.5</p>	
<p>(2S)-5,7,2',4'-tetrahydroxyflavanone Code : 10356745</p>	<p>-9.5</p>	
<p>2-Hydroxyisoflavanone Code : 13257279</p>	<p>-9.2</p>	
<p>3,5,7,3'-Tetramethoxy-4'-hydroxyflavone Code : 13942543</p>	<p>-7.9</p>	
<p>5,7-Dimethoxy-3-hydroxyflavone Code : 14606540</p>	<p>-9.0</p>	

<p>7,4'-Dihydroxyflavone 7-glucoside Code : 44257571</p>	<p>-9.6</p>	
<p>(2S)-euchrenone a7 Code : 44593508</p>	<p>-9.5</p>	

Annexe 2 : Les étapes de la préparation de la protéine HER2 sont les suivant:

- Cliquer sur Select > Residue > all non standard > actions > atoms/bonds > Delete pour Supprimer les molécules d'eau et l'inhibiteur
- Pour traiter la protéine étudiée clique sur Tools > surface/Binding Analysis > Dock Prep,

Annexe 2 : Les étapes de docking par logiciel Pyrx sont les suivant:

- Ouvrir Pyrx , cliquez sur file et load molecule ajouté la protéine et cliquez sur le bouton droit make macromolecule .
- Cliquez sur open babel et insert new item et sélectionné les ligands et cliquez sur le bouton droit minimize all, convert all to ligand (pdbqt).
- Sélectionné la protéine et ligand et cliquez sur start et faire le docking.
- Le logiciel Pyrx nous a permet de trouver la protéine qui convient à notre ligand puis on utilise le logiciel Chimera afin de chercher la meilleure conformation de la complexe protéine -ligands.

Annexe 3 : Les étapes du docking par chimera sont les suivant:

- Pour définir facilement le site actif, l'inhibiteur déjà présent doit être identifié. Pour ce faire, sélectionner l'inhibiteur en cliquant sur Select > Residue > all non standard > actions > atoms/bonds > Delete
- La protéine doit être optimisée pour l'amarrage. Cliquez sur Tools > surface/Binding Analysis > Dock Prep.
- Dans dock prep, sélectionnez toutes les options sauf «Supprimer les ions non complexés» et write Mol2 file et cliquer sur OK.
- Ajouter de l'hydrogène aux protéines et cliquer sur OK.
- Attribuer des charges à la protéine en cliquant sur les champs de forces AMBER ff03.r01 et sur Gasteiger puis sur OK.
- Sélectionnez « net charges » et cliquez sur OK. Pour la plupart des protéines, les Charges nettes sont égales à zéro.
- Enregistrez à nouveau ce fichier sous forme .PDB.

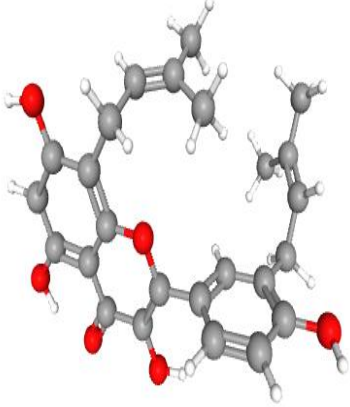
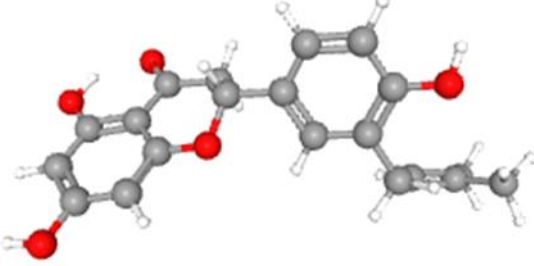
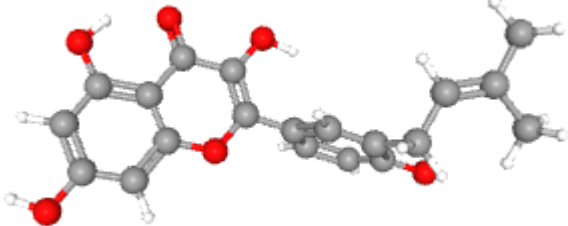
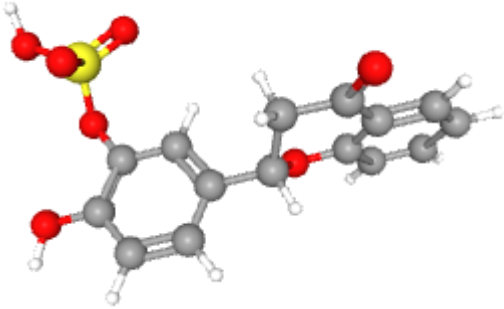
Et enfin la Préparation du Ligand pour l'amarrage, qui est similaire au processus d'obtention de la protéine, Préparer les paramètres de simulations de docking en ouvrant le menu Tools >

