

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie physico-chimique

Spécialité Biochimie Appliquée



Réf :

Mémoire de fin de cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

Évaluation *in silico* de l'activité anticancéreuse des flavonoïdes contre le cancer colorectal par docking moléculaire

Présenté par :

M^{lle}. BOUBECHE Katia & M^{lle}. BOUFLIOUNE Tinehinane

Soutenue le : 25 juin 2024

Membre de jury

Présidente : M^{me}. BENAIDA Nadjat - EPSE DEBBACHE

Professeur

Examineur : Pr. OUCHEMOUKH Salim

Professeur

Encadrant : M^{me}. YAHIAOUI Sonia

MAB

Année universitaire : 2023/2024

REMERCIEMENTS

*Toute la gratitude est à Dieu le tout puissant qui nous a donné la force,
le courage et la patience d'accomplir ce modeste travail.*

*Nous tenons à remercier notre promotrice YAHIAOUI. Sonia pour avoir
accepté de diriger notre travail, de nous orienter vers ce thème sensé nous
faire découvrir et proposé un traitement efficace sur un type spécifique de
Cancer, ainsi que pour tous les conseils précieux qu'elle nous a prodigués et
toute son écoute envers nos sollicitations ce qui nous à permis de mieux
profiter de son expérience et de son savoir-faire.*

Nos sincères remerciements vont aux membres de jury :

▣ *Mme BENAIDA Nadjet- EPSE DEBBACHE* qui nous fait l'honneur de
présider le jury de notre soutenance de fin de cycle. Nous vous remercions
profondément

▣ *Pr OUCHEMOUKH Salim* qui nous fait l'honneur d'examiner notre
travail

▣ *Mme YAHIAOUI Sonia* qui nous fait l'honneur d'examiner notre travail
Chaleureux remerciements à tous nos chers professeurs et enseignants qui
nous ont accompagnés durant notre cursus universitaire

*Nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont contribué de
près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

Dédicace I

A l'Éternel dieu tout-puissant, maître des temps et des circonstances qui dans son amour, me fait vivre et me rend vainqueur, qui ma donnée l'ambitieux, le défi, la santé le courage pour arriver à la fin de mon cycle et d'avoir terminé mon mémoire de fin d'étude. Mes chers parents, aucune dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments, les deux personnes les plus beaux au monde, pour leur patience illimitée, leur encouragement continu et leur aide, à chaque seconde donnée pour être la meilleure fille, ma mère « Louïza » mon père « Zahir » je tiens à vous remercier de mon profond amour et respect pour vos grands sacrifices. Bien sur mes frères et sœurs Kahina, Dihia, Massi, Tilléli, Gugurta, Tassedâ merci pour leur soutien et amour merci d'être meilleure, surtout mon grand frère « Massi » qui a été toujours mon courage et un bras droit à sa confiance et son amour. Un merci pour chaque membre de famille qui a participé à faire ce travail. Je tiens à remercier aussi deux proches amie « Nesrine » et « Gouraya » les deux perles amie au monde à leur présence pour chaque moment difficile et à chaque rire qui me rend toujours heureuse. A mes copines de chambre Sarah, Wafa et Kenza pour leur présences et sacrifices merci. Sans oublier mon seul proche et vrai ami Riadh, merci pour ton soutien durant tous les moments passés avec toi. A mes amis, qui ont égayé mon parcours et m'ont épaulé dans les moments difficiles merci.

Ma collègue Katia je te remercier pour le travail accompli ensemble et pour chaque sacrifice faite pour moi et pour faire ce travail. A mes professeurs, qui m'ont guidé et enseigné avec dévouement tout au long de mon parcours universitaire. Un grand merci pour la résidence pépinière.

Un merci infini à ma belle promotrice Mme Yahiaoui. S à son courage et sincérité, amour et confiance pour terminer ce travail. A tout personnes oublier merci pour voute soutien.

Je termine avec un grand merci à moi-même qui a été toujours sérieuse, courageuse, souriante, fidèle, intelligente et patiente dans mon parcours universitaire et durant tout le temps passer seule loin de ma famille et de mes proches.

Tinehiane

Dédicace II

Je remercie le DIEU le tout puissant de m'avoir donnée la patience, le courage et la volonté de réaliser ce modeste travail.

Je dédie ce mémoire à mes chers parents.

Ma mère et mon père rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien. Puisse Dieu, le tout puissant, vous préserver et vous accorder une bonne santé, une longue vie et surtout du bonheur.

A cher(e)s frères et sœurs

A toute ma famille

A ma collègue Tina

A tous mes cher(e)s ami(e)s spécialement Massi, Chahla, Zina, Cylia, Imane et Saleh

et

A tous ceux que j'aime dans ce monde

Katia

Liste des abréviations

ADMET	Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion, Toxicité
AI	Absorption intestinale (humaine)
Å	Angstrom.
R²	Coefficient de corrélation linéaire
Log P	Coefficient de partage Eau/ Octanol
CRC	Colorectal cancer « Cancer colorectal »
IC50	Concentration Inhibitrice à 50%
CDKS	Cyclin-dependent kinases «Les kinases cycline – dépendantes »
Da	Daltons
CID	Denomination commune internationale.
DT2	Diabète de type 2
2D	Di-dimension.
ΔG	Energie d'interaction
EGFR	Epidermal growth factor receptor « Récepteur du facteur de croissance épidermique »
EGCG	Epigallocatechine gallate
FDA	Food and drug Administration « Administration des aliments et des médicaments »
ErbB	Growth factor receptor « Récepteur du facteur de croissance »
Hép	Hépatotoxicité
I	Inhibiteur
C4H	L'acide cinnamique 4-hydroxylase
MOR	Macrocyclic inhibitor « Inhibiteur macrocyclique »
NCBI	National Center for Biotechnology Information « Centre national d'information sur la biotechnologie»
NIH	National Instituts of Health « instituts nationaux de la santé »

NLM	National Library of Medicine «la Bibliothèque nationale de Médecine ».
PAL	Phénylalanine ammoniacque-lyase.
PM	Poids moléculaire.
PDB	Protein Data Bank « banque de donnée protéique ».
PDBQT	Protein Data Bank Partial charge (Q) & Atom type (T).
PKA	Protéine kinase A.
RTK	Récepteur à tyrosine kinase.
RMN	Résonance magnétique nucléaire.
RMSD	Root Mean Square Deviation « «Ecart quadratique moyen »
Stat-3	Signal transducer and activator of transcription 3 « transducteur de signal et activateur de transcription ».
SE	Solubilité dans l'eau
SDF	Structure Data File.
AMES	Test de mutation bactérienne reverse.
3D	Tridimensionnel.
3DEM	Tri-Dimensionnel la microscopie électronique.
VEGF	Vascular endothelial growth factor « le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire ».
VD_{ss}	Volume de distribution

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Mécanismes d'initiation et de progression du cancer colorectal (CCR) et quelques facteurs de risque.	4
02	Les étapes de développement du cancer colorectal	5
03	Organisation structurale des récepteurs ErbB/HER	7
04	Les principaux événements structurels impliqués dans l'activation du récepteur EGF.	7
05	Structure de base des flavonoïdes	9
06	Un aperçu de la voie de biosynthèse des flavonoïdes	11
07	Interaction Protéine-ligand	13
08	Les deux étapes fondamentales (docking et scoring)	14
09	Différents programmes de docking moléculaire	16
10	Interface de la plateforme PDB	21
11	Interface graphique de la plateforme Pubchem	21
12	Structure de la protéine avant prétraitement dans Discovery Studio	24
13	Régression linéaire entre les valeurs de ΔG et de $\log IC_{50}$ des 13 inhibiteurs d'EGFR.	29
14	Visualisation du site actif du récepteur EGFR suite au docking moléculaire avec les ligands isorhamnetine (vert) et d'EGCG (rouge), apigénine (crevette) et MOR (rose)	30
15	Cartographie de surface montrant les ligands isorhamnetine: vert ; EGCG : rouge ; apigénine : crevette et MOR : rose occupant la poche active de EGFR (7U99)	31
16	Images 3D et 2D des interactions entre les résidus d'acides aminés actifs de EGFR et de l'isorhamnetine (A)	33
17	Images 3D et 2D des interactions entre les résidus d'acides aminés actifs de EGFR et EGCG (B)	33
18	Images 3D et 2D des interactions entre les résidus d'acides aminés actifs de EGFR et apigénine (C)	34
19	Images 3D et 2D des interactions entre les résidus d'acides aminés actifs de EGFR et Standard MOR (D).	34

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I	Classification des flavonoïdes	10
II	Adresses des principaux programmes de docking moléculaire	16
III	Les micro-ordinateurs utilisés et leurs caractéristiques	20
IV	Les caractéristiques de récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR)	23
V	la position et les dimensions de la boîte	25
VI	Affinité de liaison des ligands avec le récepteur EGFR (Kcal/mol)	27
VII	Les énergies d'interaction (ΔG) et l'activité biologique (IC50) des 13 inhibiteurs d'EGFR	29
VIII	Tableau d'interactions montrant les différentes interactions chimiques de EGCG ; isorhamntine ; apigénine dans la poche de liaison.	32
IX	Résultats de cinq règles de Lipinski pour les quatre ligands.	36
X	<i>In silico</i> ADME/T et étude de vraisemblance de l'EGCG, isorhamnetine, apigénine ; MOR.	38

Table de matière

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Synthèse Bibliographique

Chapitre I. Cancer et Flavonoïdes

I.1	Le Cancer.....	3
I.1.1	Définition	3
I.1.2	Facteurs de risque.....	3
I.1.2.1	Risque interne.....	3
I.1.2.2	Risque externe	3
I.1.3	Les étapes de cancérogenèse.....	3
I.1.3.1	Initiation	4
I.1.3.2	Promotion	4
I.1.3.3	Progression	4
I.2	Le Cancer colorectal	5
I.2.1	Définition	5
I.2.2	Développement du cancer colorectal	5
I.2.3	Protéines de surface cellulaire EGFR/ErbB	6
I.2.4	Traitements.....	7
I.2.4.1	La chirurgie	8
I.2.4.2	La chimiothérapie.....	8
I.2.4.3	Les anticorps (AC) monoclonaux.....	8
I.3	Flavonoïdes.....	8
I.3.1	Définition	8
I.3.2	Structure des flavonoïdes	9
I.3.3	Classification des flavonoïdes.....	9
I.3.4	Biosynthèse des flavonoïdes	11
I.3.5	Propriétés pharmacologique des flavonoïdes.....	11

Chapitre II. Docking Moléculaire

II.1	Docking moléculaire.....	13
II.1.1	Définition	13
II.1.2	Principe	13

II.1.2.1	Le searching	13
II.1.2.2	Le scoring	13
II.1.3	Les outils du docking moléculaire	14
II.1.3.1	Récepteur	14
II.1.3.2	Ligand.....	14
II.1.4	Types du docking moléculaire	15
II.1.4.1	Le docking flexible.....	15
II.1.4.2	Le docking semi-flixible	15
II.1.4.3	Le docking rigide.....	15
II.1.5	Les programmes de docking moléculaire	15
II.1.6	Fonctions des scores.....	17
II.1.7	Les interactions récepteur-ligand	17
II.1.7.1	Les interactions électrostatiques.....	17
II.1.7.2	Les liaisons hydrogène	17
II.1.7.3	Les interactions hydrophobes	17
II.1.7.4	Liaisons pi (π).....	18
II.1.8	Analyse post-docking (propriétés ADME/T).....	18
II.1.8.1	Absorption	18
II.1.8.2	Distribution.....	18
II.1.8.3	Métabolisme	18
II.1.8.4	Excrétion	19
II.1.8.5	Toxicité.....	19

Partie expérimentale

Chapitre III. Matériels et Méthodes

III.1	Matériels	20
III.1.1	Micro-ordinateur	20
III.1.2	Banque de données et serveurs en ligne.....	20
III.1.2.1	PDB	20
III.1.2.2	PubChem	21
III.1.2.3	Swiss ADME	21
III.1.2.4	pkCSM.....	22
III.1.3	Programmes	22
III.1.3.1	Open Babel	22
III.1.3.2	ChemDraw.....	22
III.1.3.3	PyRx	22

III.1.3.4 Discovery Studio	22
III.1.3.5 Excel.....	22
III.2 Méthodes.....	23
III.2.1 Sélection de la protéine cible et des ligands d'intérêt.....	23
III.2.1.1 Choix de la protéine	23
III.2.1.2 Choix des ligands	24
III.2.2 Préparation des molécules.....	24
III.2.2.1 Préparation de la protéine.....	24
III.2.2.2 Préparation des ligands.....	24
III.2.3 Criblage virtuel par le PyRx.....	25
III.2.4 Test d'évaluation de la fiabilité du programme	25
III.2.5 Analyse visuelle	25
III.2.6 Analyse pharmacocinétique	25
III.2.6.1 Règles de Lipinski	26
III.2.6.2 Filtrage ADME/T	26

Chapitre IV. Résultats et discussion

IV.1 Analyse d'affinité du complexe.....	27
IV.2 Test de fiabilité du programme de docking	28
IV.3 Analyse visuelle des interactions établies entre le ligand et le récepteur EGFR.....	30
IV.4 Validation des ligands en tant qu'agents thérapeutiques potentiels	36
IV.4.1 Les cinq règles de Lipinski	36
IV.4.2 Filtrage ADME/T	37
Conclusion.....	40

Références Bibliographiques

Annexes

Introduction

Introduction

Le cancer est un problème majeur de santé publique dans le monde de nos jours. Ces dernières décennies, une poussée épidémiologique inquiétante de maladies cancéreuses. Au niveau mondial, le nombre de nouveaux cas de cancer est passé de 12,7 millions à 19,3 millions de 2008 à 2019 (**Zongo et al., 2023**). Pour l'année 2024, environ 20 millions de nouveaux cas sont imputables au cancer selon l'organisation mondiale de la santé (**OMS, 2024**). Le cancer colorectal (CCR) est le troisième cancer le plus répandu dans le monde après les cancers du poumon et du sein (**Hbib, 2023**). Il est responsable de plus d'un million de nouveaux cas et plus d'un demi-million de décès par an mondial (**Cardenas et al., 2023**). La tabagisme et la consommation de viande rouge et l'utilisation d'aspirine sont quelques facteur de risque qui induisent l'introduction de cancer colorectal (**Siegel et al., 2017**).

Depuis des siècles, les plantes médicinales ont été utilisées pour traiter diverses maladies dans le cadre de la médecine traditionnelle, se positionnant ainsi en tant qu'approche alternative de premier plan. Actuellement, plus de 3000 espèces végétales sont reconnues pour leurs activités anticancéreuses, et une trentaine de composés d'origine végétale sont en cours de tests précliniques (**Haque et al., 2021**). Des recherches ont également montré que les agrumes, les légumes et les plantes médicinales possèdent une activité anticancéreuse prometteuse en préclinique (**Choudhari et al., 2020 ; Haque et al., 2021**). Des études menées par divers laboratoires indépendants ont identifié plusieurs composés phénoliques végétaux pour leur potentiel dans le traitement du cancer colorectal (**Sun et Shahrajabian, 2023**).

Les flavonoïdes, agissant comme pro-oxydants, pourraient inhiber la prolifération des cellules cancéreuses en ciblant le récepteur du facteur de croissance épidermique/protéine kinase activée (EGFR/PKA) (**Abotaleb et al., 2018 ; Rodriguez-garcia et al., 2019**).

L'élaboration d'un protocole pour estimer l'efficacité de nouveaux composés chimiques *in vivo* et *in vitro* est parfois très difficile à réaliser sur le plan biologique (couteux et lent) (**Grosdidier, 2007**). Ce qui a poussé les chercheurs actuellement à se baser sur l'usage des outils informatiques tels que la modélisation moléculaire et plus précisément l'amarrage moléculaire plus souvent connu sous le terme « docking » (**Macari et al., 2022**).

Le criblage virtuel par docking moléculaire est une technique de simulation informatique *in silico* qui vise à simuler et prédire l'affinité d'un très grand nombre de ligands

Introduction

pour le site actif d'une cible thérapeutique donnée. Cette approche a été initiée au début des années 1980, ensuite s'est développée pour devenir, de nos jours, un outil incontournable dans la recherche de nouvelles molécules bioactives (**Mokrani et al., 2012**) cette technique est plus rapide et moins coûteuse que les criblages expérimentaux classiques.

C'est dans ce contexte que s'inscrit l'objectif de ce présent travail qui vise à évaluer l'efficacité anticancéreuse colorectale d'un groupe de flavonoïdes couramment présents dans l'alimentation, ainsi qu'à comprendre les mécanismes sous-jacents des interactions entre ces flavonoïdes et le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR). Il est crucial de souligner que cette étude vise également à approfondir l'analyse post-docking en incluant un filtrage ADME/T, permettant ainsi d'évaluer la pharmacocinétique et la toxicité potentielle de ces composés. En effet, notre objectif est de quantifier l'énergie des interactions de ces composés et de visualiser leurs liaisons avec le site actif de la protéine, tout en prenant en compte leur viabilité en tant que candidats thérapeutiques potentiels.

Ce travail est structuré en deux grandes parties, la première partie théorique est composée de deux chapitres distincts. Le premier chapitre explore le lien entre le cancer et les flavonoïdes, tandis que le second chapitre se concentre sur le docking moléculaire. La seconde partie est consacrée à la partie expérimentale et se divise également en deux sections. La première section détaille les différents matériels et méthodes utilisés dans l'étude, tandis que la seconde section présente les résultats obtenus et leur discussion.

Synthèse Bibliographique

Chapitre I. Cancer et Flavonoïdes

I.1 Le Cancer

I.1.1 Définition

Le cancer peut être décrit comme une croissance cellulaire désordonnée et incontrôlable dans une région spécifique du corps, qui peut s'étendre à d'autres parties adjacentes ou éloignées (**Mohemed et al., 2023**). Cette croissance anormale est le résultat de multiples mutations génétiques qui s'accumulent dans les cellules dès les premiers stades de développement embryonnaire. Cependant, le développement d'un cancer ne survient que lorsqu'une combinaison spécifique de mutations affecte plusieurs gènes. Ces mutations modifient la séquence d'acides aminés des protéines, les rendant nouvelles pour le système immunitaire adaptatif de l'organisme (**Xia et al., 2021**).

I.1.2 Facteurs de risque

I.1.2.1 Facteurs internes

Certaines cancers peuvent avoir une composante héréditaire (transmis dans la famille), d'autres peuvent être dus à une mutation génétique (**Ağagündüz et al., 2023**). En effet, certaines personnes sont plus prédisposées à développer un cancer. Elles ont hérité d'une mutation génétique particulière augmentant le risque de cancer, ce qui ne signifie pas forcément qu'elles seront un jour atteintes d'un cancer malin (**Mongis, 2017**).

I.1.2.2 Facteurs externes

Les substances cancérigènes proposées par l'environnement comme facteurs de risque tels-que les ultraviolets, la radioactivité et les champs électromagnétiques, la pollution de l'air, les biocides, les pesticides et les métaux (**Belpomme et al., 2007**), aussi divers facteurs de risque sociaux tels que le tabagisme, l'abus d'alcool, une alimentation déséquilibrée et la sédentarité contribuent au développement des cancers colorectaux. De plus, le risque de développer un cancer est accru lorsque l'individu est exposé à des agents cancérigènes en quantité importante, de manière précoce ou régulière (**Mongis, 2017**).

