



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Echahid Chiekh Larbi Tébessi –Tébessa
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée



Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

En : Sciences Biologiques

Option : Pharmacotoxicologie

Par :

Melle. Braham Kaouthar

Melle. Djedai Amira

Thème :

Modulation de la signalisation oncogène OSR1/WNK dans
le cancer du sein triple négatif par des inhibiteurs naturels :
Etude in silico.

Devant le jury :

- | | | | |
|----------------------|-----|-----------------------|------------|
| • M. GASMI S | MCA | Université de Tébessa | Président |
| • M. Benlakhel Ammar | MCB | Université de Tébessa | Examineur |
| • M. BEN AICHA B | MCA | Université de Tébessa | Rapporteur |

Date de soutenance :
08/06/2026

Remerciements

Nous tenons, en premier lieu, à remercier Dieu Tout-Puissant de nous avoir accordé la santé, la volonté et la patience nécessaires pour mener à bien ce travail.

Nous exprimons notre profonde gratitude à notre encadrant, **Dr. Ben Aicha Brahim**, pour son encadrement précieux, sa disponibilité constante, ses conseils avisés et son soutien tout au long de la réalisation de ce mémoire. Son accompagnement a été d'une grande importance dans l'aboutissement de ce travail.

Nos sincères remerciements s'adressent également à **DrBenlakhel Ammar**, pour avoir accepté d'évaluer ce travail, ainsi qu'à **Dr Gasmi Salim**, pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de faire partie du jury et de discuter ce mémoire.

Nous tenons aussi à exprimer notre reconnaissance à l'ensemble des enseignants du département de biologie appliquée pour la qualité de leur formation et leurs efforts tout au long de notre parcours universitaire.

Nos remerciements vont également à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à nos familles pour leur soutien moral, leur patience et leurs encouragements constants.

إهداء

الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات، وبفضله تتحقق الأمنيات، الحمد لله الذي أثار لنا الدرب، ومنحنا القوة والصبر والعزيمة حتى بلغنا هذه اللحظة التي طالما حلمنا بها. لم تكن الرحلة سهلة، ولا الطريق ممهداً، لكن بتوفيق الله وكرمه تجاوزنا الصعوبات ووصلنا إلى نهاية المشوار، فله الحمد أولاً وآخراً على جميل عطائه وعظيم فضله.

إلى والديَّ الكريمين،

إلى من كانا سندي ودعائي في كل خطوة، إلى من رافقاني بدعائهما وتعبهما وصبرهما طوال مسيرتي الدراسية، من أجل أن أصل إلى هذا اليوم، أهدي ثمرة جهدي بكل حب ووفاء. مهما كتبت من كلمات فلن أوفيكما حقكما، فأنتم نعمة أحمد الله عليها في كل يوم، فأنتم سرّ نجاحي وقوتي بعد الله. حفظكما الله وأدامكما تاجاً فوق رأسينوراً في حياتي.

إلى أخي العزيز،

الذي كان لي دائماً بمثابة درعاً وسنداً وقوة أستمد منها الأمان والثقة، شكراً لوجودك الدائم إلى جانبي ولكل الدعم الذي منحتني لي، ودامت أخوتك أعظم نعمة.

إلى صديقتي الغالية شيماء،

رفيقة الطفولة والدراسة ورفيقة الدرب الطويل، التي تقاسمنا معاً أجمل الذكريات وأصعب اللحظات، حتى وصلنا اليوم إلى التخرج جنباً إلى جنب. دامت صداقتنا أجمل هدية من الزمن.

إلى صديقتي العزيزات: أميرة، روميسة، ريمة وزهور،

شكراً لكل لحظة جميلة، ولكل دعم صادق، لكل ضحكة صادقة ولكل ذكرى ستظل محفورة في القلب مهما مرت السنوات ولكل تشجيع ودعم جعل هذه السنوات أخف وأجمل، وستبقى ذكرياتنا محفورة في القلب مهما فرقنا الأيام.

إلى جميع زميلاتي في الدراسة وصديقتي في الإقامة الجامعية،

أهديكن خالص المحبة والامتنان على كل الأوقات الجميلة التي عشناها معاً، والتي جعلت من سنوات الدراسة ذكرى لا تنسى.

وإلى كل أفراد عائلتي الكريمة، خاصة عائلة براهيم وعائلة كشرود،

شكراً لمحبتكم ودعمكم وتشجيعكم الدائم، ودعواتكم الصادقة فوجودكم كان دائماً مصدر فخر وطمأنينة.

إلى الدكتور بن عيشة إبراهيم، مشرف هذا العمل، الذي لم يبخل علينا بدعمه وتوجيهاته القيمة، وكان خير مرشد وموجه

طوال إنجاز هذا البحث، فله منا كل عبارات الشكر والتقدير والاحترام.

وإلى جميع الأساتذة الذين رافقوني طوال مسيرتي الدراسية، في مختلف الأطوار التعليمية والجامعية، والذين كان لهم الفضل

في تعليمي وتوجيهي وغرس حب العلم والاجتهاد في نفسي، أتقدم إليهم بخالص الامتنان والتقدير..

لى كل من كان له أثر في مسيرتي، أهدي هذا العمل المتواضع اعترافاً بفضلكم ودعماً لمسيرتي العلمية.

Kaouthar

اهداء

الحمد لله الذي وفقني لإتمام هذا العمل، وبعد رحلة من الجهد والصبر والسعي، أتقدم بكلمات صادقة نابغة من القلب إلى كل من كان له أثر طيب ودعم في مسيرتي الدراسية، وإلى كل من رافقني بالدعاء والمحبة والتشجيع حتى وصلت إلى هذه اللحظة.

إلى أُمي الغالية،
إلى القلب الذي منحني الحب دون مقابل، وإلى العين التي سهرت لأجل راحتني، وإلى الدعاء الذي كان يرافقني في كل خطوة من خطوات حياتي أنت مصدر قوتي بعد الله، ونور أيامي، وسندي في لحظات التعب والضعفهما كتبت من كلمات فلن أوفيكِ حقكِ، فأنتِ أعظم نعمة رزقني الله بها.

إلى أبي الغالي رحمه الله،
إلى من كان حضوره أمناً، وكلماته قوة، ودعاؤه نوراً يرافقني في طريقي إلى من رحل جسداً وبقي أثره الطيب محفوراً في قلبي وفي كل تفاصيل حياتي أهديك هذا الإنجاز يا أبي، وأتمنى لو كنت هنا لترى ثمرة تعبتي وتشاركني لحظة فخري هذه رحمك الله رحمة واسعة، وجعل مقامك في أعلى جناته.

وإلى خالي العزيز جلال،
الذي كان لي أباً وسنداً إلى من قام بتربيتي ورافقني بتعبه وصبره واهتمامه، وكان سندي الحقيقي في مختلف مراحل حياتي شكراً لكل ما قدمته لي من دعم ورعاية واهتمام، ولكل لحظة كنت فيها مصدر قوة وأمان سيبقى فضلك محفوراً في قلبي ما حييت.

وإلى أخي (بلقاسم) وأخواتي (امانى و برنية) الأعزاء،
إلى من شاركوني تفاصيل أيامي وكانوا مصدر محبة ودعم وطمأنينة طوال هذا المشوار، شكراً لوجودكم الجميل في حياتي، ولدعواتكم ومساندكم الدائمة.

وإلى صديقتي العزيزات (روميسة كوثر شيماء ريمة و زهور) ،
رفيقات الدرب الجميل، شكراً لكل كلمة تشجيع، ولكل لحظة دعم وصدق ومحبة خففت عني عناء الطريق وجودكن كان نعمة أعتز بها، وستبقى ذكرياتنا الجميلة محفورة في قلبي دائماً.

وإلى أخوالي الكرام،
تقديرًا لمحبتكم الصادقة وتشجيعكم الدائم ودعواتكم الطيبة التي كانت ترافقني في كل خطوة.

وإلى أستاذي المؤطر،
أتقدم إليك بخالص الشكر والتقدير على توجيهاتك القيمة، ومتابعتك المستمرة، ونصائحك العلمية التي كان لها الأثر الكبير في إنجاز هذه المذكرة جزاك الله عني خير الجزاء.

أهديكم جميعاً ثمرة جهدي وتعب سنواتي بكل حب وامتنان، راجيةً من الله التوفيق والسداد.

Amira

Résumé

Le cancer du sein triple négatif (Triple-Negative Breast Cancer, TNBC) représente l'un des sous-types les plus agressifs du cancer du sein en raison de l'absence des récepteurs aux œstrogènes, à la progestérone et du récepteur HER2. Des études récentes ont démontré l'implication de la voie de signalisation WNK/OSR1 dans la progression tumorale, la migration cellulaire, l'invasion et l'angiogenèse, faisant de cette voie une cible thérapeutique prometteuse.

Cette étude avait pour objectif d'évaluer le potentiel inhibiteur de composés naturels bioactifs vis-à-vis de la protéine WNK1 à travers une approche *in silico* basée sur le docking moléculaire. Quarante ligands naturels sélectionnés à partir de la littérature scientifique ont été étudiés contre le récepteur WNK1 (PDB ID : 5DRB) à l'aide du logiciel AutoDock Vina. Les propriétés pharmacocinétiques (ADME) et toxicologiques des composés ont également été analysées à l'aide des serveurs en ligne SwissADME et ProTox-III.

Les résultats ont montré que plusieurs composés présentent des affinités de liaison supérieures ou comparables à celles de l'inhibiteur de référence WNK463, avec des interactions favorables au niveau du site actif de WNK1. Parmi les ligands les plus prometteurs figurent l'honokiol, la berbérine, la quercétine, la lutéoline, la baicaléine et l'isorhamnétine, qui ont également présenté des profils pharmacocinétiques et toxicologiques acceptables.

Cette étude suggère que les composés naturels pourraient constituer des inhibiteurs potentiels de l'axe WNK/OSR1 et contribuer au développement de nouvelles stratégies thérapeutiques contre le TNBC.

Mots Clés : Cancer du sein triple négatif, WNK/OSR1, Docking moléculaire, Swiss-ADME, ProToxIII.

Abstract

Triple-negative breast cancer (TNBC) is one of the most aggressive subtypes of breast cancer due to the absence of estrogen, progesterone, and HER2 receptors. Recent studies have demonstrated the involvement of the WNK/OSR1 signaling pathway in tumor progression, cell migration, invasion, and angiogenesis, making this pathway a promising therapeutic target.

The objective of this study was to evaluate the inhibitory potential of bioactive natural compounds against the WNK1 protein using an *in silico* approach based on molecular docking. Forty natural ligands selected from the scientific literature were studied against the WNK1 receptor (PDB ID: 5DRB) using AutoDock Vina software. The pharmacokinetic (ADME) and toxicological properties of the compounds were also analyzed using the SwissADME and ProTox-III online servers.

The results showed that several compounds exhibit binding affinities superior to or comparable with those of the reference inhibitor WNK463, with favorable interactions at the WNK1 active site. Among the most promising ligands are honokiol, berberine, quercetin, luteolin, baicalein, and isorhamnetin, which also exhibited acceptable pharmacokinetic and toxicological profiles.

This study suggests that natural compounds could serve as potential inhibitors of the WNK/OSR1 axis and contribute to the development of new therapeutic strategies for TNBC.

Keywords: Triple-negative breast cancer, WNK/OSR1, molecular docking, Swiss-ADME, ProToxIII.

الملخص

يُعد سرطان الثدي الثلاثي السلبي (TNBC، Triple-Negative Breast Cancer)، أحد أكثر أنواع سرطان الثدي عدوانيةً بسبب غياب مستقبلات الإستروجين والبروجسترون ومستقبل HER2. أظهرت دراسات حديثة دور مسار الإشارة WNK/OSR1 في تطور الورم، وهجرة الخلايا، والغزو، وتكوين الأوعية الدموية، مما يجعل هذا المسار هدفًا علاجيًا واعدًا.

كان الهدف من هذه الدراسة هو تقييم القدرة المثبطة للمركبات الطبيعية النشطة بيولوجيًا تجاه بروتين WNK1 من خلال نهج حاسوبي يعتمد على الارتباط الجزيئي. تمت دراسة أربعين رابطًا طبيعيًا تم اختيارها من الأدبيات العلمية ضد مستقبل WNK1 (PDB ID: 5DRB) باستخدام برنامج AutoDock Vina. كما تم تحليل الخصائص الدوائية (ADME) والسمية للمركبات باستخدام الخوادم الإلكترونية SwissADME و ProTox-III.

أظهرت النتائج أن العديد من المركبات تتمتع بقدرات ارتباط أعلى أو مماثلة لتلك الخاصة بمثبط WNK463 المرجعي، مع تفاعلات مواتية على مستوى الموقع النشط لـ WNK1. ومن بين الروابط الأكثر واعدة الهونوكيول، والبيربيرين، والكيرسيتين، واللوتولين، والبايكالين، والإيزورامينتين، التي أظهرت أيضًا ملامح دوائية وسمية مقبولة.

تشير هذه الدراسة إلى أن المركبات الطبيعية قد تشكل مثبطات محتملة لمحور WNK/OSR1 وتساهم في تطوير استراتيجيات علاجية جديدة لمكافحة سرطان الثدي الثلاثي السلبي.

الكلمات المفتاحية: سرطان الثدي الثلاثي السلبي، WNK/OSR1، الإرساء الجزيئي، Swiss-ADME، ProToxIII.

ADN	Acide Désoxyribonucléique
ADME	Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion
ADMET	Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et Toxicité
AKT	Protéine kinase B
ASR	Le taux d'incidence standardisé selon l'âge
BBB	Barrière Hémato-Encéphalique
BRCA1	Breast Cancer Gene 1
CK5/6	Cytokératine 5/6
CS	Cancer du Sein
DL50	Dose Létale 50
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
EMT	Transition Épithélio-Mésenchymateuse
ER	Récepteur aux Œstrogènes
ERK5	Extracellular Signal-Regulated Kinase 5
G2/M	Phase G2/M du cycle cellulaire
GLOBOCAN	Global Cancer Observatory
HER2	Human Epidermal Growth Factor Receptor 2
KCC	Potassium Chloride Cotransporter
Ki-67	
MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinase
NCC	Sodium Chloride Cotransporter
NKCC1	Sodium Potassium Chloride Cotransporter 1
OSR1	Oxidative Stress Responsive Kinase 1
PDB	Protein Data Bank
PDBQT	Protein Data Bank, Partial Charge (Q), Atom Type (T)
PI3K/AKT	Phosphoinositide 3-Kinase / AKT

PIK3CA	Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphate 3-Kinase Catalytic Subunit Alpha
PR	Récepteur à la Progestérone
RCSB	Research Collaboratory for Structural Bioinformatics
ROS	Reactive Oxygen Species
SPAK	STE20/SPS1-Related Proline/Alanine-Rich Kinase
TN	Triple Négatif
TNBC	Triple Negative Breast Cancer
TP53	Tumor Protein 53
TPSA	Topological Polar Surface Area
WNK	With No Lysine Kinase
WNK1	With No Lysine Kinase 1
WNK463	Inhibiteur pan-WNK
WNK/OSR1	Axe de signalisation WNK/OSR1
SPAK/OSR1	Complexe SPAK/OSR1

Liste des Figures

Figure 01 : Structure de sein	6
Figure 02 : Taux standardisé selon l'âge (monde) pour 100 000 habitants, incidence et mortalité, tous sexes confondus, en 2022 (15 principaux types de cancers)	7
Figure 03 : Nombre absolu, Incidence, Femmes, en 2022, Cancer du sein.	8
Figure 04 : Nombre absolu, Incidence, Femmes, en Algérie en 2022	9
Figure 05 : classification moléculaire du cancer de sein	12
Figure 06 : Principales voies de signalisation impliquées dans la progression tumorale et leurs fonctions biologiques	16
Figure07 : Cascade de signalisation WNK-OSR1.	19
Figure 08 : Présentation générale de Docking moléculaire in silico.....	26
Figure 09 : Protocole de docking	28
Figure 10 : Interface du logiciel Discovery Studio 2021 Client	30
Figure 11 : Interface du logiciel Avogadro	30
Figure 12 : Interface du logiciel AutoDock Tools1.5.6	31
Figure 13 : Interface de la base de données RCSB PDB	32
Figure 14 : Interface de la base de données PubChem.....	33
Figure 15 : Interface de la plateforme SwissADME	33
Figure 16 : Interface de la plateforme ProTox-III.....	34
Figure 17 : la structure 3D de protéine WNK	35
Figure 18 : les meilleures poses issues du docking moléculaire (WNK463).....	38
Figure 19 : les interactions de la molécule de référence avec le site actif	38
Figure 20 : Les interactions 3D des ligands dans le site actif A, B, C, D	50
Figure 21 : Les interactions 3D des ligands dans le site actif E, F, G, H	50
Figure 22 : Les interactions 3D des ligands dans le site actif I, J, K, L	51
Figure 23 : Les interactions 2D des ligands dans le site actif A, B, C, D	51
Figure 24 : Les interactions 2D des ligands dans le site actif E, F, G, H	52
Figure 25 : Les interactions 2D des ligands dans le site actif I, J, K, L ,.....	52

Liste des Tableaux

Tableau 01 : Caractéristiques des micro-ordinateurs utilisés.....	29
Tableau 02 : les 40 ligands et leur sources naturelle	36
Tableau03 : Score et concentration inhibitrice de chaque ligand	41
Tableau04: les ligands les plus pertinents	42
Tableau 05: Analyse des interactions moléculaires entre les ligands les plus prometteurs et le site actif du récepteur.	44
Tableau06 : Analyse comparative des propriétés physico-chimiques et des profils pharmacocinétiques (ADME) des ligands sélectionnés et de la molécule de référence.	53
Tableau07 : Évaluation des profils de toxicité prédits des ligands sélectionnés et de la molécule de référence.	54

Table des matières

- Remerciements
- Dédicace
- Résumé
- Abstract
- الملخص
- Liste des abréviations
- Liste des figures
- Liste des Tableaux
- Table des matières
- Introduction

Partie bibliographique

Introduction

Introduction

Le cancer du sein demeure la tumeur maligne la plus fréquemment diagnostiquée et la principale cause de décès liés au cancer chez les femmes à l'échelle mondiale, représentant environ 24,5 % de l'ensemble des cas de cancer **(Dogra et al., 2025)**. Le cancer du sein est une maladie hétérogène regroupant plusieurs sous-types distincts présentant des caractéristiques cliniques et moléculaires variées. Parmi ces sous-types, le cancer du sein triple négatif (Triple-Negative Breast Cancer, TNBC) **(Dogra et al., 2025)**.

Le TNBC, plus fréquent chez les femmes jeunes, notamment celles âgées de moins de 50 ans, est caractérisé par l'absence d'expression des récepteurs des œstrogènes (ER), de la progestérone (PR) et du récepteur 2 du facteur de croissance épidermique humain (HER2). Il représente environ 15 à 20 % de l'ensemble des cancers du sein et est associé à une évolution clinique agressive ainsi qu'à un pronostic défavorable. Le TNBC se distingue comme une entité posant d'importants défis en matière de pronostic et de traitement. L'absence de ces récepteurs exclut le recours à des traitements ciblés, tels que l'hormonothérapie ou les thérapies dirigées contre HER2, faisant ainsi de la chimiothérapie la principale option thérapeutique systémique. **(Dogra et al., 2025)**.

Dans ce contexte, des études récentes ont montré l'implication de la voie de signalisation WNK-OSR1 dans la pathogenèse de plusieurs cancers, notamment le cancer du sein triple négatif (TNBC) **(Fdel et al., 2025)**. La cascade WNK-SPAK/OSR1 intervient dans la régulation de l'homéostasie ionique et participe à différents mécanismes cellulaires tels que la survie, la migration, la motilité et l'invasion tumorale. Ainsi, ces kinases constituent des cibles thérapeutiques prometteuses dans le traitement du cancer du sein **(Hou et al., 2022); (Theivendren et al., 2021)**.

Dans cette perspective, notre étude vise à explorer, à travers une approche *in silico* basée sur le Docking moléculaire, le potentiel inhibiteur de différents composés naturels vis-à-vis de la protéine WNK1 impliquée dans l'axe WNK/OSR1. Dans le but d'identifier les candidats les plus prometteurs pour le développement futur de nouvelles stratégies thérapeutiques contre le cancer du sein triple négatif.

