



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie  
Département des sciences de la nature et de la vie  
Filière : Sciences biologiques

Référence ..... / 2022

# MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Biochimie Appliquée

---

Présenté et soutenu par :

**BEDJAOUI Yamina**

**BEN KHRARA Hayet**

Le: **Mercredi 29 juin 2022.**

## **Effet inhibiteur de quelques composées d'une huile essentielle (*Thymus coloratus*) sur l'activité de la tyrosinase : Approche *in silico***

---

### **Jury :**

M.	ATHAMNA Ahmed	MCB	Université de Biskra	Président
M.	REBAI Redouane	MCA	Université de Biskra	Rapporteur
Mme.	BOUDJEDJOU Lamia	MCB	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : **2021/2022**

# Remerciements

A notre encadrant, le docteur **REBAI redouane**, nous vous sommes infiniment reconnaissantes du grand honneur que vous nous avez fait en acceptant de nous confier ce travail, nous souhaitons être dignes de cet honneur.

Nous vous remercions pour votre patience, pour tout vos conseils, tes orientations, ton encouragement, et de votre soutien lors de la réalisation de ce projet de fin d'études. Je te souhaite tous mes vœux de réussir, et de vous voir aux plus hauts échelons de votre carrière.

# Dédicace

En premier lieu, je remercie mon **DIEU** de m'avoir donné la volonté et la force de surmonter toutes les difficultés rencontrées pendant ces dernières années, pour obtenir des moyennes avec distinction, comme le fruit de mon assiduité pour voir la joie et la fierté de mes parents.

A l'homme de ma vie, mon soutien moral et ma source de bonheur et de joie, **Mon père** je te remercie pour être toujours à mes côtés, pour ton amour, tes encouragements, pour m'avoir soutenu moralement et matériellement jusqu'à ce jour, tu es celui qui s'est sacrifié pour me voir réussir. Puisse dieu te préserver et t'accorder santé à toi mon exemple éternel.

**Ma chère mère**, la plus belle femme au monde, ma source de joie, de réussir, de conseils. Je te remercie pour tout vos encouragement dans tout ma vie jusqu'à ce jour, pour les sacrifices que tu as fait pour me voir diplômé aujourd'hui et pour que tu sois fier de moi.

J'ai la chance d'avoir des parents comme vous, que ce travail soit pour vous, que dieu vous protège, longue vie et bonheur éternel.

A mon grand frère **WAIL**, et ma grande sœur **YASMINE** pour ses encouragements, je vous souhaite tout le bonheur et le réussir de monde.

À mon jumeau **MOHAMMED**, je te remercie pour chaque moment de notre enfance et de notre adolescence que nous avons vécu ensemble, J'aimerais qu'on obtienne le diplôme universitaire ensemble, mais je sais que vous êtes heureux pour ma réussite aujourd'hui. Je vous souhaite de réussir dans ta vie.

A mon petit frère **RAFIK** et ma petite sœur **HIBA**, et mes neveux **ROEYA, MOHAMMED, ADEM**.

A ma copine **KHAOULA. Composées**

**Yamina.**

Je remercie mes très chers parents **SAADI** et **KHADIDJA**, qui ont été toujours là pour moi, je remercie mes **SŒURS** et mes **FRERES** pour leurs encouragements.

Je remercie mes amis qui ont toujours été là pour moi, leurs soutiens inconditionnels et leurs encouragements ont été d'une grande aide.

**HAYAT.**

# Table des matières

## Remerciement

## Dédicace

Liste des Tableaux.....	V
Liste des Figures .....	VI
Liste des abréviations .....	VII
Introduction générale .....	1

## Première Partie : Synthèse Bibliographique

### Chapitre 1 : La Mélanogénèse et son dérèglement

<b>1.1. Mélanine et la mélanogénèse .....</b>	<b>5</b>
1.1.1. L'initiation de la mélanogénèse .....	5
<b>1.2. La tyrosinase .....</b>	<b>6</b>
1.2.1. Structure du site actif .....	6
1.2.2. Activité catalytique de la tyrosinase .....	7
<b>1.3. Le dérèglement de la mélanogénèse .....</b>	<b>7</b>
1.3.1. Hyperpigmentation .....	7
1.3.1.1. Lentigos ou lentigines .....	7
1.3.1.2. Chloasmas (mélasma) .....	7
1.3.1.3. Nævus (grain de beauté).....	8
1.3.2. Mélanome malin .....	8
1.3.2.1. Le mélanome superficiel extensif (SSM).....	8
1.3.2.2. Le mélanome nodulaire (MN).....	8
1.3.2.3. Le mélanome de Dubreuilh ou lentigo malin.....	9
1.3.2.4. Le mélanome acromlentigineux (MAL) .....	9
<b>1.4. L'inhibition de la tyrosinase .....</b>	<b>9</b>
1.4.1. La plante étudiée .....	9
1.4.1.1. Description botanique de <i>Thymus coloratus</i> ssp.....	10
1.4.2. Famille de Composées choisies comme inhibiteurs de la tyrosinase.....	10

### Chapitre 2 : Le docking moléculaire

<b>2.1. Amarrage avec Autodock .....</b>	<b>12</b>
2.1.1. Modélisation du potentiel énergétique.....	12
2.1.2. Calcul de ces grilles de potentiel d'affinité atomique.....	13
2.1.3. L'algorithme de recherche .....	13
2.1.3.1. Algorithme génétique lamarckien .....	13

## Deuxième partie : Partie expérimentale

### Chapitre 3 : Matériel et Méthodes

<b>I. Matériels</b> .....	16
<b>a. Micro-ordinateurs</b> :.....	16
<b>b. Les bases des données</b> .....	16
1. PDB.....	16
2. Pubchem.....	16
<b>c. Les logiciels</b> .....	16
1. Autodock.....	16
2. Avogadro.....	17
3. BIOVIADiscovery studio .....	17
4. PyMOL .....	17
5. CHEMDRAW® PROFESSIONAL.....	17
6. SPSS.....	17
<b>II. Méthodes</b> .....	18
<b>1. Evaluation de logiciel de docking moléculaire</b> .....	18
1.1. Test RMSD .....	18
1.2. Test de corrélation (R) .....	18
<b>2. Préparation de récepteur</b> .....	18
<b>3. Préparation de ligand</b> .....	20
<b>4. Calcul de grill potentiel et le docking moléculaire</b> .....	21
<b>5. ADMET prédiction</b> .....	22
5.1. Les propriétés physico-chimiques.....	22
5.2. Les propriétés pharmacocinétiques.....	23

### Chapitre 4 : Résultats et Discussion

<b>1. Test de RMSD</b> .....	26
<b>2. Analyse visuelle</b> .....	27
<b>3. Le coefficient de corrélation de Pearson R</b> .....	29
<b>4. Résultats de docking</b> .....	30
<b>5. Evaluation des propriétés ADMET</b> .....	35
5.1. Les propriétés physico-chimiques.....	35
5.2. Les propriétés pharmacocinétiques .....	37
5.3. Prédiction de toxicité .....	39
<b>Conclusion</b> .....	41
<b>Bibliographie</b> .....	44

**Annexes**  
**Résumé**

# Liste des Tableaux

<b>Tableau 1.</b> Systématique de <i>Thymus Ciliatus coloratus ssp</i> (Quezel et Santa, 1963). .....	9
<b>Tableau 2.</b> Caractéristiques de 5I3B. ....	19
<b>Tableau 3.</b> Résultats de CG-MS d'huiles essentielles de la plante <i>Thymus coloratus ssp</i> .....	20
<b>Tableau 4.</b> Valeurs de RMSD de quelques complexes protéiques.....	27
<b>Tableau 5.</b> Tableau présente les scores de docking moléculaire par ordre des monoterpènes amarrées avec le 5I3B via l'autodock. ....	31
<b>Tableau 6.</b> Propriétés physico-chimiques des 15 composés étudiés. ....	35
<b>Tableau 7.</b> Propriétés pharmacocinétiques des molécules étudiées. ....	38
<b>Tableau 8.</b> Résultats de prédiction de toxicité des ligands étudiés .....	40

# Liste des Figures

<b>Figure 1.</b> Structure et composition de la peau humaine (site web 1). .....	5
<b>Figure 2.</b> Biosynthèse des mélanines (l'eumelanine et le pheomelanine) (Yamauchi et Mitsunaga, 2016).....	6
<b>Figure 3.</b> Site actif de tyrosinase protéine de cuivre de type 3 comprend six résidus d'histidine qui coordonnent les deux ions de cuivre CuA et CuB (PDB ID : 2Y9X).....	6
<b>Figure 4.</b> Trois états intermédiaires de site actif de la tyrosinase (André, 2012).....	7
<b>Figure 5.</b> Stades de développement de mélanome malin à partir d'un nævus (Viallard, 2015). .....	8
<b>Figure 6.</b> <i>Thymus Ciliatus coloratus ssp</i> (Benabid, 2000). .....	10
<b>Figure 7.</b> Structure 3D de 5I3B. ....	19
<b>Figure 8.</b> Structures 2D des monoterpènes étudiées.....	21
<b>Figure 9.</b> Position de la boîte d'amarrage dans le site actif de la 5I3B. ....	22
<b>Figure 10.</b> Résultats en % des valeurs de RMSD (Å) obtenus par le programme Autodock..	26
<b>Figure 11.</b> Visualisation par PyMOL du Superposition de ligand co-cristallisé (vert) et le ligand dockée (bleu) de 3HLD (RMSD= 0,863Å).....	27
<b>Figure 12.</b> Visualisation par PyMOL du Superposition de ligand co-cristallisé (vert) et le ligand dockée (bleu) de 2QPU (RMSD= 1,865Å). ....	28
<b>Figure 13.</b> Visualisation par PyMOL du Superposition de ligand co-cristallisé (vert) et le ligand dockée (bleu) de 4P6T (RMSD= 1.267 Å). ....	28
<b>Figure 14.</b> Visualisation par PyMOL du Superposition de ligand co-cristallisé (vert) et le ligand dockée (bleu) de 5I3B (RMSD= 0.000 Å). ....	28
<b>Figure 15.</b> Droite numérique de l'intensité de la corrélation linéaire en utilisant le coefficient de corrélation de Pearson (Boucherit, 2012). ....	29
<b>Figure 16.</b> Représentation graphique des énergies (kcal/mol) prédites par le docking des molécules de l'ensemble de test, en fonction des valeurs expérimentales (pIC50 en M).....	30
<b>Figure 17.</b> Interactions 2D et 3D de docking moléculaire avec 5I3B : <b>a</b> structure 2D/ <b>b</b> structure 3D de Abietol-4-épi, <b>c</b> structure 2D/ <b>d</b> structure 3D de $\beta$ -Bisabolene, <b>e</b> structure 2D/ <b>f</b> structure 3D de Caryophyllene oxide, <b>j</b> structure 2D/ <b>h</b> structure 3D de Bornyl acetate. .....	35

# Liste des abréviations

**UV** : Ultra-Violet

**L-DOPA** : L-3,4-DihydroxyPhénylAlanine

**PPO** : Polyphenoloxidase

**Cu** : Cuivre

**CuA** : Cuivre A

**CuB** : Cuivre B

**AGL** : Algorithme Génétique Lamarckien

**AG** : Algorithme Génétique

**RMSD** : Root Mean Square Deviation

**PDB** : Protein Data Bank

**PDBQT** : Protein Data Bank, Partial Charge (Q), & Atom Type (T)

**MMFF94** : Merck Molecular Force Field 94

**SPSS** : Statistical Package for the Social Sciences

**RSMC** : Regional Specialized Meteorological Centre

**SSM** : Superficial Spreading Melanoma

**MN** : Mélanome Nodulaire

**MAL** : Mélanome AcromLentigineux

**NLM** : National Library of Medicine

**NIH** : National Institutes of Health

**IBM** : International Business Machines

**pkCSM** : Small-Molecule Pharmacokinetics Prediction

**AA** : Acides Aminées



**CG-MS** : Gas Chromatography-Mass Spectrometry

**ADME** : Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion

**ADMET** : Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion, Toxicité

**DL50** : Dose Létale 50%

**SMILES** : Simplified Molecular-Input line-Entry System

**SDF** : Synchronous Data-Flow

**ID** : Identification

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**ARN** : Acide Ribonucléique

**WM** : Weight Molecular

**TPSA** : Topological Polar Surface Area

**SNC** : Système Nerveux Central

**GIA** : Absorption Gastro-Intestinal

**BBB** : Blood–Brain Barrier

**CIRC** : Centre international de recherche sur le cancer

**pIC50** : le logarithme négatif de la valeur IC50 (concentration inhibitrice 50%)

**Num. H-bond donors** : nombre des liaisons d'hydrogènes donneurs

**Num. H-bond acceptors** : nombre des liaisons d'hydrogènes accepteurs

**Num. H-bond rotatables** : nombre des liaisons d'hydrogènes rotatables

# **Introduction générale**

## Introduction générale

La peau est l'organe le plus grand et multifonctionnel du corps humain (Li, 2021). Elle fait une barrière protectrice contre les agressions chimiques, les agressions mécaniques et infectieuses qui peuvent perturber la physiologie de l'organisme, ainsi elle offre un système de protection unique contre les rayons ultraviolets grâce à ses pigments mélaniques (Mesnier, 2021). Les pathologies et les imperfections cutanées sont traitées aux mêmes titres que les dysfonctionnements des autres organes du corps, parmi ces dysfonctionnements cutanés : les hyperpigmentations qui ont pour origine une surproduction de mélanine, pigments responsable de la couleur de peau. Ces troubles de la pigmentation peuvent favoriser le développement de cancer s'appelle le mélanome malin (Kado *et al.*, 2022).

Le mélanome malin est le plus meurtrier des cancers de peau, est une maladie qui se développe à partir de cellules spécialisées de l'épiderme de la peau : les mélanocytes (Roulier, 2021). Les taux de diagnostic de la maladie ont augmenté de façon spectaculaire au cours de trois dernières décennies, alors que les taux de nombreux cancers diminuent, les nouveaux cas de mélanome augmentent rapidement en particulier chez les jeunes et malgré le développement des nouvelles stratégies en chimiothérapie sa mortalité reste élevée avec environ 55 000 décès dans le monde par an (Schadendorf *et al.*, 2018 ; Claveau et Claveau, 2021).

D'après GLOBOCAN, une étude menée par des scientifiques du centre international de recherche sur le cancer CIRC et ses partenaires prévoit que 324 635 nouveaux cas de mélanome malin (173 844 nouveaux cas chez les hommes et 150 791 nouveaux cas chez les femmes), et 57 043 nouveaux cas de décès par cette maladie (32 385 cas de décès chez les hommes et 24 658 cas de décès chez les femmes) dans le monde en 2020 (Sung *et al.*, 2021). Presque la moitié des cas (46.4%) et 46.2% des décès par le mélanome se produiront en Europe. En janvier 2022, il a été estimé que 99 780 adultes (57 180 hommes et 42 600 femmes) aux Etats unis recevront un diagnostic de mélanome invasif de la peau et il a été estimé 7 650 décès pour cette année (Xia *et al.*, 2022).

Par conséquent, le traitement des hyperpigmentations pour la prévention de mélanome malin est souvent un processus difficile et long. Plusieurs mécanismes peuvent être mise en œuvre, mais le principal mécanisme est de bloquer la synthèse de mélanine à un stade donné, en mettant au point l'inhibition de tyrosinase (EC 1.14.18.1) qui étant l'enzyme clé des deux premières étapes de la biosynthèse de la mélanine (Okombi, 2005), ses inhibiteurs sont devenus

de plus en plus importants en tant qu'agents dépigmentant dans les troubles d'hyperpigmentation.

Les recherches scientifiques dans les dernières années s'intéressaient aux composés naturels d'origine végétale, qui sont considérés comme une source importante de médicaments, destinés au domaine pharmaceutique (Ouedraogo *et al.*, 2021).

L'utilisation des approches *in silico* dans la recherche pharmaceutique et la conception de médicaments est devenue de plus en plus importante et est même désormais cruciale. Les méthodes de modélisation moléculaire permettent de déterminer l'arrangement spatial tridimensionnel des atomes au sein d'une molécule. Ils présentent un grand intérêt dans le domaine de la recherche médicale car ils permettent d'évaluer les propriétés physico-chimiques, la capacité de liaison moléculaire, ou encore la réactivité de molécules ou de systèmes moléculaires (Pachoulide, 2021 ; Wang *et al.*, 2022).

Dans ce travail, nous avons testé quelques huiles essentielles de la plante « *Thymus ciliatus coloratus ssp* » qui pourrait être une source des nouvelles inhibiteurs de la tyrosinase, en faisant appel aux approche *in silico* de modélisation des interactions cible-inhibiteurs par le docking moléculaire.

L'objectif de notre travail est :

- Dans un premier temps, de tester et d'évaluer la fiabilité de programme choisi « Autodock » pour réaliser le docking moléculaire, en utilisant le test de RMSD et le test de corrélation.
- Dans un deuxième temps, de sélectionner et de vérifier et d'identifier des nouvelles molécules capables d'inhiber notre cible thérapeutique « la tyrosinase » de manière assez efficace.
- Et en fin, de prédire l'absorption, la distribution, le métabolisme, l'excrétion et la toxicité (ADMET) des molécules étudiées comme des nouveaux inhibiteurs de la tyrosinase via des méthodes *in silico*.

# **Première Partie :**

# **Synthèse Bibliographique**

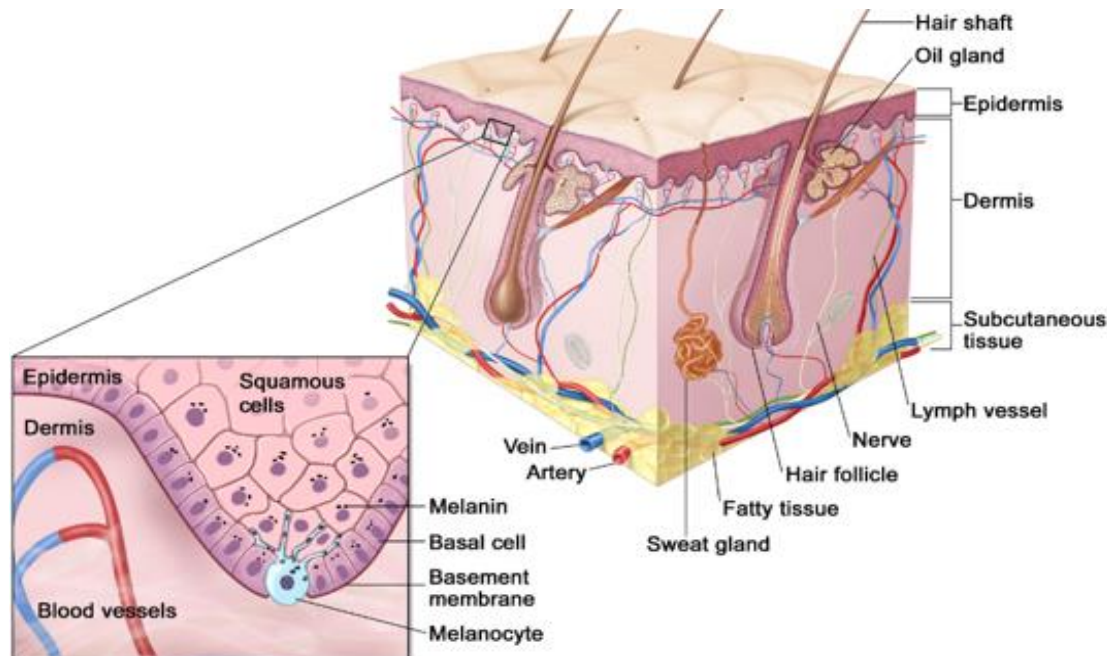
# **Chapitre 1 :**

# **La Mélanogénèse et son**

# **dérèglement**

# Chapitre 1 : La mélanogénèse et son dérèglement

La peau, le plus grand organe du corps en termes de surface, dont la principale fonction est de créer une barrière physique entre le milieu extérieur et l'organisme. Elle se compose de trois couches principales : l'épiderme, le derme et hypoderme (Fig.1) (Roulier, 2021).