I.1.3 Les étapes de cancérogenèse

La cancérogenèse est un processus complexe qui se déroule selon plusieurs voies. Au cours de ce processus, des altérations moléculaires et cellulaires distinctes surviennent, impliquant des étapes spécifiques, mais étroitement liées, telles que L'initiation, la promotion et la progression (**Sidiqui et al., 2015**).

I.1.3.1 Initiation

La première étape dans le développement d'un cancer est l'initiation, au cours de laquelle un changement du matériel génétique d'une cellule (mutation) la prépare pour qu'elle devienne maligne. Débute après l'exposition à des agents cancérogènes initiateurs tels que, virus, des produits chimiques, les radiations et les rayons solaires (Oliveira et al., 2007 ; Sawicki et al., 2021).

I.1.3.2 Promotion

Dans l'étape de promotion, une cellule mutante commence une division cellulaire incontrôlée (Laurier et al., 2023). Contrairement aux cancérogènes, les promoteurs ne sont pas en eux-mêmes la cause directe du cancer. Cependant, ils permettent à la cellule qui a subi l'initiation de devenir cancéreuse (Belpomme et al., 2007).

I.1.3.3 Progression

Pendant la dernière phase de progression, la prolifération continue et les gènes suppresseurs de tumeurs perdent leur activité normale. Il y a une activation de métalloprotéases permettant la modification de la matrice extracellulaire (Gialeli et al., 2011). Des nouveaux vaisseaux se forment afin d'alimenter la tumeur. L'invasion vers des sites secondaires est initiée pour en arriver à la formation de métastases (Carlo et Croce, 2008).

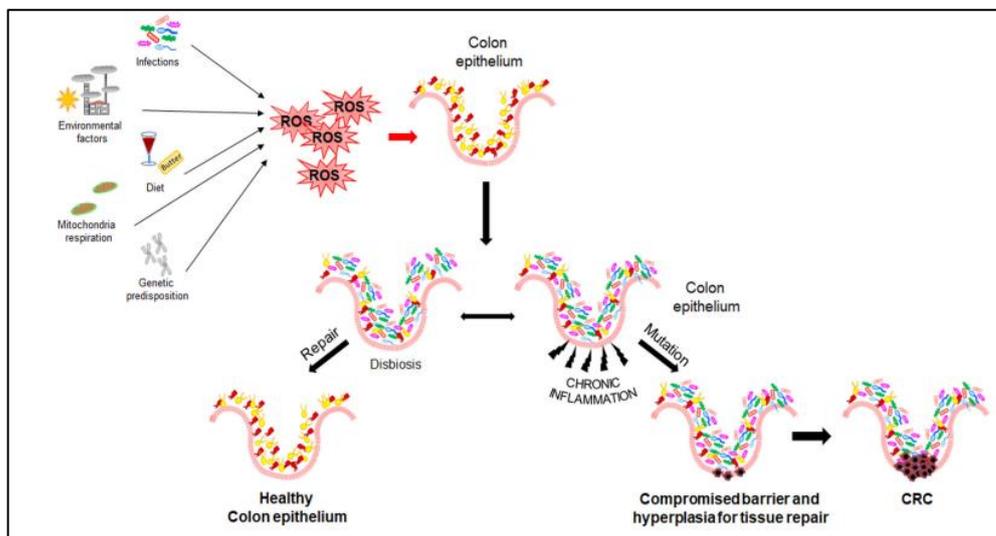


Figure 01 : Mécanismes d'initiation et de progression du cancer colorectal (CCR) et quelques facteurs de risque (Tirendi et al., 2023).

I.2 Le Cancer colorectal

I.2.1 Définition

Le cancer colorectal (CCR) est une maladie multifactorielle qui découle de l'accumulation de facteurs génétiques et environnementaux. Bien que l'incidence du CCR varie à l'échelle mondiale, elle a augmenté ces derniers temps particulièrement chez les jeunes adultes (Cardenas *et al.*, 2023).

I.2.2 Développement du cancer colorectal

Les études antérieures ont démontré que Les cancers colorectaux évoluent progressivement à mesure que des altérations génétiques s'accumulent, impactant les régulateurs de la prolifération cellulaire, les processus du cycle cellulaire, l'apoptose (mort cellulaire programmée) et les mécanismes de réparation de l'ADN (Zakaria *et al.*, 2021).

Le cancer colorectal progresse lentement et souvent sans symptômes apparents jusqu'à ce qu'il atteigne une certaine taille. À ce stade, il peut provoquer des blocages dans le passage des selles, entraînant des crampes, des douleurs ou des saignements visibles. La plupart du temps, ces symptômes surviennent lorsque la tumeur est déjà assez grande (Sawicki *et al.*, 2021). Le cancer du côlon évolue généralement par étapes, avec des changements progressifs au niveau des cellules et de leur structure génétique (Simon, 2016).

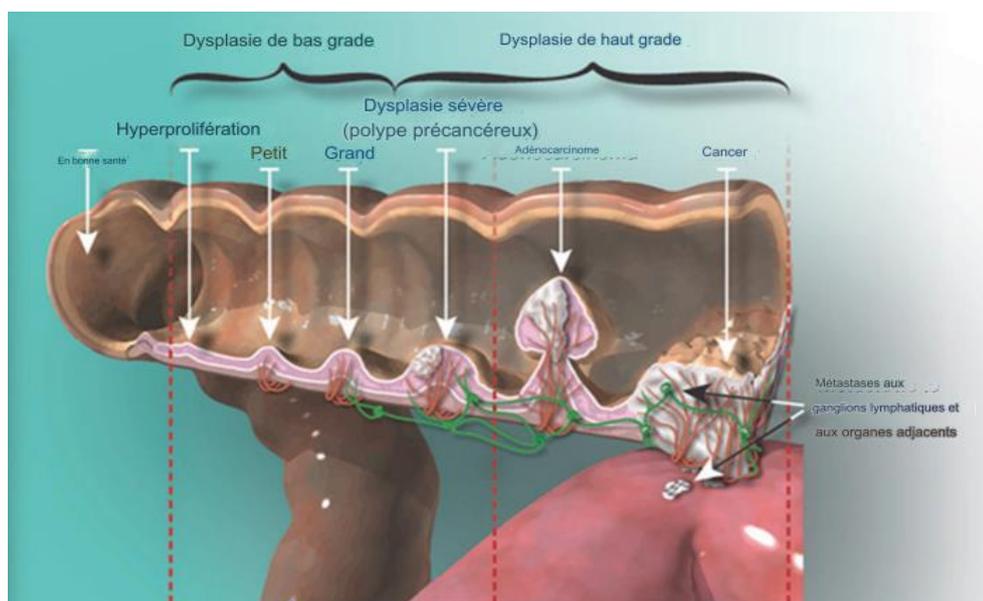


Figure 02 : Les étapes de développement du cancer colorectal (Simon, 2016).

I.2.3 Protéines de surface cellulaire EGFR/ErbB

Les récepteurs du facteur de croissance (ErbB) ont été associés à la pathogenèse du cancer humain il y a environ trente ans. Des mutations dans les gènes EGFR et ErbB2 ont été observées dans de nombreuses tumeurs épithéliales, et des études cliniques suggèrent qu'ils jouent un rôle important dans le développement et la progression du cancer (**Appert-Collin et al., 2015**).

En effet, la famille ErbB des récepteurs à tyrosine kinases (RTK) comprend les récepteurs du facteur de croissance épidermique (EGFR), ErbB2, ErbB3 et ErbB4 qui sont exprimés de manière omniprésente dans les cellules épithéliales, mésenchymateuses, cardiaques, et les cellules neuronales. Ils sont impliqués dans divers processus cellulaires, notamment la prolifération, la survie, l'angiogenèse et les métastases dans de nombreux cancers (**Minnelli et al., 2020**).

La voie de signalisation de l'EGFR, pendant longtemps c'était la voie la plus étudiée dans plusieurs types de cancer et récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR) était la molécule clé dans le diagnostic et le traitement de cancer colorectal ainsi, plusieurs médicaments ont été développés par l'industrie pharmaceutique pour bloquer voire inhiber cette protéine de surface cellulaire afin de stopper la croissance des cellules tumorales. (**Hbib, 2023**).

Des études récentes montrent que l'EGFR exprimé par les cellules myéloïdes du stroma tumoral, plutôt que par les cellules cancéreuses elles-mêmes, contribue de manière importante au développement du cancer colorectal. L'EGFR dans les cellules myéloïdes active la voie STAT3 et augmente l'expression de la survivance dans les cellules épithéliales intestinales, ainsi que la sécrétion d'IL-6 dans le côlon. Cela crée un microenvironnement tumoral favorable à la progression du cancer (**Frattini et al., 2015**).

La dégradation de la voie de signalisation d'EGFR que ce soit dans les cellules tumorales ou dans les cellules stromales, est un mécanisme clé de la carcinogène colorectale (**Frattini et al., 2015 ; Janani et al., 2022**).

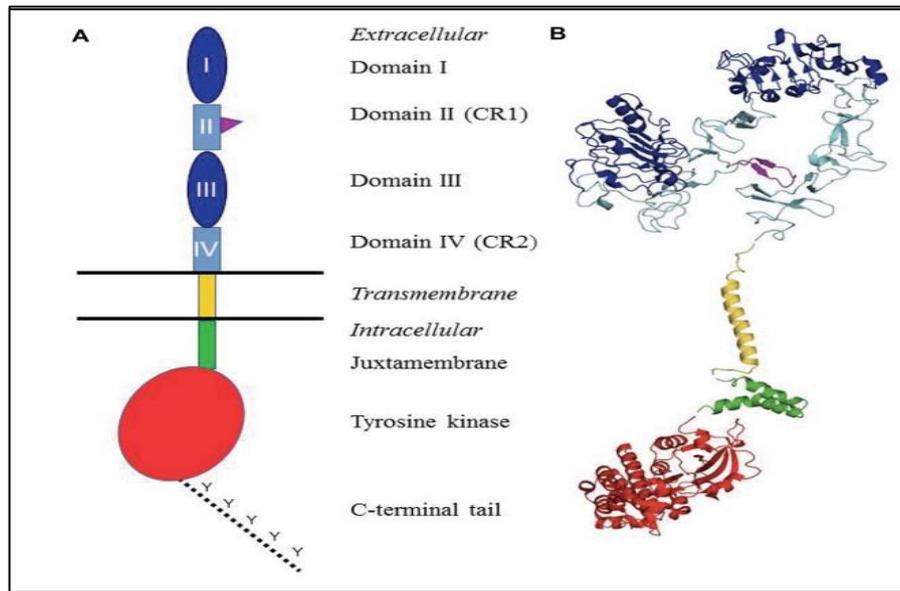


Figure 03 : Organisation structurale des récepteurs ErbB/HER (Appert-Collin *et al.*, 2015).

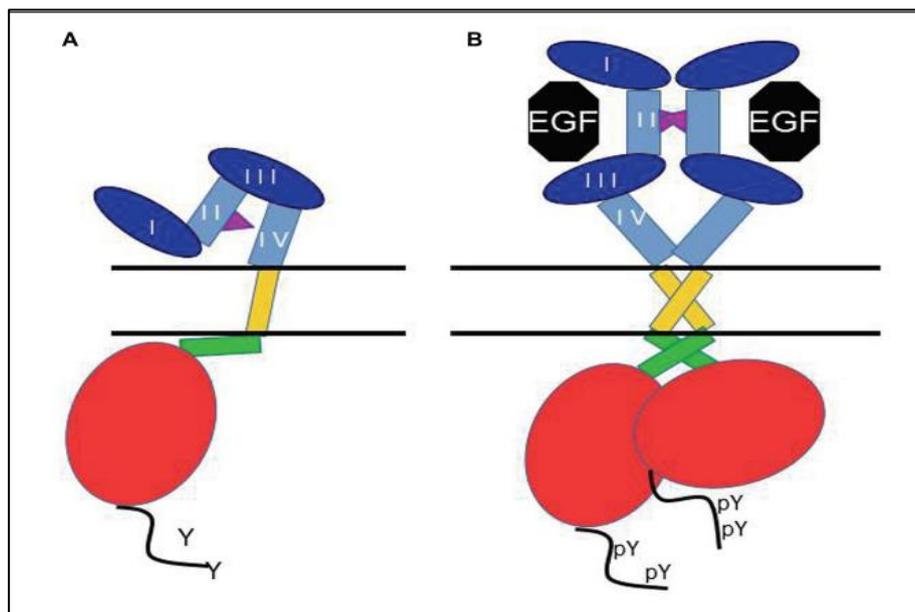


Figure 04 : Les principaux événements structuraux impliqués dans l'activation du récepteur EGF (Appert-Collin *et al.*, 2015).

I.2.4 Traitements

Plusieurs types de traitements sont utilisés, seuls ou en combinaison, pour traiter les différents cancers qui sont la radiothérapie, l'immunothérapie, chirurgie, chimiothérapie, hormonothérapie, les traitements médicamenteux et la greffe de cellules souches hématopoïétiques (Hagan et Donovan, 2012).

L'objectif des traitements du cancer colorectal est le ralentissement voire l'éradication de la tumeur primaire et ses métastases, et de réduire les récurrences (Hbib, 2023). Les traitements des cancers colorectaux reposent sur plusieurs possibilités, tel que :

I.2.4.1 La chirurgie

Lorsque le cancer colorectal est diagnostiqué à un stade précoce, c'est-à-dire lorsque la tumeur est localisée, celle-ci peut être réséquée par chirurgie (Hbib, 2023).

I.2.4.2 La chimiothérapie

C'est un traitement général, qui repose sur l'utilisation de médicaments pour éliminer les cellules cancéreuses. Les cancers du stade 0 et I ne sont pas concernés par la chimiothérapie. Elle est administrée après la chirurgie dans le cas des cancers avancés (stades : II, III et IV) (Van vuuren, 2015).

I.2.4.3 Les anticorps (AC) monoclonaux

L'apport des immunothérapies ciblées, avec l'arrivée en 2004 des anti-VEGF (Bevacizumab) et anti-EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) (Cetuximab) est non négligeable (Hurwitz *et al.*, 2004 ; Rodriguez *et al.*, 2010 ; Cunningham *et al.*, 2023 ; Hbib, 2023). Ces AC monoclonaux ont augmenté significativement le taux de réponse globale, la survie sans progression de la tumeur et la survie globale des patients (Winder et Lenz, 2010).

Au cours de la dernière décennie, un nouvel espoir a vu le jour après le développement de la thérapie ciblée avec la mise sur le marché de nouvelles molécules qui ciblent spécifiquement des protéines cellulaires comme l'EGFR (Diaz *et al.*, 2012 ; Misale *et al.*, 2012).

I.3 Flavonoïdes

I.3.1 Définition

Les flavonoïdes sont des produits naturels métabolites secondaire synthétisés par les plantes ou les bactéries (Crozier *et al.*, 2006). Sont abondants dans les fruits, les légumes et les thés, notamment dans les agrumes, répartis dans leur peau et leur pulpe (Wang *et al.*, 2021). Ces composés bioactifs sont responsables de la coloration des fleurs et sont produits à partir de la phénylalanine (Moulishankar et Lakchmanan, 2020). Les flavonoïdes constituent une classe de composés remarquablement diversifiée, avec plus de 10 000 flavonoïdes identifiés à ce jour (Wang *et al.*, 2022).

I.3.2 Structure des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés polyphénols de faible poids moléculaire comprenant une paire de cycle benzéniques (cycle A et B) avec des groupes hydroxyle, reliés par trois carbones (**Panche et al., 2016**). En plus des cycles phényle A et B, les flavonoïdes peuvent également abriter un cycle C hétérocyclique contenant de l'oxygène (**Wang et al., 2022**). La base structurelle des flavonoïdes est constituée d'une structure triple : l'unité cyclique de diphenylpropane (C6-C3-C6), un squelette de quinze carbones, comprenant deux cycles benzéniques (cycles A et B) reliés par un fragment C3. Ce dernier forme un cycle hétérocyclique à six chaînons (cycle C) attaché au cycle A (**Moulichankar et Lakshmanan., 2020**).

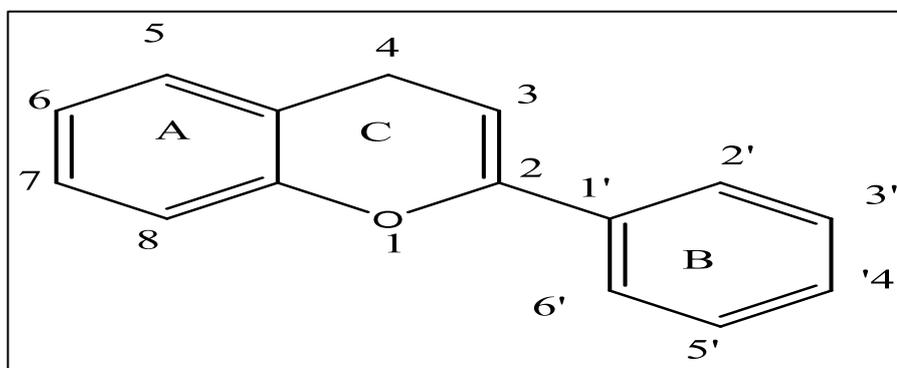


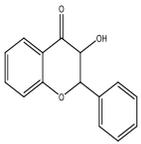
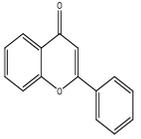
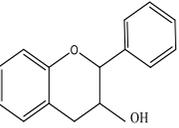
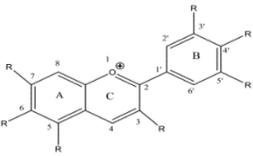
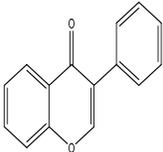
Figure 05 : Structure de base des flavonoïdes

I.3.3 Classification des flavonoïdes

Les flavonoïdes peuvent être classés en différentes catégories en fonction de leurs structures moléculaires : anthocyanes, flavonols, flavanols, flavones et isoflavones (**Khan et al., 2021**).