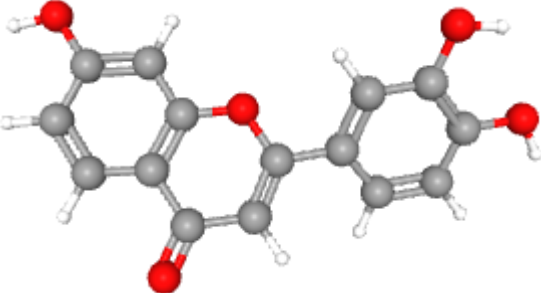
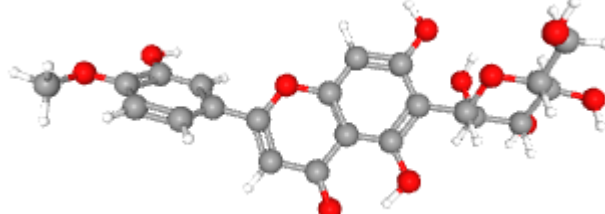
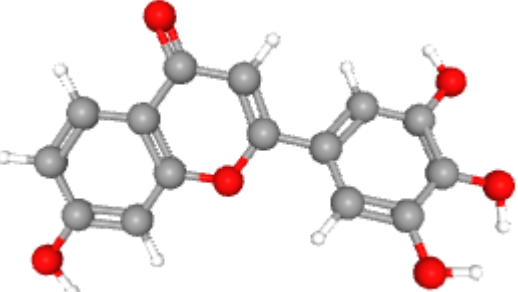
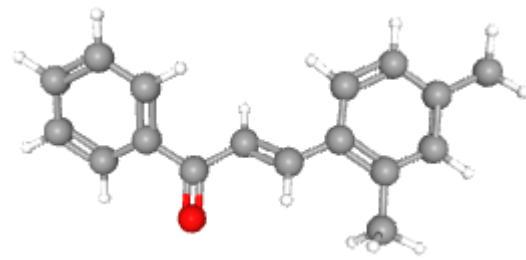
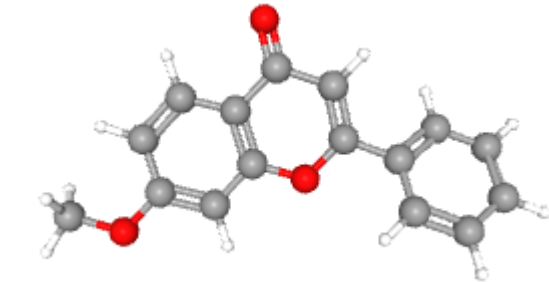
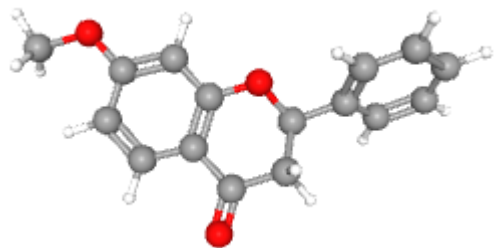
Surface/Binding Analysis > Autodock Vina. Dans la fenêtre qui s'ouvre : choisir un nom de fichier de sortie, sélectionner le récepteur et le ligand. Définir l'espace de recherche (taille et position du centre de la grille). Nous avons utilisé les paramètres suivants :

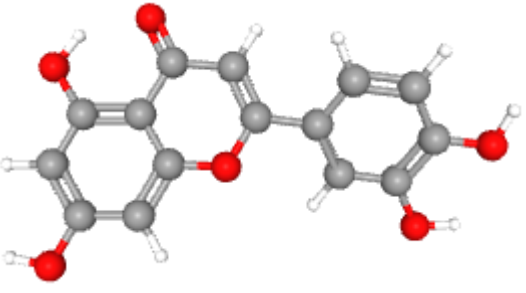
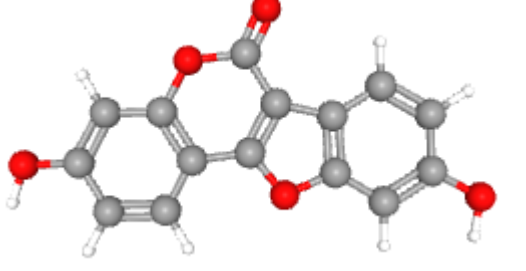
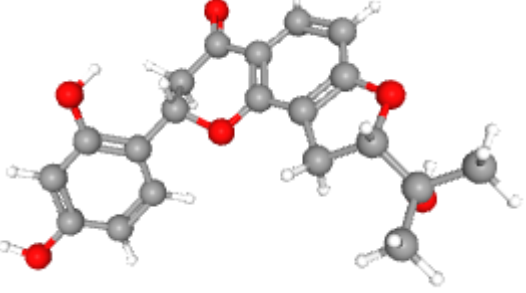
Tableau 2: Taille et position du centre de la grille.