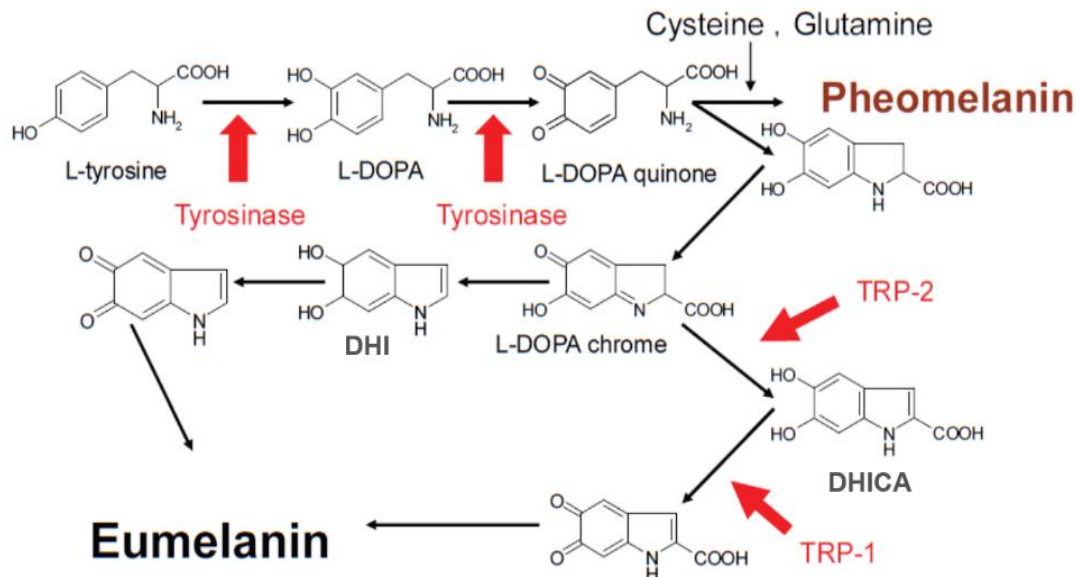
**Figure 1.** Structure et composition de la peau humaine (site web 1).

## 1.1. Mélanine et la mélanogénèse

La mélanogénèse est un processus biologique qui conduit à la synthèse de pigment mélanique à l'origine de la pigmentation de la peau et des poils (Fernandes, 2020). Les mélanocytes sont des cellules pigmentaires situées dans la couche basale de l'épiderme (Diazz, 2021) (fig.1), spécialisées dans la production de la mélanine qui protège la peau contre les UVs (Sormani, 2019), et prévient donc le développement de cancers cutanés. Il existe deux types de mélanine, la phéomélanine, un pigment jaune-rouge, et l'eumélanine, un pigment brun-noir qui est le seul protecteur vis à vis des rayonnements UV (Roulier, 2021). Chez les mammifères, la synthèse des mélanines n'a lieu que dans d'un organite spécialisé, le mélanosome, qu'elles seront ensuite distribuées dans les kératinocytes épidermiques pour jouer leur rôle physiologique (Sormani, 2019).

### 1.1.1. L'initiation de la mélanogénèse

Au cours des premières étapes de la synthèse de l'eumélanine et de la phéomélanine, la tyrosinase est responsable de la conversion de la L-tyrosine en L-DOPA qui est ensuite oxydée en dopaquinone s'avère être ainsi l'enzyme clé et limitante (Derrien, 2021) (fig.2).



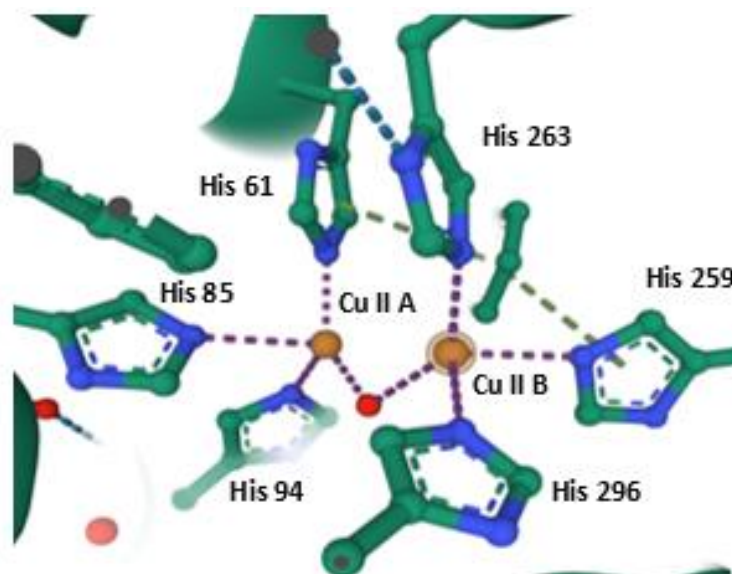
**Figure 2.** Biosynthèse des mélanines (l'eumelanine et le pheomelanine) (Yamauchi et Mitsunaga, 2016).

## 1.2. La tyrosinase

La tyrosinase est une métalloprotéine à cuivre (Kanteev *et al.*, 2015), est un polyphénol oxydase (PPO), monophénol, o-diphénol, oxygénase (EC 1. 14. 18. 1) appartenant à la famille des oxydoréductases (Tepper *et al.*, 2011), il s'agit d'une glycoprotéine membranaire responsable de la production de pigment mélanique dans les organismes vivants tel que les animaux et les bactéries, les champignons, les insectes, les plantes (Promden, *et al.*, 2018).

### 1.2.1. Structure du site actif

Le site actif de la tyrosinase est bi-nucléaire de type 3 contient deux sites de liaison Cu, CuA et CuB, chélatés par les atomes d'azote de six résidus d'histidine (fig.3) (Goldfeder *et al.*, 2014).



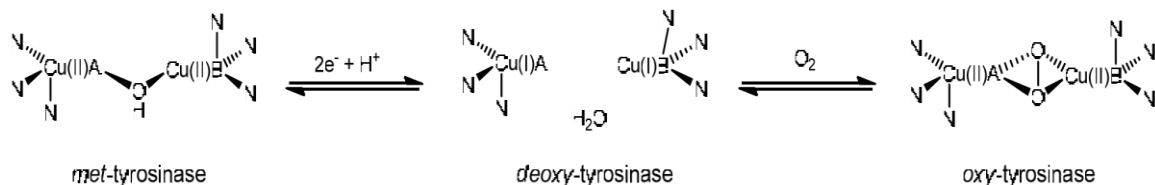
**Figure 3.** Site actif de tyrosinase protéine de cuivre de type 3 comprend six résidus d'histidine qui coordonnent les deux ions de cuivre CuA et CuB (PDB ID : 2Y9X).



### 1.2.2. Activité catalytique de la tyrosinase

La tyrosinase catalyse deux réactions : première réaction est l'hydroxylation de monophénol conduisant aux o-diphénol, connue sous le nom d'activité enzymatique monophénolase. Deuxième réaction est l'oxydation d'o-diphénols en o-quinone, connue sous le nom d'activité diphénolase (catécholase). Dans ces deux réactions d'oxydation, l'oxygène est utilisé comme oxydant (Masum *et al.*, 2019).

Pendant la catalyse, le centre cuivré de type 3 de la tyrosinase adopte trois formes redox : la désoxytyrosinase, l'oxytyrosinase et la mettyrosinase (fig.4). La forme désoxy (Cu(I)-Cu(I)) est l'espèce réduite, qui lie le dioxygène pour produire la forme oxygénée. Sous forme oxygénée, l'oxygène moléculaire se lie sous forme de peroxyde (Cu(II)-O<sub>2</sub><sup>2-</sup>-Cu(II)) et l'active. La forme met (Cu(II)-Cu(II)) est reconnue comme la forme enzymatique au repos. Dans ces trois formes redox de tyrosinase, la forme oxygénée peut catalyser à la fois les réactions monophénolase et diphénolase, tandis que la forme met manque d'activité monophénolase (Masum *et al.*, 2019).



**Figure 4.** Trois états intermédiaires de site actif de la tyrosinase (André, 2012).

### 1.3. Le dérèglement de la mélanogénèse

#### 1.3.1. Hyperpigmentation

L'hyperpigmentation est le résultat d'une activation mélanocytaire et d'une prolifération anarchique des mélanocytes, caractérisée par une augmentation de la quantité de mélanine biosynthétisée (Roulier, 2021). Ces dérèglements peuvent prendre plusieurs formes :

##### 1.3.1.1. Lentigos ou lentigines

Ce sont des taches hyperpigmentées souvent isolées, maculaires, de couleur brun foncé à noir. Elles sont dues à une hypermélanocytose épidermique avec présence occasionnelle de grains de mélanine géants, dénommés macromélanosomes (Agharbi, 2019).

##### 1.3.1.2. Chloasmas (mélasma)

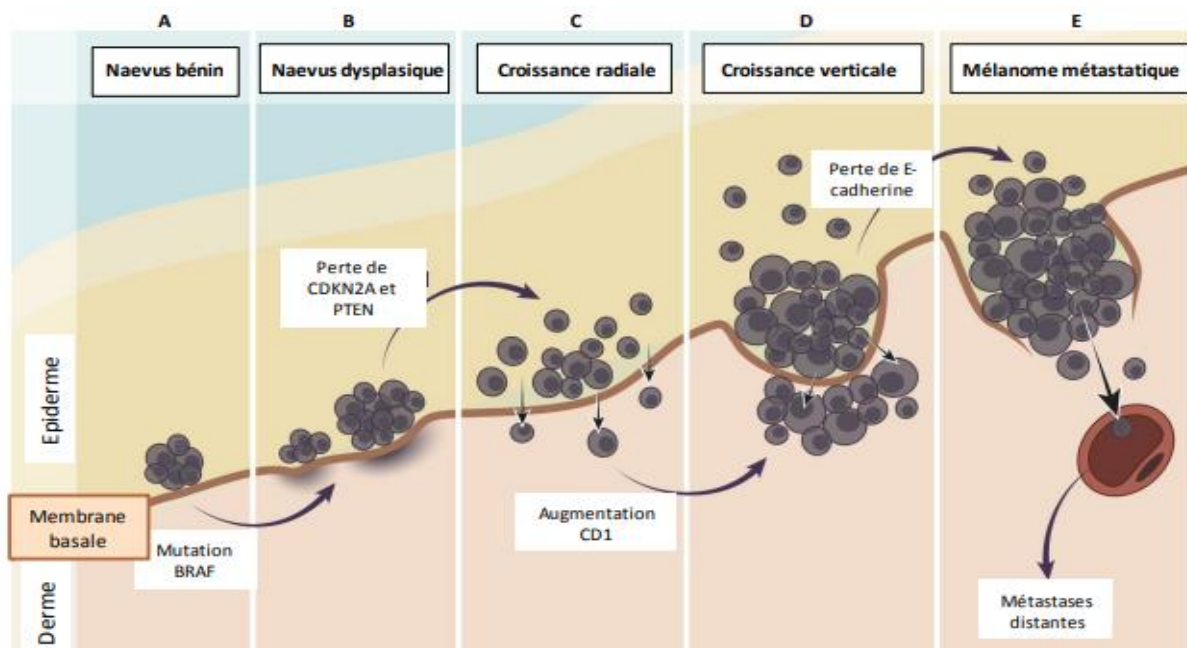
Le mélasma est une hypermélanose caractérisée par des macules réticulées asymétriques, de couleur brune, irrégulières, sur les zones de la peau exposées au soleil, en particulier le visage et qui associée à des dérèglements hormonaux (exemple : la grossesse) (Kwon *et al.*, 2019).

### 1.3.1.3. Nævus (grain de beauté)

Sont des plaques souvent congénitales, plates et symétriques, de couleur et surface homogènes ou légèrement surélevées de différentes tailles. Ils sont associés à une surproduction de mélanocytes à proximité de la jonction dermo-épidermique (Ganjoo *et al.*, 2021).

### 1.3.2. Mélanome malin

Le mélanome cutané est une prolifération tumorale développée aux dépens des mélanocytes (Baaziz, 2021), qui se développe généralement à partir d'une peau saine, comme il peut apparaître à partir d'un nævus dans 20% des cas (Bleunven, 2016). Dans ce cas s'étend d'abord dans l'épiderme puis jusqu'au derme, voir le tissu sous-cutané (fig.5).



**Figure 5.** Stades de développement de mélanome malin à partir d'un nævus (Viallard, 2015).

- Il existe quatre principaux types de mélanome cutané :

#### 1.3.2.1. Le mélanome superficiel extensif (SSM)

La forme de mélanome la plus répandue (70 à 80% des cas), à l'aspect d'une tache de différentes couleurs, plat et fin, avec des contours irréguliers. Il a tout d'abord une première phase de croissance intra-épidermique horizontale, la seconde phase est une phase de croissance verticale (Alem, 2021).

#### 1.3.2.2. Le mélanome nodulaire (MN)

C'est la forme la plus rare (5% des cas), il se présente généralement d'un nodule brun ou noir qui se développe plus rapidement avec une progression verticale et horizontale en simultané, ce caractère fait de lui le type de mélanome cutané le plus agressif (Alem, 2021).

### 1.3.2.3. Le mélanome de Dubreuilh ou lentigo malin

C'est le mélanome le moins grave, notamment du fait de la durée très longue de sa phase de développement, et survient toujours sur une peau photo-exposée de manière chronique. Il se présente généralement sous forme d'une grande plaque plate brune (Alem, 2021).

### 1.3.2.4. Le mélanome acrolentigineux (MAL)

Il peut être divisé en deux sous-catégories distinguées par leur localisation, qui apparaissant au niveau de la paume des mains et de la plante des pieds, ou au niveau des ongles. Dans les deux cas, il se développe sur des zones non exposées au soleil (Bleunven, 2016).

## 1.4. L'inhibition de la tyrosinase

Puisque la tyrosinase est une enzyme cruciale dans la synthèse de la mélanine, il devient la cible la plus importante et la plus efficace pour les inhibiteurs de la mélanogénèse qui inhibent directement l'activité catalytique de l'enzyme. La recherche de molécules naturelles, d'origine végétale, inhibitrices de tyrosinase s'est considérablement développée, car les plantes constituent une source importante de molécules bioactives souvent exemptes d'effets secondaires (Okombi, 2005).

### 1.4.1. La plante étudiée

*Thymus coloratus ssp* est une sous-espèce appartient à le genre *Thymus*, qui est l'un des 220 genres les plus diversifiés de la famille des labiées (Morales, 2002). Le mot « thym » provient du terme grec « Thymos » qui signifie « parfumé » à cause de l'odeur agréable que la plante dégage naturellement ou lorsqu'on la fait brûler (Zeghib, 2013).

Classification botanique de *Thymus coloratus ssp* est classée comme suit (tab.1) :

**Tableau 1.** Systématique de *Thymus Ciliatus coloratus ssp* (Quezel et Santa, 1963).

<b>Règne</b>	<i>Plantae (végétal)</i>
<b>Embranchement</b>	<i>Spermaphytes (phanérogames)</i>
<b>Classe</b>	<i>Dicotylédones</i>
<b>Sous classe</b>	<i>Métachlamydées (gamopétales)</i>
<b>Ordre</b>	<i>Tubi-florales</i>
<b>Sous ordre</b>	<i>Lamiales</i>
<b>Famille</b>	<i>Lamiacées (Labiées)</i>
<b>Genre</b>	<i>Thymus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Ciliatus</i>
<b>Sous-espèce</b>	<i>T. coloratus</i>

#### 1.4.1.1. Description botanique de *Thymus coloratus* ssp

La *Thymus coloratus* ssp est une plante aromatique endémique qui se trouve à l'état spontané sous forme d'un arbrisseau à capitule dense, gros et à feuilles florales plus ou moins tachées de pourpre au moins à la base. Leur fleurs sont généralement plus pales et ne dépassent pas 7 à 8mm (Quezel et Santa, 1963) (fig.6). Cette espèce pousse autour du bassin méditerranéen et dans le Nord de l'Algérie (Bousmaha *et al.*, 2007), elle est rencontrée dans toutes les régions montagneuses (Hans, 2007), dans les pelouses, les matorrals, les broussailles, sur sols rocailleux et sur substrats calcaires et siliceux (Kholkhal, 2014).



**Figure 6.** *Thymus Ciliatus coloratus* ssp (Benabid, 2000).

#### 1.4.2. Famille de Composées choisies comme inhibiteurs de la tyrosinase

Les monoterpènes sont des composés odorantes concentrées, appartiennent à un groupe vaste et diversifié de composés naturels : les terpènes. La structure de base des monoterpènes, ou monoterpénoïdes  $C_{10}H_{16}$ , consiste en deux unités isoprène  $C_5H_8$  liées, Ils peuvent être linéaires (acycliques) ou cyclique (monocycliques\bicycliques). En raison de leur faible poids moléculaire, existent sous forme d'huiles essentielles. Les nombres de monoterpènes ont des propriétés pharmacologiques antimicrobiennes, anti-inflammatoires, antioxydants, antiprurigineuses, hypotensives et analgésiques (Zielińska et Feder, 2020).

L'huile essentielle de *coloratus* ssp est des substances odorantes concentrées, obtenues à partir de plantes par une hydro-distillation, qui reste la méthode la plus utilisée et la plus répandue pour l'extraction des composés aromatiques très volatils, et qui sont facilement analysables par chromatographie en phase gazeuse avec la spectrométrie de masse (GC/SM) permet d'effectuer simultanément la séparation et l'analyse des différents constituants d'un mélange complexe (Ouis, 2015).

# **Chapitre 2 :**

# **Le docking moléculaire**

## Chapitre 2 : Le docking moléculaire

L'amarrage moléculaire (ou docking moléculaire) est une technique de choix pour développer et identifier *in silico* des molécules actives vis-à-vis d'une cible biologique particulière, le principe est basé sur l'hypothèse que les ligands formant des interactions favorables avec le récepteur sont dits avoir une haute affinité (Darme, 2021).

Il existe trois types de docking moléculaire :

### ➤ Le docking rigide

Ce modèle s'apparente à considérer un modèle de liaison de type "serrure-clé", au cours duquel la protéine et le ligand sont traités comme complètement rigides et qui ne subissent aucuns réarrangements conformationnels suite à leur interaction.

### ➤ Le docking semi-flexible

Ce type de docking repose sur l'hypothèse sommaire que la conformation du récepteur utilisée est apte à reconnaître le ligand, dans lequel le récepteur est considéré comme un corps rigide mais tient compte de la flexibilité de ligand.

### ➤ Le docking flexible

Ce type de docking représente une approche plus réaliste et crédible en considérant des modèles de liaison du ligand au récepteur de type "ajustement induit", qui considère simultanément la flexibilité du ligand et du récepteur.

