



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine 1  
Faculté des Sciences de la Nature et de la  
Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire  
قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

**Intitulé:**

**Conception *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la tyrosinase pour le traitement de  
l'hyperpigmentation de la peau.**

Présenté et soutenu par :

- HAMIL Ouahiba
- KARA Assia

Le : 03 /07/2018

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mr. BENSEGUENI A.

(Pr-UFM Constantine 1).

Rapporteur : Mr. MOKRANI E.H.

(MAA-UFM Constantine 1).

Examineur : Mr. CHIKHI A.

(Pr-UFM Constantine 1).

**Année universitaire  
2017- 2018**

## *Remerciements*

*Avant tout, nous remercions Allah qui nous a donné la force et la puissance pour réaliser et achever ce travail dans de bonnes conditions.*

✓ *Nous exprimons notre plus profonde gratitude et remerciement le plus sincère à notre encadreur Mr.MOKRANI E.H. Maître assistant « A » à l'Université Frères Mentouri Constantine 1 pour l'effort fourni, les conseils prodigués, sa patience et surtout sa confiance et sa persévérance dans le suivi de ce travail.*

✓ *Nous adressons notre profonde gratitude à Mr.BENSEGUENI A professeur à l'Université Frères Mentouri Constantine 1 en nous faisant l'honneur de présider le jury d'évaluation de ce mémoire.*

✓ *Nous tenons également à remercier Mr.CHIKHI A. Professeur à l'Université Frères Mentouri Constantine 1 pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

✓ *Nous remercions aussi Mme.TENIOU S. Maître-assistant 'A' à L'Université Frères Mentouri Constantine 1 pour son aide et ces conseils.*

*Enfin nous tenons à remercier toute personne qui de près ou de loin nous a soutenu pour mener à terme notre travail.*





## Dédicaces

Merci **ALLAH** de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le bonheur de lever mes mains vers le ciel et de dire « Ya Kayoum ».

Je dédie ce travail :

♥♥ A ma chère mère **Houria** que dieu ait pitié d'elle; j'espère que vous êtes heureuse et fière de moi que j'ai réalisé ses vœux.

♥♥ A Mon père **Belkacem**, pour tout sa sacrifice, s'amour, sa tendresse, sa soutien et sa prière tout au long de mes études.

♥ A mes sœurs : **Nabila** et **Razika** et surtout ma belle sœur **Keltoum** que dieu ait pitié d'elle et ma grande sœur **Fadila** et **fatma** vraiment un grand merci le mot "merci" n'est plus suffisant pour vous, pour son soutien moral et sa confiance.

♥ A mes frères : **Yaakoub**, **Hamza**, **Mohamed** pour leurs amours.


♥ A mes étoiles brillants : **Lyna**, **Loukmane**, **Ayoub** et **Amine** surtout **Houcine**.


♥ A toute ma famille et surtout à ma grand-mère **Zaïneb**.

♥ A mes fidèles amies **Samia** et **Zaïneb** et **Khaoula** Pour leurs amours et leurs encouragements.

♥ A la personne secrètement sous le nom **L S** pour son soutien moral et son encouragement.

♥ A mon binôme **Ouahiba** qui j'ai trouvé l'entente dont j'avais besoin.





♥ *A tous mes collègues de promotion de master biochimie appliquée chaque un a son nom avec lesquels j'ai partagé mes moments de joie et de bonheur et spécialement : Zahia.*

♥ *A toute personne ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.*

♥ *A Tous mes enseignants durant les années des études.*

♥ *A tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer....*

♥♥ *Merci* ♥♥

♥♥♥ *KARA Assia* ♥♥♥





## *Dédicaces*

*Je remercie mon Dieu le tout puissant de m'avoir aidé tout au long de mes années d'études.*

*Et que nous a donné le pouvoir et le courage pour élaborer ce travail.*

*Du fond de mon cœur et avec l'intensité de mes émotion, je dédie ce travail :*

*A mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont enseigné la persévérance dans mes études. J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.*