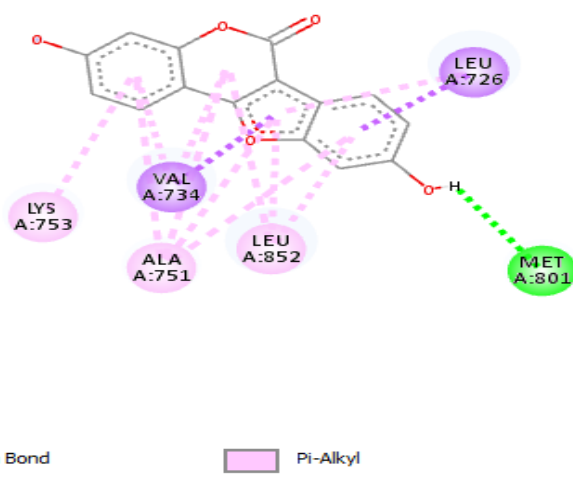
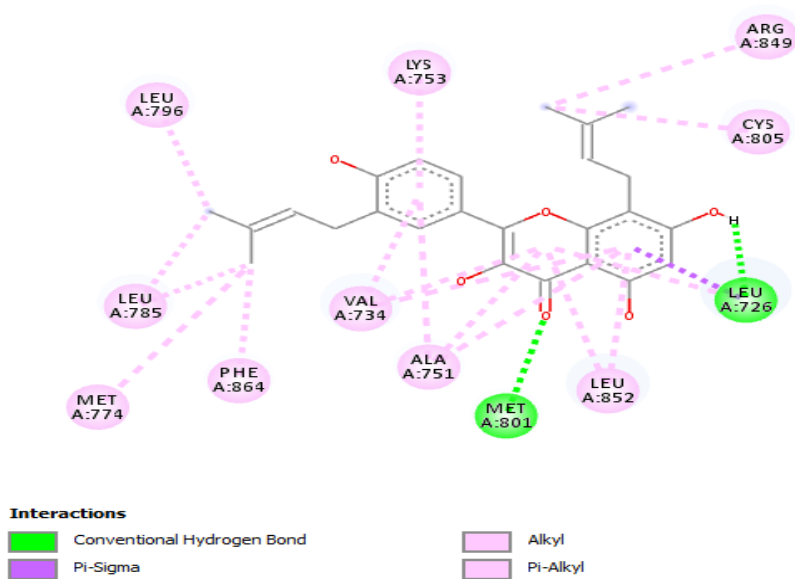
Centre	13	22	34
Size	25	25	25

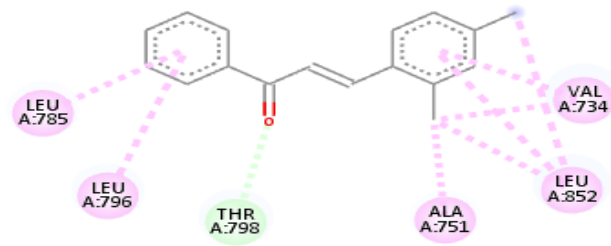
Annexe 4 : Les 13 ligands représentés avec le style Ball & Stick du PubChem

Le nom	La structure 3D
<p>Brousoflavonol F 3,5,7-trihydroxy-2-[4-hydroxy-3-(3-méthylbut-2-ényl) phényl]-8-(3-méthylbut-2-ényl)chromène-4-one</p> <p>Code : 9866908</p>	
<p>Licoflavanone (2S)-abyssinone II CHEMBL457680 5,7-dihydroxy-2-[4-hydroxy-3-(3-méthylbut-2-ényl)phényl]-2,3-dihydrochromène-4-one (S)-4',5,7-Trihydroxy-3'-prénylflavanone</p> <p>Code : 14218027</p>	
<p>Isolicoflavonol 3,5,7-trihydroxy-2-[4-hydroxy-3-(3-méthylbut-2-ényl)phényl]chromène-4-one</p> <p>Code : 5318585</p>	
<p>3',4'-dihydroxyflavanone 3'-sulfate</p> <p>Code : 53247995</p>	