## 2.1. Amarrage avec Autodock

Autodock est un logiciel d'amarrage moléculaire développé par Olson au Scripps Research Center (Goodsell et Olson, 1990). Actuellement, il est largement utilisé comme logiciel d'amarrage moléculaire gratuit qui adopte une méthode d'amarrage semi-flexible, principalement pour l'amarrage des protéines et des petites molécules.

### 2.1.1. Modélisation du potentiel énergétique

Pour calculer l'énergie libre du complexe ligand-récepteur, Autodock 4.2 utilise un champ de force basé sur l'énergie libre calculée de manière semi-empirique. Ce champ de force a été paramétré en utilisant un grand nombre de complexes inhibiteur-protéine pour lesquels les structures et les constantes d'inhibition sont connues (Morris *et al.*, 2009). Cela permet d'évaluer la liaison protéine-ligand en deux étapes : il permet d'évaluer les énergies

intramoléculaires protéine/ligand lors de la transition de l'état libre à l'état lié, puis estime les énergies intermoléculaires relie le ligand liée à la protéine (Darne, 2021).

L'énergie est estimée par l'équation 1 (Darne, 2021):

$$\text{Équation 1 : } \Delta G = \Delta G_{vdw} + \Delta G_{hbond} + \Delta G_{elec} + \Delta G_{tor} + \Delta G_{sol}$$

Les trois premiers termes sont des termes classiques de mécanique moléculaire ; il s'agit respectivement des énergies : dispersion/ répulsion atomique, liaisons hydrogène et interactions électrostatiques.  $\Delta G_{tor}$  est un terme lié aux contraintes de rotation du ligand et à la perte de degrés de liberté. Il représente une variation de l'entropie du système : la contrainte engendre une diminution de l'entropie (Darne, 2021).  $\Delta G_{sol}$  est un terme lié à l'entropie qui décrit les variations d'énergie du système lors de la désolvatation du ligand lorsqu'elle forme une complexe avec le récepteur, on l'appelle « l'effet hydrophobe » (Lanez, 2016).

### 2.1.2. Calcul de ces grilles de potentiel d'affinité atomique

Ainsi, l'évaluation rapide de l'énergie peut se faire par l'intermédiaire de grilles de potentiel d'affinité atomique pré-calculées pour chaque type d'atome (Arakawa *et al.*, 2003). Une grille est une matrice tridimensionnelle qui englobe l'intégralité ou une région intéressante du récepteur étudié. Le calcul de ces grilles est effectué par AUTOGRID, un programme d'Autodock, qui calcule automatiquement les grilles nécessaires parmi les types C, N, O et H. Une grille supplémentaire est calculée pour le potentiel d'interaction électrostatique avec pour sonde une charge ponctuelle de +1 eV (Fortuné, 2006).

### 2.1.3. L'algorithme de recherche

Autodock permet d'explorer l'espace conformationnel au choix, avec, un algorithme génétique lamarckien (AGL), un algorithme génétique darwinien (AG) ou par recuit simulé par la méthode de Monté Carlo (RSMC) (Fortuné, 2006).

#### 2.1.3.1. Algorithme génétique lamarckien

Autodock dispose d'un AGL dont la phase d'optimisation locale est particulière, elle utilise une variante où l'opérateur travaille sur l'espace génotypique du ligand pour minimiser son énergie alors que la plupart des algorithmes classiques travaillent sur l'espace phénotypique (Fortuné, 2006). L'algorithme génétique Lamarckien est plus rapide que l'algorithme génétique standard dans la recherche du minimum (Bouvier, 2010), et qui donne les résultats les plus fiables (Brooijmans et Kuntz, 2003).

**Deuxième partie :**  
**Partie**  
**expérimentale**



# **Chapitre 03 :**

# **Matériel et Méthodes**

## Chapitre 3 : Matériel et Méthodes

### I. Matériel

#### a. Micro-ordinateurs :

Dans cette étude, nous avons utilisé, 2 micros :

- PC hp probook 450G avec une mémoire RAM 4 GO et un processeur intel(R) Core(TM) i3-3120M CPU @ 2.50 GHz 2.50 GHz.
- PC hp avec une mémoire RAM 8 GO et un processeur intel(R) Core(TM) i7-7500M CPU @ 2.70 GHz 2.90 GHz.

#### b. Les bases des données

##### 1. PDB

La banque de données Protein Data Bank le PDB (site web 2) sert de dépôt global unique pour l'information structurale 3D de grandes molécules biologiques, faisant plus de 170 000 structures expérimentalement déterminées de protéines, L'ADN, l'ARN et leurs complexes avec des médicaments et/ou d'autres petites molécules librement disponibles sans limites d'utilisation.

##### 2. Pubchem

Pubchem (site web 3) est une base de données publique spécifique aux molécules chimiques créée par la National Library of Medicine (NLM), un institut des National Institutes of Health (NIH) des États-Unis. Pubchem est une ressource d'information très populaire pour les communautés de recherche biomédicale dans de nombreux domaines, y compris la chiminformatique, la biologie chimique, la chimie médicinale et la découverte de médicaments.

#### c. Les logiciels

##### 1. Autodock

Autodock est une suite d'outils d'arrimage automatisés qui a été développé à l'Institut de recherche en Scripts, dans les années 1990. Il est conçu pour prédire comment les petites molécules se lient à un récepteur de structure 3D connu. L'Autodock 4 se compose en fait de deux programmes principaux : autodock effectue l'amarrage du ligand à un ensemble de grilles décrivant la protéine cible ; pré-calcul autogéré de ces grilles.

## 2. Avogadro

Avogadro est un logiciel permet aux scientifiques de construire et de visualiser une molécule, et aussi de procéder à son édition. Son utilité se révèle en modélisation moléculaire, en science des matériaux, en chimie numérique, en bio-informatique et dans les sciences similaires. L'élément le plus appréciable au niveau de logiciel Avogadro est son rendu très flexible et sa robustesse en tant que système.

## 3. BIOVIA Discovery studio

BIOVIA Discovery Studio est une application de modélisation moléculaire gratuite et riche en fonctionnalités pour la visualisation, le partage et l'analyse des données sur les protéines et les petites molécules. Il fournit aux chercheurs un ensemble d'outils complet pour explorer les nuances de la chimie des protéines et catalyser la découverte de petites et grandes molécules thérapeutiques, de l'identification de la cible à l'optimisation des pistes.

## 4. PyMOL

PyMOL est un système de visualisation moléculaire parrainé par les utilisateurs sur une base open source, maintenu et distribué par Schrödinger.

## 5. CHEMDRAW® PROFESSIONAL

ChemDraw Professional est un programme utilisé par des centaines de milliers de scientifiques à travers le monde pour dessiner rapidement et efficacement des molécules, des réactions et des voies biologiques à utiliser dans des documents. Il inclut également Chem3D avec une interface d'application tierce.

## 6. SPSS

SPSS est un logiciel spécialisé dans l'analyse et le traitement de données conçu par IBM. Il est classé dans la catégorie des logiciels d'analyse statistique ou d'analyse commerciale.

- ❖ Tous les programmes utilisés dans ce travail sont installés sous le système d'exploitation Windows 10 Professional.

## **II. Méthodes**

### **1. Evaluation de logiciel de docking moléculaire**

Avant de docker les molécules étudiées comme des inhibiteurs de la cible thérapeutique « tyrosinase », il est nécessaire de tester les performances de prédiction du modèle de docking que nous avons développé avec le logiciel Autodock.

#### **1.1. Test RMSD**

Pour réaliser un calcul de RMSD, premièrement nous avons choisis 80 complexes protéiques à partir la banque des données « Protéine Data Bank » (voir annexe 1), ces complexes choisis sont ensuite téléchargées se format pdb. Puis nous avons retiré le ligand co-cristallisé pour chaque complexe protéine-ligand par le logiciel Discovery studio et repositionnée par docking dans le site actif de la protéine via le logiciel Autodock. La valeur de RMSD de chaque complexe protéine-ligand choisi est calculée et analysée visuellement par le logiciel PyMOL.

#### **1.2. Test de corrélation (r)**

Soient X= score de docking et Y= pIC50 deux grandeurs statistiques quantitatives choisis pour réaliser le test de corrélation de Pearson, nous avons dessiné 38 molécules (structure 2D) (voir annexe 2) à l'aide de logiciel ChemDraw Professional 15.0 qui permet de converti en structure 3D et de minimiser leur énergie. Nous avons ensuite testé ces molécules par docking via l'Autodock avec l'enzyme cible qui par laquelle les pic50 de ces molécules choisis ont été calculées expérimentalement PDB ID : 7E2Y (Marot, 1995).

Nous avons placée en abscisse la variable X (le score de docking obtenue par l'Autodock pour chaque molécule), en ordonnée la variable Y (pic50 expérimental) dans le programme SPSS, chaque observation est positionnée dans le repère ainsi constitué.

L'intérêt est multiple : nous pouvons déterminer s'il existe une relation entre X et Y, caractériser la forme de la liaison (la relation) entre X et Y (positive ou négative, linéaire ou non linéaire), quantifier l'intensité de la liaison r.

### **2. Préparation de récepteur**

Dans notre étude, nous avons choisi l'enzyme tyrosinase comme une cible thérapeutique, dont la structure cristalline a été obtenue sous format pdb à partir la banque de données « RCSB Protéine Data Bank ». Parmi les complexes protéiques proposés par cette banque nous avons choisi celui portant le PDB ID : 5I3B (fig.7).

La structure 3D de l'enzyme choisie a été résolue par la cristallographie aux rayons X avec une résolution de 2,20 Å. En générale, les structures des protéines ayant une résolution comprise entre 1,5 et 2,5 Å sont de bonne qualité par des études ultérieures (Didierjean et Tête-favier, 2016).



**Figure 7.** Structure 3D de 5I3B.

- Les données protéiques de 5I3B sont présentées dans le tableau 2 :

**Tableau 2.** Caractéristiques de 5I3B.

Code PDB	Résolution (Å)	Classification	Nombre des chaînes	Nombre des AA	Inhibiteur co-cristallisé	organisme
5I3B	2,20	EC.1.14.18.1	2	287	Hydroquinone	Prestia megaterium

Dans notre travail, une seule chaîne de l'enzyme a été retenue, les molécules d'eau et les cofacteurs ont été éliminés grâce à logiciel Discovery studio, et par lequel aussi nous avons éliminé le ligand co-cristallisé pour le but d'obtenir un récepteur avec un site actif libre.

Ensuite à l'aide de programme Autodock, des atomes des hydrogènes polaires ont été ajoutées sur le récepteur, et par la méthode de Kollman et Gasteiger les charges atomiques ont été calculées. Ce fichier préparé de récepteur 5I3B a été converti au format pdbqt.

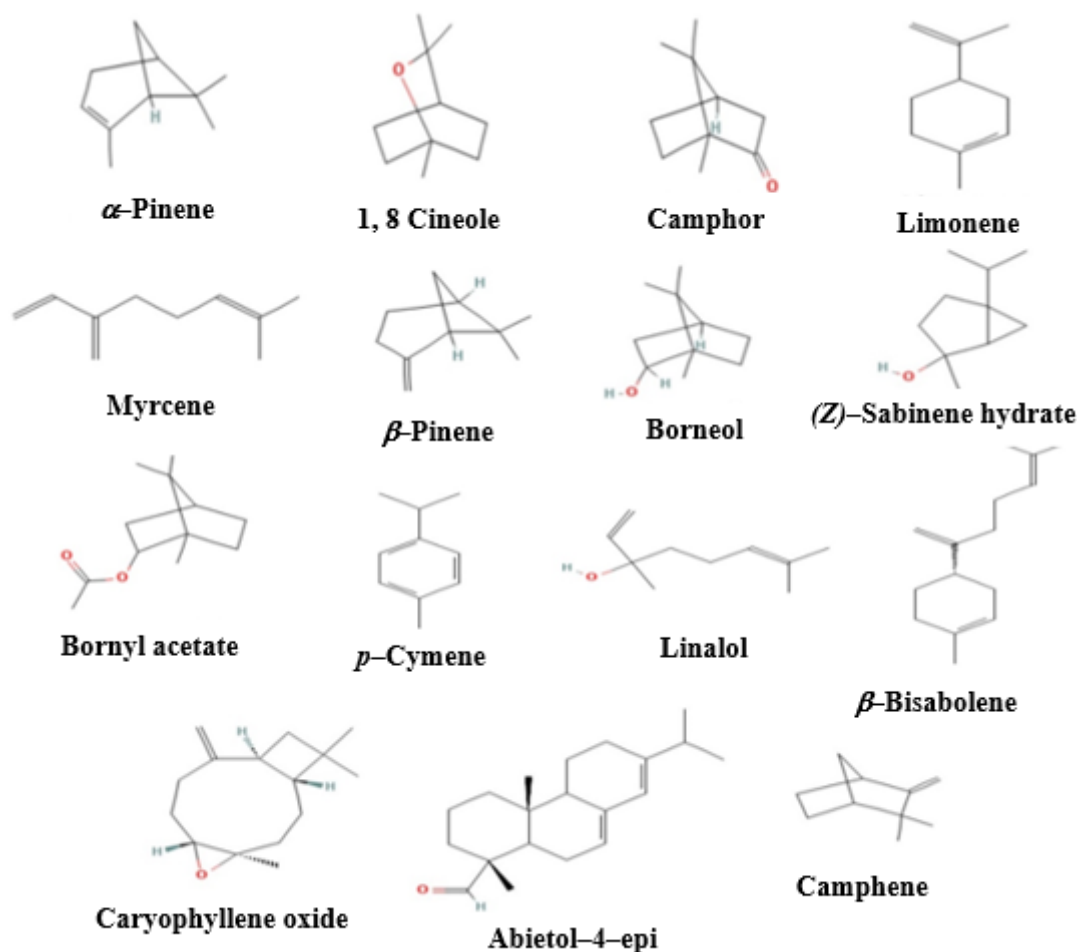
### 3. Préparation de ligand

La récolte du matériel végétal a été effectuée dans les environs de Wilaya de Tlemcen, en plein inflorescence de May à Juin 2021.

Dans cette étude : 15 ligands ont été choisis comme des inhibiteurs de la tyrosinase (fig.8). Ces composés dérivent de la famille chimique monoterpène qui ont été identifiés par CG-MS d'huiles essentielles extraites à partir la plante *Thymus coloratus ssp* par une hydro distillation. Les résultats de CG-MS sont présentés dans le tableau 3 ci-dessus :

**Tableau 3.** Résultats de CG-MS d'huiles essentielles de la plante *Thymus coloratus ssp*.

#	Component	nRI	pRI	%
1	$\alpha$ -Pinene	931	1022	3,48
2	Camphene	943	1066	5,51
3	$\beta$ -Pinene	970	1110	2,95
4	Myrcene	979	1159	13,54
5	<i>p</i> -Cymene	1011	1268	3,33
6	Limonene	1020	1199	6,40
7	1,8 Cineole	1020	1209	4,51
8	( <i>Z</i> )-Sabinene hydrate	1051	1451	0,39
9	Linalol	1081	1544	0,49
10	Camphor	1123	1517	4,09
11	Borneol	1148	1698	7,37
12	Bornyl acetate	1269	1515	1,65
13	$\beta$ -Bisabolene	1500	1720	6,68
14	Caryophyllene oxide	1576	1980	4,69
15	Abietol-4-epi			2,58
	Yield (% v/w)			0,63



**Figure 8.** Structures 2D des monoterpènes étudiées.

Les structures 3D de ces ligands choisis ont été téléchargées via la chimio-thèque Pubchem (voir annexe 3) sous format sdf, puis ont été convertis en format pdb à l'aide de logiciel Avogadro à fin de minimiser leurs énergies globales avec **MMFF94**, un champ de force spécialisé dans le traitement des petites molécules organiques qu'ils rendent à l'état le plus stable.

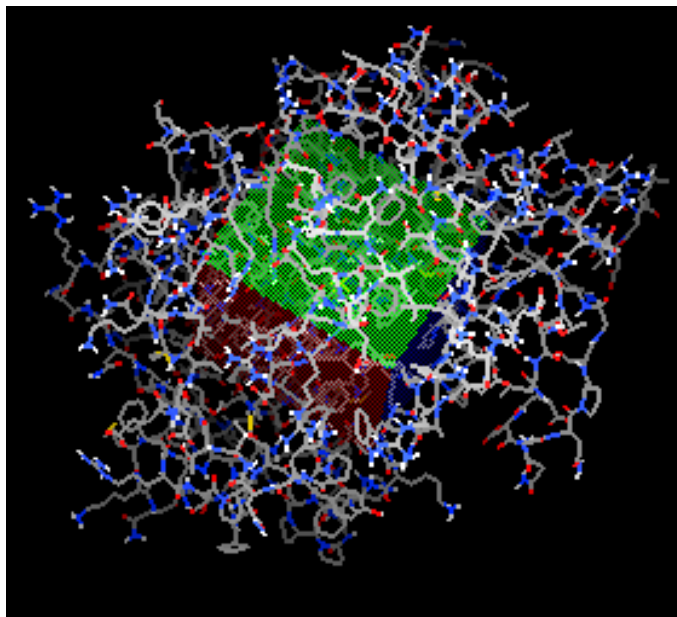
Le fichier ligand.pdb a été converti en ligand.pdbqt par le programme Autodock à fin de définir les atomes aromatiques, les angles de torsion et les liaisons flexibles de ligand.

#### 4. Calcul de grill potentiel et le docking moléculaire

Après que les fichiers 5I3B.pdbqt et ligand.pdbqt ont été préparées, nous avons défini une taille de grille de 46 Å × 40 Å × 50 Å avec un espacement de grille de 0,375 Å, centré sur les coordonnées x, y et z de 1,361, 0,111 et 2,611, pour le récepteur avec l'Autodock Tools 1.5.6

pour le but d'évaluer très rapidement l'énergie pour les différentes configurations de ligand dans le site actif prévu dans l'amarrage (fig.9).

Et l'algorithme génétique lamarckien (AGL) a été attribué pour effectuer le processus d'amarrage moléculaire semi-flexible pour trouver la meilleure position adéquate de complexe ligand-récepteur, donc la meilleure fonction énergétique empirique obtenue avec les interactions moléculaires. La sortie de l'Autodock a été analysée plus en détail avec le programme Discovery Studio.



