

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURS ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
جامعة امحمد بوقرة بومرداس  
UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA DE BOUMERDES



Faculté des Sciences  
Département de Biologie

Domaine : Science de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Génétique

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de Master II

**Etude *in silico* de l'activité anti-tyrosinase des molécules  
d'origine végétale**

Réalisé par:

Melle KHALI Asma

Melle KHALFI Feriel

Melle RAMDANI Hayet

Soutenu le : 12/06/2024 devant le jury composé de :

Dr. DERGUINE Louiza

MCB

UMBB

Présidente

Dr. KHEMILI-TALBI Souad

MCA

UMBB

Examinatrice

Dr. SADAOUI-SMADHI Nesrine

MCB

UMBB

Promotrice

Année universitaire 2023/2024

## *Remerciements*

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude au Créateur pour m'avoir accordé la force et la détermination nécessaires pour mener à bien ce mémoire.

Je souhaite également adresser mes sincères remerciements à ma promotrice, Dr. SADAoui-SMADHI Nesrine, pour son encadrement précieux, son soutien indéfectible et ses encouragements tout au long de ce parcours académique.

Je tiens également à remercier chaleureusement les membres du jury, Dr. Derguine Louiza en tant que présidente et Pr. Khemili-TALBI Souad en tant qu'examinatrice, pour leur temps précieux consacré à l'évaluation de mon travail et pour leurs précieuses contributions qui ont enrichi ce mémoire.

Leur expertise et leurs conseils ont grandement contribué à l'amélioration de ce travail de recherche, et je leur suis profondément reconnaissant pour leur implication et leur soutien tout au long de ce processus.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à toute l'équipe de formation en génétique pour leur contribution essentielle à mon développement académique et professionnel.

## *Dédicaces*

Dédié à nos chers parents, famille et amis,

À nos parents, dont le soutien inconditionnel et les sacrifices ont été les fondations sur lesquelles nous avons construit notre parcours académique. Votre amour, vos encouragements et vos enseignements ont illuminé notre chemin et ont été les piliers de notre succès. Nous vous dédions ce mémoire avec une profonde gratitude et une immense affection.

À nos familles, pour leur soutien constant, leur compréhension et leur encouragement tout au long de cette aventure. Votre présence et votre soutien indéfectible ont été une source de force et de réconfort pendant les moments difficiles. Nous vous remercions du fond du cœur pour votre soutien inestimable.

À nos amis, qui ont partagé avec nous joies et défis tout au long de ce parcours. Votre amitié, votre soutien et vos encouragements ont rendu cette expérience encore plus mémorable et enrichissante. Nous vous dédions ce mémoire avec une profonde reconnaissance pour votre amitié précieuse.

Que ce modeste accomplissement soit une humble expression de notre gratitude envers vous tous pour avoir été à nos côtés tout au long de ce voyage.

**Asma, Ferial, Hayet**

# SOMMAIRE

<b>Chapitre I: Synthèse bibliographique</b>	
I.1. Introduction	1
I.2. La mélanogenèse	2
I.2.1. Le processus de la mélanogenèse	2
I.3. Troubles cutanés d'hyperpigmentation	3
I.4. La tyrosinase et la mélanogénèse	5
I.4.1. Définition de la tyrosinase	5
I.4.2. Le rôle de la tyrosinase	5
I.4.3. La structure de la tyrosinase	6
I.4.4. Mécanisme Catalytique	7
I.5. Inhibiteurs de la mélanogénèse et leurs cibles	8
I.5.1. Inhibiteurs de la mélanogénèse inhibant la tyrosinase	8
I.6. Le docking moléculaire (l'amarrage moléculaire)	10
I.6.1. Définition	10
I.6.2. Les applications du docking moléculaire	11
I.6.3. Méthodologie d'amarrage moléculaire	12
I.6.3.1. Ligand rigide et amarrage des récepteurs rigides	12
I.6.3.2. Ligand flexible et amarrage des récepteurs rigides	12
I.6.3.3. Ligand flexible et amarrage flexible des récepteurs	12
I.6.4. Les logiciels de docking moléculaire	12
<b>Chapitre II: Matériel et Méthodes</b>	
II.1. Matériel	13
II.2. Méthodes	13
II.2.1. Préparation des ligands	13
II.2.1.1. Choix des ligands	14
II.2.1.2. Collecter des structures moléculaires des ligands ciblés	15
II.2.1.3. Conversion du ligand en format PDB par le logiciel	18
II.2.2. Préparation de la protéine cible	20
II.2.2.1. Préparation de la structure de la protéine	20
II.2.2.2. Conversion de la protéine et du ligand en format PDBQT par Auto Dock Tools	24
II.2.3. Lancement du docking moléculaire par Auto Dock Vina	32
II.2.4. Lancement de calcul en Auto Dock Vina	32
<b>Chapitre III: Résultats et Discussion</b>	
III.1. Résultats	33
III.1.1. Principales interactions prévues des 24 molécules étudiées	33
III.2.1. Interprétation des résultats par le logiciel Discovery studio	33
III.2. Discussion	48
Conclusion et perspectives	52
Références bibliographiques	53

## Liste des figures

<b>Figures</b>	<b>Titre de la figure</b>	<b>Pages</b>
<b>Figure 01</b>	Une cascade schématique de transduction de signal généralisée de la mélanogenèse chez l'homme	3
<b>Figure 02</b>	Exemples de troubles de la peau humaine causés par l'hyperpigmentation. (A) mélasma, (B) taches de rousseur et (C) lentigines séniles (Kumari et al, .2018)	4
<b>Figure 03</b>	Schéma de la voie biosynthétique des eumélanines et des phéomélanines. Les activités de la tyrosinase sont indiquées dans le schéma	5
<b>Figure 04</b>	(a) Une structure cristalline récente à haute résolution (1,8 Å) d'une tyrosinase végétale (PDB ID : 5CE9, feuilles de noyer, <i>Juglans regia</i> ). (b) Le site actif de l'enzyme contient deux ions de cuivre A et B qui sont coordonnés par six résidus d'histidine His87, His108, His117 pour CuII (A) et His239, His243, His273 pour CuII(B), respectivement, et représentés dans un modèle en bâton	6
<b>Figure 05</b>	États d'oxydation de la tyrosinase	7
<b>Figure 06</b>	Principales applications de l'amarrage moléculaire dans la découverte actuelle de médicaments	10
<b>Figure 07</b>	Interface de la base de données PubChem	15
<b>Figure 08</b>	recherche de Scolymoside sur la base de données PubChem	16
<b>Figure 09</b>	Résultats de la recherche sur le Scolymoside	16
<b>Figure 10</b>	Téléchargement du fichier SDF.3D de ligand Scolymoside (a, b)	17
<b>Figure 11</b>	Importation du ligand sous forme SDF sur Online Smiles Translator	18
<b>Figure 12</b>	Téléchargement du fichier PDB de l'enzyme tyrosinase	19
<b>Figure 13</b>	Importation de la protéine sur ArgusLab	20
<b>Figure 14</b>	Structure 3D de la tyrosinase sur ArgusLab	20
<b>Figure 15</b>	Suppression des molécules d'eau et des ligands sur ArgusLab	21

<b>Figure 16</b>	Enregistrement de la structure de tyrosinase sans ligand	22
<b>Figure 17</b>	Importation de protéine sous forme PDB sur Auto Dock Tools (a, b)	23
<b>Figure 18</b>	Suppression des molécules d'eau	23
<b>Figure 19</b>	Addition des hydrogènes polaires à la structure de protéine	24
<b>Figure 20</b>	Sélection de molécule « 2y9xSL » (a-b)	25
<b>Figure 21</b>	Enregistrement de la protéine sous forme PDBQT	26
<b>Figure 22</b>	Format PDBQT de la protéine « 2y9x »	26
<b>Figure 23</b>	Importation du ligand sous forme pdb sur Auto Dock Tools et la protéine est déjà incluse	27
<b>Figure 24</b>	Inclusion du ligand dans Auto Dock Tools	27
<b>Figure 25</b>	Enregistrement du ligand sous forme PDBQT (1 / 2)	28
<b>Figure 26</b>	Enregistrement du ligand sous forme PDBQT (2 / 2)	28
<b>Figure 27</b>	Format pdbqt du ligand	29
<b>Figure 28</b>	Grid Box avec différentes éléments	29
<b>Figure 29</b>	Création d'un fichier texte nommé « conf.txt »	30
<b>Figure 30</b>	Entrée les liens des dossiers essentiels pour le docking dans la commande	31
<b>Figure 31</b>	Réalisation des calculs du docking moléculaire	31
<b>Figure 32</b>	Le 1 <sup>er</sup> résultat du calcul	32
<b>Figure 33</b>	Importation de la protéine et le ligand sur Discovery studio (1/2)	36
<b>Figure 34</b>	Importation de la protéine et de ligand (2/2)	36

<b>Figure 35</b>	La tyrosinase 2y9x et le fichier output du ligand sur le logiciel (La structure 3D de tyrosinase) (1/2)	37
<b>Figure 36</b>	La tyrosinase 2y9x et le fichier output du ligand sur le logiciel (Le ligand sous forme out. Pdbqt) (2/2)	37
<b>Figure 37</b>	Changement de l'arrière-plan de 2y9x (1/2)	38
<b>Figure 38</b>	Changement de l'arrière-plan de 2y9x (2/2)	38
<b>Figure 39</b>	Changement de la forme d'image de 2y9x	39
<b>Figure 40</b>	Définition model 0 (meilleure pose) comme ligand (1/3)	40
<b>Figure 41</b>	Définition model 0 (meilleure pose) comme ligand (2/3)	40
<b>Figure 42</b>	Définition model 0 (meilleure pose) comme ligand (3/3)	41
<b>Figure 43</b>	Visualisation l'interaction du ligand avec la protéine (ligand en jaune, la protéine en gris-rouge, les cercles verts représentent les atomes d'hydrogène et les tirets désignent les liaisons entre le ligand et la protéine)	41
<b>Figure 44</b>	Changement de la forme structurale du ligand (1/2)	42
<b>Figure 45</b>	Changement de la forme structurale du ligand (2/2)	42
<b>Figure 46</b>	Changement de la forme structurale de la protéine	43
<b>Figure 47</b>	La forme structurale finale de ligand avec la protéine	43
<b>Figure 48</b>	Visualisation les acides aminés en interaction avec le ligand en 3D (1/2)	44
<b>Figure 49</b>	Visualisation les acides aminés en interaction avec le ligand en 3D (2/2)	44
<b>Figure 50</b>	L'indication des propriétés des acides aminés interagissant avec le ligand (1/2)	45
<b>Figure 51</b>	L'indication des propriétés des acides aminés interagissant avec le ligand (2/2)	45
<b>Figure 52</b>	Désactiver l'affichage de l'intra-molécule (les atomes d'hydrogène) (1/2)	46

<b>Figure 53</b>	Désactiver l'affichage de l'intra-molécule (les atomes d'hydrogène) (2/2)	46
<b>Figure 54</b>	Enregistrement de différentes interactions entre le ligand et les acides aminés en 3D	47
<b>Figure 55</b>	la structure 3D de complexe ligand-protéine	47
<b>Figure 56</b>	les différentes interactions entre les acides aminés de la protéine et différente ligand en 3D	49
<b>Figure 57</b>	les différentes interactions des meilleurs ligands avec les sites actifs de la protéine (a) complexe 2y9x-Strictinin, b) complexe 2y9x-Narirutin, c) complexe 2y9x-Isorhoifolin, d) complexe 2y9x-Galactomannan)	51

## Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau I</b>	Les ligands sélectionnés pour notre étude et leur origine	14
<b>Tableau II</b>	Les affinités entre les ligands étudiés et la tyrosinase	33
<b>Tableau III</b>	les caractéristiques des liaisons entre les résidus d'interaction de la protéine (2y9x) et les ligands (Scolymoside et citronello)	48



# **Synthèse bibliographique**

## I.1. Introduction

L'hyperpigmentation représente un problème de santé mondial majeur, qui nécessite des recherches sur la formulation de médicaments anti hyperpigmentation efficaces en contrôlant la formation de mélanine dépendante de la tyrosinase **(Ferro et al, 2018, Mughal et al, 2022)**

La majorité des produits éclaircissants pour la peau disponibles sur les marchés commerciaux mondiaux reposent sur des inhibiteurs de tyrosinase, et un grand nombre d'inhibiteurs de tyrosinase ont été trouvés dans les produits pharmaceutiques, cosmétiques et agricoles. **(Hassan, Shahzadi et Kloczkowski, 2023)**

Néanmoins, les inhibiteurs de la tyrosinase existants sont gênés par leur toxicité et leur efficacité limitée, ce qui conduit à une recherche d'inhibiteurs améliorés et efficaces provenant de la nature **(Di petrillo et al, 2016)**

Par conséquent, la plupart des pays préfèrent utiliser le contenu naturel des plantes dans le but de formuler des produits cosmétiques nouveaux et améliorés pour enrichir le corps humain en nutriments et autres ressources minérales bénéfiques et éviter les effets secondaires nocifs **(Gediya Sk et al, 2011)**

Dans ce contexte, notre objectif a été tracé autour d'une recherche *in silico* de nouvelles molécules bioactives d'origine végétale ayant la capacité d'inhiber l'enzyme, la tyrosinase, enzyme clé de la régulation de l'hyperpigmentation.

Ce mini projet constitue une synthèse bibliographique permettant une meilleure compréhension de certaines notions autour du thème choisi, préalablement au volet pratique.

L'organisation de cette étude repose sur trois principaux chapitres: le premier traite d'une synthèse bibliographique, le second expose en détail la méthodologie adoptée, tandis que le dernier chapitre expose les résultats obtenus et propose une discussion. En conclusion, une synthèse générale est proposée, accompagnée de perspectives pour orienter les futurs travaux.

## I.2. La mélanogénèse

La mélanogénèse est un processus physiologique multi-étapes qui aboutit à la synthèse d'un bio polymère complexe à pigment foncé appelé « mélanine ».

La mélanine est synthétisée par le mélanosome, un organite apparenté au lysosome dans les mélanocytes, et aide à protéger la peau des effets nocifs du soleil, des médicaments toxiques et des produits chimiques (Jablonski et al, 2014 ; Lin et al, 2007).

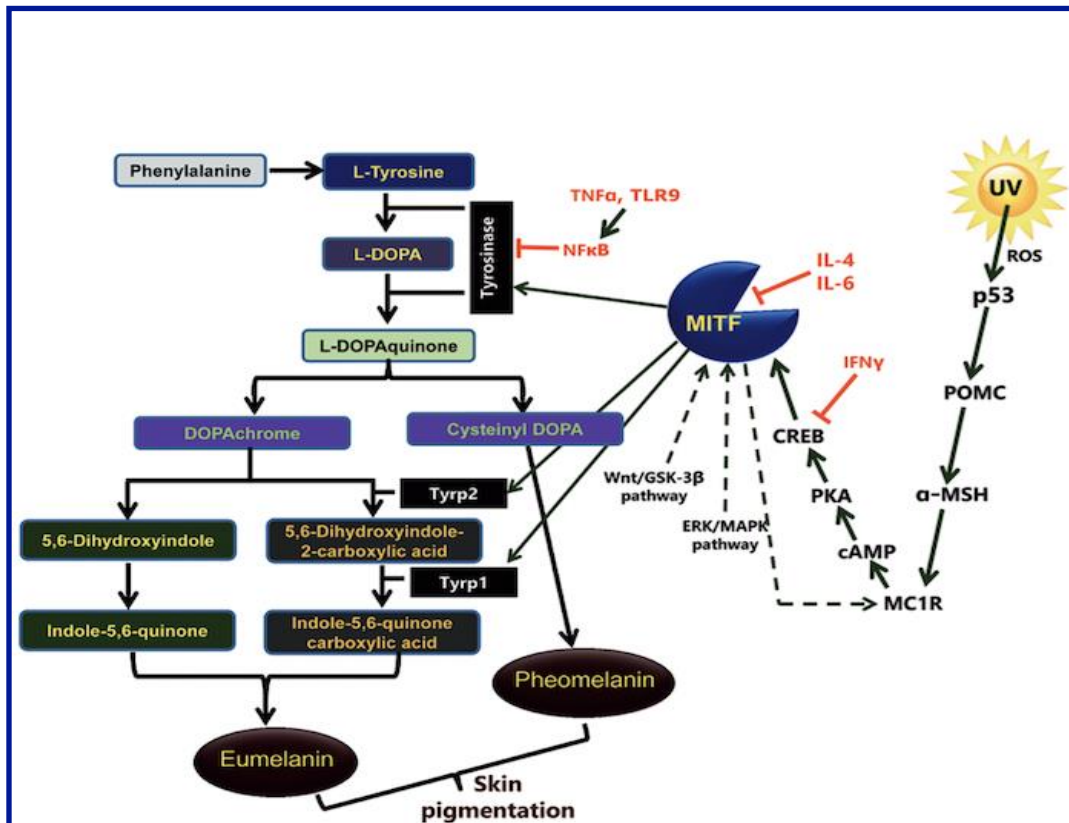
Il existe 2 types de mélanine ; eu mélanine et phéomé-lanine. Dans la voie de la mélanogénèse, 3 enzymes principales sont impliquées ; tyrosinase, protéine 1 liée à la tyrosinase (Tyrp1, également connue sous le nom de glycoprotéine gp75 ou gp75) et protéine 2 liée à la tyrosinase (Tyrp2, également connue sous le nom de dopa-chrome tautomérase ou Dct (KUMARI ET AL., 2018)

### I.2.1. Le processus de la mélanogénèse

Le processus de mélanogénèse est initié soit par l'hydroxylation de la phénylalanine en L-tyrosine, soit directement par la L-tyrosine, qui est ensuite hydroxylée en L-dihydroxyphénylalanine (L-DOPA). La L-DOPA est ensuite oxydée en L-DOPAquinone (DQ). Ces deux réactions sont catalysées par la tyrosinase, qui est donc une enzyme clé limitant dans la mélanogénèse (KUMARI ET AL., 2018).

La voie en aval de la mélanogénèse implique l'ajout intramoléculaire d'un groupe amino au DQ, générant du DOPACHROME. Après la formation de DQ, la voie de mélanogénèse en aval est divisée en 2 parties, conduisant à la synthèse de « l'eu mélanine noir-brunâtre » et de la « phéomélanines rouge-jaune ». Dans la voie de l'eumélanogénèse, le DOPACHROME est soit spontanément converti en 5,6-dihydroxyindole, soit converti enzymatiquement en acide 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylique par Tyrp2. Enfin, la polymérisation de l'indole et des quinones aboutit à la formation d'eu mélanine. La synthèse de la phéomélanines dépend de la présence de cystéine, qui réagit avec la DQ pour former la cystéinyl-DOPA, puis est ensuite convertie en quinoléine, puis polymérise finalement en phéomélanines (**Figure 01**). Bien que la mélanine joue un rôle clé dans la protection de la peau contre les rayons ultraviolets (UV) nocifs, une production et une accumulation anormalement

Élevées de mélanine dans la peau peuvent entraîner des troubles d'hyperpigmentation (KUMARI ET AL., 2018)



**Figure 01:** Une cascade schématique de transduction de signal généralisée de la mélanogénèse chez l'homme (KUMARI ET AL., 2018)

### I.3. Troubles cutanés d'hyperpigmentation

Si l'hyperpigmentation de la peau est généralement inoffensive, une pigmentation accrue, notamment sur le visage, comme le mélasma, les lentigines solaires et les taches de rousseur, présente une nuisance esthétique importante et peut causer une détresse à la personne concernée.

Le mélasma présente des taches sombres réparties symétriquement sur le visage et le cou et des macules hyper pigmentées sur la peau (**Figure 02A**).

Les taches de rousseur sont plates, petites et bronzées, principalement présentes sur le visage, bien que d'autres zones de la peau exposées au soleil présentent un risque élevé (**Figure 02B**).

Les lentigines sont marquées par la présence d'une petite tache brune, lésion bénigne qui apparaît majoritairement sur les zones exposées au soleil (**Figure 02C**).

Les lentigines et les taches de rousseur diffèrent par le nombre de mélanocytes. Dans les taches de rousseur, le nombre de mélanocytes reste le même, mais la quantité de mélanine augmente ; alors que les lentigines résultent d'un nombre accru de mélanocytes (Hexsel et al, 2015).



**Figure 02: Exemples de troubles de la peau humaine causés par l'hyperpigmentation. (A) mélasma, (B) taches de rousseur et (C) lentiginos séniles (Melanogenesis inhibitors)**

Actuellement, les troubles d'hyperpigmentation sont traités avec une large gamme d'agents hypopigmentants ou éclaircissants topiques, de peelings chimiques, de thérapie au laser, de cryothérapie et de dermabrasion superficielle. Les thérapies combinées constituent le mode de traitement privilégié pour la gestion de ces affections, ce qui permet une synergie et réduit les risques d'effets indésirables.

Cependant, ces modalités de traitement ne permettent pas d'éradiquer complètement les lésions cutanées. Il existe donc un besoin croissant de développer des options de traitement alternatives, plus spécifiques et plus efficaces (Hexsel et al, 2015).

La recherche d'un inhibiteur efficace de la mélanogénèse a conduit à la découverte de centaines de composés naturels et synthétiques dotés d'activités anti-mélanogénèse potentielles (Hexsel et al, 2015). Une meilleure compréhension des voies de régulation de la mélanogénèse pourrait aider à déterminer des cibles plus spécifiques pour des médicaments existants ou nouveaux, qui pourraient être utilisés pour réguler ces voies et contrôler les troubles de l'hyperpigmentation (MS, Fujita et al, 2002).

## **I.4. La tyrosinase et la mélanogénèse**

### **I.4.1. Définition de la tyrosinase**

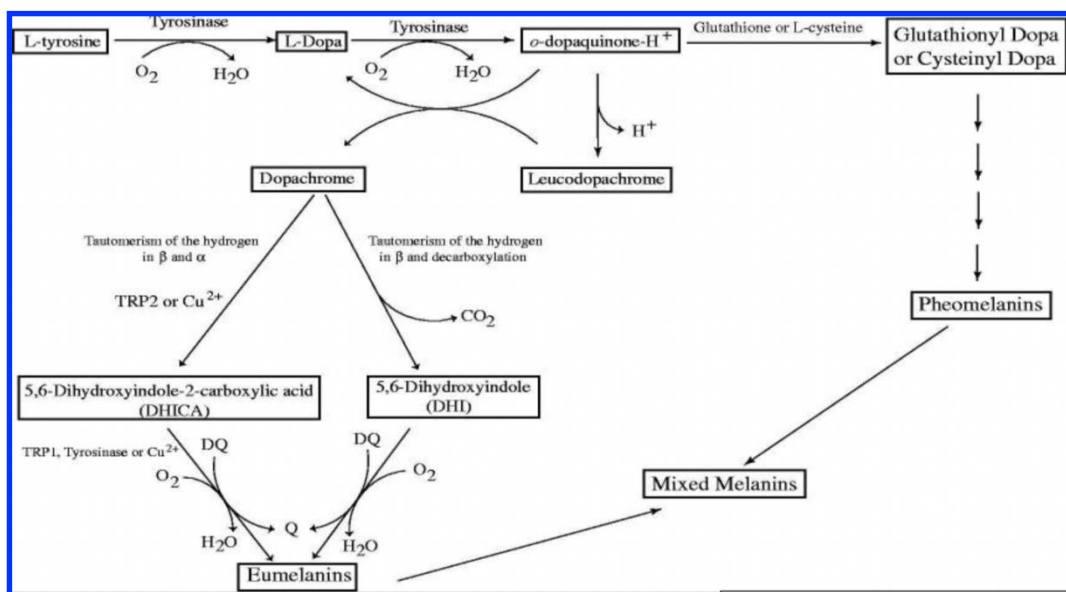
Les tyrosinases sont des métallo-enzymes appartenant à la famille des protéines de cuivre de type 3 qui contiennent deux ions de cuivre dans le site actif. Ils se trouvent chez divers procaryotes ainsi que chez les plantes, les champignons, les arthropodes et les mammifères et sont responsables de la pigmentation, de la cicatrisation des plaies, de la radioprotection et de la réponse immunitaire primaire (Clans H et al, 2006).

### I.4.2. Le rôle de la tyrosinase

Bien que la mélanogénèse soit un processus compliqué représenté par de nombreuses réactions enzymatiques et chimiques, les enzymes telles que la tyrosinase et d'autres protéines liées à la tyrosinase (TYRP1 et TYRP2) jouent un rôle essentiel dans la synthèse de la mélanine (**Chang TS, Garcia et al**).

La tyrosinase est une enzyme capable de catalyser les réactions suivantes (**figure 03**):

- L'hydroxylation de L-tyrosine en 3,4-dihydroxyphénylanine (L-DOPA), il concerne l'activité mono phénol hydroxylase.
- L'oxydation de L-DOPA en DOPAquinone, il s'agit d'une activité catéchol oxydase.
- L'oxydation de la 5,6-dihydroxyindole (DHI) en indole quinone (**Hearing, 1987**)



**Figure 03: Schéma de la voie biosynthétique des eu mélanines et des phéomélanines. Les activités de la tyrosinase sont indiquées dans le schéma (Garcia Jiménez et al. 2017)**

### I.4.3. La structure de la tyrosinase

Les tyrosinases appartiennent à la famille du « cuivre de type 3 ». La structure globale de la tyrosinase peut être divisée en trois domaines : le domaine central, le domaine N-terminal et le domaine C-terminal (**Van et al**). Le domaine central, qui est composé de six résidus d'histidine conservés, contient les ions oxydants CuA et CuB. Bien qu'il s'agisse du domaine le plus conservé parmi les tyrosinases, CO et Hc (Fig. 1), le site CuB présente une plus grande conservation que

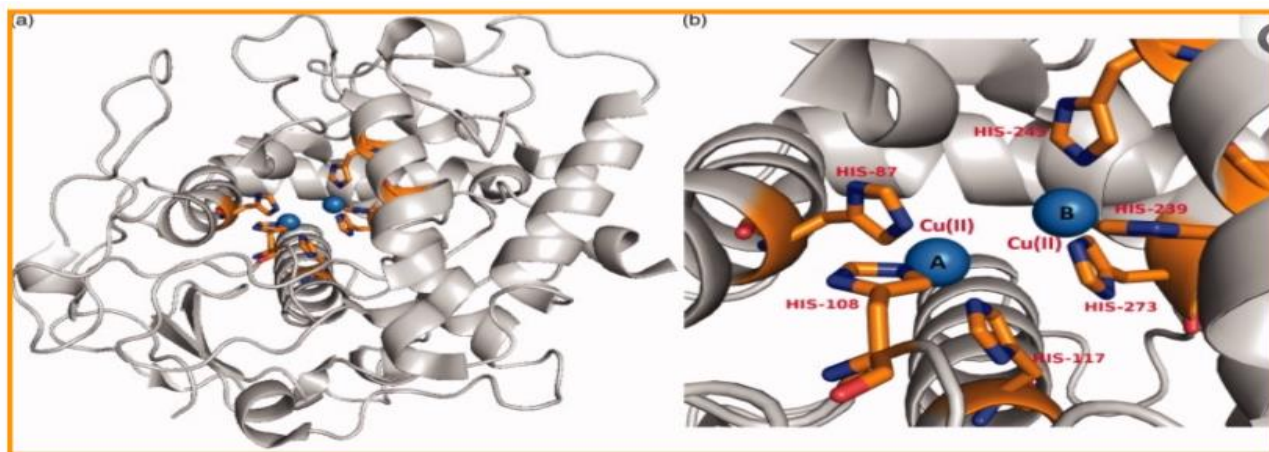
CuA (Van et al, Schweikardt et al, 2007) Les études biochimiques sur les tyrosinases de différentes espèces ont montré l'implication des résidus d'histidine conservés dans la liaison du cuivre (Schweikardt al, 2007 ; Olivares et al)

Le domaine N-terminal est un peptide de transit qui détermine l'emplacement final de l'enzyme et subit ensuite une élimination protéolytique.14, 19,20. Chez l'homme et la souris, le peptide N-terminal a été suggéré qu'elle sera impliquée dans le transfert des mélanosome (Lerch, 1988).

L'état latent de la tyrosinase (pro-tyrosinase) est composé du domaine central et du domaine C-terminal. Ce dernier domaine bloque l'entrée dans le site actif au moyen d'un résidu « placeholder » qui pénètre dans le site actif de la même manière que le substrat ou un inhibiteur (Mayer AM).

D'un point de vue structurel, deux ions cuivre sont entourés de trois résidus d'histidine qui sont responsables de l'activité catalytique de la tyrosinase (Figure 04) (Matoba et al 2008).

Au site actif, deux ions cuivre interagissent avec le dioxygène pour former un intermédiaire chimique hautement réactif qui participe directement à l'hydroxylation des mono phénols en diphénols (activité monophénolase) et à l'oxydation des o-diphénols en o-quinones (activité diphénolase) (Decker, Tuzcek, 2000)



**Figure 04:** (a) Une structure cristalline récente à haute résolution (1,8 Å) d'une tyrosinase végétale (PDB ID : 5CE9, feuilles de noyer, *Juglans regia*). (B) Le site actif de l'enzyme contient deux ions de cuivre A et B qui sont coordonnés par six résidus d'histidine His87, His108, His117 pour CuII (A) et His239, His243, His273 pour CuII(B), respectivement, et représentés dans un modèle en bâton (Matoba et al, 2008)

### I.4.4. Mécanisme Catalytique

Les propriétés de la tyrosinase sont déterminées par quatre états d'oxydation de son site actif et ont été décrites en détail par (Ramsden et Riley, 2014). La tyrosinase indigène se trouve principalement à l'état met dans lequel un ion hydroxyle est ligandé par deux Cu(II). Contrairement aux catéchols, les phénols ne peuvent pas être oxydés par cette forme de tyrosinase. L'oxydation du catéchol à l'état met entraîne une réduction de la tyrosinase à l'état désoxy, dans lequel les deux ions cuivre sont réduits à Cu(I). L'état désoxy lie l'oxygène pour devenir l'état oxy, dans lequel deux molécules d'oxygène dans la configuration peroxy sont liées par deux Cu(II). La désoxy tyrosinase oxyde les phénols et les catéchols en o-quinones, par différents mécanismes oxydatifs.