Notre présentation générale se compose de deux grandes parties : une partie bibliographique et une partie pratique

Introduction

La partie bibliographique est organisée en trois chapitres.

Le premier chapitre présente des généralités sur le cancer du sein, particulièrement le cancer du sein triple négatif (TNBC).

Le deuxième chapitre traite la signalisation oncogène et l'axe WNK/OSR1 impliqués dans la progression tumorale.

Le troisième chapitre est consacré au Docking moléculaire et aux approches in silico utilisées dans la recherche anticancéreuse.

La partie pratique comprend la description des matériels et méthodes utilisés, notamment le Docking moléculaire par AutoDock Vina, ainsi que l'évaluation pharmacocinétique et toxicologique des ligands étudiés. Elle présente également les principaux résultats obtenus concernant les interactions ligand–récepteur et les propriétés ADME/toxicité des composés les plus prometteurs.

Enfin, une conclusion générale résume les principaux résultats et les perspectives de cette étude.



***Partie
Bibliographique***

Chapitre I



Généralités sur le cancer de sein

1. Définition et épidémiologie de cancer de sein

1.1. Définition

Le cancer du sein correspond à une prolifération incontrôlée et anarchique de cellules qui se développent au niveau du tissu mammaire. Le sein est composé de deux principaux types de tissus, à savoir les tissus glandulaires et les tissus stromaux (de soutien). Les tissus glandulaires abritent les glandes productrices de lait (lobules) et les canaux (conduits laitiers) (Figure 1). La plupart des cancers du sein se développent dans les cellules qui tapissent les canaux (cancers canauxaires). Certains se développent dans les cellules qui tapissent les lobules (cancers lobulaires), tandis qu'un petit nombre se développe dans d'autres tissus (Sharma GN et al., 2010). Sur le plan histologique, la plupart des cancers du sein sont des adénocarcinomes, car ils dérivent des cellules glandulaires épithéliales constituant les canaux et les lobules. Lorsque les cellules tumorales franchissent la membrane basale et envahissent les tissus adjacents, la tumeur est qualifiée d'invasive ou infiltrante. À ce stade, les cellules cancéreuses peuvent se propager aux ganglions lymphatiques, puis à distance par voie sanguine, entraînant la formation de métastases. Les sites métastatiques les plus fréquemment observés sont les os, le foie, les poumons et le cerveau (Vocel, 2024).

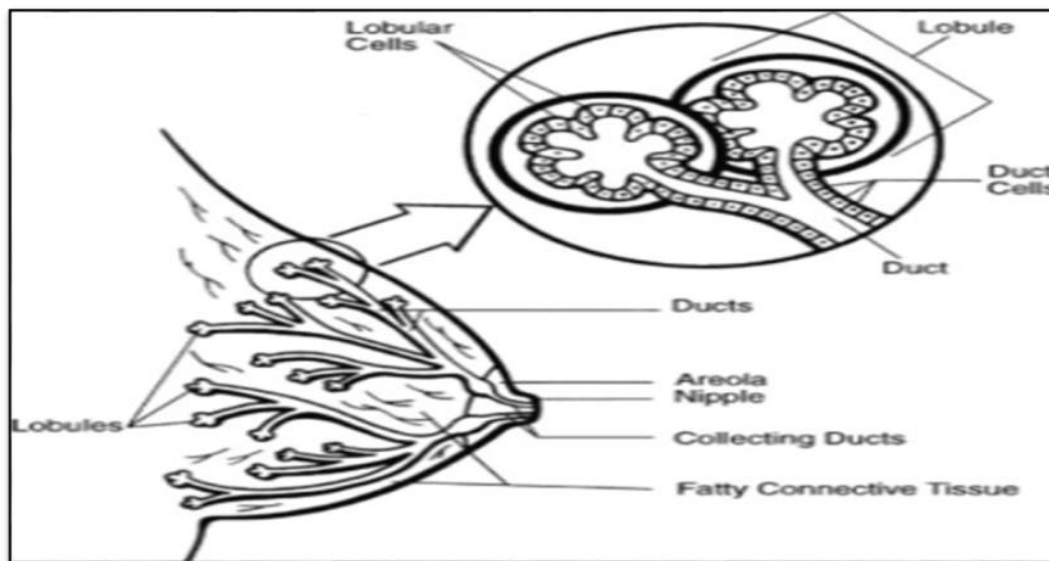


Figure 01 : Structure de sein(Sharma GN et al., 2010).

1.2. Epidémiologie

À l'échelle mondiale, le cancer du sein représente le cancer le plus fréquemment diagnostiqué chez la femme et constitue un problème majeur de santé publique. Selon les estimations du Global Cancer Observatory (GLOBOCAN 2022), environ 2,3 millions de nouveaux cas ont été enregistrés dans le monde en 2022, ce qui représente près d'un quart de l'ensemble des cancers féminins. Le taux d'incidence standardisé selon l'âge (ASR) est estimé à environ 46,8 cas pour 100 000 habitants. En ce qui concerne la mortalité, le cancer du sein représente la première cause de décès par cancer chez la femme au niveau mondial, avec environ 670 000 décès, correspondant à 6,8 % de l'ensemble des décès par cancer. Le taux de mortalité standardisé est estimé à 12,7 pour 100 000 habitants (Figure 02).

Par ailleurs, la prévalence à 5 ans dépasse 8.1 millions de cas dans le monde, reflétant l'amélioration relative de la survie grâce aux progrès du dépistage et des traitements. **(World fact sheet: Breast cancer., 2022)**

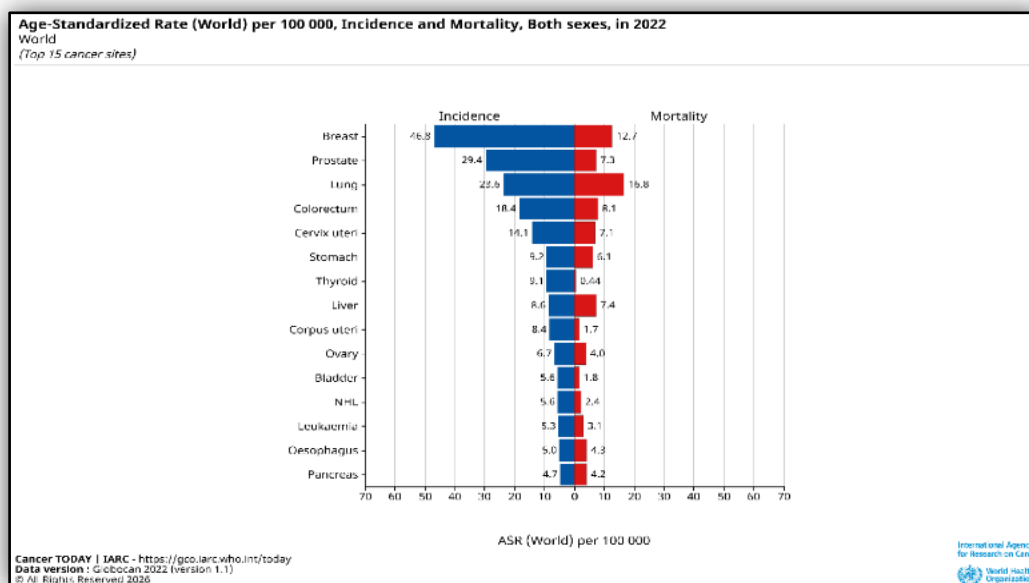


Figure 02 : Taux standardisé selon l'âge (monde) pour 100 000 habitants, incidence et mortalité, tous sexes confondus, en 2022 (15 principaux types de cancers) **(World fact sheet: Breast cancer., 2022)**

En 2022, l'Afrique occupe la cinquième position mondiale en termes de nombre absolu de nouveaux cas de cancer du sein, avec environ 198 553 cas, représentant près de 8,6 % du total mondial (Figure 3). Bien que ce chiffre soit inférieur à celui de l'Asie et de l'Europe, il reste préoccupant en raison du diagnostic souvent tardif et des ressources limitées en matière de dépistage et de prise en charge dans plusieurs pays africains. **(Absolute numbers, incidence of breast cancer in Africa, both sexes, 2022)**

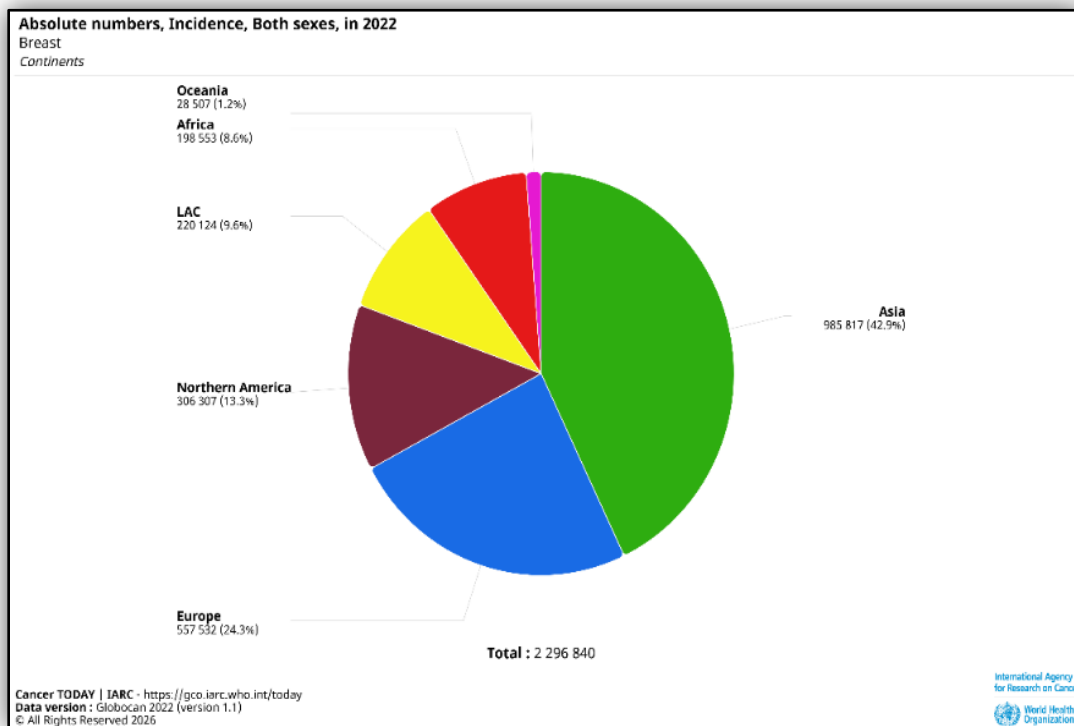


Figure 03 : Nombre absolu, Incidence, Femmes, en 2022, Cancer du sein. **(Absolute numbers, incidence of breast cancer in Africa, both sexes, 2022)**

En Algérie, selon les estimations du Global Cancer Observatory (GLOBOCAN 2022), le cancer du sein représente le premier cancer chez la femme et constitue un problème majeur de santé publique. En 2022, 14 601 nouveaux cas ont été enregistrés, correspondant à 41,3 % de l'ensemble des cancers féminins (Figure 04) , et à 22,6 % de tous les cancers confondus

Le taux d'incidence standardisé selon l'âge (ASR) est estimé à environ 61.9 pour 100 000 habitants. En termes de mortalité, le cancer du sein demeure également la première cause de décès par cancer chez la femme, avec 4 893 décès enregistrés la même année, soit 13.7% des décès par cancer et un taux de mortalité standardisé d'environ 20.8 pour 100 000 habitants.

Par ailleurs, la prévalence à 5 ans est estimée à 47 259 cas, traduisant une charge importante de la maladie au niveau national. Ces données confirment l'ampleur du cancer du sein en Algérie et soulignent l'importance du renforcement des stratégies de dépistage précoce et d'amélioration de la prise en charge thérapeutique. **(Algeria fact sheet: Breast cancer., 2022)**

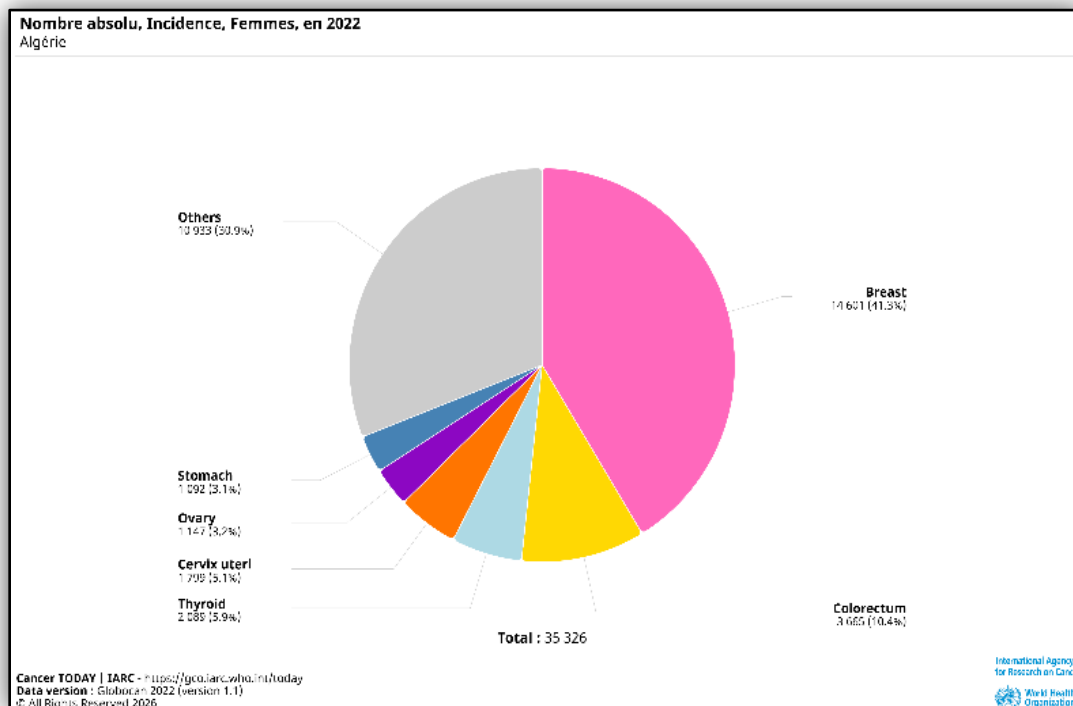


Figure 04 : Nombre absolu, Incidence, Femmes, en Algérie en 2022 (Algeria fact sheet: Breast cancer., 2022)

2. Classification moléculaire du cancer de sein

La classification moléculaire a renforcé le concept selon lequel le cancer du sein (CS) est une maladie histologiquement et biologiquement hétérogène nécessitant différentes stratégies thérapeutiques. Des recherches continues ont affiné cette classification, identifiant des sous-types luminaux et reclassant les tumeurs basales en cancers du sein triple négatifs (CS TNBC), y compris les formes basales et non basales, sur la base de marqueurs tels que l'EGFR et la CK5/6.

Les marqueurs classiques, principalement immunohistochimiques, analysés à partir des cellules BC utilisées dans la classification comprennent les récepteurs ER, PR et HER2. Les marqueurs supplémentaires utilisés principalement pour la stratification du carcinome basocellulaire comprennent Ki-67, EGFR et les cytokératines basales (CK5/6, CK14, C19). **(Beňačka et al., 2022)**

2.1. Luminal A

Le cancer du sein luminal A représenté jusqu'à 50 % de tous les cancers du sein invasifs. Il exprime des niveaux élevés de récepteurs hormonaux (ER et/ou PR) ainsi que des cytokératines luminales de faible poids moléculaire. Son statut HER2 est faible ou négatif et il présente de faibles niveaux de la protéine Ki-67, antigène marqueur de la prolifération cellulaire (<14 %)(Figure 5) **(Beňačka et al., 2022)**. Les mutations les plus fréquentes dans le luminal A incluent PIK3CA (45 %), MAP3K1, GATA3, TP53, CDH1 et MAP2K4. Le luminal A bénéficie d'un meilleur pronostic que le luminal B et répond plus favorablement aux traitements endocriniens tels que les anti-œstrogènes ou les inhibiteurs de l'aromatase **(Sarhangi et al., 2022)**

2.2. Luminal B

Le cancer mammaire luminal B représente 20 à 30 % des cas. Tout comme le type luminal A, ces tumeurs expriment des cytokératines luminales et sont ER-positives, principalement PR-positives, mais elles peuvent également être PR-négatives. Contrairement au type A, le luminal B présente des niveaux élevés de Ki-67, ce qui les rend plus prolifératives et

associées à un pronostic moins favorable et son statut HER-2 est variable ; il peut être négatif ou positif. **(Beňačka et al., 2022)**. Ces cancers présentent des mutations génétiques hétérogènes, souvent au niveau des gènes TP53 et PIK3CA, et sont donc plus agressifs que le luminal A **(Sarhangi et al., 2022)** Ces tumeurs peuvent bénéficier d'une hormonothérapie associée à la chimiothérapie **(Orrantia-Borunda et al., 2022)**.

2.3. HER2-positif

Le cancer du sein HER2 positif représente 15 à 20 % des cancers du sein invasifs. **(Beňačka et al., 2022)** Il se caractérise par une expression élevée de HER2 en l'absence d'ER et de PR (Figure 5) **(Orrantia-Borunda et al., 2022)** Ils présentent des mutations TP53 diffuses **(Beňačka et al., 2022)** Ils ont un pronostic plus défavorable que les tumeurs lumineuses et nécessitent des médicaments spécifiques dirigés contre la protéine HER2/neu, notamment le trastuzumab, en plus de la chirurgie et d'un traitement par chimiothérapie précise **(Orrantia-Borunda et al., 2022)**

2.4. Triple négatif (TN)

Le cancer du sein triple négatif (TN) ou de type basal représente environ 15 % des cancers du sein invasifs et se caractérise par un profil ER/PR/HER2 négatif (triple négatif) et un indice de prolifération Ki-67 élevé. Il présente un taux de prolifération élevé, une mutation diffuse du gène TP53, une mutation du gène BRCA1 et est considéré comme plus agressif que les cancers luminal A ou luminal B, avec un très mauvais pronostic. Sur la base de marqueurs tels que l'EGFR ou le CK5/6, le TNBC peut être subdivisé en deux sous-types : le type basal prévalent (environ 80 % des cas) et le type non basal (environ 20 % des cas) **(Beňačka et al., 2022)**. Les premiers se caractérisent par l'expression des cytokératines (CK)5/6 et du récepteur du facteur de croissance épidermique humain de type 1 (EGFR1), tandis que les non-basaux n'expriment pas les cytokératines CK5/6 (Figure 05). **(Orrantia-Borunda et al., 2022)**. L'absence d'ER et de PR supprime le contrôle hormonal de la croissance et de la différenciation et l'absence de HER2+ rend le TNBC tolérant à la thérapie ciblée monoclonale **(Beňačka et al., 2022)**.

Molecular subtypes	Biological markers	Frequency (%)	Grade	Therapy	5 year survival
Luminal A	ER+ PR+ HER2- Ki67 ↓	40 - 50	Differentiated (I)	Endocrine	~ 94%
Luminal B HER2-	ER+ PR- HER2- Ki67 ↑	{ 20 - 30	Moderately differentiated (II)	Endocrine	~ 91%
Luminal B HER2+	ER+ PR-/++ HER2+ Ki67 ↑/↓			Chemotherapy Anti HER2+	
HER2+	ER- PR-/++ HER2+ Ki67 ↑	15 - 20	Little differentiated (III)	Anti HER2+ Chemotherapy	~ 84%
Triple – negative basal – like	ER- PR- HER2- Ki67 ↑ p53 ++ EGFR+ CK5/6+ EGFR+ CK5/6+	{ 10 - 20	Little or very little differentiated (III)	Chemotherapy PARP inhibitors	~ 77%
Triple – negative non – basal	ER- PR- HER2- Ki67 ↑ p53 ++ EGFR- CK5/6- EGFR+ CK5/6+				

Figure 05 : classification moléculaire du cancer de sein (Beňačka et al., 2022)

3. Le cancer du sein triple négatif (TNBC)

Le cancer du sein triple négatif (TN) est une tumeur hétérogène qui représente environ 15 % des cancers du sein invasifs et se caractérise par un profil ER/PR/HER2 négatif (triple négatif) (Beňačka et al., 2022). On estime que le cancer du sein triple négatif touche chaque année 170 000 femmes dans le monde, sur un total d'un million de diagnostics de cancer du sein (Sarhangi et al., 2022). Il est plus fréquent chez les femmes jeunes et plus fréquent chez les Africaines que chez les Caucasiennes (Beňačka et al., 2022). Le risque de développer un TNBC varie en fonction de la génétique, de la race, de l'âge, du surpoids et de l'obésité, des habitudes d'allaitement et de la parité (Orrantia-Borunda et al., 2022).