**Figure 9.** Position de la boîte d'amarrage dans le site actif de la 5I3B.

## 5. ADMET prédiction

ADME est importante pour le développement de médicaments où un composé principal pharmacologiquement actif est stimulé par des étapes pour une activité et une sélectivité accrues, ainsi que des propriétés de type médicament qui pourraient être utilisées comme médicaments. ADME est un site web (site web 4) qui permet à l'utilisateur d'inclure les données SMILES de pubchem d'un ligand qui est étudié comme un médicament et fournit les paramètres tels que :

### 5.1. Les propriétés physico-chimiques

#### ✓ Règles des cinq de Lipinski

Le concept de « drug-likeness » a été proposé pour fournir des lignes directrices utiles au cours des premières étapes de la découverte de médicaments afin d'améliorer les chances qu'un produit chimique entre et réussisse les essais cliniques (Ursu *et al.*, 2011). les règles de lipinski



est la plus utilisée pour l'identification des composés drug-likes (Lipinski *et al.*, 1997). D'après cette règle, les molécules ne validant pas au moins deux des paramètres suivants ont de très fortes chances d'avoir des problèmes d'absorption ou de perméabilité :

- masse moléculaire  $\leq 500$  Da. Cependant, les composés avec des poids plus élevés sont moins susceptibles d'être absorbés et donc d'atteindre le lieu d'action.
- Un coefficient de partition ou une lipophilie  $MlogP \leq 4,15$ . La valeur  $\log P$  d'un composé qui est le logarithme de son coefficient de partage entre le n-octanol et l'eau  $\log (c\text{-octanol}/c\text{-eau})$  est une mesure bien réputée de l'hydrophilie du composé. De faibles hydrophobicités et donc des valeurs  $\log P$  élevées entraînent une mauvaise absorption ou perméation. Il a été démontré que les composés ont une probabilité raisonnable d'être bien absorbés, leur valeur de  $\log P$  ne doit pas être supérieure à 4,15 (Rashid, 2020).
- accepteurs de liaisons Hydrogènes  $\leq 10$ .
- donneurs de liaisons Hydrogènes  $\leq 5$ .
- Nombre de fonctions rotatives  $\leq 15$ . Ce paramètre topologique est une mesure de la flexibilité moléculaire. Il s'est avéré être un très bon descripteur de la biodisponibilité orale des médicaments. Une liaison rotative est définie comme toute liaison unique non cyclique, liée à un atome lourd non terminal (c'est-à-dire non hydrogène) (Rashid, 2020).

#### ✓ La règle de Veber

De plus, pour une bonne biodisponibilité par voie orale, Veber a introduit un critère supplémentaire, la surface polaire TPSA. Le TPSA est connu que la somme totale de toutes les régions polaires de la surface d'une molécule est bien corrélée avec diverses propriétés liées à la biodisponibilité, telles que l'absorption intestinale et la pénétration de la barrière hémato-encéphalique. Si les contributions de tous les atomes polaires exposés à la surface de la molécule se résument à une zone inférieure à  $140 \text{ \AA}^2$ , alors la probabilité que les molécules passent facilement les membranes est considérablement réduite (Veber *et al.*, 2002).

## 5.2. Les propriétés pharmacocinétiques

Des propriétés telles que l'absorption, la distribution, le métabolisme, l'excrétion et la toxicité (ADMET) sont des éléments importants de la conception de médicaments pharmaceutiques. Il est souvent rapporté que le non-respect des critères ADMET requis est une

cause fréquente des taux d'attrition élevés des candidats-médicaments (Ferreira et Andricopulo, 2019). Une évaluation ADMET rapide est nécessaire de toute urgence pour minimiser les échecs dans le processus de découverte de médicaments (Dong *et al.*, 2018).

Les propriétés d'ADMET (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion, Toxicité) des composés principaux ont été calculés, telles que : l'absorption intestinale (GIA), perméabilité hémato-encéphalique (BBB), l'inhibition des isoformes majeures de cytochromes P450 (CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4), Log  $k_p$  (perméabilité cutanée : cm/s).

Nous avons entrées le canonical SMILES de pubchem de chaque ligand (voir annexe 3) choisi dans cette travail dans la barre de recherche de site ADME (site web 4), qui ont été ensuite analysée.

#### ✓ Prédiction de toxicité

La prédiction toxicologique des petites molécules est importante pour prédire la quantité de tolérance des petites molécules avant d'être ingérée dans les modèles humains et animaux. PkCSM est une base de données en ligne (site web 5) dans laquelle la petite molécule peut être dessinée virtuellement ou peut être analysée en soumettant les SMILES de celle-ci. Le site Web peut fournir des détails sur :

- La dose maximale de tolérance humaine.
- La DL50.
- L'hépatotoxicité.

Nous avons recherchée et soumis les canonical SMILES (voir annexe 3) sur le site web pkCSM (site web 5) et les paramètres de toxicité ont été prédits, et pour le DL50 a été estimée à partir proTOX-II prédiction (site web 6) qui fournit un serveur Web disponible gratuitement pour la prédiction de la toxicité *in silico* des toxicités orales de petites molécules chez les rongeurs.

# **Chapitre 04 :**

# **Résultats et Discussions**

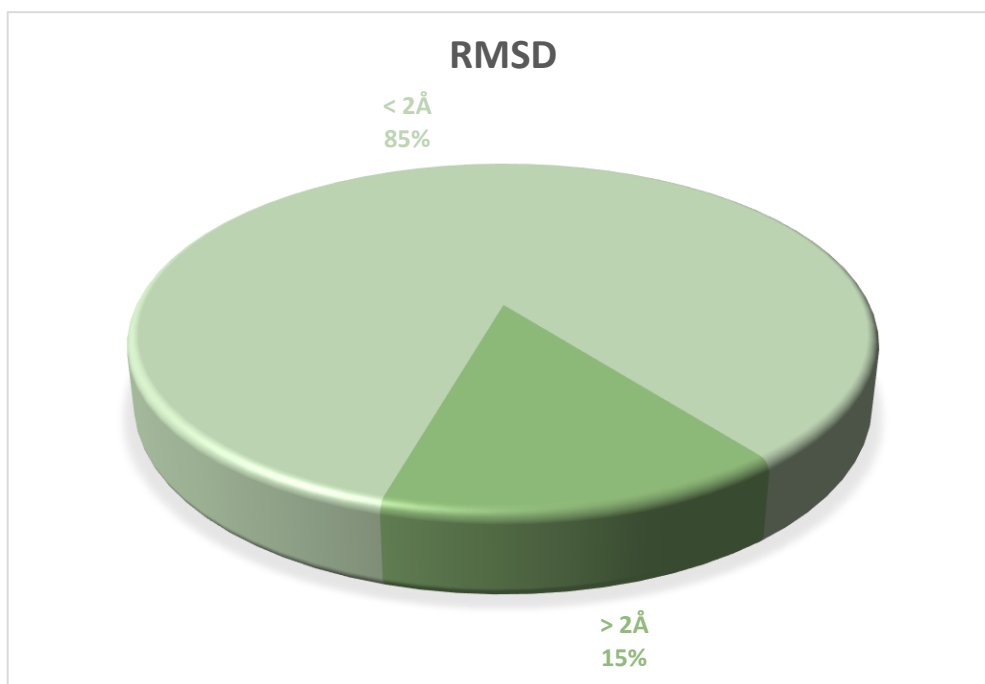
## Chapitre 4 : Résultats et Discussions

### 1. Test de RMSD

Les structures cristallographiques protéine-ligand disponibles dans la PDB sont souvent utilisées afin d'évaluer la capacité d'un logiciel de docking moléculaire à repositionner correctement un ligand selon son mode de liaison expérimental. La précision d'une pose prédite peut être évaluée en calculant l'écart quadratique moyen ou RMSD (Bell et Zhang, 2019).

Pour confirmer l'efficacité du modèle de docking moléculaire, ce test a été réalisé sur 80 complexes ligand-protéine (voir annexe 1) disponible sur « Protéine Data Bank », dans le graphe suivant (fig.10) les résultats des valeurs RMSD sont donnés en pourcentage % :

- ❖ 68 complexes protéine-ligand ont des valeurs RMSD ne dépassent pas 2 Å, qui représentent 85%.
- ❖ 12 complexes protéine-ligand ont des valeurs RMSD dépassent 2 Å, qui représentent 15%.



**Figure 10.** Résultats en % des valeurs de RMSD (Å) obtenus par le programme Autodock.

D'après les résultats de RMSD des autres études qui ont été évalué la fiabilité de programme Autodock : Mokrani *et al.* (2012) ont trouvé 75,46% des valeurs de RMSD des complexes protéiques sont inférieurs à 2 Å, alors que Belhoula et Bioud (2019) ont trouvé 71% des valeurs RMSD sont inférieures à 2 Å.

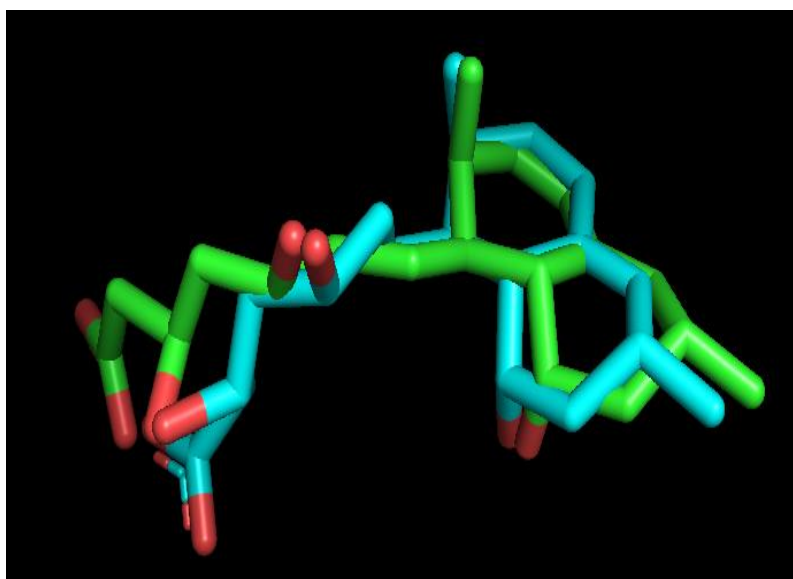
Les études réalisées par Gabb *et al.* (1997), Vieth *et al.* (1998), Chikhi et Bensegueni (2008), ont confirmé que tout programme de docking n'est performant que lorsque le RMSD entre la pose du ligand calculée par le logiciel et la conformation dans le complexe expérimental est inférieur ou égale à 2 Å.

## 2. Analyse visuelle

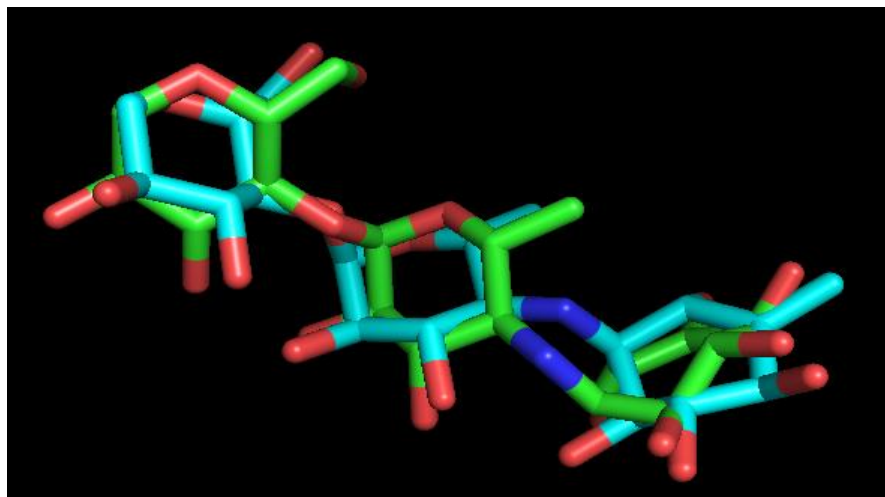
Pour confirmer les résultats du RMSD, l'analyse visuelle est une étape permet de déterminer la superposition d'un ligand simulé avec le ligand co-cristallisé. Nous avons visualisé spécifiquement quatre complexes qui sont présentés ci-dessus (tab.4) (fig.11, 12, 13, 14) :

**Tableau 4.** Valeurs de RMSD de quelques complexes protéiques.

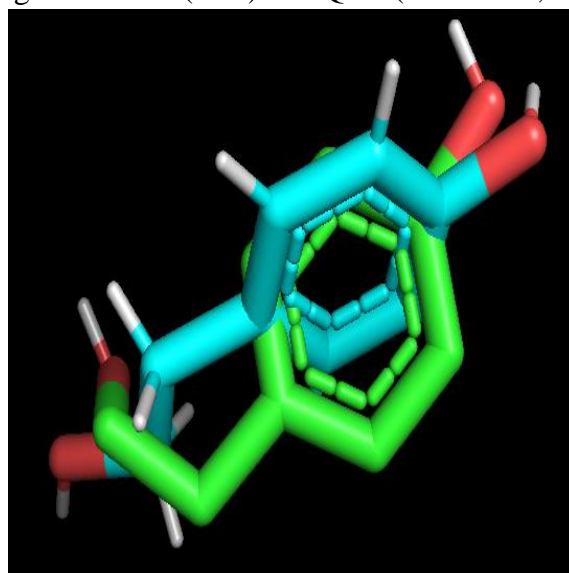
Enzyme ID PDB	RMSD (Å)
2QPU	1,865
5I3B	0,000
3HLD	0,863
4P6T	1,267



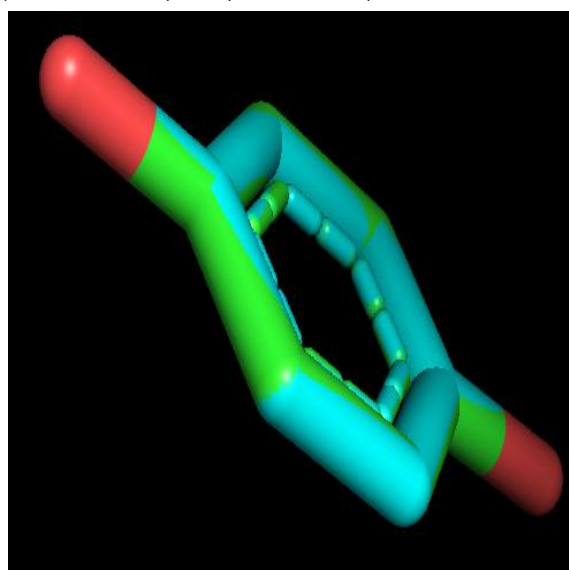
**Figure 11.** Visualisation par PyMOL du Superposition de ligand co-cristallisé (vert) et le ligand dockée (bleu) de 3HLD (RMSD= 0,863Å).



**Figure 12.** Visualisation par PyMOL du Superposition de ligand co-cristallisé (vert) et le ligand dockée (bleu) de 2QPU (RMSD= 1,865 Å).



**Figure 13.** Visualisation par PyMOL du Superposition de ligand co-cristallisé (vert) et le ligand dockée (bleu) de 4P6T (RMSD= 1.267 Å).



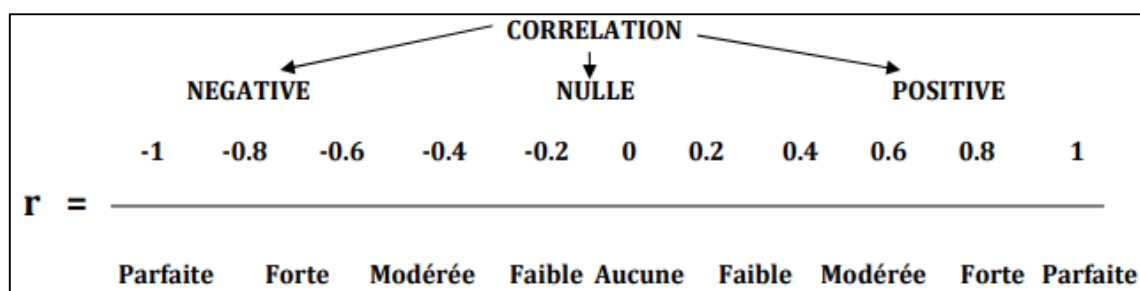
**Figure 14.** Visualisation par PyMOL du Superposition de ligand co-cristallisé (vert) et le ligand dockée (bleu) de 5I3B (RMSD= 0.000 Å).

La figure 11 montre la superposition de la meilleure conformation de ligand cristallisée qui a été redockée dans le site actif de la protéine et la structure cristalline de 3HLD, les résultats de cette superposition montrent que sont presque proche, avec une valeur de RMSD n'étaient que 0,863 Å.

Et la figure 14 montre une bonne conservation de la séquence à l'interface entre la structure expérimentale et la structure prédit de l'enzyme 5I3B, la valeur RMSD entre 8 atomes est de 0.000 Å, donc on dit que ces 2 structures sont parfaitement superposées.

### 3. Le test de corrélation de Pearson $r$

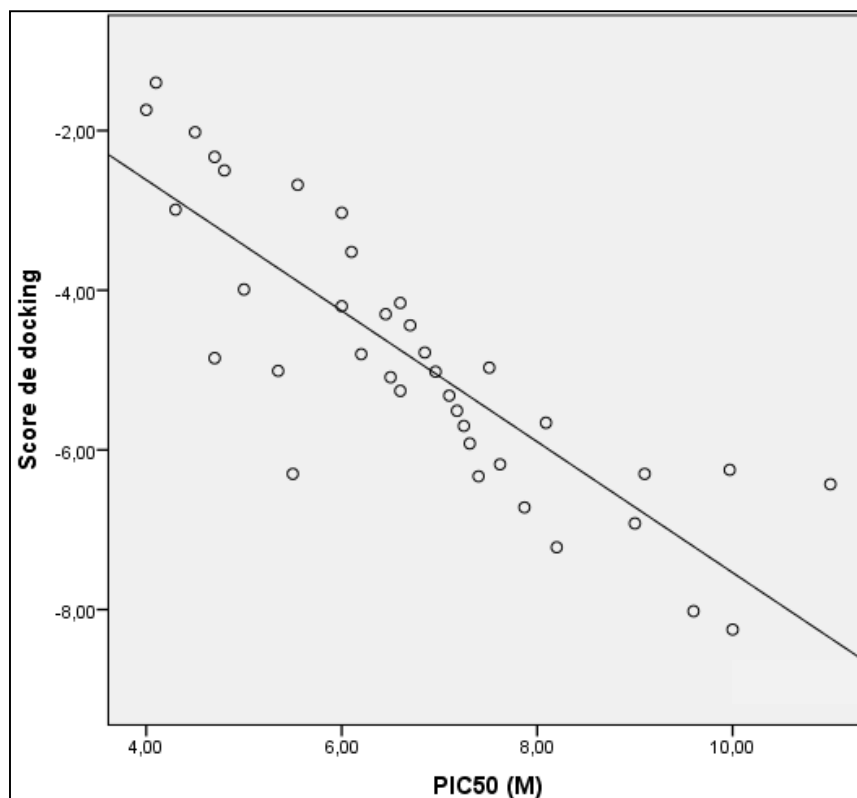
Ce test consiste à mesurer de l'intensité de liaison entre 2 variables X et Y, la mesure normalisée est définie entre  $-1 < r < +1$ . Plus l'association des 2 variables est forte, plus le coefficient de corrélation  $r$  sera proche de +1 ou -1 selon que la relation est respectivement positive ou négative. Et s'il n'y a pas de relation linéaire entre les deux séries de données, le coefficient de corrélation est très proche de zéro, et on dira que les deux variables ne sont pas corrélées (fig.15) (Wackerly *et al.*, 2014).



**Figure 15.** Droite numérique de l'intensité de la corrélation linéaire en utilisant le coefficient de corrélation de Pearson (Boucherit, 2012).

Pour confirmer l'efficacité du modèle de docking moléculaire par l'Autodock, nous avons procédé au calcul de la corrélation entre le score de docking prédites, obtenues par le programme Autodock pour les 38 composés et les activités expérimentales correspondantes pIC50 (voir annexe 2).

Nous avons obtenu une graphique (fig.16) qu'il s'appelle nuage de points avec un coefficient de corrélation  $r=0,841$  (voir annexe 4), et une courbe linéaire, ce signifie qu'il existe une forte relation linéaire positive entre le score de docking et pic50 expérimentale de ligand. Ces 2 variables évoluent dans le même sens, une augmentation de score de docking entraîne une augmentation de pic50 de même ordre quel que soit la valeur de score de docking.