*A mes aimables frères : Hamza ,Mouatez BiAllah.*

*Ainsi que mes sœurs Moufida, Nadjoï, Hosna et Bouchra.*

*Pour leurs amours et leurs sacrifices sans limites.*

*A la mémoire de mon frère « Issam ».*

*A ma chère grande mère "Baya" que dieu la garde*

*A ma chère nièce Baylassane*

*A mes très chers neveux Abderrahmane, Ayoub.*

*A mes fidèles amies : Kenza, Hadjer ,Yasmína, Imane, Ouarda et Soumia.*

*A Mon binôme Assia.*

*A tous mes collègues de la promotion Biochimie Appliquée.*

*A Tous mes enseignants durant les années des études.*

*A Que toute personne m'ayant aidé de près ou de loin, trouve ici l'expression de ma reconnaissance.*



**HAMIL Ouahiba**

1. Introduction ..... 1

## Revue bibliographique

### Chapitre 1: La tyrosinase

1. Introduction ..... 2

2. La mélanogénèse ..... 2

3. Description structurale de la tyrosinase ..... 3

    3.1. Le site actif ..... 4

    3.2. Rôle physiologique de la tyrosinase ..... 5

4. Les inhibiteurs de la tyrosinase ..... 5

    4.1. Les inhibiteurs naturels ..... 5

        4.1.1. Flavonoïdes ..... 5

        4.1.2. Hydroquinone ..... 6

        4.1.3. Arbutine ..... 6

        4.1.4. Acide kojique ..... 7

    4.2. Les inhibiteurs synthétiques ..... 7

        4.2.1. Tropolone ..... 7

        4.2.2. 4-n-butylrésorcinol ..... 8

        4.2.3. N- phenylethiourée ..... 8

        4.2.4. Acide azélaïque ..... 9

### Chapitre 2 : Le docking moléculaire

1. Introduction ..... 11

2. Du docking rigide vers l'introduction de la flexibilité ..... 12

3. Les outils du docking moléculaire ..... 12

    3.1. Récepteur ..... 12

    3.2. Ligand ..... 12

    3.3. Les programmes ..... 13

### Chapitre 3 : Matériels et Méthodes

1. Matériels ..... 14

    1.1. Microordinateur ..... 14

1.2. Programmes .....	14
1.3. Banques de données .....	14
2. Méthodes .....	14
2.1. Préparation de la protéine .....	14
2.2. Préparation des ligands .....	16
2.3. Docking avec Surflex .....	16
2.3.1. Génération du protomol .....	16
2.3.2. Docking Moléculaire .....	16
 <b>Chapitre 4 : Résultats et Discussion</b>	
1. Tests de fiabilité du programme de docking .....	17
1.1. Le test RMSD .....	17
1.2. L'analyse visuelle .....	18
1.3. Test du coefficient de corrélation linéaire .....	21
1.4. Conclusion .....	23
2. Etude des interactions tyrosinase-inhibiteurs .....	24
2.1. Etude des interactions du complexe tyrosinase-composé <b>2</b> .....	24
2.2. Le complexe tyrosinase-composé <b>4</b> .....	27
3. Proposition de nouveaux inhibiteurs de la tyrosinase .....	29
3.1. Mono-substitution .....	29
3.2. Bi-substitution .....	33
3.2.1. Etude d'interaction du composé S25 envers le site actif de la tyrosinase	34
3.2.2. Le complexe tyrosinase-composé S26 .....	36
3.2.3. Le complexe tyrosinase-composé S27 .....	38
3.2.4. Le complexe tyrosinase-composé S28 .....	40
3.2.5. Le complexe tyrosinase-composé S29 .....	42
 <b>Conclusion</b> .....	 45
 Références bibliographiques	
 Annexes	
 Résumés	

*Liste des tableaux*

**Tableau N°1** : Quelques produits cosmétiques dépigmentants vendus sur le marché Européen et international pour la peau blanche (**IMShealth**) ..... 10

**Tableau N°2** : Valeurs de RMSD des cinq complexes tyrosinase-inhibiteur étudiés ..... 18

**Tableau N°3** : Affinités de 33 inhibiteurs de la tyrosinase simulée par Surflex et les valeurs de leur IC<sub>50</sub> obtenues expérimentalement ..... 22

**Tableau N°4** : Score de docking des nouveaux inhibiteurs théoriques de la Tyrosinase obtenus après mono-substitutions du composé **2**..... 29