Les flavonoïdes sont des composés naturellement présents dans de nombreux fruits, légumes, céréales et boissons consommés dans l'alimentation humaine (**Panche et al., 2016**) représenté dans le tableau I

Tableau I : Classification des flavonoïdes (Iwashina, 2013 ; Hoensch et Oertel, 2015 ; Panche et al., 2016; Liu et al., 2019)

Classe	Caractéristique chimique	Structure chimique de base	Exemples	Source majeure	Bienfaits sur la santé
Flavonols	Fonction carbonyle en position 4 et d'une fonction hydroxyle en position 3		isorhamnétine kaempferol myricétine quercétine	Oignons, brocolis, thé, pomme, myrtilles	Régule la pression artérielle systolique, les niveaux glycémiques.
Flavones	Fonction cétone en position 4 et une double liaison entre les positions 2 et 3		apigénine luteoline	Persil, céleri, thé à la camomille, fenugrec, oignon, ail, poivre, agrumes	Régule la glycémie
Flavanols (catéchines)	Deux atomes asymétriques en positions 2 et 3 (C-2 et C-3)		catechines epicatechines	Abricots, cacao, chocolats, raisins rouges, vin rouge, thé	Réduit la pression artérielle moyenne. Améliore la résistance à l'insuline.
Anthocyanes	Constitués d'une molécule d'anthocyanidine (aglycone) et d'un sucre		cyanidine delphinidine malvidine	Baies, vin rouge, rouge chou, brillant fruits colorés, cerises, canneberges	Réduit le risque d'infarctus du myocarde.
Isoflavones	Groupe phényle, qui est attaché au carbone 3 au lieu du carbone 2 des flavones		daidzéine genistéine glycitéine	Soja, produits laitiers, œuf, viande	Bénéfique pour le diabète de type 2 (DT2)

I.3.4 Biosynthèse des flavonoïdes

La synthèse des flavonoïdes se déroule à l'intersection de deux voies métaboliques : la voie du shikimate et la voie de l'acétate. La première voie produit du p-coumaroyl-CoA, tandis que la seconde régule l'extension de la chaîne carbonée en C2 (**Li et al., 2022**). La phénylalanine ammoniaque-lyase (PAL) catalyse la désamination de la phénylalanine pour produire de l'ammoniac et de l'acide cinnamique (**Sun et al., 2018**). Par la suite, l'acide cinnamique 4-hydroxylase (C4H) catalyse la formation d'acide 4-coumarique (**Karak, 2019**). L'acide 4-coumarique : CoA ligase (4CL) transforme l'acide 4-coumarique en 4-coumaroyl-CoA, une molécule essentielle dans la voie métabolique des phénylpropanoïdes, qui contrôle la biosynthèse des flavonoïdes (**Zhao et al., 2021**).

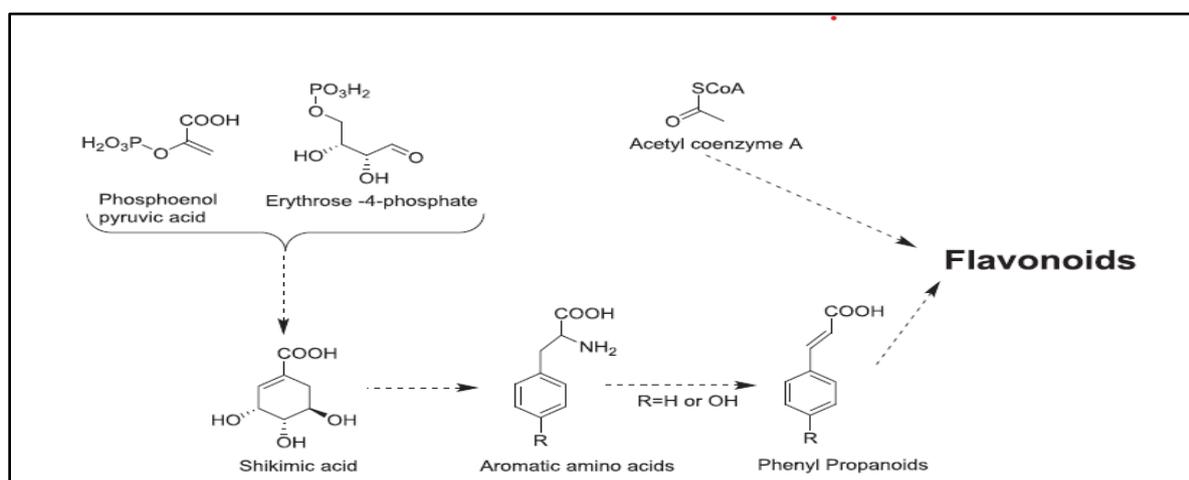


Figure 06 : Un aperçu de la voie de biosynthèse des flavonoïdes (**Nabavi et al., 2018**).

I.3.5 Propriétés pharmacologique des flavonoïdes

Ces composés bioactifs présentent de nombreuses propriétés pharmacologiques, notamment des activités antioxydantes, antivirales, antifongiques, antibactériennes, anti-inflammatoire, cardio-protectrices et anticancéreuses (**Weston et Mathesius, 2013 ; Al Aboody et Mickymaray, 2020**). Les interactions complexes entre les flavonoïdes et les protéines, notamment les enzymes, récepteurs, transporteurs et facteurs de transcription, expliquent leurs nombreux effets pharmacologiques bénéfiques sur la santé. Une meilleure compréhension de ces interactions ouvre la voie à de nouvelles applications thérapeutiques potentielles (**Shamsudin et al., 2022**).

Les flavonoïdes présentent des effets positifs sur différents types de cancer : côlon, poumons, prostate, pancréas. Divers mécanismes tels que l'inactivation cancérogène, l'arrêt du cycle cellulaire, l'antiprolifération, l'induction d'apoptose et l'inhibition de l'angiogenèse ont été signalés pour leur activité anticancéreuse (**Kopustinskiene, 2020**).

Les flavonoïdes sont métabolisés, peuvent potentiellement avoir des effets protecteurs contre la formation de tumeurs dans le côlon, tels que la régulation des voies de signalisation impliquées dans l'apoptose, la prolifération cellulaire, l'inflammation et la régulation du microbiote intestinal (**Li et al., 2018**).

Chapitre II. Docking Moléculaire

II.1 Docking moléculaire

II.1.1 Définition

Le terme docking moléculaire (ancrage, amarrage ou arrimage moléculaire en français) est une méthode bioinformatique utilisée pour la découverte des nouvelles molécules (par assemblage de deux ou plusieurs molécules), ou pour comprendre les propriétés des complexes moléculaires obtenu par cristallographie, pour prédire les interactions ligand- protéine et positionner un ligand (petite molécule) dans le site de liaison d'un récepteur (cible protéique) de manière à optimiser les interactions entre ce ligand avec le récepteur (**Beautrait, 2008**).

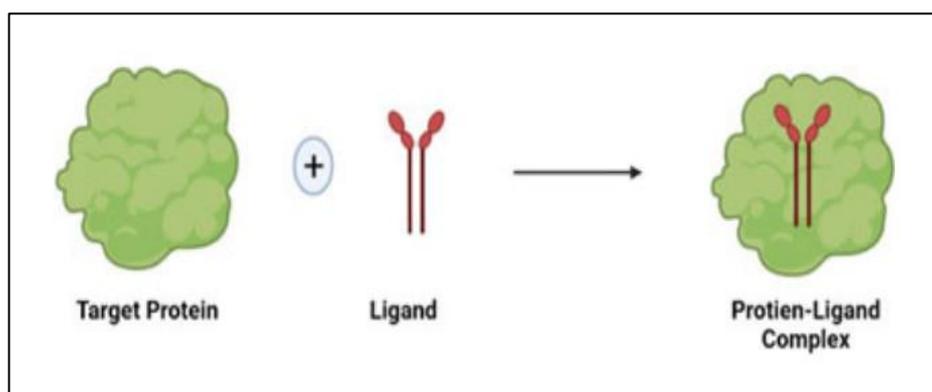


Figure 07 : Interaction Protéine-ligand (**Raval et Ganata, 2022**).

II.1.2 Principe

L'amarrage décrit le processus consistant à placer une molécule (ligand) sur le site actif d'une protéine cible dans un espace tridimensionnel (3D). Il permet de réaliser des criblages très rapides pour identifier des molécules pouvant avoir une forte activité sur la cible enzymatique (**Traore, 2016**). Le processus de docking moléculaire comprend deux étapes fondamentales : le searching et le scoring (Figure 08) (**Helperin et al., 2002**).

II.1.2.1 Le searching

Autrement dit algorithme de recherche, est une étape cruciale de sélection où le ligand est positionné dans le site actif de la protéine, et où différentes conformations, positions et orientations possibles (appelées poses) sont échantillonnées (**Saoussens, 2016**).

II.1.2.2 Le scoring

Le scoring est l'étape de classification, elle permet d'évaluer les conformations obtenues lors de la première étape par le calcul de l'énergie d'interaction entre ligands et protéines.

Le score est une donnée numérique utile pour quantifier le degré avec lequel un ligand se complexe à un récepteur. Ce score nous permet de garder la meilleure pose parmi toutes les poses proposées (Saoussens, 2016).

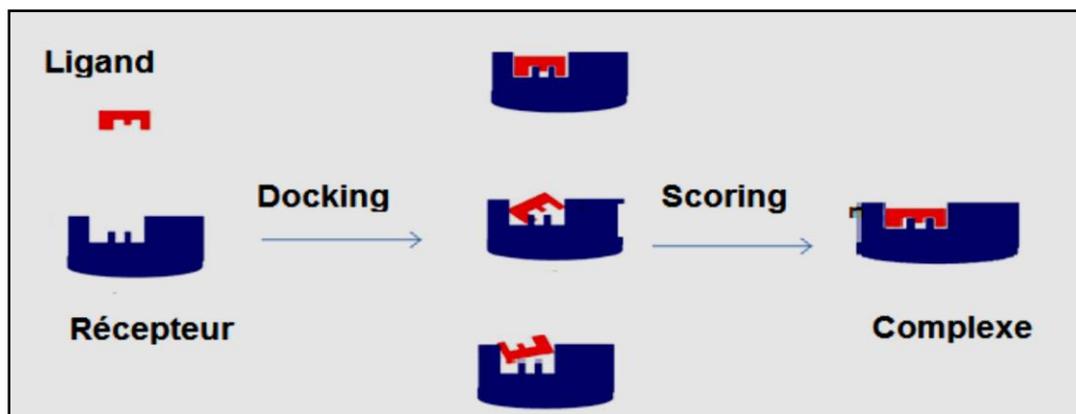


Figure 08 : Les deux étapes fondamentales (searching et scoring) (Errahmane, 2020).

II.1.3 Les outils du docking moléculaire

Les éléments essentiels pour faire un docking moléculaire se limitent en une petite molécule appelée ligand conçue pour interagir sur le plan moléculaire avec sa protéine cible appelée récepteur et un logiciel de docking qui prédit la conformation la plus favorable du ligand au sein du récepteur, fournissant des informations précieuses sur les interactions moléculaires et leur impact sur la voie de signalisation biologique dans laquelle la protéine est impliquée (McGann, 2011).

II.1.3.1 Récepteur

En termes de molécules, le récepteur est une protéine qui peut se lier spécifiquement et de manière réversible à une autre molécule appelée ligand (Guedes et al., 2013). La structure de la protéine cible doit être déterminée expérimentalement, généralement par cristallographie aux rayons X ou RMN (Burley et al., 2017 ; Fan et al., 2019).

II.1.3.2 Ligand

Un ligand est un atome, un ion ou une molécule qui se lie de manière réversible à une macromolécule cible (protéine ou acide nucléique) et joue couramment un rôle fonctionnel. Le terme est largement utilisé dans la recherche sur les protéines et fait référence à des molécules qui interagissent avec les protéines de manière non covalente est spécifique et jouent un rôle dans leur fonctions (Guedes et al., 2014). Le ligand peut jouer le rôle d'un activateur qui provoque changement conformationnel du site actif d'une enzyme en

augmentant son affinité pour son substrat ou d'un inhibiteur, ce type de ligand altère la structure électronique du site actif en diminuant l'affinité de l'enzyme pour son substrat (**D'Oliveira, 2009**).

II.1.4 Types du docking moléculaire

Les différents types du docking se distinguent par leurs conditions d'application et les types d'information qu'elles peuvent fournir

II.1.4.1 Le docking flexible

Docking flexible intègre une certaine flexibilité des protéines et des ligands, il ne permet pas une liberté totale de mouvement pour simplifier les calculs et les prédictions (**Brut, 2009**).

II.1.4.2 Le docking semi-flexible

Le docking semi-flexible est "asymétrique" et couramment utilisé pour le docking des protéines et des ligands. Dans ce cas, le ligand est considéré comme flexible tandis que la protéine est gardée rigide (**Brut, 2009**).

II.1.4.3 Le docking rigide

Le docking rigide est une approche simplifiée qui considère les molécules comme des corps rigides, permettant ainsi des calculs plus rapides mais au prix d'une précision moindre par rapport à la réalité biologique (**Brut, 2009**).

II.1.5 Les programmes de docking moléculaire

Les programmes de docking moléculaire jouent un rôle essentiel dans cette approche, en permettant la modélisation et la simulation de ces interactions de manière efficace et précise. Des principaux programmes disponibles tels que DOCK, AutoDock, GOLD, AutoDock Vina, FlexX, ArgusLab et PyRx (**Ounthaisong et Tangyuenyongwatana, 2017 ; Torres et al., 2019**). Ces programmes ont été développés dans le but d'obtenir une procédure rapide capable d'identifier un nouveau composé principale pour but de générer des informations précieuses sur la manière dont ces ligands interagissent avec la protéine cible (**Heberlé et Azevedo, 2011 ; Goyzueta-Mamani et al., 2022**).

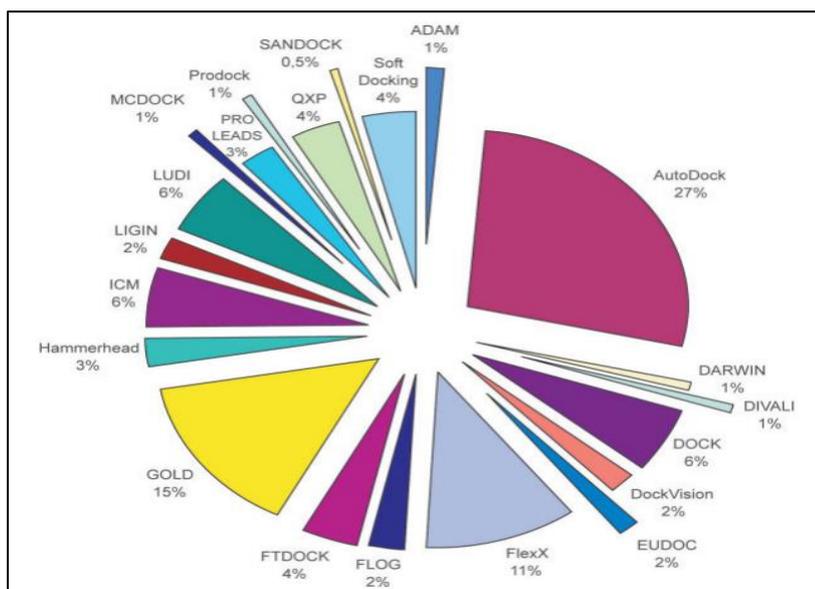


Figure 09 : Différents programmes de docking moléculaire (Sousa et al., 2006).

AutoDock Vina offre l'avantage d'être un logiciel de docking moléculaire hautement efficace et précis, permettant une prédiction rapide et fiable des modes de liaison protéine-ligand et des affinités, permet d'identifier rapidement des composés et d'optimiser leurs propriétés de liaison, accélérant ainsi le processus de découverte de médicaments. Le site de ce programme ainsi que d'autres se trouve dans le tableau II.

Tableau II : Adresses des principaux programmes de docking moléculaire (Taylor et al., 2003).

Nom	Editeur	Site internet
AutoDock	Scripps	http://www.scripps.cdu/mb/olson/doc/autodock/
Dock	UCSF	http://dock.compbio.ucsf.edu/
FlexX	BioSolveIT	http://www.biosolveit.de/FlexX/
Fred	OpenEyes	http://www.eyesopen.com/products/application/fred.html
Glide	Schrödinger	https://www.schrodinger.com/platform/products/glide/
Gold	CCDC	http://www.ccdc.com.ac.uk.products/life_sciences/gold/
ICM	Molsoft	http://www.molsoft.com/products.html
LigandFit	Accelrys	http://www.accelrys.com/cerius2/c2ligandfit.html
Surflex	Biopharmics	https://www.biopharmics.com/

II.1.6 Fonctions des scores

La fonction de notation offre une méthode permettant de classer le positionnement des ligands en fonction de leur proportion aux autres. Dans l'idéal, le score devrait être directement lié à l'affinité de liaison du ligand avec la protéine, de sorte que les ligands ayant le meilleur score soient les meilleurs facteurs de liaison (**Chaudhary et Mishra, 2016**). Le score est une mesure numérique précieuse qui permet d'évaluer le niveau de complexation d'un ligand avec un récepteur. Cette évaluation repose sur des champs de force, qui sont des fonctions mathématiques décrivant l'énergie d'un système en termes de somme de divers termes issus de la mécanique moléculaire. En d'autres termes, le score prédit l'affinité, qui peut être représentée par la variation de l'énergie libre (ΔG) résultant de la formation du complexe, soit

$$\Delta G = \Delta G \text{ complexe} - \Delta G \text{ ligand} - \Delta G \text{ protéine}$$

II.1.7 Les interactions récepteur-ligand

II.1.7.1 Les interactions électrostatiques

Les interactions électrostatiques ou ioniques sont l'ensemble de deux interactions réciproques qu'exercent l'un sur l'autre résultent d'une force d'attraction électrostatique entre deux atomes des charges opposées (**Renvez, 2010**). Les interactions électrostatiques attractives entre charges de signe opposé sont connues sous le nom de liaisons ioniques ou ponts salins. Il est essentiel que la distance entre les centres chargés soit maintenue en dessous d'environ 4,0 - 4,5 Å pour que l'interaction électrostatique puisse être qualifiée de liaison ionique en tant que telle (**Lahana, 1999**).

II.1.7.2 Les liaisons hydrogène

Une liaison hydrogène est une charge électrostatique entre un atome électronégatif dit "accepteur" (A porteur d'une charge partielle δ^-) et un atome d'hydrogène polaire (H porteur d'une charge partielle δ^+) qui est lié de manière covalente à un atome électronégatif dit "donneur" (D porteur d'une charge partielle δ^-) (**Munos, 2009**). Les atomes d'oxygène et d'azote sont les donneurs et accepteurs les plus courants. Une distance faible entre le donneur et l'accepteur est nécessaire pour qu'une LH soit significative (0,8 à 2,8 Å), et son énergie est maximale (de l'ordre de 5 kcal.mol⁻¹) (**Hajduk et al., 2011**).

II.1.7.3 Les interactions hydrophobes

La présence de groupes chargés ou d'atomes capables de former des liaisons hydrogènes ne permet pas l'hydratation des molécules. L'effet hydrogène définit la propension de ces

groupes à se fusionner afin de réduire le contact avec l'eau, Les molécules non polaires et peu polarisables ont tendance à se regrouper, ce qui crée une force de liaison hydrophobe. Les groupements vont se positionner de manière à présenter la plus faible surface de contact avec l'eau. Les groupements vont donc s'attirer mutuellement par des forces de type dispersion (London) (Guibedj, 2020).

II.1.7.4 Liaisons pi (π)

Les liaisons π sont un type d'interaction non-covalente qui se forme par un recouvrement latéral entre une orbitale π d'un ligand aromatique (comme un cycle benzénique) et une orbitale π d'un résidu aromatique de la protéine (Kumar et Balaji, 2014).