**Figure 16.** Représentation graphique des énergies (kcal/mol) prédites par le docking des molécules de l'ensemble de test, en fonction des valeurs expérimentales (pIC50 en M).

#### Conclusion :

- Donc nous pouvons confirmer d'après le test de RMSD et le test de corrélation  $r$  que le programme de docking proposé pourrait décrire de manière satisfaisante les interactions entre les ligands et le site actif de la cible thérapeutique.

#### 4. Résultats de docking moléculaire

Le mode de liaison prédit, les énergies de docking moléculaire et les interactions des molécules amarrées avec 5I3B en utilisant le logiciel Autodock ont été comparés à celles de l'acide kojique qui considéré comme une contrôle positive de référence.

L'énergie de docking calculée pour le ligand de référence l'acide kojique avec 5I3B est égale à -4,83 kcal/mol. Ainsi, 12 molécules parmi les 15 molécules étudiées présentent une affinité à l'enzyme supérieur à celle du l'acide kojique. Les résultats montrent que Abietol-4 epi avec un score de docking égal -8,14 kcal/mol présente une meilleure énergie d'interaction



par rapport tous les molécules, donc un meilleur effet inhibiteur de la 5I3B, et qui le suivre le  $\beta$ -Bisabolene comme une meilleur inhibiteur avec une énergie d'interaction -6,32 kcal/mol.

Selon l'affinité des meilleures composées vis-à-vis de notre cible (5I3B), nous avons pu les classer par ordre croissante (tab.5) :

Abietol-4-epi >  $\beta$ -Bisabolene > Bornyl acetate > Caryophyllene oxide

L'analyse des résultats a révélé que 3 composés présentent une énergie de docking inférieure à celle du l'acide kojique : Linalol (-4,16 kcal/mol), 1,8 Cineole (-4,68 kcal/mol), Myrcene (-4,49 kcal/mol).

**Tableau 5.** Tableau présente les scores de docking moléculaire par ordre des monoterpènes amarrées avec le 5I3B via l'autodock.

<i>Monoterpène</i>	<i>Score de docking (kcal /mol)</i>
<b>Abietol-4-epi</b>	<b>-8,14</b>
<b><math>\beta</math>-Bisabolene</b>	<b>-6,32</b>
<b>Bornyl acetate</b>	<b>-6,06</b>
<b>Caryophyllene oxide</b>	<b>-6,04</b>
<b>p-Cymene</b>	<b>-5,64</b>
<b>Borneol</b>	<b>-5,52</b>
<b>Camphor</b>	<b>-5,39</b>
<b>Limonene</b>	<b>-5,24</b>
<b>Camphene</b>	<b>-5,21</b>
<b>(Z)-Sabinene hydrate</b>	<b>-5,17</b>
<b><math>\alpha</math>-Pinene</b>	<b>-4,97</b>
<b><math>\beta</math>-Pinene</b>	<b>-4,89</b>
<b>Acide kojique (ligand référentiel)</b>	<b>-4,83</b>
<b>1,8 Cineole</b>	<b>-4,68</b>
<b>Myrcene</b>	<b>-4,49</b>
<b>Linalol</b>	<b>-4,16</b>

A partir des résultats d'amarrage moléculaire, les composés ont été visualisés pour déterminer ses interactions 2D et 3D dans le site catalytique de la protéine tyrosinase (PDB ID : 5I3B) (voir annexe 5).

Les résultats d'interactions 2D et 3D de la figure 17 (a et b) montrent que le complexe 5I3B-(Abietol-4-épi) est stabilisé par une liaison d'hydrogène avec le résidu Asn 205 et que le Abietol-4-épi favorise d'interagir de manière hydrophobe par des liaisons van der Waals : Met 61, His 60, His 42, Ala 221, Gln 202, Gly 196, Pro 201, Met 215, Val 217. Cependant les 3 derniers résidus sont identiques à celui identifié dans le complexe 5I3B-Caryophyllène oxide, et 4 points de fixation (His 60, His 42, Met 215, Ala 221) sont identiques à celui identifié dans une étude de docking réalisée à l'aide de tyrosinase (PDB ID : 5I38) et l'acide kojique comme ligand inhibiteur (Karakaya *et al.*, 2019).

De plus le Abietol-4-épi à former 5 liaisons alkyle avec les résidus His208, Val 218, Arg 209, Phe 197, et qui à former deux liaisons d'hydrogène-carbone avec les résidus Phe 197, Gly 200 de le site actif de 5I3B. Les interactions intermoléculaires d'une étude de docking moléculaire entre 3NQI et l'acide kojique à confirmer que Gly 200 formé une liaison hydrogène-carbone avec le site catalytique de tyrosinase (PDB ID : 5I38) (Karakaya *et al.*, 2019).

La figure 17 (c et d) montre que les résidus Ala 239, His 245, Asn 249, Asn 278, Tyr 250, Gln 242, Gln 248 de site actif de 5I3B ont formé des liaisons de type van der Waals avec le  $\beta$ -Bisabolène, et qui augmentent la stabilité de ce complexe formé.

D'autre part, le  $\beta$ -Bisabolène interagit également avec Trp 238, Met 277, Trp 241, Tyr 177, His 279, Ile 243, Arg 280 par de deux types des liaisons alkyles et pi alkyles.

Le figure 17 (e, f) montre que 14 acides aminés de site actif de la tyrosinase 5I3B interagissent avec le Caryophyllène oxide dont :

- 7 résidus ont interagissent par des liaisons de type van der Waals : Asn 57, Pro 201, Val 217, Gly 216, Asn 205, Met 215, Glu 195. Cependant le Met 215, Val 217, Pro 201 sont identiques à celui montré dans le complexe 5I3B-(Abietol-4-épi), et Gly 216, Val 217, Asn 205 sont des résidus identiques à celui formés dans le complexe 5I3B-(Bornyl acétate).
- 6 résidus ont interagissent par des liaisons alkyles et pi alkyles, qui sont : Met 61, Val 218, Phe 197, His 204, His 208, Arg 209, dont Val 218, His 204, His 208,

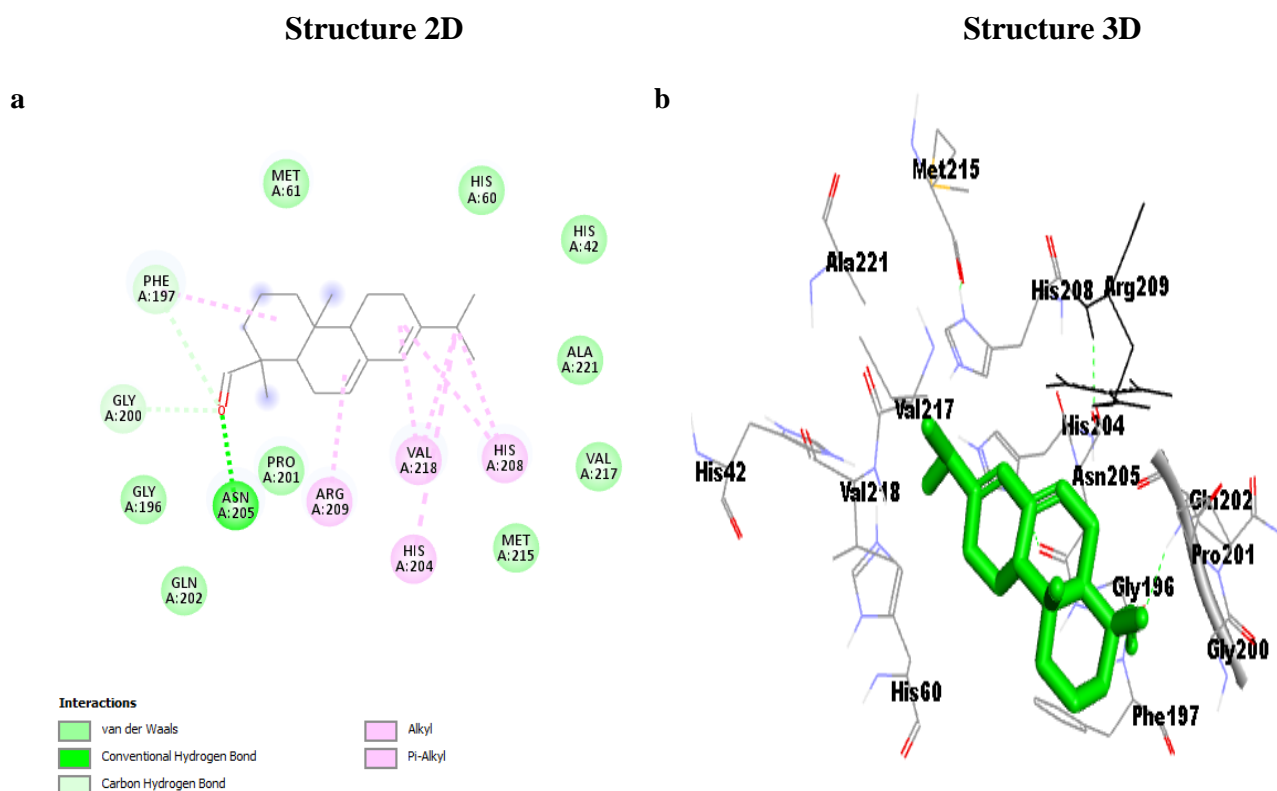
Arg 209 sont des interactions intermoléculaires identifiées déjà dans le complexe 5I3B-(4-epi-abietal).

- Et un résidu His 60 qui formé une liaison pi Sigma.

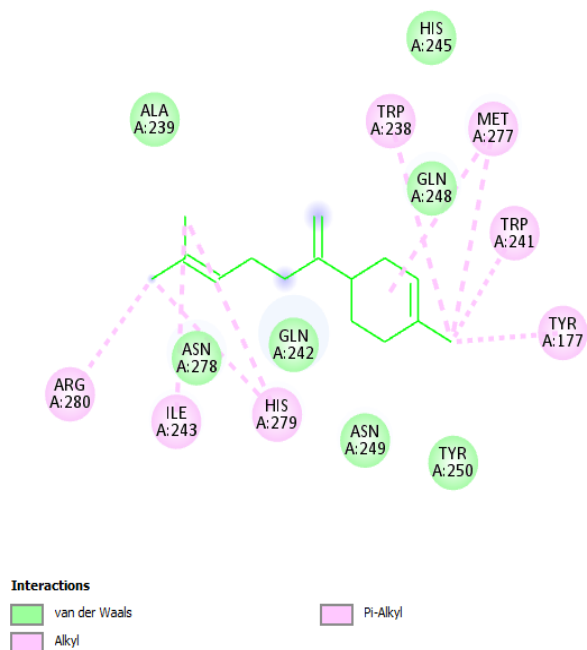
De plus le Bornyl acétate qui considéré comme le 3<sup>ème</sup> meilleure inhibiteur de 5I3B avec une énergie -6,06 kcal/mol, est stabilisée dans le site actif par deux liaisons d'hydrogènes conventionnels His 60 et His 42.

Et comme la figure 17 (j et h) nous montre que des liaisons de van der waals ont formé avec les résidus de site actif Gly 216, Val 217, Ala 221, Phe 227, His 231, His 69, Asn 205. Et d'autre part, les résidus Val 218, His 208, His 204 ont formé des liaisons Alkyle et pi alkyle.

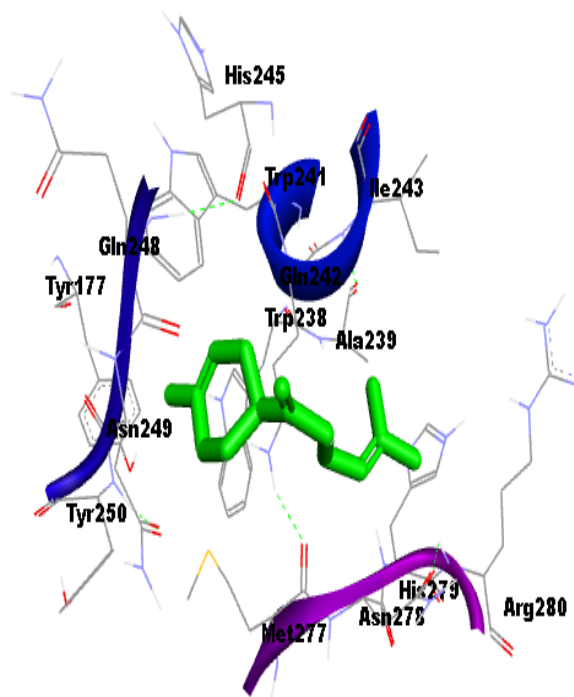
Les résidus Val 218, His 208, His 204 sont des résidus communs entre les complexes : 5I3B-caryophyllene-oxide, 5I3B-(Abietol-4-epi), 5I3B-(Bornyl acétate), qui peuvent formées des liaisons de types alkyles et pi alkyles.



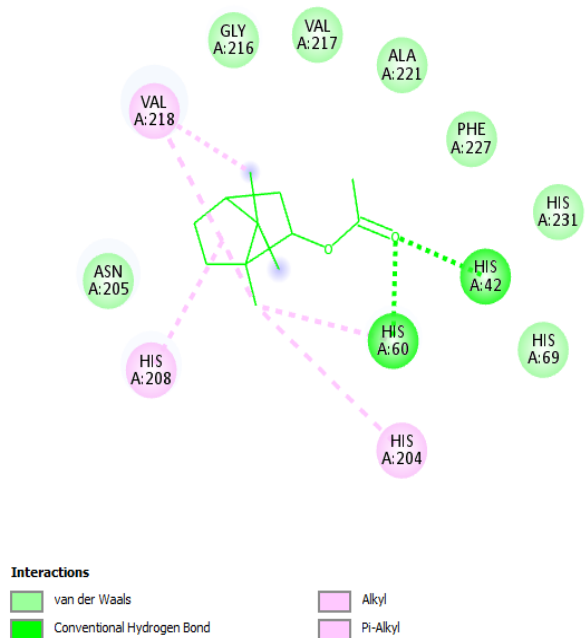
c



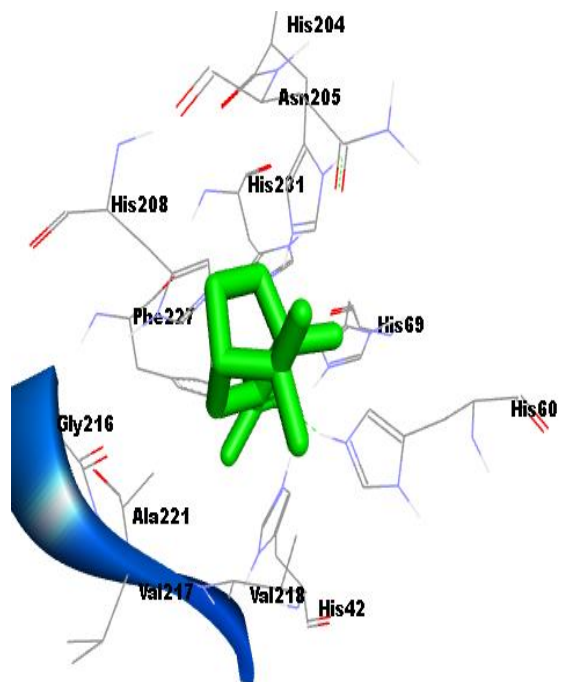
d

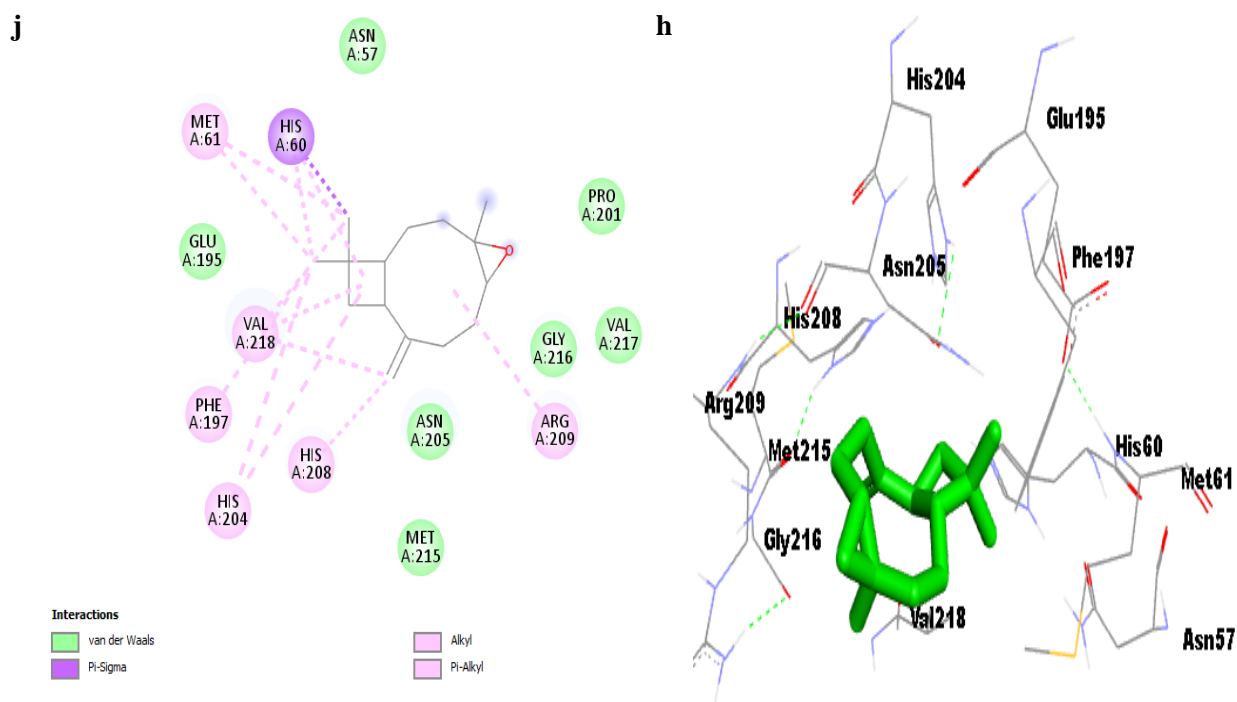


e



f





**Figure 17.** Interactions 2D et 3D de docking moléculaire avec 5I3B : **a** structure 2D/ **b** structure 3D de Abietol-4-epi, **c** structure 2D/ **d** structure 3D de  $\beta$ -Bisabolene, **e** structure 2D/ **f** structure 3D de Caryophyllene oxide, **j** structure 2D/ **h** structure 3D de Bornyl acetate.

## 5. Evaluation des propriétés ADMET

Dans les étapes d'identification et d'optimisation des pistes, il y a des exigences de plus en plus élevées pour démontrer les relations structure-activité et un ADME (absorption, distribution, métabolisme, excrétion) et un profil toxicologique satisfaisants. Une nouvelle démarche qui consiste à prédire précocement ces propriétés par les méthodes *in silico*, à partir la structure 2D de la molécule, est devenue une étape cruciale qu'il nécessaire d'utiliser au préalable avant d'entamer l'étape expérimentale (Ferreira et Andricopulo, 2019).