<p>7,3',4'-Trihydroxyflavone</p> <p>2-(3,4-dihydroxyphényl)-7-hydroxy-4H-chromène-4-one</p> <p>Code : 5322065</p>	 A ball-and-stick model of 7,3',4'-Trihydroxyflavone. The structure consists of a central chromone ring system (a benzene ring fused to a pyrone ring) with a phenyl ring attached at the 2-position. Three hydroxyl groups are attached: one at the 7-position of the chromone ring, and two at the 3 and 4 positions of the phenyl ring.
<p>6-bêta-D-glucopyranosyl-5,7,3'-trihydroxy-4'-méthoxyflavone</p> <p>Code : 44258213</p>	 A ball-and-stick model of 6-bêta-D-glucopyranosyl-5,7,3'-trihydroxy-4'-méthoxyflavone. It features a flavone core with a glucose molecule attached to the 6-position of the chromone ring. Hydroxyl groups are present at the 3', 5', and 7' positions, and a methoxy group is at the 4' position.
<p>7,3',4',5'-tétrahydroxyflavone</p> <p>Code : 5393164</p>	 A ball-and-stick model of 7,3',4',5'-tétrahydroxyflavone. The structure is a flavone core with four hydroxyl groups attached at the 3', 4', 5', and 7' positions.
<p>(E)-3-(2,4-diméthylphényl)-1-phénylprop-2-èn-1-one</p> <p>Code : 6176082</p>	 A ball-and-stick model of (E)-3-(2,4-diméthylphényl)-1-phénylprop-2-èn-1-one. It shows a prop-2-en-1-one chain in the (E) configuration, with a phenyl group at the 1-position and a 2,4-dimethylphenyl group at the 3-position.
<p>7-méthoxy-2-phényl-4H-chromène-4-one</p> <p>Code : 466268</p>	 A ball-and-stick model of 7-méthoxy-2-phényl-4H-chromène-4-one. The structure is a flavone core with a methoxy group at the 7-position and a phenyl ring at the 2-position.
<p>7-méthoxy-2-phényl-2,3-dihydrochromène-4-one</p> <p>Code : 2825024</p>	 A ball-and-stick model of 7-méthoxy-2-phényl-2,3-dihydrochromène-4-one. It is a dihydroflavone derivative with a methoxy group at the 7-position and a phenyl ring at the 2-position.

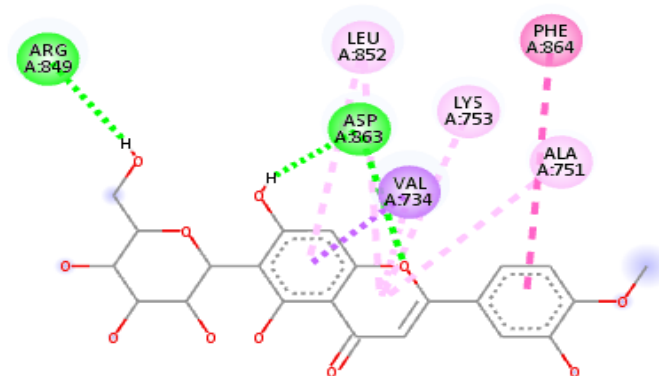
<p>Lutéoline Digitoflavone 3',4',5,7-tétrahydroxyflavone</p> <p>Code : 5280445</p>	
<p>Coumestrol</p> <p>Code : 5281707</p>	
<p>2',4'-Dihydroxy-2''-(1-hydroxy-1-méthyléthyl) dihydrofuro[2,3-h]flavanone</p> <p>Code : 10291777</p>	



**Interactions**

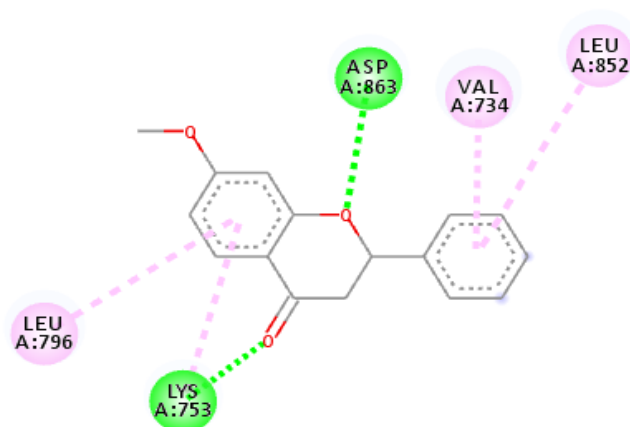
Carbon Hydrogen Bond
Alkyl



Pi-Alkyl


**Interactions**

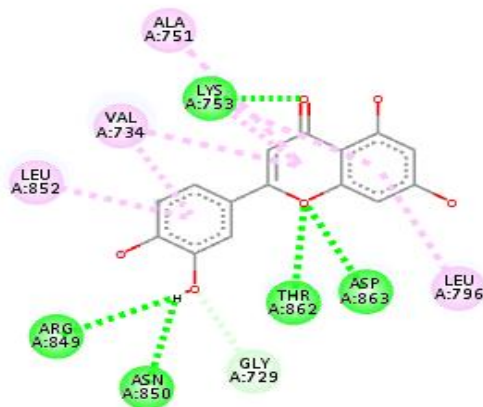
Conventional Hydrogen Bond
Carbon Hydrogen Bond
Pi-Sigma