Le TNBC présente un phénotype clinique distinct en raison de ses caractéristiques moléculaires. Il se caractérise par des métastases à distance (métastases viscérales et cérébrales), l'absence de métastases osseuses et une récurrence précoce (généralement dans les trois ans). Le TNBC est associé à un comportement clinique agressif qui se développe plus rapidement et se propage aux tissus environnants, est moins traitable et a un pronostic moins favorable (Sarhangi et al., 2022).

Environ 10 à 20 % des TNBC présentent des mutations germinales dans les gènes BRCA1 ou BRCA2, qui sont des régulateurs clés de la réparation de l'ADN par recombinaison homologue.

(Dogra et al., 2025)

Le sous-type TNBC est ensuite classé en plusieurs sous-groupes supplémentaires, notamment (Orrantia-Borunda et al., 2022) basal-like 1 (BL1), basal-like 2 (BL2),

immunomodulatory (IM), mesenchymal (M), mesenchymal stem-like (MSL) et luminal androgenreceptor (LAR) **(Dogra et al., 2025)**

L'absence d'ER et de PR supprime le contrôle hormonal de la croissance et de la différenciation, ce qui confère au TNBC une activité mitotique élevée, un grade nucléaire élevé et une insensibilité à l'hormonothérapie. L'absence de HER2+ rend le TNBC tolérant à la thérapie ciblée monoclonale **(Beňáčka et al., 2022)**. La chirurgie, la radiothérapie, la chimiothérapie et diverses thérapies ciblées sont utilisées pour traiter les tumeurs TN **(Sarhangi et al., 2022)**.

Chapitre II



Signalisation oncogène et L'axe WNK/OSR1 dans la progression tumorale

1. Signalisation oncogène et dérégulation cellulaire

1.1. Le cancer comme maladie de dérégulation cellulaire

Le cancer est une maladie de dérégulation cellulaire résultant de multiples facteurs, tels que l'exposition à des substances chimiques, les mutations des proto-oncogènes et des gènes suppresseurs de tumeurs, ainsi qu'un déséquilibre des voies de signalisation essentielles à l'homéostasie cellulaire. Il s'agit d'une maladie complexe impliquant de nombreuses voies moléculaires et cellulaires. Les cellules acquièrent des mutations dans des gènes essentiels, entraînant une altération de l'expression de protéines aux activités diverses et la transformation d'une cellule normale en cellule cancéreuse. En raison d'une signalisation chronique favorisant la prolifération et/ou réduisant l'apoptose, ces cellules se multiplient de manière clonale pour former des tumeurs (Patterson et al., 2018).

1.2. Voies de signalisation oncogéniques et conséquences biologiques

Les voies de transduction des signaux oncogéniques jouent un rôle central dans la progression tumorale en régulant des processus cellulaires essentiels tels que la prolifération, la survie, l'angiogenèse et l'invasion. Ces voies sont souvent dérégulées dans le cancer en raison de mutations génétiques et de modifications épigénétiques (Tufail et al., 2026).

Parmi les principales voies impliquées :

- **PI3K/AKT** : contrôle divers processus cellulaires notamment la prolifération, la croissance, la survie et le métabolisme cellulaire. Malheureusement, cette voie de signalisation est la plus fréquemment dérégulée dans les cancers et favorise la progression tumorale et les métastases (figure 06) (Nisar et al., 2020).
- **JAK-STAT** : en réagissant aux signaux extracellulaires et en déclenchant un programme de transcription génétique, joue un rôle clé dans la prolifération, la différenciation et la survie cellulaires (figure 06) (Nisar et al., 2020).
- **MAPK** : joue un rôle fondamental dans la régulation de la prolifération et de la différenciation cellulaires, ainsi que dans la survie et la mort cellulaire par apoptose (figure 06) (Kadasah, 2025).

- **Wnt/ β -caténine** : joue un rôle crucial dans le développement et les métastases du cancer du sein et favorise également l'expression de marqueurs anti-apoptotiques (figure 06) (Ryspayeva et al., 2025)

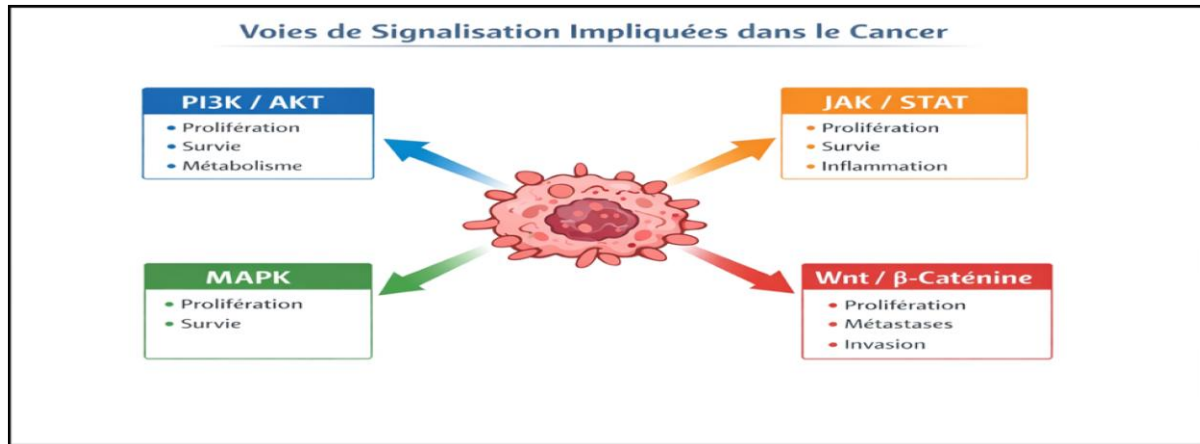


Figure 06 : Principales voies de signalisation impliquées dans la progression tumorale et leurs fonctions biologiques (Nisar et al., 2020) (Ryspayeva et al., 2025) (Kadasah, 2025)

En conséquence, les anomalies génétiques ou épigénétiques des composants de signalisation perturbent les réseaux de régulation qui régissent le fonctionnement cellulaire, permettant ainsi aux cellules tumorales de contourner les mécanismes de suppression de la croissance, de résister à l'apoptose et de maintenir une croissance incontrôlée. (Tufail et al., 2026)

Ces altérations entraînent des « hallmarks » du cancer, telles que des signaux prolifératifs soutenus, une résistance à la mort cellulaire, l'activation de l'invasion et des métastases, instabilité génomique et mutations, et dérégulation de l'énergie cellulaire qui induit une glycolyse aérobie ou l'effet Warburg afin de soutenir la croissance et la prolifération des cellules cancéreuses. Elles favorisent également l'invasion des tissus voisins (Nisar et al., 2020)

1.3. Rôle des protéines kinases et transition vers WNK/OSR1

Les protéines kinases sont des enzymes (phosphotransférases) intracellulaires qui jouent un rôle essentiel dans l'organisme en participant à un large éventail de voies de signalisation cellulaire et en régulant des processus clés tels que la croissance cellulaire, la prolifération et la progression du cycle cellulaire (Theivendren et al., 2021). Elles orchestrent l'activation de

cascades de signalisation en réponse à des stimuli tant extracellulaires qu'intracellulaires **(Brognard, J., & Hunter T, 2011)**. Grâce à ces mécanismes, la dérégulation d'un large éventail de protéines kinases a été associée au développement et à la croissance des cellules cancéreuses. En raison de leur rôle crucial dans les mécanismes de signalisation qui déterminent les caractéristiques des cellules malignes, elles représentent des cibles thérapeutiques importantes en oncologie. **(Theivendren et al., 2021)**.

Les kinases WNK sont des kinases de signalisation uniques qui se distinguent des autres familles de kinases par la position inhabituelle du résidu lysine catalytique **(Gallolu Kankanamalage et al., 2018) (Zhang et al., 2016)**. Elles interagissent avec un grand nombre de protéines cellulaires et les modifient, et activent les kinases substrats en aval OSR1 et SPAK, contribuant ainsi au maintien de l'homéostasie cellulaire. De plus, plusieurs composants de la voie de signalisation WNK ont été impliqués dans l'angiogenèse, un processus amplifié dans de nombreux cancers **(Gallolu Kankanamalage et al., 2018)**. Cette particularité structurale pourrait théoriquement être exploitée pour le développement d'inhibiteurs spécifiques des kinases WNK, compétitifs de l'ATP **(Zhang et al., 2016)**.

2. Les kinases WNK : structure et implication dans le cancer

2.1. Structure de WNK

Les kinases WNK (WNK) des mammifères sont des kinases sérine/thréonine **(Xiu et al., 2022)** qui régulent la pression artérielle et l'homéostasie électrolytique en phosphorylant et en activant deux kinases apparentées de type Ste20, à savoir la kinase riche en proline/alanine apparentée à STE20/SPS1 (SPAK) et la kinase 1 sensible au stress oxydatif (OSR1), désignées collectivement sous le nom de SPAK/OSR1. Une fois activées, les kinases SPAK/OSR1 phosphorylent et régulent **(Zhang et al., 2016)** une série de cotransporteurs d'ions sodium, potassium et chlorure, notamment les cotransporteurs $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{Cl}^-$ 1 et 2 (NKCC1 et NKCC2), le cotransporteur NaCl (NCC) et le cotransporteur KCl (KCC) **(Fdel et al., 2025)**. Les kinases de la famille WNK (with-no-lysine) se distinguent des autres kinases par la position inhabituelle du résidu lysine catalytique dans leurs isoformes (Lys233 dans WNK1), par rapport à la lysine conservée du site actif dans d'autres protéines kinases, **(Zhang et al., 2016)** et cette famille comprend quatre membres : WNK1–4 **(Xiu et al., 2022)**.

2.2. Implication dans le cancer :

Le WNK1 joue un rôle important dans la progression de nombreux cancers, notamment le cancer du foie, le cancer du sein, le glioblastome, les tumeurs à cellules géantes, le rétinoblastome, le carcinome rénal à cellules claires et l'adénocarcinome pulmonaire. Compte tenu de l'implication de la cascade de signalisation WNK–SPAK/OSR1 dans la régulation de l'homéostasie ionique, ces kinases jouent un rôle essentiel dans le contrôle de divers comportements cellulaires, tant dans les cellules normales que cancéreuses, notamment la motilité, la survie, la migration et l'invasion. (Hou et al., 2022). Dans ce contexte, la voie WNK–SPAK/OSR1–NKCC1 favorise la migration des cellules cancéreuses en régulant les flux ioniques et le volume cellulaire.

Par ailleurs, l'activation de la voie Akt–WNK1–SPAK/OSR1 contribue à l'induction de la transition épithélio-mésenchymateuse (EMT), un processus clé dans la progression tumorale et la dissémination métastatique (Xiu et al., 2022).

3. OSR1 et l'axe WNK/OSR1 dans la progression tumorale

3.1. Structure et activation de OSR1

La kinase OSR1 (Oxidative Stress-Responsive 1) est une protéine kinase de type Ste20, (Zhang et al., 2016) (Fdel et al., 2025) de la famille des sérine/thréonine, dont le rôle dans la régulation du transport ionique est bien établi. Elle s'active en réponse au stress osmotique. (Fdel et al., 2025)

3.2. L'axe WNK/OSR1

3.2.1. Rôle dans l'homéostasie ionique

Au niveau moléculaire, OSR1 et SPAK deviennent actives à la suite de leur phosphorylation par les kinases en amont « with-no-lysine » (WNK 1 à 4) au niveau des résidus thréonine hautement conservés, T185 pour OSR1 et T233 pour SPAK, et des résidus sérine S325 pour OSR1 et S373 pour SPAK (Figure 3). Il convient de noter que la phosphorylation des domaines kinases d'OSR1 et de SPAK au niveau de T185 et de SPAK au niveau de T233, respectivement, est responsable de l'activation de leur activité kinase. 6 Les protéines SPAK et OSR1 actives, en complexe avec les isoformes humaines⁷ de la protéine d'échafaudage Mouse-Only protein 25 (MO25),⁸ phosphorylent ensuite une série de cotransporteurs d'ions sodium, potassium et

chlorure, tels que les cotransporteurs Na–K–Cl 1 et 2 (NKCC1 et 2), le cotransporteur NaCl (NCC) et le cotransporteur KCl (KCC) (figure 07) (Fdel et al., 2025) ce qui permet aux cellules atrophiées de retrouver leur volume normal (Xiu et al., 2022)

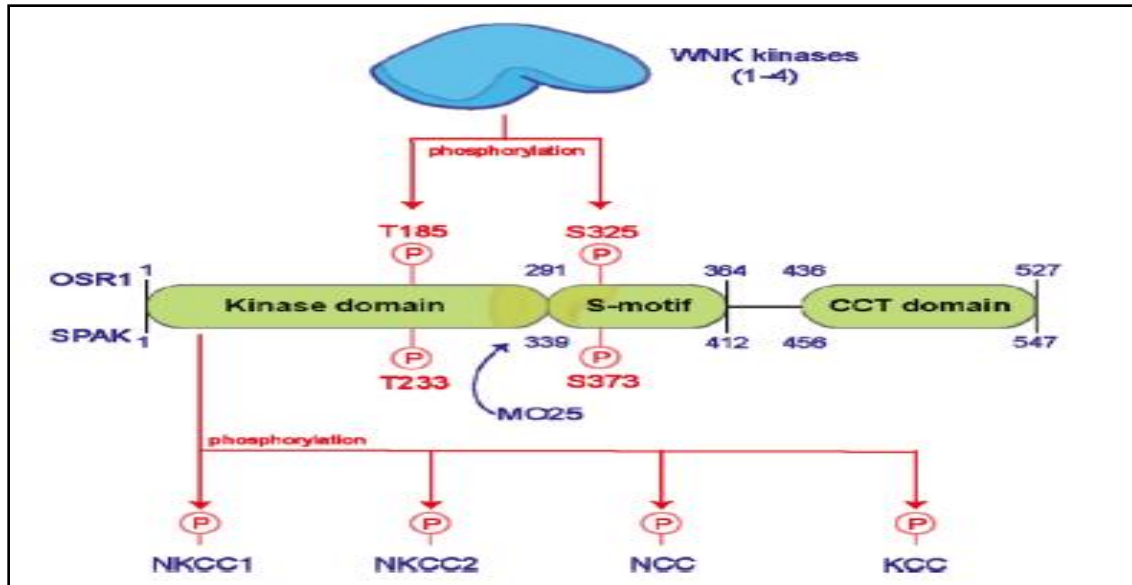


Figure07 : Cascade de signalisation WNK-OSR1. (Fdel et al., 2025)

3.2.2. Rôle dans la progression tumorale

Cependant, des rapports récents ont mis en évidence l'implication de la signalisation WNK-OSR1 dans la pathogenèse de divers cancers, notamment dans le cancer du sein (CS), (Fdel et al., 2025). En effet, les canaux ioniques membranaires sont capables de détecter et de répondre aux variations de l'environnement extracellulaire, participant ainsi à l'activation de plusieurs voies de signalisation impliquées dans la progression tumorale (Xiu et al., 2022), notamment l'angiogenèse, la prolifération cellulaire et la formation de métastases (Hou et al., 2022).

➤ Prolifération cellulaire et survie

WNK1 active la cascade de signalisation MAPK, une voie majeure de transduction du signal qui régule des fonctions essentielles telles que la prolifération, la survie cellulaire et la dissémination métastatique. Cette voie est fréquemment hyperactivée dans les cancers, et les kinases MEKK2/3 constituent des cibles en aval de WNK1. En particulier, WNK1 active MAPK via ERK5, contribuant ainsi à la régulation de la prolifération cellulaire. Le facteur de croissance épidermique (EGF), en tant que stimulus prolifératif, active ERK5 de manière dépendante de

WNK1 (Hou et al., 2022). WNK1 favorise également l'activation d'ERK5, ce qui induit une augmentation de l'expression de gènes impliqués dans la prolifération, tels que c-Myc et Cyclin D1 (Xiu et al., 2022).

De plus, les transporteurs ioniques comme NKCC1, régulés par la voie WNK1–OSR1/SPAK, augmentent l'afflux de $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$ et participent à la régulation du volume cellulaire, un mécanisme essentiel pour la survie des cellules cancéreuses (Hou et al., 2022).

➤ **Migration, invasion**

En plus de son rôle dans la prolifération et la survie cellulaire, WNK1 intervient également dans les mécanismes de migration et d'invasion tumorale. Par l'intermédiaire de l'axe WNK1-OSR1-NKCC1 ..

Une faible concentration intracellulaire de $[\text{Cl}^-]$ active la cascade WNK1-OSR1/SPAK-NKCC1, entraînant un afflux de Cl^- et d'eau au niveau du front de migration. Ce processus favorise la polymérisation de l'actine et induit la formation de protubérances via l'activation de cette voie de signalisation. En conséquence, l'adhésion des intégrines à la matrice extracellulaire ou à d'autres cellules est renforcée.

Par ailleurs, WNK1 induit une surexpression des gènes liés à la transition épithélio-mésenchymateuse (EMT), tels que, la tyrosine kinase AXL et le facteur de transcription SLUG, qui induit l'EMT, favorisant ainsi l'invasion des cellules cancéreuses du sein. SNAIL est régulé par SPAK, une autre cible de WNK1. SPAK peut interagir avec SNAIL et le phosphoryler afin de bloquer sa dégradation, favorisant ainsi l'EMT (Hou et al., 2022).

➤ **L'angiogenèse**

Le complexe endothélial WNK1-OSR1 intervient dans l'angiogenèse induite par la tumeur, laquelle assure l'apport nutritif à la tumeur, tandis que l'hypoxie due à la croissance rapide des cellules tumorales stimule la néoangiogenèse, c'est-à-dire la formation de nouveaux vaisseaux sanguins. Ainsi, WNK1 est nécessaire à l'angiogenèse, en phosphorylant et en activant SPAK pour la prolifération des cellules endothéliales, en activant OSR1 pour la chimiotaxie et l'invasion des cellules endothéliales, et en régulant également le facteur de transcription à doigt de zinc SLUG de manière indépendante de SPAK/OSR1, via l'activation des métalloprotéinases matricielles MMP2/9, de la β -caténine et de ZEB1 au cours de l'angiogenèse (Hou et al., 2022).

Il est important de noter que la voie de signalisation WNK1 contribue aux caractéristiques pathologiques des tumeurs malignes (Jung et al., 2022).

Par conséquent, une compréhension approfondie des fonctions de cette voie est nécessaire pour mettre au point des stratégies spécifiques d'inhibition de WNK1 (**Hou et al., 2022**) constituant ainsi une approche prometteuse pour prévenir le potentiel oncogène du cancer du sein triple négatif (**Fdel et al., 2025**) qui se caractérise par un profil ER/PR/HER2 négatif est considéré comme plus agressif (**Beňáčka et al., 2022**) se caractérise par des métastases à distance (**Sarhangi et al., 2022**)

Chapitre III



Docking moléculaire et approches

In silico en recherche

Anticancéreuse

1. Principe du Docking moléculaire

Le Docking moléculaire est une procédure computationnelle (Trott, O., & Olson, A. J., 2010) basée sur la structure qui permet de déterminer le mode de liaison et l'affinité entre les ligands et leurs cibles (Muhammed, M. T., & Aki-Yalcin, E, 2024)

Il est couramment utilisé pour prédire l'orientation de liaison de candidats-médicaments par rapport à des cibles protéiques. Ainsi, Le Docking moléculaire joue donc un rôle central dans le processus de conception et de découverte de médicaments

Cette approche repose sur deux composantes principales :

- **Algorithme de recherche** : doit générer un nombre optimal de configurations permettant, par une méthode computationnelle, de déterminer les modes de liaison.
- **Fonction de score** : fournit un moyen de classer le positionnement des ligands les uns par rapport aux autres. Idéalement, le score devrait correspondre directement à l'affinité de liaison du ligand pour la protéine, de sorte que les ligands ayant le meilleur score soient ceux qui se lient le mieux

Par ailleurs, le Docking moléculaire peut être classé en deux grandes méthodes :

- **Docking rigide** : le récepteur et le ligand sont maintenus fixes et le Docking est effectué.
- **Docking flexible** : dans le Docking par ajustement induit, le ligand et le récepteur sont tous deux flexibles sur le plan conformationnel. À chaque rotation, l'occupation des cellules de surface et l'énergie sont calculées ; ensuite, la pose la plus optimale est sélectionnée (Chaudhary, K. K., & Mishra, N, 2016).