### 5.1. Les propriétés physico-chimiques

Les propriétés moléculaires telles que le coefficient de partage (MLog P), la surface polaire topologique (TPSA), les donneurs et accepteurs de liaisons hydrogène, les liaisons rotatives, le poids moléculaire et les violations de la règle de cinq de Lipinski ont été calculées pour évaluer la ressemblance médicamenteuse des composés étudiées et représentés dans le Tableau 6 :

**Tableau 6.** Propriétés physico-chimiques des 15 composés étudiés.

	WM g/mol	Num. rotatables bonds	Num. H-bond acceptor s	Num. H-bond donors	MLOGP	Violation	TPSA
<i>p</i> -Cymene	134,22	1	0	0	4,47	1 violation MLOGP >4,15	62,891
Linalol	154,25	4	1	1	2,59	0 violation	69,439
( <i>Z</i> )- Sabinene hydrate	154,25	1	1	1	2,45	0 violation	68,806
1,8 Cineole	154,25	0	1	0	2,45	0 violation	69,126
Limonene	136,23	1	0	0	3,27	0 violation	63,639
Myrcene	136,23	4	0	0	3,56	0 violation	63,955
$\beta$ -Pinene	136,23	0	0	0	4,29	1 violation MLOGP >4,15	63,322
Camphene	136,23	0	0	0	4,29	1 violation MLOGP >4,15	63,322
$\alpha$ -Pinene	136,23	0	0	0	4,29	1 violation MLOGP >4,15	63,322
Abietol-4- epi	286,45	2	1	0	4,65	1 violation MLOGP >4,15	129,438
Caryophyl lene oxide	220,35	0	1	0	3,67	0 violation	99,255
$\beta$ - Bisabolene	204,35	4	0	0	4,53	1 violation MLOGP >4,15	94,774
Bornyl acetate	196,29	2	2	0	2,76	0 violation	86,017
Borneol	154,25	0	1	1	2,45	0 violation	68,806
Camphor	152,23	0	1	0	2,30	0 violation	68,174

A partir des résultats de tableau 6, on constate tous les ligands sélectionnés dans ce travail possédant :

- Des nombres des liaisons donneurs d'hydrogènes inférieurs à 5.
- Des nombres des liaisons accepteurs d'hydrogènes inférieurs à 10.
- Un poids moléculaire inférieurs à 500Da, ce signifie que elles sont capable de traversé les membranes cellulaires avec un niveau d'absorption gastro-intestinale, donc une bonne biodisponibilité orale.
- Des nombres des liaisons retables inférieurs à 15.
- Que toutes les molécules ont une valeur de MLOGP inférieurs à 4,15 à l'exception de : Abietol-4-epi,  $\beta$ -Bisabolene,  $\alpha$ -Pinene,  $\beta$ -Pinene, Camphene, *p*-Cymene qui ont une valeur de MLOGP supérieur à 4,15.
- Toutes les molécules ont une valeur de TPSA inférieure à 140Å<sup>2</sup>, ce signifié qu'elles ont une bonne prédiction de la biodisponibilité orale et assurent un meilleur transport à travers les membranes biologiques (Durojaye *et al.*, 2019).

Ces ligands choisis comme des inhibiteurs dont les propriétés physico-chimiques et drug-likness, satisfont tous les 5 règles de Lipinski et la règle de Veber tels que : Borneol, Camphor, Bornyl acetate, Caryophyllene oxide, Linalol, (*Z*)-Sabinene hydrate, 1,8 Cineole, Limonene, Myrcene. Sauf Abietol-4-epi,  $\beta$ -Bisabolene,  $\alpha$ -Pinene,  $\beta$ -Pinene, Camphene, *p*-Cymene, qui ne satisfont pas que un seul paramètres des règles de Lipinski (MLOGP > 4,15), ce qui constitue une violation de la règle de Lipinski mais qui est acceptable (pas plus d'une violation). Ce signifie que tous les 15 molécules sont susceptibles de présenter une bonne biodisponibilité et une bonne absorption gastro-intestinale.

- ✓ Donc ces composés répandues parfaitement à les règles de Lipinski et la règle de Veber et peuvent être utilisée comme des médicaments inhibiteurs de la cible thérapeutique étudiée la tyrosinase sans possibilité d'avoir des effets indésirables dans la perméabilité et l'absorption.

## 5.2. Les propriétés pharmacocinétiques

Ayant passé l'étape d'évaluation des propriétés physicochimiques de Lipinski et Veber, les composés étudiés doivent également répondre favorablement propriétés pharmacocinétiques ADME pour être admis en tant que candidat-médicament (tab.7).

**Tableau 7.** Propriétés pharmacocinétiques des molécules étudiées.

	GIA	Log Kp cm/s	BBB Log BB	CYP3A4	CYP2D6	CYP2C9	CYP2C19	CYP1A 2
<b>Abietol-4-epi</b>	High	-4,70	Oui	No	No	Oui	Oui	No
<b><math>\beta</math>-Bisabolene</b>	Low	-2,98	Oui	No	No	Oui	No	No
<b>Bornyl acetate</b>	High	-4,44	Oui	No	No	Oui	No	No
<b>Caryophyllene oxide</b>	High	-5,12	Oui	No	No	Oui	Oui	No
<b>p-Cymene</b>	Low	-4,21	Oui	No	Oui	No	No	No
<b>Borneol</b>	High	-5,31	Oui	No	No	No	No	No
<b>Camphor</b>	High	-5,67	Oui	No	No	No	No	No
<b>Limonene</b>	Low	-3,89	Oui	No	No	Oui	No	No
<b>Camphene</b>	Low	-4,13	Oui	No	No	Oui	No	No
<b>(Z)-Sabinene hydrate</b>	High	-5,74	Oui	No	No	No	No	No
<b><math>\alpha</math>-Pinene</b>	Low	-3,95	Oui	No	No	Oui	No	No
<b><math>\beta</math>-Pinene</b>	Low	-4,18	Oui	No	No	Oui	No	No
<b>1,8 Cineole</b>	High	-5,30	Oui	No	No	No	No	No
<b>Myrcene</b>	Low	-4,17	Oui	No	No	No	No	No
<b>Linalol</b>	High	-5,13	Oui	No	No	No	No	No

D'après le tableau 7, l'absorption gastro-intestinale de 8 composées est élevée, ce qui signifie qu'ils peuvent passer facilement à travers la paroi intestinale pour arriver à la circulation



générale. Ces composées sont : Abietol-4-epi, Bornyl acetate, Caryophyllene oxide, Borneol, Camphor, (Z)-Sabinene hydrate, 1,8 Cineole, Linalol. A l'opposé de  $\beta$ -Bisabolene, p-Cymene, Limonene, Camphene,  $\alpha$ -Pinene,  $\beta$ -Pinene, Myrcene, qui ont une faible absorption gastro-intestinale.

On note également que toutes les 15 molécules ont été prédits comme perméables également à la membrane hémato-encéphalique, pour laquelle le SNC est donc protégé de tout effet néfaste qu'elle pourrait provoquer.

D'après les valeurs de  $\log K_p$ , nous pouvons dire que nos ligands ont une bonne perméabilité cutanée, qui présentent des valeurs de  $\log K_p$  s'intervalle entre [-2.98,-5.74 cm/s].

La plupart des médicaments subissent un métabolisme dans le foie en présence de cytochrome P450 qui contient divers groupes d'enzymes. La fonction principale de celui-ci est de métaboliser les médicaments en formes facilement excrétables. Les principaux groupes contribuant au métabolisme comprennent le CYP1A2, le CYP2C19, le CYP2C9, le CYP2D6 et le CYP3A4 (Zhao *et al.*, 2021). À partir de la prédiction ADME, nous avons observé que tous les molécules adoptent un comportement négatif aux cytochromes P3A4 et P1A2, P2D6, sauf p-Cymene qui a une action inhibitrice contre CYP2D6 de ce complexe multienzymatique.

Les cytochromes P2C9 est inhibé simultanément par Abietol-4-epi,  $\beta$ -Bisabolene, Bornyl acetate, Caryophyllene oxide, Limonene, Camphene,  $\alpha$ -Pinene,  $\beta$ -Pinene. Et le CYP2C19 qui n'a aucun effet inhibiteur que par Abietol-4-epi, Caryophyllene oxide.

### 5.3. Prédiction de toxicité

Pour améliorer le contrôle de la qualité des inhibiteurs choisis, nous avons prédit la toxicité via des méthodes *in silico* en utilisant l'approche pKCSM et protox.

Les résultats indiquent qu'en termes de l'hépatotoxicité, toutes les composées étudiées se sont avérés non toxiques pour le foie, et la toxicité aiguë DL50 de la majorité des composées a été trouvée entre (2000 <DL50  $\leq$  5000 mg/kg/j), qui signifie que sont appartient à la classe de toxicité 5, donc sont des composées presque pas toxiques en cas d'ingestion. Ces composées sont : 1,8 Cineole, Limonene, Myrcene,  $\beta$ -Pinene, Camphene,  $\alpha$ -Pinene, Abietol-4-epi,  $\beta$ -Bisabolene, Bornyl acetate.

En générale, plus la valeur de DL50 est élevée plus la toxicité de la molécule est faible. Et le contraire est vrai : plus la valeur de DL50 est petite plus la molécule est toxique, c'est le cas de p-Cymene qui a une faible valeur égale à 3 mg/kg/j, selon la classification de la toxicité

elle est de classe 1 ( $DL50 \leq 5 \text{ mg/kg/j}$ ) qui constitue des composés mortels. Les ligands Camphor, Borneol, (*Z*)-Sabinene hydrate, Linalol, sont des molécules nocifs en cas d'ingestion puisque elles sont classés dans la classe 4 ( $300 < DL50 \leq 2000 \text{ mg/kg/j}$ ).

DL50 correspondant à la quantité d'une matière administré une seule fois qui entraîne la mort de la moitié de population, qui peut être mesurée pour plusieurs voies d'administration dont la voie orale et la voie cutanée sont les plus courants (Gad, 2014). La dose maximale tolérée humain est la dose administrée à partir de laquelle des effets indésirables toxiques sont observés, mais n'affectent pas les fonctions vitales de l'être humain.

Les résultats de cette prédiction sont présentés dans le tableau 8 ci-dessus :

**Tableau 8.** Résultats de prédiction de toxicité des ligands étudiés.

Ligands	Classe de toxicité prédite	Hépto-toxicité	DL50 mg/kg/j	Dose maximale tolérée humain (log mg/kg/j)
Abietol-4-epi	5	No	4600	-0,429
Caryophyllene oxide	5	No	5000	0,148
$\beta$ -Bisabolene	5	No	4400	0,418
Bornyl acetate	5	No	3100	0,526
<i>p</i> -Cymene	1	No	3	0,903
Linalol	4	No	1190	0,774
( <i>Z</i> )-Sabinene hydrate	4	No	2000	0,637
1,8 Cineole	5	No	2480	0,553
Limonene	5	No	4400	0,777
Myrcene	5	No	5000	0,617
$\beta$ -Pinene	5	No	4700	0,371
Camphene	5	No	5000	0,305
$\alpha$ -Pinene	5	No	3700	0,48
Borneol	4	No	500	0,577
Camphor	4	No	775	0,473

# **Conclusion et perspectives**

## Conclusion et perspectives

Dans ce travail nous avons évalué un ensemble de composés des métabolites secondaires extraits à partir la plante *Thymus coloratus ssp* : les monoterpènes, comme des inhibiteurs de la tyrosinase. Une enzyme (EC.14.18.1) qui joue un rôle crucial dans le mélanogénèse, ainsi dans le développement d'un mélanome malin résulte d'une hyperpigmentation cutanée.

Premièrement, nous avons procédé à l'évaluation de performance du programme choisi dans cette étude pour réaliser le docking moléculaire en utilisant le test de RMSD (les valeurs de RMSD de 85% des complexes sont inférieurs ou égales à 2 Å) et le test de corrélation ( $r=0,841$ ). Les résultats de ces 2 tests montrent que le programme proposé pourrait décrire de manière satisfaisante les interactions entre les ligands et le site actif de la cible thérapeutique.

L'étude d'amarrage des 15 molécules identifiée par (GC/MS) à révéler que Abietol-4-epi,  $\beta$ -Bisabolene, Bornyl-acetate, Caryophyllene-oxide, ont les meilleurs énergies d'interactions avec la tyrosinase (PDB ID : 5I3B) par ordre -8,14 kcal/mol, -6,32 kcal/mol, -6,06 kcal/mol, -6,04 kcal/mol. En comparant les scores de docking de ces composées à celui de celle de l'inhibiteur expérimental « Acide kojique », nous avons déduit que sont dotée d'une affinité. Ceci pourrait être justifié par la présence des divers types d'interactions avec les résidus de site actif, plus les interactions augmentent plus affinité des molécules vis-à-vis de l'enzyme est élevée.

Nous avons noté également que la prédiction des propriétés physico-chimiques, le profil drug-likeness, pharmacocinétique et la toxicité des molécules amarrées, nous a permet de vérifier les résultats de docking moléculaire que tous les molécules respectant les règles de Lipinski et de Veber, qui ont un nombre de violation est égale à 0 ou 1, donc ne causent aucun des problèmes de la biodisponibilité orale et la bio-perméabilité. Et les meilleurs composées ont une valeur de LD50 élevé, ceci signifie une faible toxicité. En termes d'hépto-toxicité toutes les molécules se sont avérées non toxiques pour le foie.

A partir de notre travail, nous avons abouti à découvrir des nouveaux inhibiteurs avec des potentiels très importants dans la prévention de l'hyperpigmentation ainsi le mélanome malin, et qui peuvent être suggéré comme des nouveaux médicaments.

En perspectives, il est recommandé de tester, et vérifier les résultats théoriques de l'approche *in silico* de ce travail par :

- ✓ La dynamique moléculaire qui s'appuie sur la considération que toutes les entités trouvées dans une boîte de simulation sont flexibles, ce qui permet de simuler les mouvements intramoléculaires et notamment l'entropie, tout en appliquant les lois de Newton sur le mouvement.
- ✓ Des études *in vitro* et *in vivo*.

# **Bibliographie**

## Bibliographie

1. Agharbi F. Z. 2019. Les lentigines. The Pan African Medical Journal, 33.
2. Alem F. Z. 2021. Extraction and analysis by liquid chromatography coupled with mass spectrometry of *Lawsonia inermis* and the study of its anti-melanoma effect (Doctoral dissertation, Université de Bordeaux; Université Mohammed V (Rabat). Faculté des sciences).
3. André M. 2012. Conception, synthèse et évaluation de prodrogues à espaceurs clivables : application à la chimiothérapie vectorisée du mélanome (Doctoral dissertation, Université d'Auvergne-Clermont-Ferrand I).
4. Arakawa M., Hasegawa K., & Funatsu K. 2003. Novel alignment method of small molecules using the Hopfield Neural Network. Journal of chemical information and computer sciences, 43(5), 1390-1395.
5. Baaziz N. 2021. Profil morphologique, immunohistochimique et moléculaire des tumeurs malignes à différenciation mélanocytaire (Doctoral dissertation, université cadi ayyad).
6. Bastonini E., Kovacs, D., & Picardo, M. 2016. Skin pigmentation and pigmentary disorders: focus on epidermal/dermal cross-talk. Annals of dermatology, 28(3), 279-289.
7. Belhoula H., Bioud D. 2019. Application de docking moléculaire par AutoDock pour la mise évidence de nouveaux inhibiteurs de la phosphodiésterase A10. Mémoire de master, Université des frères Mentouri Constantine, Algérie, 122p.
8. Bell E.W., and Zhang Y. 2019. "DockRMSD: an open-source tool for atom mapping and RMSD calculation of symmetric molecules through graph isomorphism." Journal of Cheminformatics 11.1: 1-9.
9. Benabid A. 2000. Flore et écosystèmes du Maroc : Evaluation et préservation de la biodiversité.
10. Bleunven A. 2016. Contribution à la conception d'un système d'imagerie polarimétrique en vue d'applications pour la détection précoce du mélanome (Doctoral dissertation, Brest).
11. Bousmaha M. L., Atik B. F., Tomi F., & Casanova J. 2007. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. ssp. eu-ciliatus Maire from Algeria. Journal of Essential Oil Research, 19(5), 490-493.
12. Boucherit H. 2012. etude theorique des interactions intervenant dans l'inhibition de la methionine aminopeptidase de mycobacterium tuberculosis par diverses molecules.
13. Bouvier G. 2010. Étude d'inhibiteurs de l'intégrase du VIH-1 par RMN et modélisation moléculaire (Doctoral dissertation, UPMC).

14. Brooijmans N., Kuntz I. D. 2003. Molecular recognition and docking algorithms. Annual review of biophysics and biomolecular structure, 32(1), 335-373
15. Chikhi A., & Bensegueni A. 2008. Docking efficiency comparison of Surflex, a commercial package and Arguslab, a licensable freeware. Journal of Computer Science & Systems Biology, 1(01), 081-086.
16. Chevrollier N. 2019. Développement et application d'une approche de docking par fragments pour modéliser les interactions entre protéines et ARN simple-brin (Doctoral dissertation, Université Paris-Saclay (ComUE)).
17. Choi I., Park Y., Ryu I. Y., Jung H. J., Ullah S., Choi H., & Moon H. R. 2021. *In silico* and *in vitro* insights into tyrosinase inhibitors with a 2-thioxooxazoline-4-one template. Computational and structural biotechnology journal, 19, 37-50.
18. Claveau S., & Claveau J. 2021. La dermoscopie du mélanome de type lentigo malin («Mélanome de Dubreuilh»). Dermato Mag, 9(2), 28-32.
19. Darne P. 2021. Détermination du potentiel anti-Toxoplasma gondii de triterpènes naturels et mise en place d'un outil *in silico* de criblage à haut débit (Doctoral dissertation, Reims).
20. Derrien A. C. 2021. Functional genomics characterization of genetic predisposing factors in uveal melanoma (Doctoral dissertation, Université Paris sciences et lettres).
21. Diharce J. 2014. Etude par modélisation moléculaire de systèmes multienzymatiques impliqués dans la biosynthèse des flavonoïdes (Doctoral dissertation, Université Nice Sophia Antipolis)
22. Didierjean C., & Tête-Favier F. 2016. Introduction to Protein Science. Architecture, Function and Genomics. By Arthur M. Lesk. Oxford University Press, 2016. Pp. 466. Paperback. Price GBP 39.99. ISBN 9780198716846. Acta Crystallographica Section D : Structural Biology, 72(12), 1308-1309.
23. Diazi S. 2021. The pro-fibrotic miR-143/145 cluster promotes mesenchymal phenotypic plasticity associated with resistance to targeted therapies in melanoma (Doctoral dissertation, Université Côte d'Azur).
24. Dong J., Wang N. N., Yao Z. J., Zhang L., Cheng Y., Ouyang D., ... & Cao D. S. 2018. ADMETlab: a platform for systematic ADMET evaluation based on a comprehensively collected ADMET database. Journal of cheminformatics, 10(1), 1-11.
25. Dolorosa M. T., Purwaningsih S., Anwar E., & Hidayat T. 2019, May. Tyrosinase inhibitory activity of *Sargassum plagyophyllum* and *Eucheuma cottonii* methanol extracts. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 278, No. 1, p. 012020). IOP Publishing.