L'oxydation du catéchol par un mécanisme oxydatif phénolique entraîne une réduction du cuivre en Cu<sup>0</sup> et une désactivation de la tyrosinase (inactivation du suicide) (Ramsden et Riley., 2014) (Figure 05)

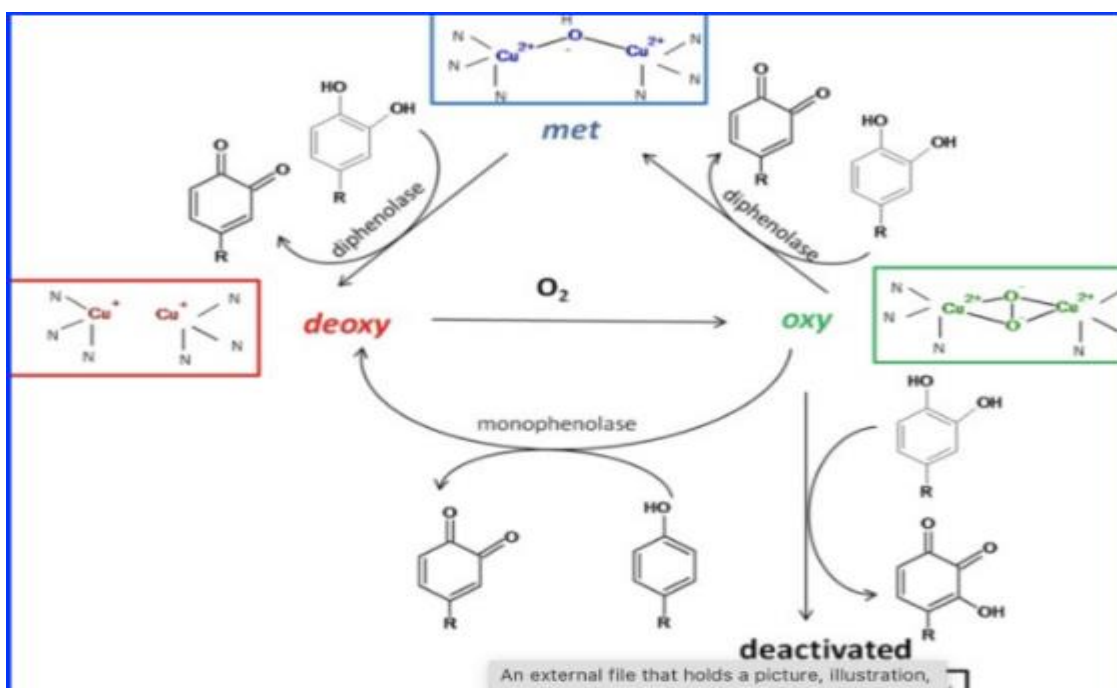


Figure 05: États d'oxydation de la tyrosinase (Ramsden et al. 2014)

## I.5. Inhibiteurs de la mélanogénèse et leurs cibles

### I.5.1. Inhibiteurs de la mélanogénèse inhibant la tyrosinase

La tyrosinase étant l'enzyme clé de la voie de la mélanogénèse, la plupart des études antérieures se sont concentrées sur l'inhibition de l'activité de cette enzyme afin de contrôler la mélanogénèse. La

tyrosinase est une glycoprotéine liée à la membrane contenant du cuivre et située dans la membrane du mélanosome. Il possède un domaine mélanosomal interne qui contient la région catalytique, un court domaine transmembranaire et un domaine cytoplasmique.

La majorité des agents hypopigmentants agissent directement ou indirectement sur la tyrosinase et inhibent son activité via des mécanismes compétitifs, non compétitifs ou non compétitifs (**sanchez ferré et al, .N.D**)

- **Tyrosinase inhibitors obtained from plants**

Plusieurs molécules, telles que les composés phénoliques, les terpènes, les stéroïdes, les chalcones, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les acides gras à longue chaîne et les coumarines, sont dérivées de plantes (**Sanchez et al**). Ces molécules naturelles sont capables de ralentir le processus de mélanogénèse en inhibant de manière réversible ou irréversible l'activité enzymatique. Il existe un grand nombre d'inhibiteurs de la mélanogénèse d'origine végétale, notamment l'hydroquinone, l'arbutine et l'aloésine, actuellement utilisés comme agents éclaircissants pour la peau.

L'hydroquinone est largement utilisée depuis plus de 40 ans comme agent blanchissant la peau ; cependant, ce composé provoque une irritation cutanée, induit des mutations dans les cellules de mammifères et est cytotoxique pour les cellules de mammifères (loizzo et a, 2012) Après l'hydroquinone, le deuxième agent pharmacologique le plus utilisé est le rétinoïde.

Ce composé est relativement sûr (**Tse et al, 2002**) ce qui en fait un ingrédient actif prometteur comme agent de blanchiment de la peau pour les applications cosmétiques.

- **Inhibiteurs de tyrosinases obtenues à partir de micro-organismes**

Plusieurs micro-organismes, notamment des bactéries et des champignons, sont connus pour produire des composés anti-mélanogènes. Actuellement, de nombreuses molécules de ce type ont été découvertes et testées pour leur activité anti-mélanogène.

L'acide kojique (5-hydroxy-2-hydroxy-méthyl-4H-pyran-4-one) est un métabolite naturel obtenu à partir d'Acetobacter, Aspergillus et Penicillium (**Cabanes et al, 1994**). Il est de nature hydrophile et agit comme agent chélateur du  $\text{Cu}^{2+}$  dans le site actif de la tyrosinase. De plus, il supprime la tautomérisation du dopachrome en acide 5, 6-dihydroxyindole-2-carboxylique (**Cabanes et al, 1994**). L'acide azélaïque (acide 1, 7-heptanedicarboxylique) est un inhibiteur compétitif réversible

de la tyrosinase, produite par *Pityrosporum ovale*. L'acide azélaïque, associé à un composé antioxydant, la taurine, inhibe la tyrosinase en activant la voie ERK (Yu JS, Kin AK, 2010).

- **Inhibiteur synthétique de la tyrosinase**

Outre les sources naturelles, les inhibiteurs de tyrosinase sont également synthétisés ou modifiés chimiquement par de nombreuses industries pharmacologiques. Les modifications chimiques, telles que le remplacement des groupes fonctionnels, rendent ces molécules plus efficaces et plus puissantes que leur composé parent.

- **Dérivés du resvératrol:** Le resvératrol est un composé poly phénolique qui réduit l'expression de la tyrosinase, Tyrp1, Tyrp2 et MITF, et diminue ainsi l'hyperpigmentation. De nouveaux analogues synthétiques du resvératrol ont été développés en remplaçant le groupe CH par un atome d'azote, qui a un effet inhibiteur accru de la tyrosinase (Sakooka, Kubo, 2012).

-**Dérivés de l'acide cinnamique:** L'acide cinnamique est un inhibiteur modéré de l'enzyme tyrosinase (IC50 2,1 mm). Les dérivés de l'acide cinnamique ont montré un effet inhibiteur accru contre la tyrosinase avec des valeurs IC50 plus faibles (Fan et al, 2005)

- **Dérivés de poly phénols:** Les dérivés poly phénols représentent un groupe large et diversifié de composés contenant un ou plusieurs composés phénoliques. La modification de la présence et de la position de substituant supplémentaires sur la structure du squelette entraîne une modification de l'activité de ces composés. Par exemple, les benzybonzoates, dérivés du changement de position d'un groupe hydroxyle sur l'un des deux cycles aromatiques, ont entraîné un effet inhibiteur accru sur la tyrosinase (Melanogenesis inhibitors).

## I.6. Le docking moléculaire (l'amarrage moléculaire)

### I.6.1. Définition

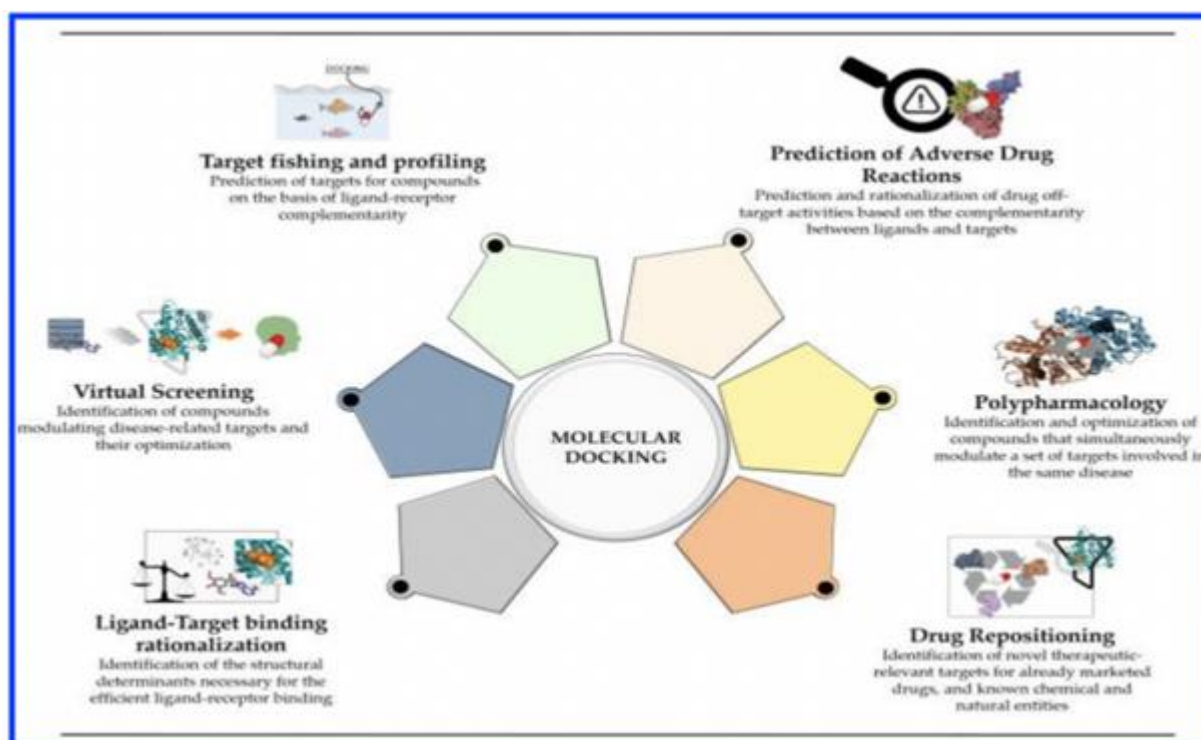
L'amarrage moléculaire est l'une des méthodes les plus fréquemment utilisées dans la conception de médicaments basée sur la structure en raison de sa capacité à prédire, avec un degré important de précision, la conformation des ligands de petites molécules dans le site de liaison cible approprié.

Depuis sa première apparition au milieu des années 1970, l'amarrage s'est avéré être un outil important pour aider à comprendre comment les composés chimiques interagissent avec leurs cibles moléculaires, ainsi que pour la découverte et le développement de médicaments.

De plus, l'amarrage permet de comprendre les relations entre les différentes cibles moléculaires impliquées dans une maladie donnée, ce qui est également d'une grande pertinence pour la poly pharmacologie (Brenner et Hearing, 2008) et la découverte moderne de médicaments en général.

### I.6.2. Les applications du docking moléculaire

L'amarrage moléculaire est actuellement utilisé pour aider à rationaliser l'activité des ligands vers une cible d'intérêt et pour effectuer des campagnes de dépistage virtuel basées sur la structure, de la même manière que lorsqu'il a été développé pour la première fois. Outre ces applications, il peut également être utilisé pour identifier des séries de cibles pour lesquelles les ligands présentent une bonne complémentarité (pêche à la cible et profilage), certaines d'entre elles étant potentiellement responsables d'effets indésirables inattendus des médicaments (prévision des cibles). De plus, l'amarrage est également actuellement utilisé pour l'identification de ligands qui se lient simultanément à un pool de cibles sélectionnées d'intérêt (poly pharmacologie) et pour identifier de nouvelles utilisations des composés chimiques avec des profils de sécurité déjà optimisés (repositionnement des médicaments) (**figure 06**)(Luca et Giulio., ND)



**Figure 06: Principales applications de l'amarrage moléculaire dans découverte actuelle de médicaments (Luca et Giulio., ND)**

### I.6.3. Méthodologies d'amarrage moléculaire

#### I.6.3.1. Ligand rigide et amarrage des récepteurs rigides

Lorsque le ligand et le récepteur sont tous deux traités comme des corps rigides, l'espace de recherche est très limité, compte tenu de seulement trois degrés de liberté translationnelle et trois degrés de rotation. Dans ce cas, la flexibilité du ligand pourrait être abordée en utilisant un

ensemble pré-calculé de conformations de ligand, ou en permettant un certain degré de chevauchement atome-atome entre la protéine et le ligand. Les premières versions de DOCK (Kuntz et al, ND), FLOG (Miller et al) et de certains programmes d'amarrage protéique-protéines, tels que FTDOCK (**Gabb et al.,ND**) ont adopté une telle méthode qui a maintenu le ligand et le récepteur rigides pendant le processus d'amarrage.

### **I.6.3.2. Ligand flexible et amarrage des récepteurs rigides**

Pour les systèmes dont le comportement suit le paradigme d'ajustement induit (Koshland.,ND), il est d'une importance vitale de tenir compte des flexibilités du ligand et du récepteur, car dans ce cas, le ligand et le récepteur changent de conformations pour former un complexe d'ajustement parfait à énergie minimale. Cependant, le coût est très élevé lorsque le récepteur est également flexible. Ainsi, l'approche commune, également un compromis entre la précision et le temps de calcul, consiste à traiter le ligand comme flexible tandis que le récepteur est maintenu rigide pendant l'amarrage. Presque tous les programmes d'amarrage ont adopté cette méthodologie, tels que AutoDock (Morris et al, ND) FlexX (**Rarey et al, ND**)

### **I.6.3.3.Ligand flexible et amarrage flexible des récepteurs**

Il a été prouvé que la mobilité intrinsèque des protéines est étroitement liée au comportement de liaison du ligand. L'intégration de la flexibilité du récepteur est un défi important dans le domaine de l'amarrage. Idéalement, l'utilisation de simulations dynamique moléculaire pourrait modéliser tous les degrés de liberté dans le complexe ligand-récepteur. Mais la dynamique moléculaire a le problème de l'échantillonnage inadéquat que nous avons mentionné plus tôt. Un autre obstacle est sa charge de calcul élevée, ce qui empêche cette méthode d'être utilisée dans le dépistage d'une grande base de données chimique (**Tegue., ND**).

## **I.6.4. Les logiciels de docking moléculaire**

- **Dock**

DOCK est la première procédure automatisée d'amarrage d'une molécule dans un site récepteur et est en cours de développement continu. Il caractérise le ligand et le récepteur comme des ensembles de sphères qui pourraient être recouvertes au moyen d'une procédure de détection de clique (**Bron et al, 1973**)

- **AutoDock**

Ce logiciel est largement utilisé, développé par le SCRIPPS RESEARCH institue. C'est un logiciel gratuit et open source, il effectue une conformation à la fois rigide et flexible. Il permet de optimiser l'emplacement des ligands dans un site de liaison au récepteur, il prend plusieurs fonction de notation pour évaluer l'affinité de liaison des ligands au récepteur (Morris et al, ND)

- **Flex**

Est un logiciel présent actif du flexible, utilisé pour le virtuel criblage d'une base de donné de petite molécule (**Rarey et al, ND**)



# **Matériel et méthodes**

### II. Matériel et méthodes

#### Rappel d'objectif

Évaluer l'activité inhibitrice de différentes molécules bioactives d'origine végétales contre la tyrosinase par le biais de simulations de docking moléculaire. L'objectif est d'identifier les composés potentiels capables de se lier efficacement au site actif de la tyrosinase, interférant ainsi avec son activité catalytique. Cette étude vise à fournir des informations cruciales pour le développement de nouveaux agents thérapeutiques ou cosmétiques ciblant les troubles de la pigmentation ou les maladies associées à une activité excessive de la tyrosinase. »

Dans notre travail ; nous avons évalué *in silico* par le docking moléculaire, l'affinité d'une 24 molécule vis-à-vis du l'enzyme tyrosinase (PDB:2y9x) ; en utilisant les logiciels suivants :

ArgusLab, Auto dock tools et Discovery studio.

#### II.1. Matériel

Pc portable caractéristique, logiciels spécialisés en docking moléculaire, banques de données.

#### II.2. Méthodes

Dans cette étude, nous décrirons en détail la méthodologie de docking moléculaire utilisée pour évaluer l'activité inhibitrice de différentes molécules bioactives contre la tyrosinase. Nous discuterons des étapes clés de préparation des structures protéiques et des ligands, du paramétrage des simulations de docking, de l'analyse des résultats obtenus, et de l'interprétation des interactions ligand-protéine. Enfin, nous soulignerons l'importance de cette approche dans la découverte de nouveaux agents thérapeutiques ou cosmétiques ciblant la tyrosinase pour le traitement des troubles de la pigmentation et des maladies associées.

##### II.2.1. Préparation des ligands

La préparation des ligands est une étape essentielle dans le processus de docking moléculaire, visant à garantir la qualité et la pertinence des molécules bioactives testées lors des simulations.

Dans cette section, nous détaillerons les différentes étapes impliquées dans le choix et la préparation des ligands, depuis la collecte des structures moléculaires jusqu'à leur optimisation géométrique en vue de leur interaction avec la protéine ciblent.

**II.2.1.1. Choix des ligands**

Il est important de sélectionner une variété de ligands présentant une diversité chimique afin d'explorer différents modes d'interaction avec la tyrosinase. Cela peut inclure des composés de différentes classes chimiques, tels que **les phénols, les flavonoïdes, les hydroquinones, les thiols**, etc., chacun pouvant potentiellement agir comme inhibiteur de la tyrosinase.

Pour cela, dans notre étude, nous avons sélectionné un ensemble de ligands, qui sont des biomolécules d'origine végétale. Nous avons effectué une recherche bibliographique et une petite enquête sur les plantes utilisées pour traiter les problèmes de pigmentation de la peau.

Les ligands sélectionnés sont présentés dans le tableau ci-dessous (Tableau I).

**Tableau I: Les ligands sélectionnés pour notre étude et leur origine**

N	Molécules (ligands)	L'origine	La classe (nature)
01	Curcumenol	Curcuma	Sesquiterpènes
02	Isoborneol	Curcuma	Monoterpènes
03	scolymoside	Peppermint	Flavonoïdes
04	Gamma_Terpinene	Mandarin Orange	Monoterpènes
05	Nerol	Citrus Aurantium	Monoterpènes
06	Citronellol	Citrus Limon	Terpenoides
07	Cinnamaldehyde	Cinnamomun Verum	Aldéhydes
08	Alpha_Carotene	Cannelle	Carotènes
09	phytosterol	Cannelle	Stérols Végétaux
10	strictinin	Le thé vert	Ellagitanin
11	Rétinol	Safran	Rétinoïdes
12	Curdione	Curcuma	Sesquiterpènes
13	Nonanal	Le thé vert	Aldéhydes
14	1_pentanol	Le thé vert	Alcools Primaires
15	Llinalool	Curcuma	Terpenoide
16	Beta_D_Glucopyranose	Curcuma	Monosaccharide

17	Narirutin	Peppermint	Flavonoïdes
18	Menthofuran	Peppermint	Terpenoïde
19	Isorhoifolin	Peppermint	Flavonoïdes
20	Galactomannan	Noix de coco	Polysaccharide
21	Geraniol	Le the vert	Terpenoïde
22	Alpha_curcumene	Curcuma	Terpenoïde
23	Beta_Cryptoxanthin	Cannelle	Caroténoïde
24	Beta_Caryophyllene	Curcuma	Sesquiterpènes

### II.2.1.2. Collecter des structures moléculaires des ligands ciblés

Pour télécharger la structure 3D des ligands, nous avons utilisé la base de données chimiques **PubChem** (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) (Figure 07), cette base de données fournit des informations détaillées sur les structures moléculaires.

En accédant à la page de la molécule spécifique dans l'une de ces bases de données, vous pouvez généralement trouver un lien pour télécharger les données de la structure 3D au format souhaité, tel que sdf, mol ou pdb. Dans notre cas, on s'intéresse au format SDF de la structure.

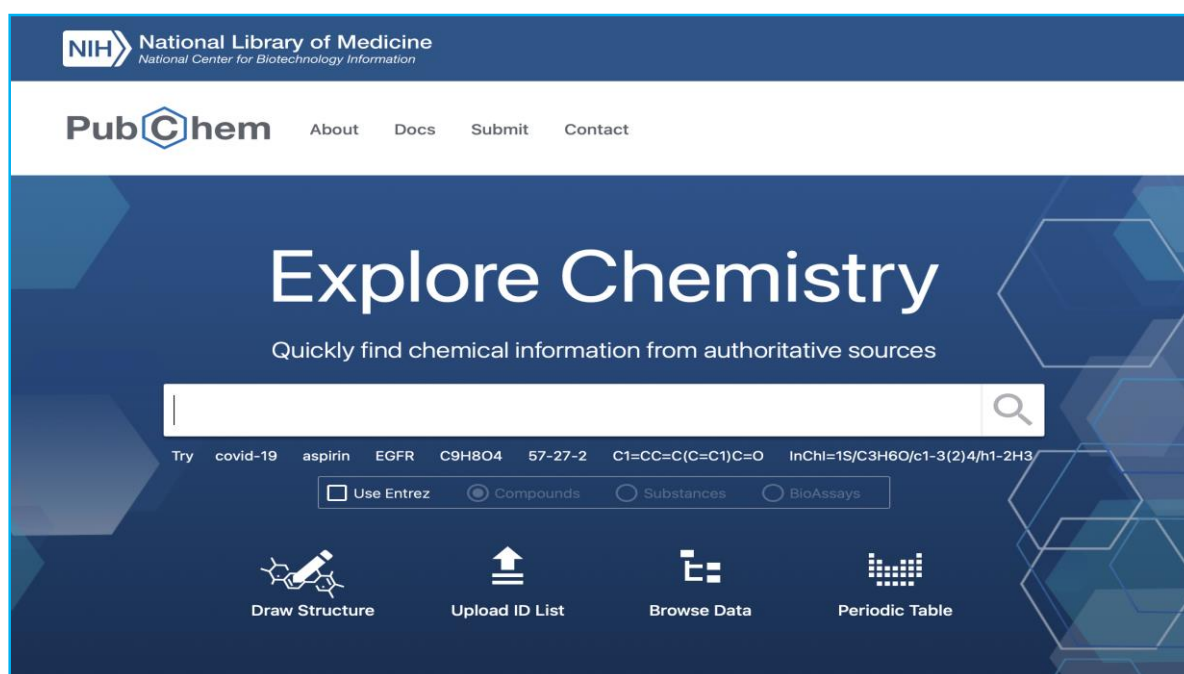
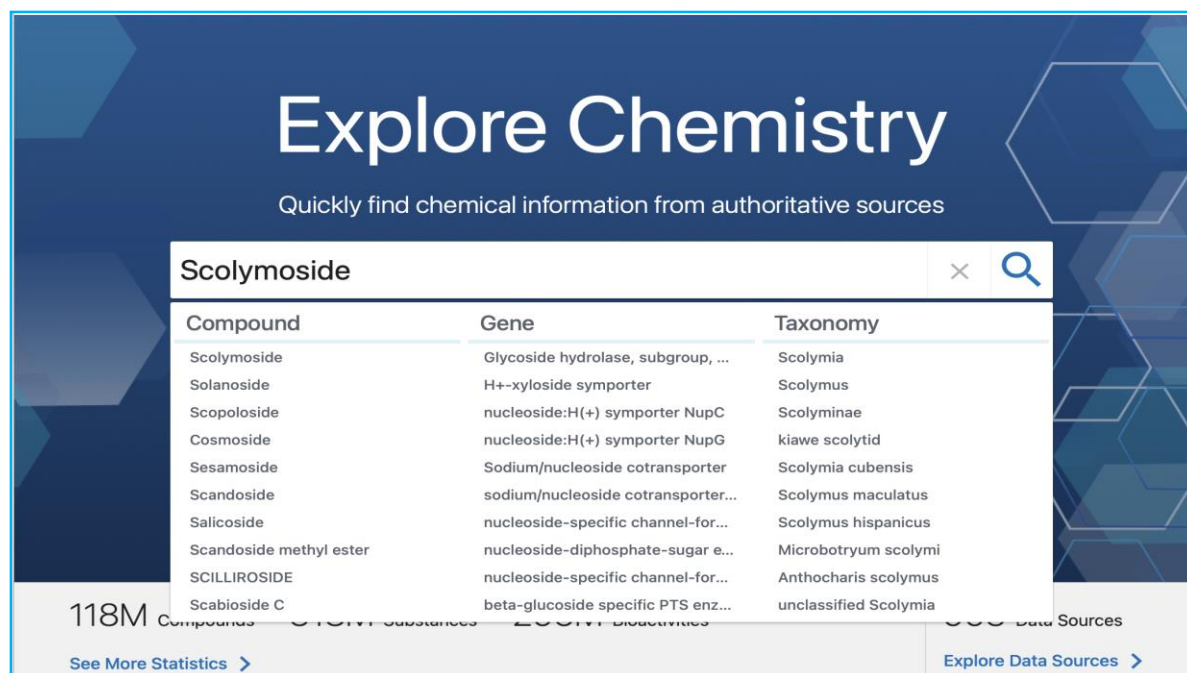


Figure 07 : Interface de la base de données PubChem

En prenant un exemple d'application qui est le Scolymoside, en le tapant sur la barre de recherche.



**Explore Chemistry**  
Quickly find chemical information from authoritative sources

Search: Scolymoside

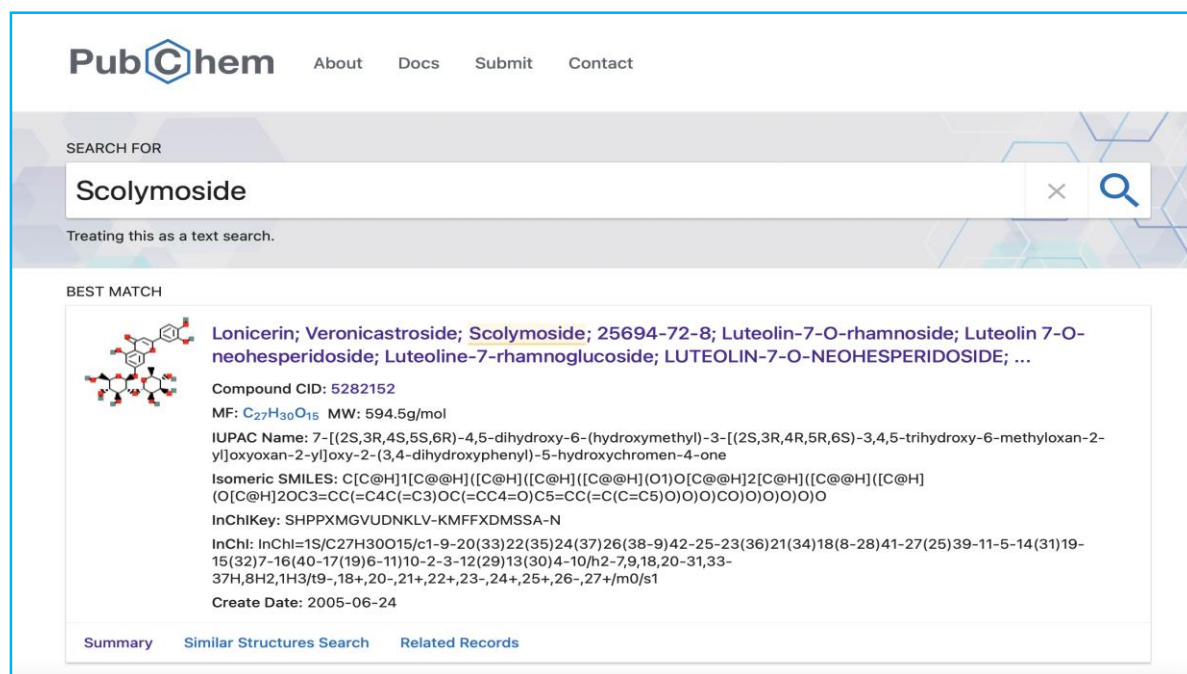
Compound	Gene	Taxonomy
Scolymoside	Glycoside hydrolase, subgroup, ...	Scolymia
Solanoside	H+-xyloside symporter	Scolymus
Scopoloside	nucleoside:H(+) symporter NupC	Scolyminae
Cosmoside	nucleoside:H(+) symporter NupG	kiawe scolytid
Sesamoside	Sodium/nucleoside cotransporter	Scolymia cubensis
Scandoside	sodium/nucleoside cotransporter...	Scolymus maculatus
Salicoside	nucleoside-specific channel-for...	Scolymus hispanicus
Scandoside methyl ester	nucleoside-diphosphate-sugar e...	Microbotryum scolymi
SCILLIROSIDE	nucleoside-specific channel-for...	Anthocharis scolymus
Scabioside C	beta-glucoside specific PTS enz...	unclassified Scolymia

118M Compounds    3,000 Substances    2,000 Disinfectants

[See More Statistics >](#)    [Explore Data Sources >](#)

**Figure 08 : recherche de Scolymoside sur la base de données PubChem**

Le résultat de la recherche est présenté dans la figure suivante (figure 09).

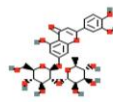


**PubChem**    About    Docs    Submit    Contact

SEARCH FOR  
Scolymoside

Treating this as a text search.