2. Intérêt du Docking en recherche anticancéreuse

Le docking moléculaire est devenu un outil essentiel en oncologie pour la découverte et le développement de traitements anticancéreux. En simulant l'interaction entre de petites molécules et des protéines associées au cancer, le docking permet d'identifier des inhibiteurs potentiels capables de perturber la prolifération des cellules cancéreuses, l'angiogenèse et les métastases. Il permet aux chercheurs de cribler virtuellement de vastes bibliothèques de composés par rapport à des cibles oncogéniques clés, telles que les kinases, les récepteurs et les facteurs de transcription, afin de trouver des candidats capables de se lier spécifiquement et d'inhiber leur activité. Cette approche accélère l'identification de composés phares, qui peuvent ensuite être optimisés et développés en médicaments anticancéreux efficaces (Gautam et al., 2024).

Dans le contexte du cancer du sein triple négatif (TNBC), qui se caractérise par un profil ER/PR/HER2 négatif. L'absence d'ER et de PR supprime le contrôle hormonal de la croissance et de la différenciation et l'absence de HER2 rend le TNBC tolérant à la thérapie ciblée monoclonale (Benačka et al., 2022)

La kinase WNK1 joue un rôle important dans la progression de nombreux cancers du sein. Une meilleure compréhension des fonctions de cette voie est nécessaire pour mettre au point des stratégies spécifiques d'inhibition de WNK1 (Hou C. Y. et al., 2022).

3. Docking moléculaire et études *in silico*

Le Docking moléculaire est un processus permettant d'étudier, *in silico*, les interactions intermoléculaires entre deux molécules. Dans ce processus, la macromolécule correspond au récepteur protéique, tandis que la micromolécule est le ligand, pouvant agir comme un inhibiteur. Ainsi, le processus de Docking (Chaudhary, K. K., & Mishra, N, 2016) comprend généralement quatre étapes principales : la préparation de la protéine, la préparation du ligand, l'étude de Docking moléculaire (incluant la validation des méthodes de Docking, l'analyse à l'aide de logiciels computationnels, l'interprétation des résultats et la visualisation des structures), ainsi que l'évaluation de la « drug-likeness » et la prédiction de la toxicité (Dhaniaputri et al., 2022)

3.1. Préparation de la protéine

La première étape du Docking consiste à récupérer la structure 3D de la protéine, de préférence liée à un ligand, à partir de la base de données PDB. Il est recommandé d'utiliser des structures 3D à haute résolution ($<2 \text{ \AA}$) ou des structures liées à un ligand à haute affinité. La préparation de la protéine inclut plusieurs opérations, telles que l'ajout d'atomes d'hydrogène, l'élimination des molécules d'eau (Muhammed, M. T., & Aki-Yalcin, E, 2024)

Après la préparation de la protéine, le site actif doit être identifié. Le récepteur peut posséder plusieurs sites actifs, mais seul celui d'intérêt doit être sélectionné (Chaudhary, K. K., & Mishra, N, 2016), utilisant les coordonnées d'un ligand déjà lié à la protéine (Muhammed, M. T., & Aki-Yalcin, E, 2024)

3.2. Préparation du ligand

Les ligands peuvent être obtenus à partir de bases de données PubChem, **(Chaudhary, K. K., & Mishra, N, 2016)**. Avant leur utilisation dans le Docking, une minimisation d'énergie doit être réalisée **(Muhammed, M. T., & Aki-Yalcin, E, 2024)**.

3.3.L'étude de Docking moléculaire

Le ligand est arrimé (docké) à la protéine, **(Chaudhary, K. K., & Mishra, N, 2016)**. À l'aide d'AutoDock Vina. Cette étape est utilisée pour déterminer, prédire, visualiser et évaluer les interactions et l'affinité de liaison entre les protéines cibles (enzymes) et certains ligands, **(Dhaniaputri et al., 2022)**

La sélection de la fonction de scoring la plus appropriée dépend de la stabilité du complexe ligand-protéine. Il est difficile de choisir une fonction capable de prédire correctement le mode de liaison et le ligand potentiel. En théorie, plus l'énergie libre de liaison (ΔG) est faible, plus le complexe est stable. Les scores de Docking sont calculés par différents logiciels afin d'identifier et de classer rapidement les différentes conformations (poses) d'un ligand. **(Muhammed, M. T., & Aki-Yalcin, E, 2024)**. Le complexe ligand-protéine présentant le meilleur score est sélectionné. **(Chaudhary, K. K., & Mishra, N, 2016)**.

En outre, les positions et orientations des ligands au niveau des sites actifs des récepteurs peuvent être visualisées et analysées à l'aide du logiciel Discovery Studio 2020. Les interactions des acides aminés sont également représentées en conformation 2D et 3D **(Dhaniaputri et al., 2022)**

3.4.L'évaluation des propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques des composés

Le processus d'évaluation de la pharmacocinétique des composés est prédit sur la base du concept établi par Lipinski, connu sous le nom de « règle des cinq de Lipinski » s'ils respectent les critères suivants : le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène (HBA) ≤ 10 , le nombre de donneurs de liaisons hydrogène (HBD) ≤ 5 , le log P doit être inférieur à 5, la masse moléculaire inférieure à 500 Da, et la surface polaire totale (TPSA) ne doit pas dépasser 140 Å². Le nombre de violations de ces règles ne doit pas excéder deux.

Des outils en ligne tels que SwissADME sont utilisés pour évaluer les paramètres pharmacocinétiques in silico. Cette évaluation ADMET comprend l'étude des processus d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité des composés

La prédiction de la toxicité des composés est réalisée à l'aide des outils ProTox-II Cette analyse toxicologique fournit des informations sur le potentiel des composés à induire une carcinogénicité, une hépatotoxicité, une mutagénicité et une cytotoxicité.

Sur la base des évaluations et prédictions ADMET, certains composés peuvent être confirmés comme de bons ou de mauvais candidats médicaments (Dhaniaputri et al., 2022)

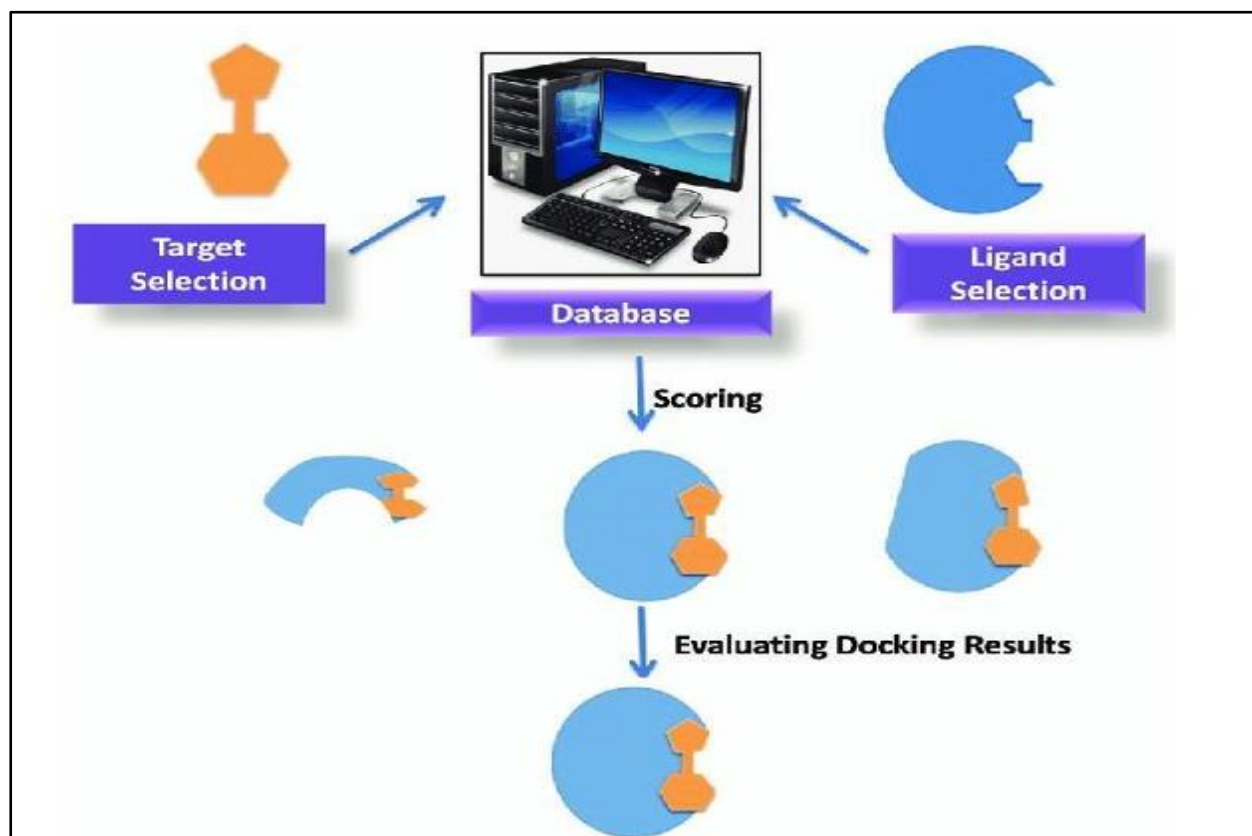


Figure 08 : Présentation générale de Docking moléculaire in silico (Dhaniaputri et al., 2022)



1. Introduction

Le Docking moléculaire est une méthode permettant de déterminer l'orientation préférentielle d'un ligand par rapport à une protéine afin de former un complexe stable, orientation qui sert à prédire l'affinité de liaison grâce à des fonctions de scoring. Les interactions issues de ce processus peuvent conduire à l'activation ou à l'inhibition de la protéine, tandis que la liaison du ligand peut induire un effet agoniste ou antagoniste. Ainsi, le Docking est largement utilisé pour prévoir le mode de liaison des candidats-médicaments avec leurs cibles protéiques, afin d'estimer leur affinité et leur activité, ce qui en fait un outil central dans la conception et la découverte de médicaments. Dans ce contexte, la découverte de nouveaux médicaments, étant une tâche complexe, repose aujourd'hui en grande partie sur des approches chimico-biologiques *in silico* (Chaudhary, K. K., & Mishra, N., 2016). Le processus de Docking moléculaire repose sur une série d'étapes successives, à savoir : la préparation de la protéine, l'identification du site actif, la préparation du ligand, le Docking moléculaire et l'analyse des résultats, selon le protocole présenté dans la figure ci-dessous.

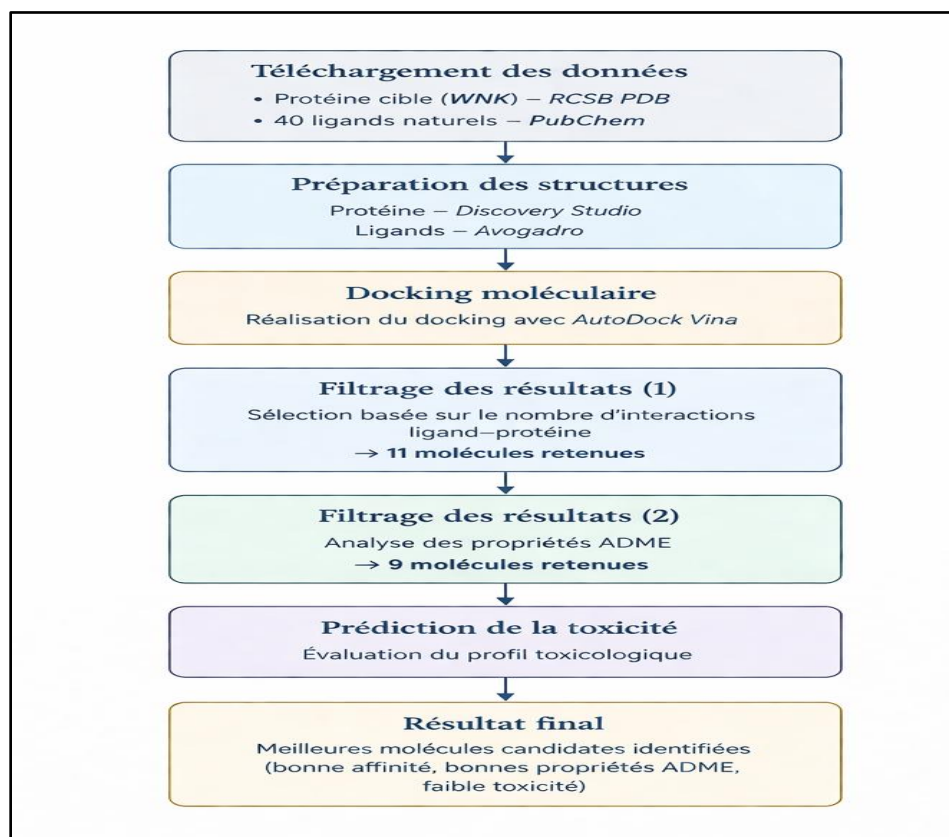


Figure 09 : Protocole de Docking

2. Matériels

2.1. Micro-ordinateur

Les simulations et les différentes étapes de cette étude ont été réalisées à l'aide de micro-ordinateurs adaptés aux exigences des logiciels de modélisation moléculaire et de Docking. Les principales caractéristiques des équipements utilisés sont présentées dans le tableau suivant.

Tableau 01 : Caractéristiques des micro-ordinateurs utilisés

Caractéristiques	Micro-ordinateur 1	Micro-ordinateur 2
Type	Portable	Portable
Modèle	Acer Aspire E1-571	Touchiba satellite L735
Mémoire RAM	4 Go	8 Go
Système d'exploitation	Windows 10 Professionnel	Windows 10 Professionnel
Type de système	Système d'exploitation 64 bits	Système d'exploitation 64 bits

2.2. Programmes (logiciels)

➤ Discovery Studio 2021 Client

Biovia Discovery Studio (BDS) est utilisé pour la visualisation des structures moléculaires et des résultats de simulation. Ce logiciel permet d'afficher des structures en 2D, 3D et de mettre en évidence les interactions spécifiques entre les protéines et les ligands, notamment les liaisons hydrogène et les interactions hydrophobes. Ces interactions déterminent la stabilité du complexe et l'affinité de liaison entre la protéine et le ligand (**Baroroh et al., 2023**).

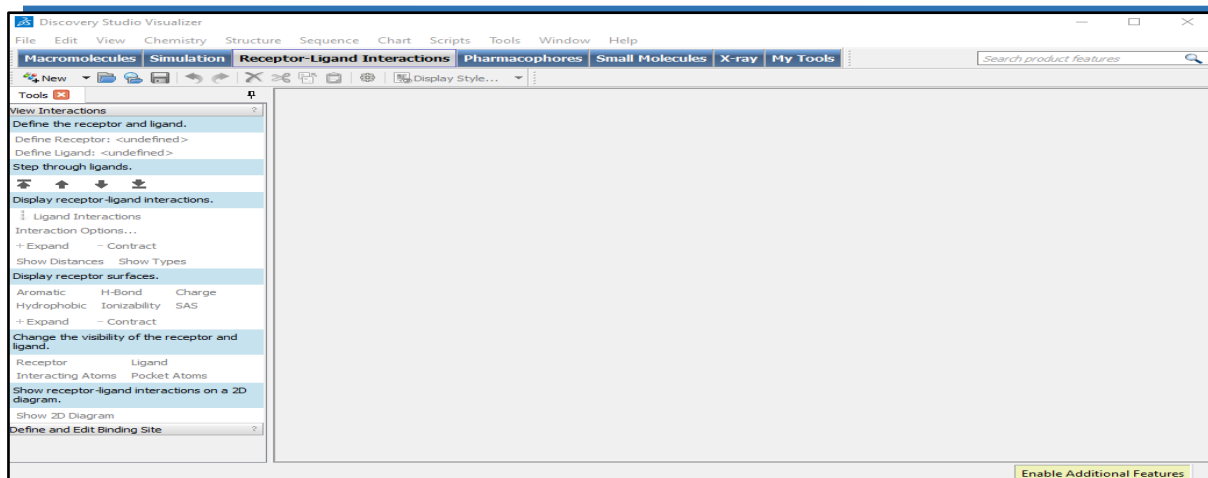


Figure 10 : Interface du logiciel Discovery Studio 2021 Client

➤ Avogadro

Avogadro est un éditeur et visualiseur de molécules avancé, conçu pour être utilisé en chimie computationnelle, en modélisation moléculaire, en bio-informatique, en science des matériaux et dans d'autres domaines connexes. Il constitue un outil pédagogique pertinent permettant aux étudiants de réaliser la visualisation moléculaire ainsi que la simulation tridimensionnelle des molécules ; l'utilisateur peut ainsi optimiser la géométrie moléculaire et observer les structures sous différents angles et perspectives. (Ryan, B., & Ryan, A, 2017)

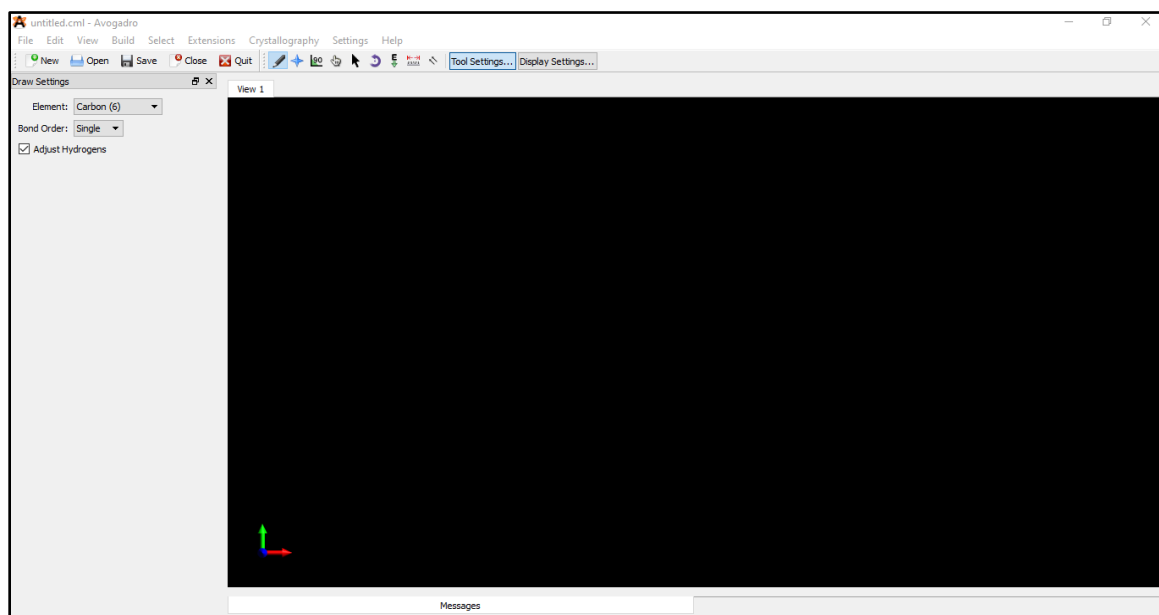


Figure 11 : Interface du logiciel Avogadro

➤ AutoDock Tools 1.5.6

AutoDock Tools est une interface graphique interactive utilisée pour la préparation de structures moléculaires et le réglage des paramètres de Docking (Forli et al., 2016) permet de créer des fichiers PDBQT à partir de fichiers PDB classiques (Pawar et al., 2023).