II.1.8 Analyse post-docking (propriétés ADME/T)

Après le processus de docking moléculaire des propriétés ADME/T (l'absorption, la distribution, le métabolisme, l'excrétion et la toxicité) des ligands sélectionnés émerge comme une étape cruciale pour évaluer leur potentiel pharmacologiques et leur sécurité. Un composé chimiquement actif, pour être qualifié de médicament, doit respecter certains paramètres définis par ces propriétés (Ojuka et al., 2023).

II.1.8.1 Absorption

La capacité d'un médicament à se dissoudre dans le liquide intestinal est un facteur clé pour son absorption efficace par l'organisme, car une faible solubilité peut entraver sa pénétration dans le système sanguin (Lagorce et al., 2017).

II.1.8.2 Distribution

Le mouvement du médicament dans le corps hôte depuis le site de son insertion jusqu'à son site cible est défini par les propriétés de distribution. On pense que les petites molécules ayant une masse moléculaire moindre sont faciles à transporter dans le système hôte, ce qui facilite leur distribution. Le volume de distribution (V_{dss}) est un indicateur de la quantité de ligand qui se lie aux tissus (Watanabe et al., 2018).

II.1.8.3 Métabolisme

Le métabolisme hépatique est aussi une barrière à la biodisponibilité orale des médicaments. Une fois arrivés dans la veine porte, ils doivent passer par le foie avant d'entrer dans la circulation systémique (Wang et al., 2023).

Au niveau des hépatocytes, il y a plusieurs enzymes qui peuvent les transformer chimiquement, principalement via des réactions d'oxydation par les cytochromes P450 et des réactions de conjugaison à des groupements polaires entraînant leurs excrétions (**Guengerich, 2001**).

II.1.8.4 Excrétion

L'excrétion fait référence à l'élimination du médicament après son activité par le système excréteur, généralement la miction. Si un médicament n'est pas facilement excrété après l'activité, il peut alors provoquer des effets indésirables dans l'organisme (**Pires et al., 2015**).

II.1.8.5 Toxicité

L'une des principales causes d'échec dans les derniers stades du développement d'un médicament est la toxicité, c'est-à-dire la mesure dans laquelle une molécule pourrait nuire à un organisme ou à des organes de l'organisme, La détection précoce de la toxicité serait donc très bénéfique (**Shaker et al., 2021**).

Partie expérimentale

Chapitre III. Matériels et Méthodes

III.1 Matériels

III.1.1 Micro-ordinateur

Cette étude a été effectuée en utilisant deux micro-ordinateurs de marque **HP** dotés des caractéristiques décrites dans le Tableau III.

Tableau III : Les micro-ordinateurs utilisés et leurs caractéristiques.

Caractéristiques	Micro-ordinateur 1	Micro-ordinateur 2
Mémoire intégrée (RAM)	8,00Go	4,00 Go
Processeur	Intel(R) Core (TM) i5-5300U CPU 2.30 GHz SSD	Intel ® Celeron(R) CPU 1000M @ 1,80GHz
Type de système	64 bits	64 bits
Système d'exploitation	Windows 10 Professionnel	Windows 10 Professionnel

III.1.2 Banque de données et serveurs en ligne

III.1.2.1 PDB

La Base de données sur les protéines, connue sous le nom de Protéine Data Bank (PDB), constitue une ressource précieuse fournissant des informations riches sous la forme de structures tridimensionnelles (3D) obtenues grâce à des techniques expérimentales telles que la cristallographie macromoléculaire, la spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN) et la microscopie électronique (3DEM). Dans le cadre de cette étude, la protéine Récepteur du Facteur de Croissance Épidermique (EGFR) (code PDB : 7U99) a été téléchargée depuis la base de données PDB.



Figure 10 : Interface de la plateforme PDB.

III.1.2.2 PubChem

PubChem est une base de données publique sur les produits chimiques hébergée au Centre national d'Information sur la biotechnologie (NCBI) de la Bibliothèque nationale de Médecine (NLM), un institut des National Institutes of Health (NIH) des États-Unis. Cette plateforme a été utilisée pour recueillir les ligands utilisés dans le cadre de cette étude.

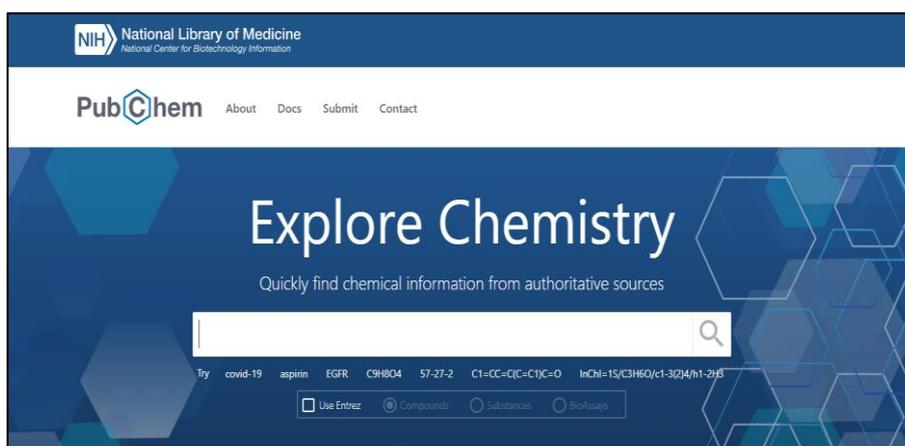


Figure 11 : Interface graphique de la plateforme Pubchem.

III.1.2.3 Swiss ADME

SwissADME est un serveur utilisé pour la vérification des règles de Lipinski en calculant les propriétés physico-chimiques des molécules (Mvondo, et al., 2021).

III.1.2.4 pkCSM

pkCSM est un serveur en ligne utilisée pour évaluer la pharmacocinétique et la toxicité des composés chimiques (**Mvondo, et al., 2021**). Ce site a été exploité dans la présente étude pour évaluer les paramètres pharmacocinétiques des ligands étudiés après le docking, ainsi que leur sécurité.

III.1.3 Programmes

Notre recherche implique l'utilisation de cinq programmes informatiques qui sont les suivants :

III.1.3.1 Open Babel

Le logiciel Open Babel, a été utilisé pour convertir les ligands étudiés de format SDF (structure Data File) au format PDB (**O'Boyle et al., 2011**).

III.1.3.2 ChemDraw

ChemDraw est un logiciel outils qui permet d'estimer des structures chimique bidimensionnelles et tridimensionnelles (**Alasadi et Al-Obaidi, 2023**). ChemDraw (19.1) a été utilisé pour minimiser l'Energie des intermoléculaire des ligands.

III.1.3.3 PyRx

PyRx est un logiciel utilisé pour réaliser une stimulation d'amarrage moléculaire après la préparation du ligand et de la protéine étudiée (**Dibha et al., 2022**).

III.1.3.4 Discovery Studio

Discovery Studio est un programme de visualisation moléculaire utilisé pour visualiser les interactions entre la protéine et le ligand (**Dibha et al., 2022**).

III.1.3.5 Excel

Excel 2019 a été utilisé pour établir une courbe de corrélation entre les énergies d'interaction issues du Docking et les valeurs log50 des inhibiteurs répertoriés dans la littérature, ceci afin de valider la fiabilité du programme de Docking.

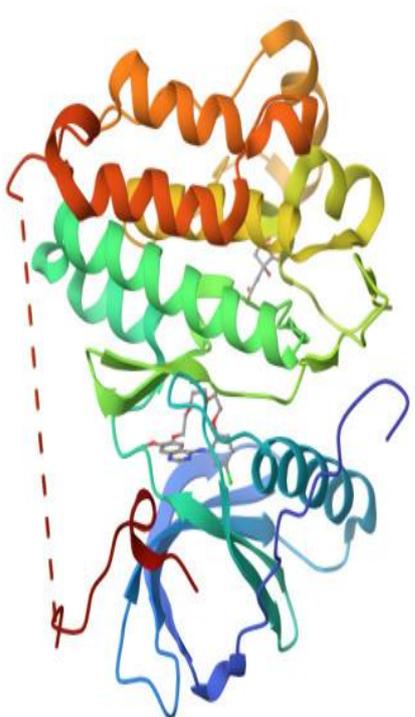
III.2 Méthodes

III.2.1 Sélection de la protéine cible et des ligands d'intérêt

III.2.1.1 Choix de la protéine

La structure tridimensionnelle de récepteur du facteur de croissance épidermique EGFR « Epidermal Growth Factor Receptor » a été téléchargée au format PDB via la banque de donnée PDB avec code d'identification 7U99. Le choix de ce complexe est dicté par sa valeur de résolution 2.5 Å et son poids moléculaire 38,26 kDa, le site actif du récepteur a été identifié à l'aide des informations disponibles sur la plateforme PDB obtenues par **Amrhein et al. (2022)**.

Tableau IV : Les caractéristiques de récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR).

Code	7U99	
Chaîne	A	
Résolution	2,50	
Séquence	311	
Organisme	<i>Homo sapiens</i>	
Mutation	0	
Ligand	Inhibiteur macrocyclique (MOR)	

III.2.1.2 Choix des ligands

Les treize (13) molécules ont été choisies grâce à leur code CID : EGCG (CID:107905) ; isorhamnetine (CID:5281654) ; Apigénine (CID:5280443) ; Morine (CID:5281670) ; Eriodictyol (CID:440735) ; Kaempferol (5280863) ; Genisteine (CID:5280961) ; Wogonine (CID:5281703) ; Chrysine (CID:5281607) ; Myricetine (CID:5281672) ; Fisetine (CID : 5281614) ; Malvidine (CID:159287) ; Tangeretine (CID:68077) ; 19-chloro-22-méthoxy-8,9,11,12,14,15-hexahydro-21H-4,6-éthénopyrimido[5,4m][1,4,7,10,15]benzotétraoxazacyclo heptacine (MOR) (CID:169452785). Ces molécules ont été téléchargées à partir de la plate-forme Pubchem.

III.2.2 Préparation des molécules

III.2.2.1 Préparation de la protéine

La protéine a ensuite été préparée à l'aide du logiciel Discovery Studio en ajoutant les hydrogènes manquants et en retirant les molécules d'eau. Ci-dessous se trouve l'image de la protéine avant la suppression des molécules d'eau et l'ajout des hydrogènes.



Figure 12 : Structure de la protéine avant prétraitement dans Discovery Studio.

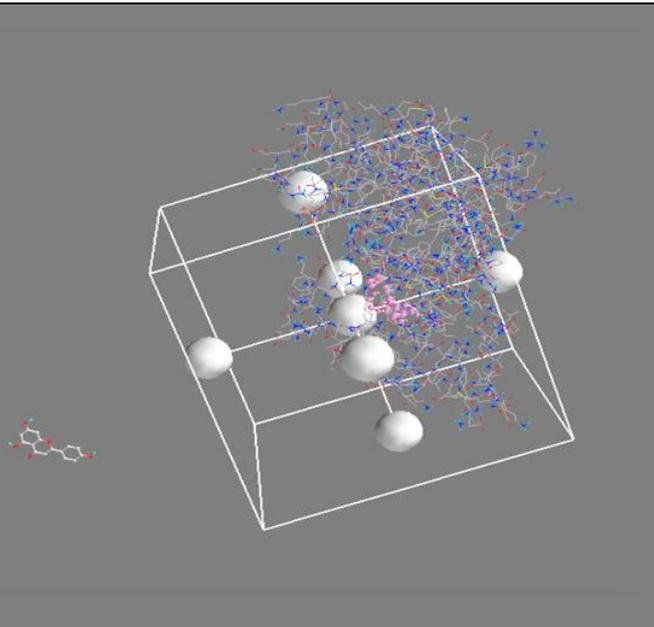
III.2.2.2 Préparation des ligands

Les treize (13) ligands bidimensionnelle (2D) proviennent de la base de données Pubchem et étaient initialement au format SDF. Ils ont ensuite été convertis au format PDB à l'aide du programme OpenBabel. Energie des molécules a été on suite minimisée à l'aide du logiciel ChemDraw.

III.2.3 Criblage virtuel par le PyRx

Suite à la préparation du récepteur et des ligands, une analyse d'amarrage moléculaire a été réalisée à l'aide AutoDock Vina intégré dans PyRx. Une boîte de grille (Grid box) a été générée sur le site actif de la protéine. Les dimensions et le positionnement de la boîte sont illustrés dans le tableau (V)

Tableau V : la position et les dimensions de la boîte.

Axes	Dimensions (Angstrom) Å	
X	48.2023	
Y	48.1964	
Z	48.4299	

III.2.4 Test d'évaluation de la fiabilité du programme

Avant de poursuivre l'analyse *in silico*, il est nécessaire d'étudier la fiabilité de logiciel d'ancrage moléculaire. Le test de coefficient de corrélation (R^2) a été réalisé pour confirmer la fiabilité de logiciel utilisé (PyRx).

III.2.5 Analyse visuelle

Après le criblage réalisé par le programme PyRx, les complexes EGFR-ligands présentant une faible énergie ont été importés dans le logiciel Discovery Studio afin de visualiser toutes les interactions mise en jeu.

III.2.6 Analyse pharmacocinétique

Les composés les plus prometteurs, ayant présenté une forte affinité avec le récepteur EGFR, ont été soumis à une évaluation de leurs paramètres pharmacocinétiques et leur potentiel en tant que médicaments. Cette évaluation s'est basée sur deux analyses : les règles de Lipinski et le filtrage AD

III.2.6.1 Règles de Lipinski

La « règle des 5 » dites les règles établies par Lipinski (**Lipinski et al., 1997**) représentent un élément fondamental de la chimie médicinale moderne. Selon cette règle, un composé possède toutes les chances d'être disponible oralement s'il respecte au moins 3 des 5 critères suivants :

- Possède une masse moléculaire inférieure à 500 daltons.
- Un coefficient de partition (log P) ou une lipophilie entre -2 et 5.
- Ne possède pas plus de 5 donneurs de ponts hydrogène (OH et NH).
- Ne possède pas plus de 10 accepteurs de ponts hydrogène (O et N).
- Le nombre de fonctions rotatives (flexibles et linéaires) inférieur à 15.

Pour vérifier cette règle le serveur SWISADME (<http://www.swissadme.ch>) à été utilisé pour les molécules les plus prometteuses.

III.2.6.2 Filtrage ADME/T

Dans le but d'évaluer la pharmacocinétique et la sécurité des composés sélectionnés, les paramètres ADME/T (absorption, distribution, métabolisme, excrétion et toxicité) ont ensuite été vérifiés en utilisant le serveur PKCSM (<https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsm/prediction>).

Chapitre IV. Résultats et discussion

IV.1 Analyse d'affinité du complexe

Les résultats du docking moléculaire indiquent neuf positions potentielles pour chaque ligand. La première position dans le tableau obtenu (Annexe1) est plus favorable en ce qui concerne la liaison et l'interaction entre le ligand et le site actif de la protéine.

Le tableau VI présente les résultats d'affinité des 13 ligands (inhibiteurs) étudiés obtenus dans la première position et classés par ordre décroissant d'affinité de liaison au site actif de l'enzyme EGFR. L'énergie de liaison ΔG est exprimé en Kcal /mol plus la valeur de ΔG est faible, plus l'affinité est forte.

Tableau VI : Affinité de liaison des ligands avec le récepteur EGFR (Kcal/mol).

Ligands	RMSD	Affinité (ΔG) Kcal /mol
MOR	0,0	-8,9
EGCG	0,0	-8,3
Isorhamnetine	0,0	-8,0
Apigénine	0,0	-7,9
Morine	0,0	-7,9
Eriodictyol	0,0	-7,8
Kaempferol	0,0	-7,8
Genisteine	0,0	-7,7
Wogonine	0,0	-7,7
Chrysin	0,0	-7,6
Myricétine	0,0	-7,6
Fisetine	0,0	-7,6
Malvidine	0,0	-7,3
Tangerétine	0,0	-6,6

D'après les résultats de l'énergie d'affinité nous n'observons que les flavonoïdes présentes une énergie d'interaction faible. Cela signifie donc une meilleure affinité et des interactions spécifiques entre les flavonoïdes et le récepteur EGFR plus l'énergie d'interaction est faible, plus l'affinité est grande.

Parmi les (13) ligands présentés dans le tableau VI, les trois ayant les plus prometteurs pour l'interaction avec la protéine EGFR et qui présentent un meilleur score de docking moléculaire ont été identifiés : EGCG (-8.9 Kcal /mol), isorhamnetine (-8.3 Kcal /mol), apéginine (-7.9 Kcal /mol). Ces ligands présentent des affinités presque équivalentes à celle du standard MOR, évaluée à (-8,9 Kcal /mol). Tangéretine avec une énergie d'interaction de (-6,6 Kcal /mol) présente la plus faible affinité parmi les ligands étudiés pour la protéine EGFR. Cette énergie relativement élevée indique une interaction moins favorable.

Les résultats des études *in vitro* menées par **Wang et al. (2023)**, **Dubey et al. (2023)** et **Zubair et Bandyopadhyay. (2023)** confirment que l'EGCG, l'isorhamnétine et l'apigénine, inhibent le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR) dans le cancer colorectal.

IV.2 Test de fiabilité du programme de docking

Le coefficient de Pearson est un outil statistique puissant pour quantifier la relation entre deux variables (**Idrissi et Charif, 2023**). Cette corrélation est pour but d'examiner la relation entre ces variables aléatoires (**Ech-Chelfi, 2022**).

Le coefficient de corrélation a été calculé en établissant une droite de régression linéaire entre les valeurs des énergies d'interaction (ΔG) des inhibiteurs de l'EGFR obtenues via Auto Dock Vina et les valeurs de log IC50 déterminées expérimentalement lors de tests *in vitro*.

Les résultats de ce test sont représentés dans le tableau VII et dans la figure 13.

Tableau VII : les énergies d'interaction (ΔG) et l'activité biologique (IC50) des 13 inhibiteurs d'EGFR

Composées	ΔG	IC50 (μM)	LogIC50	Références
Tangeretine	-6,6	1115,4	3,05	(Alam et al., 2018)
Malvidine	-7,3	1128,3	3,05	(Alam et al., 2018)
Fisetine	-7,6	448,7	2,65	(Chen et al., 2015)
Myricetine	-7,6	233,4	2,36	(Zhu et al., 2020)
Chryisine	-7,6	165	2,21	(Alam et al., 2018)
Wogonine	-7,7	150	2,18	(Alam et al., 2018)
Genisteine	-7,7	135	2,13	(Qin et al., 2016)
Kaempferol	-7,8	109,4	2,03	(Wang et al., 2017)
Eriodictyol	-7,8	105	2,02	(Debnath et al., 2022)
Morine	-7,9	64,16	1,8	(Budisan et al., 2019)
Apigénine	-7,9	67,92	1,83	(Cheng et al., 2021)
Isorhamnetine	-8	56,24	1,75	(Alam et al., 2018)
EGCG	-8,3	42,2	1,62	(Alam et al., 2018)

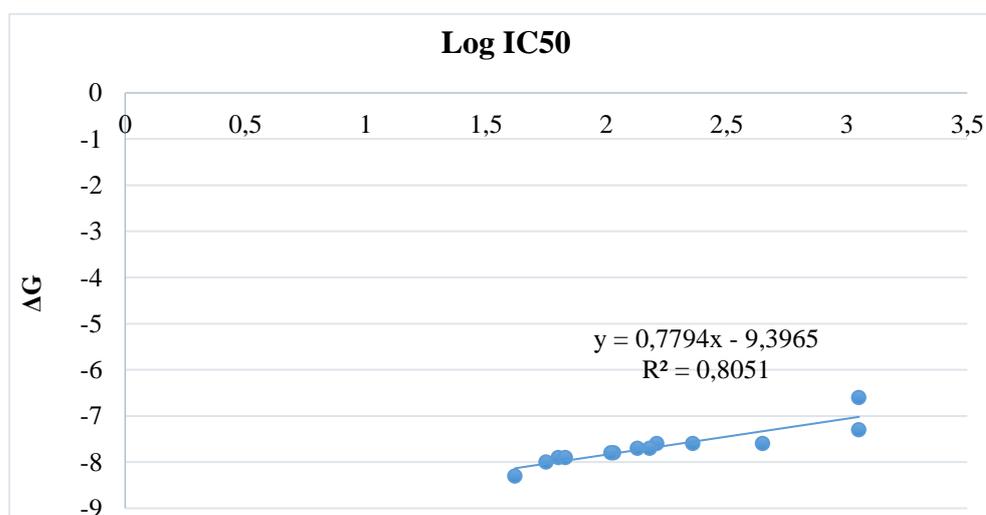


Figure 13 : Régression linéaire entre les valeurs de ΔG et le log IC50 des 13 inhibiteurs d'EGFR.