**BEST MATCH**

 **Lonicerin; Veronicastroside; Scolymoside; 25694-72-8; Luteolin-7-O-rhamnoside; Luteolin 7-O-neohesperidoside; Luteoline-7-rhamnoglucoside; LUTEOLIN-7-O-NEOHESPERIDOSIDE; ...**

Compound CID: 5282152  
MF: C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>15</sub>    MW: 594.5g/mol

IUPAC Name: 7-[[[2S,3R,4S,5S,6R]-4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3-[(2S,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxyoxan-2-yl]oxy-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5-hydroxychromen-4-one

Isomeric SMILES: C[C@H]1[C@@H]([C@H]([C@H]([C@H]([C@H](O1)O[C@@H]2[C@H]([C@H]([C@H](O[C@H]2OC3=CC(=C4C(=C3)OC(=CC4=O)C5=CC(=C(C=C5)O)O)CO)O)O)O)O)O

InChIKey: SHPPXMGVUDNKLK-KMFFXDMSSA-N

InChI: InChI=1S/C27H30O15/c1-9-20(33)22(35)24(37)26(38-9)42-25-23(36)21(34)18(8-28)41-27(25)39-11-5-14(31)19-15(32)7-16(40-17(19)6-11)10-2-3-12(29)13(30)4-10/h2-7,9,18,20-31,33-37H,8H2,1H3/t9-,18+,20-,21+,22+,23-,24+,25+,26-,27+/m0/s1

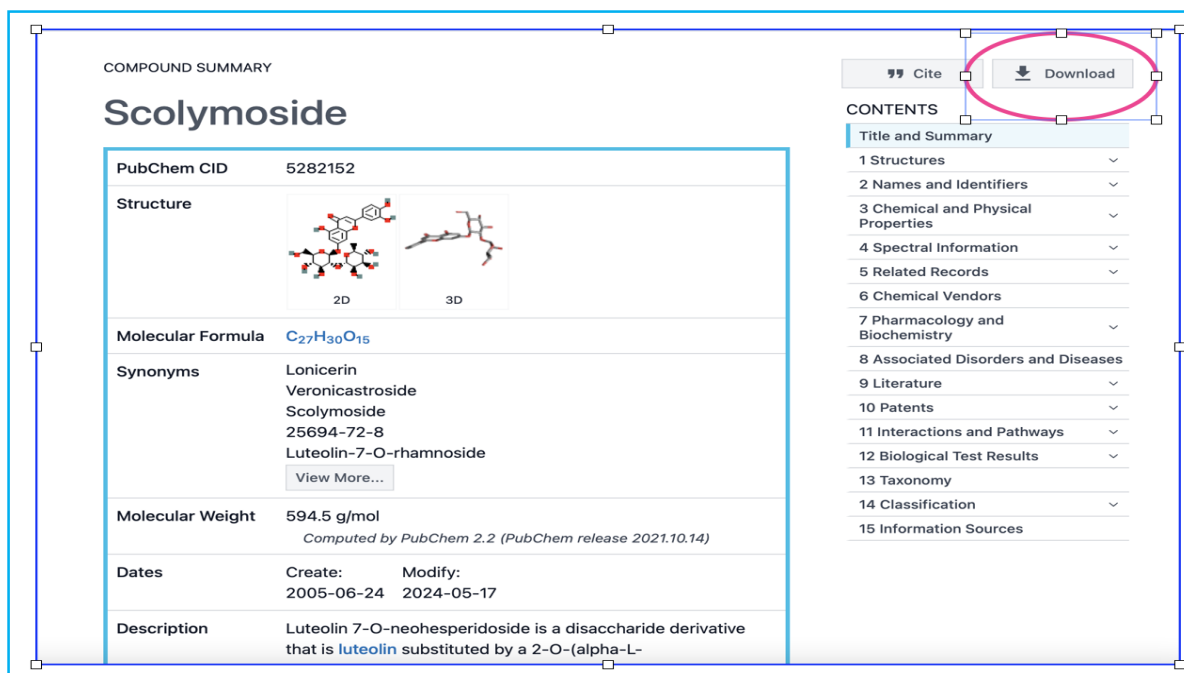
Create Date: 2005-06-24

[Summary](#)    [Similar Structures Search](#)    [Related Records](#)

**Figure 09 : Résultats de la recherche sur le Scolymoside**

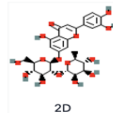
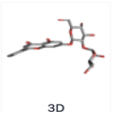
Pour télécharger le structure 3D de la molécule, nous cliquons sur le lien puis sur la touche \*Download\* ainsi que sur la touche \*Save as SDF\* (figure 10).

a)



COMPOUND SUMMARY

## Scolymoside

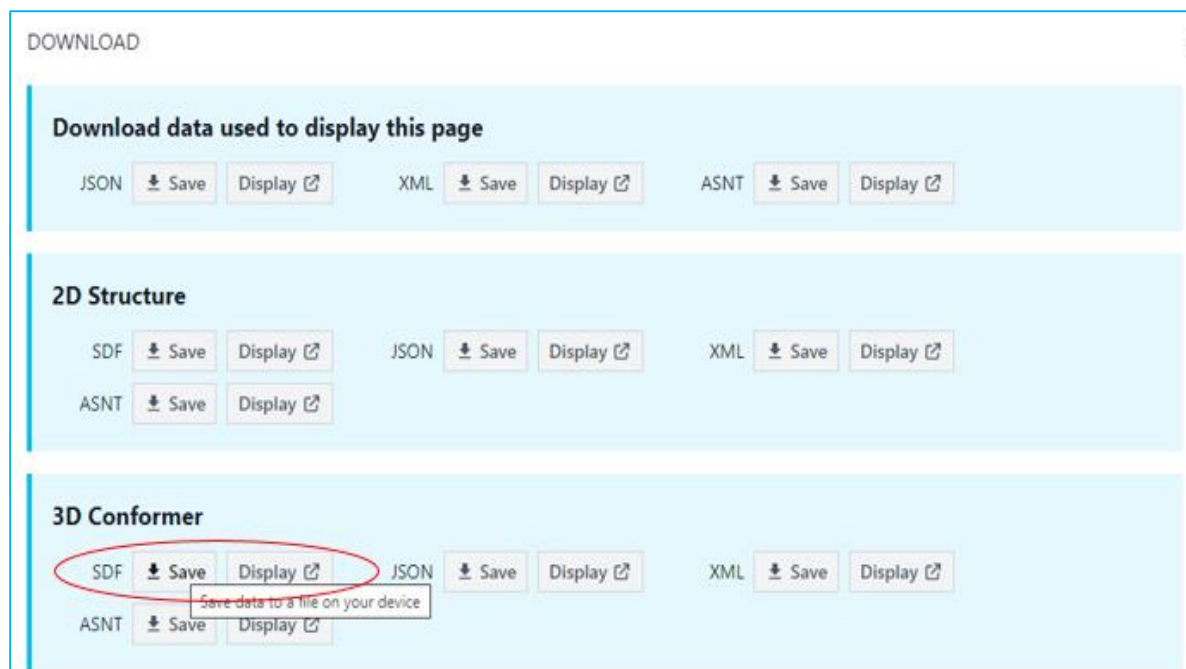
PubChem CID	5282152
Structure	 
Molecular Formula	$C_{27}H_{30}O_{15}$
Synonyms	Lonicerin Veronicastrósíde Scolymosíde 25694-72-8 Luteolin-7-O-rhamnosíde <a href="#">View More...</a>
Molecular Weight	594.5 g/mol <small>Computed by PubChem 2.2 (PubChem release 2021.10.14)</small>
Dates	Create: 2005-06-24    Modify: 2024-05-17
Description	Luteolin 7-O-neohesperidoside is a disaccharide derivative that is luteolin substituted by a 2-O-(alpha-L-

[Cite](#) [Download](#)

CONTENTS

- Title and Summary
- 1 Structures
- 2 Names and Identifiers
- 3 Chemical and Physical Properties
- 4 Spectral Information
- 5 Related Records
- 6 Chemical Vendors
- 7 Pharmacology and Biochemistry
- 8 Associated Disorders and Diseases
- 9 Literature
- 10 Patents
- 11 Interactions and Pathways
- 12 Biological Test Results
- 13 Taxonomy
- 14 Classification
- 15 Information Sources

b)



DOWNLOAD

Download data used to display this page

JSON [Save](#) [Display](#) XML [Save](#) [Display](#) ASNT [Save](#) [Display](#)

2D Structure

SDF [Save](#) [Display](#) JSON [Save](#) [Display](#) XML [Save](#) [Display](#)

ASNT [Save](#) [Display](#)

3D Conformer

SDF [Save](#) [Display](#) JSON [Save](#) [Display](#) XML [Save](#) [Display](#)

ASNT [Save](#) [Display](#)

Save data to a file on your device

Figure 10: Téléchargement du fichier SDF.3D de ligand Scolymoside (a, b)

Une fois téléchargées et conservé dans un fichier nommé \*Docking mol\* la structure peut être utilisées pour la visualisation et le docking moléculaire.

### II.2.1.3. Conversion du ligand en format PDB par « Online Smiles Translator »

Pour convertir un ligand au format PDB à partir de « Online Smiles Translator », suivez les étapes ci-dessous :

1. Accédez au site « Online Smiles Translator »
2. Entrez la chaîne Smiles du ligand dans le champ prévu à cet effet.
3. Cliquez sur le bouton pour générer la structure.
4. Une fois la structure générée, choisissez l'option de téléchargement au format PDB.
5. Téléchargez la structure en cliquant sur \*Click here\* et enregistrez le fichier PDB (renommer la molécule « scoly ») sur le dossier docking.

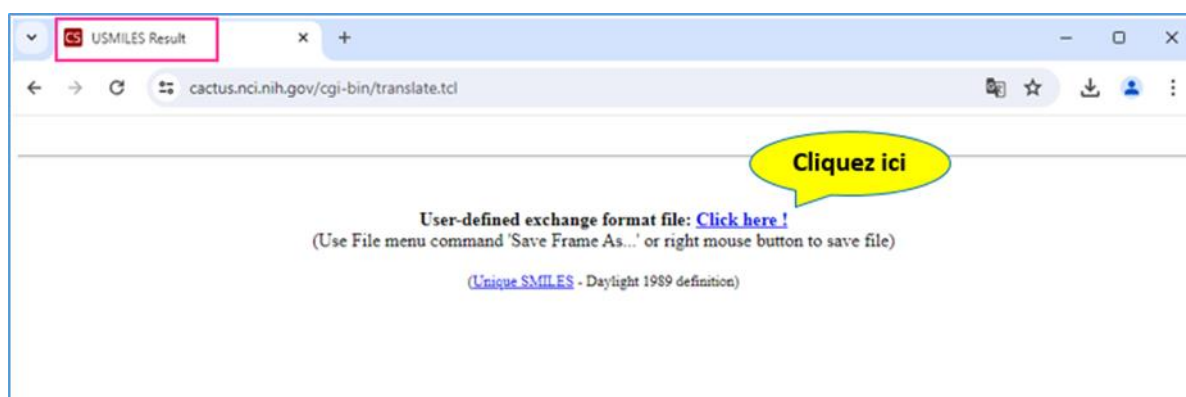


Figure 11: Importation du ligand sous format sdf sur « Online Smiles Translator »

### II.2.2. Préparation de la protéine cible

Dans le cadre de notre étude, nous focalisons notre attention sur l'enzyme tyrosinase, identifiée sous le code PDB 2Y9X.

La préparation d'une protéine pour le docking comprend généralement plusieurs étapes importantes :

- **Obtention de la structure de la protéine:** Tout d'abord, la structure tridimensionnelle de la protéine cible (2Y9X) est obtenue à travers la base de données PDB (Protein Data Bank)

(<https://www.rcsb.org>) (Figure 12). Le fichier PDB de la protéine est téléchargé et enregistré dans le fichier \*Docking mol\*.

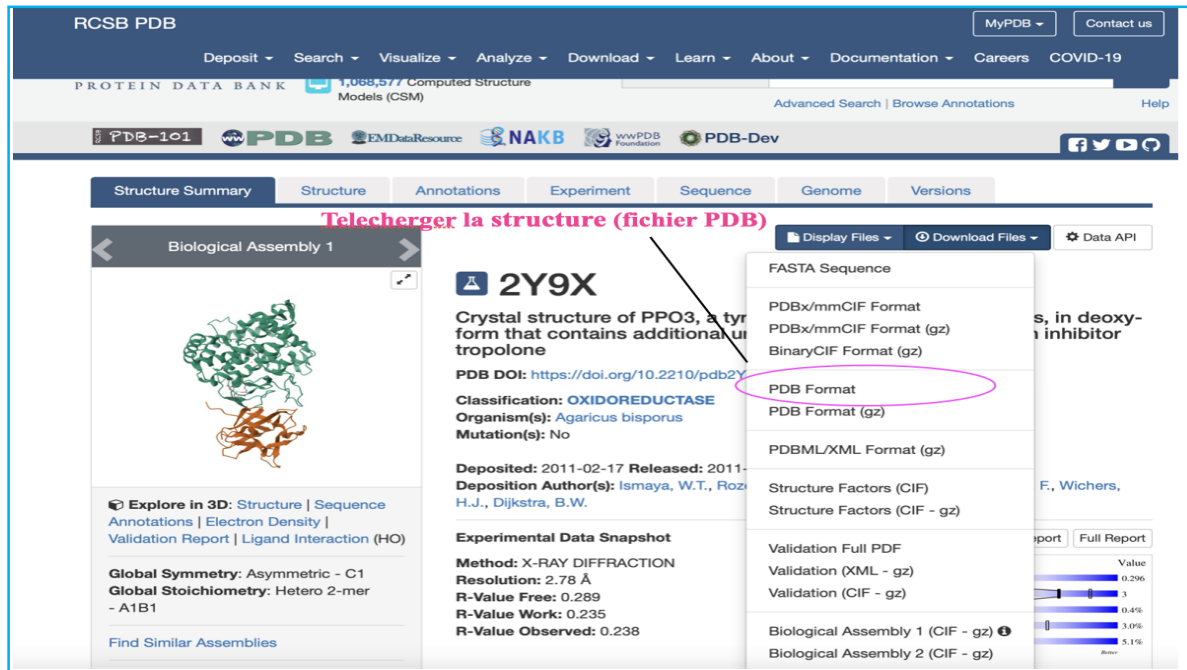


Figure12: Téléchargement du fichier PDB de l'enzyme tyrosinase

Il est important à signaler que la structure sur laquelle nous avons travaillé est une structure tridimensionnelle de la tyrosinase d'un champignon végétal. La structure tridimensionnelle de la tyrosinase humaine n'a pas été déterminée expérimentalement.

**II.2.2.1. Préparation de la structure de la protéine:** La structure de la protéine peut nécessiter des étapes de préparation telles que la suppression des ligands liés à la structure 3D, la suppression des molécules d'eau ou des ions indésirables, l'ajout de protons manquants. Toutes les molécules non protéiques présentes dans la structure, comme les ligands déjà liés, les cofacteurs, ou les ions, doivent être éliminées pour éviter les interférences avec le docking (Figure 15). Le premier logiciel à utiliser est ArgusLab puis MGL tools.

- **Modélisation de la protéine par le logiciel ArgusLab**

**ArgusLab:** est un logiciel gratuit de modélisation moléculaire permettant de construire des molécules simples et complexe par des atomes, des résidus et des groupes en liant par des liaison, aussi l'optimisation de la géométrie et le docking moléculaire.

Dans notre contexte, nous allons employer cette méthode pour expulser les molécules d'eau ainsi que divers ligands qui se lient à notre structure protéique de la tyrosinase.

Les étapes à suivre dans ArgusLab sont les suivantes :

1. Lancez ArgusLab sur votre ordinateur.
2. Importez la protéine en suivant ces étapes : Dans l'interface d'ArgusLab, cliquez sur **Fichier**, puis **Ouvrir**. Sélectionnez ensuite le fichier contenant la structure protéique que vous souhaitez modéliser (figure 13).

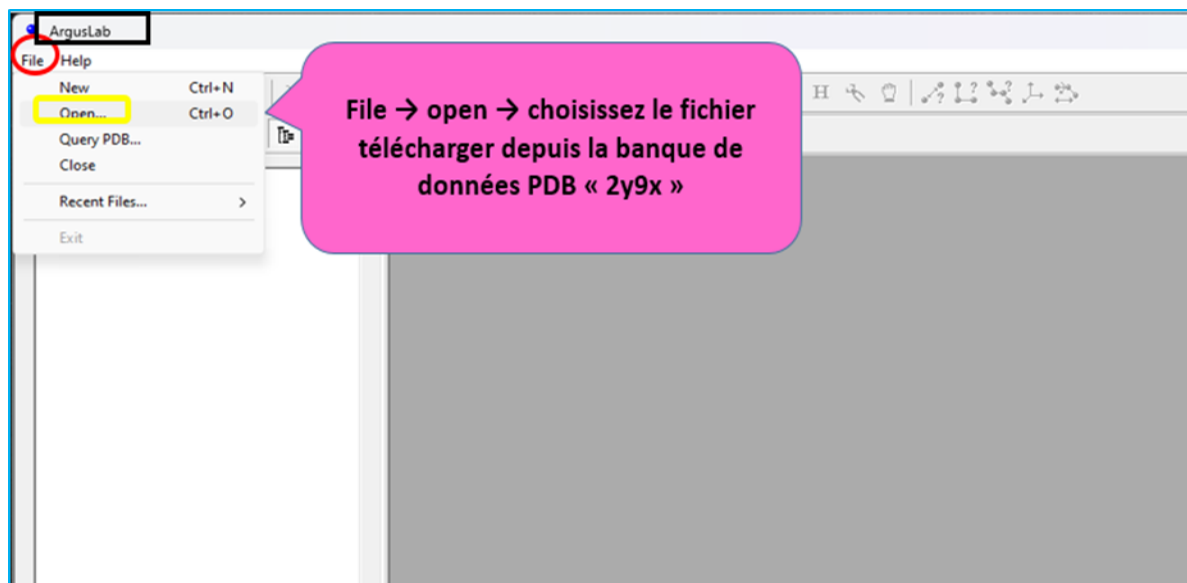


Figure 13 : Importation de la protéine sur ArgusLab

3. Une fois que vous avez sélectionné le fichier, ouvrez-le dans ArgusLab. La structure protéique s'affichera alors dans la fenêtre principale du logiciel (figure 14).

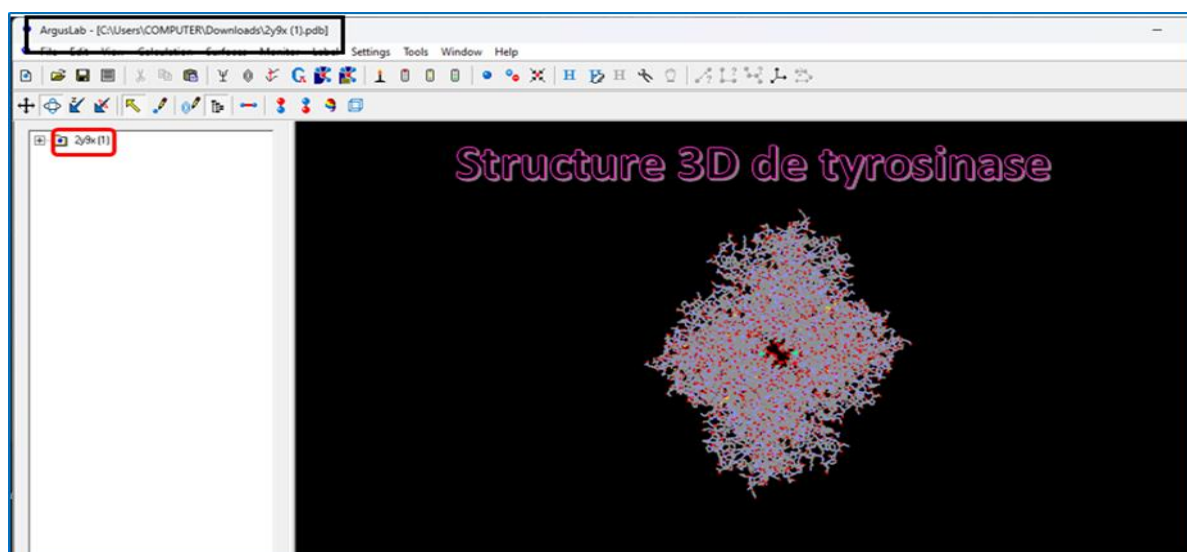
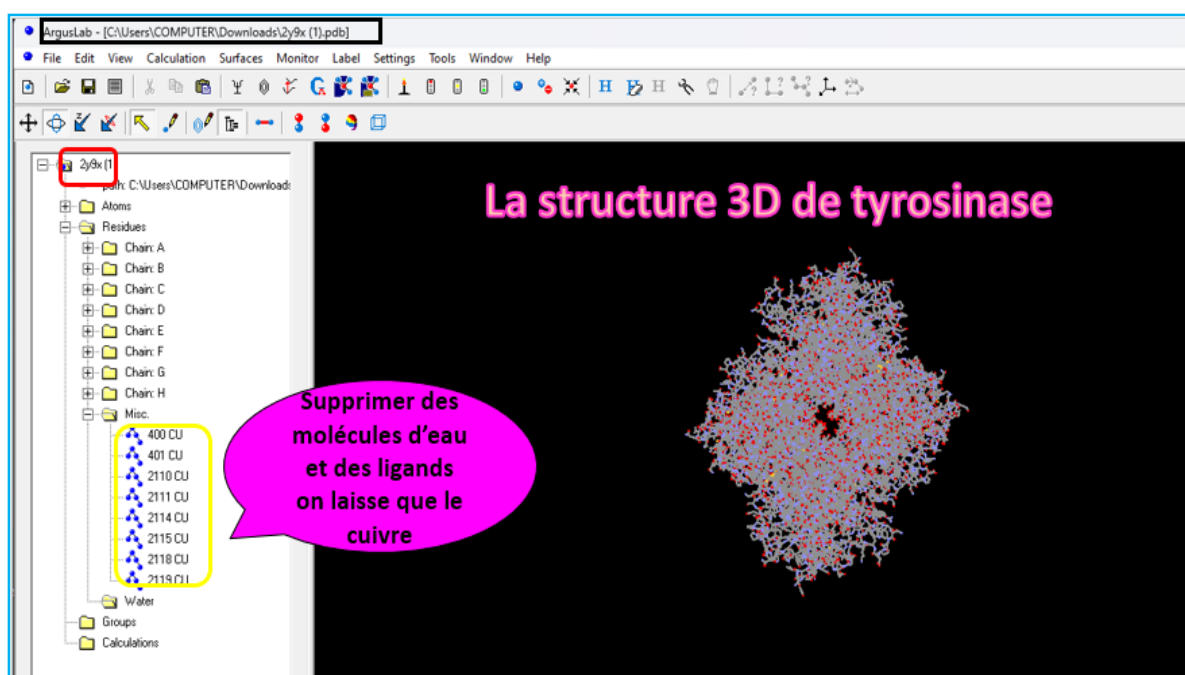


Figure 14 : Structure 3D de tyrosinase sur ArgusLab

## 4. Suppression des molécules d'eau et des ligands :

- Cliquez sur l'icône "+" pour afficher une liste.
- Ensuite, cliquez sur l'icône "+" à côté de "Miscellaneous" pour afficher une autre liste. Sélectionnez toutes les molécules sauf le cuivre (Cu).
- Cliquez avec le bouton droit de la souris et choisissez "Supprimer" pour retirer les molécules sélectionnées, en laissant les 8 molécules de cuivre, le cofacteur principal de l'enzyme.
- Ensuite, cliquez sur l'icône "+" à côté de "Water" pour afficher la liste des molécules d'eau. Sélectionnez toutes les molécules.
- Cliquez avec le bouton droit de la souris et choisissez "Supprimer" pour éliminer les molécules d'eau sélectionnées.



**Figure 15 : Suppression des molécules d'eau et des ligands sur ArgusLab**

## 5. Enregistrer la protéine sans ligand

Dans le menu ou la barre d'outils, sélectionnez File → Save as pour renommer la molécule en "2y9xSL" et enregistrez la structure au format PDB dans le dossier "Docking01".

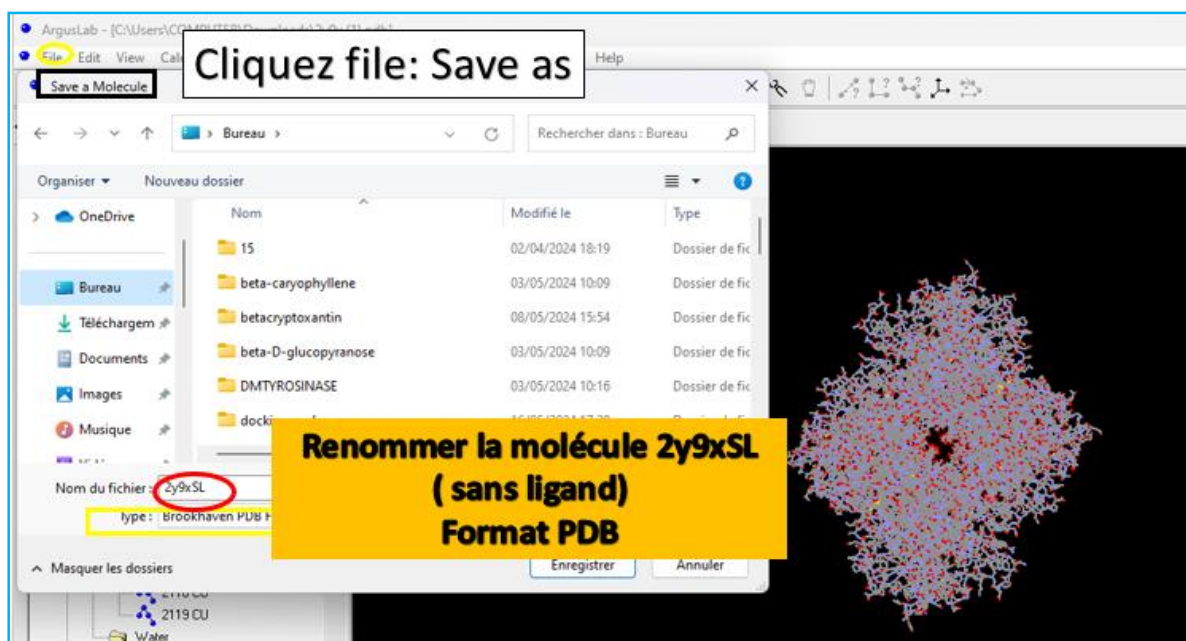


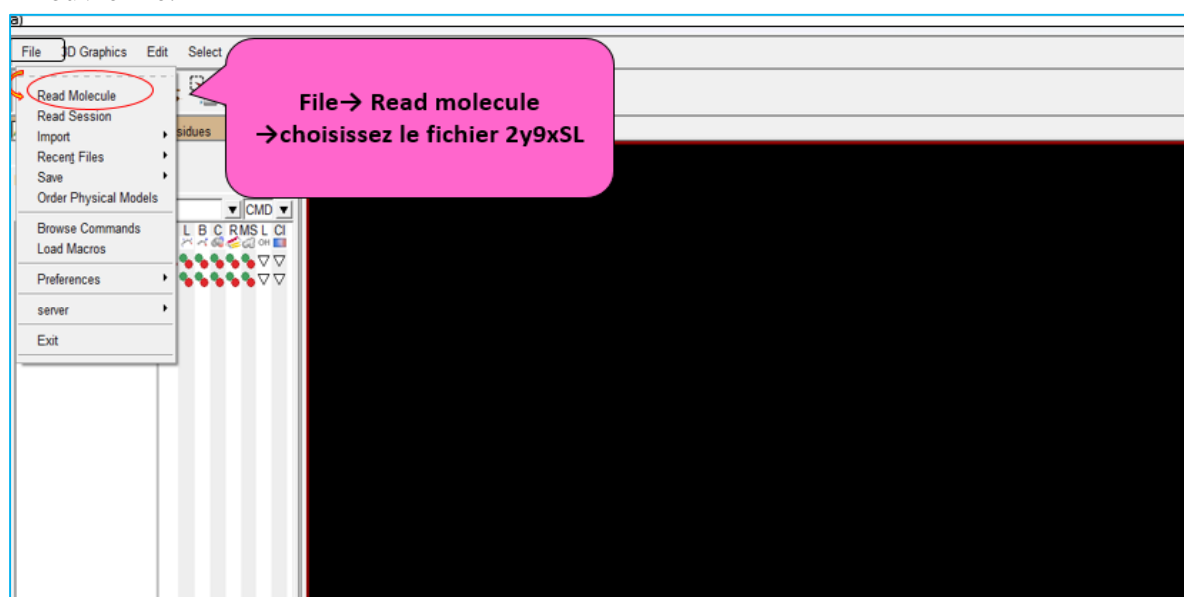
Figure 16 : Enregistrement de la structure de tyrosinase sans ligand

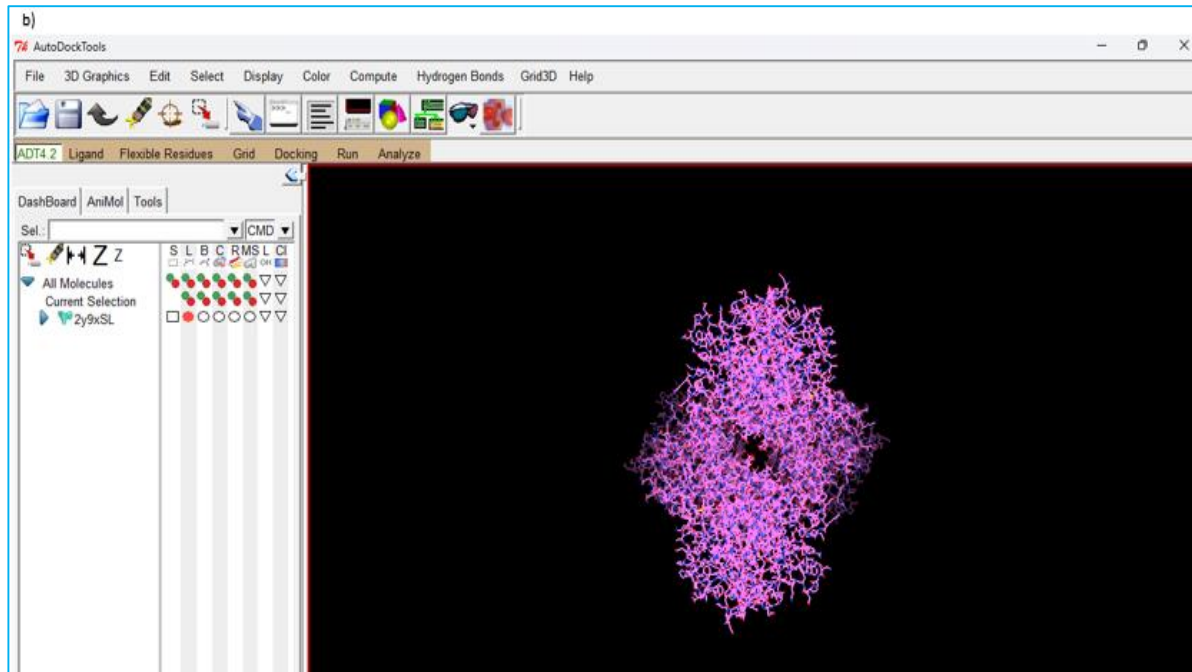
### II.2.2.2. Conversion de la protéine et du ligand en format PDBQT par Auto Dock Tools :

La conversion de la protéine et du ligand en format **pdbqt** pour le processus de docking moléculaire implique :

#### a. La conversion de la protéine en format pdbqt

1. Lancez le programme Auto Dock Tools.
2. Importez la protéine au format PDB en suivant ces étapes : Dans l'interface du logiciel MGL tools, cliquez sur *File* → *Read molecule* → sélectionnez le fichier "**2y9xSL.pdb**" → ouvrez-le.