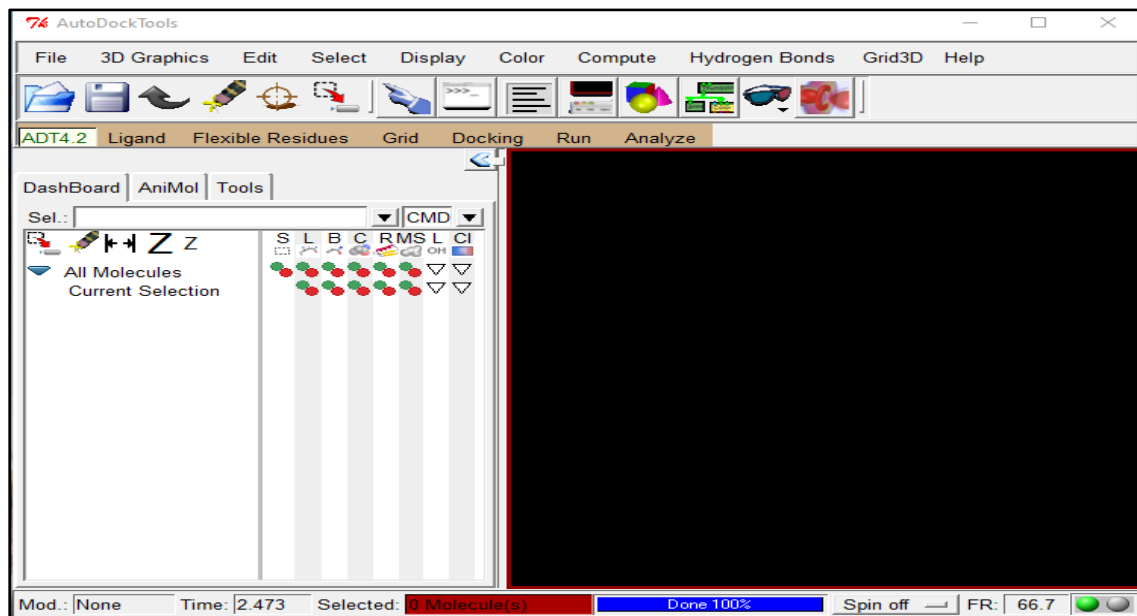


Figure 12 : Interface du logiciel AutoDock Tools1.5.6

➤ AutoDock vina

Vina a été lancé en 2009 comme une alternative plus rapide et plus précise au programme AutoDock d'origine. Vina utilise un algorithme d'optimisation globale pour prédire le mode de liaison de petites molécules à leurs protéines cibles. L'algorithme commence par des conformations aléatoires du ligand, puis explore de manière exhaustive et modifie les coordonnées afin d'affiner les énergies de liaison, ce qui permet d'identifier l'énergie minimale globale (Sarkar et al., 2024).

2.3. Banques de données et site internet

➤ RCSB

La PDB est la banque de données structurales des protéines au niveau atomique, où sont répertoriées toutes les structures tridimensionnelles (3D) des macromolécules biologiques déterminées par la communauté scientifique mondiale (protéines, acides nucléiques, glucides et lipides). L'accès à cette base de données est entièrement gratuit (Rudiño-Piñera et al., 2022).

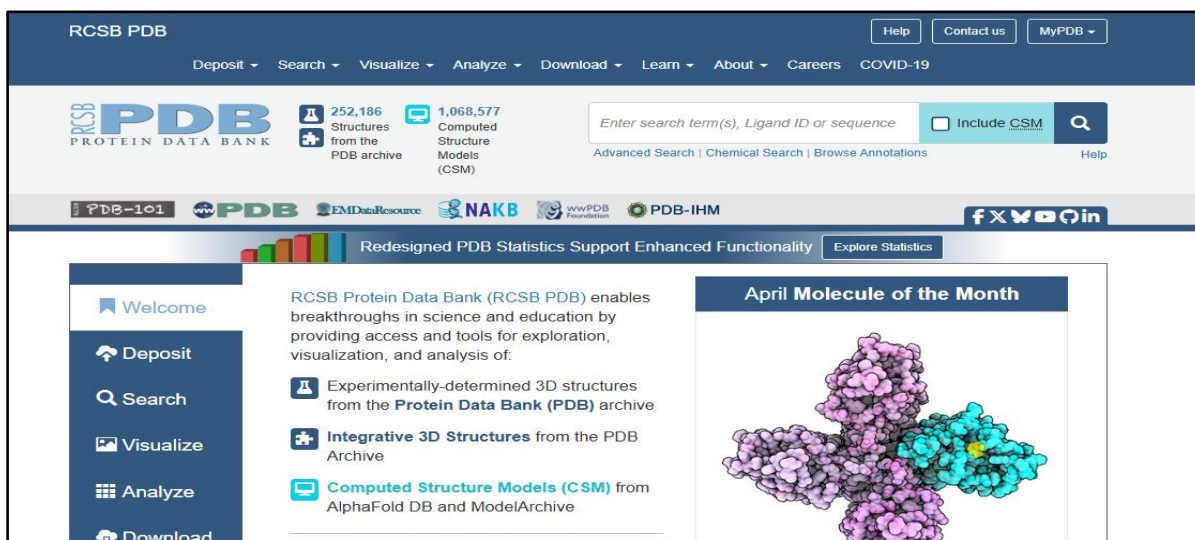


Figure 13 : Interface de la base de données RCSB PDB

➤ PubChem

PubChem est une base de données publique contenant des informations sur les substances chimiques et leurs activités biologiques. Depuis son lancement en 2004 dans le cadre des initiatives « Molecular Libraries Roadmap » des National Institutes of Health (NIH) des États-Unis, PubChem s'est rapidement imposé comme une ressource d'information chimique essentielle au service des communautés scientifiques dans de nombreux domaines tels que la chimio-informatique, la biologie chimique, la chimie médicinale et la découverte de médicaments (Kim et al., 2016).

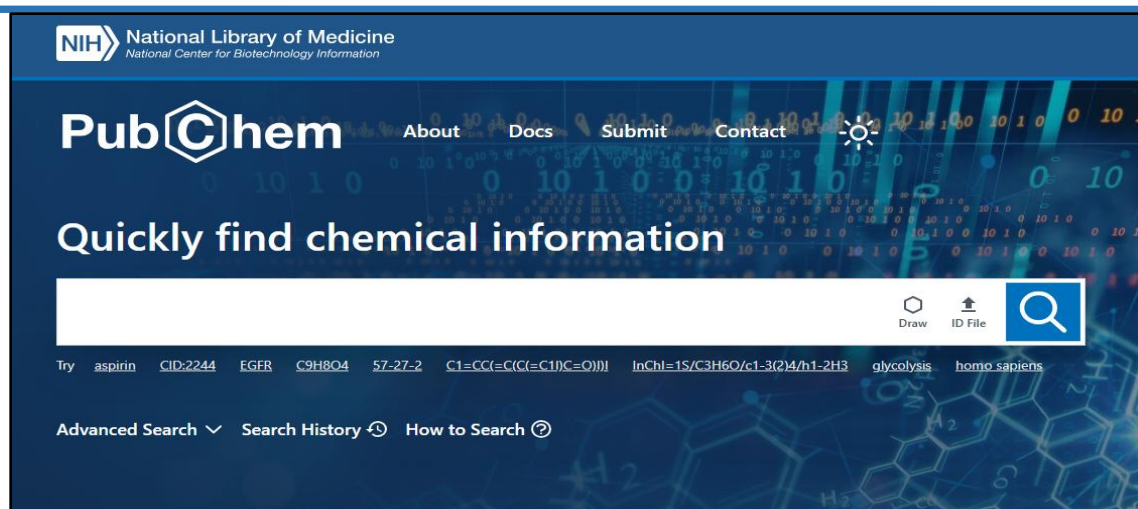


Figure 14 : Interface de la base de données PubChem

➤ SwissADME

Swiss ADME est l'un de ces sites web qui permet de calculer des descripteurs physico-chimiques ainsi que de prédire les paramètres ADME, les propriétés pharmacocinétiques, le caractère pharmacologique et la compatibilité avec la chimie médicinale d'une ou de plusieurs petites molécules, afin de soutenir la découverte de médicaments (Mahanthesh et al., 2020).

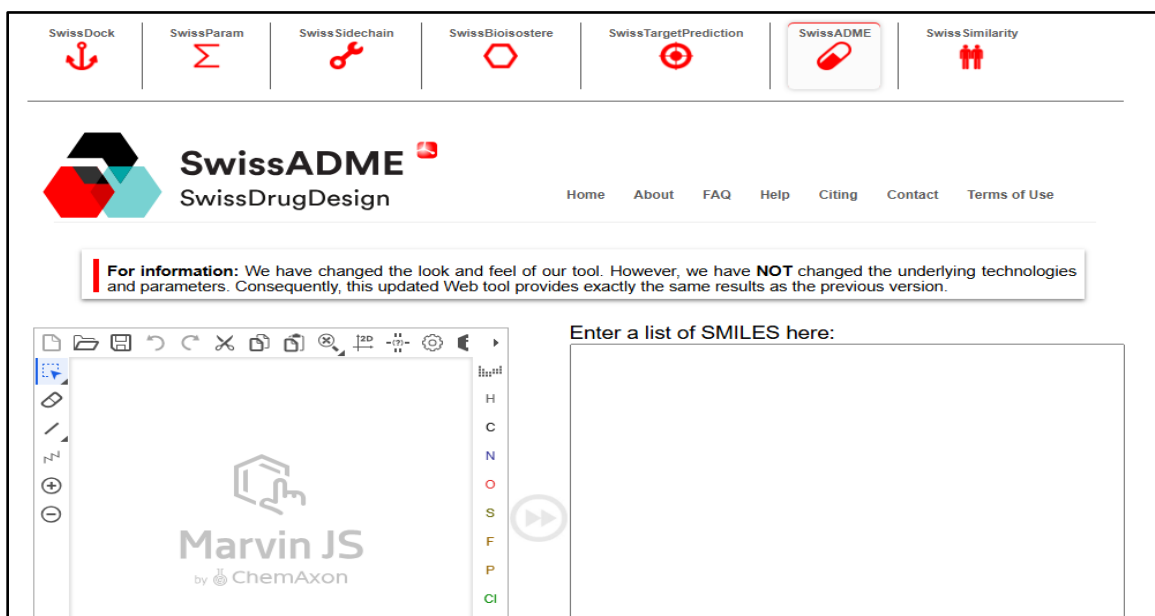


Figure 15 : Interface de la plateforme SwissADME

➤ ProTox 3.0

Le serveur web ProTox intègre des données sur les substances chimiques, les cibles moléculaires, le métabolisme et les voies d'exposition. Comme mentionné, une nouveauté du serveur web ProTox réside, de manière générale, dans le fait que le schéma de prédiction est classé en différents niveaux de toxicité, tels que la toxicité orale, la toxicité organique (hépatotoxicité, neurotoxicité, toxicité respiratoire, cardiotoxicité et néphrotoxicité), les paramètres toxicologiques (tels que la mutagénicité, la cancérogénicité, la cytotoxicité, l'immunotoxicité, la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique) est un serveur web de prédiction computationnelle de la toxicité accessible gratuitement, permettant de prédire la plupart des paramètres toxicologiques à ce jour (Banerjee et al., 2024).

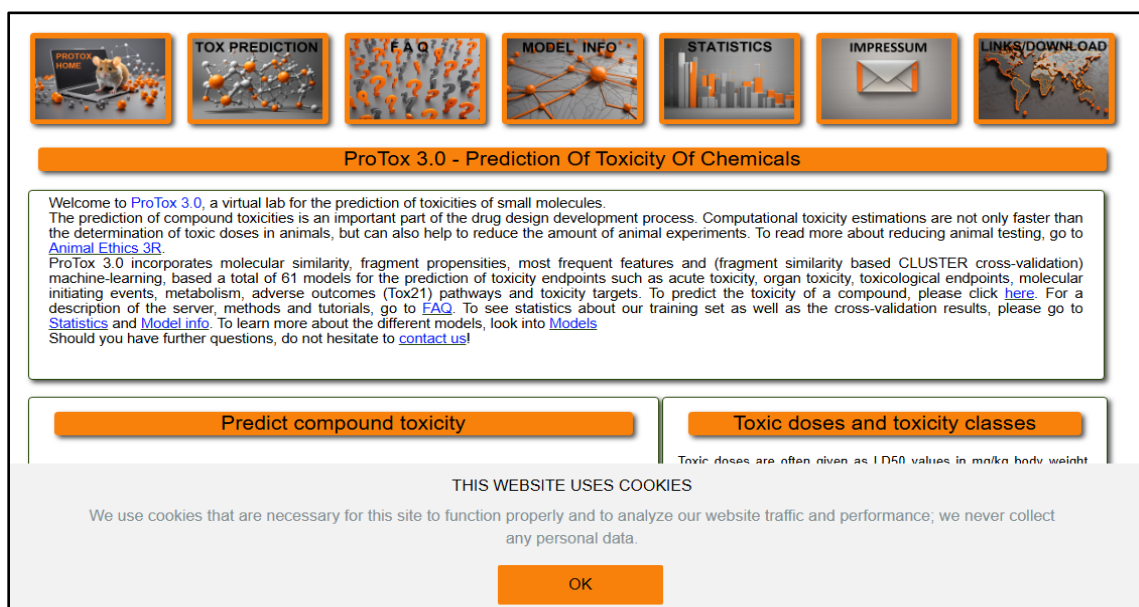


Figure 16 : Interface de la plateforme ProTox-III

3. Méthode

3.1. Choix et préparation de la cible (récepteur WNK)

Le choix de cette cible repose sur ses caractéristiques structurales spécifiques, notamment la position atypique de la lysine catalytique, qui permet le développement d'inhibiteurs sélectifs **(Zhang et al., 2016)** De plus, la voie WNK-OSR1 joue un rôle important dans la progression tumorale, en particulier dans le cancer du sein triple négatif, où elle est constitutivement active et associée à un mauvais pronostic. L'inhibition de cette voie réduit la migration et l'invasion cellulaires, ce qui en fait une cible thérapeutique prometteuse **(Fdel et al., 2025)**.

- Nous avons préparé le récepteur WNK à partir de la structure 3D récupérée depuis la base de données RCSB PDB (code PDB : 5DRB). La protéine a ensuite été préparée à l'aide des logiciels Discovery Studio et AutoDock Tools, afin d'identifier le site actif, supprimer les molécules inutiles et convertir la structure au format PDBQT pour les simulations de docking moléculaire avec AutoDock Vina

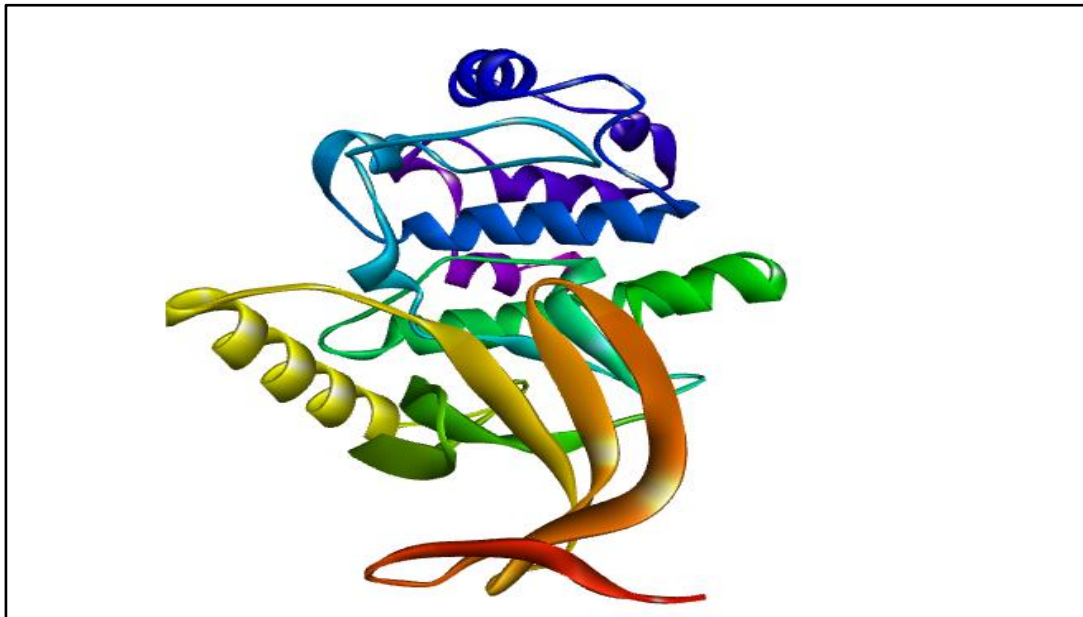


Figure 17 : la structure 3D de protéine WNK

3.2.Choix et préparation des ligands

Le choix des ligands sélectionnés dans cette étude s'est appuyé sur des données issues de la littérature scientifique mettant en évidence leurs propriétés anticancéreuses potentielles, ainsi que sur leur usage traditionnel en phytothérapie, notamment à travers les plantes médicinales employées dans la prise en charge du cancer (**Chabosseau, 2013**); (**Chen et al., 2023**) Plusieurs composés naturels, appartenant principalement aux flavonoïdes tels que l'isorhamnétine, le kaempférol et la quercétine (**Chen et al., 2023**), aux polyphénols tels que le resvératrol, la curcumine et l'épigallocatechine gallate, ainsi qu'à certains acides phénoliques comme l'acide caféique (**Ahmed et al., 2025**), ont démontré des effets biologiques significatifs contre différents types de cancers, en particulier le cancer du sein. Sur cette base, nous avons établi une liste de 40 ligands d'origine naturelle (tableau 02)

- Les structures chimiques des ligands ont été téléchargées depuis la base de données PubChem, puis optimisées à l'aide du logiciel Avogadro avant d'être préparées avec AutoDock Tools et converties au format PDBQT pour les simulations de docking moléculaire.

Tableau 02 : les 40 ligands et leur sources naturelle

N°	Molécule	Source naturelle	N°	Molécule	Source naturelle
1	Quercétine	Plantes et légumes	21	Acide carnosique	Romarin
2	Résvératrol	Raisin, baies	22	Parthénolide	Tanacetum parthenium
3	Curcumine	Curcuma	23	Honokiol	Magnolia officinalis
4	Épigallocatechine gallate	Thé vert	24	Magnolol	Magnolia officinalis
5	Thymoquinone	Nigella sativa	25	Ptérostilbène	Raisin, baies
6	6-Gingérol	Gingembre	26	Sulforaphane	Brocoli
7	Acide bétulinique	Écorce d'arbres	27	Allicine	Ail
8	Berberine	Plantes du genre Berberis	28	Myricétine	Baies, thé vert
9	Génistéine	Soja	29	Fisétine	Fraise
10	Kaempférol	Chou, thé vert	30	Silybine	Chardon-Marie
11	Lutéoline	Poivron, céleri	31	Hédéragénine	Hedera helix

Partie pratique

12	Apigénine	Persil, céleri	32	Gallocatechine	Thé vert
13	Hespéridine	Agrumes	33	Épicatéchine	Chocolat noir
14	Narigénine	Pamplemousse	34	Rhein	Rhubarbe
15	Acide caféique	Café, pomme	35	Curcumol	Curcuma
16	Acide gallique	Baies, vin	36	Tanshinone IIA	Salvia miltiorrhiza
17	Acide ellagique	Baies, grenade	37	Cryptotanshinone	Salvia miltiorrhiza
18	Licochalcone A	Réglisse	38	Baicaline	Scutellaria baicalensis
19	Withaférine A	Withania somnifera	39	Baicaléine	Scutellaria baicalensis
20	Carnosol	Romarin	40	Isorhamnétine	Pomme, baies

3.3.Docking moléculaire par Autodock Vina

Le docking moléculaire a été réalisé à l'aide du logiciel AutoDock Vina en utilisant les structures du récepteur et des ligands préparées au format PDBQT. Cette simulation a permis d'évaluer l'affinité de liaison des ligands avec le récepteur et de générer différents modes de liaison au niveau du site actif. Les résultats ont été exprimés en énergie de liaison (kcal/mol).

3.4.Analyse des interactions récepteur–ligand

Nous avons analysé les interactions récepteur–ligand à partir des meilleures poses obtenues par docking moléculaire à l'aide du logiciel Discovery Studio, afin d'identifier les interactions impliquées dans la fixation des ligands au site actif de la protéine WNK.