Le coefficient de corrélation de Pearson permet d'évaluer l'intensité et le sens de la corrélation qui existe entre deux variables. La valeur du coefficient de corrélation est située entre -1 et 1. Plus le coefficient de corrélation est proche des valeurs extrêmes -1 et 1, plus la corrélation linéaire entre les variables est forte (Gimenes, 2023).

Dans notre étude, l'analyse de régression linéaire révèle un coefficient de corrélation de 0.80 qui est une valeur supérieure à la norme (0,5). Cette observation met en évidence une forte corrélation entre les valeurs montrant qu'il existe une bonne corrélation entre les valeurs expérimentales des inhibiteurs (IC50) et leurs énergies d'interaction.

La figure 13 met en évidence une corrélation forte entre les énergies d'interaction et les IC50 des inhibiteurs étudiés, avec un coefficient de corrélation évalué à 0,80. Les résultats obtenus confirment une corrélation significative entre la structure moléculaire des inhibiteurs et leur activité inhibitrice.

IV.3 Analyse visuelle des interactions établies entre le ligand et le récepteur EGFR

L'analyse visuelle est une étape fondamentale qui consiste à vérifier et à comparer les résultats de l'énergie d'interaction (ΔG) ainsi que la superposition des molécules. Elle permet également d'observer et de dénombrer les différentes interactions réalisées entre le ligand et les résidus du site actif de la protéine cible. Les résultats de la visualisation du site actif de la protéine sont présentés dans les figures 14 et 15.

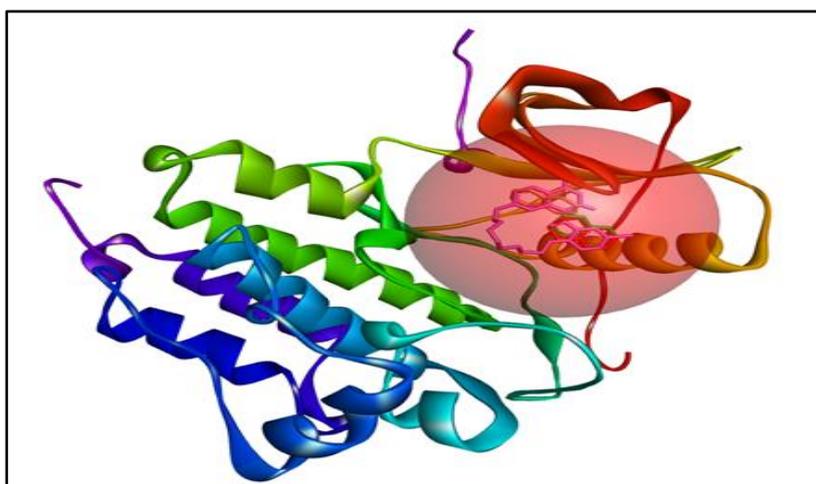


Figure 14 : Visualisation du site actif du récepteur EGFR suite au docking moléculaire avec les ligands isorhamnetine (vert) et d'EGCG (rouge), apigénine (crevette) et MOR (rose).

La Figure 14 illustre le site actif du récepteur EGFR suite à l'amarrage moléculaire avec les ligands isorhamnetine (vert), EGCG (rouge), apigénine (crevette) et MOR (rose). Chaque ligand, bien que structuralement distinct, se lie efficacement au même site actif. Cette observation suggère une flexibilité dans la reconnaissance des ligands par le récepteur EGFR.

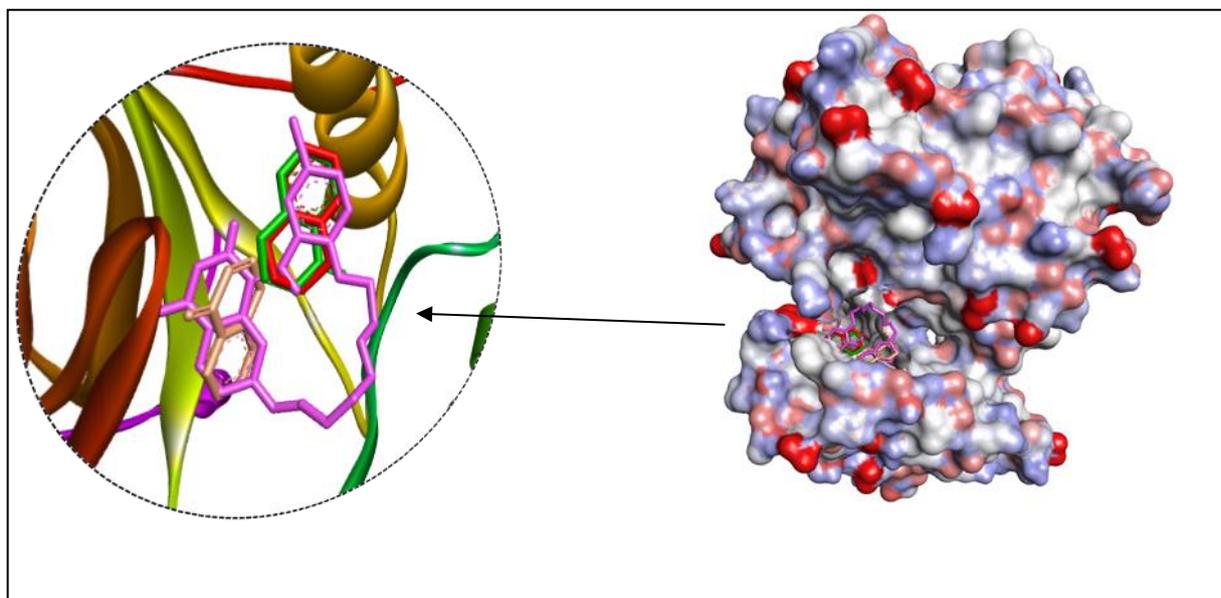


Figure 15 : Cartographie de surface montrant les ligands isorhamnetine (vert) ; EGCG (rouge) ; apigénine (crevette) et MOR (rose) occupant la poche active de EGFR (7U99).

La Figure 15 présente une cartographie de surface montrant les ligands isorhamnetine (vert), EGCG (rouge), apigénine (crevette) et MOR (rose) occupant la poche active du récepteur EGFR (7U99). Comme illustré dans cette figure, les ligands isorhamnetine (vert) et EGCG (rouge) se superposent et occupent une partie commune de la poche active du récepteur EGFR. Cela suggère une similarité dans leur mode de liaison. D'autre part, le MOR est également partiellement superposée avec ces deux ligands, mais elle occupe une autre région de la poche active. En revanche, l'apigénine se superpose à une autre partie la molécule de référence (MOR). Cette observation indique que l'apigénine peut avoir une affinité différente ou un mode de liaison distinct par rapport aux autres ligands.

Le détail des interactions récepteur-ligand pour chaque composé sont illustrés dans le tableau VIII et les figures 16, 17, 18,19.

Tableaux VIII : Tableau d'interactions montrant les différentes interactions chimiques de EGCG ; isorhamntine ; apigénine dans la poche de liaison.

Composés	Les acides aminés	Type interaction	La distance (Å)
EGCG	Glu A : 762	Pi-anion	4,16
	Ile A : 759	Pi-alkyl	5,44
Isorhamntine	Lys A : 745	Pi-cation	3,53
	Glu A : 762	Pi-anion	4,07
	Ile A : 759	Pi-alkyl	5,32
Apigénine	Val A : 726	Pi-alkyle	5,26
	Lys A : 745		5,24
	Lys A : 745		5,21
	Gly A : 721	Liaison hydrogène conventionnelle	2,75
	Gly A : 724		2,67
	Lys A : 745		2,55
MOR	Glu A : 762	Charge attractive	4,98
	Glu A : 762	Pi-anion	4,25
	Val A : 726	Pi-Alkyl	5,45
	Lys A : 745		5,29
	Ala A : 755	alkyl	4,34
	Ile A : 759		4,41
	Leu A : 747		4,33
	Asp A : 855	Liaison carbone hydrogène	3,45

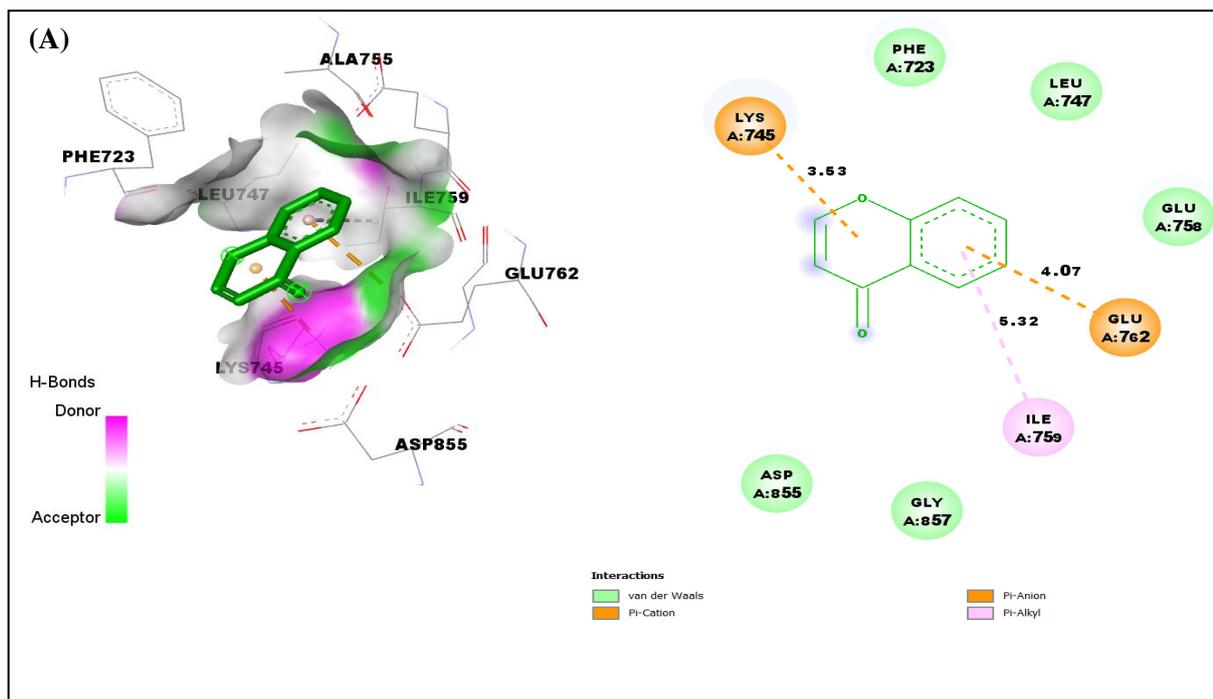


Figure 16 : Images 3D et 2D des interactions entre les résidus d'acides aminés actifs de EGFR et de l'sorhamnetine (A).

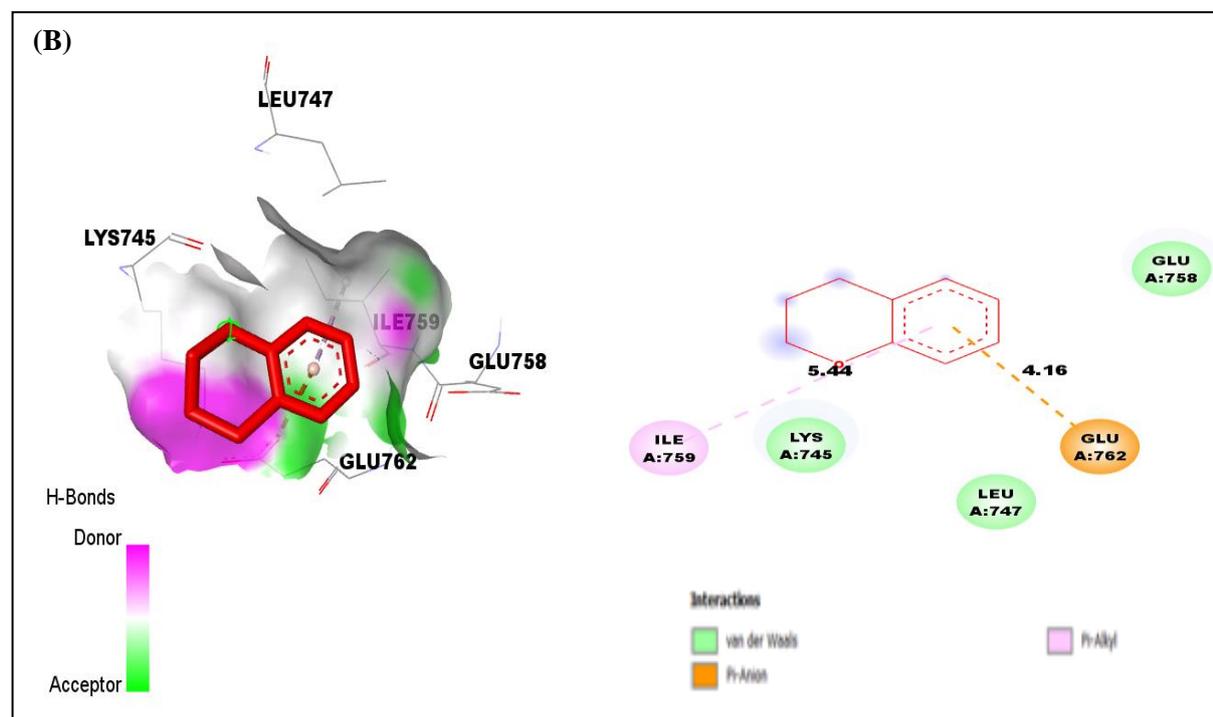


Figure 17 : Images 3D et 2D des interactions entre les résidus d'acides aminés actifs de EGFR et de EGCG (B).

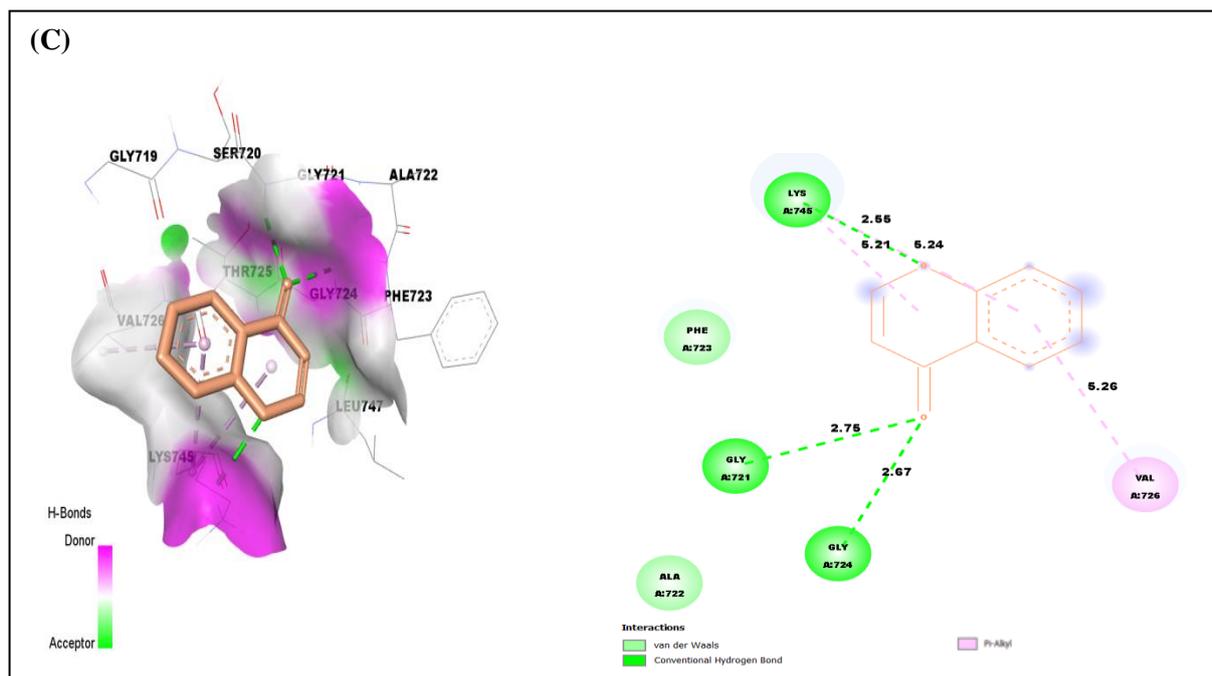


Figure 18 : Images 3D et 2D des interactions entre les résidus d'acides aminés actifs de EGFR et de l'apigénine (C).