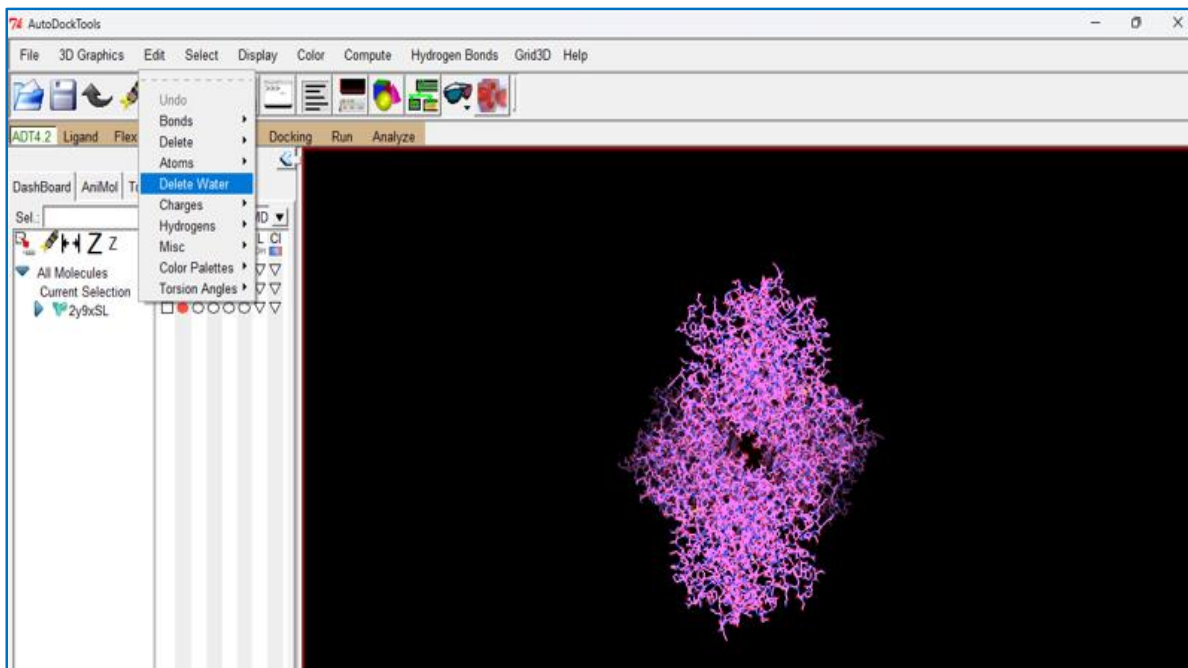




**Figure 17: Importation de protéine sous forme PDB sur Auto Dock Tools (a, b)**

### 3. Elimination des molécules d'eau

Pour éliminer les molécules d'eau, cliquez sur \*Edit\* → \*Delete water\* (figure 18).



**Figure 18: Suppression des molécules d'eau**

## 4. Insertion des molécules d'hydrogènes polaires

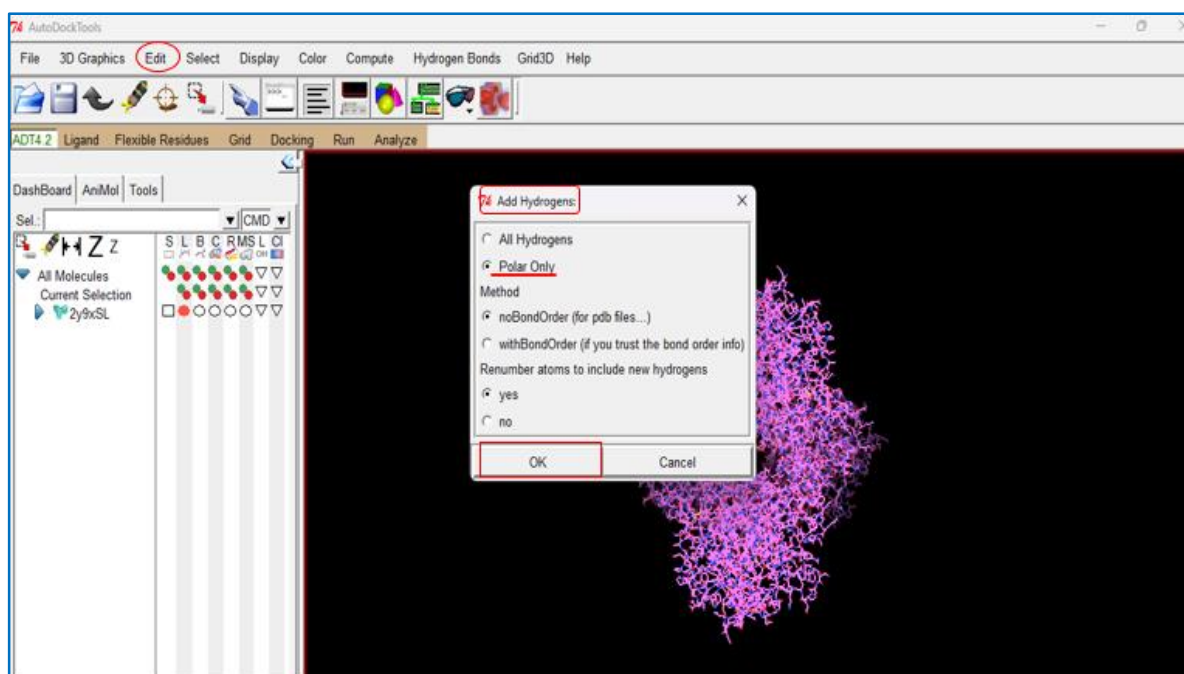
L'insertion des hydrogènes polaires est essentielle pour de nombreuses interactions, notamment :

Les hydrogènes polaires participent à la formation de liaisons hydrogène, qui sont cruciales pour la stabilité et la structure des biomolécules telles que les protéines et l'AND.

Les sites actifs des enzymes et les récepteurs peuvent nécessiter des hydrogènes polaires pour interagir efficacement avec leurs substrats ou ligand spécifiques.

Dans les protéines, les hydrogènes polaires jouent un rôle clé dans la formation de structures secondaires comme les hélices alpha et le feuillet bêta.

Pour ajouter des hydrogènes polaires dans le logiciel, cliquez sur Eddit dans le menu, puis sélectionnez → **Hydrogen** → **Add** → **Only polar** → **Ok** (figure19).

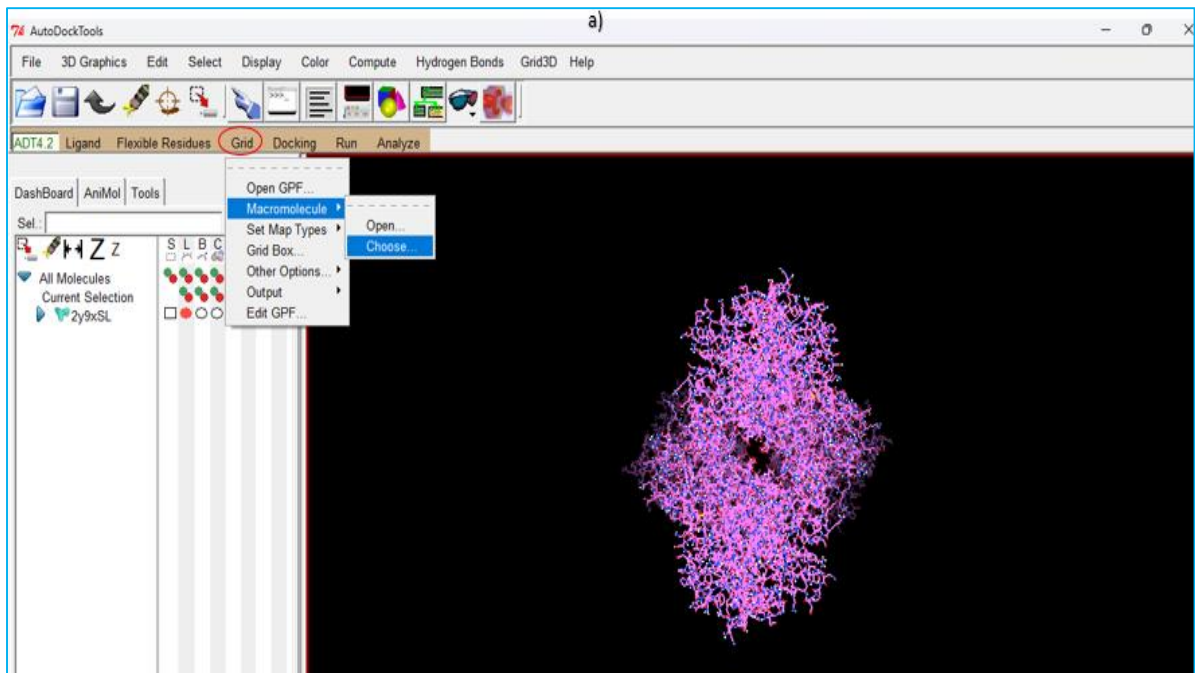


**Figure 19 : Addition des hydrogènes polaires à la structure de protéine**

## 5. Sélection de molécule pour enregistrer se forme PDBQT

Sur le menu ; cliquez sur \*Grid\* → \*Macromolécule\* → \*choose\* (a) → \*select molecule\* (b) (figure20) → enregistrer la protéine sous forme PDBQT dans le dossier « Docking mol » (figure21).

a)



b)

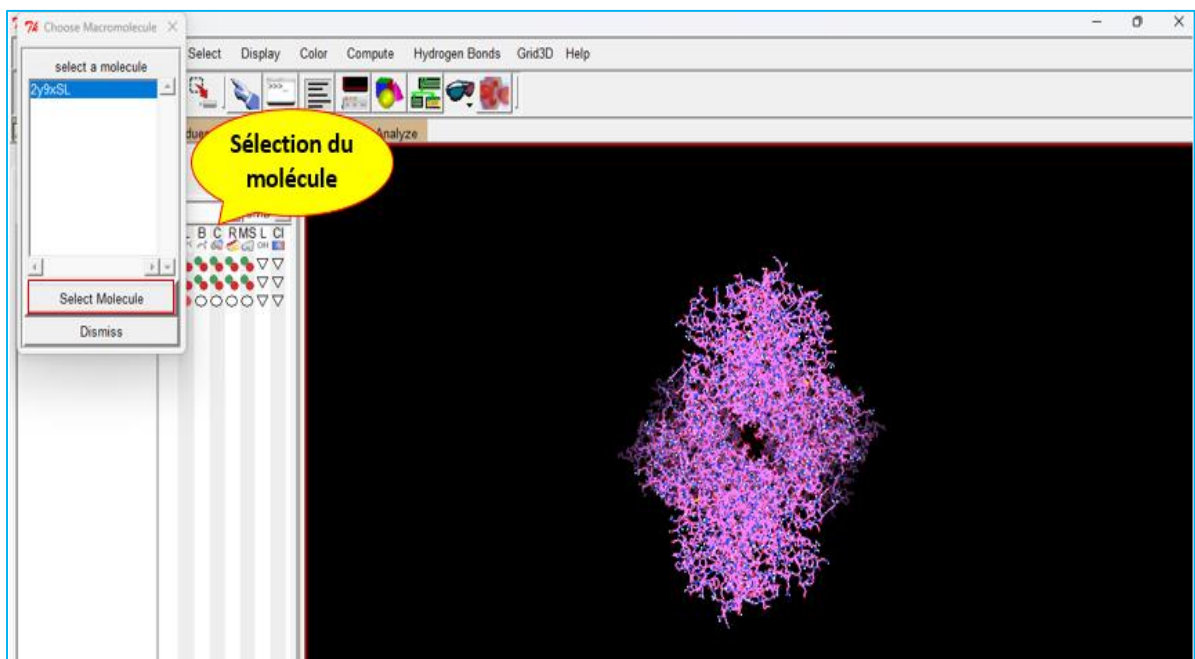


Figure 20: Sélection de molécule « 2y9xSL » (a-b)

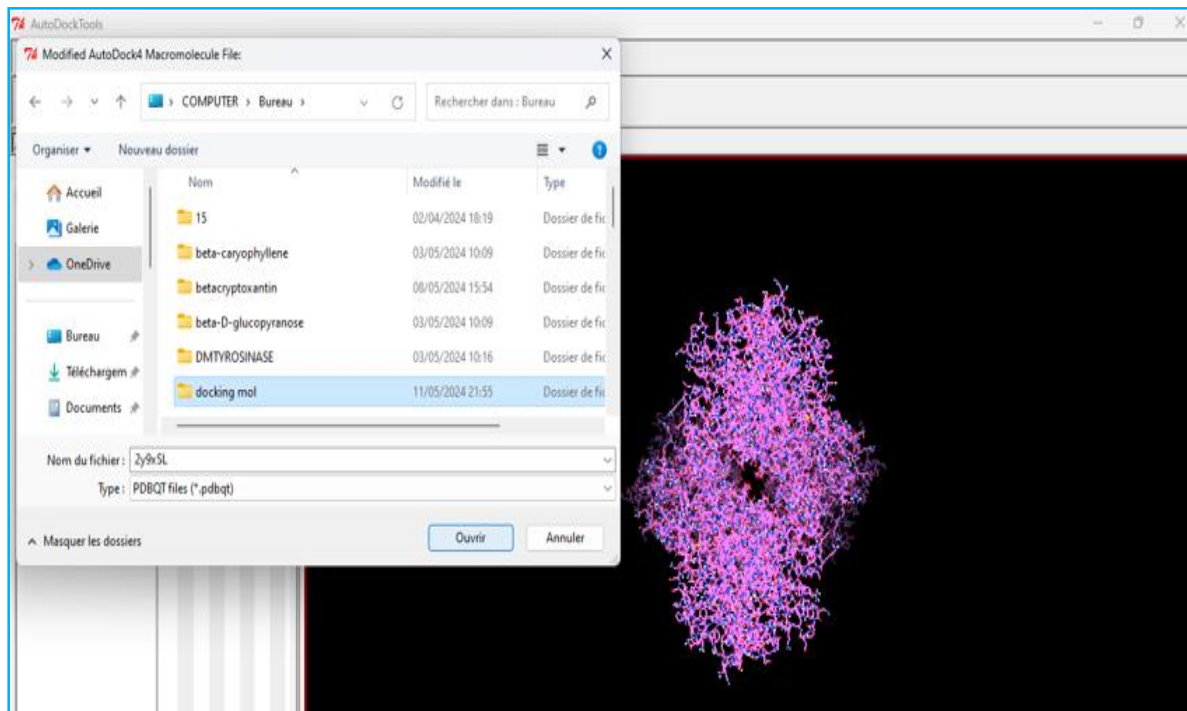


Figure 21: Enregistrement de la protéine sous forme PDBQT

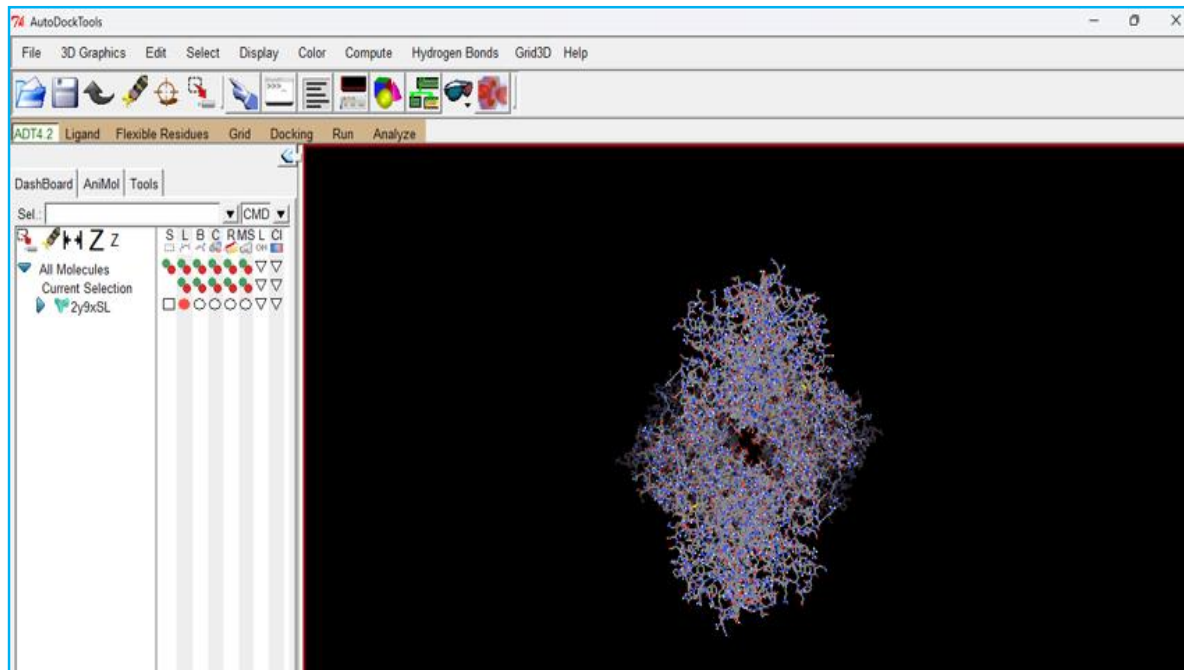
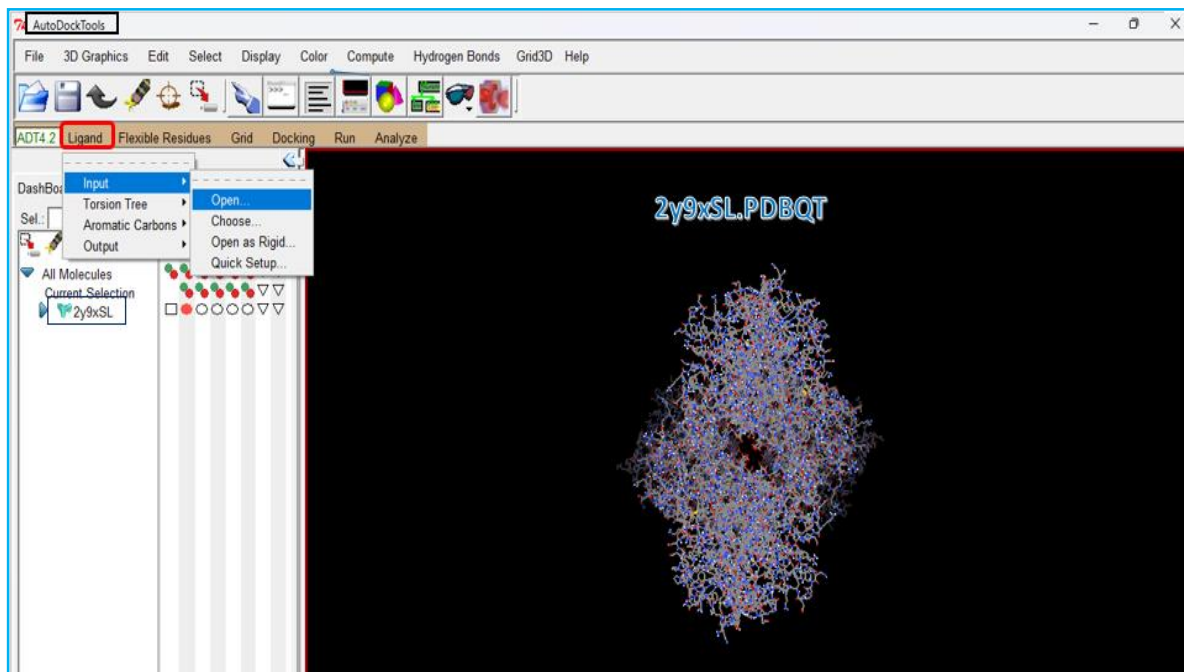


Figure 22 : Format PDBQT de la protéine « 2y9x »

### b. La conversion du ligand en format pdbqt

#### 1. Importation du ligand sous forme PDB sur le logiciel MGL tools

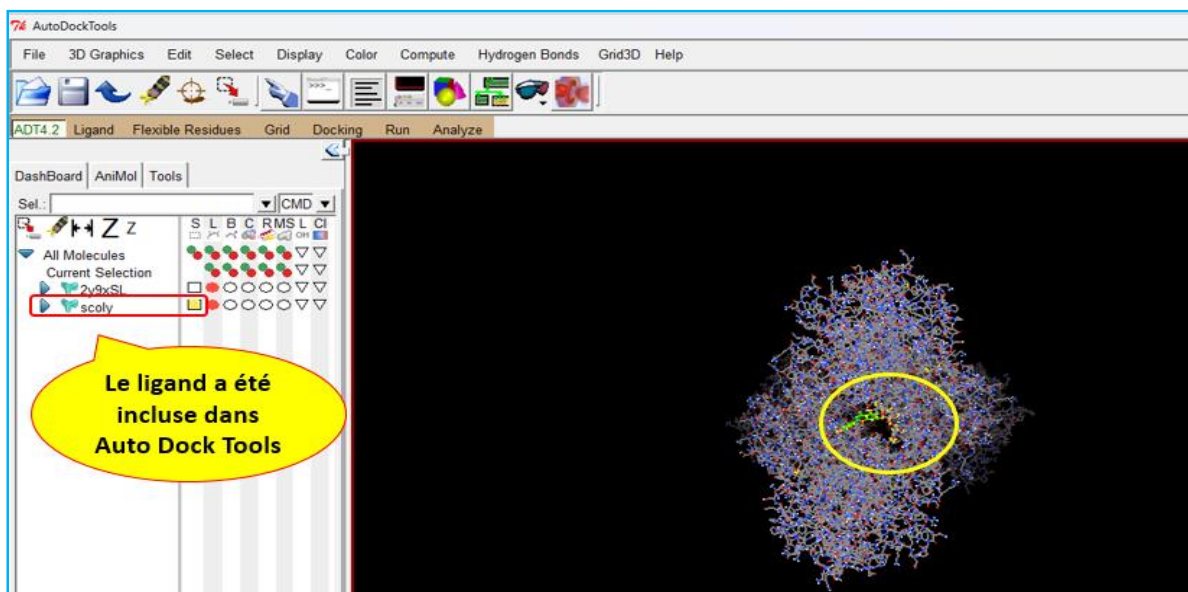
Dans l'interface de MGL Tools, cliquez sur *Ligand* → *Input* → *Open*, puis sélectionnez le fichier contenant le ligand au format PDB que vous avez renommé « scoly ».



**Figure 23: Importation du ligand sous forme pdb sur Auto Dock Tools et la protéine est déjà incluse**

#### 2. Ouvrir le ligand

Une fois vous avez sélectionné le fichier « scoly », ouvrez-le dans Auto Dock Tools.



**Figure 24 : Inclusion du ligand dans Auto Dock Tools**

## 3. Enregistrer le ligand sous forme pdbqt

Sur le menu, cliquez sur *\*Ligand\** → *\*Out put\** → *\*Save as pdbqt\** (figure25), enregistrez le ligand sous forme pdbqt dans le fichier « Docking mol » (figure26).

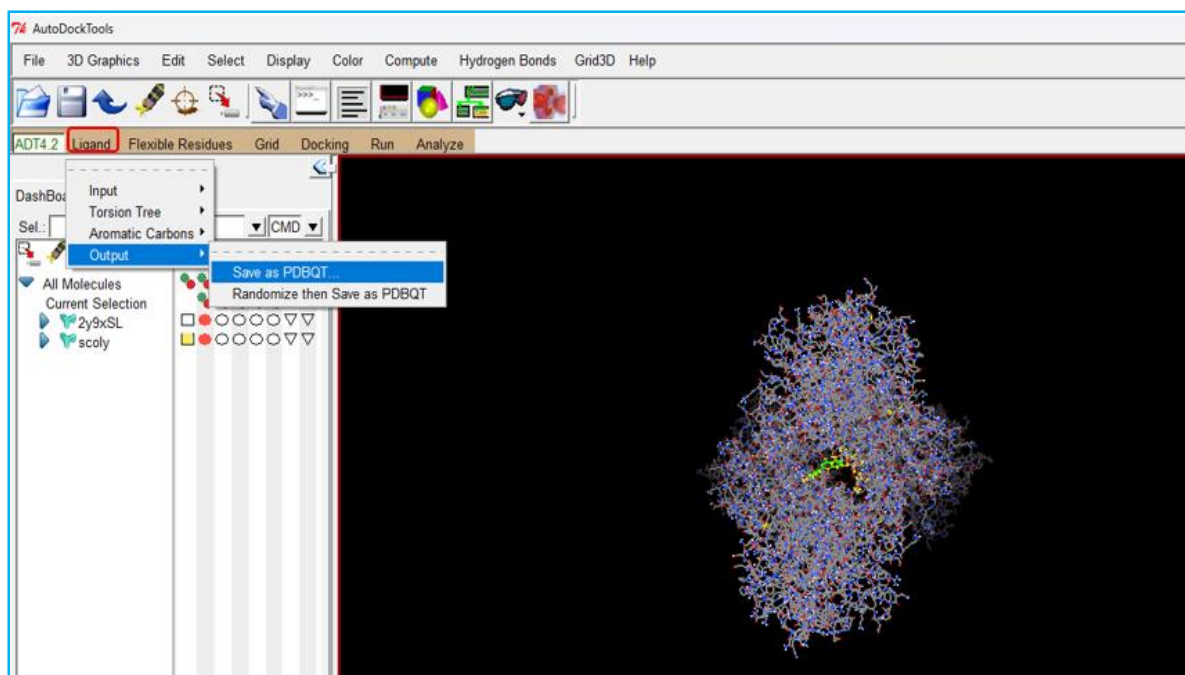


Figure25 : Enregistrement du ligand sous forme PDBQT (1 / 2)

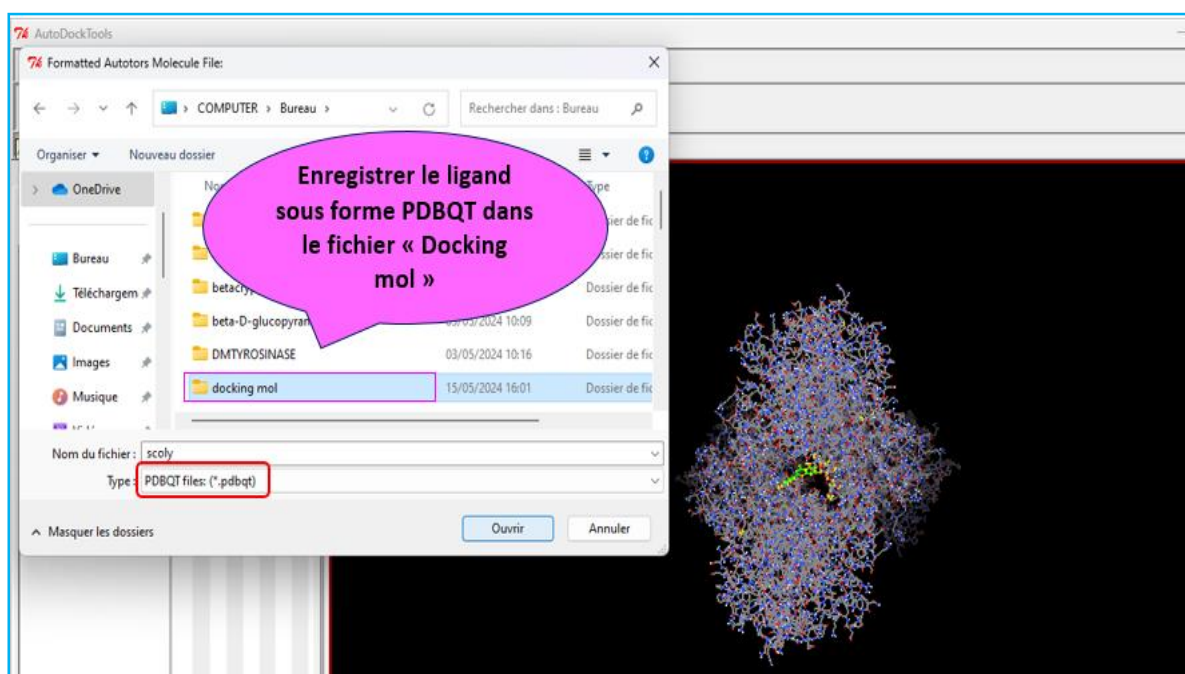


Figure 26: Enregistrement du ligand sous forme PDBQT (2 / 2)

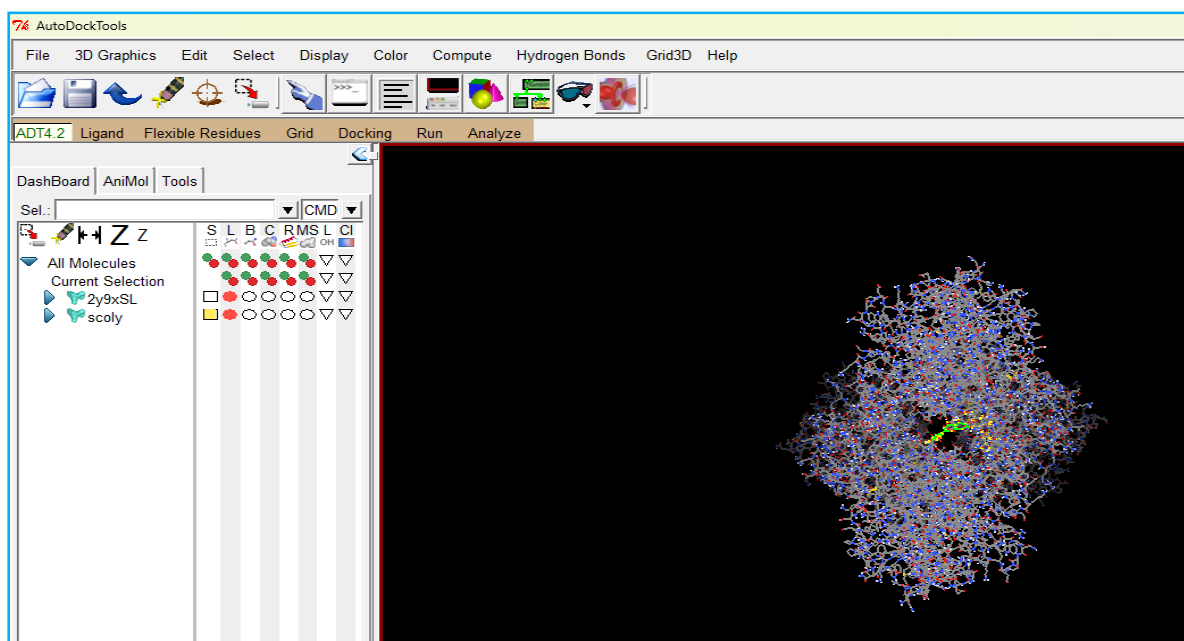


Figure 27 : Format pdbqt du ligand

#### 4. Définition de la boîte de grille (Grid Box) pour le docking moléculaire

Pour réaliser un docking moléculaire précis avec Auto Dock Vina, il est crucial de définir correctement la boîte de grille (grid box), qui délimite la région de l'espace où le ligand sera docké sur la protéine cible.