Pour chaque ligand, la pose présentant la meilleure affinité a été sélectionnée pour l'analyse des interactions(Figure 18). Un redocking du ligand co-cristallisé a également été réalisé afin de valider le site actif et de comparer son mode de liaison avec celui des autres ligands étudiés

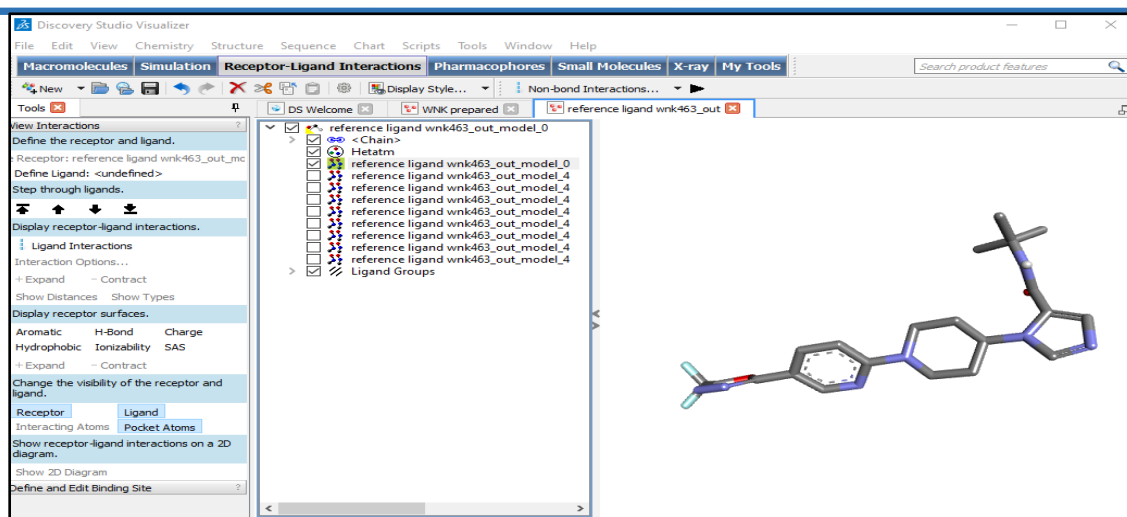


Figure 18 : les meilleures poses issues du Docking moléculaire (WNK463)

- Les ligands ont ensuite été filtrés selon leurs interactions avec les résidus du site actif. Les résultats ont été présentés sous forme de tableaux récapitulatifs (Figure 19), ainsi que de représentations 2D et 3D des complexes récepteur–ligand.

Name	Visible	Color	Parent	Distance	Category	Types	From	From Chemistry	To	To Chemistry
1 A:THR30...	☒ Yes	Green	Ligand No...	2,38548	Hydrogen Bo...	Conventi...	A:THR30...	H-Donor	:UNL...	H-Acceptor
2 A:ASP36...	☒ Yes	Green	Ligand No...	2,38964	Hydrogen Bo...	Conventi...	A:ASP36...	H-Donor;Halogen Ac...	:UNL...	H-Acceptor;Halo...
3 A:ASP36...	☒ Yes	Green	Ligand No...	2,76388	Hydrogen Bo...	Conventi...	A:ASP36...	H-Donor	:UNL...	H-Acceptor
4 A:ASP36...	☒ Yes	Cyan	Ligand No...	3,27019	Halogen	Halogen ...	A:ASP36...	Halogen Acceptor	:UNL...	Halogen
5 A:LEU369...	☒ Yes	Cyan	Ligand No...	3,06926	Halogen	Halogen ...	A:LEU36...	Halogen Acceptor	:UNL...	Halogen
6 A:ASP36...	☒ Yes	Orange	Ligand No...	3,78659	Electrostatic	Pi-Anion	A:ASP36...	Negative	:UNL...	Pi-Orbitals
7 A:THR30...	☒ Yes	Purple	Ligand No...	3,60876	Hydrophobic	Pi-Sigma	A:THR30...	C-H	:UNL...	Pi-Orbitals
8 A:CYS25...	☒ Yes	Yellow	Ligand No...	4,79636	Other	Pi-Sulfur	A:CYS25...	Sulfur	:UNL...	Pi-Orbitals
9 A:VAL235...	☒ Yes	Pink	Ligand No...	4,96639	Hydrophobic	Alkyl	A:VAL235	Alkyl	:UNL...	Alkyl
10 A:CYS25...	☒ Yes	Pink	Ligand No...	4,52628	Hydrophobic	Pi-Alkyl	A:CYS250	Pi-Orbitals	:UNL...	Alkyl
11 A:LEU299...	☒ Yes	Pink	Ligand No...	4,91139	Hydrophobic	Pi-Alkyl	A:LEU299	Pi-Orbitals	:UNL...	Alkyl
12 A:PHE35...	☒ Yes	Pink	Ligand No...	4,97491	Hydrophobic	Pi-Alkyl	A:PHE356	Pi-Orbitals	:UNL...	Alkyl
13 A:LEU371...	☒ Yes	Pink	Ligand No...	5,36869	Hydrophobic	Pi-Alkyl	A:LEU371	Pi-Orbitals	:UNL...	Alkyl
14 :UNL1 - A...	☒ Yes	Pink	Ligand No...	4,68569	Hydrophobic	Pi-Alkyl	:UNL1	Pi-Orbitals	A:VA...	Alkyl
15 :UNL1 - A...	☒ Yes	Pink	Ligand No...	4,49447	Hydrophobic	Pi-Alkyl	:UNL1	Pi-Orbitals	A:CY...	Alkyl

Figure 19 : les interactions de la molécule de référence avec le site actif

3.5. Prédiction des propriétés ADME

Les propriétés pharmacocinétiques des ligands ont été évaluées à l'aide du serveur en ligne SwissADME afin d'estimer leur biodisponibilité par voie orale. Les paramètres étudiés incluent

la règle de Lipinski, la perméabilité intestinale ainsi que la biodisponibilité. Sur la base de ces critères, un filtrage des composés a été réalisé afin de sélectionner uniquement les molécules présentant un profil ADME favorable et compatible avec une bonne absorption et une administration orale efficace.

3.6.Prédiction de la toxicité

Nous avons prédit la toxicité des ligands à l'aide du serveur en ligne ProTox-III afin d'évaluer leur sécurité potentielle. Les paramètres analysés incluent la DL50, la classe de toxicité, la toxicité sur les organes (notamment la neurotoxicité et la cardiotoxicité), ainsi que différents endpoints toxicologiques tels que la perméabilité à la barrière hémato-encéphalique (BBB). Cette analyse nous a permis d'identifier les composés présentant un profil toxicologique acceptable.

Résultats et discussion

4. Résultats

4.1. Résultats du docking

Les résultats montrent que plusieurs ligands présentent des énergies de liaison plus faibles (plus négatives) que celle du ligand de référence WNK463 (-8,9 kcal/mol). Les meilleures affinités ont été observées pour l'Hespéridine et la Narigénine (-10,3 kcal/mol), suivies de l'Honokiol (-9,9 kcal/mol), indiquant un fort potentiel inhibiteur. Les résultats de cette analyse sont présentés dans le tableau 03

Tableau03 : Score et concentration inhibitrice de chaque ligand

N°	Molécule	Score
/	WNK463	-8.9
1	Quercétine	-9.5
2	Résvératrol	-8.2
3	Curcumine	-9
4	Épigallocatechine gallate	-9.4
5	Thymoquinone	-6.6
6	6-Gingérol	-7.1
7	Acide bétulinique	-7.7
8	Berbérine	-9.7
9	Génistéine	-9.3
10	Kaempférol	-9.1
11	Lutéoline	-9.5
12	Apigénine	-9.4
13	Hespéridine	-10.3
14	Narigénine	-10.3
15	Acide caféique	-7.3
16	Acide gallique	-6.1
17	Acide ellagique	-9.3
18	Licochalcone A	-8.8
19	Withaferine A	-9.1
20	Carnosol	-9.6
21	Acide carnosique	-8.1
22	Parthénolide	-7.2

23	Honokiol	-9.9
24	Magnolol	-8.6
25	Ptérostilbène	-8.3
26	Sulforaphane	-4.0
27	Allicine	-4.6
28	Myricétine	-9.1
29	Fiséatine	-9.8
30	Silybine	-9.8
31	Hédéragénine	-7.1
32	Gallocatéchine	-9.0
33	Épicatéchine	-8.9
34	Rhein	-8.9
35	Curcumol	-6.5
36	Tanshinone IIA	-9.1
37	Cryptotanshinone	-9.2
38	Baicaline	-9.5
39	Baicaléine	-9.5
40	Isorhamnétine	-9.5

4.2.Résultats de filtrage selon les interactions

Sur la base des résultats obtenus, une sélection des ligands les plus prometteurs a été réalisée en tenant compte de leurs énergies de liaison ainsi que de leur capacité à établir des interactions significatives avec les résidus du site actif. Un seuil minimal d'interactions (≥ 9 résidus) a été appliqué afin de retenir les ligands capables de reproduire un mode de liaison similaire à celui de la molécule de référence. Les ligands retenus présentent une affinité supérieure ou comparable à celle de la molécule de référence WNK463, ainsi qu'un nombre élevé d'interactions moléculaires. Cette sélection a permis de réduire le nombre de ligands de 40 à 11 composés les plus prometteurs, regroupés dans le tableau 04.

Tableau04: les ligands les plus pertinents

N°	Molécule	Score
/	WNK463	-8.9

1	Quercétine	-9.5
8	Berbérine	-9.7
9	Génistéine	-9.3
10	Kaempférol	-9.1
11	Lutéoline	-9.5
12	Apigénine	-9.4
13	Hespéridine	-10.3
23	Honokiol	-9.9
28	Myricétine	-9.1
39	Baicaléine	-9.5
40	Isorhamnétine	-9.5

4.3. Etude d'interactions récepteur-ligands

Afin de mieux comprendre le mode de liaison des ligands sélectionnés, une analyse détaillée des interactions moléculaires a été réalisée. Cette analyse permet d'identifier les types d'interactions établies entre les ligands et les résidus d'acides aminés du site actif de la protéine WNK1 (PDB : 5DRB). L'analyse des interactions révèle que les ligands sélectionnés établissent plusieurs types d'interactions avec les résidus clés du site actif, notamment ASP368, THR301 et CYS250. Les liaisons hydrogène et les interactions hydrophobes dominent, contribuant à la stabilité des complexes formés. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 05.

Tableau 03: Analyse des interactions moléculaires entre les ligands les plus prometteurs et le site actif du récepteur.

Protéine	Molécule	Donneur	Accepteur	Catégorie	Types d'interaction	Distance
WNK1 (5DRB)	WNK463	THR308	O	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	2,38
		ASP368	F	Hydrogen Bond;Halogen	Conventional Hydrogen Bond;Halogen (Fluorine)	2,38
		ASP368	O	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	2,76
		ASP368	F	Halogen	Halogen (Fluorine)	3,27
		LEU369	F	Halogen	Halogen (Fluorine)	3,06
		ASP368	Ligand	Electrostatic	Pi-Anion	3,78
		THR301	Ligand	Hydrophobic	Pi-Sigma	3,60
		CYS250	Ligand	Other	Pi-Sulfur	4,79
		VAL235	Ligand	Hydrophobic	Alkyl	4,96
		CYS250	Ligand	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4,52
		LEU299	Ligand	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4,91
		PHE356	Ligand	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4,97
		LEU371	Ligand	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,36
		Ligand	VAL235	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4,68
		Ligand	CYS250	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4,49
WNK1 (5DRB)	Quercétine	LYS233	O	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	3,01
		Ligand	GLU302	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	2,94
		ASP368	Ligand	Electrostatic	Pi-Anion	4,25
		THR301	Ligand	Hydrophobic	Pi-Sigma	3,43
		CYS250	Ligand	Other	Pi-Sulfur	3,75
		CYS250	Ligand	Other	Pi-Sulfur	5,97
		Ligand	VAL235	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,19
		Ligand	VAL235	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4,50
		Ligand	ALA248	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4,29
		Ligand	CYS250	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,15
		Ligand	LEU299	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4,99
		Ligand	LEU371	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,17

WNK1 (5DRB)	Berbéline	ASP368	Ligand	Electrostatic	Pi-Anion	3,43
		C	PHE356	Hydrophobic	Pi-Sigma	3,79
		CYS250	Ligand	Other	Pi-Sulfur	4,76
		LEU369	Ligand	Other	Pi-Lone Pair	2,95
		PHE283	Ligand	Hydrophobic	Pi-Pi Stacked	3,82
		PHE356	Ligand	Hydrophobic	Pi-Pi Stacked	5,94
		ALA269	Ligand	Hydrophobic	Alkyl	5,04
		Ligand	LEU272	Hydrophobic	Alkyl	4,96
		Ligand	LEU299	Hydrophobic	Alkyl	5,28
		Ligand	LEU371	Hydrophobic	Alkyl	5,31
		PHE283	Ligand	Hydrophobic	Pi-Alkyl	3,82
		Ligand	LEU272	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,47
		Ligand	LEU299	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,24
		Ligand	LEU371	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,16
		Ligand	CYS250	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4,39
WNK1 (5DRB)	Génistéine	Ligand	CYS250	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4,87
		Ligand	LEU299	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4,92
		Ligand	LEU299	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,33
		Ligand	LEU371	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,32
		Ligand	LEU371	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,16
		Ligand	VAL235	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4,68
		H	O	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	2,40
		ASP368	O	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	2,10
		ASP368	Ligand	Electrostatic	Pi-Anion	3,94
		CYS250	Ligand	Other	Pi-Sulfur	4,08
		CYS250	Ligand	Other	Pi-Sulfur	5,22
		LEU369	O	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	2,85
		PHE283	Ligand	Hydrophobic	Pi-Pi Stacked	5,08
		THR301	Ligand	Hydrophobic	Pi-Sigma	3,43
		THR301	Ligand	Hydrophobic	Pi-Sigma	3,97

WINK1 (5DRB)	Kaempférol	MET304	O	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	1,78
		ASP368	Ligand	Electrostatic	Pi-Anion	3,73
		ASP368	Ligand	Hydrogen Bond	Pi-Donor Hydrogen Bond	3,05
		VAL235	Ligand	Hydrophobic	Pi-Sigma	3,92
		THR301	Ligand	Hydrophobic	Pi-Sigma	3,42
		CYS250	Ligand	Other	Pi-Sulfur	4,14
		CYS250	Ligand	Other	Pi-Sulfur	5,57
		Ligand	VAL235	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4,68
		Ligand	ALA248	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,41
		Ligand	ALA248	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4,52
		Ligand	CYS250	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,17
		Ligand	LEU299	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,48
WINK1 (5DRB)	Lutéoline	ASP368	O	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	2,31
		Ligand	LEU369	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	2,67
		Ligand	O	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	2,03
		ASP368	Ligand	Electrostatic	Pi-Anion	4,44
		ASP368	Ligand	Electrostatic	Pi-Anion	3,76
		PHE283	Ligand	Hydrophobic	Pi-Sigma	3,86
		THR301	Ligand	Hydrophobic	Pi-Sigma	3,46
		CYS250	Ligand	Other	Pi-Sulfur	3,96
		PHE283	Ligand	Hydrophobic	Pi-Pi Stacked	5,15
		PHE356	Ligand	Hydrophobic	Pi-Pi Stacked	5,32
		Ligand	LEU299	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,37
		Ligand	LEU371	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,34
		Ligand	VAL281	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,34
		Ligand	LEU369	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,39

WNK1 (5DRB)	Apigénine	ASP368	O	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	2,37
		ASP368	Ligand	Electrostatic	Pi-Anion	3,37
		THR301	Ligand	Hydrophobic	Pi-Sigma	3,71
		CYS250	Ligand	Other	Pi-Sulfur	4,84
		PHE283	Ligand	Hydrophobic	Pi-Pi Stacked	4,87
		PHE356	Ligand	Hydrophobic	Pi-Pi Stacked	5,55
		Ligand	LEU299	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,34
		Ligand	LEU371	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,19
		Ligand	LEU369	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,11
		Ligand	CYS250	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4,53
WNK1 (5DRB)	Hespéridine	LYS233	O	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	2,04
		MET304	O	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	1,96
		MET304	O	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	2,62
		H	ASP368	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	1,69
		H	THR311	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	2,21
		H	ILE227:O	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	2,30
		ASP368	Ligand	Electrostatic	Pi-Anion	3,32
		ASP368	Ligand	Hydrogen Bond	Pi-Donor Hydrogen Bond	3,27
		VAL235	Ligand	Hydrophobic	Pi-Sigma	3,77
		THR301	Ligand	Hydrophobic	Pi-Sigma	3,85
		CYS250	Ligand	Other	Pi-Sulfur	5,10
		C	LEU299	Hydrophobic	Alkyl	3,77
		C	LEU371	Hydrophobic	Alkyl	4,59
		PHE283	C	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,04
		Ligand	ILE227	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4,98
		Ligand	ALA248	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,34
		Ligand	CYS250	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4,73

WNK1 (5DRB)	Honokiol	ASP368	Ligand	Electrostatic	Pi-Anion	3,52
		THR301	Ligand	Hydrophobic	Pi-Sigma	3,71
		CYS250	Ligand	Other	Pi-Sulfur	4,96
		PHE283	Ligand	Hydrophobic	Pi-Pi Stacked	4,16
		ALA269	C	Hydrophobic	Alkyl	3,81
		C	VAL281	Hydrophobic	Alkyl	3,86
		C	MET304	Hydrophobic	Alkyl	4,55
		C	LEU272	Hydrophobic	Alkyl	4,72
		PHE265	C	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4,13
		PHE356	C	Hydrophobic	Pi-Alkyl	3,66
		Ligand	LEU299	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,35
		Ligand	LEU371	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,18
		Ligand	CYS250	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4,72
		Ligand	LEU299	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,23
		Ligand	LEU371	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,42
WNK1 (5DRB)	Myricétine	H	LEU369	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	2,17
		H	ASP368	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	1,79
		ASP368	Ligand	Electrostatic	Pi-Anion	4,20
		THR301	Ligand	Hydrophobic	Pi-Sigma	3,43
		CYS250	Ligand	Other	Pi-Sulfur	3,85
		PHE356	Ligand	Hydrophobic	Pi-Pi Stacked	5,25
		PHE356	Ligand	Hydrophobic	Pi-Pi Stacked	4,50
		Ligand	VAL235	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,29
		Ligand	VAL235	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4,52
		Ligand	ALA248	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4,36
		Ligand	CYS250	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,23
		Ligand	VAL281	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,41
		Ligand	LEU371	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,44

WNK1 (5DRB)	Baicaléine	ASP368	O	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	2,28
		H	O	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	1,79
		H	LEU369	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	2,91
		ASP368	Ligand	Electrostatic	Pi-Anion	4,35
		ASP368	Ligand	Electrostatic	Pi-Anion	3,76
		PHE283	Ligand	Hydrophobic	Pi-Sigma	3,92
		THR301	Ligand	Hydrophobic	Pi-Sigma	3,45
		CYS250	Ligand	Other	Pi-Sulfur	4,01
		PHE283	Ligand	Hydrophobic	Pi-Pi Stacked	5,22
		PHE356	Ligand	Hydrophobic	Pi-Pi Stacked	5,25
		Ligand	LEU299	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,39
		Ligand	LEU371	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,36
		Ligand	VAL281	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,25
		Ligand	LEU369	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,47
WNK1 (5DRB)	Isorhamnétine	H	LEU369	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	2,49
		H	ASP368	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	2,18
		H	GLU302	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	2,47
		C	VAL281	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	3,55
		THR301	Ligand	Hydrophobic	Pi-Sigma	3,55
		CYS250	Ligand	Other	Pi-Sulfur	3,71
		CYS250	Ligand	Other	Pi-Sulfur	5,53
		C	VAL281	Hydrophobic	Alkyl	3,87
		C	LEU369	Hydrophobic	Alkyl	5,44
		Ligand	VAL235	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,46
		Ligand	VAL235	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4,71
		Ligand	ALA248	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4,27
		Ligand	CYS250	Hydrophobic	Pi-Alkyl	5,01
		Ligand	LEU299	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4,80
		Ligand	LEU371	Hydrophobic	Pi-Alkyl	4,99