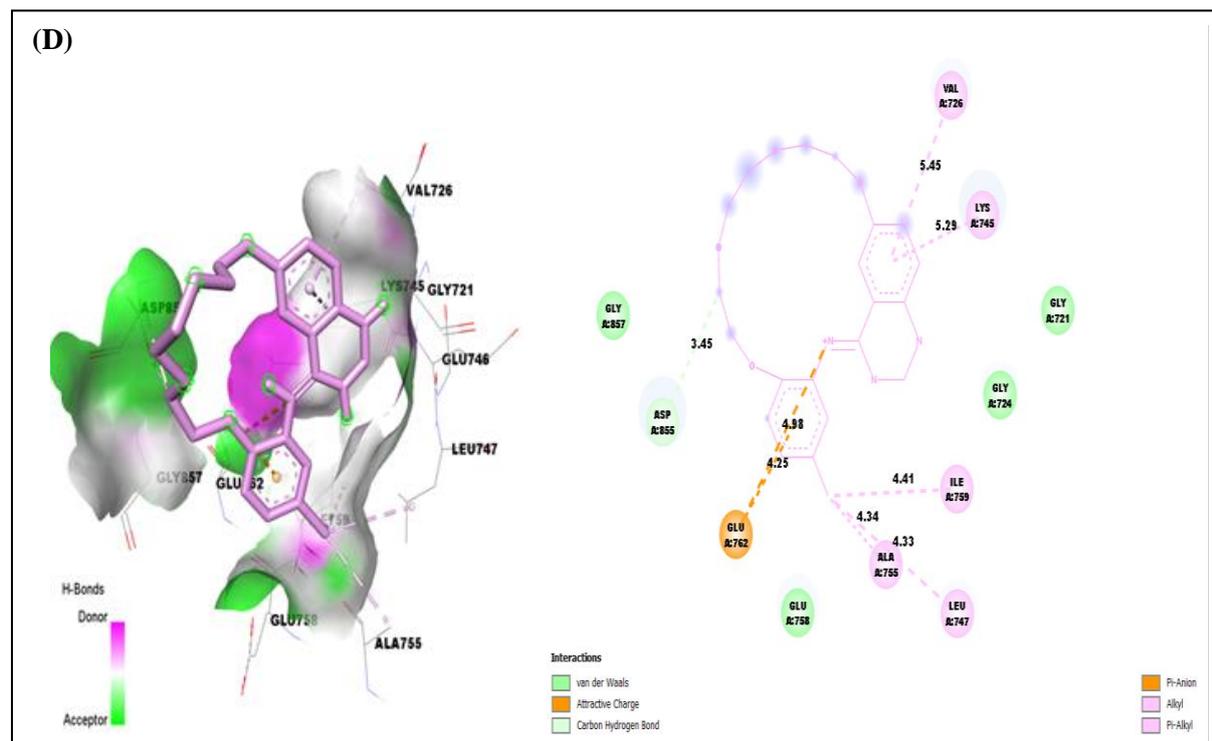


Figure 19 : Images 3D et 2D des interactions entre les résidus d'acides aminés actifs de EGFR et de Standard MOR (D).

Les interactions entre EGFR et les ligands isorhamnetine, EGCG, apigénine et MOR sont présentées respectivement dans les figures 16A, 17B, 18C et 19D. Comme indiqué dans les figures 16A et 17B, les ligands EGCG et isorhamnetine se lient dans une région similaire à celle du ligand de référence MOR (figure 19D), partageant l'acide aminé Glu762 avec une liaison électrostatique forte de type Pi-anion. De plus, l'isorhamnetine (figure 16A) et l'EGCG (figure 17B) se lient par une liaison hydrophobe faible de type Pi-alkyle à l'acide aminé isoleucine en position 759 (Ile759).

En revanche, l'apigénine (figure 18C) montre une très forte affinité pour le récepteur, démontrée par trois liaisons hydrogène avec les acides aminés Gly721, Gly724 et Lys745, toutes à des distances inférieures à 3 Å (tableau VIII), soulignant la robustesse de ces interactions. Ce composé présente également une région similaire à celle du ligand de référence MOR (figure 19D), partageant l'acide aminé valine en position 726 (Val726) avec des liaisons hydrophobes de type Pi-alkyle faibles, dépassant 5 Å (tableau VIII). L'apigénine montre aussi d'autres interactions faibles, avec des distances de 5,21 Å et 5,24 Å, sous forme de liaisons Pi-alkyle impliquant le noyau benzénique de l'acide aminé lysine en position 745 (Lys745). Ces interactions partagent une zone similaire avec le ligand de référence MOR, à une distance presque identique de 5,29 Å.

Ces résultats confirment que les trois composés, EGCG, isorhamnetine et apigénine, ont une forte affinité pour le récepteur EGFR et présentent des similarités significatives avec le ligand de référence MOR, expliquant leur excellente activité anticancéreuse démontrée in vitro. L'apigénine, en particulier, montre une affinité plus forte pour le récepteur, se liant par plusieurs liaisons hydrogène robustes et présentant des interactions hydrophobes supplémentaires, renforçant ainsi sa stabilité dans le site actif. Les liaisons hydrogène sont des interactions intermoléculaires fortes qui se forment entre des molécules voisines jouent un rôle crucial dans la stabilisation du complexe (**Ambrose et al., 2018**). Les interactions hydrophobes entraînent un rapprochement des chaînes intermoléculaires, augmentant ainsi leur affinité. Ce phénomène réduit la surface de contact avec l'eau, permettant aux liaisons hydrogène de rester stables et non perturbées par l'eau (**Pellerano, 2019**).

IV.4 Validation des ligands en tant qu'agents thérapeutiques potentiels

IV.4.1 Les cinq règles de Lipinski

Les règles de Lipinski sont largement utilisées pour orienter la conception de nouveaux médicaments en favorisant la biodisponibilité orale des composés et en réduisant les risques d'échec lors des phases de développement.

Le résultat de ce test est présenté dans le tableau IX.

Tableau IX : Résultats de cinq règles de Lipinski pour les quatre ligands.

Ligands	Poids moléculaire(PM) (<500g/mol)	Accepteur de Liaison hydrogène (≤ 10)	Donneur de liaison hydrogène (≤ 5)	Lipophilie (log P<5)	Liaisons rotatives (≤ 15)
EGCG	458,37	11	8	2,2332	3
Isorhamnetine	316,26	7	4	2,291	2
Apigénine	270,24	5	3	2,5768	1
MOR	337,387	6	4	2,4221	0

À travers l'analyse des ligands (EGCG, isorhamnitine, apigénine, MOR) effectuée à l'aide de SwissADME en termes de cinq paramètres différents

Tous les ligands respectent la condition d'un poids moléculaire inférieur à 500 g/mol, ce qui signifie qu'ils sont légers sur le plan moléculaire et favorise une meilleure absorption dans l'organisme, bénéfique pour des applications pharmaceutiques. En ce qui concerne les accepteurs de liaisons hydrogène, l'EGCG dépasse cette limite avec 11 accepteurs de liaison hydrogène, tandis que l'isorhamnitine, apigénine et MOR présentent respectivement 7, 5 et 6 liaisons, montrant également des affinités notable et validant un nombre Accepteur de liaison hydrogène ≤ 10). En revanche, ce qui concerne les donneurs d'obligations hydrogène notent que l'EGCG présente 8 donneurs de liaison hydrogène. Tandis que l'isorhamnétine et MOR présentent tous deux 4 liaisons, et apigénine montre le nombre le plus faible avec seulement 3 liaisons et respectent la condition d'un nombre de donneurs et d'accepteurs inférieur ou égale ≤ 5 .

Lipophilie (Log P<5) est la moyenne arithmétique consensuelle des cinq méthodes proposées. Les ligands respectent les limites recommandées de lipophilie (Log P), indiquant une balance lipophile favorable pour une bonne interaction, avec des valeurs comprises entre 2,23 et 2,58.

Enfin, les composés EGCG, Isonorhamnetine et apigénine sont validés car ils présentent un nombre de liaisons rotatives inférieur à 15, l'EGCG présente 3 conformations, suggérant une certaine flexibilité dans sa structure, tandis que l'isonorhamnetine et l'apigénine montrent respectivement 2 et 1 conformations, indiquant également une certaine flexibilité mais peut-être moins prononcée que celle de l'EGCG. L'inhibiteur macrocyclique n'a aucune liaison rotative, suggérant une structure solide ou très limitée dans sa flexibilité.

D'après le tableau IX, les composés isonorhamnetine et apigénine respectent parfaitement les règles de Lipinski en plus de présenter des affinités (-8 kcal/mol) et (-7,9 kcal/mol) respectivement.

IV.4.2 Filtrage ADME/T

Une analyse pharmacocinétique des inhibiteurs prédits par docking moléculaire est réalisée pour confirmer la sélection du composé le plus prometteur pour inhiber la protéine EGFR. Les paramètres ADME/T aident à évaluer l'efficacité et la sécurité d'un médicament en vérifiant s'il atteint correctement ses cibles thérapeutiques et s'il présente des risques inacceptables.

L'absorption est essentielle, car si un médicament n'est pas absorbé par sa cible, son efficacité est compromise. La solubilité dans l'eau est cruciale pour permettre l'absorption et la biodisponibilité du médicament, ajustable par des formulations galéniques. La distribution évalue la répartition du médicament dans les tissus et organes, avec le volume de distribution apparent comme indicateur. Le métabolisme, principalement dans le foie, est crucial pour l'activité du médicament, notamment par les enzymes du cytochrome P450. L'excrétion, par le système excréteur, est nécessaire pour éviter les effets indésirables post-utilisation.

La toxicité est un aspect crucial, évaluée par des tests comme AMES, la toxicité hépatique et la toxicité aiguë orale chez le rat. Elle permet d'identifier les effets nocifs potentiels du médicament sur l'organisme. En somme, cette analyse vise à garantir que le médicament atteint efficacement sa cible, est métabolisé correctement, est éliminé sans effets nocifs et ne présente pas de risques de toxicité inacceptables.

Le tableau X fournit des informations utiles sur les propriétés ADMET des quatre ligands. Ces informations peuvent être utilisées pour évaluer la sécurité et l'efficacité des ligands en tant qu'agents thérapeutiques potentiels.

Tableau X : *In silico* ADME/T et étude de vraisemblance de l'EGCG, isorhamnetine , apigénine ; MOR.

Ligands	Absorption		Distribution	Métabolisme	Excrétion	Toxicité	
	SE (log mol/L)	A.I (%)				VDss (logL/kg)	I CYP3A4
EGCG	-2,894	47,395	0,806	Oui	0,292	Non	Non
Isorhamnetine	-3	76,014	1,123	Non	0,508	Non	Non
Apigénine	-3,329	93,25	0,822	Non	0,566	Non	Non
MOR	-2,992	74,456	0,884	Non	-0,023	Non	Non

Avec SE : Solubilité dans l'eau ; AI : Absorption intestinale (humaine) ; VDss : volume de distribution ; I : inhibiteur ; LT : Liquidation total ; AMES : Hép : hépatotoxicité

La première étape de l'ADMET est l'absorption. Dans le tableau X, l'EGCG a la solubilité dans l'eau la plus faible (-2,894 log mol/L), (-2,992 log mol/L et l'absorption intestinale la plus faible (47,395%). Cela signifie que l'EGCG est le moins bien absorbé des quatre ligands. L'isorhamnetine et apigénine ont la solubilité dans l'eau la plus élevée (-3 log mol/L), (-3,329 log mol/L) et l'absorption intestinale la plus élevée (76 et 94 %). Cela signifie que l'isorhamnetine est le mieux absorbé des quatre ligands.

Après avoir absorbé dans la circulation sanguine, il va être distribué dans les tissus et organes du corps. Selon tableau L'EGCG et apigénine ont le Vdss le plus faible entre (0,806 et 0,822 logL/kg) et l'isorhamnetine a le Vdss le plus élevé (1,123 logL/kg). Cela signifie que l'EGCG est principalement confiné au sang, tandis que l'isorhamnetine, apigénine et MOR sont largement distribué dans les tissus

Par la suite, le médicament va passer par un processus dans lequel le ligand sera transformé en métabolites, la réponse 'non' mentionnée dans le tableau (X) dans la case de métabolisme indique que les trois ligands isorhamnetine, apigénine, MOR ne peuvent pas inhiber le cytochrome p3A4, tandis que l'EGCG est le seul inhibiteurs du CYP3A4. Cela signifie que l'EGCG peut ralentir le métabolisme d'autres médicaments.

Ensuite, le ligand et ses métabolites sont éliminés du corps par le processus excrétion selon tableau X, l'EGCG a la clairance totale la plus faible (0,292 ml/min/kg) et l'isorhamnetine et apigénine ont la clairance totale la plus élevée (0,5 ml/min/kg). Cela signifie que l'EGCG est éliminé du corps plus lentement.

Enfin, le paramètre de toxicité, basé sur les tests AMES et l'hépatotoxicité, est analysé. Le test de toxicité AMES est utilisé pour déterminer si une substance est mutagène. À partir du tableau X, nous pouvons facilement déduire que les trois inhibiteurs ainsi que la molécule de référence (MOR) n'ont aucun effet cancérigène et ne présentent aucune toxicité hépatique.

En tenant compte des résultats des paramètres pharmacologiques et toxicologiques ainsi que des résultats du docking moléculaire, il semble que l'apigénine présente des propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques favorables, une toxicité négligeable et une forte affinité avec le récepteur EGFR. Elle pourrait donc potentiellement être considérée comme une molécule "drug-like" avec un excellent effet contre le cancer colorectal.

Conclusion

Conclusion

Ce travail a pour objectif de contribuer au développement *in silico* de nouveaux inhibiteurs plus puissants des récepteurs EGFR, grâce au docking moléculaire, dans le but d'optimiser le traitement du cancer du côlon.

Le docking moléculaire, effectué avec précision à l'aide de programme PyRx, a révélé une forte affinité pour les 13 molécules, mettant en lumière la capacité de PyRx à prédire avec exactitude l'emplacement d'un ligand sur son récepteur. Cette évaluation s'est appuyée sur un test de fiabilité du programme AutoDock Vina, mesuré par le coefficient de corrélation linéaire entre les valeurs expérimentales de l'IC50 des molécules étudiées (issues de la littérature) et les scores de liaison prédits par le programme.

Les résultats de la régression linéaire ont révélé un coefficient de corrélation $R^2 = 0,80$, confirmant ainsi la haute performance d'AutoDock Vina et la corrélation significative entre l'analyse *in vitro* et *in silico* des molécules sélectionnées. Trois d'entre eux se sont distingués comme étant les inhibiteurs les plus efficaces de l'EGFR : l'EGCG, l'isorhamnetine et l'apigénine se sont particulièrement démarqués avec des scores d'interaction remarquablement élevés, s'élevant respectivement à (-8,3 Kcal/mol), (-8,0 Kcal/mol) et (-7,9 Kcal/mol) respectivement.

Une analyse visuelle approfondie a été ensuite réalisée à l'aide du logiciel Discovery Studio afin d'identifier les liaisons formées par les trois composés sélectionnés en tant qu'inhibiteurs de la cible thérapeutique EGFR. Cette analyse a mis en lumière plusieurs types d'interactions, notamment les liaisons hydrogène, Pi-Anion, les charges attractives, les interactions alkyl, Pi-Alkyl et Pi-Cation. Il est remarquable de constater que l'apigénine démontre une affinité particulièrement forte pour le récepteur, surpassant même celle de l'inhibiteur de référence MOR, en se liant au récepteur grâce à plusieurs liaisons hydrogène robustes et établissant des interactions hydrophobes supplémentaires. Cette interaction renforce considérablement sa stabilité dans le site actif, ce qui la distingue comme un fort inhibiteur réversible de l'EGFR.

Pour que les composés soient considérés comme des médicaments potentiels, les trois molécules ainsi que le ligand de référence MOR doivent d'abord passer par une série d'évaluations rigoureuses, comprenant notamment l'analyse de leurs paramètres pharmacocinétiques ADME (absorption, distribution, métabolisme et élimination) ainsi que de

Conclusion

leurs propriétés toxicologiques. Cette analyse post-docking, réalisée en utilisant la méthode de filtrage ADME/T et la règle de Lipinski, a révélé que l'apigénine se distingue comme le composé le plus prometteur. Ses excellentes propriétés pharmacocinétiques et sa sécurité notable en tant qu'inhibiteur de l'EGFR en font un candidat potentiellement efficace et sûr pour de futures études et applications cliniques.

A l'issue de cette étude, qui reste préliminaire, notamment dans le mécanisme moléculaire de l'apigénine, plusieurs perspectives sont envisagées :

- Etude d'activité anticancéreuse colorectale de l'apigénine *in vivo* sur des modèles animaux.

- Réalisation de la dynamique moléculaire *in silico* pour le complexe EGFR-apigénine afin de simuler virtuellement son parcours depuis l'absorption jusqu'à son élimination rénale, afin de confirmer l'efficacité et la sécurité de l'apigénine avant toute application potentielle chez l'homme.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

- Abotaleb, M., Samuel, S., Varghese, E., Varghese, S., Kubatka, P., Liskova, A et Büsselberg, D. (2018). Flavonoids in Cancer and Apoptosis. *Cancers*, 11(1):28.
- Ağagündüz, D., Coccozza, E., Cemali, Ö., Bayazit, A.D., Nani, M.F., Cerqua, I., Morgillo, F., Saygılı, S.K., Berni-Canani, R. *et al.* (2023). Understanding the role of the gut microbiome in gastrointestinal cancer. *Frontiers in pharmacology*, 14:1130562.
- Al Aboody, M. S. *et* Mickymaray, S. (2020). Anti-Fungal Efficacy and Mechanisms of Flavonoids. *Antibiotics*, 9 :45.
- Alam, M.N. *et* Almoyad, M., Huq, F. (2018). Polyphenols in Colorectal Cancer: Current State of Knowledge including Clinical Trials and Molecular Mechanism of Action. *BioMed Research International*, 2018 : 1–29.
- Alasadi, G. M. *et* Al-OBAIDI, Z. (2023). Molecular Docking, Chemical Synthesis, and Characterization of Ciprofloxacin Derivatives as New Antibacterial Agents. *Latin American Journal of Pharmacy*, 42 :234-237.
- Ambrose, G. O., Afees, O. J., Nwamaka, N. C., Simon, N., Oluwaseun, A. A., Soyinka, T., Oluwaseun, A. S., Bankole, S. (2018). Selection of Luteolin as a potential antagonist from molecular docking analysis of EGFR mutant. *Bioinformation*, 14(05) : 241-247.
- Amrhein, JA., Beyett, TS., Feng, WW., Kramer, A., Weckesser, J., Schaeffner, IK., Rana, JK., Janne, PA., Eck, MJ. *et al.* (2022). La macrocyclisation des inhibiteurs de l'EGFR à base de quinazoline conduit à une sélectivité mutante exclusive pour l'EGFR L858R et Del19. *J Med Chem* ,65 : 15679-15697.
- Appert-Collin, A., Hubert, P., Crémel, G. *et* Bennasroune, A. (2015). Role of ErbB Receptors in Cancer Cell Migration and Invasion. *Frontiers in Pharmacology*, 6:283.
- Arrault, A. (2007). Stratégies de docking-scoring assistées par analyse de données. Application au criblage virtuel des cibles thérapeutiques COX-2 et PPAR gamma. Autre. Université d'Orléans, 2007. Français. p.191.
- Beautrait, A. (2008). Développement et validation de la plateforme de criblage virtuel VSM-G et étude du domaine FAT de la kinase d'adhérence focale FAK. Informatique [cs]. Université Henri Poincaré - Nancy I. Français. p.242.
- Belpomme, D., Irigaray, P., Hardell, L., Clapp, R., Montagnier, L., Epstein, S. *et* Sasco, A. J. (2007). The multitude and diversity of environmental carcinogens. *Environmental Research*, 105(3) : 414-429.