26. Durojaye O. A., Nwanguma B. C., Joshua P. E., Ogidigo J. O., Cosmas S., Asomadu R. O., & Obeta J. N. 2019. Evaluation of 6-Gingerol and its modified analogues as therapeutic candidates against *Schistosoma mansoni* phosphofructokinase. *VacciMonitor*, 28(1), 38-47.
27. D'Mello S. A., Finlay G. J., Baguley B. C., & Askarian-Amiri M. E. 2016. Signaling pathways in melanogenesis. *International journal of molecular sciences*, 17(7), 1144.
28. El ouedghiri E. k. 2021. Prédiposition génétique au mélanome cutané : dépistage et prise en charge mohammed v rabat (doctoral dissertation).
29. Ferreira L. L., & Andricopulo A. D. 2019. ADMET modeling approaches in drug discovery. *Drug discovery today*, 24(5), 1157-1165.
30. Fernandes C. M. 2020. Radiothérapie interne vectorisée alpha anti-PD-L1 dans le traitement du mélanome (Doctoral dissertation, Nantes).
31. Fortuné A. 2006. Techniques de Modélisation Moléculaire appliquées à l'Etude et à l'Optimisation de Molécules Immunogènes et de Modulateurs de la Chimiorésistance (Doctoral dissertation, Université Joseph-Fourier-Grenoble I).
32. Gabb H. A., Jackson R. M., & Sternberg M. J. 1997. Modelling protein docking using shape complementarity, electrostatics and biochemical information. *Journal of molecular biology*, 272(1), 106-120.
33. Gad S. C. 2014. LD50/LC50 (Lethal Dosage 50/Lethal Concentration 50). Third Edition. *Encyclopedia of toxicology*. 58-60p.
34. Ganjoo S., Gupta N., Sawhney M. P. S., & Kaur P. 2021. Bathing trunk nevus with multiple satellite lesions and neuroid proliferations. *Journal of Pakistan Association of Dermatologists*, 31(2), 304-307.
35. Goodsell D. S., & Olson A. J. 1990. Automated docking of substrates to proteins by simulated annealing. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 8(3), 195-202.
36. Goldfeder M., Kanteev M., Isaschar-Ovdat S., Adir N., & Fishman A. 2014. Determination of tyrosinase substrate-binding modes reveals mechanistic differences between type-3 copper proteins. *Nature communications*, 5(1), 1-5.
37. Hans W. K. 2007. 1000 plantes aromatiques et médicinales. P.
38. Hariri R., Saeedi M., & Akbarzadeh T. 2021. Naturally occurring and synthetic peptides: Efficient tyrosinase inhibitors. *Journal of Peptide Science*, 27(7), e3329.
39. Haudecoeur R. 2011. Pharmacochimie des auronnes pour la modulation d'enzymes (Doctoral dissertation, Université de Grenoble ; Université de Genève. Faculté des sciences).
40. Heux P. 2017. Différenciation des cellules de la crête neurale lors de l'activation constitutive des protéines NRAS ou BRAF (Doctoral dissertation, Aix-Marseille).

41. Huey R., Morris G. M., Olson A. J., & Goodsell D. S. (2007). A semiempirical free energy force field with charge-based desolvation. *Journal of computational chemistry*, 28(6), 1145-1152.
42. Kadri H., Kellai S., Kebir A., & Ladjimi C. 2021. Place de la modélisation moléculaire dans le domaine pharmaceutique, étude par docking moléculaire de deux nouvelles séries antifongiques.
43. Kado S., Kamiya K., Maekawa T., Komine M., Murata S., & Ohtsuki M. 2022. Acral hyperpigmented macule suspicious of malignant melanoma. *Journal of Cutaneous Immunology and Allergy*.
44. Karakaya G., Türe A., Ercan A., Öncül S., & Aytemir M. D. 2019. Synthesis, computational molecular docking analysis and effectiveness on tyrosinase inhibition of kojic acid derivatives. *Bioorganic Chemistry*, 88, 102950.
45. Kanteev M., Goldfeder M., & Fishman A. 2015. Structure–function correlations in tyrosinases. *Protein Science*, 24(9), 1360-1369
46. Kholkhal F. 2014. Etude photochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus ssp coloratus* et *ssp euciliatus*. Département de biologie moléculaire et cellulaire laboratoire des Produits Naturels.
47. Kwon S. H., Na J. I., Choi J. Y., & Park K. C. 2019. Melasma: Updates and perspectives. *Experimental Dermatology*, 28(6), 704-708.
48. Lanez E. 2016. Etude *in silico* et *in vitro* de l'interaction de quelques amides ferrocéniques avec l'ADN., diplôme de Master. Université Mohamed Kheider–Biskra, 98p.
49. Lipinski C. A., Lombardo F., Dominy B. W., & Feeney P. J. 1997. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced drug delivery reviews*, 23(1-3), 3-25.
50. Lin J. Y., & Fisher D. E. (2007). Melanocyte biology and skin pigmentation. *Nature*, 445(7130), 843-850.
51. Li S. 2021. Human skin characterization and analysis based on hyperspectral reflectance using machine learning (Doctoral dissertation, Lyon).
52. Likhitwitayawuid K. 2008. Stilbenes with tyrosinase inhibitory activity. *Current Science*, 44-52.
53. Marot C. 1995. Conception de nouvelles molécules à activité sérotoninergique par des méthodes QSAR et des études de dynamique moléculaire de complexe ligands/récepteur (Doctoral dissertation, Université d'Orléans).

- 
54. Masum M. N., Yamauchi K., & Mitsunaga T. 2019. Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources as skin-lightening agents. *Reviews in Agricultural Science*, 7, 41-58.
  55. Mesnier C. 2021. Avoir une peau : du corps-palimpseste à la peau-enveloppe chez Russell Banks, Pedro Almodovar, Richard Morgan et Gillian Flynn.
  56. Migan N. 2013. Etude des agents dépigmentants et de leur utilisation détournée dans la dépigmentation volontaire. *Sciences pharmaceutiques*, 201.
  57. Morales R. 2002. The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. *Thyme: the genus Thymus*, 1, 1-43.
  58. Morris G. M., Huey R., Lindstrom W., Sanner M. F., Belew R. K., Goodsell D. S., & Olson A. J. 2009. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of computational chemistry*, 30(16), 2785-2791.
  59. Mokrani E. H., Bensegueni A., Chikhi A., Teniou S., Merabti B., & 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. *Les technologies de laboratoire*, 7(27).
  60. Obaid R. J., Mughal E. U., Naeem N., Sadiq A., Alsantali R. I., Jassas R. S., ... & Ahmed S. A. 2021. Natural and synthetic flavonoid derivatives as new potential tyrosinase inhibitors: A systematic review. *RSC Advances*, 11(36), 22159-22198.
  61. Okombi S. 2005. Recherche et étude de molécules à activité antityrosinase et leur utilisation comme agents dépigmentants en dermocosmétique (Doctoral dissertation, Université Joseph-Fourier-Grenoble I).
  62. Ouis N. 2015. Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, des fenouils et de persil. Diss. Thèse de doctorat, Université Ahmed Ben Bella-Oran, Alger.
  63. Ouedraogo S., Yoda J., Traore T. K., Nitiema M., Sombie B. C., Diawara H. Z., ... & Semde R. 2021. Production de matières premières et fabrication des médicaments à base de plantes médicinales. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 15(2), 750-772.
  64. Pachoulide C. 2021. Les méthodes *in silico* dans la recherche pharmaceutique : exemple d'application pour l'étude pharmacocinétique post-autorisation de mise sur le marché des  $\beta$ -bloquants utilisés pour le traitement du glaucome (Doctoral dissertation).
  65. Promden W., Viriyabancha W., Monthakantirat O., Umehara K., Noguchi H., & De-Eknamkul W. 2018. Correlation between the potency of flavonoids on mushroom tyrosinase inhibitory activity and melanin synthesis in melanocytes. *Molecules*, 23(6), 1403.
  66. Quezel P., & Santa S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (No. 581.965 Q8).

67. Rashid M. 2020. Design, synthesis and ADMET prediction of bis-benzimidazole as anticancer agent. *Bioorganic chemistry*, 96, 103576.
68. Roulier B. 2021. Nouveaux hémiindigoïdes sélectifs ciblant la tyrosinase humaine : détection et suppression de la mélanogénèse (Doctoral dissertation, Université Grenoble Alpes [2020-2021]).
69. Roselan M. A., Zakaria N., Faujan N. H., Latif M. A. M., Faudzi S. M. M., Ab Hadi H., & Ashari S. E. 2021. *In vitro* cytotoxicity assay, mushroom tyrosinase inhibitory activity and release analysis of kojic monooleate nanodelivery system and *in silico* molecular docking study against 2Y9X target enzyme. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 66, 102764.
70. Saeed A., Mahesar P. A., Channar P. A., Abbas Q., Larik F. A., Hassan M., & Seo S. Y. 2017. Synthesis, molecular docking studies of coumarinyl-pyrazolinyl substituted thiazoles as non-competitive inhibitors of mushroom tyrosinase. *Bioorganic Chemistry*, 74, 187-196.
71. Sari S., Barut B., Özel A., Kuruüzüm-Uz A., & Şöhretoğlu D. 2019. Tyrosinase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory potential of compounds isolated from *Quercus coccifera* bark: *in vitro* and *in silico* perspectives. *Bioorganic Chemistry*, 86, 296-304.
72. Schadendorf D., van Akkooi A. C., Berking C., Griewank K. G., Gutzmer R., Hauschild A., ... & Ugurel S. 2018. Melanoma. *The Lancet*, 392(10151), 971-984.
73. Sung H., Ferlay, J., Siegel R. L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., & Bray F. 2021. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA : a cancer journal for clinicians*, 71(3), 209-249.
74. Sormani L. 2019. Identification d'un nouveau gène dans la pigmentation cutanée-CLEC12B: Identification of a new gene involved in skin pigmentation-CLEC12B (Doctoral dissertation, Université Côte d'Azur (ComUE)).
75. Site web 1: <https://www.cancer.gov/types/skin/hp/skin-genetics-pdq>. Consulté le 13 juin 2022.
76. Site web 2: <https://www.rcsb.org/>.
77. Site web 3: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>.
78. Site web 4: <http://www.swissadme.ch/index.php>.
79. Site web 5: <http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction>.
80. Site web 6: [https://tox-new.charite.de/prottox\\_II/index.php?site=compound\\_input](https://tox-new.charite.de/prottox_II/index.php?site=compound_input).

81. Tang H., Cui F., Li H., Huang Q., & Li Y. 2018. Understanding the inhibitory mechanism of tea polyphenols against tyrosinase using fluorescence spectroscopy, cyclic voltammetry, oximetry, and molecular simulations. *RSC advances*, 8(15), 8310-8318.
82. Tepper A. W., Lonardi E., Bubacco L., & Canters G. W. 2011. Structure, spectroscopy, and function of tyrosinase; comparison with hemocyanin and catechol oxidase. *Encyclopedia of Inorganic and Bioinorganic Chemistry*.
83. Ullah S., Park, C., Ikram M., Kang D., Lee S., Yang J., & Moon H. R. 2019. Tyrosinase inhibition and anti-melanin generation effect of cinnamamide analogues. *Bioorganic chemistry*, 87, 43-55.
84. Ursu O., Rayan A., Goldblum A., & Oprea T. I. 2011. Understanding drug-likeness. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 1(5), 760-781.
85. Veber D. F., Johnson S. R., Cheng H. Y., Smith B. R., Ward K. W., & Kopple K. D. 2002. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of medicinal chemistry*, 45(12), 2615-2623.
86. Vieth M., Hirst J. D., Kolinski A., & Brooks III C. L. 1998. Assessing energy functions for flexible docking. *Journal of Computational Chemistry*, 19(14), 1612-1622.
87. Viillard C. 2015. Traitement du mélanome disséminé par radiothérapie interne vectorisée. Mécanismes et potentialisation (Doctoral dissertation, Université d'Auvergne-Clermont-Ferrand I).
88. Wackerly D., Mendenhall W., & Scheaffer R. L. 2014. *Mathematical statistics with applications*. Cengage Learning. Elsevier Academic Press. 849p.
89. Wang Y. 2017. Melanocytes, melanin-synthesis, and related signaling pathway (Doctoral dissertation, Université Bourgogne Franche-Comté).
90. Wang X., Dowty M. E., Wouters A., Tatulych S., Connell C. A., Le V. H., ... & Malhotra B. K. (2022). Assessment of the effects of inhibition or induction of CYP2C19 and CYP2C9 enzymes, or inhibition of OAT3, on the pharmacokinetics of abrocitinib and its metabolites in healthy individuals. *European journal of drug metabolism and pharmacokinetics*, 47(3), 419-429.
91. Xia C., Dong X., Li H., Cao M., Sun D., He S., & Chen W. 2022. Cancer statistics in China and United States, 2022: profiles, trends, and determinants. *Chinese medical journal*, 135(05), 584-590.
92. Xiong G., Wu Z., Yi J., Fu L., Yang Z., Hsieh C., ... & Cao D. 2021. ADMETlab 2.0: an integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties. *Nucleic Acids Research*, 49(W1), W5-W14

93. Yamauchi K., & Mitsunaga T. 2016. Melanogenesis and melanosome transportation modulators from medicinal plants. *Letters in Drug Design & Discovery*, 13(8), 742-751.
94. Zhao M., Ma J., Li M., Zhang Y., Jiang B., Zhao X., ... & Qin S. 2021. Cytochrome P450 enzymes and drug metabolism in humans. *International journal of molecular sciences*, 22(23), 12808.
95. Zeghib A. 2013. Etude phytochimique et activités antioxydante, antiproliférative, antibactérienne et antivirale d'extraits et d'huiles essentielles de quatre espèces endémiques du genre *Thymus*.
96. Zielińska B. M., & Feder K. J. 2020. Monoterpenes and their derivatives—Recent development in biological and medical applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(19), 7078.

# **Annexes**

## Annexes

**Annexe 1.** Valeurs RMSD des 80 complexes protéines-ligands

PDB ID	RMSD	PDB ID	RMSD	PDB ID	RMSD	PDB ID	RMSD
1ZZR	0,000	6EI4	1,540	5M8P	0,786	3B7R	3,357
3V1M	0,825	6ZJP	0,000	5OAE	1,335	3BAY	2,203
1TR1	0,824	6AUM	1,717	5ZRE	0,753	1QHO	4,339
1JRL	0,000	1PIG	0,000	4P6S	1,752	3BAJ	3,252
3CHS	1,902	6ZJQ	0,000	5I38	0,000	3W93	3,218
2Y9X	0,000	6SEC	0,656	2QPU	1,865	6GYA	2,090
1BGG	1,894	1DHK	0,000	1MXD	0,000	1BTM	0,571
1V2G	1,322	1UA7	0,000	1HXD	0,000	1GT6	0,000
3BAK	0,000	1G9H	1,165	2GVY	0,000	1BJ9	0,000
5TIF	1,442	2QHK	0,910	1G94	0,378	1C7Q	0,936
6SEA	0,000	3IJ9	0,001	1BG9	1,678	5M8M	0,001
6SE9	0,000	3BSH	0,000	1YQ2	1,034	6COX	0,000
5TIE	1,273	3BAX	0,001	3HLC	1,112	4LIP	0,936
6ETZ	1,111	6SE8	1,197	3HLD	0,863	5LIP	1,230
5M8O	0,000	2QUY	0,000	3HLE	0,926	1DMS	5,808
4P6R	1,451	3BAW	0,658	1AW1	0,802	1GT6	2,667
4P6T	1,267	3NQ1	0,002	1UA3	0,000	1OAH	3,521
5I3A	0,001	5M8N	0,786	1BL4	2,349	1OE1	2,005
5I3B	0,000	1B74	1,221	1BQ3	1,044	1CLE	2,576
5ZRD	1,135	1BDO	0,518	1BQ4	0,000	2SHP	7,262

**Annexe 2.** Les valeurs de teste de corrélation.

Composé	PIC50 (M)	Score de docking	Composé	PIC50 (M)	Score de docking
E1	4	-1,74	E41	6,96	-5,02
E9	4,3	-2,99	C45	10	-6,25
E10	4,5	-2,02	C11	4,7	-4,85
E12	4,8	-2,5	C3	5,5	-6,3
E13	5	-3,99	C4	6	-4,2
C2	4,7	-2,33	C5	6,6	-4,16
C1	4,1	-1,4	E50	7,1	-5,32
E21	5,35	-5,01	E51	7,18	-5,51
E22	5,55	-2,68	E54	7,25	-5,7
E23	6	-3,03	E55	7,31	-5,92
E24	6,1	-3,52	E56	7,4	-6,33
E25	6,2	-4,8	E57	7,51	-4,97
E26	6,45	-4,34	E59	7,62	-6,18
E27	6,5	-5,09	E64	7,87	-6,72
E28	6,6	-5,26	E71	8,09	-5,66
E30	6,7	-4,44	E74	8,23	-7,22



<b>E37</b>	6,85	-4,78	<b>E81</b>	9	-6,92
<b>C48</b>	10	-8,25	<b>E82</b>	9,1	-6,3
<b>E109</b>	11	-6,43	<b>E86</b>	9,6	-8,02

**Annexe 3.** Codes Pubchem des molécules étudiées et leurs canonical SMILES.

ligands	PubChem CID	canonical SMILES
<b>p-Cymene</b>	<b>7463</b>	<chem>CC1=CC=C(C=C1)C(C)C</chem>
<b>Linalol</b>	<b>6549</b>	<chem>CC(=CCCC(C)(C=O)O)C</chem>
<b>(Z)-Sabinene hydrate</b>	<b>62367</b>	<chem>CC(C)C12CCC(C1C2)(C)O</chem>
<b>1,8 Cineole</b>	<b>2758</b>	<chem>CC1(C2CCC(O1)(CC2)C)C</chem>
<b>Limonene</b>	<b>22311</b>	<chem>CC1=CCC(CC1)C(=O)C</chem>
<b>Myrcene</b>	<b>31253</b>	<chem>CC(=CCCC(=O)C=C)C</chem>
<b><math>\beta</math>-Pinene</b>	<b>14896</b>	<chem>CC1(C2CCC(=O)C1C2)C</chem>
<b>Camphene</b>	<b>6616</b>	<chem>CC1(C2CCC(C2)C1=O)C</chem>
<b><math>\alpha</math>-Pinene</b>	<b>6654</b>	<chem>CC1=CCC2CC1C2(C)C</chem>
<b>Abietol-4-<math>\epsilon</math>pi</b>	<b>6427962</b>	<chem>CC(C)C1=CC2=CCC3C(CCCC3(C2CC1)C)(C)C=O</chem>
<b>Caryophyllene oxide</b>	<b>1742210</b>	<chem>CC1(CC2C1CCC3(C(O3)CCC2=O)C)C</chem>
<b><math>\beta</math>-Bisabolene</b>	<b>10104370</b>	<chem>CC1=CCC(CC1)C(=O)CCC=C(C)C</chem>
<b>Bornyl acetate</b>	<b>6448</b>	<chem>CC(=O)OC1CC2CCC1(C2(C)C)C</chem>
<b>Borneol</b>	<b>64685</b>	<chem>CC1(C2CCC1(C(C2)O)C)C</chem>
<b>Camphor</b>	<b>2537</b>	<chem>CC1(C2CCC1(C(=O)C2)C)C</chem>