**Tableau N°5** : Score de docking des nouveaux inhibiteurs théoriques de la Tyrosinase après mono-substitutions du composé de départ **4** ..... 30

**Tableau N°6** : Score de docking des nouveaux inhibiteurs théoriques de la Tyrosinase obtenus après bi-substitutions..... 33



*Liste des figures*

<b><u>Figure N°1</u></b> : Biosynthèse des mélanines.....	3
<b><u>Figure N°2</u></b> : Structure de la tyrosinase.....	4
<b><u>Figure N°3</u></b> : Structures de la quercétine et le kaempferol.....	6
<b><u>Figure N°4</u></b> : Structures de L'hydroquinone et d'arbutine .....	6
<b><u>Figure N°5</u></b> : Structure de l'acide kojique.....	7
<b><u>Figure N°6</u></b> : Structure de la tropolone .....	7
<b><u>Figure N°7</u></b> : Structure du 4-n-butylrésorcinol .....	8
<b><u>Figure N°8</u></b> : Structure du N- phenylethiourée .....	8
<b><u>Figure N°9</u></b> : Structure de l'acide azelaïque .....	9
<b><u>Figure N°10</u></b> : Représentation par VMD de la cavité de la tyrosinase .....	15
<b><u>Figure N°11</u></b> : Résultats en % obtenus par Surfex à deux intervalles de RMSD(Å) .....	17
<b><u>Figure N°12</u></b> : Superposition des géométries de l'inhibiteur KOJ donnée par rayons X (Coloré en rouge) et par docking avec Surfex (coloré par type d'atomes) .....	19
<b><u>Figure N°13</u></b> : Superposition des géométries du ligand HQE données par rayon-X (coloré en rouge) et par modélisation avec Surfex (colorées par type d'atome) .....	19
<b><u>Figure N°14</u></b> : Superposition de la conformation du ligand HQE issue de la diffraction par rayons X (coloré en rouge) et celle simulée par Surfex (colorées par type d'atome) .....	20
<b><u>Figure N°15</u></b> : Comparaison des géométries de l'inhibiteur OTR données par rayon-X (coloré en rouge) et par simulation avec Surfex (coloré par type d'atomes) .....	20
<b><u>Figure N°16</u></b> : Alignement des conformations expérimentales (coloré en rouge) et calculée par Surfex (colorées par type d'atome) de l'inhibiteur KOJ .....	21
<b><u>Figure N°17</u></b> : Corrélation entre l'activité biologique (Log IC <sub>50</sub> ) de 33 inhibiteurs et leur affinité vis-à-vis de la tyrosinase .....	23

<b><u>Figure N°18</u></b> : Structure chimique des composés <b>2</b> (à gauche) et <b>4</b> (à droite) .....	24
<b><u>Figure N°19</u></b> : Liaisons hydrogène formées entre le composé <b>2</b> et le site actif de la tyrosinase .....	25
<b><u>Figure N°20</u></b> : Interactions hydrophobiques entre le composé <b>2</b> et le site actif de la tyrosinase .....	26
<b><u>Figure N°21</u></b> : Illustration du positionnement du composé <b>2</b> dans le site actif de la tyrosinase .....	26
<b><u>Figure N°22</u></b> : Liaisons hydrogène formées entre le composé <b>4</b> et le site actif de la tyrosinase .....	27
<b><u>Figure N°23</u></b> : Interactions hydrophobique entre le composé <b>4</b> et le site actif de la tyrosinase .....	28
<b><u>Figure N°24</u></b> : Illustration du positionnement du composé <b>4</b> dans le site actif de la tyrosinase .....	28
<b><u>Figure N°25</u></b> : Liaisons hydrogène entre le composé S2 et le site actif de la tyrosinase .....	31
<b><u>Figure N°26</u></b> : Interactions hydrophobes entre le composé S2 et le site actif de la tyrosinase .....	32
<b><u>Figure N°27</u></b> : Représentation du positionnement du composé S2 dans le site actif de la tyrosinase.....	32
<b><u>Figure N°28</u></b> : Liaisons hydrogène entre le composé S25 et le site actif de la tyrosinase .....	34
<b><u>Figure N°29</u></b> : Interactions hydrophobes formées entre le composé S25 et le site actif de la tyrosinase.....	35
<b><u>Figure N°30</u></b> : Illustration du positionnement du composé S25 dans le site actif de la tyrosinase.....	35
<b><u>Figure N°31</u></b> : Liaisons hydrogène entre le composé S26 et le site actif de la tyrosinase ....	36