Pi-Pi T-shaped
Pi-Alkyl

**Interactions**

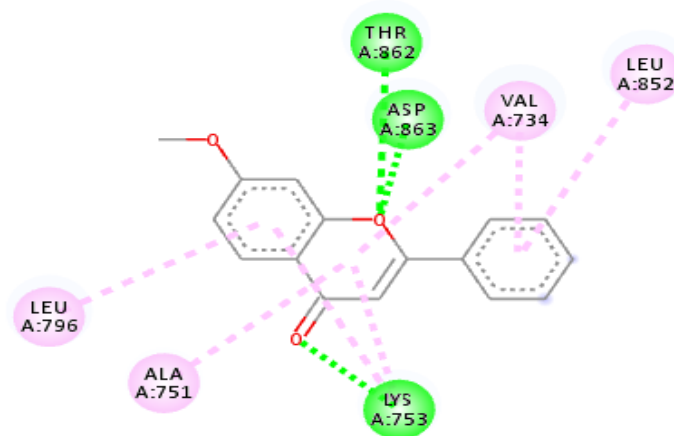
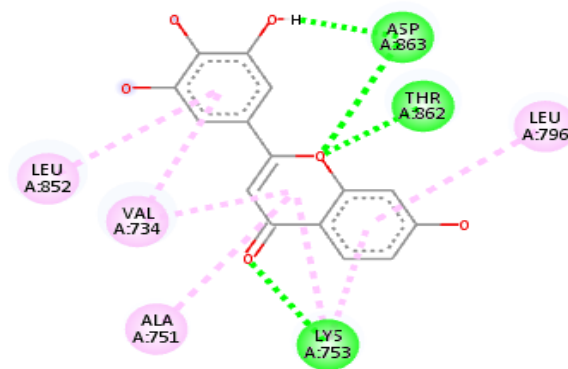
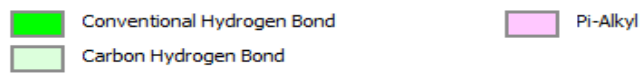
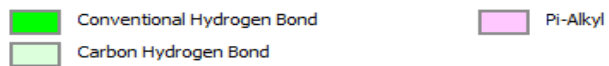
 Conventional Hydrogen Bond
 Carbon Hydrogen Bond

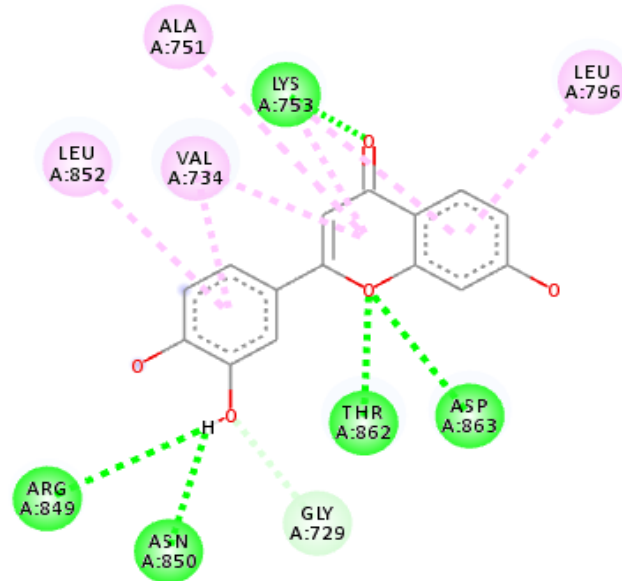
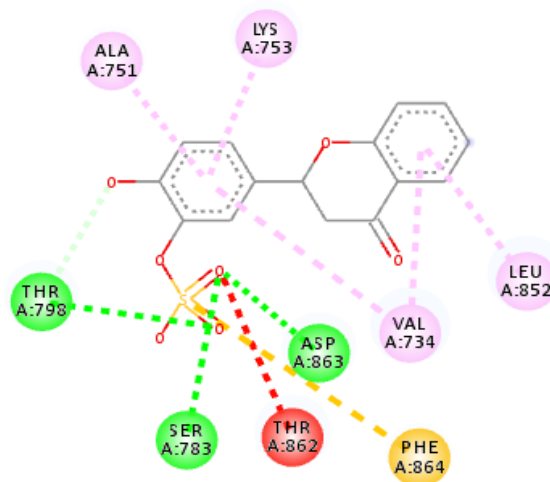
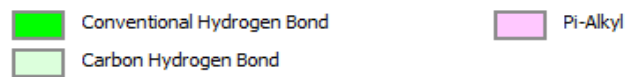
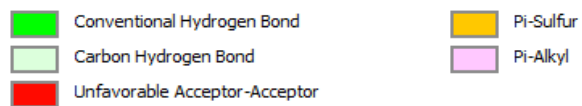
 Pi-Alkyl