La Grid Box est définie par le logiciel MGL Tools et précisée par ces dimensions (X, Y, Z) ( $126 \times 126 \times 126 \text{ \AA}$ ), le centre de cette boîte définie par ( $x = 4.306$  ;  $y = 2.859$  ;  $z = -19.162$ ) et l'espacement de la boîte fixé par défaut à  $0.375 \text{ \AA}$  (figure 31).

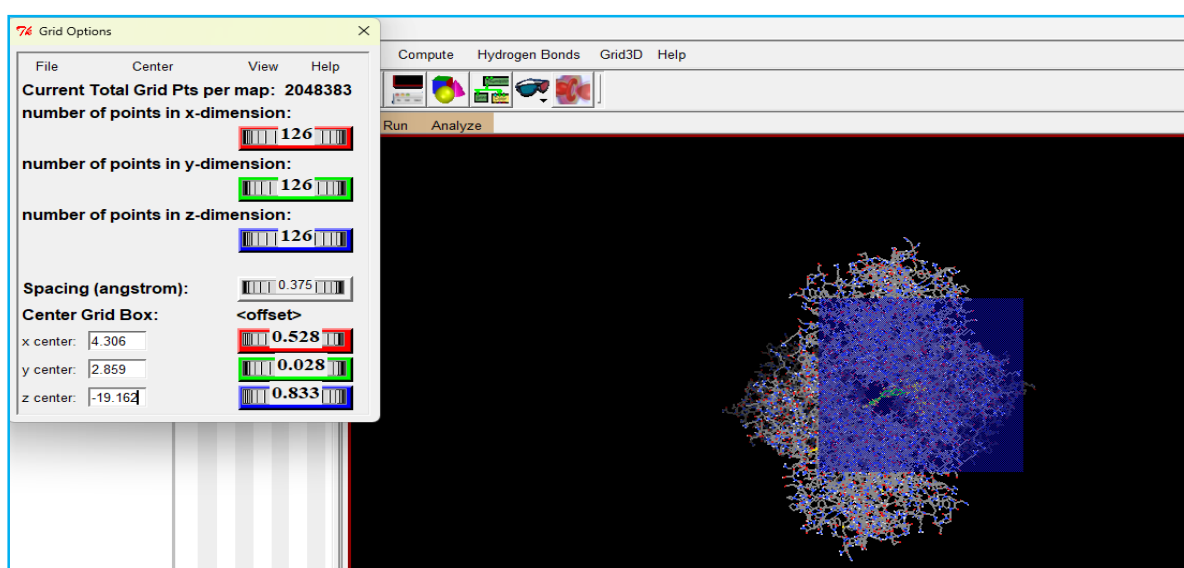
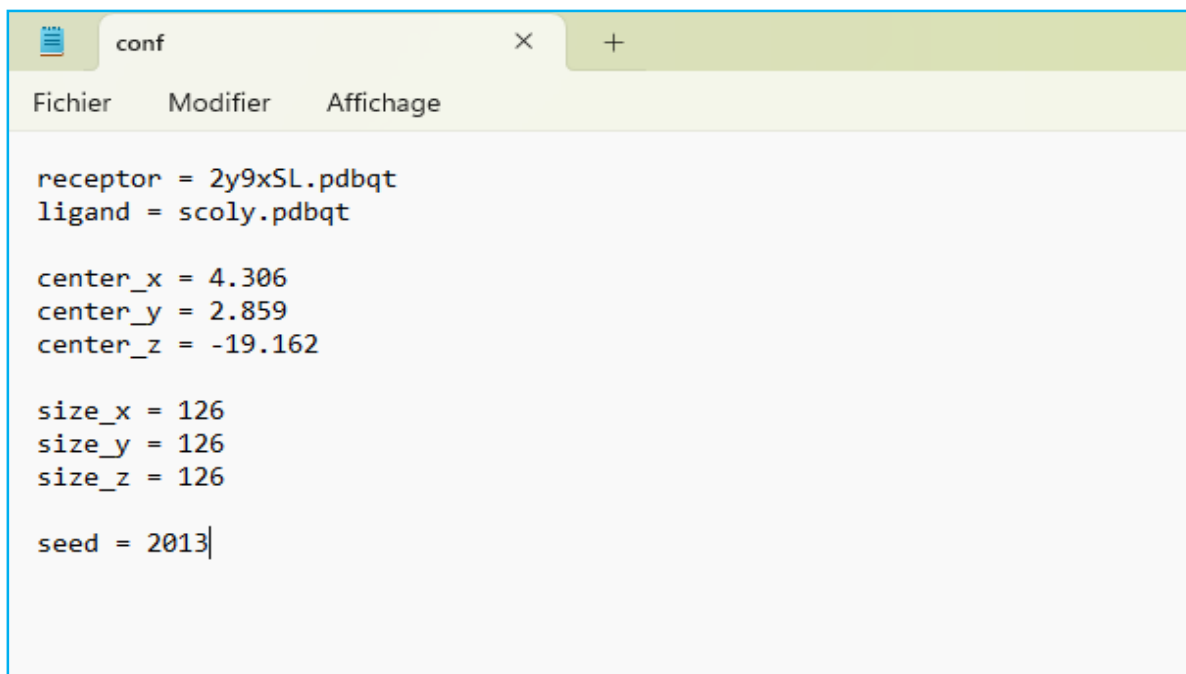


Figure 28 : Grid Box avec différents éléments

5. Création d'un fichier texte sur votre PC, nommé « conf.txt », qui contient toutes les informations du Grid Box essentiels pour le lancement du docking par Auto Dock Vina (les dimensions X, Y, Z,...etc.) (Figure 29).



```
receptor = 2y9xSL.pdbqt
ligand = scoly.pdbqt

center_x = 4.306
center_y = 2.859
center_z = -19.162

size_x = 126
size_y = 126
size_z = 126

seed = 2013|
```

Figure 29: Création d'un fichier texte nommé « conf.txt »

### II.2.3. Lancement du docking moléculaire par Auto Dock Vina

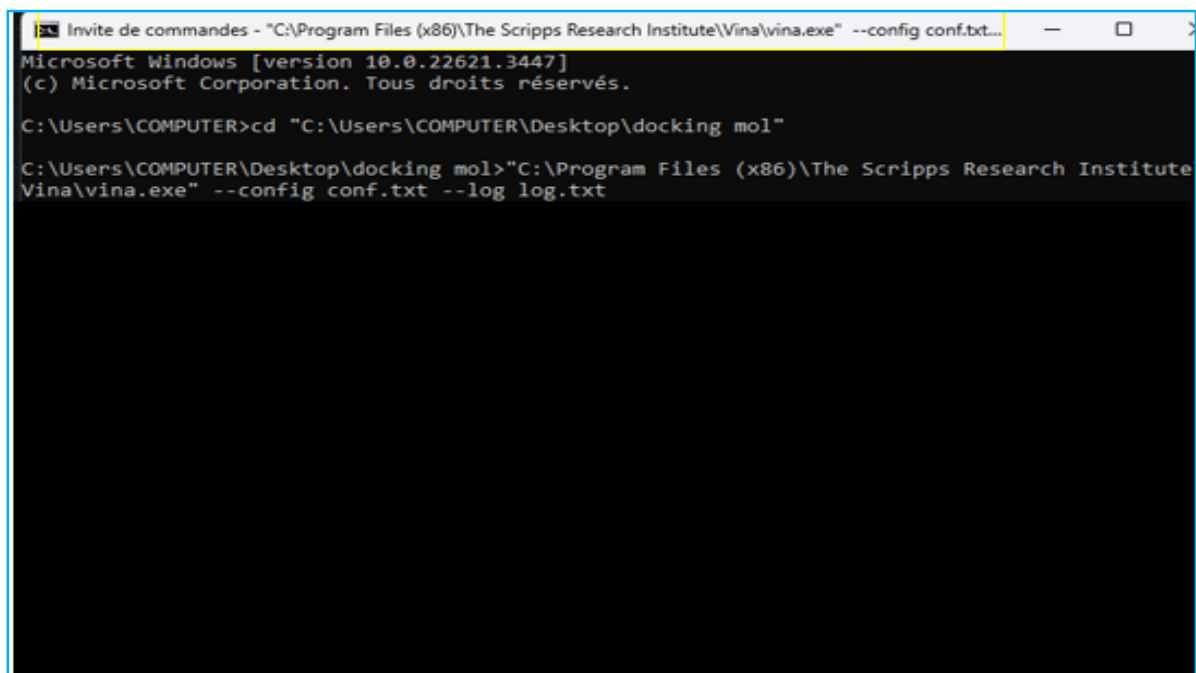
- Ouvrir « Invite de commande » sur votre ordinateur, entrez-y les liens de dossier du travail « Docking mol » ; qui contient les structures de la protéine et de ligand, les informations du Grid Box (conf.txt) et les fichiers du résultat (out put et log). En plus de dossier contenant le logiciel Auto Dock Vina.

### II.2.4. Lancement de calcul en Auto Dock Vina

Ouvrir « Invite de commande », puis suivez les étapes suivantes :

Tapez ca :

- `>cd^chemin vers le dossier de travail « Docking mol »` puis, cliquez sur `*entrée*`
- Tapez le chemin vers l'application Vina `.exe`
- Tapez : `^--config^conf.txt^--log.log.txt` ; puis, cliquez sur `*Entrée*` ; une fois que vous avez cliqué-le les résultats va être affichée.

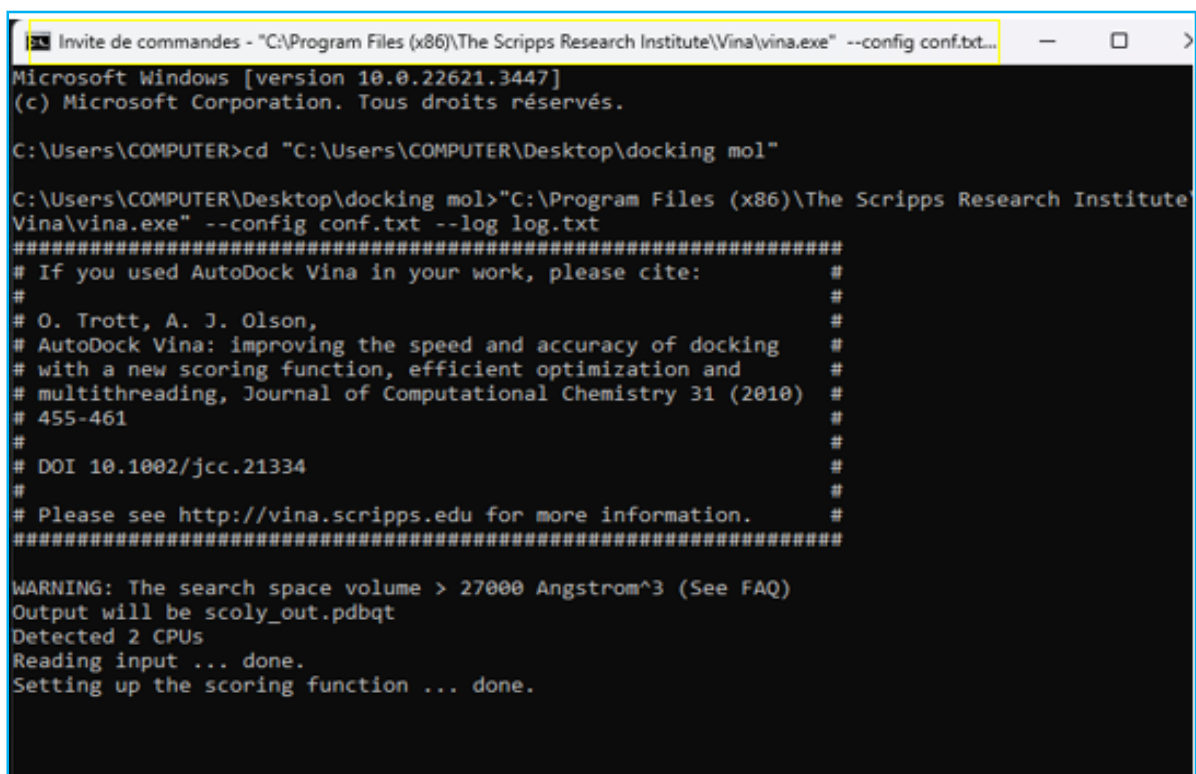


```
Invite de commandes - "C:\Program Files (x86)\The Scripps Research Institute\Vina\vina.exe" --config conf.txt...
Microsoft Windows [version 10.0.22621.3447]
(c) Microsoft Corporation. Tous droits réservés.

C:\Users\COMPUTER>cd "C:\Users\COMPUTER\Desktop\docking mol"

C:\Users\COMPUTER\Desktop\docking mol>"C:\Program Files (x86)\The Scripps Research Institute
Vina\vina.exe" --config conf.txt --log log.txt
```

Figure 30: Entrée les liens des dossiers essentiels pour le docking dans la commande

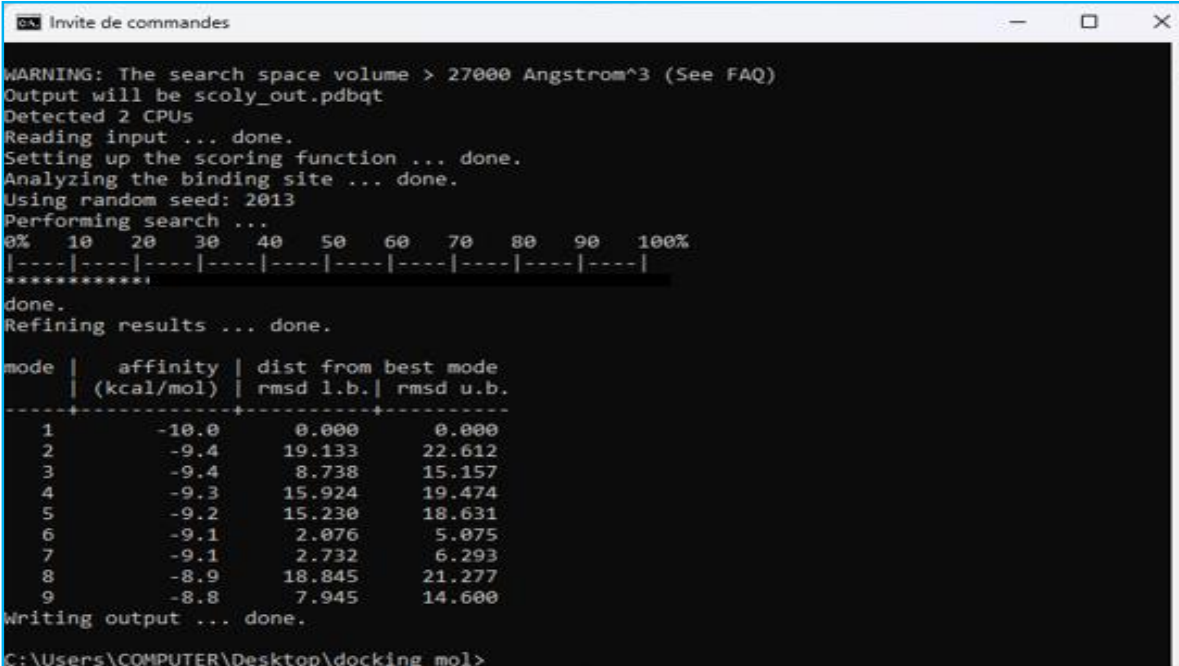


```
Invite de commandes - "C:\Program Files (x86)\The Scripps Research Institute\Vina\vina.exe" --config conf.txt...
Microsoft Windows [version 10.0.22621.3447]
(c) Microsoft Corporation. Tous droits réservés.

C:\Users\COMPUTER>cd "C:\Users\COMPUTER\Desktop\docking mol"

C:\Users\COMPUTER\Desktop\docking mol>"C:\Program Files (x86)\The Scripps Research Institute
Vina\vina.exe" --config conf.txt --log log.txt
#####
# If you used AutoDock Vina in your work, please cite: #
# #
# O. Trott, A. J. Olson, #
# AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking #
# with a new scoring function, efficient optimization and #
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010) #
# 455-461 #
# #
# DOI 10.1002/jcc.21334 #
# #
# Please see http://vina.scripps.edu for more information. #
#####
WARNING: The search space volume > 27000 Angstrom^3 (See FAQ)
Output will be scoly_out.pdbqt
Detected 2 CPUs
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
```

Figure 31: Réalisation des calculs du docking moléculaire



```
Invite de commandes
WARNING: The search space volume > 27000 Angstrom^3 (See FAQ)
Output will be scoly_out.pdbqt
Detected 2 CPUs
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: 2013
Performing search ...
0% 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100%
|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
*****
done.
Refining results ... done.

mode |  affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----+-----+-----+-----
1      -10.0      0.000      0.000
2       -9.4     19.133     22.612
3       -9.4      8.738     15.157
4       -9.3     15.924     19.474
5       -9.2     15.230     18.631
6       -9.1      2.076      5.075
7       -9.1      2.732      6.293
8       -8.9     18.845     21.277
9       -8.8      7.945     14.600
Writing output ... done.
C:\Users\COMPUTER\Desktop\docking mol>
```

Figure 32: Le 1<sup>er</sup> résultat du calcul

- Après les calculs, observez que les affinités sont classées par ordre décroissant (-10 la meilleure affinité et -8.8 la plus faible affinité).
- De plus, on a un fichier texte « log.txt » qui contient les scores du docking.

### II.2.5. Analyse des résultats

Discovery studio est une logicielle complète pour analyser et modéliser des structures moléculaires. Il permet l'affichage et la modification des données pour effectuer une analyse de donnée de base.



# **Résultats et discussion**

### III.1. Résultats

La tyrosinase joue un rôle crucial dans la formation de la mélanine, le pigment responsable de la coloration de la peau. Cette enzyme est devenue une cible prioritaire dans la quête de thérapies visant à traiter les problèmes de pigmentation cutanée, tels que le mélasma, les taches de vieillesse et le vitiligo. En inhibant l'activité de la tyrosinase, il est possible de réguler de manière prometteuse la production excessive de mélanine et ainsi atténuer ces conditions dermatologiques.

Dans cette étude, nous avons entrepris une analyse *in silico* pour évaluer l'effet potentiel de 24 molécules d'origine végétale sur l'activité de la tyrosinase. Le docking moléculaire, une technique de modélisation informatique qui permet de prédire la manière dont une molécule interagit avec une cible biologique, a été utilisé pour simuler la liaison de ces composés avec les sites actifs de la tyrosinase.

La structure tridimensionnelle de la tyrosinase, notre protéine cible, a été acquise à partir de la base de données PDB sous le code 2Y9X. Il s'agit d'une tyrosinase provenant d'un champignon, caractérisée par un volume de 50,69 Å<sup>3</sup> et une surface de 197,12 Å<sup>2</sup>.

Dans cette section, nous présentons les résultats obtenus et discutons de leurs implications.

#### III.1.1. Principales interactions prévues des 24 molécules étudiées

Le tableau ci-dessous récapitule les diverses affinités entre les ligands étudiés et l'enzyme tyrosinase (**Tableau II**).

**Tableau II: Les affinités entre les ligands étudiés et la tyrosinase**

N	Molécules (ligands)	L'Affinité (Kcal/mol)
01	Curcumenol	-7,0
02	Isoborneol	-6,0
03	<b>Scolymoside</b>	<b>-10,0</b>
04	Gamma_Terpinene	-5,3
05	Nerol	-4,7
06	Citronellol	-4,3

07	Cinnamaldehyde	-5,0
08	Alpha Carotène	-7,5
09	phytosterol	-7,1
10	<b>Strictinin</b>	<b>-10,3</b>
11	Rétinol	-5,8
12	Curdione	-6,8
13	Nonanal	-3,9
14	1_pentanol	-0,0
15	Linalool	-4,4
16	Beta_D_Glucopyranose	-5,8
17	<b>Narirutin</b>	<b>-9,6</b>
18	Menthofuran	-6,1
19	<b>Isorhoifolin</b>	<b>-9,6</b>
20	<b>Galactomannan</b>	<b>-8,1</b>
21	Geraniol	-4,4
22	Alpha_curcumene	-6,5
23	Beta_Cryptoxanthin	-8,5
24	Beta_Caryophyllene	-7,3

L'affinité des ligands dans un docking moléculaire est une mesure de la force de liaison entre un ligand (une petite molécule) et une cible biologique, telle qu'une protéine. Une affinité plus élevée indique une interaction plus forte entre le ligand et la cible, ce qui suggère une plus grande probabilité que le ligand se lie efficacement à la cible et exerce son effet biologique souhaité.

Dans notre cas, une affinité plus élevée entre un ligand et l'enzyme tyrosinase indique une meilleure capacité de ce ligand à inhiber l'activité de la tyrosinase. Les ligands avec une affinité plus élevée sont donc considérés comme plus prometteurs pour le développement de nouveaux agents dépigmentants ou pour la modulation de la pigmentation cutanée.

Nos résultats montrent que les affinités des ligands étudiés à l'enzyme tyrosinase sont évaluées sur une échelle variant de 0, représentant la plus faible affinité, à -10, indiquant la meilleure affinité.

Le tableau des résultats met en évidence les ligands présentant une affinité plus élevée avec l'enzyme tyrosinase, à savoir : **Strictinin (-10.3 Kcal/mol)**, **Scolymoside (-10 Kcal/mol)**, **Narirutin (-10 Kcal/mol)**, **Isorhoifolin (-9.6 Kcal/mol)**, **Galactomannan (-9 Kcal/mol)**, suivis par les autres ligands.

### III.2.1. Interprétation des résultats par le logiciel Discovery studio

Quatre ligands ont été choisis parmi ces résultats en raison de leur affinité plus élevée, afin de faciliter l'interprétation des résultats de docking.

Pour visualiser et analyser les résultats, le logiciel "Discovery Studio" est utilisé. Il offre la possibilité de représenter en trois dimensions les différentes interactions entre le ligand et la protéine cible.

Nous avons examiné les résultats du docking des ligands présentant les affinités les plus élevées avec l'enzyme tyrosinase : **Strictinin, Scolymoside, Narirutin, Isorhoifolin, Galactomannan.**

#### a. Etapes d'analyse des résultats du docking moléculaire

Nous avons choisi Scolymoside comme cas d'étude avec la protéine (2y9x)

Pour examiner les résultats du docking à l'aide de Discovery Studio, procédez comme suit :

1. Ouvrir Discovery Studio (**figure 33, 34, 35, 36**)
2. Importer la protéine et le ligand: Dans l'interface du logiciel, cliquez sur *\*file\** puis *\*open\** → choisissez le fichier contenant la structure de la protéine sous forme pdbqt (**2y9x.pdbqt**) plus le fichier contenant le ligand sous forme out. Pdbqt (**scoly-out. Pdbqt**).

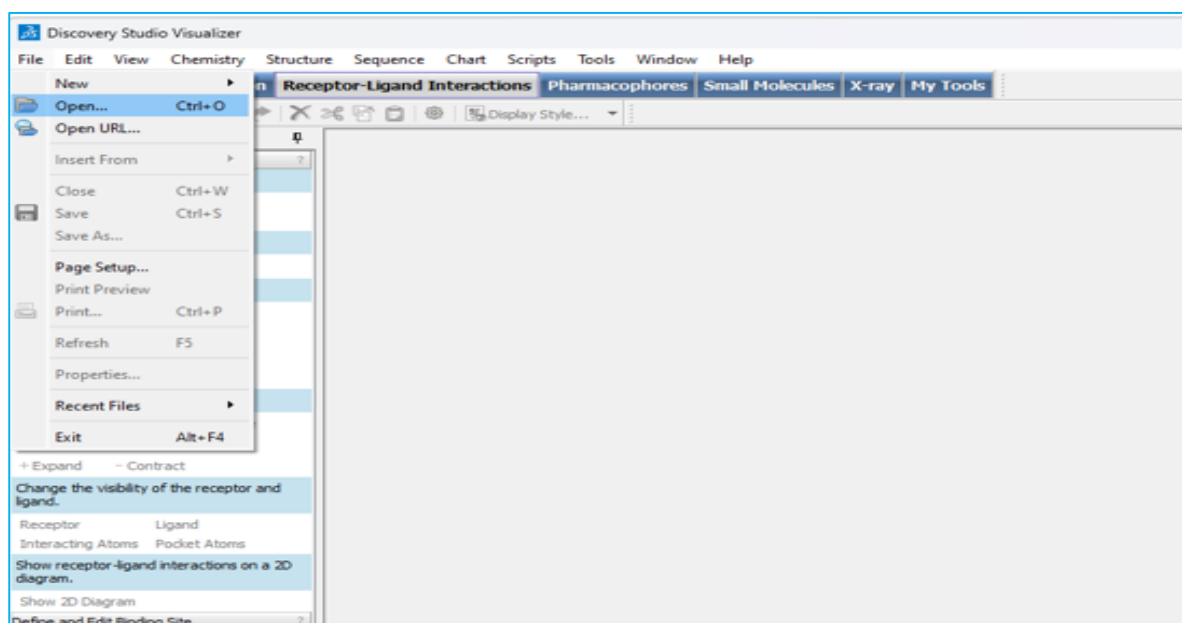


Figure 33 : Importation de la protéine et le ligand sur Discovery studio (1/2)

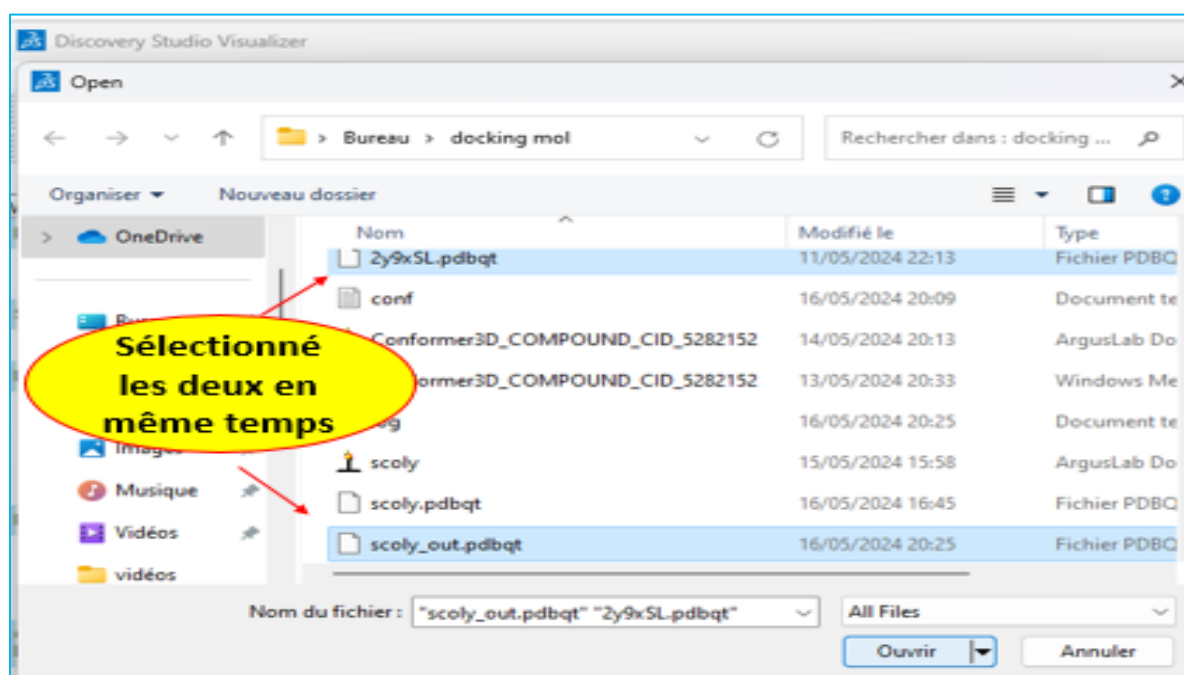


Figure 34 : Importation de la protéine et de ligand (2/2)

- Ouvrez deux fichiers en même temps en les sélectionnant simplement, la structure de la protéine et le ligand va être affichée dans la fenêtre principale de logiciel.