4.4. Les interactions 3D entre les ligands sélectionnés et le site actif du récepteur

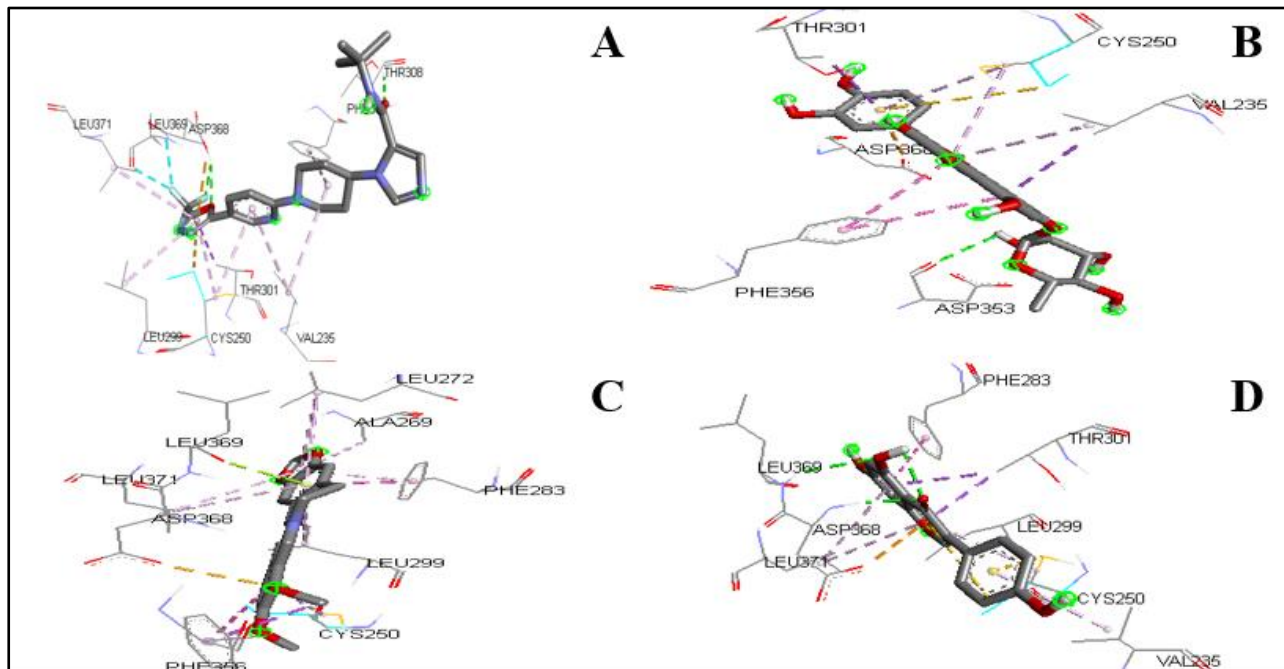


Figure 20 : Les interactions 3D des ligands dans le site actif **A** : WNK463, **B** : Quercétine, **C** : Berbérine, **D** : Génistéine

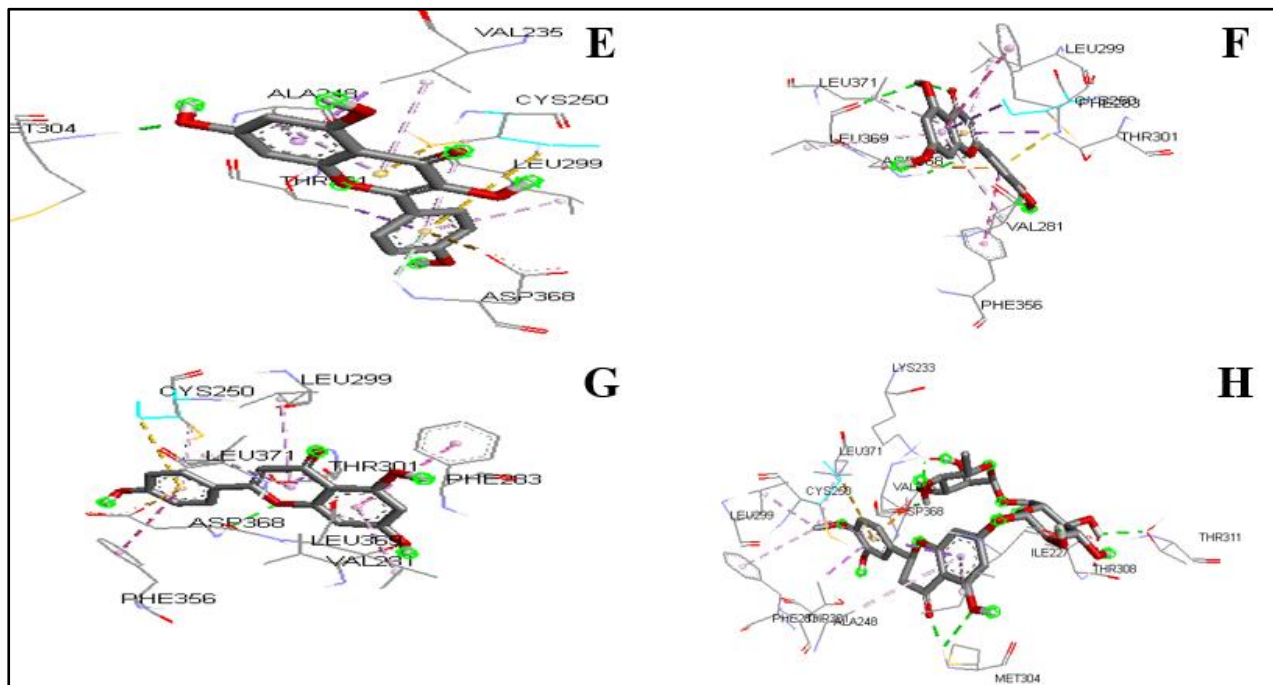


Figure 21 : Les interactions 3D des ligands dans le site actif **E** : Kaempférol, **F** : Lutéoline, **G** : Apigénine, **H** : Hespéridine

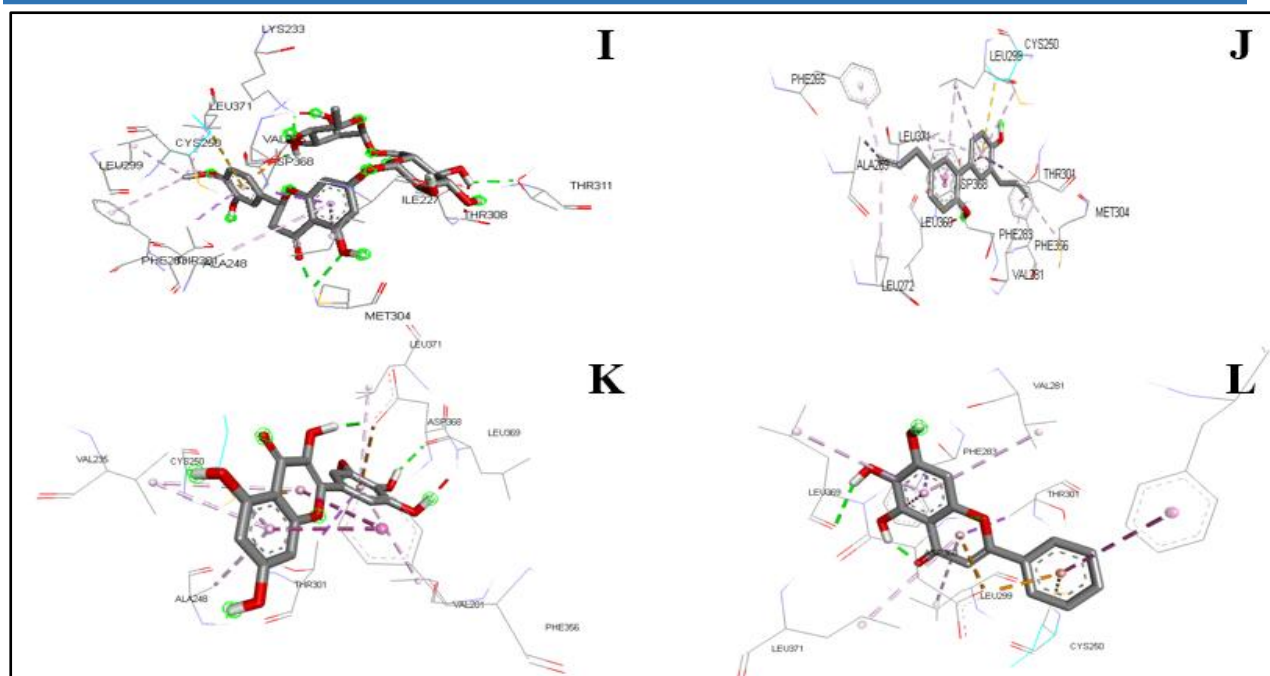


Figure 22 : Les interactions 3D des ligands dans le site actif **I** : Honokiol, **J** : Myricétine, **K** : Baicaléine, **L** : Isorhamnétine.

4.5. Les interactions 2D entre les ligands sélectionnés et le site actif du récepteur

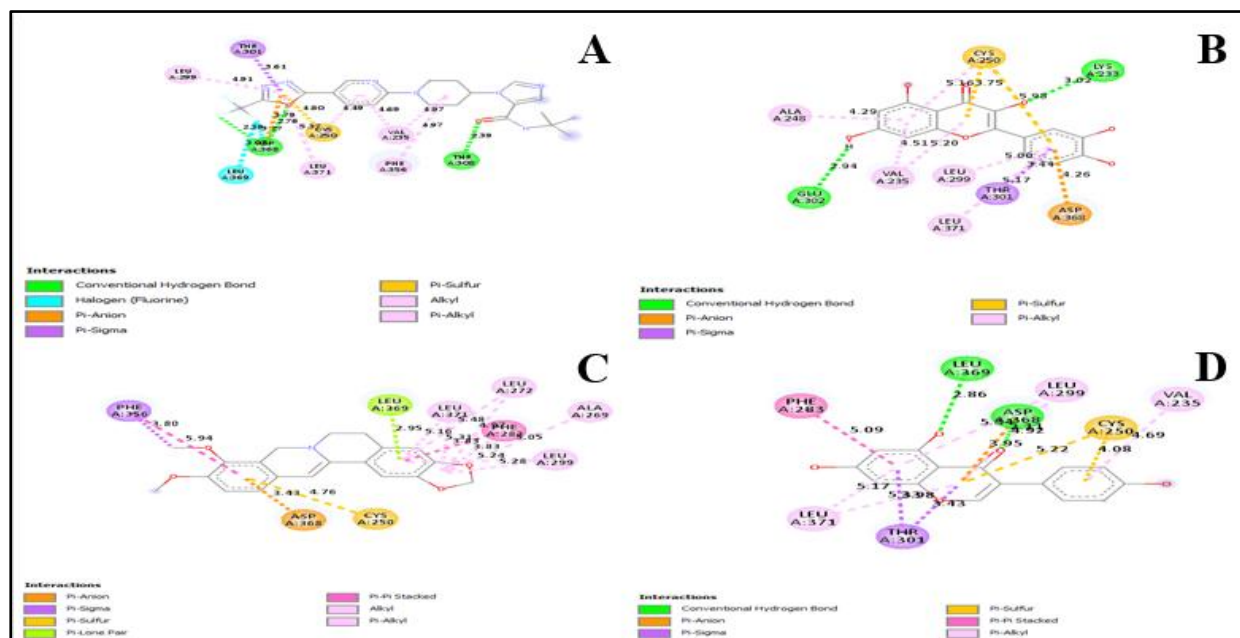


Figure 23 : Les interactions 2D des ligands dans le site actif **A** : WNK463, **B** : Quercétine, **C** : Berbérine, **D** : Génistéine.

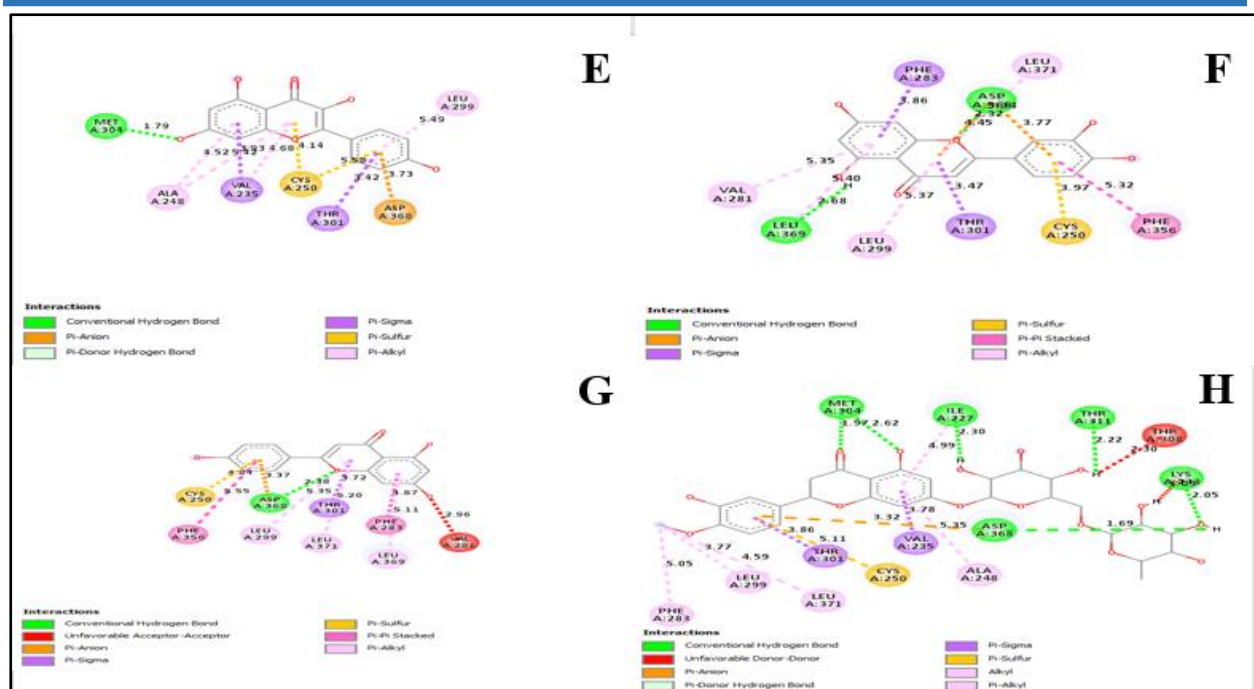


Figure 24 : Les interactions 2D des ligands dans le site actif **E** : Kaempférol, **F** : Lutéoline, **G** : Apigénine, **H** : Hespéridine.

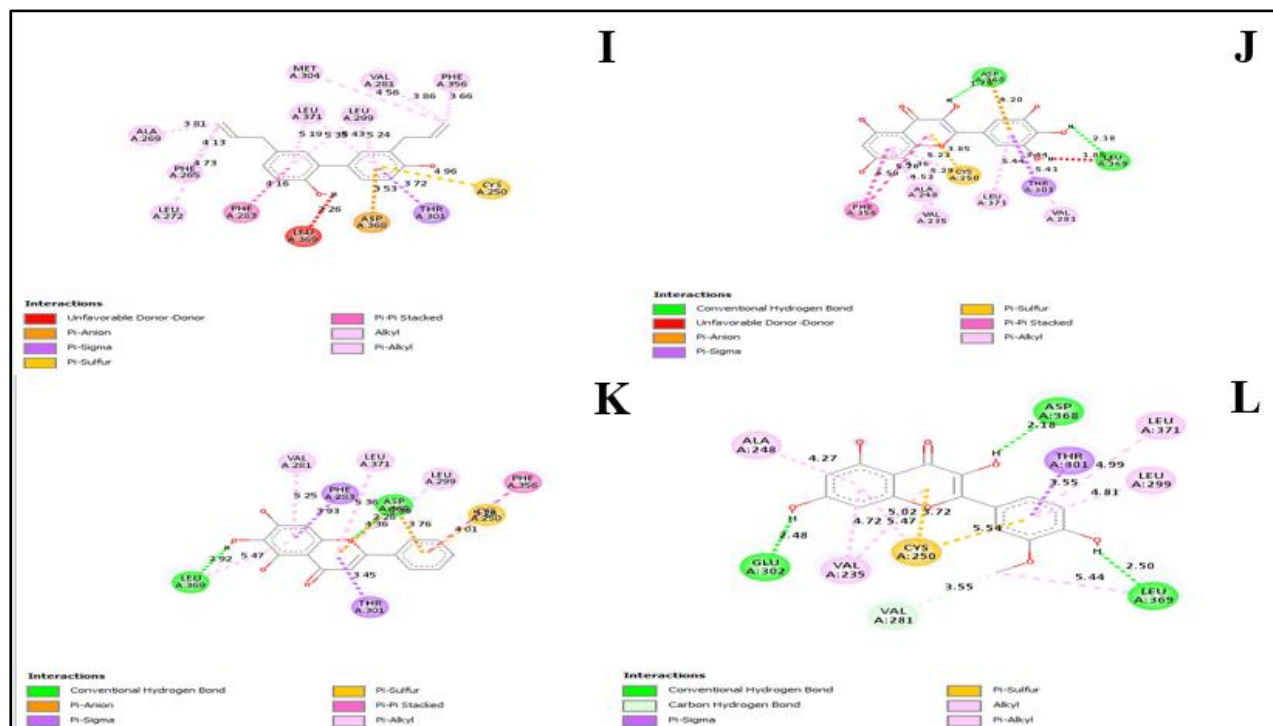


Figure 25 : Les interactions 2D des ligands dans le site actif **I** : Honokiol, **J** : Myricétine, **K** : Baicaléine, **L** : Isorhamnétine

4.6.Filtrage ADME

Tableau06 : Analyse comparative des propriétés physico-chimiques et des profils pharmacocinétiques (ADME) des ligands sélectionnés et de la molécule de référence.

Ligands	Lipinski violation	MW g/mol	NHA	NHD	NRB	Lipophilicity Log P	Biodisponibilité	TPSA Å ²	Abs GI	BBB	PGP
Valeur Préférée	≤ 1	<500	≤ 10	<5	≤ 10	≤ 5	0,55	<500	Haute	Non	Négatif
MR	0	463.46	9	1	7	1.96	0.55	101.97	Haute	Non	Positif
Quercétine	0	302.24	7	5	1	-0.56	0.55	131.36	Haute	Non	Négatif
Berbérine	0	336.36	4	0	2	2.19	0.55	40.80	Haute	Oui	Positif
Génistéine	0	270.24	5	3	1	0.52	0.55	90.90	Haute	Non	Négatif
Kaempférol	0	286.24	6	4	1	-0.03	0.55	111.13	Haute	Non	Négatif
Lutéoline	0	286.24	6	4	1	-0.03	0.55	111.13	Haute	Non	Négatif
Apigénine	0	270.24	5	3	1	0.52	0.55	90.90	Haute	Non	Négatif
Hespéridine	3	610.56	15	8	7	-1.55	0.17	234.29	Faible	Non	Positif
Honokiol	0	266.33	2	2	5	3.78	0.55	40.46	Haute	Oui	Négatif
Myricétine	1	318.24	8	6	1	-1.08	0.55	151.59	Faible	Non	Négatif
Baicaléine	0	270.24	5	3	1	0.52	0.55	90.90	Haute	Non	Négatif
Isorhamnéine	0	316.26	7	4	2	-0.31	0.55	120.36	Haute	Non	Négatif

MW : Masse moléculaire **NHA** : Nombre de liaisons hydrogène accepteurs **NHD** :Nombre de liaisons hydrogène donneurs

NRB :Nombre de liaisons rotatives **TPSA** : Surface polaire topologique **Abs GI** :absorption

gastrointestinale**BBB** :Barrière hématoencéphalique **PGP** :Substrat de la glycoprotéine P

4.7.Prédiction de toxicité

Tableau07 : Évaluation des profils de toxicité prédits des ligands sélectionnés et de la molécule de référence.

Ligand	DL50 mg/kg	Classe	Neurotoxicité	Cardiotoxicité	Cytotoxicité	immunotoxicité
WNK463	1750	4	Active	Inactive	Inactive	Inactive
Quercétine	159	3	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive
Berbéline	200	3	Inactive	Inactive	Active	Active
Génistéine	2500	5	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive
Kaempférol	3919	5	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive
Lutéoline	3919	5	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive
Apigénine	2500	5	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive
Hespéridine	12000	6	Active	Inactive	Inactive	Active
Honokiol	1649	4	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive
Myricétine	159	3	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive
Baicaléine	3919	5	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive
Isorhamnétine	5000	5	Inactive	Active	Inactive	Inactive

5. Discussion

Dans le cadre des études ciblant l'axe WNK/OSR1, les travaux de **(Yamada et al., 2016)**. Ont montré que les caractéristiques structurales uniques de la kinase WNK1 peuvent être exploitées pour réaliser un criblage à haut débit, conduisant à l'identification du premier inhibiteur pan-WNK administrable par voie orale, WNK463, présentant une affinité nanomolaire et une forte sélectivité vis-à-vis des kinases **(Zhang et al., 2016)**. Par ailleurs, l'étude de Fdel et al. a démontré que l'inhibition de OSR1 n'affecte pas significativement la viabilité des cellules cancéreuses (TNBC), mais réduit de manière notable leur capacité de migration et d'invasion sous l'effet de WNK463 **(Fdel et al., 2025)**.