<b><u>Figure N°32</u></b> : Interactions hydrophobiques entre le composé S26 et le site actif de la tyrosinase.....	37
<b><u>Figure N°33</u></b> : Illustration du positionnement du composé S26 dans le site actif de la tyrosinase.....	37
<b><u>Figure N°34</u></b> : Liaisons hydrogène entre le composé S27 et le site actif de la tyrosinase...	38
<b><u>Figure N°35</u></b> : Interactions hydrophobes entre le composé S27 et le site actif de la tyrosinase .....	39
<b><u>Figure N°36</u></b> : Illustration du positionnement du composé S27 dans le site actif de la tyrosinase.....	39
<b><u>Figure N°37</u></b> : Liaisons hydrogène entre le composé S28 et le site actif de la tyrosinase ...	40
<b><u>Figure N°38</u></b> : Interactions hydrophobes entre le composé S28 et le site actif de la tyrosinase .....	41
<b><u>Figure N°39</u></b> : Représentation du positionnement du composé S28 dans le site actif de la tyrosinase .....	41
<b><u>Figure N°40</u></b> : Liaisons hydrogène entre le composé S29 et le site actif de la tyrosinase .....	42
<b><u>Figure N°41</u></b> : Interactions hydrophobes entre le composé S29 et le site actif de la tyrosinase .....	43
<b><u>Figure N°42</u></b> : Représentation du positionnement du composé S29 dans le site actif de la tyrosinase .....	43