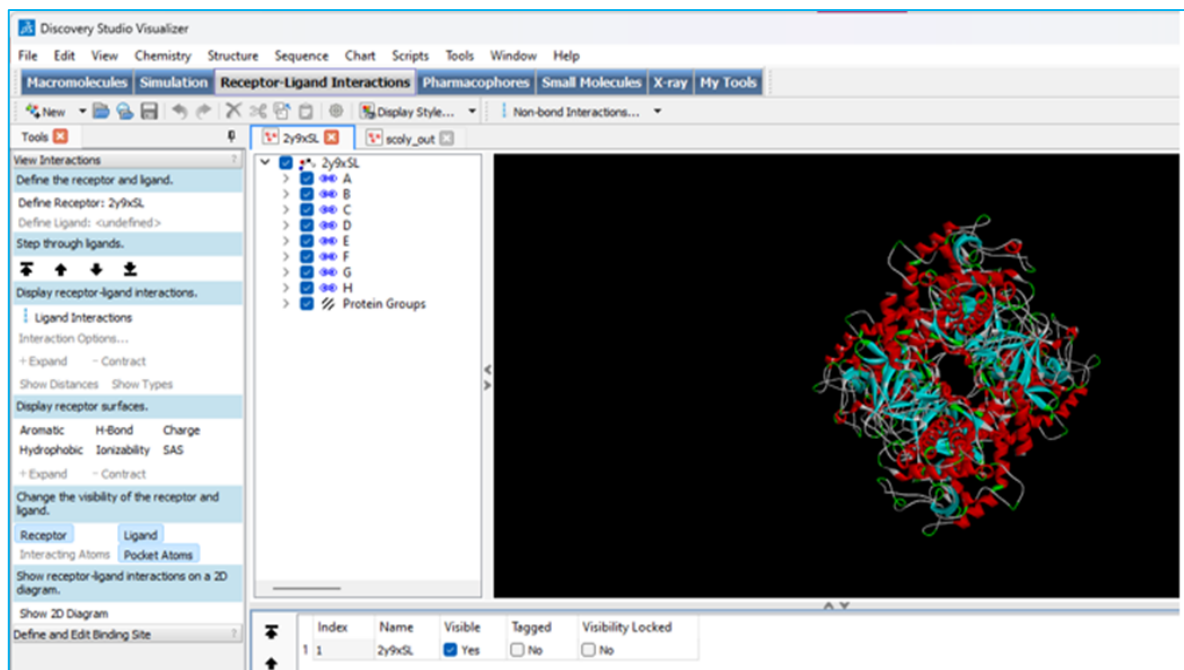


Figure 35: La tyrosinase 2y9x et le fichier output du ligand sur le logiciel (La structure 3D de tyrosinase) (1/2)

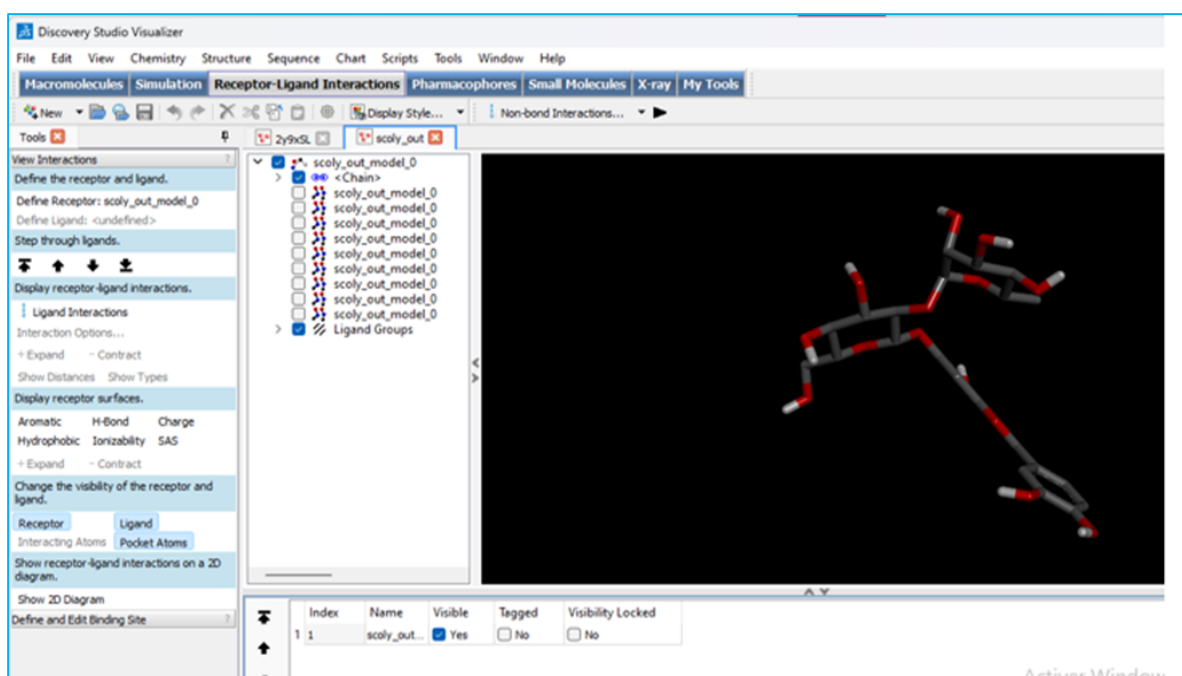


Figure 36 : La tyrosinase 2y9x et le fichier output du ligand sur le logiciel (Le ligand sous forme out. Pdbqt) (2/2)

4. Changer l'arrière-plan du « 2y9xSL » pour clarté leur structure à l'aide de la procédure suivante : cliquez sur : *\*Scripts\** → *\*visualization\** → *\*publication qualité\** → l'arrière-plan est changé (figure 37, 38).

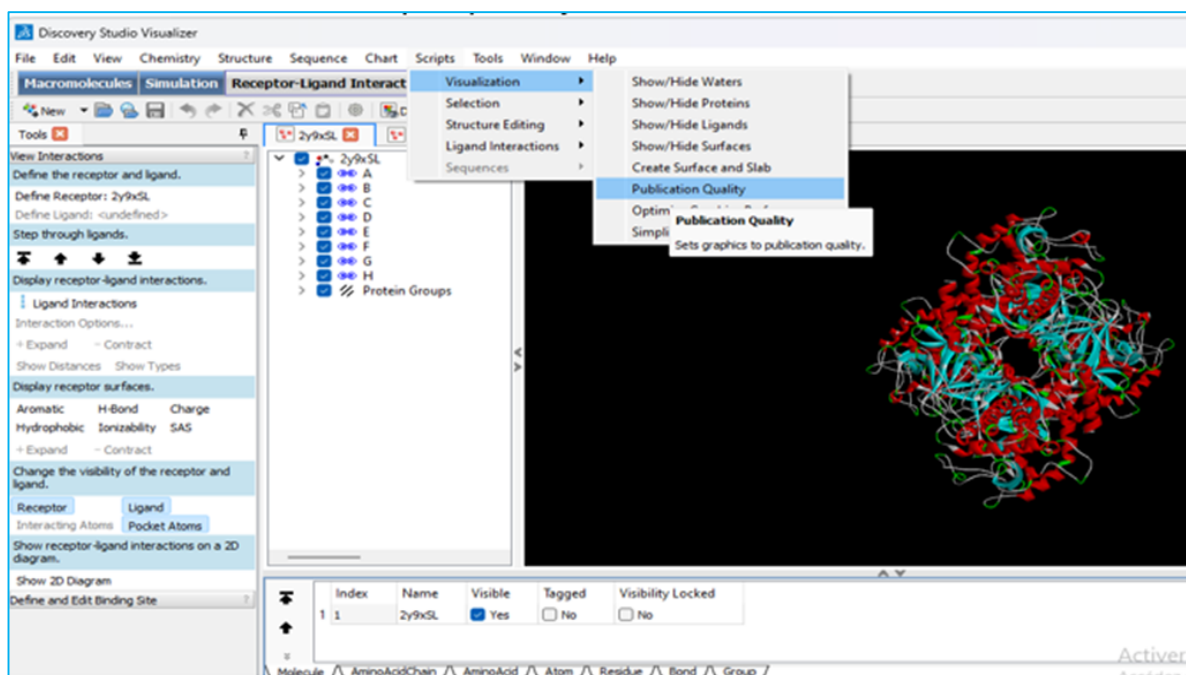


Figure 37: changement de l'arrière-plan de 2y9x (1/2)

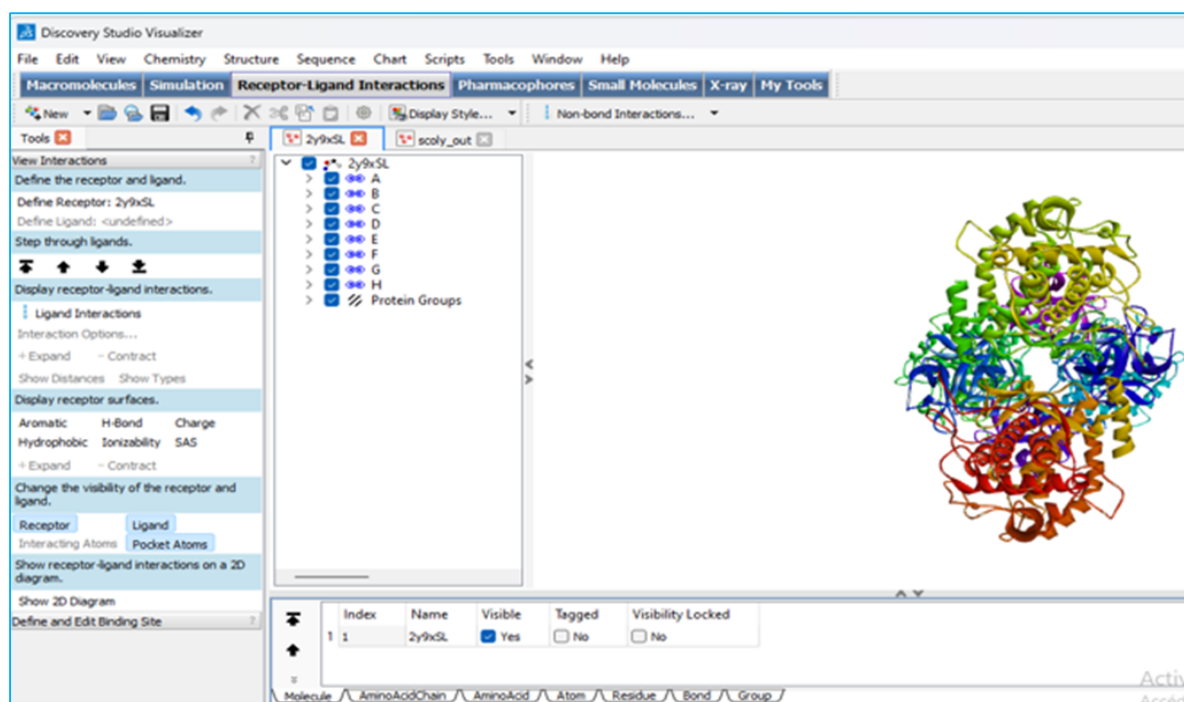



Figure 38 : Changement de l'arrière-plan de 2y9x (2/2)

5. Modifier la forme d'image de la protéine par la procédure suivante : cliquez bouton

droit de la souris → une liste va apparaître → cliquez ici →  → L'image a changé

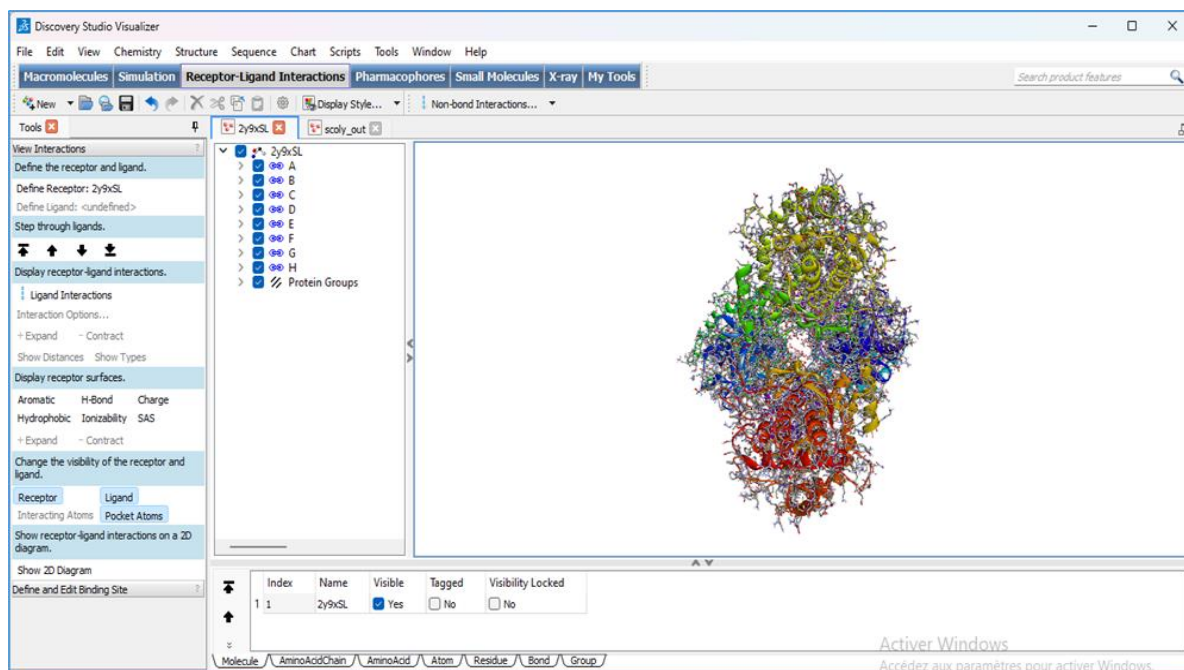


Figure 39 : Changement de la forme d'image de 2y9x

6. Définition model 0 comme ligand à partir de :

- Copier le premier model 0 « scoly\_out\_model\_0 » car il est la meilleur pose (**figure 40**).
- Coller-le avec la protéine (**figure 41**).
- Rechercher sur « Define Ligand : undefined », cliquez sur \*undefined\* pour définir le ligand (**figure 42**).

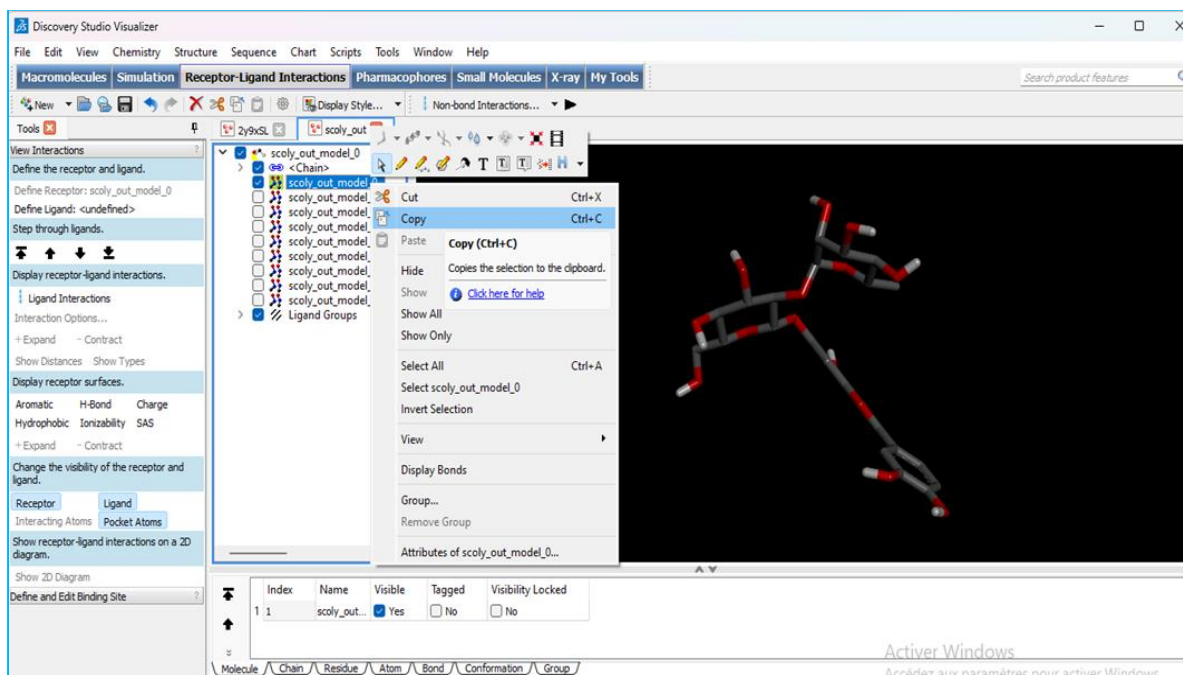


Figure 40 : Définition model 0 (meilleure pose) comme ligand (1/3)

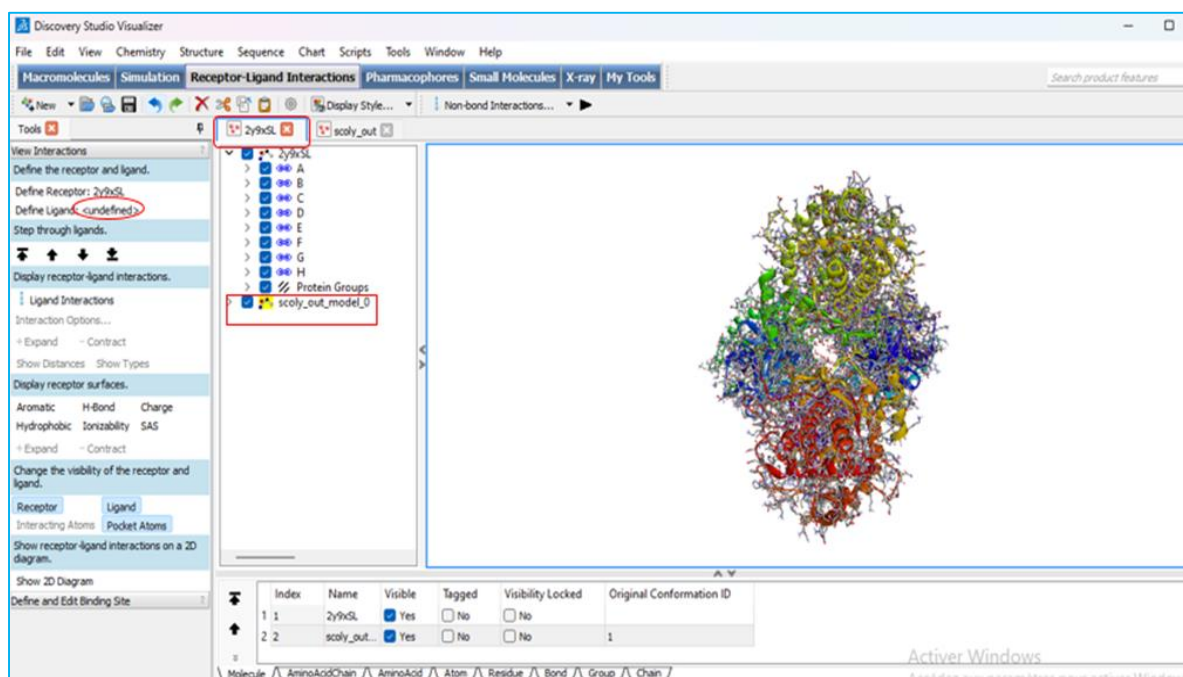


Figure 41: Définition model 0 (meilleure pose) comme ligand (2/3)

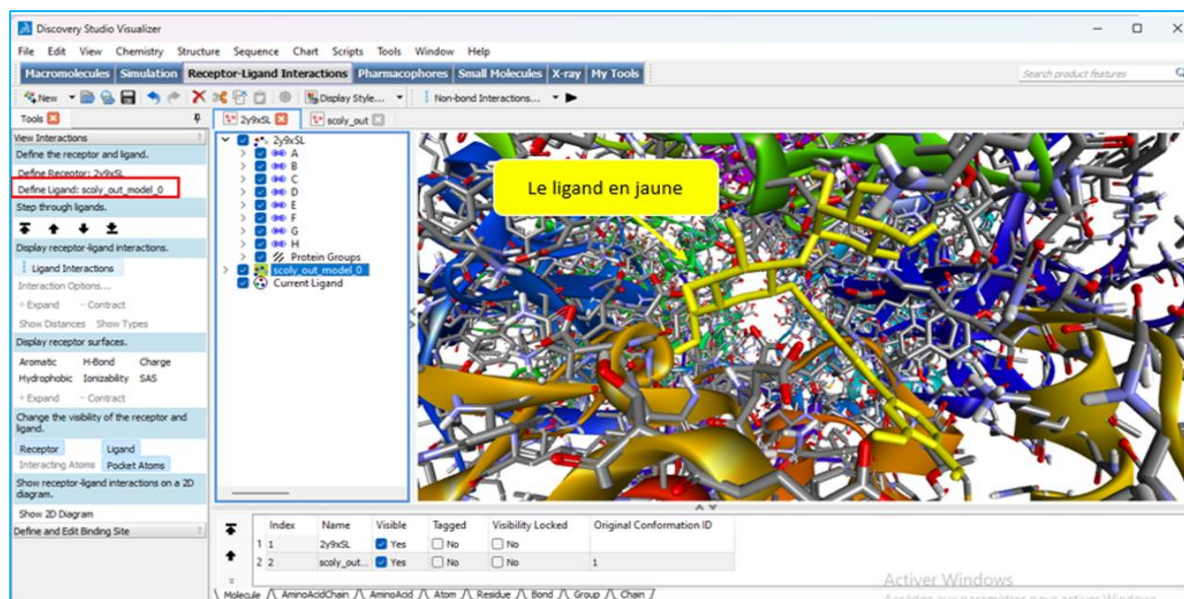


Figure 42 : Définition model 0 (meilleure pose) comme ligand (3/3)

7. Afficher l'interaction du scolyoside avec la protéine tyrosinase, en cliquant sur la touche *\*Ligand Interactions\** → les interactions seront affichées directement (figure 43).

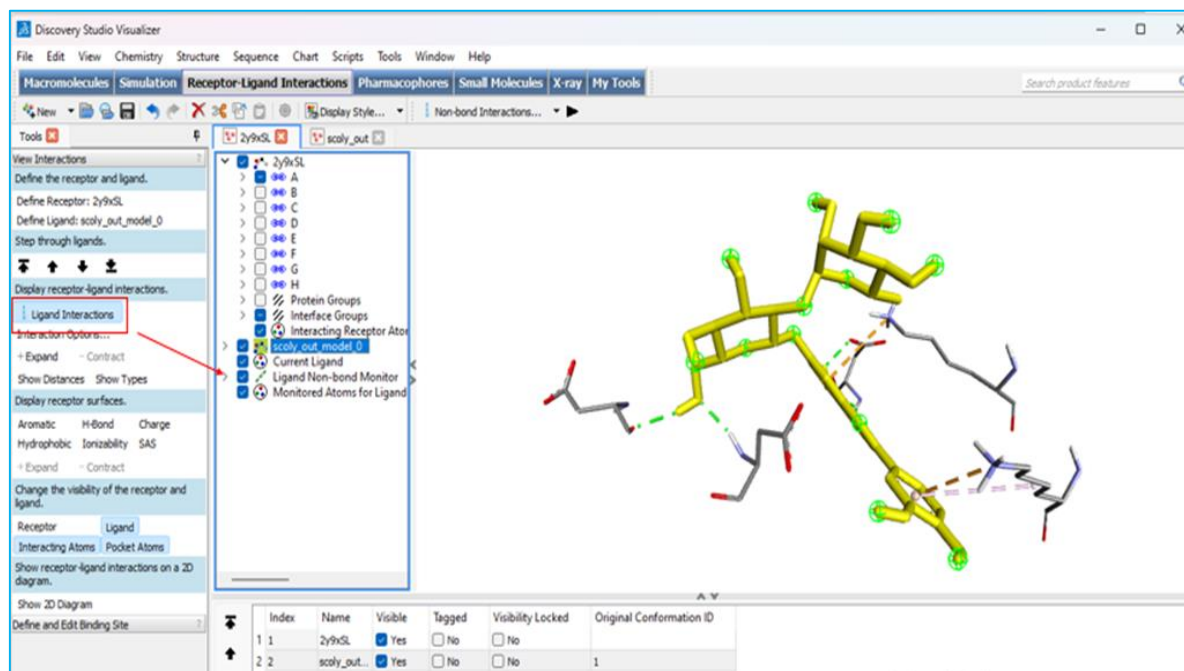


Figure 43: Visualisation l'interaction du ligand avec la protéine (ligand en jaune, la protéine en gris-rouge, les cercles verts représentent les atomes d'hydrogène et les tirets désignent les liaisons entre le ligand et la protéine)

## 8. Changer la forme structurale du ligand :

Sélectionnez le ligand (*ligand en jaune*), puis cliquez bouton droit de la souris → une liste va apparaître → choisissez *\*Ball and Stick\** (figure 44) → la forme structurale du ligand a été changé (figure 45).

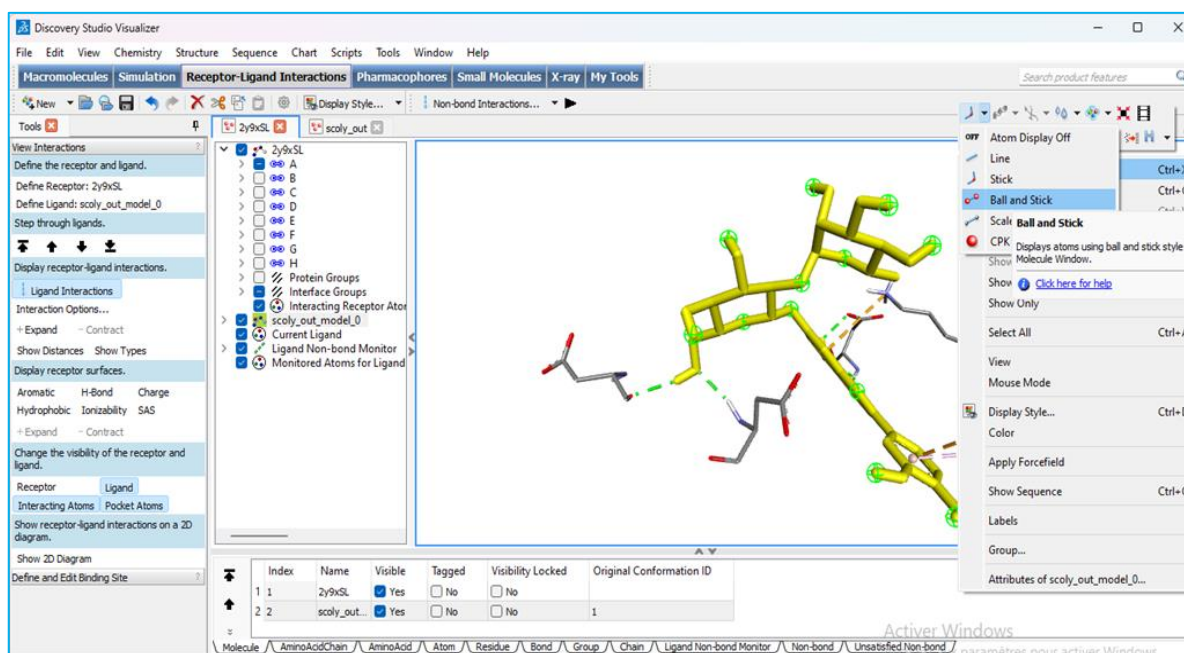


Figure 44 : Changement de la forme structurale du ligand (1/2)

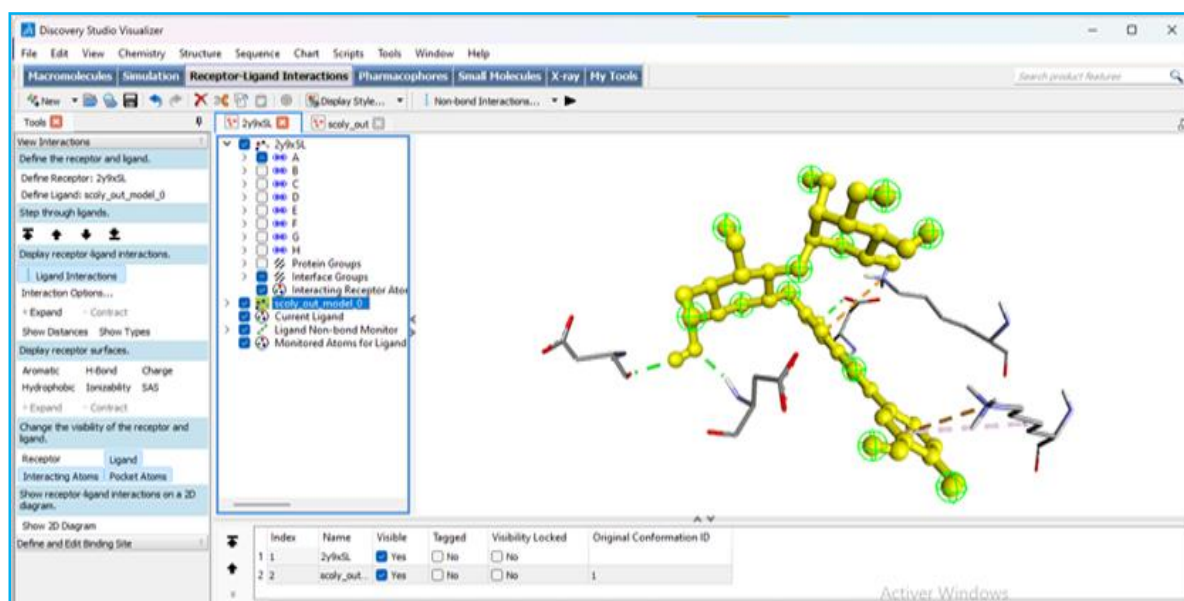


Figure 45 : Changement de la forme structurale du ligand (2/2)

8. Changer la forme structurale de la protéine : de la même manière du ligand sauf que nous choisirons \*Lines\*(**figure 46, 47**).