Dans ce contexte, notre étude *in silico* a permis d'évaluer le potentiel inhibiteur de 40 composés naturels vis-à-vis de WNK1. Les résultats du Docking moléculaire ont révélé que plusieurs ligands présentent des énergies de liaison plus favorables que celle du ligand de référence WNK463 (-8,9 kcal/mol), notamment l'hespéridine et la narigénine (-10,3 kcal/mol), ainsi que l'honokiol (-9,9 kcal/mol). Ces résultats suggèrent une forte capacité d'interaction avec le site actif de la protéine.

L'analyse des interactions moléculaires a mis en évidence que les ligands sélectionnés établissent des interactions clés avec des résidus importants du site actif, notamment ASP368, THR301 et CYS250. La présence de liaisons hydrogène, d'interactions hydrophobes ainsi que d'interactions de type π -empilement contribue à la stabilisation des complexes ligand-récepteur. Ces interactions sont cohérentes avec celles observées pour le ligand de référence, suggérant un mode de liaison similaire et renforçant l'hypothèse d'une inhibition efficace de l'activité kinase.**(Madeddu et al., 2022)**. Une analyse plus détaillée montre que certains ligands, tels que la quercétine et la lutéoline, forment plusieurs liaisons hydrogène avec ASP368 et THR301, ce qui pourrait expliquer leurs bonnes affinités observées lors du Docking. De même, l'honokiol et la berbérine présentent des interactions hydrophobes étendues au sein du site actif, contribuant à la stabilité globale du complexe.

Cependant, l'interprétation de ces résultats doit être complétée par l'analyse des propriétés pharmacocinétiques. Le filtrage ADME a montré que la majorité des ligands présentent des propriétés pharmacocinétiques favorables, notamment une bonne absorption gastro-intestinale et le respect des règles de Lipinski, **sauf l'hespéridine**, qui présente une faible biodisponibilité,

caractérisée par plusieurs violations des règles de Lipinski et une absorption gastro-intestinale limitée, ce qui réduit son potentiel en tant que candidat administrable par voie orale. En effet, une forte affinité de liaison ne constitue pas à elle seule un critère suffisant pour la sélection d'un candidat médicament.

Concernant la toxicité, les prédictions issues de la plateforme ProTox-III mettent en évidence une variabilité du profil toxicologique des ligands étudiés. Globalement, la majorité des composés présentent une toxicité faible à modérée, comme en témoignent des valeurs de DL50 relativement élevées pour des molécules telles que la génistéine (2500 mg/kg), ce qui reste compatible avec un développement pharmacologique potentiel. Certains ligands, tels que la berbérine, la myricétine et la quercétine, présentent des valeurs de DL50 plus faibles (classe 3). Toutefois, ces niveaux de toxicité demeurent dans des intervalles généralement acceptables dans les phases précoces de découverte de médicaments, d'autant plus que ces prédictions *in silico* nécessitent une validation expérimentale. Par ailleurs, la capacité de traverser la barrière hémato-encéphalique (BBB) varie selon les ligands, ce qui peut influencer leur distribution et leurs effets secondaires potentiels.

L'intégration des résultats de Docking avec les données ADME et toxicologiques a permis d'identifier un groupe de ligands plus pertinents, notamment la quercétine, la berbérine, la génistéine, le kaempférol, la lutéoline, l'apigénine, l'honokiol, la myricétine, la baicaléine et l'isorhamnétine. Ces composés présentent un bon compromis entre affinité de liaison, propriétés pharmacocinétiques acceptables et profil toxicologique modéré, ce qui les positionne comme candidats potentiels pour une optimisation ultérieure.

Ces résultats sont en accord avec la littérature, où les flavonoïdes sont reconnus pour leurs propriétés anticancéreuses et leur capacité à interagir avec diverses kinases impliquées dans la prolifération tumorale (**Labied et al., 2020**). Par exemple, la génistéine induit un arrêt du cycle cellulaire en phase G2/M ainsi qu'une apoptose dépendante des espèces réactives de l'oxygène (ROS) (**Chen et al., 2023**). De même, le kaempférol inhibe la migration et l'invasion des cellules du cancer du sein triple négatif (TNBC) en bloquant les voies de signalisation RhoA et Rac1, et induit l'apoptose via un arrêt du cycle cellulaire (**Wang et al., 2024**); (**Chen et al., 2023**). Par ailleurs, la lutéoline diminue l'expression du VEGF, ainsi que la migration et la viabilité des cellules de cancer du sein triple négatif, tout en inhibant les voies de signalisation, PI3K/AKT,

MAPK/ERK1/2 **(Baier, A., & Szyszka, R, 2020)**. L'apigénine exerce une activité antiproliférative et pro-apoptotique associée à un arrêt du cycle cellulaire en phase G2/M, des dommages à l'ADN, une production de ROS et l'inhibition de la phosphorylation de l'AKT dans les cellules cancéreuses. Leurs performances dans notre étude, tant en termes d'affinité que d'interactions moléculaires, renforcent leur potentiel en tant qu'inhibiteurs de WNK1. La quercétine, quant à elle, présente une forte affinité de liaison et un profil ADME favorable, ce qui en fait un candidat particulièrement intéressant, en accord avec les études rapportant ses effets anti-prolifératifs et anti-migratoires. **(Farghadani, R., & Naidu, R, 2023)**

Dans le cadre de la proposition de nouveaux inhibiteurs, l'analyse combinée des résultats de Docking et des paramètres ADME/toxicité a permis d'identifier les composés les plus prometteurs. En effet, l'hespéridine présente une biodisponibilité plus limitée en raison de certaines violations des règles de Lipinski.

En revanche, plusieurs composés apparaissent comme des candidats plus appropriés pour le développement d'inhibiteurs de la cible WNK1, notamment la quercétine, la berbérine, la génistéine, le kaempférol, la lutéoline, l'apigénine, l'honokiol, la myricétine, la baicaléine et l'isorhamnétine. Ces molécules présentent globalement un profil ADME plus acceptable, une toxicité modérée ainsi que des interactions stables avec le site actif, suggérant leur potentiel en tant que lead molecules pour l'inhibition de la voie WNK/OSR1.

Sur le plan structural, les composés étudiés appartiennent majoritairement à la classe des polyphénols, principalement représentés par les flavonoïdes, incluant les flavonols (kaempférol, quercétine, myricétine), les flavones (lutéoline, apigénine), les isoflavonoïdes (génistéine) ainsi que certains lignanes tels que l'honokiol **(Chen et al., 2023); (Baier, A., & Szyszka, R, 2020)**. Ainsi, les résultats obtenus dans notre étude sont en accord avec les travaux **(Baier, A., & Szyszka, R, 2020)**, qui ont largement décrit les flavonoïdes comme de puissants inhibiteurs des protéines kinases, ce qui renforce l'hypothèse selon laquelle ces composés pourraient constituer des candidats prometteurs pour l'inhibition de WNK1.

Conclusion

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'étude de la modulation de la signalisation oncogène WNK/OSR1 dans le cancer du sein triple négatif à travers une approche *in silico* basée sur le docking moléculaire. Ce sous-type de cancer, caractérisé par son agressivité et l'absence de cibles thérapeutiques spécifiques, représente un défi majeur en oncologie, ce qui justifie la recherche de nouvelles stratégies thérapeutiques innovantes.

L'analyse a permis d'évaluer le potentiel inhibiteur de quarante composés naturels ciblant la protéine WNK1, L'analyse des interactions et le filtrage ADME/toxicité ont mis en évidence des molécules prometteuses, notamment la quercétine, la berbérine la génistéine, le kaempférol, la lutéoline, l'apigénine, l'honokiol, la myricétine, la baicaléine et l'isorhamnétine, caractérisées par un profil pharmacologique favorable.

En perspective, il serait pertinent de compléter ce travail par des études expérimentales, incluant des essais biologiques sur lignées cellulaires de cancer du sein triple négatif, ainsi que des simulations de dynamique moléculaire afin de confirmer la stabilité des complexes ligand-récepteur. L'optimisation structurale des composés identifiés pourrait également permettre d'améliorer leur efficacité et leurs propriétés pharmacologiques.

Bibliography

(A)

- *Absolute numbers, incidence of breast cancer in Africa, both sexes.* (2022). Global Cancer Observatory (GLOBOCAN).. : <https://gco.iarc.who.int/today/>
- Ahmed, Z. S., Ahmed, z., O., Khan, E., Elias, N., Elshebiny, A., & Dou, Q. (2025). Updated review on natural polyphenols: Molecular mechanisms, biological effects, and clinical applications for cancer management. *Biomolecules*, 15(5), 629.
- *Algeria fact sheet: Breast cancer.* (2022). Global Cancer Observatory (GLOBOCAN).. : <https://gco.iarc.who.int/media/globocan/factsheets/populations/12-algeria-fact-sheet.pdf>

(B)

- Baier, A., & Szyszka, R. (2020). Compounds from natural sources as protein kinase inhibitors. *Biomolecules*, 10(11), 1546.
- Banerjee, P. K., Banerjee, P., Kemmler, E., Dunkel, M., & Preissner, R. (2024). ProTox 3.0: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals. *Nucleic acids research*, 52(W1), W513-W520.
- Baroroh, U. B., Baroroh, U., Birotek, M., Muscifa, Z., Destiaran, W., Rouhmatullah, W., & Yusuf, M. (2023). Molecular interaction analysis and visualization of protein-ligand docking using Biovia Discovery Studio Visualizer. *Indonesian Journal of Computational Biolo*, 22-30.
- Benačka, R. D., Beňačka, R., Szabóová, D., Guľašová, Z., Hetelyova, Z., & Rzdónak, J. (2022). Classic and new markers in diagnostics and classification of breast cancer. *Cancers*, 14(21), 5444.
- Beňačka, R. S., Beňačka, R., Szabóová, D., Guľašová, Z., & Radónak, J. (2022). Classic and new markers in diagnostics and classification of breast cancer. *Cancers*, 14(21), 14(21), 5444.
- Brognard, J., & Hunter T. (2011). Protein kinase signaling networks in cancer. *Current opinion in genetics & development*, 21(1), 4-11.

(C)

- Chabosseau, S. (2013). *Plantes médicinales et cancer du sein: état des lieux et recommandations sur leurs utilisations.* Doctoral dissertation, Thèse de diplôme d'État de

docteur en pharmacie]. Angers: UFR des Sciences pharmaceutiques et ingénierie de la santé.

- Chaudhary, K. K., & Mishra, N. (2016). A review on molecular docking: novel tool for drug discovery. *Databases*, 3(4), 1029.
- Chaudhary, K. K., & Mishra, N. . (2016). A review on molecular docking: novel tool for drug discovery. *Databases*, 3(4), 1029.
- Chen, S. W., Chen, S., Wang, X., Cheng, Y., Gao, H., & Chen, X. (2023). A review of classification, biosynthesis, biological activities and potential applications of flavonoids. *Molecules*, 28(13), Chen, S., Wang, X., Cheng, Y., Gao, H., & Chen, X. (2023). A review of classification, biosynthesis, biological activities and potential applications of flavonoids. *Molecules*, 28(13), 4982.

(D)

- Dhaniaputri, R. S., Dhaniaputri, R., Suwono, H., Amin, M., & Lukiati, B. (2022). Introduction to plant metabolism, secondary metabolites biosynthetic pathway, and in-silico molecular docking for determination of plant medicinal compounds: an overview. *In 7th Internation Conference on Biological Science* , 373-382.
- Dogra, A. K., Dogra, A., Prakash, A., Gupta, S., & Gupta, M. (2025). Prognostic significance and molecular classification of triple negative breast cancer: a systematic review. *European Journal of Breast Health*, 101-114.

(F)

- Farghadani, R., & Naidu, R. (2023). The anticancer mechanism of action of selected polyphenols in triple-negative breast cancer (TNBC). *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 165, 115170.
- Fdel, A. M., Fdel, A., Waters, L., Sharma, I., Jones, S., Gee, J., Atack, J., & Mehellou, Y. (2025). Oxidative stress-responsive 1 kinase catalytic activity promotes triple negative breast cancer oncogenic potential. *ACS pharmacology & translational science*., 8(3), 726-735.
- Forli, S. H., Forli , S., Huey, R., Pique, M., E., Sanner, M., Goodsell, D., & Olson, A. (2016). Computational protein–ligand docking and virtual drug screening with the AutoDock suite. *Nature protocols*, 11(5), 905-919.

(G)

- Gallolu Kankanamalage, S. K., Gallolu Kankanamalage, S., Karra, A., & Cobb, M. (2018). WNK pathways in cancer signaling networks. *Cell Communication and Signaling*, 16(1), 72.
- Gautam, S. P., Gautam, S., PathaK, S., & Dubey, S. (2024). The role of molecular docking in modern drug discovery and development: A comprehensive review. *Journal of Drug Discovery and Health Sciences*, 1(03), 129-137.

(H)

- Hou, C. Y., Hou, C., Ma, C., & Yuh, C. (2022). WNK1 kinase signaling in metastasis and angiogenesis. *Cellular Signalling*, 96, 110371.
- Hou, C. Y., Hou, C., Ma, C., & Yuh, C. (2022). WNK1 kinase signaling in metastasis and angiogenesis. *Cellular Signalling*, 96, 110371.
- Jung, J. U., Jung, J., Jaykumar, A., & Cobb, M. (2022). WNK1 in malignant behaviors: a potential target for cancer ? *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 10, 935318.

(K)

- Kadasah, S. F. (2025). Targeting the MAPK Pathway in Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 27(1), 214.
- Kim, S. T., Kim, S., Thiessen, P., Bolton, E., Chen, J., Fu, J., Gindulyte, A., & Bryant, S. (2016). PubChem substance and compound databases. *Nucleic acids research*, 44(D1), D1202-D1213.

(L)

- Labied, I. L., Labied, I., Lebsire, N., Telia, A., & Benguedouar, L. (2020). *Cancer de la prostate: état de la recherche expérimentale sur les flavonoïdes*. (Doctoral dissertation, Université de jijel).

(M)

- Madeddu, F. D., Madeddu, F., Di Martino, J., Pieroni, M., Del BuonI, P., Botta, L., & Saladino, R. (2022). Molecular docking and dynamics simulation revealed the potential

inhibitory activity of new drugs against human topoisomerase I receptor. *International journal of molecular*, 23(23), 14652.

- Mahanthesh, M. T., Mahanthesh, M., Ranjith, D., Yaligar, R., Jyoth, R., Narappa, G., & Ravi, M. (2020). Swiss ADME prediction of phytochemicals present in *Butea monosperma* (Lam.) Taub. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 9(3), 1799-1809.
- Muhammed, M. T., & Aki-Yalcin, E. (2024). Molecular docking: principles, advances, and its applications in drug discovery. *Letters in Drug Design & Discovery*, 21(3), 480-495.

(N)

- Nisar, S. H., Nisar, S., Hashem, S., Macha, M., Yadav, S., Muralitharan, S., Therachiyil, L., & Bhat, A. (2020). Exploring dysregulated signaling pathways in cancer. *Current pharmaceutical design*, 26(4), 429-445.

(O)

- Orrantia-Borunda, E. A.-N.-A.-V.-V., Orrantia-Borunda, E., Anchondo-Nuñez, P., Acuña-Ag, L., & Gomez-valdespino, C. (2022). Subtypes of breast cancer. Dans M. H. N, *Breast Cancer* (pp. 41-31). Brisbane: Exon Publications.

(P)

- Patterson, A. D., Patterson, A., Gonzalez, F., Perdew, G., & Peters, J. (2018). Molecular regulation of carcinogenesis. *friend and foe. Toxicological Sciences*, 165(2), 277-283.
- Pawar, S. K., Pawar, S., Kulkarni, C., Gadade, P., Pujari, S., Kakade, S., Rohane, S., & Reddasani, V. (2023). Molecular docking using different tools. *Asian Journal of Pharmaceutical Research*, 13(4), 292-6.

(R)

- Rayan, B., & Rayan, A. (2017). Avogadro program for chemistry education: To what extent can molecular visualization and three-dimensional simulations enhance meaningful chemistry learning. *World Journal of Chemical Education*, 5(4), 136-141.

- Rudiño-Piñera, E. Q.-H.-G., Rudiño-Piñera, E., Quintero-Hernández, V., & Juárez-Gonzalez, v. (2022). El Protein Data Bank (PDB) y su impacto en la investigación científica.
- Ryspayeva, D. S., Ryspayeva, D., Seyhan, A., MacDonald, W., Purcell, C., Roady, T., Ghandali, M., & Graff, S. (2025). Signaling pathway dysregulation in breast cancer. *Oncotarget*, 16, 168.

(S)

- Sarhangi, N. H., Sarhangi, N., Hajjari, S., Heydari, S., & Ganjiza, F. (2022). Breast cancer in the era of precision medicine. *Molecular biology reports*, 49(10), 10023-10037.
- Sarkar, A. C., Sarkar, A., Concilio, S., Sessa, L., Marrafino, F., & Piotto, S. (2024). Advancements and novel approaches in modified AutoDock Vina algorithms for enhanced molecular docking. *Results in Chemistry* 7, 101319.
- Sharma GN, D. R., Sharma , G., Dave , R., Sanadya, J., Sharma , P., & Sharma, K. (2010). various types and mangement of braest cancer. *j ady pharmtechnoIRes*, 109-126.

(T)

- Theivendren, P. K., Theivendren, P., Kunjiappan, S., Hegde, Y., Vellaichamy, S., Gopal, M., Dhramalingam, S., & Kumar, S. (2021). Importance of protein kinase and its inhibitor. *a review. IntechOpen*.
- Theivendren, P., Kunjiappan, S., Hegde, Y., M.Vellaichay, S., Gopal, M., Dharmalingam, S., & Kumar, S. (2021). Importance of protein kinase and its inhibitor: a review. *IntechOpen*.
- Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of computational chemistry*, 31(2), 455-461.
- Tufail, M. G., Tufail, M., Gong, K., Ijaz, B., Patel, H., Lui, W., Wang, X., & Li, j. (2026). The hallmarks of oncogenic signaling: from pathways to resistance in cancer therapy. *Drug Resistance Updates*, 101355.

(V)

- Vocol, A. (2024). *Prix en charge des cancers du sein : qualité de vie et caractérisations biomoléculaires de ces cancers*. Clermont Auvergne: Université Clermont Auvergne.

(W)

- Wang, S. W., Wang, S., Wang, K., Li, C., Chen, J., & Kong, X. (2024). Role of flavonoids in inhibiting triple-negative breast cancer. *Frontiers in Pharmacology*, 15, 1411059.
- *World fact sheet: Breast cancer*. (2022). Global Cancer Observatory (GLOBOCAN). <https://gco.iarc.who.int/media/globocan/factsheets/populations/900-world-fact-sheet.pdf>

(X)

- Xiu, M. L., Xiu, M., Li, L., Li, Y., & Gao, Y. (2022). An update regarding the role of WNK kinases in cancer. *Cell Death & Disease*, 13(9), 795.

(Y)

- Yamada, K. P., Yamada, K., Park, H., Rigel, D., DiPetrillo, K., Whalen, E., Anisowicz, A., & Monovich, L. (2016). Small-molecule WNK inhibition regulates cardiovascular and renal function. *Nature chemical biology*, 12(11), 896-898.

(Z)

- Zhang, J. D., Zhang, J., Deng, X., & Kahle, K. (2016). Leveraging unique structural characteristics of WNK kinases to achieve therapeutic inhibition. *Science Signaling*, 9(450), 1-3.
- Zhang, J., Deng, X., & Kahle, K. (2016). Leveraging unique structural characteristics of WNK kinases to achieve therapeutic inhibition. *Science Signaling*, 9(450), pe3-pe3.