### *Liste des abréviations*

**2D** : Deux dimensions.

**3D** : Trois dimensions.

**μM** : Micro molaire.

**Å** : Angström.

**IC<sub>50</sub>** : Inhibitory concentration 50.

**KDa** : Kilo Dalton.

**L-DOPA** : L-3, 4 Dihydroxyphénylalanine.

**PDB** : Protein Data Bank (banque de donnée protéique).

**PM** : Poids moléculaire.

**r** : Coefficient de corrélation linéaire.

**RMN** : Résonance Magnétique Nucléaire.

**RMSD** : Root Mean Square Deviation.

**TYR** : Tyrosinase.

**VMD** : Visual Molecular Dynamics.



*Liste des annexes*

**Annexe 1** : Résultats obtenue de RMSD des complexes protéines-ligands.

**Annexe 2** : Structures des 33 inhibiteurs de tyrosinase utilisés dans l'étude de la régression Linéaire.

**Annexe 3** : les mono-substitutions du composé 2.


**Annexe 4** : les bi-substitutions du composé 2.

**Annexe 5** : les mono-substitutions du composé 4.

**Annexe 6** : les bi-substitutions du composé 4.

**Annexe 7** : Structures des meilleurs inhibiteurs de tyrosinase après mono-substitution du composé 2.

**Annexe 8** : Structures des meilleurs inhibiteurs de tyrosinase après bi-substitution du composé S1 et composé S2.



*Introduction  
générale*

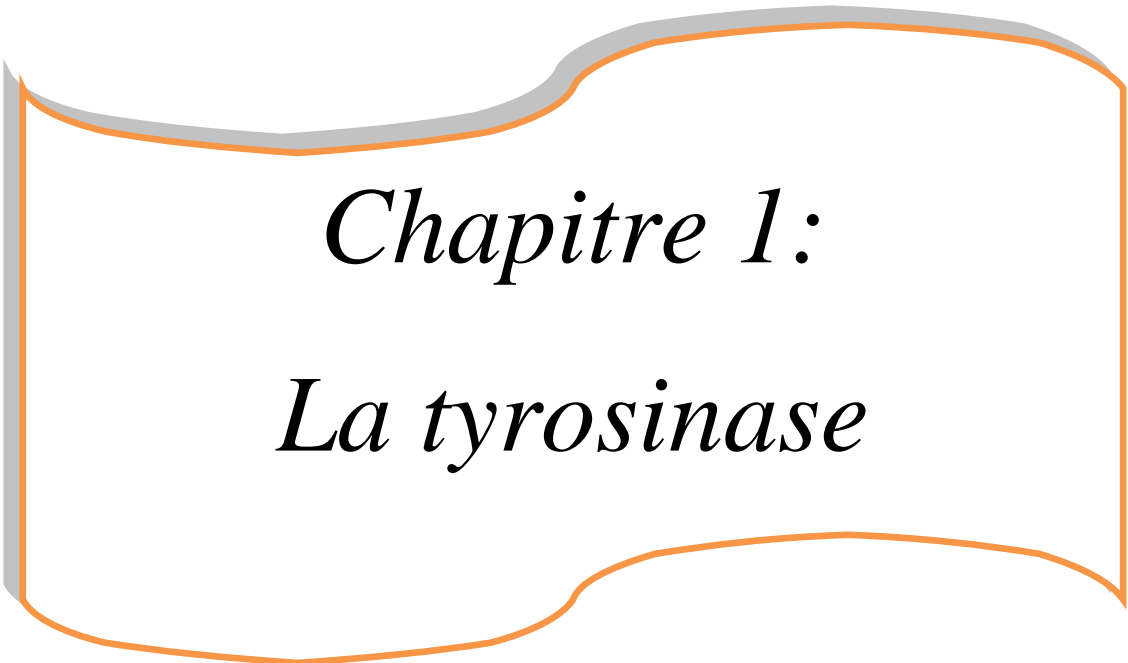
La conception d'un nouveau médicament est un processus basé sur une méthode quasiment expérimentale, long, coûtant très cher à l'industrie pharmaceutique (au moins 800 millions de dollars). Avec le développement de l'outil informatique, des méthodes de modélisation moléculaire *in silico*, telle que le docking moléculaire, ont pris une place capitale dans le processus du *drug design*. En effet, cette approche consiste à rechercher le mode d'interaction le plus favorable d'un ligand au sein de son récepteur, ce qui est plus facile à mettre en œuvre, plus rapide pour un coût bien moindre que les méthodes expérimentales classiques [1].

Notre travail de master a pour objectif essentiel d'acquérir des compétences en docking moléculaire afin de contribuer à la mise en évidence de nouveaux inhibiteurs de la tyrosinase (TYR) ; cible thérapeutique validée pour le traitement de l'hyperpigmentation de la peau. En effet, cette enzyme participe à la régulation de la synthèse des deux types de mélanines : l'eumélanine et la phéomélanine. L'élévation de la synthèse et de l'accumulation des mélanines au niveau de la peau est une caractéristique courante dans de nombreux types de troubles cutanés [2]. Ainsi, l'inhibition de la TYR peut considérablement corriger le taux des mélanines dans le cas de l'hyperpigmentation.

Afin de proposer de nouveaux inhibiteurs de la cible enzymatique étudiée, nous avons tenté, dans un premier temps, de tester la fiabilité du programme de docking 'Surflex' utilisé dans cette étude via deux tests. Le premier consiste à calculer l'écart quadratique moyen ou RMSD entre la position du ligand simulée par le logiciel et celle déterminée expérimentalement. Quant au deuxième test, il consiste à calculer le coefficient de corrélation linéaire entre les scores d'affinité obtenus par docking de 33 molécules retenues dans cette étude et les valeurs expérimentales de leur  $IC_{50}$ .

Dans un deuxième temps, nous avons apporté des substitutions structurales sur deux inhibiteurs approuvés, choisis selon leur score théorique et  $IC_{50}$  expérimentale. Le docking moléculaire des structures substituées envers le site actif de la TYR nous permettra de faire ressortir les inhibiteurs les plus puissants et sélectif envers cette cible.

Enfin, l'application de la règle de lipinski nous permettra de vérifier la biodisponibilité par voie orale des composés proposés.