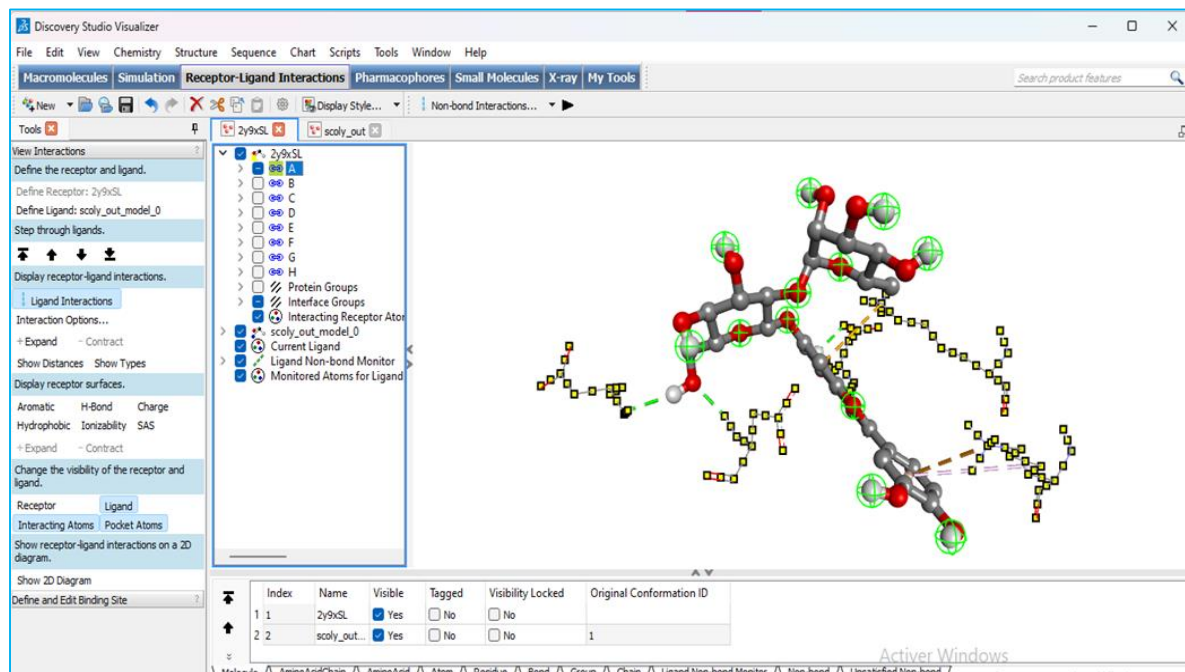


Figure 46 : Changement de la forme structurale de la protéine

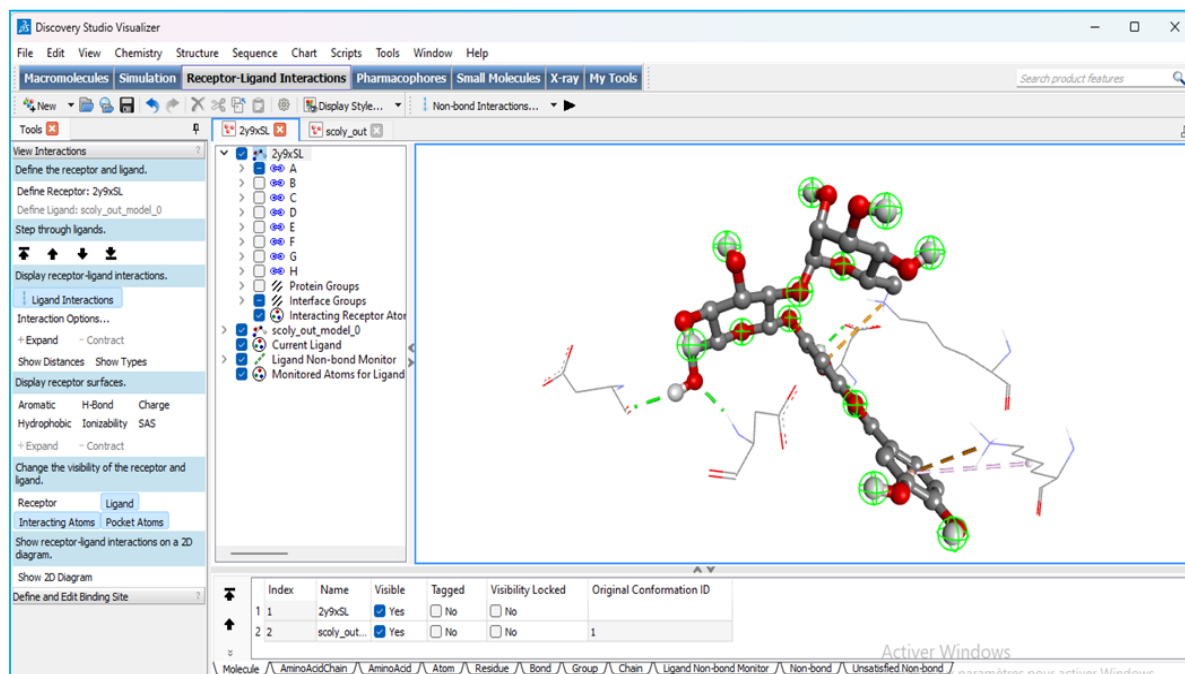


Figure 47 : La forme structurale finale de ligand avec la protéine

## 9. Visualiser les acides aminés en interaction avec le ligand en 3D :

En cliquant sur boutons droits de la souris → une liste va apparaître → cliquez sur **\*Label\*** → **\*add\*** → on va changer l'objectif en « amino acid » et la couleur en noir, puis cliquez sur **\*Apply\*** puis sur **\*OK\*** (**figure 48**) ; une fois que vous avez cliqué sur **\*Apply\*** les acides aminés seront affichés (**figure 49**).

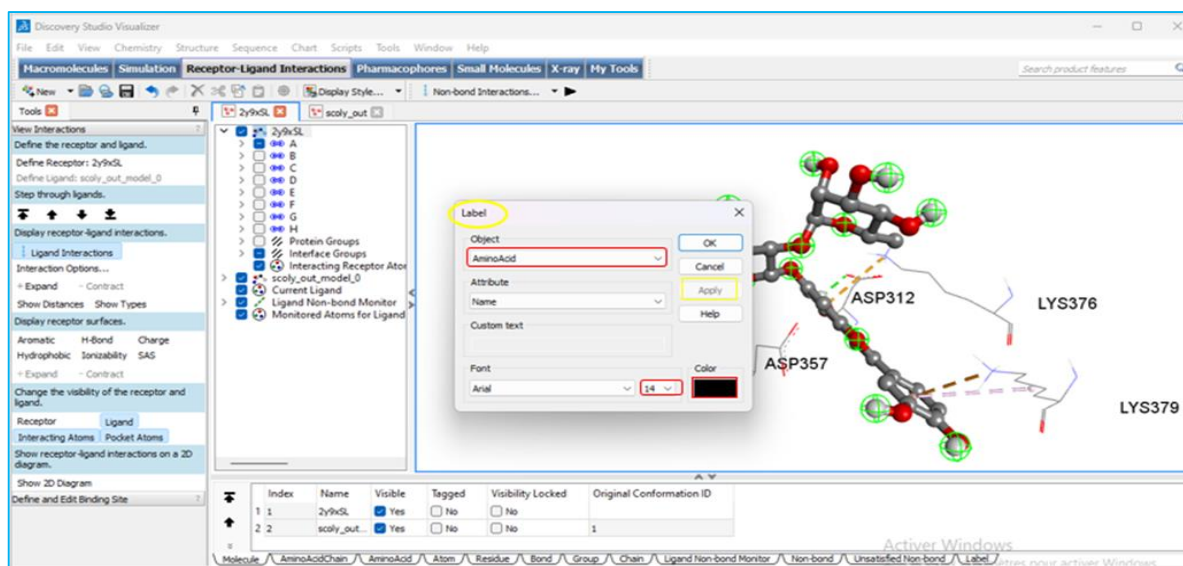


Figure 48: Visualisation les acides aminés en interaction avec le ligand en 3D (1/2)

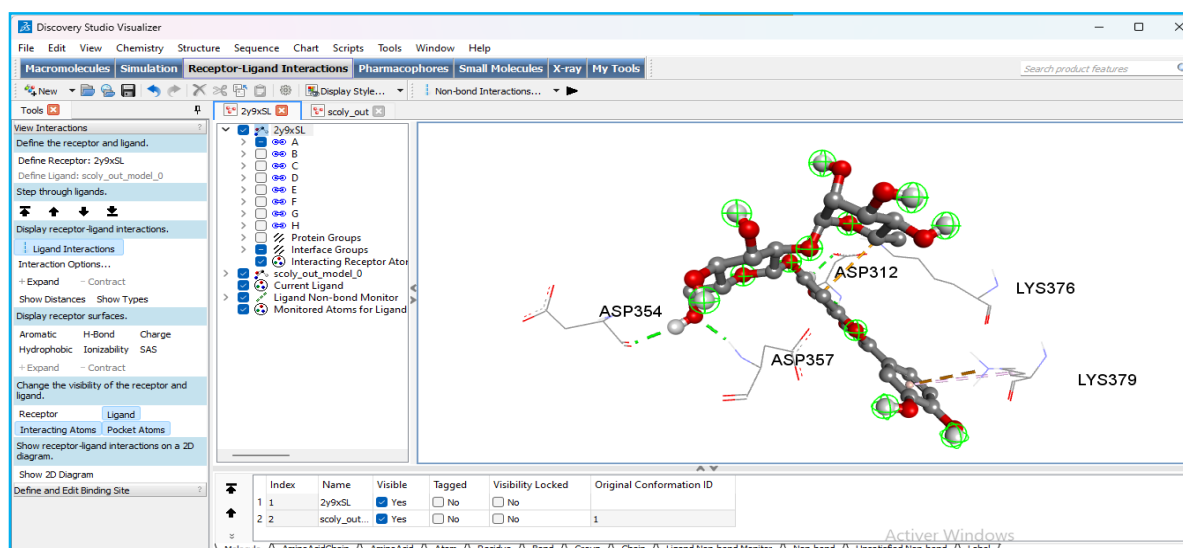


Figure 49: Visualisation les acides aminés en interaction avec le ligand en 3D (2/2)

10. Indiquer les caractéristiques des acides aminés interagissant avec le ligand :

Cliquer sur la liaison entre le ligand et l'acide aminé, puis sur le bouton droit de la souris, une liste va apparaître, puis sur *\*Attributes of\** (figure 50) → nous obtenons tous les propriétés d'acide aminé (figure 51).

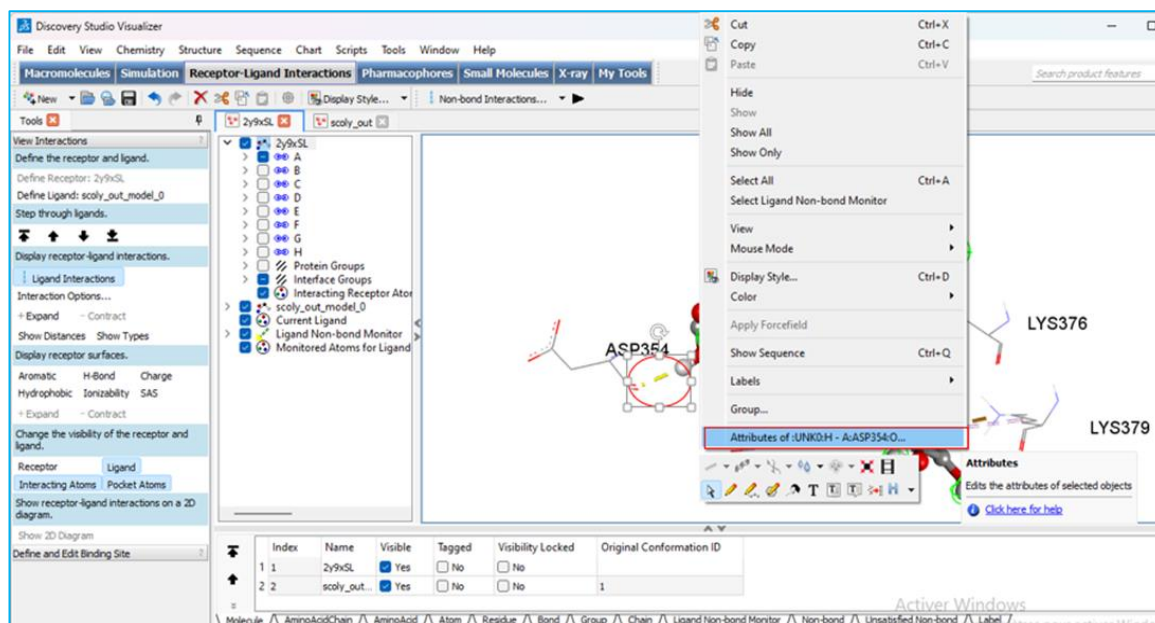


Figure 50 : L'indication des propriétés des acides aminés interagissant avec le ligand (1/2)

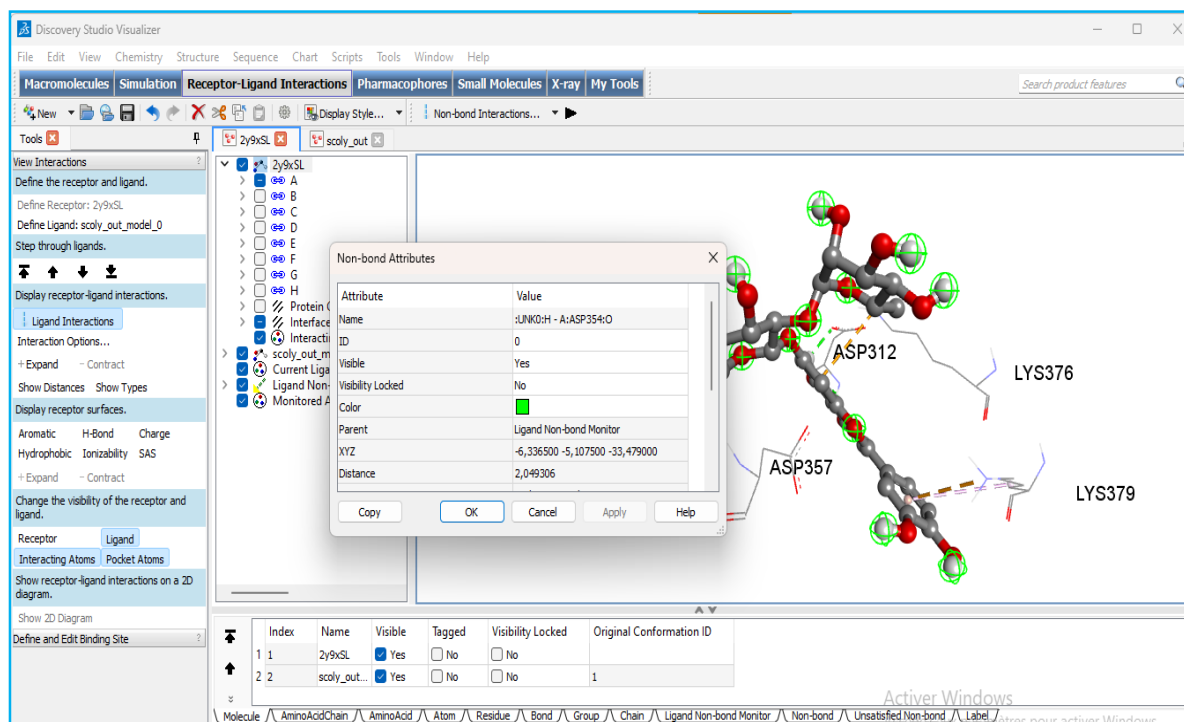


Figure 51 : L'indication des propriétés des acides aminés interagissant avec le ligand (2/2)

## 11. Annuler l'affichage des atomes d'hydrogène :

Sur le menu du logiciel, recherchez sur l'option *\*Non-bond Interactions\** clique dessus puis, plusieurs options apparaitront, choisissez *\*Interaction Options\** (figure 52) puis, désactiver l'option *\*show intramolecular\** ; les atomes d'hydrogènes ont été désactivés (figure 53).

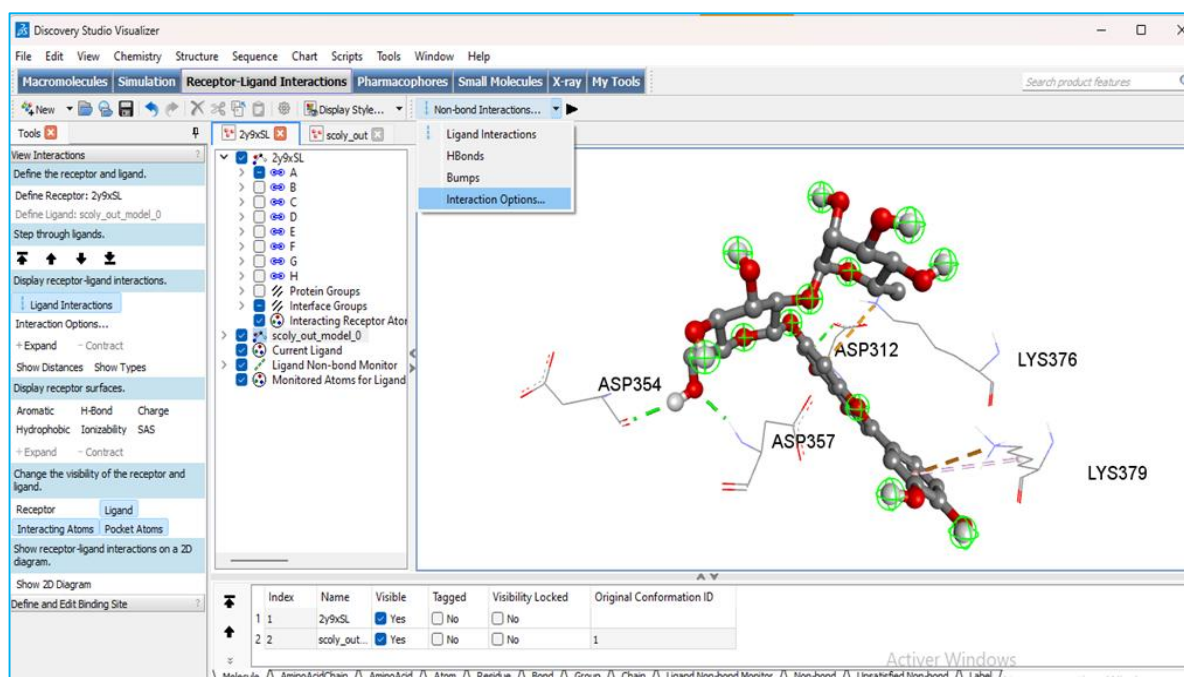


Figure 52 : Désactiver l'affichage de l'intra-molécule (les atomes d'hydrogène) (1/2)

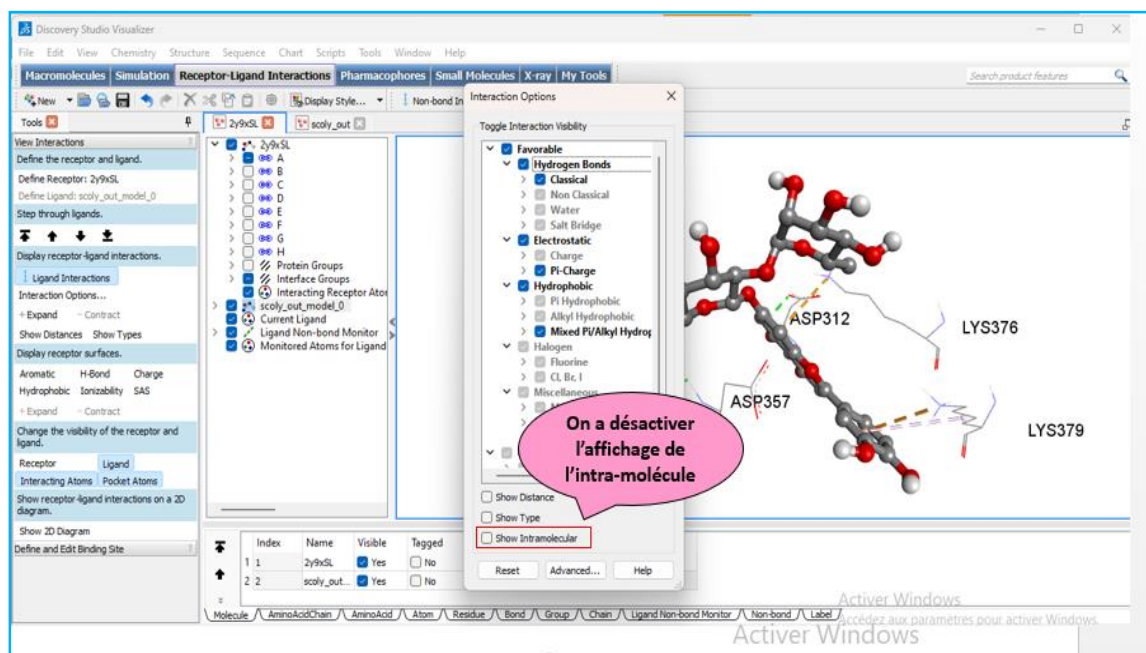


Figure 53 : Désactiver l'affichage de l'intra-molécule (les atomes d'hydrogène) (2/2)

12. Enregistrer les différentes interactions entre le ligand et les acides aminés sous forme image: nous cliquant sur *\*file\**, puis sur *\*Save as\**, puis nommé le complexe « *scoly (interactions)* » et enfin enregistrer sous forme image (figure 54).

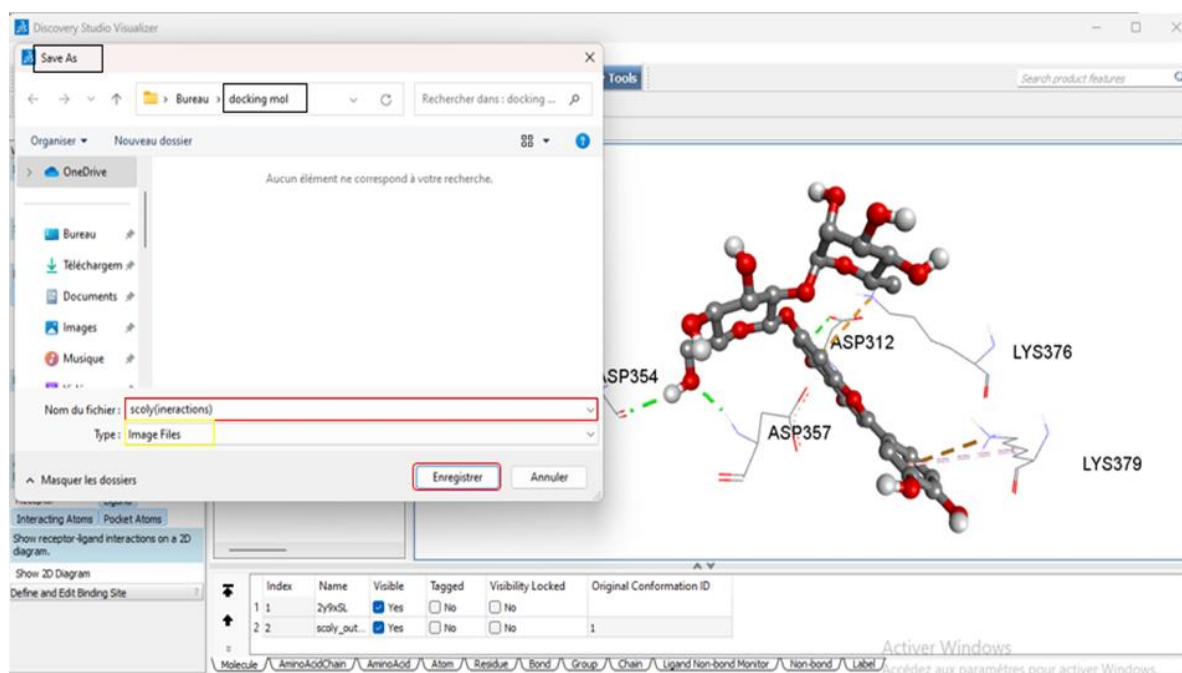


Figure 54: Enregistrement de différentes interactions entre le ligand et les acides aminés en 3D

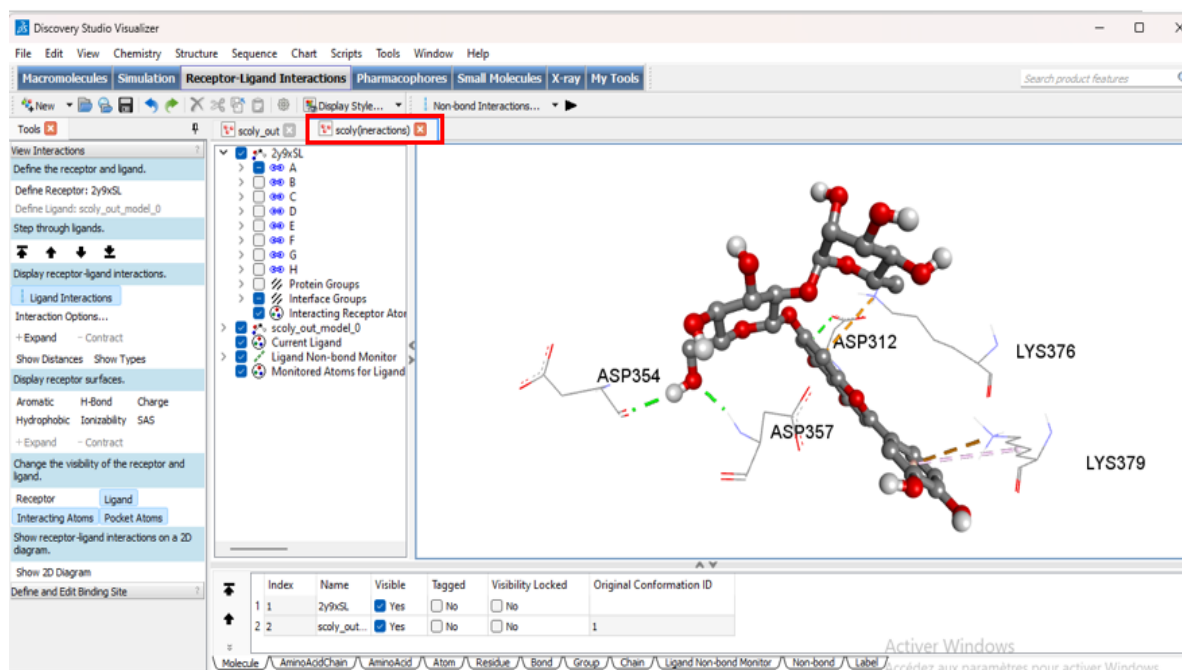


Figure 55: la structure 3D de complexe ligand-protéine

## III.2. Discussion

L'utilisation du logiciel "Discovery Studio" pour l'analyse des résultats de docking moléculaire permet d'identifier la localisation des acides aminés impliqués dans les interactions avec le ligand. De plus, il permet de déterminer la distance ainsi que les types de liaisons formées entre les acides aminés et le ligand.

Nous choisissons de comparer les interactions entre la protéine 2y9x et deux ligands différents : Scolymoside, qui présente la meilleure affinité (2y9x-scolymoside), et le citronellol (2y9x-citronellol), qui présente la plus faible affinité.