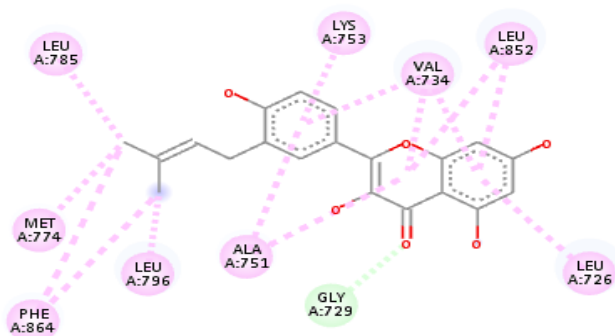
**Interactions**

 Conventional Hydrogen Bond
 Carbon Hydrogen Bond

 Pi-Alkyl

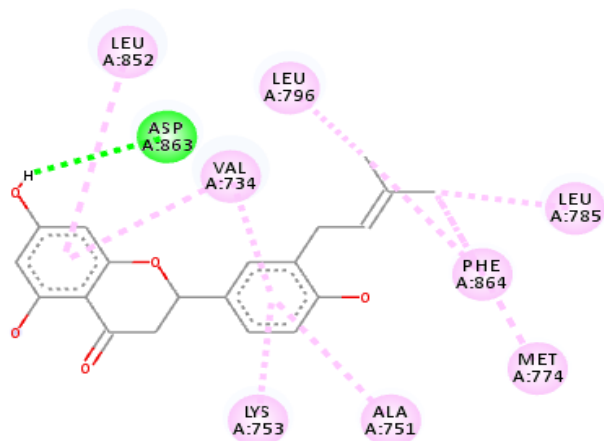
**Interactions****Interactions**

**Interactions****Interactions**

**Interactions**

Carbon Hydrogen Bond
Alkyl

Pi-Alkyl

**Interactions**

Conventional Hydrogen Bond
Alkyl

Pi-Alkyl

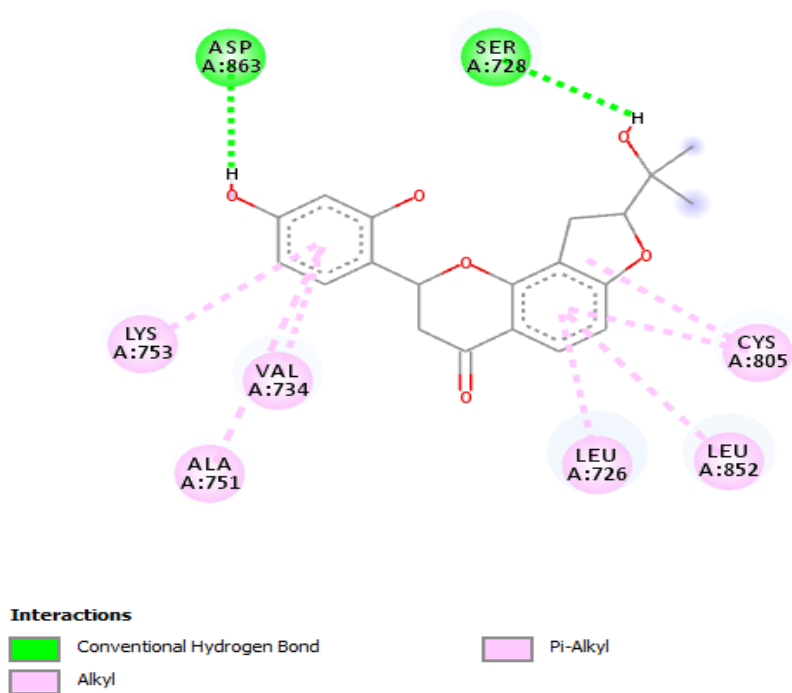
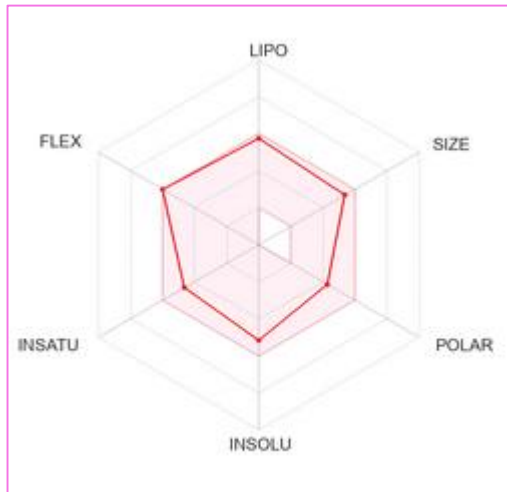