Références bibliographiques

- Brut, M. (2009). *Nouvelle approche méthodologique pour la prise en compte de la flexibilité dans les interactions entre molécules biologiques : les Modes Statiques*. Thèse de Doctorat en Nanophysique. France : Université de Toulouse.p.171.
- Budisan, L., Gulei, D., Jurj, A., Braicu, C., Zanoaga, O., Cojocneanu, R., Pop, L., Raduly, L., Barbat, A. *et al.* (2019). Inhibitory Effect of CAPE and Kaempferol in Colon Cancer Cell Lines—Possible Implications in New Therapeutic Strategies. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(5) : 1199.
- Burley, S. K., Berman, H. M., Kleywegt, G. J., Markley, J. L., Nakamura, H. et Velankar, S. (2017). Protein Data Bank (PDB) : The Single Global Macromolecular Structure Archive. In A. Wlodawer, Z. Dauter, & M. Jaskolski (Éds.), *Protein Crystallography* ,1607 : 627-641.
- Cardenas, C.A. et Abrishami, S. (2023) Colorectal Carcinoma: Review and Novelties. *Clin Oncol Case Rep*, 6:6.
- Carlo, M. et croce, M.D. (2008). Oncogenes and Cancer. *Molecular origins of cancer*, 358:502-511.
- Chaudhary, K.K. et Mishra, N. (2016). A Review on Molecular Docking: Novel Tool for Drug Discovery. *JSM Chem*, 4(3): 1029.
- Chen, Y., Wu, Q., Song, L., He, T., Li, Y., Li, L., Su, W., Liu, L., Qian, Z. et Gong, C. (2015). Polymeric Micelles Encapsulating Fisetin Improve the Therapeutic Effect in Colon Cancer. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 7(1) :534-542.
- Cheng, Y., Han, X., Mo, F., Zeng, H., Zhao, Y., Wang, H., Zheng, Y. et Ma, X. (2021). Apigenin inhibits the growth of colorectal cancer through down-regulation of E2F1/3 by miRNA-215-5p. *Phytomedicine*, 89 : 153603.
- Choudhari, A. S., Mandave, P. C., Deshpande, M., Ranjekar, P. et Prakash, O. (2020). Phytochemicals in Cancer Treatment . From Preclinical Studies to Clinical Practice. *Frontiers in Pharmacology*, 10:1614.
- Crozier, A., Jaganath, I. B. et Clifford, M. N. (2006). Phenols, Polyphenols and Tannins : An Overview. In A. Crozier, M. N. Clifford, H. Ashihara (Éds.), *Plant Secondary Metabolites*, 1-24.
- Cunningham, D., Humblet, Y., Siena, S., Khayat, D., Bleiberg, H., Santoro, A., Bets, D., Mueser, M., Harstrick, A., Verslype, C., Chau, I. et Van Cutsem, E. (2004). Cetuximab Monotherapy and Cetuximab plus Irinotecan in Irinotecan-Refractory Metastatic Colorectal Cancer. *New England Journal of Medicine*, 351(4):337-345.

Références bibliographiques

- D'Oliveira, E.B. (2009). Simulation moléculaire appliquée à l'acétylation de flavonoïdes catalysés par des lipases : influence des structures de la lipase et des flavonoïdes sur la régiosélectivité de la bioconversion. Thèse de Doctorat en Procédés Biotechnologiques et Alimentaires. France : Institut National Polytechnique de Lorraine – Nancy.p.61.
- Debnath, S., Sarkar, A., Mukherjee, D. D., Ray, S., Mahata, B., Mahata, T., Parida, P. K., Das, T., Mukhopadhyay, R., Ghosh, Z. et Biswas, K. (2022). Eriodictyol mediated selective targeting of the TNFR1/FADD/TRADD axis in cancer cells induce apoptosis and inhibit tumor progression and metastasis. *Translational Oncology*, 21 : 101433.
- Diaz Jr, L. A., Williams, R. T., Wu, J., Kinde, I., Hecht, J. R., Berlin, J., Allen, B., Bozic, I., Reiter, J. G., Nowak, M. A., Kinzler, K. W., Oliner, K. S., et Vogelstein, B. (2012). The molecular evolution of acquired resistance to targeted EGFR blockade in colorectal cancers. *Nature*, 486(7404):537-540.
- Dibha, A. F., Wahyuningsih, S., Kharisma, V. D., Ansori, A. N. M., Widyananda, M. H., Parikesit, A. A., Rebezov, M., Matrosova, Y., Artyukhova, S. *et al* . (2022). Biological activity of kencur (*Kaempferia galanga* L.) against SARS-CoV-2 main protease : In silico study. *International Journal of Health Sciences*, 6(1): 468-480.
- Dubey, N., Dubey, N., Bhadoria, U., Shah, K. et Chauhan, N. S. (2024). Targeting colorectal cancer using dietary flavonols. *Cancer Innovation*, 3(1) : 99.
- Ech-Chelfi, W. (2022). L'approche environnementale des entreprises marocaines The environmental approach of Moroccan companies. *African Journal of Business and Finance*, 1(1).
- Errahmane K.K. (2020). *Conception de nouvelles molécules bioactives à activité antiémétique par des méthodes basées sur la modélisation moléculaire*. Thèse doctorat : Science et technologie, Université Ferhat Abbas-Sétif.p.188.
- Fan, J, Fu, A. et Zhang, L. (2019). Progress in molecular docking .*Quantitative Biology*, 7:83-89.
- Frattini, M., Saletti, P., Molinari, F. et De Dosso, S. (2015). EGFR signaling in colorectal cancer : A clinical perspective. *Gastrointestinal Cancer: Targets and Therapy*, 5 : 21–38.
- Frattini, M., Saletti, P., Molinari, F. et De Dosso, S. (2015). EGFR signaling in colorectal cancer : A clinical perspective. *Gastrointestinal Cancer: Targets and Therapy*, 5:21-38.

Références bibliographiques

- Gialeli, C., Theocharis, A. D. et Karamanos, N. K. (2011). Roles of matrix metalloproteinases in cancer progression and their pharmacological targeting. *The FEBS Journal*, 278(1) :16-27.
- Gimenes, M. (2023). *Tests inférentiels bivariés*. In Introduction aux statistiques en sciences du langage : traitement et analyse de données avec R, Dunod, Univers psy, 978-2-10-085264-2.p.19.
- Goyzueta-Mamani LD, Barazorda-Ccahuan HL, Chavez-Fumagalli MA, Alvarez KL, Aguilar-Pineda JA, Vera-Lopez KJ. (2022). In silico Analysis of Metabolites from Peruvian Native Plants as Potential therapeutics against Alzheimer Disease. *Molecules*, 27(3):918.
- Goyzueta-Mamani, L. D., Barazorda-Ccahuana, H. L., Chávez-Fumagalli, M. A., F. Alvarez, K. L., Aguilar-Pineda, J. A., Vera-Lopez, K. J., & Lino Cardenas, C. L. (2022). In Silico Analysis of Metabolites from Peruvian Native Plants as Potential Therapeutics against Alzheimer's Disease. *Molecules*, 27(3) : 918.
- Grosdidier, A., Zoete, V., et Michielin, O. (2007) EADock . Docking of small molecules into protein active sites with a multiobjective evolutionary optimization. *Proteins, Structure, Function, and Bioinformatics*, 67(4):1010-1025.
- Guedes, I. A., De Magalhães, C. S. et Dardenne, L. E. (2014). Receptor–ligand molecular docking. *Biophysical Reviews*, 6(1) : 75-87.
- Guengerich, F. P. (2001). Common and Uncommon Cytochrome P450 Reactions Related to Metabolism and Chemical Toxicity. *Chemical Research in Toxicology*, 14(6) : 611-650.
- Guibedj, D. (2020). Les complexes métallique du methoxyphenyl N-sulfamoyloxazolidinone avec Cu (II) et Co (II) : Mise en évidence étude par DFT/B3LYP(B2PLYP) et docking moléculaire. Thèse doctorat : Chimie .Université de Guelma, p. 127.
- Hagan, T. L., et Donovan, H. S. (2013). Self-advocacy and cancer : A concept analysis. *Journal of Advanced Nursing*, 69(10): 2348-2359.
- Hajduk, P. J., Galloway, W. R. et Spring, D. R. (2011). Drug discovery: A question of library design. *Nature*, 470(7332): 42-43.
- Haque, A., Brazeau, D. et Amin, A. R. (2021). Perspectives on natural compounds in chemoprevention and treatment of cancer : An update with new promising compounds. *European Journal of Cancer*, 149: 165-183.

Références bibliographiques

- Hbibbi, A.T. (2023). Cancer colorectal : État des lieux. *journal of Nursing and biomedical Sciences*, 2(1).
- Heberlé G.et Azevedo WF. (2011) .Bio-inspired algorithms applied to molecular docking simulations .*Current medicinal chemistry*, 18(9):1339-1352.
- Helperin I, Ma B, Wolfson H, Nussinov R. (2002).Principles of dockings: an overview of search algorithms and a guide to scoring functions. *Proteins: Structure, Function and Bioinformatics*, 47: 409-443.
- Hoensch, H. P.et Oertel, R. (2015). The value of flavonoids for the human nutrition : Short review and perspectives. *Clinical Nutrition Experimental*, 3 : 8-14.
- Hurwitz, H., Fehrenbacher, L., Novotny, W., Cartwright, T., Hainsworth, J., Heim, W., Berlin, J., Baron, A., Griffing, S. **et al.** (2004). Bevacizumab plus Irinotecan, Fluorouracil, and Leucovorin for Metastatic Colorectal Cancer. *New England Journal of Medicine*, 350(23): 2335-2342.
- IDRISSE, N. et CHARIF, A. (2023). La mixité dans les conseils et la performance bancaire, *Revue Internationale des Sciences de Gestion*, 6(3) : 372 – 389.
- Iwashina, T. (2013). Flavonoid Properties of five Families newly Incorporated into the Order Caryophyllales (Review). *Flavonoids of five Families newly Incorporated into Caryophyllales*, 39(1) : 25–51.
- Janani, B., Vijayakumar, M., Priya, K., Kim, J. H., Prabakaran, D. S., Shahid, M., Al-Ghamdi, S., Alsaidan, M., Othman Bahakim, N.**et al.** (2022). EGFR-Based Targeted Therapy for Colorectal Cancer Promises and Challenges. *Vaccines*, 10(4):499.
- Karak, P. (2019). BIOLOGICAL ACTIVITIES OF FLAVONOIDS : AN OVERVIEW. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10(4) : 1567-1574.
- Khan, J., Deb, P. K., Priya, S., Medina, K. D., Devi, R., Walode, S. G.et Rudrapal, M. (2021). Dietary Flavonoids : Cardioprotective Potential with Antioxidant Effects and Their Pharmacokinetic, Toxicological and Therapeutic Concerns. *Molecules*, 26(13) : 4021.
- Kopustinskiene, D. M., Jakstas, V., Savickas, A.et Bernatoniene, J. (2020). Flavonoids as Anticancer Agents. *Nutrients*, 12(2) : 457.
- Kumar, M.et V.Balaji, P. (2014). C-H...pi interactions in proteins: prevalence, pattern of occurrence, residue propensities, location, and contribution to protein stability. *Journal of Molecular Modeling* , 20:2136.

Références bibliographiques

- Lagorce, D., Douguet, D., Miteva, M. A. et Villoutreix, B. O. (2017). Computational analysis of calculated physicochemical and ADMET properties of protein-protein interaction inhibitors. *Scientific Reports*, 7(1) : 46277.
- Lahana, R. (1999). How many leads from HTS? *Drug Discovery Today*, 4(10) : 447-448.
- Laurier, D., Billarand, Y., Klokov, D. et Leuraud, K. (2023). Fondements scientifiques de l'utilisation du modèle linéaire sans seuil (LNT) aux faibles doses et débits de dose en radioprotection. *Radioprotection*, 58(4): 243-260.
- Li, M., Guo, L., Wang, Y. **et al.** (2022). Molecular and biochemical characterization of two 4-coumarate: CoA ligase genes in tea plant (*Camellia sinensis*). *Plant Mol Biol*, **109** : 579–593.
- Li, Y., Zhang, T. et Chen, G. (2018). Flavonoids and Colorectal Cancer Prevention. *Antioxidants*, 7(12) : 187.
- Lipinski, C., Lombardo, A. F., Domoni, B. W. et Feney, P. J. (1997). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 23:3-25.
- Liu, K., Luo. et M., Wei, S. (2019). The Bioprotective Effects of Polyphenols on Metabolic Syndrome against Oxidative Stress : Evidences and Perspectives. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019 : 1-16.
- Macari, G., Toti, D., Pasquadibisceglie, A. et Polticelli, F. (2020). DockingApp RF. A State-of-the-Art Novel Scoring Function for Molecular Docking in a User-Friendly Interface to AutoDock Vina. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(24):9548.
- McGann, M. (2011). FRED pose prediction and virtual screening accuracy. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 51 : 578-596.
- Minnelli, C., Laudadio, E., Mobbili, G. et Galeazzi, R. (2020). Conformational Insight on WT- and Mutated-EGFR Receptor Activation and Inhibition by Epigallocatechin-3-Gallate: Over a Rational Basis for the Design of Selective Non-Small-Cell Lung Anticancer Agents. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(5) :1721.
- Misale, S., Yaeger, R., Hobor, S., Scala, E., Janakiraman, M., Liska, D., Valtorta, E., Schiavo, R., Buscarino, M. **et al.** (2012). Emergence of KRAS mutations and acquired resistance to anti-EGFR therapy in colorectal cancer. *Nature*, 486(7404):532-536.
- Mohamed F. M., Fatih N. B., Qadir A. A., Abdalla S. H. et Mahmood Z. H. (2023). Cancer publications in one year. a cross-sectional study. *Barw Medical Journal*, 1 (2):18-26.

Références bibliographiques

- Mokrani, E. H., Bensegueni, A., Chikhi, A., Merabti, B., et Boucherit, H. (2012). *Mise en évidence par criblage virtuel d'un nouveau inhibiteur xanthinique de la DPP4 pour le traitement du diabète de type, 2:7.*
- Mongis, A. (2017). Une nouvelle stratégie d'immunothérapie : cibler directement des immunostimulants à la surface des cellules tumorales par ligation bio-orthogonale. 01713120.
- Moulishankar, A., Lakshmanan, K. (2020). Data on molecular docking of naturally occurring flavonoids with biologically important targets. *Data in Brief*, 29 : 105243.
- Munos, B. (2009). Lessons from 60 years of pharmaceutical innovation. *Nature Reviews Drug Discovery*, 8(12) : 959-968.
- Mvondo, J. G. M., Matondo, A., Mawete, D. T., Bambi, S.-M. N., Mbala, B. M. et Lohohola, P. O. (2021). In Silico ADME/T Properties of Quinine Derivatives using SwissADME and pkCSM Webservers. *International Journal of TROPICAL DISEASE & Health*, 42(11):1-12.
- Mvondo, J.G.M., Matondo, A., Mawete, D.T., Bambi, S.-M.N., Mbala, B.M.et Lohohola, P.O. (2021). In Silico ADME/T Properties of Quinine Derivatives using SwissADME and pkCSM Webservers. *International Journal of TROPICAL DISEASE & Health*, 42(11) : 1-12.
- Nabavi, S. M., Šamec, D., Tomczyk, M., Milella, L., Russo, D., Habtemariam, S., Sutar, I., Rastrelli, L., Daglia, M. *et al.* (2020). Flavonoid biosynthetic pathways in plants : Versatile targets for metabolic engineering. *Biotechnology Advances*, 38 : 107316.
- Naqvi, S. R., Prabhakara, H. M., Bramer, E. A., Dierkes, W., Akkerman, R. et Brem, G. (2018). A critical review on recycling of end-of-life carbon fibre/glass fibre reinforced composites waste using pyrolysis towards a circular economy. *Resources. Conservation and Recycling*, 136 : 118-129.
- O'Boyle, N. M., Banck, M., James, C. A., Morley, C., Vandermeersch, T. et Hutchison, G. R. (2011). Open Babel : An open chemical toolbox. *Journal of Cheminformatics*, 3(1): 33.
- Ojuka, P., Kimani, N. M., Apollo, S., Nyariki, J., Ramos, R. S. et Santos, C. B. R. (2023). Phytochemistry of plants in the genus *Vepris* : A review and in silico analysis of their ADMET properties. *South African Journal of Botany*, 157 :106-114.

Références bibliographiques

- Olayioye, M. A. (2000). NEW EMBO MEMBERS' REVIEW : The ErbB signaling network: receptor heterodimerization in development and cancer. *The EMBO Journal*, 19(13):3159-3167.
- Oliveira, P. A., Colaço, A., Chaves, R., Guedes-Pinto, H., De-La-Cruz, L. F. P., Lopes, C. (2007). Chemical carcinogenesis, 79 :593-616.
- Ounthaisong, U., Tangyuenyongwatana, P. (2017). Cross-docking study of flavonoids against tyrosinase enzymes using PyRx 0.8 virtual screening tool. *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences (TJPS)*, 41: 189.
- Panche, A. N., Diwan, A. D., Chandra, S. R. (2016). Flavonoids : An overview. *Journal of Nutritional Science*, 5 : 47.
- Pedro, H.M., Torres, A., Ana, CR., Sodero Paula, J., Floriano, P. et Silva J. (2019).Key Topics in molecular docking for drug design. *International Journal of molecular Science*, (20):4574.
- Pellerano, M. (2019). *Développement d'un biosenseur fluorescent d'un mutant de p53 sujet à l'agrégation dans les cancers*. Cancer. Université Montpellier.p.179.
- Pires, D. E. V., Blundell, T. L. et Ascher, D. B. (2015). pkCSM : Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. *Journal of Medicinal Chemistry*, 58(9) : 4066-4072.
- Qin, J., Teng, J., Zhu, Z., Chen, J., & Huang, W.-J. (2016). Genistein induces activation of the mitochondrial apoptosis pathway by inhibiting phosphorylation of Akt in colorectal cancer cells. *Pharmaceutical Biology*, 54(1) : 74-79.
- Raval, K. et Ganatra, T. (2022). Basics, types and applications of molecular docking : A review. *IP International Journal of Comprehensive and Advanced Pharmacology*, 7(1) : 12-16.
- Renvez, G. (2010). Application des modes statiques à l'étude de la flexibilité des protéines : vers un processus de docking. Micro et nanotechnologies/ Thèse de doctorat Microélectronique. Université Paul Sabatier Toulouse III. p. 164.
- Rodríguez, J., Viúdez, A., Ponz-Sarvisé, M., Gil-Aldea, I., Chopitea, A., García-Foncillas, J. et Gil-Bazo, I. (2010). Improving disease control in advanced colorectal cancer : Panitumumab and cetuximab. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 74(3):193-202.