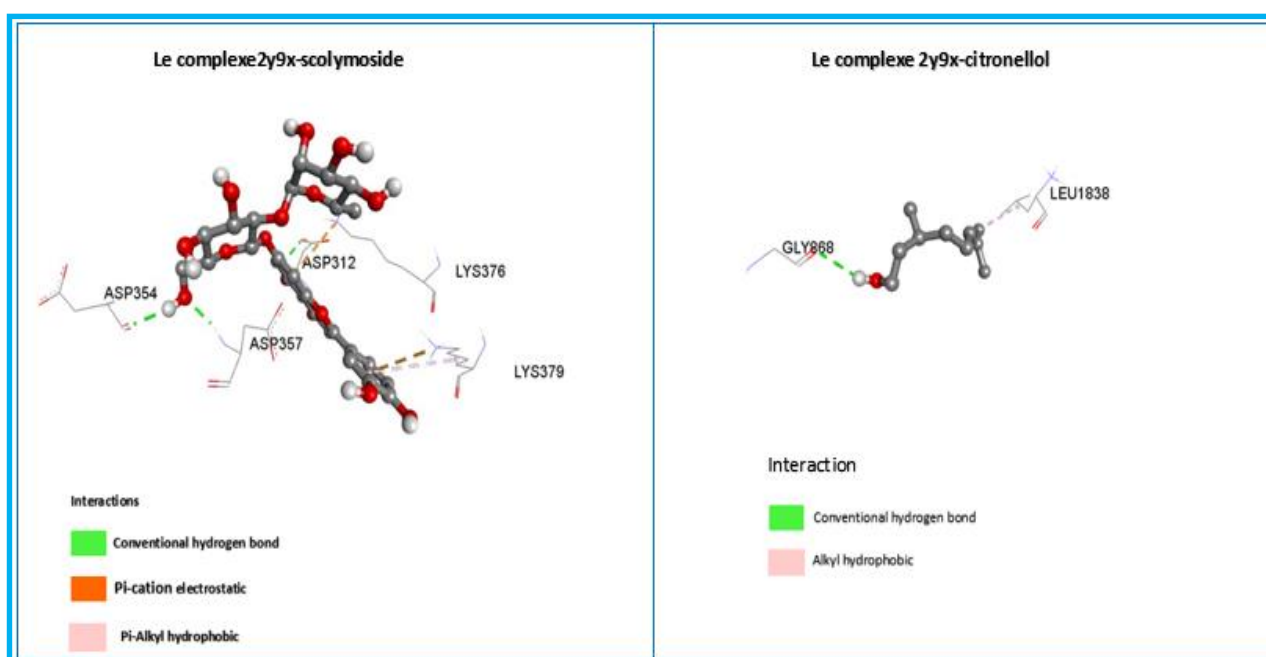
Le tableau ci-dessous résume les caractéristiques des liaisons entre les résidus d'interaction de la protéine (2y9x) et les ligands (Scolymoside et citronellol)

**Tableau III : les caractéristiques des liaisons entre les résidus d'interaction de la protéine (2y9x) et les ligands (Scolymoside et citronellol)**

Molécule	Affinité (Kcal/mol)	Groupe de ligand	residus d'interaction	Distance A°	Type de liaison
Scolymoside	<b>-10</b>	- O – HN-	<b>ASP 354</b>	2.05	liaison hydrogène conventionnelle
		-O-H-	<b>ASP 357</b>	2.016152	
		-O-H-	<b>ASP 312</b>	2.265889	
		-A-	<b>LYS 376</b>	4.771541	Pi-Alkyl hydrophobic
		-N-Z-	<b>LYS379</b>	5.080279	Pi-cation electrostatic
Citronellol	<b>-4.3</b>	-O-H-C	GLY 868	2.700613	liaison hydrogène conventionnelle
		-C-	LEU 1838	4.258295	Alkyl hydrophobic

D'après les résultats obtenus, Scolymoside présente une énergie d'interaction maximale de -10 Kcal/mol avec plusieurs types de liaisons. Trois liaisons hydrogène sont établies avec les acides aminés ASP 357, ASP 354 et ASP 312, interagissant avec le ligand à des distances de 2.01 Å, 2.04 Å et 2.26 Å respectivement. De plus, une interaction électrostatique de type Pi-cation est observée entre le ligand et l'acide aminé LYS 376 à une distance de 4.77 Å, ainsi qu'une interaction hydrophobique de type Pi-Alkyl entre l'acide aminé LYS 379 et le ligand à une distance maximale de 5.08 Å.

Le ligand affichant l'énergie la plus basse est le citronellol, estimée à -4.3 Kcal/mol, établissant deux interactions avec la protéine. Il s'agit d'une liaison hydrogène, dont la longueur est estimée à 2.07 Å, entre l'acide aminé GLY 868 et le ligand, ainsi qu'une interaction hydrophobique de type Alkyl entre le ligand et l'acide aminé LEU 1838, à une distance de 4.25 Å.



**Figure 56 : les différentes interactions entre les acides aminés de la protéine et différents ligands en 3D**

À partir des résultats de visualisation des deux ligands, l'acide vanillique étudié par (Chatatikun et al, 2023), et le scolymoside, nous avons observé les interactions et les énergies d'interaction suivantes :

### 1. L'acide vanillique :

- C'est un composé chimique organique sous forme d'acide phénolique, trouvé uniquement dans l'AEO\_NPV et appartenant à la classe des flavonoïdes (**Chatatikun et al, .2023**).
- Il interagit avec des résidus catalytiques spécifiques, notamment His 61 et His 296, en formant des liaisons hydrogènes de longueur inférieure à 6 Å.
- L'acide vanillique forme également des interactions hydrophobes par empilement  $\pi$ - $\pi$  avec le résidu His 263 au niveau du site actif, avec une longueur inférieure à 3 Å.
- L'énergie d'interaction obtenue pour l'acide vanillique est de -8.69 Kcal/mol (**chatatikun et al, 2023**)

### 2. Le scolymoside :

- C'est un composé phytochimique trouvé dans la menthe poivrée et appartenant à la classe des flavonoïdes.
- Le scolymoside établit des liaisons hydrogènes avec les résidus Asp 357 (2.016 Å), Asp 312 (2.310 Å) et Asp 354 (2.049 Å).
- Il possède une interaction hydrophobe avec le résidu Lys 379, avec une longueur de 5.080 Å.
- L'énergie d'interaction obtenue pour le scolymoside est de -10.0 Kcal/mol.

En résumé, bien que les deux ligands établissent des liaisons hydrogènes et hydrophobes de différentes longueurs et avec divers résidus, le scolymoside montre une énergie d'interaction plus favorable (-10.0 Kcal/mol) par rapport à l'acide vanillique (-8.69 Kcal/mol).

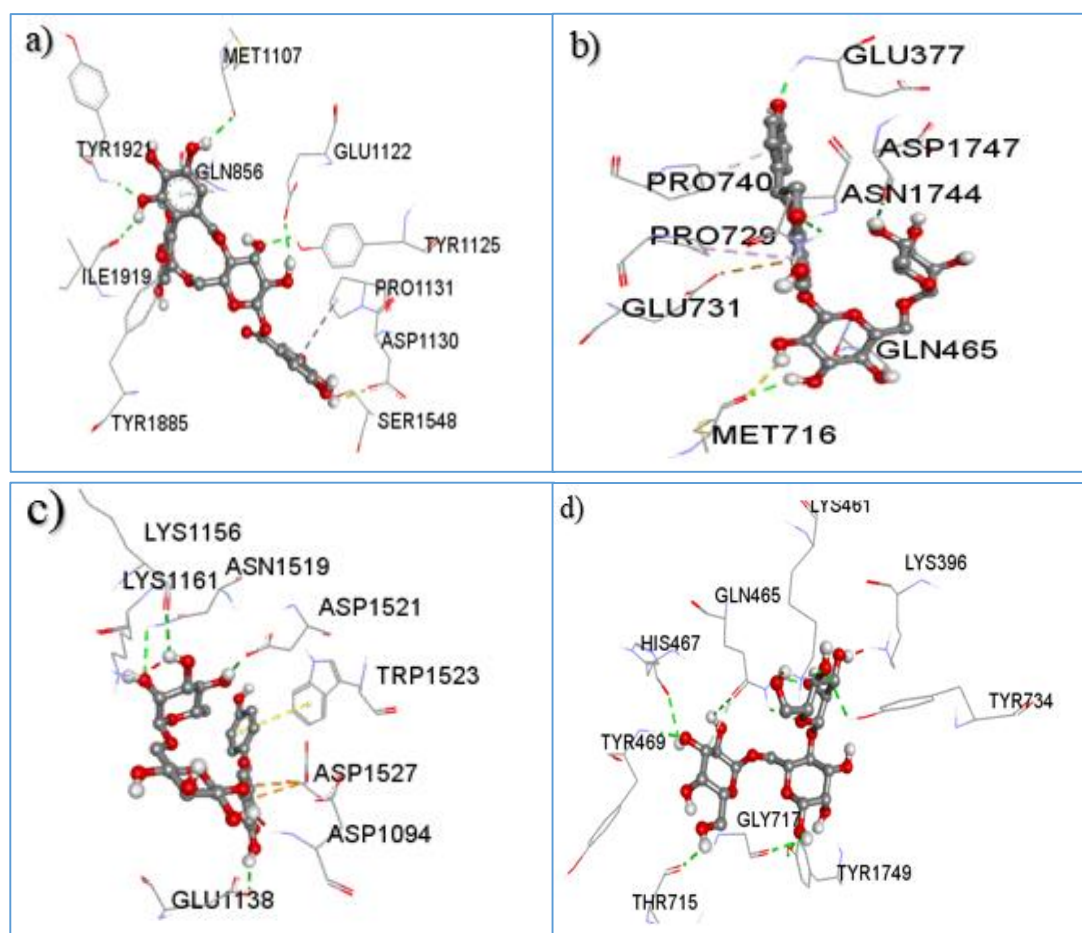
D'après les résultats de visualisation de nos ligands, nous avons sélectionné les cinq ligands ayant l'énergie d'interaction la plus élevée : -10.3 kcal/mol pour le strictinine, -10.0 kcal/mol pour le scolymoside, -9.6 kcal/mol pour l'isorhoifoline, -9.6 kcal/mol pour le Narirutin et -8.1 kcal/mol pour le galactomannane (**figure 60**). En parallèle, la littérature a étudié différents ligands et parmi ceux-ci, trois ligands montrent des affinités de liaison maximales: -7.9 kcal/mol pour la quercétine, -7.0 kcal/mol pour l'acide férulique et -6.3 kcal/mol pour l'acide cinnamique.

Nous avons remarqué une similitude dans certains résidus entre le scolymoside et l'acide férulique. Le premier résidu commun est la lysine 376, qui forme une interaction cation- $\pi$  avec le groupe phényle de l'acide férulique et une interaction électrostatique avec le scolymoside d'une longueur de

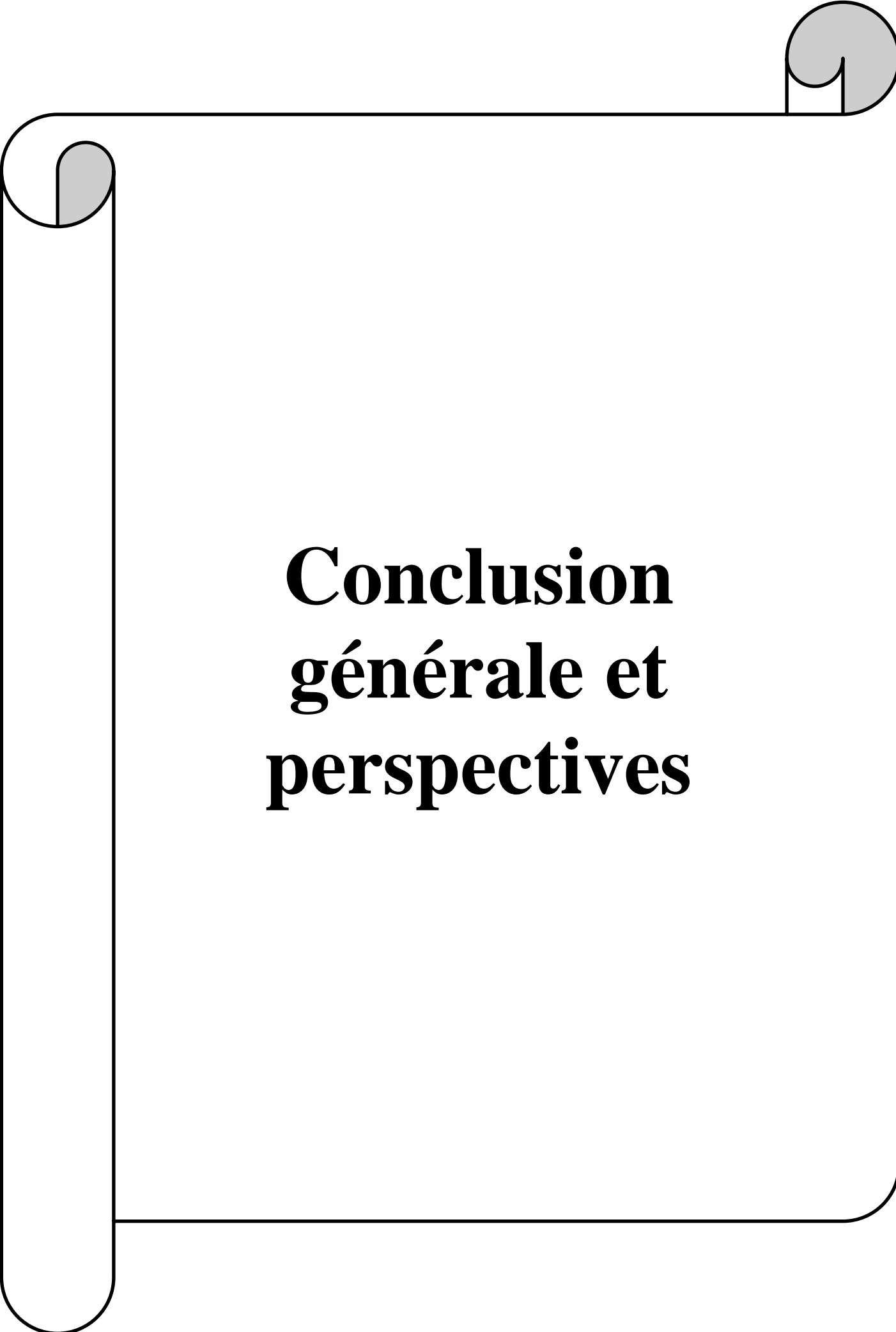
4.771 Å. Le deuxième résidu est la lysine 379, qui interagit avec l'acide férulique en formant une liaison électrostatique et également avec le scolymoside en formant une interaction hydrophobique d'une longueur de 5.080 Å. Enfin, le dernier résidu commun est l'aspartique 312, qui forme une interaction anion- $\pi$  avec l'acide férulique et une liaison hydrogène avec le scolymoside d'une longueur de 2.310 Å (Qun et al, .2019)

En conclusion, nous avons identifié trois résidus communs dans les deux études : lysine 376, lysine 379 et aspartique 312. Ces résidus jouent un rôle clé dans les interactions entre les ligands et la cible, soulignant leur importance dans la stabilisation des complexes ligand-protéine.

Pour confirmer nos résultats nous avons présenté dans les figures suivants les différentes interactions entre les protéines de cite actif de l'inhibiteur. On observe quelque protéine qui fait des meilleurs interactions sont : Strictinin, Narirutin, Isorhoifolin, Galactomannan.



**Figure 57 : les différentes interactions des meilleurs ligands avec les sites actifs de la protéine (a) complexe 2y9x-Strictinin, b) complexe 2y9x-Narirutin, c) complexe 2y9x-Isorhoifolin, d) complexe 2y9x-Galactomannan)**



**Conclusion  
générale et  
perspectives**

L'objectif principal de notre étude est d'évaluer l'efficacité anti-tyrosinase des molécules bioactives provenant de sources végétales en utilisant la méthode du docking moléculaire. Dans cette optique, nous avons entrepris une analyse *in silico* visant à prédire la capacité de ces molécules à interférer avec l'activité de l'enzyme tyrosinase, une cible importante dans le contrôle de la pigmentation cutanée. En exploitant les techniques avancées de modélisation informatique, telles que le docking moléculaire, nous cherchons à identifier les composés végétaux présentant une forte affinité et des interactions stables avec le site actif de la tyrosinase.

En résumé, notre étude *in silico* sur l'effet anti-tyrosinase des composés d'origine végétale a dévoilé des résultats prometteurs. Nous avons identifié plusieurs molécules présentant une forte affinité avec l'enzyme tyrosinase telles que : **strictinin (-10.3 Kcal/mol ) que l'on retrouve dans le thé vert, Scolymoside (-10 Kcal/mol) que l'on retrouve dans le menthe poivrée , Narirutin (-10 Kcal/mol) que l'on retrouve dans le menthe poivrée , isorhoifolin (-9.6 Kcal/mol) que l'on retrouve dans le menthe poivrée , galactomannan (-9 Kcal/mol) que l'on retrouve dans le noix de coco** , ce qui suggère leur potentiel en tant qu'agents régulateurs de la pigmentation cutanée ou dépigmentants.

Des interactions , telles que des liaisons hydrogène et des interactions électrostatiques, ont été observées entre ces composés et les résidus clés de la tyrosinase tels que lysine 376, lysine 379 et aspartique 312, ce qui pourrait influencer leur activité inhibitrice.

Nos résultats découverts offrent des perspectives intéressantes pour l'élaboration de nouveaux produits cosmétiques ou pharmaceutiques visant à traiter les problèmes de pigmentation cutanée. Toutefois, des études complémentaires *in vitro* et *in vivo* seront nécessaires pour confirmer l'efficacité et contrôler la toxicité et l'innocuité de ces composés, ainsi que pour mieux comprendre leur mécanisme d'action précis.

Dans l'ensemble, notre recherche ouvre de nouvelles avenues pour explorer les possibilités des composés d'origine végétale en tant qu'alternatives aux traitements conventionnels de dépigmentation cutanée, offrant ainsi des solutions plus sûres et plus naturelles pour ces troubles.



# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

- A fast flexible docking method using an incremental construction algorithm - PubMed [WWW Document], n.d. URL <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8780787/> (accessed 3.2.24).
- A geometric approach to macromolecule-ligand interactions - ScienceDirect [WWW Document], n.d. URL <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/002228368290153X> (accessed 3.2.24).
- A three-dimensional model of mammalian tyrosinase active site accounting for loss of function mutations - PubMed [WWW Document], n.d. URL <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17850513/> (accessed 3.2.24).
- An Updated Review of Tyrosinase Inhibitors - PMC [WWW Document], n.d. URL <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2705500/> (accessed 3.2.24)
- « Antioxidant activity, anti-tyrosinase activity, molecular docking studies, and molecular dynamic simulation of active compounds found in nipa palm vinegar - PubMed ». s. d. Consulté le 31 mai 2023.
- Bacterial tyrosinases - PubMed [WWW Document], n.d. URL <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16423650/> (accessed 3.2.24).
- Bron, C., Kerbosch, J., 1973. Algorithm 457: finding all cliques of an undirected graph. *Commun. ACM* 16, 575–577. <https://doi.org/10.1145/362342.362367>
- Cabanes, J., Chazarra, S., Garcia-Carmona, F., 1994. Kojic acid, a cosmetic skin whitening agent, is a slow-binding inhibitor of catecholase activity of tyrosinase. *J Pharm Pharmacol* 46, 982–985. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1994.tb03253.x>
- Chang, T.-S., 2012. Natural Melanogenesis Inhibitors Acting Through the Down-Regulation of Tyrosinase Activity. *Materials (Basel)* 5, 1661–1685. <https://doi.org/10.3390/ma5091661>
- Correlation of Structure and Function in Enzyme Action | Science [WWW Document], n.d. URL <https://www.science.org/doi/10.1126/science.142.3599.1533> (accessed 3.2.24).
- Chatatikun, Moragot, Aman Tedasen, Nawanwat Chainuwong Pattarangoon, Wilawan Palachum, Sirithip Chuaijit, Amron Mudpan, Supawita Pruksaphanrat, Sasirat Sohbenalee, Kenshi Yamasaki, et Wiyada Kwanhian Klangbud. « Antioxidant Activity, Anti-Tyrosinase Activity, Molecular Docking Studies, and Molecular Dynamic Simulation of Active Compounds Found in Nipa Palm Vinegar ». *PeerJ* 11 (2023): e16494.\*

## Références bibliographiques

- Crystallographic evidence that the dinuclear copper center of tyrosinase is flexible during catalysis
- Di Petrillo et Al.(2016) Di Petrillo A,González \_ paramàs AM , Era B ,Medda R ,Pintus F , Santos\_ Bulga C ,Fais A . tyrosinase inhibition and antioxidant properties of *Asphodelus microcarpus* extracts .BMC complementary Alternative Medicine . 2016,16:453.doi:10.1186/S12906\_016\_1442\_0
- Ferro et Al .(2018 ) Ferro s,Deri B ,Germano MP ,Gitto R , Ielo L,Buemi MR ,Certificat G ,Vittorio s, Rapisarda A , pazy y ,Fishman A ,De Luca L .Targeting Tyrosinase : development and structural insights of novel inhibitors bearing arylpiperidine and arylpiperazine Fragments.journal of Medicinal chemistry.2018 ,61:3908\_3917.doi: 10.1021/acs.jmedchem.7b01745.
- FLOG: A system to select ‘quasi-flexible’ ligands complementary to a receptor of known three-dimensional structure | Journal of Computer-Aided Molecular Design [WWW Document], n.d. URL <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00119865> (accessed 3.2.24).
- Gediya SK, Mistry RB, Patel UK, Blessy M, Jain HN.Herbal plants :used a cosmetic .J Nat prod plant Resouc.2011,1:24\_32.
- Gabb, H.A., Jackson, R.M., Sternberg, M.J., 1997. Modelling protein docking using shape complementarity, electrostatics and biochemical information. J Mol Biol 272, 106–120. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1997.1203>
- Garcia-Jimenez, A., Teruel-Puche, J.A., Garcia-Ruiz, P.A., Berna, J., Rodríguez-López, J.N., Tudela, J., Garcia-Canovas, F., 2017. Action of 2,2',4,4'-tetrahydroxybenzophenone in the biosynthesis pathway of melanin. Int J Biol Macromol 98, 622–629. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.02.032>
- Hassan , shahzadi et kloczkowski (2023)Hassan M,Shahzadi S ,klocz kowski A. Tyrosinase inhibitors naturally present in plants and synthetic modification of these natural products as anti \_ melanogenic agents : a review .Molécules.2023 ,28: 378. Doi : 10.33390/ molecules 28010378.
- Hexsel, D., Hexsel, C., Porto, M.D., Siega, C., 2015. Triple combination as adjuvant to cryotherapy in the treatment of solar lentigines: investigator-blinded, randomized clinical trial. J Eur Acad Dermatol Venereol 29, 128–133. <https://doi.org/10.1111/jdv.12484>

## Références bibliographiques

- Hydroquinone for skin lightening: safety profile, duration of use and when should we stop? - PubMed [WWW Document], n.d. URL <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20095963/> (accessed 3.2.24).
- Identification of active site residues involved in metal cofactor binding and stereospecific substrate recognition in Mammalian tyrosinase. Implications to the catalytic cycle - PubMed [WWW Document], n.d. URL <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11781109/> (accessed 3.2.24).
- Implications of protein flexibility for drug discovery | Nature Reviews Drug Discovery [WWW Document], n.d. URL <https://www.nature.com/articles/nrd1129> (accessed 3.2.24).
- Jablonski NH, Chaplin G. Human skin pigmentation as an adaptation to UV radiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 107: 8962–8968.
- Jones, K., Hughes, J., Hong, M., Jia, Q., Orndorff, S., 2002. Modulation of melanogenesis by aloesin: a competitive inhibitor of tyrosinase. *Pigment Cell Res* 15, 335–340. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0749.2002.02014.x>
- Kumari, Sulekha, Steven Tien Guan Thng, Navin Kumar Verma, et Hemant K. Gautam. « Melanogenesis Inhibitors ». *Acta Dermato-Venereologica* 98, no 10 (5 novembre 2018): 924–31.
- Khlgatian, M.K., Hadshiew, I.M., Asawanonda, P., Yaar, M., Eller, M.S., Fujita, M., Norris, D.A., Gilchrist, B.A., 2002. Tyrosinase gene expression is regulated by p53. *J Invest Dermatol* 118, 126–132. <https://doi.org/10.1046/j.0022-202x.2001.01667.x>
- Lin JY, Fisher DE. Melanocyte biology and skin pigmentation. *Nature* 2007; 445: 843–850.
- Lerch, K., 1988. Protein and active-site structure of tyrosinase. *Prog Clin Biol Res* 256, 85–98.
- Lin, J.Y., Fisher, D.E., 2007. Melanocyte biology and skin pigmentation. *Nature* 445, 843–850. <https://doi.org/10.1038/nature05660>
- Mayer, A.M., 2006. Polyphenol oxidases in plants and fungi: going places? A review. *Phytochemistry* 67, 2318–2331. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.08.006>

## Références bibliographiques

- Morris, G.M., Goodsell, D.S., Halliday, R.S., Huey, R., Hart, W.E., Belew, R.K., Olson, A.J., 1998. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *J. Comput. Chem.* 19, 1639–1662. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-987X\(19981115\)19:14<1639::AID-JCC10>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(19981115)19:14<1639::AID-JCC10>3.0.CO;2-B)
- Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery - PubMed [WWW Document], n.d. URL <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31487867/> (accessed 3.2.24).
- Natural and Synthetic Tyrosinase Inhibitors as Antibrowning Agents: An Update - Loizzo - 2012 - Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety - Wiley Online Library [WWW Document], n.d. URL <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1541-4337.2012.00191.x> (accessed 3.2.24).
- PubMed [WWW Document], n.d. URL <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22189272/> (accessed 3.2.24).
- Polyphenol oxidases in plants and fungi: going places? A review - PubMed [WWW Document], n.d. URL <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16973188/> (accessed 3.2.24).
- Protein and active-site structure of tyrosinase - PubMed [WWW Document], n.d. URL <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3130643/> (accessed 3.2.24).
- PubMed [WWW Document], n.d. URL <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16436386/> (accessed 3.2.24).
- Resveratrol as a kcat type inhibitor for tyrosinase: potentiated melanogenesis inhibitor
- Satooka, H., Kubo, I., 2012. Resveratrol as a kcat type inhibitor for tyrosinase: potentiated melanogenesis inhibitor. *Bioorg Med Chem* 20, 1090–1099. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2011.11.030>
- Sciences (US), N.A. of, Avise, J.C., Ayala, F.J., 2010. Human Skin Pigmentation as an Adaptation to UV Radiation, in: *In the Light of Evolution: Volume IV: The Human Condition*. National Academies Press (US).
- Sequence and structural features of plant and fungal tyrosinases - PubMed [WWW Document], n.d. URL <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9237394/> (accessed 3.2.24).
- Tse, T.W., 2010. Hydroquinone for skin lightening: safety profile, duration of use and when should we stop? *J Dermatolog Treat* 21, 272–275. <https://doi.org/10.3109/09546630903341945>

## Références bibliographiques

- Tyrosinase: a comprehensive review of its mechanism - PubMed [WWW Document], n.d. URL <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7873577/> (accessed 3.2.24).
- Tyrosinase inhibitory effects and antioxidative activities of novel cinnamoyl amides with amino acid ester moiety - ScienceDirect [WWW Document], n.d. URL <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814612004815> (accessed 3.2.24).

## Résumé

Dans notre recherche visant à découvrir de nouvelles molécules d'origine végétale avec des propriétés inhibitrices sur l'enzyme tyrosinase, nous avons utilisé une approche de bioinformatique appelée docking moléculaire. Nous avons employé plusieurs logiciels, dont ArgusLab, Dicrovery Studio et Autodock Vina. Un docking moléculaire a été effectué pour évaluer l'interaction de 25 molécules d'origine végétale avec l'enzyme tyrosinase provenant du champignon (PDB 2y9x).

Grâce à cette méthode, nous avons identifié cinq molécules phyto composé possédant le potentiel nécessaire pour inhiber efficacement l'activité de l'enzyme ciblée : strictinin (-10.3Kcal/mol), Scolymoside (-10 Kcal/mol), Narirutin (-10 Kcal/mol), isorhoifolin (-9.6 Kcal/mol), jsorhoifolin (-9 Kcal/mol). En outre, nous avons observé trois résidus d'interaction principaux, en parfaite concordance avec ceux déjà identifiés dans des études antérieures : la lysine 376, la lysine 379 et l'aspartique 312.

Ces résultats suggèrent des pistes prometteuses pour la conception de nouveaux agents thérapeutiques ou de composés chimiques avec des applications potentielles dans divers domaines, de la médecine à l'industrie.

**Mots clé:** docking moléculaire, 2y9x, tyrosinase, inhibiteurs, bioactives

## ملخص

في بحثنا الهادف إلى اكتشاف جزيئات جديدة من أصل نباتي تمتلك خصائص مثبطة لإنزيم التايروزيناز، استخدمنا نهجا في مجال الحوسبة الحيوية يُسمى التحام جزيئي. قمنا باستخدام عدة برامج، بما في ذلك Discovery studio, Arguslab وAutodock Vina. تم إجراء التحام جزيئي لتقييم تفاعل 25 جزيءاً من أصل نباتي مع إنزيم التايروزيناز المستمد من الفطر. و من خلال هذه الطريقة، تم التعرف على خمسة جزيئات تمتلك القدرة اللازمة لتنشيط نشاط الإنزيم المستهدف بشكل فعال (PDB x9y2): ستريستينين (-10.3 كيلو كالوري/مول)، سكوليموسيد (-10 كيلو كالوري/مول)، ناريروتين (-10 كيلو كالوري/مول)، إسور هوفولين (-9.6 كيلو كالوري/مول)، إسور هوفولين (-9.6 كيلو كالوري/مول)، جسور هوفولين (-9 كيلو كالوري/مول) وهي متطابقة تماماً مع تلك التي تم التعرف عليها بالفعل في الدراسات السابقة: الليزين، 376، الليزين، 379، والأسبارتيك 312. تلك النتائج تشير إلى آفاق واعدة لتصميم وكالات علاجية جديدة أو مركبات كيميائية بتطبيقات محتملة في مجالات متعددة، من الطب إلى الصناعة.

**مفاتيح البحث:** التحام جزيئي، التايروزيناز، مثبطات، المواد الحيوية النشطة

## Abstract

In our research aiming to discover new plant-derived molecules with inhibitory properties on the tyrosinase enzyme, we utilized a bioinformatics approach called molecular docking. We employed several software tools, including ArgusLab, Dicrovery Studio, and Autodock Vina. Molecular docking was performed to assess the interaction of 25 plant-derived molecules with the tyrosinase enzyme from the fungus (PDB 2y9x).

Through this method, we identified five molecules phyto compound possessing the potential to effectively inhibit the activity of the targeted enzyme: strictinin (-10.3Kcal/mol), Scolymoside (-10 Kcal/mol), Narirutin (-10 Kcal/mol), isorhoifolin (-9.6 Kcal/mol), jsorhoifolin (-9 Kcal/mol). Additionally, we observed three key interaction residues, perfectly matching those identified in previous studies: lysine 376, lysine 379, and aspartic acid 312.

These results suggest promising avenues for the design of new therapeutic agents or chemical compounds with potential applications in various fields, from medicine to industry.

**Keywords:** molecular docking, 2y9x, tyrosinase, inhibitors, bioactives