**Annexe 4.** Valeur de coefficient de corrélation R calculée dans cette étude.

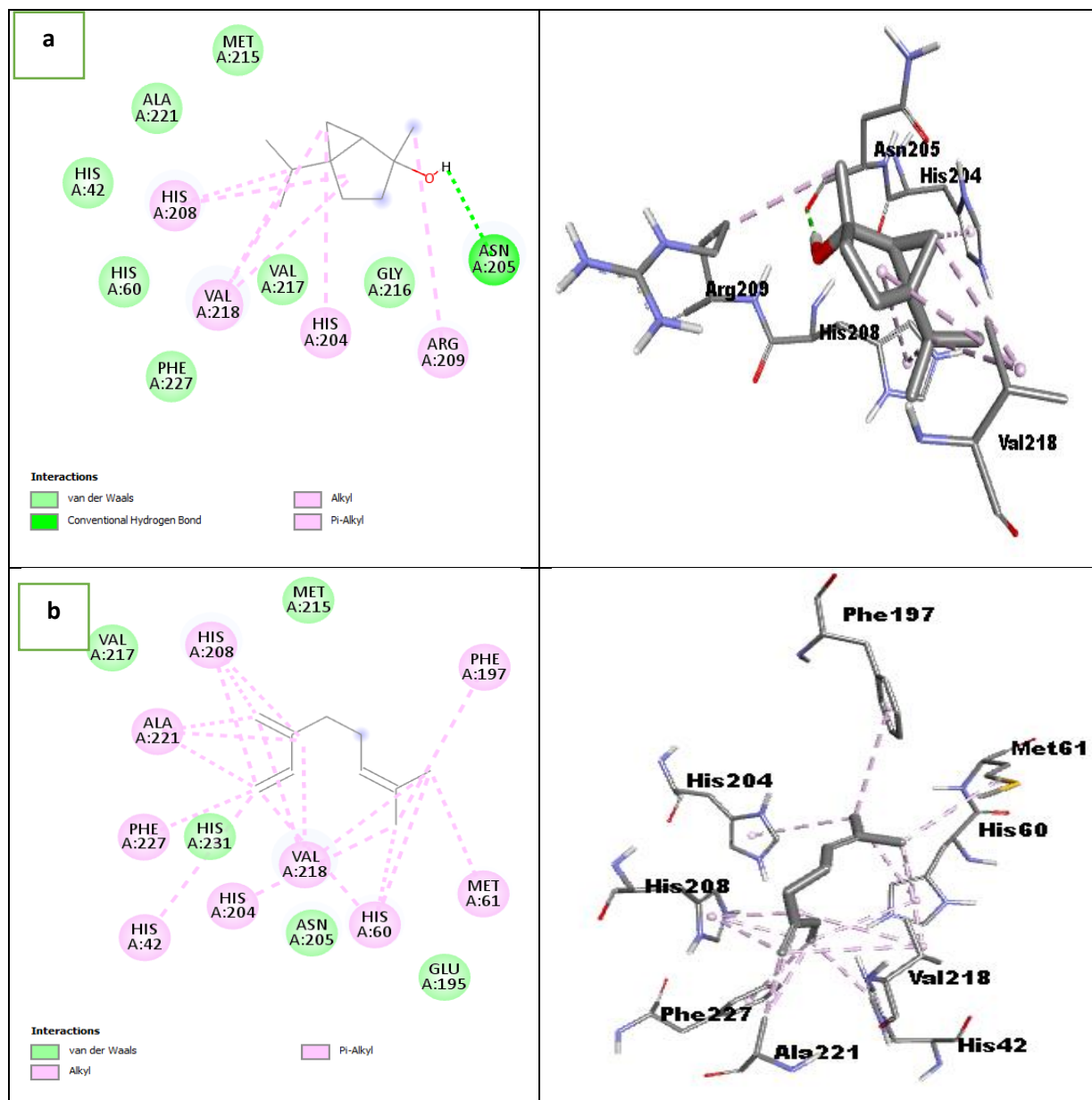
**Model Summary<sup>a</sup>**

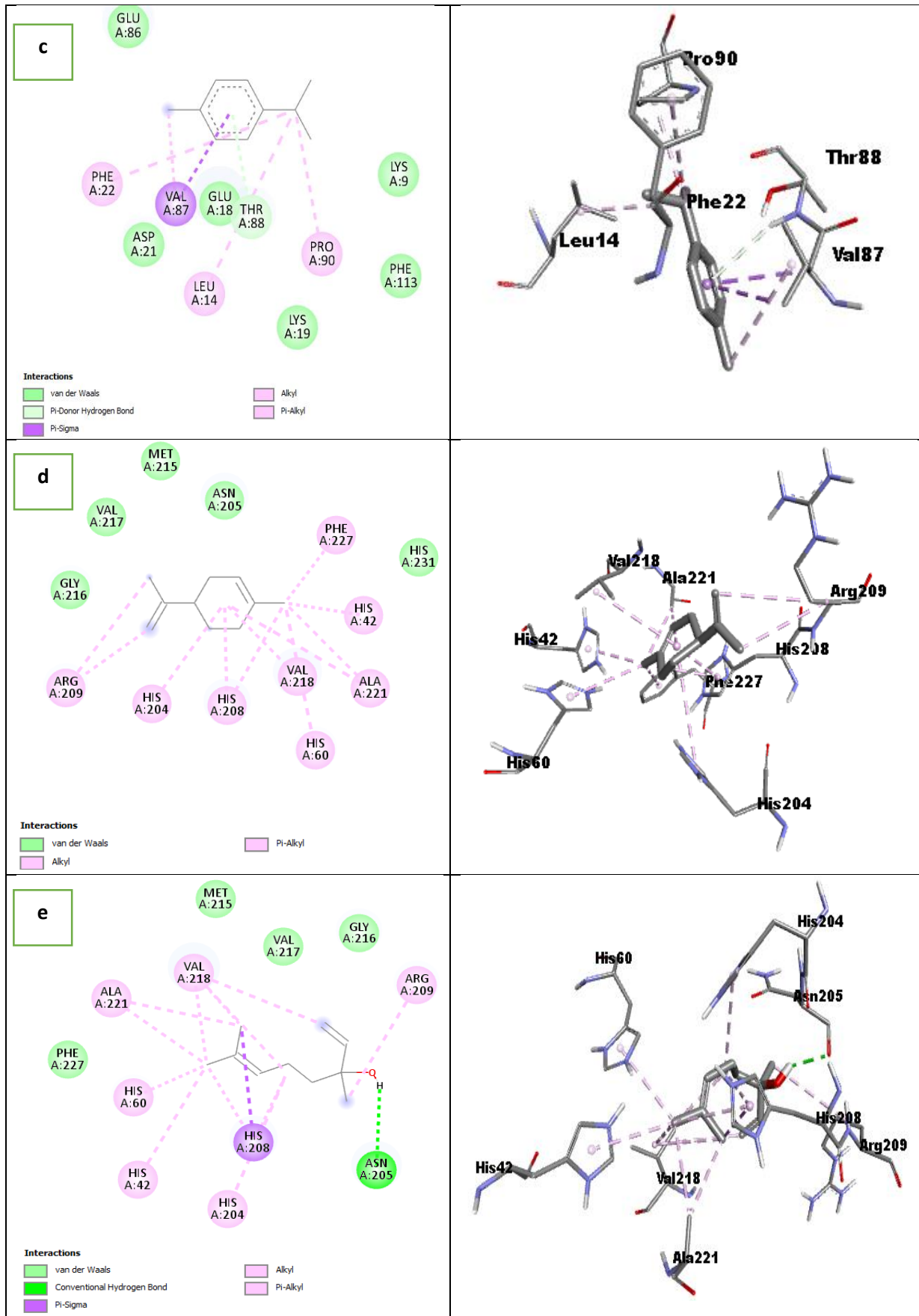
Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	,841 <sup>a</sup>	,707	,699	,96187

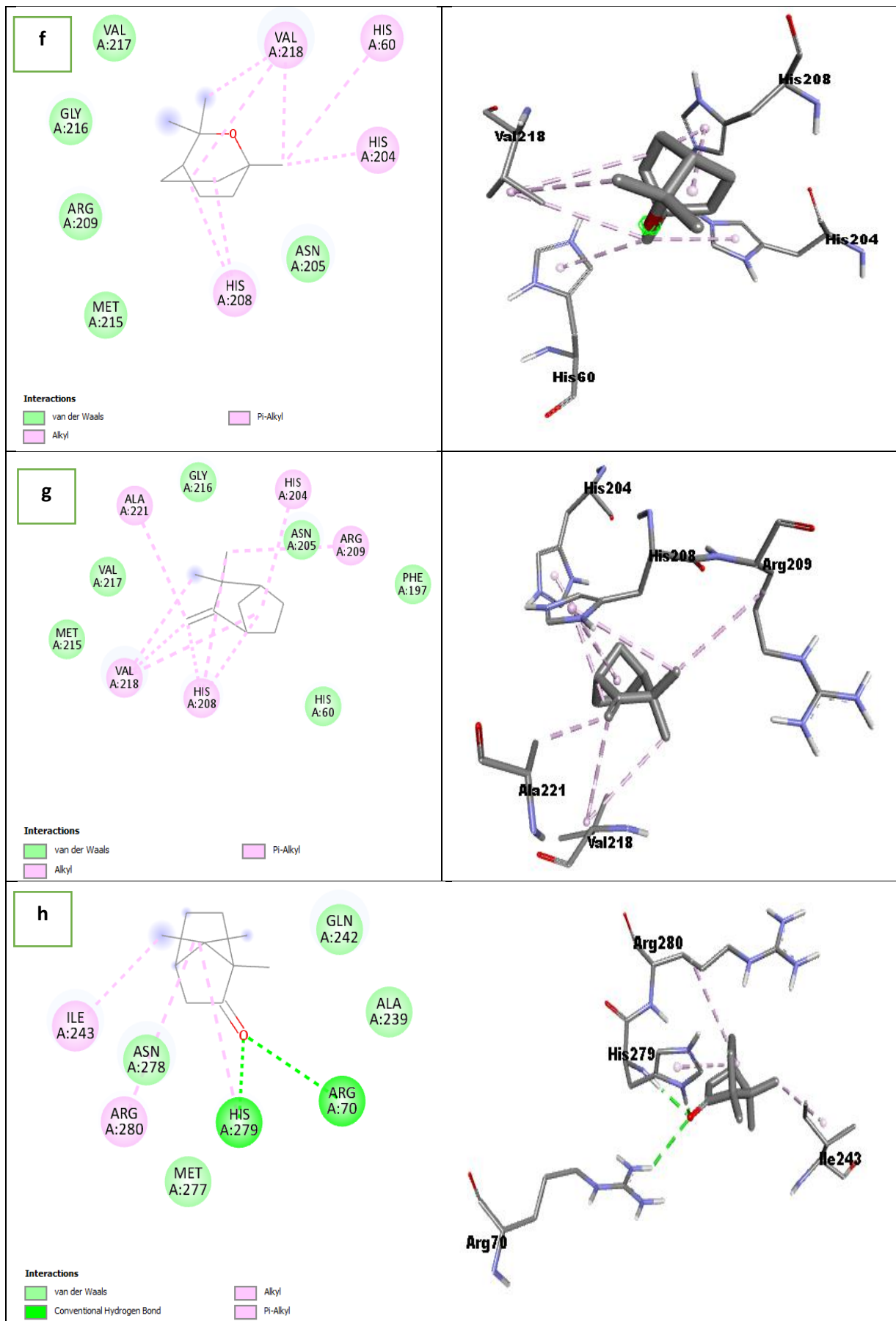
a. Predictors: (Constant), Scor de docking

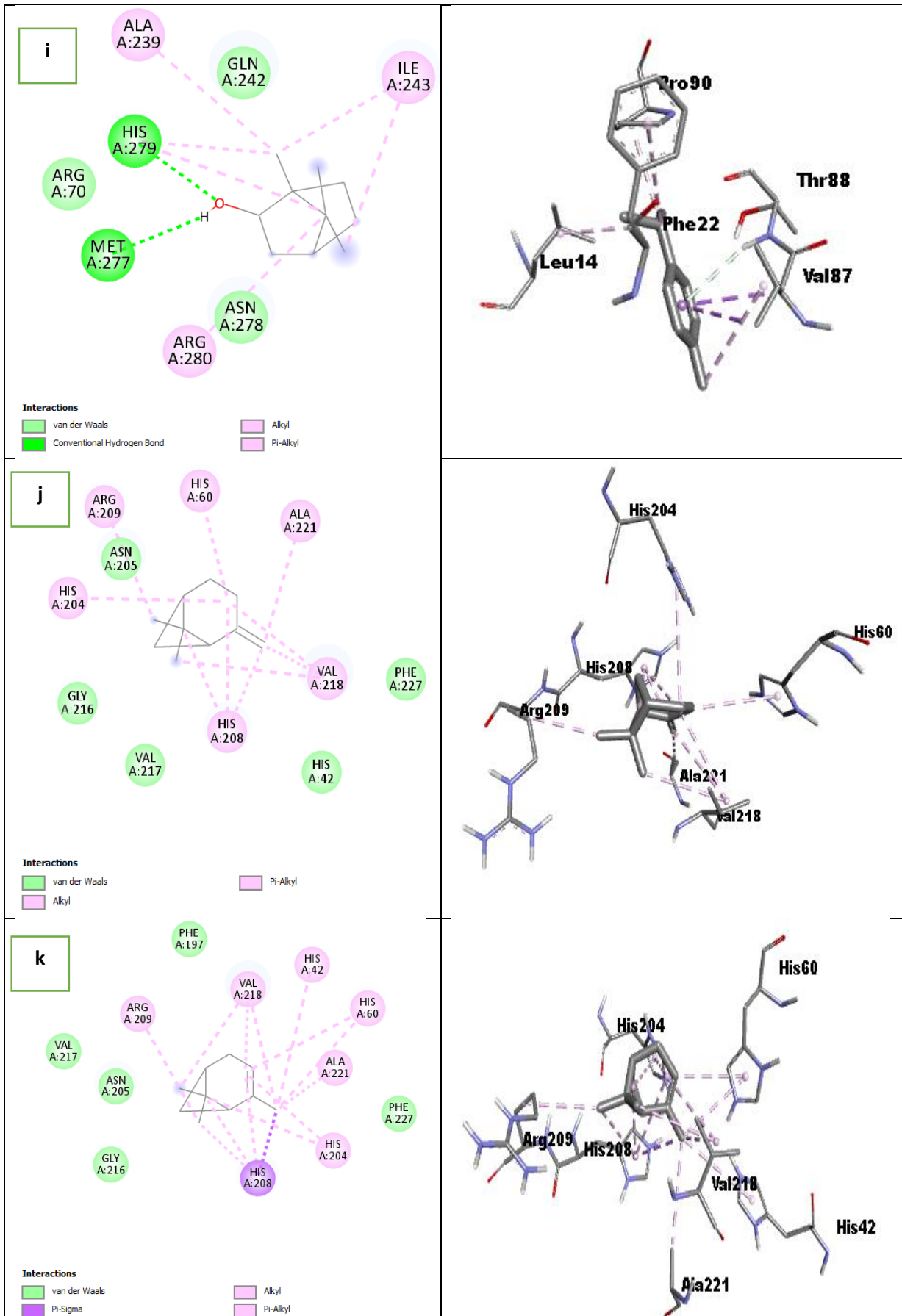
b. Dependent Variable: PIC50

**Annexe 5.** Interaction 2D de : **a** Sabinene-hydrate, **b** Myrcene, **c** p-Cymene, **d** Limonène, **e** Linalool, **f** 1,8-Cineole, **g** Camphene, **h** Camphor, **i** Borneol, **j** bêta-Pinène, **k** alpha-Pinène, avec le **5I3B**.









# Résumé

## ملخص :

التيروزيناز هو إنزيم رئيسي في التخليق الحيوي للميلانين، وهو أهم عامل واقٍ للضوء في الجلد. في حالة الإفراط في إنتاج الميلانين، سيشتد التيروزيناز في ظهور وتطور أمراض مختلفة مثل: فرط التصبغ، سرطان الجلد الخبيث. من أجل تطوير استراتيجيات علاجية لمكافحة هذه الأمراض، تم تنفيذ نهج في السيليكو في هذا العمل والذي يعتمد على تقييم الجزيئات النشطة بيولوجيًا الجديدة التي تشكل جزءًا من أحادي التيربين والمستخرجة من نبات *Thymus coloratus ssp* القادرة على تثبيط التيروزيناز بشكل فعال. أشارت نتائج الالتحام الجزيئي إلى أن 12 من 15 أحادي التيربين التي تمت دراستها يمكن أن تثبط بشدة نشاط التيروزيناز مقارنة بالتحكم الإيجابي "حمض الكوجيك"، وخاصةً Abietol-4-epi،  $\beta$ -Bisabolene، Bornyl acetate، Caryophyllene oxide، والتي تمثل أعلى درجات الالتحام: - 8.14 كيلو كالوري / مول، - 6.32 كيلو كالوري / مول، - 6.06 كيلو كالوري / مول، - 6.04 كيلو كالوري / مول. يساعد تصور التفاعلات بين المركبات والتيروزيناز على شرح المجموعات الوظيفية المشاركة في التفاعلات المسؤولة عن النشاط المثبط.

**الكلمات المفتاحية:** التيروزيناز، فرط التصبغ، الورم الميلانيني الجلدي، الزيت العطري، أحادي التيربين، الالتحام الجزيئي.

## Résumé :

La tyrosinase est une enzyme clé dans la biosynthèse de la mélanine, qui est l'agent photoprotecteur le plus important de la peau. En cas d'une surproduction de la mélanine, la tyrosinase sera impliquée dans l'apparition et la progression de diverses maladies telles que : l'hyperpigmentation, le mélanome malin. Dans le but de développer des stratégies thérapeutiques pour lutter contre ces pathologies, une approche *in silico* a été réalisée dans ce travail qui est basé sur l'évaluation des nouvelles molécules bioactives faisant partie des monoterpènes et extraites à partir de la plante *Thymus coloratus ssp* capables d'inhiber la tyrosinase de manière efficace. Les résultats de docking moléculaire ont indiqué que 12 parmi les 15 monoterpènes étudiées peuvent inhiber fortement les activités de la tyrosinase par rapport le contrôle positif « acide kojique », surtout Abietol-4-epi,  $\beta$ -Bisabolene, Bornyl acétate, Caryophyllene oxide, qui représentent les scores de docking les plus élevées : -8,14 kcal/mol, -6,32 kcal/mol, -6,06 kcal/mol, -6,04 kcal/mol. La visualisation des interactions entre les composées et la tyrosinase permet d'expliquer les groupements fonctionnels impliqués dans les interactions responsables de l'activité inhibitrice.

**Mots clés :** Tyrosinase, hyperpigmentation, mélanome cutané, huile essentielle, monoterpènes, docking moléculaire.

## Abstract:

Tyrosinase is a key enzyme in the biosynthesis of melanin, which is the most important photoprotective agent in the skin. In case of overproduction of melanin, tyrosinase will be involved in the appearance and progression of various diseases such as: hyperpigmentation, malignant melanoma. In order to develop therapeutic strategies to combat these pathologies, an *in silico* approach has been carried out in this work which is based on the evaluation of new bioactive molecules forming part of monoterpenes and extracted from the plant *Thymus coloratus ssp* capable of effectively inhibiting tyrosinase. Molecular docking results indicated that 12 of the 15 monoterpenes studied can strongly inhibit tyrosinase activity compared to the positive control "kojic acid", especially Abietol-4-epi,  $\beta$ -Bisabolene, Bornyl acetate, Caryophyllene oxide, representing the highest docking scores: -8.14 kcal/mol, -6.32 kcal/mol, -6.06 kcal/mol, -6.04 kcal/mol. Visualization of the interactions between compounds and tyrosinase helps to explain the functional groups involved in the interactions responsible for the inhibitory activity.

**Keywords :** Tyrosinase, hyperpigmentation, skin melanoma, essential oil, monoterpenes, molecular docking.