Références bibliographiques

- Rodríguez-García, C., Sánchez-Quesada, C. et Gaforio, J. (2019). Dietary Flavonoids as Cancer Chemopreventive Agents. An Updated Review of Human Studies. *Antioxidants*, 8(5) : 137.
- Sangeetha, K. S. S., Umamaheswari, S., Reddy, C. U. M. et Kalkura, S. N. (2016). FLAVONOIDS : THERAPEUTIC POTENTIAL OF NATURAL PHARMACOLOGICAL AGENTS. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, IJPSR, 7(10) : 3924-3930.
- Saoussens L. (2016). *Etude docking et synthèse de dérivés de xanthone: voie d'accès à de nouveaux inhibiteurs de l'alpha-glucosides*. Thèse du doctorat : Chimie Organique Appliquée .Université BADJI MOKHTAR-ANNABA. p.173.
- Sawicki, T., Ruszkowska, M., Danielewicz, A., Niedźwiedzka, E., Arlukowicz, T. et Przybyłowicz, K. E. (2021). A Review of Colorectal Cancer in Terms of Epidemiology, Risk Factors, Development, Symptoms and Diagnosis. *Cancers*, 13(9):2025.
- Shaker, B., Ahmad, S., Lee, J., Jung, C. et Na, D. (2021). In silico methods and tools for drug discovery. *Computers in Biology and Medicine*, 137 : 104851.
- Shamsudin, N. F., Ahmed, Q. U., Mahmood, S., Shah, S. A. A., Sarian, M. N., Khattak, M. M. A. K., Khatib, A., Sabere, A. S. M., Yusoff, Y. M. et Latip, J. (2022). Flavonoids as Antidiabetic and Anti-Inflammatory Agents : A Review on Structural Activity Relationship-Based Studies and Meta-Analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(20) : 12605.
- Siddiqui, I. A., Sanna, V., Ahmad, N., Sechi, M. et Mukhtar, H. (2015). Resveratrol nanoformulation for cancer prevention and therapy. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1348(1):20-31.
- Siegel, R. L., Miller, K. D., Fedewa, S. A., Ahnen, D. J., Meester, R. G. S., Barzi, A. et Jemal, A. (2017). Colorectal cancer statistics. *A Cancer Journal for Clinicians*. 67(3):177-193.
- Simon, K. (2016). Colorectal cancer development and advances in screening. *Clinical Interventions in Aging*, 11:967-976.
- Song, D., Wang, F., Ju, Y., He, Q., Sun, T., Deng, W., Ding, R., Zhang, C., Xu, Q., Qi, C. et Bao, J. (2023). Application and development of noninvasive biomarkers for colorectal cancer screening : A systematic review. *International Journal of Surgery*, 109(4): 925-935.

Références bibliographiques

- Sousa, S. F., Fernandes, P. A. et Ramos, M. J. (2006). Protein–ligand docking : Current status and future challenges. *Proteins : Structure, Function, and Bioinformatics*, 65(1) : 15-26.
- Sun, T., Li, S., Song, X., Pei, G., Diao, J., Cui, J., Shi, M., Chen, L. et Zhang, W. (2018). Re-direction of carbon flux to key precursor malonyl-CoA via artificial small RNAs in photosynthetic *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Biotechnology for Biofuels*, 11(1) : 26.
- Sun, W. et Shahrajabian, M. H. (2023). Therapeutic Potential of Phenolic Compounds in Medicinal Plants Natural Health Products for Human Health. *Molecules*, 28(4):1845.
- Taylor, R. D., Jewsbury, P. J. et Essex, J. W. (2003). FDS : Flexible ligand and receptor docking with a continuum solvent model and soft-core energy function. *Journal of Computational Chemistry*, 24(13) : 1637-1656.
- Tirendi, S., Marengo, B., Domenicotti, C., Bassi, A. M., Almonti, V. et Vernazza, S. (2023). Colorectal cancer and therapy response : A focus on the main mechanisms involved. *Frontiers in Oncology*, 13:1208140.
- Torres, P. H. M., Sodero, A. C. R., Jofily, P. et Silva-Jr, F. P. (2019). Key Topics in Molecular Docking for Drug Design. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(18) : 4574.
- Torres, P. H. M., Sodero, A. C. R., Jofily, P. et Silva-Jr, F. P. (2019). Key Topics in Molecular Docking for Drug Design. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(18) : 4574.
- Traore, M. D. M. (2016). *Synthèse et études de modélisation dans l'optimisation de la sélectivité de nouveaux agents antiparasitaires inspirés de produits naturels*. Thèse de doctorat : Génétique. University Grenoble Alpes. France. p.196.
- Van vuuren, R.J., Michelle, H.V., Anne ET. et Annie, M.J. (2015). Antimitotic drugs in the treatment of cancer. *Cancer Chemother Pharmacol*, 76:1101-1112.
- Wang, B., Wang, J. et Zhao, X.-H. (2017). *In vitro* Activities of the Four Structurally Similar Flavonols Weakened by the Prior Thermal and Oxidative Treatments to a Human Colorectal Cancer Line : *IN VITRO* ACTIVITIES OF THE TREATED FLAVONOLS. *Journal of Food Biochemistry*, 41(2) : 12310.
- Wang, F., Zhang, X., Wang, Y., Chen, Y., Lu, H., Meng, X., Ye, X., Chen, W. (2023). Activation/Inactivation of Anticancer Drugs by CYP3A4 : Influencing Factors for Personalized Cancer Therapy. *Drug Metabolism and Disposition*, 51(5) : 543-559.

Références bibliographiques

- Wang, M., Yu, F., Zhang, Y., Chang, W. et Zhou, M. (2022). The Effects and Mechanisms of Flavonoids on Cancer Prevention and Therapy: Focus on Gut Microbiota. *International Journal of Biological Sciences*, 18(4) : 1451-1475.
- Wang, M., Zhao, H., Wen, X., Ho, C. et Li, S. (2021). Citrus flavonoids and the intestinal barrier : Interactions and effects. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(1) : 225-251.
- Wang, Y., Jin, S.S., Li, D.T., Jiang, X.C., Khalid, A., Liu, X., Wang, H.-L., Wang, H.-Y., Wang. *et al.* (2023). Improving the anti-tumor effect of EGCG in colorectal cancer cells by blocking EGCG-induced YAP activation. *Am J Cancer Res*, 13(4) : 1407-1424.
- Watanabe, R., Esaki, T., Kawashima, H., Natsume-Kitatani, Y., Nagao, C., Ohashi, R. et Mizuguchi, K. (2018). Predicting Fraction Unbound in Human Plasma from Chemical Structure : Improved Accuracy in the Low Value Ranges. *Molecular Pharmaceutics*, 15(11) : 5302-5311.
- Weston, L. A. et Mathesius, U. (2013). Flavonoids : Their Structure, Biosynthesis and Role in the Rhizosphere, Including Allelopathy. *Journal of Chemical Ecology*, 39(2) : 283-297.
- Winder, T. et Lenz, H. (2010) Vascular Endothelial Growth Factor and Epidermal Growth Factor Signaling Pathways as Therapeutic Targets for Colorectal Cancer. *Gastroenterology*, 138(6):2163-2176.
- Xia, J., Bai, P., Fan, W., Li, Q., Li, Y., Wang, D., Yin, L. et Zhou, Y. (2021). NEPdb : A Database of T-Cell Experimentally-Validated Neoantigens and Pan-Cancer Predicted Neoepitopes for Cancer Immunotherapy. *Frontiers in Immunology*, 12: 644637.
- Zakaria, A., Abdullah Ibn Asaduzzaman, S., Nahar, Z., Jarin Snigdha, H., Murshed, T. et Noor, R. (2021). A short review of the genes involved in the development and progression of colorectal cancer. *BIOCELL*, 45(3):483-487.
- Zhao, C., Liu, X., Gong, Q., Cao, J., Shen, W., Yin, X., Grierson, D., Zhang, B., Xu, C. *et al.* (2021). Three AP2/ERF family members modulate flavonoid synthesis by regulating type IV chalcone isomerase in citrus. *Plant Biotechnology Journal*, 19(4) : 671-688.
- Zhu, M., Zhang, P., Jiang, M., Yu, S. et Wang, L. (2020). Myricetin induces apoptosis and autophagy by inhibiting PI3K/Akt/mTOR signalling in human colon cancer cells. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 20(1) : 209.

Références bibliographiques

- Zongo, L., Bayala, B., Sombié, C. B., Traoré, S., Simporé, J. et Semdé, R. (2023). Evaluation in vitro de l'activité antiproliférative d'une crème à base de beurre de karité et de miel destinée à la prise en charge des plaies cancéreuses. *Journal Africain de Technologie Pharmaceutique et Biopharmacie*, 2(1) :1-10.
- Zubair, T. e Bandyopadhyay, D. (2023). Small Molecule EGFR Inhibitors as Anti-Cancer Agents : Discovery, Mechanisms of Action, and Opportunities. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3) : 2651.

Annexes

Annexes

MOR (-8,9)

Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD lower bound	RMSD upper bound
7u99_MOR	-8.9	0	0.0	0.0
7u99_MOR	-8.3	1	1.665	6.207
7u99_MOR	-8.2	2	2.072	5.271
7u99_MOR	-8.1	3	3.385	5.079
7u99_MOR	-8.0	4	2.223	5.192
7u99_MOR	-7.8	5	2.852	6.714
7u99_MOR	-7.8	6	2.591	4.782
7u99_MOR	-7.7	7	11.394	15.502
7u99_MOR	-7.7	8	2.512	7.171

EGCG (-8,3)

Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD lower bound	RMSD upper bound
7u99_Epigallocatechin_galate	-8.3	0	0.0	0.0
7u99_Epigallocatechin_galate	-7.9	1	3.537	6.522
7u99_Epigallocatechin_galate	-7.8	2	2.164	8.09
7u99_Epigallocatechin_galate	-7.6	3	2.873	5.607
7u99_Epigallocatechin_galate	-7.6	4	2.181	3.936
7u99_Epigallocatechin_galate	-7.4	5	3.294	7.049
7u99_Epigallocatechin_galate	-7.4	6	23.168	25.942
7u99_Epigallocatechin_galate	-7.3	7	2.343	3.447
7u99_Epigallocatechin_galate	-7.2	8	2.679	3.632

Isorhamnetine (-8,0)

Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD lower bound	RMSD upper bound
7u99_Isorhamnetin	-8.0	0	0.0	0.0
7u99_Isorhamnetin	-7.5	1	1.154	2.843
7u99_Isorhamnetin	-7.4	2	2.383	7.113
7u99_Isorhamnetin	-7.3	3	2.81	3.707
7u99_Isorhamnetin	-7.3	4	1.918	7.125
7u99_Isorhamnetin	-7.0	5	1.451	7.153
7u99_Isorhamnetin	-6.7	6	9.206	11.96
7u99_Isorhamnetin	-6.7	7	2.15	4.392
7u99_Isorhamnetin	-6.5	8	2.99	5.248

Annexes

Apigénine (-7,9)

Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD lower bound	RMSD upper bound
7u99_Apigenin	-7.9	0	0.0	0.0
7u99_Apigenin	-7.9	1	1.96	6.794
7u99_Apigenin	-7.6	2	1.244	2.403
7u99_Apigenin	-7.4	3	1.797	1.989
7u99_Apigenin	-7.4	4	2.564	6.327
7u99_Apigenin	-6.9	5	2.343	3.291
7u99_Apigenin	-6.9	6	9.2	10.561
7u99_Apigenin	-6.8	7	1.631	1.808
7u99_Apigenin	-6.8	8	2.184	6.754

Morine (-7,9)

Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD lower bound	RMSD upper bound
7u99_Morine	-7.9	0	0.0	0.0
7u99_Morine	-7.3	1	1.287	3.269
7u99_Morine	-7.0	2	2.231	4.299
7u99_Morine	-6.9	3	9.048	11.721
7u99_Morine	-6.7	4	2.834	6.301
7u99_Morine	-6.5	5	2.124	6.325
7u99_Morine	-6.5	6	22.465	23.799
7u99_Morine	-6.4	7	2.404	3.835
7u99_Morine	-6.3	8	14.296	18.174

Eriodictyol (-7,8)

Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD lower bound	RMSD upper bound
7u99_Eriodictyol	-7.8	0	0.0	0.0
7u99_Eriodictyol	-7.7	1	1.987	7.003
7u99_Eriodictyol	-7.3	2	1.718	7.126
7u99_Eriodictyol	-7.2	3	1.353	2.869
7u99_Eriodictyol	-7.1	4	1.476	6.742
7u99_Eriodictyol	-7.1	5	2.38	3.264
7u99_Eriodictyol	-7.1	6	1.843	7.277
7u99_Eriodictyol	-7.1	7	2.196	6.779
7u99_Eriodictyol	-6.8	8	2.438	6.969

Annexes

Kaempferol (-7,8)

Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD lower bound	RMSD upper bound
7u99_Kaempferol	-7.8	0	0.0	0.0
7u99_Kaempferol	-7.7	1	1.331	6.244
7u99_Kaempferol	-7.5	2	1.915	6.659
7u99_Kaempferol	-7.2	3	1.211	3.171
7u99_Kaempferol	-7.0	4	1.855	6.72
7u99_Kaempferol	-6.8	5	2.117	3.682
7u99_Kaempferol	-6.6	6	18.486	21.056
7u99_Kaempferol	-6.5	7	2.287	6.248
7u99_Kaempferol	-6.4	8	2.311	3.392

Genisteine (-7,7)

Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD lower bound	RMSD upper bound
7u99_Genisteine	-7.7	0	0.0	0.0
7u99_Genisteine	-7.6	1	21.617	22.505
7u99_Genisteine	-7.2	2	20.56	22.365
7u99_Genisteine	-7.1	3	21.376	22.573
7u99_Genisteine	-6.9	4	21.705	23.115
7u99_Genisteine	-6.7	5	20.714	22.169
7u99_Genisteine	-6.6	6	21.61	22.405
7u99_Genisteine	-6.5	7	21.304	22.413
7u99_Genisteine	-6.4	8	17.322	20.066

Wogonine (-7,7)

Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD lower bound	RMSD upper bound
7u99_Wogonin	-7.7	0	0.0	0.0
7u99_Wogonin	-7.4	1	2.147	2.271
7u99_Wogonin	-7.0	2	2.207	3.132
7u99_Wogonin	-6.8	3	2.051	6.051
7u99_Wogonin	-6.7	4	1.843	3.431
7u99_Wogonin	-6.6	5	9.576	11.636
7u99_Wogonin	-6.5	6	2.61	4.073
7u99_Wogonin	-6.4	7	28.293	31.536
7u99_Wogonin	-6.3	8	3.146	3.878

Annexes

Chrysine (-7,6)

Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD lower bound	RMSD upper bound
7u99_chrysin	-7.6	0	0.0	0.0
7u99_chrysin	-7.5	1	1.833	2.184
7u99_chrysin	-7.4	2	1.234	2.674
7u99_chrysin	-7.0	3	9.203	10.479
7u99_chrysin	-6.9	4	20.562	22.677
7u99_chrysin	-6.7	5	9.182	10.888
7u99_chrysin	-6.7	6	3.54	5.883
7u99_chrysin	-6.4	7	2.288	6.305
7u99_chrysin	-6.4	8	15.999	17.669

Myricetine (-7,6)

Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD lower bound	RMSD upper bound
7u99_myricetin	-7.6	0	0.0	0.0
7u99_myricetin	-7.3	1	2.353	3.808
7u99_myricetin	-7.3	2	1.342	7.182
7u99_myricetin	-7.1	3	2.132	3.025
7u99_myricetin	-7.0	4	1.238	3.393
7u99_myricetin	-7.0	5	2.452	7.325
7u99_myricetin	-7.0	6	1.774	7.26
7u99_myricetin	-6.9	7	2.102	6.769
7u99_myricetin	-6.7	8	1.698	1.815

Fisetine (-7,6)

Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD lower bound	RMSD upper bound
7u99_fisetin	-7.6	0	0.0	0.0
7u99_fisetin	-7.4	1	20.119	22.527
7u99_fisetin	-7.2	2	21.942	22.793
7u99_fisetin	-7.2	3	19.598	22.036
7u99_fisetin	-7.2	4	21.409	22.899
7u99_fisetin	-7.1	5	21.802	22.779
7u99_fisetin	-7.1	6	21.357	22.467
7u99_fisetin	-7.0	7	21.344	22.549
7u99_fisetin	-6.9	8	1.56	3.341

Annexes

Malvidine (-7,3)

Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD lower bound	RMSD upper bound
7u99_Malvidin	-7.3	0	0.0	0.0
7u99_Malvidin	-6.7	1	1.405	3.713
7u99_Malvidin	-6.5	2	2.231	7.407
7u99_Malvidin	-6.4	3	26.998	29.67
7u99_Malvidin	-6.4	4	1.969	4.036
7u99_Malvidin	-6.2	5	23.221	24.367
7u99_Malvidin	-6.2	6	3.226	5.129
7u99_Malvidin	-6.1	7	24.153	24.925
7u99_Malvidin	-6.1	8	10.4	12.895

Tangeretine (-6,6)

Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD lower bound	RMSD upper bound
7u99_Tangeretin	-6.6	0	0.0	0.0
7u99_Tangeretin	-6.4	1	2.152	7.278
7u99_Tangeretin	-6.1	2	21.895	24.42
7u99_Tangeretin	-5.9	3	1.16	3.384
7u99_Tangeretin	-5.9	4	5.579	9.572
7u99_Tangeretin	-5.7	5	17.864	21.532
7u99_Tangeretin	-5.7	6	6.413	10.929
7u99_Tangeretin	-5.7	7	18.786	22.485
7u99_Tangeretin	-5.6	8	23.849	24.953

Résumé

Ce travail présente une étude de docking moléculaire visant à identifier de nouveaux inhibiteurs de l'EGFR, une protéine impliquée dans le cancer colorectal. Un criblage virtuel a été réalisé avec le programme AutoDock Vina pour 13 flavonoïdes reconnus pour leurs effets anticancéreux. Les résultats ont révélé que les ligands EGCG, Isorhamntine et Apigénine sont les meilleurs composés sélectionnés, présentant les valeurs les plus basses d'énergies d'interaction avec des scores respectifs de -8,3 kcal/mol, -8 kcal/mol et -7,9 kcal/mol vis-à-vis de l'enzyme EGFR. Une analyse visuelle des interactions entre ces ligands et la cible EGFR a été effectuée à l'aide du programme Discovery Studio, démontrant que l'apigénine forme des liaisons hydrogène et hydrophobes robustes, surpassant celles du ligand de référence MOR. Le filtrage ADME/T a été utilisé pour prédire et analyser les propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques des composés sélectionnés. Les résultats indiquent que l'apigénine répond favorablement à tous les critères pharmacocinétiques et ne présente aucune toxicité, ce qui en fait un candidat prometteur pour de futures études précliniques et cliniques.

Mot clés : Cancer de colon ; Flavonoïdes ; EGFR ; Docking moléculaire.

Abstract

This work presents a molecular docking study aimed at identifying new inhibitors of EGFR, a protein involved in colorectal cancer. A virtual screening was carried out with the AutoDock Vina program for 13 flavonoids known for their anticancer effects. The results revealed that the ligands EGCG, Isorhamntin and Apigenin are the best selected compounds, presenting the lowest values of interaction energies with respective scores of -8.3 kcal/mol, -8 kcal/mol and - 7.9 kcal/mol with respect to the EGFR enzyme. Visual analysis of the interactions between these ligands and the EGFR target was performed using the Discovery Studio program, demonstrating that apigenin forms robust hydrogen and hydrophobic bonds, outperforming those of the reference ligand MOR. ADME/T screening was used to predict and analyze the pharmacokinetic and toxicological properties of the selected compounds. The results indicate that apigenin favorably meets all pharmacokinetic criteria and exhibits no toxicity, making it a promising candidate for future preclinical and clinical studies.

Keywords : Colon cancer ; Flavonoids ; EGFR; Molecular docking.