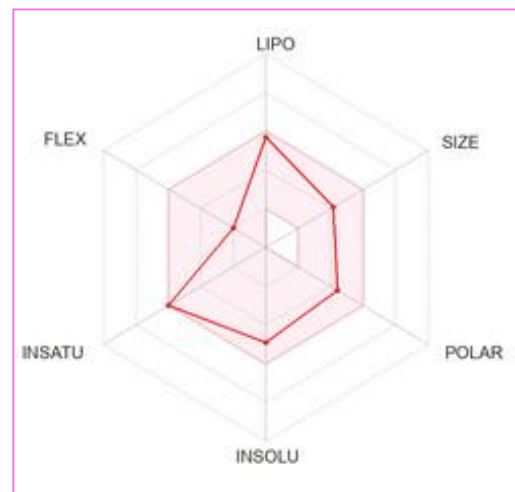
Figure : Représentation d'interaction des 13 inhibiteurs

Tableau: Le profil ADMET relative des 13 composés obtenus à partir de serveur SwissADME et leurs scores

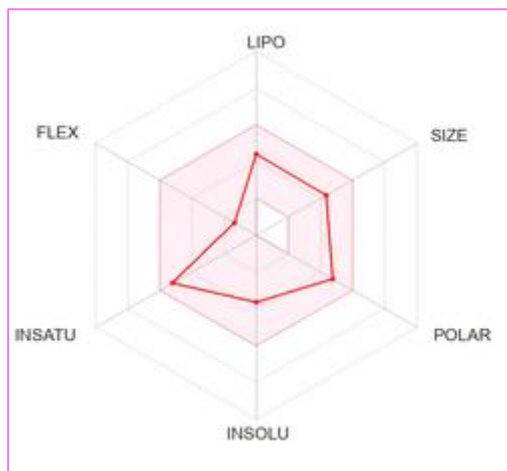
Ligand	PM (g/mol)	Lipophilie X log P3	Log S	GI absorption	Flexibilité	Instauration Fraction CSP3	Polarité TPSA(Å)
9866908	422.5	6,37	-6.52	Low	5	0.24	111.13
14218027	340.4	3.82	-4.70	High	3	0.15	111.13
5318585	354.4	3.82	-4.70	High	3	0.15	111.13
53247995	336.3	1.70	-3.18	High	3	0.13	118.51
5322065	270.24	2.91	-3.87	High	1	0.00	90.90
44258213	462.4	0.64	-3.20	Low	4	0.32	190.28
5393164	286.24	2.55	-3.72	High	1	0.00	111.13
6176082	236.31	4.42	-4.39	High	3	0.12	17.07
466268	252.26	3.95	-4.38	High	2	0.06	39.44
28250424	254.28	3.11	-3.71	High	2	0.19	35.53
5280445	286.24	2.53	-3.71	High	1	0.00	111.13
5281707	268.22	2.76	-3.87	High	0	0.00	83.81
10291777	356.4	2.20	-3.65	High	2	0.35	96.22



28250424



14218027



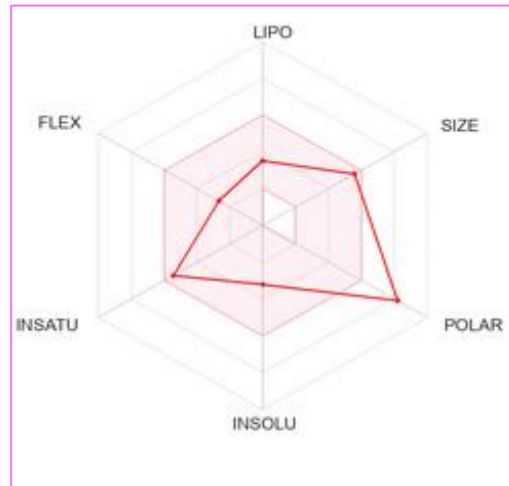
10291777



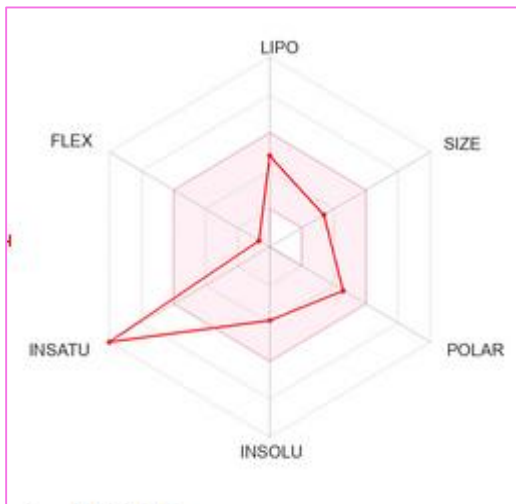
9866908



5281707



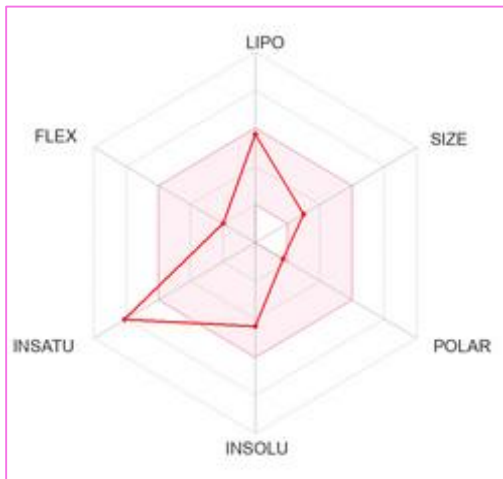
5393164



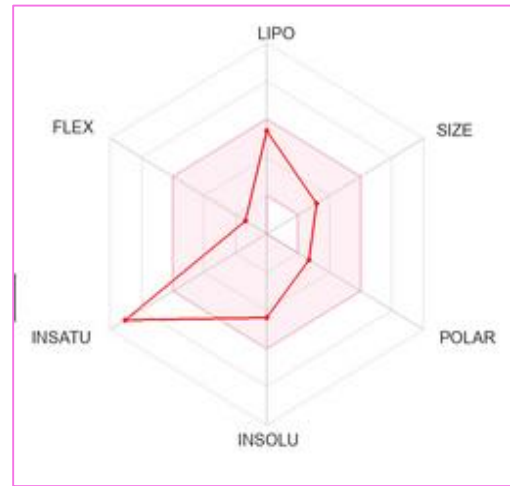
5322065



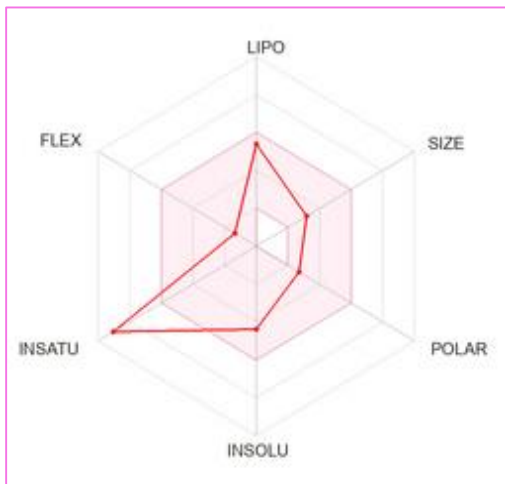
5318585



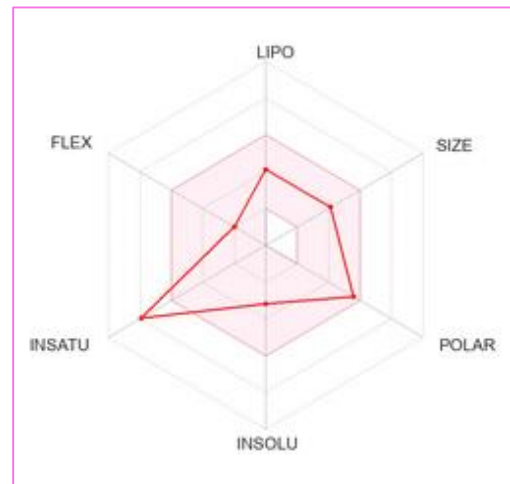
6176082



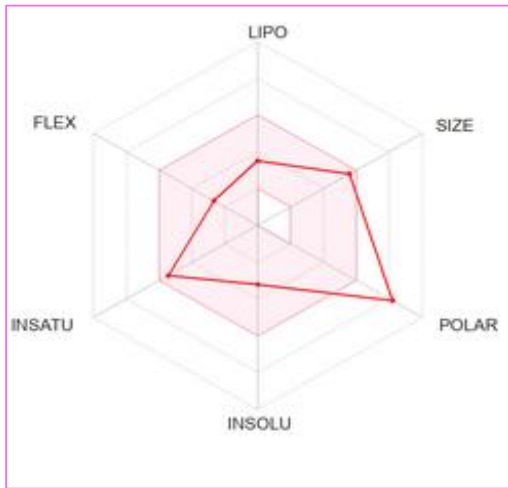
5280445



466268



53247995



44258213

Figure: Radar biodisponibilité du 13 inhibiteur