*Chapitre 1:*  
*La tyrosinase*



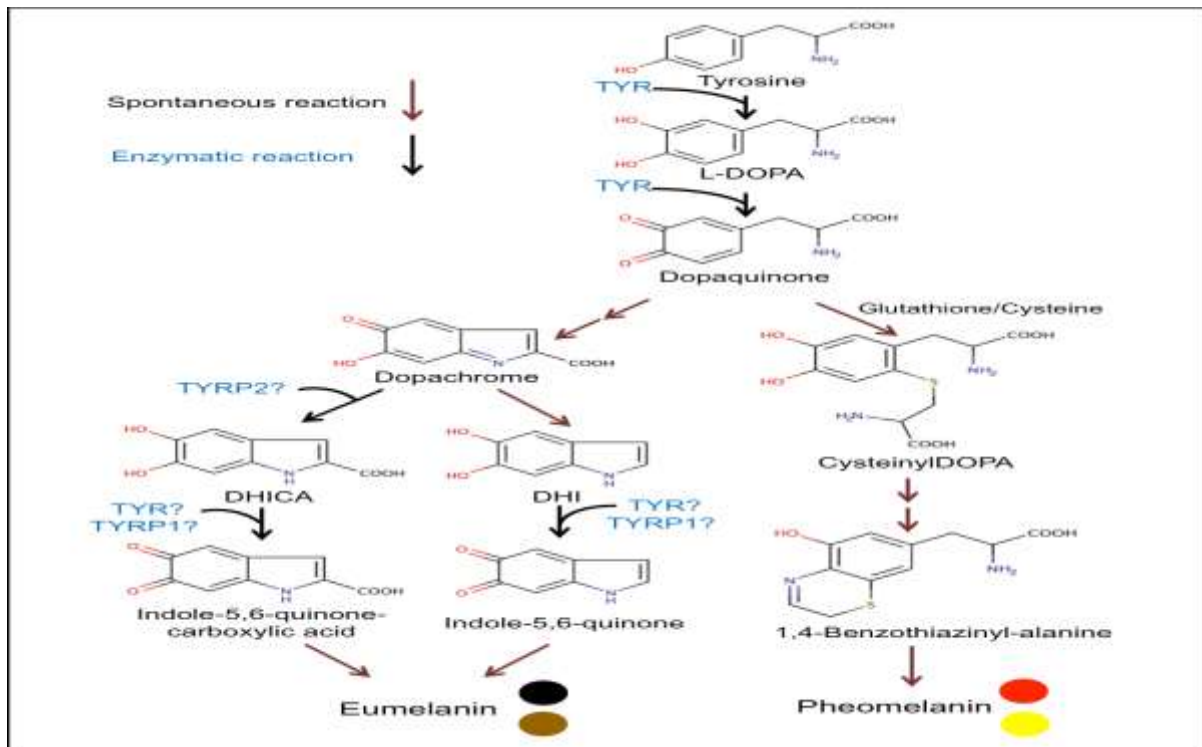
## **1. Introduction**

La peau constitue l'organe le plus grand du corps humain représentant 16 % de son poids total. Composée de plusieurs couches de tissus, elle forme une barrière de protection de l'organisme contre le milieu extérieur, mais assure également d'autres fonctions vitales. La peau peut être endommagée lorsqu'elle est exposée aux rayonnements UV, provoquant ainsi des pathologies importantes, telles que les cancers de la peau et l'hyperpigmentation. Cette dernière pathologie s'installe suite à un dérèglement de la production des mélanines par les mélanocytes suivant la mélanogénèse. Il s'agit d'un processus impliquant une série de réactions enzymatiques dont la TYR [3,4].

Pour lutter contre l'hyperpigmentation de la peau, les médecins font habituellement appel aux traitements par agents chimiques dépigmentants ainsi que la thérapie par laser. Plus récemment, les inhibiteurs de la TYR sont de plus en plus utilisés en cosmétique médicale afin de régler le taux de l'eumélanine et la phéomélanine au niveau de la peau [5,6].

## **2. La mélanogénèse**

Sur le plan biochimique, les mélanines constituent un groupe hétérogène de pigments appartenant à deux principales familles chimiques à savoir : les eumélanines et les phéomélanines. En effet, la synthèse de ces pigments mélaniques s'effectue selon une succession de processus enzymatiques complexes débutant par l'oxydation de la L-tyrosine en L-DOPA (L-3,4 Dihydroxyphénylalanine), qui à son tour sera oxydée en dopaquinone. Ces deux réactions sont catalysées par une seule et même métalloenzyme, la TYR (voir figure N°1) [3].



**Figure N°1 :** Biosynthèse des mélanines.

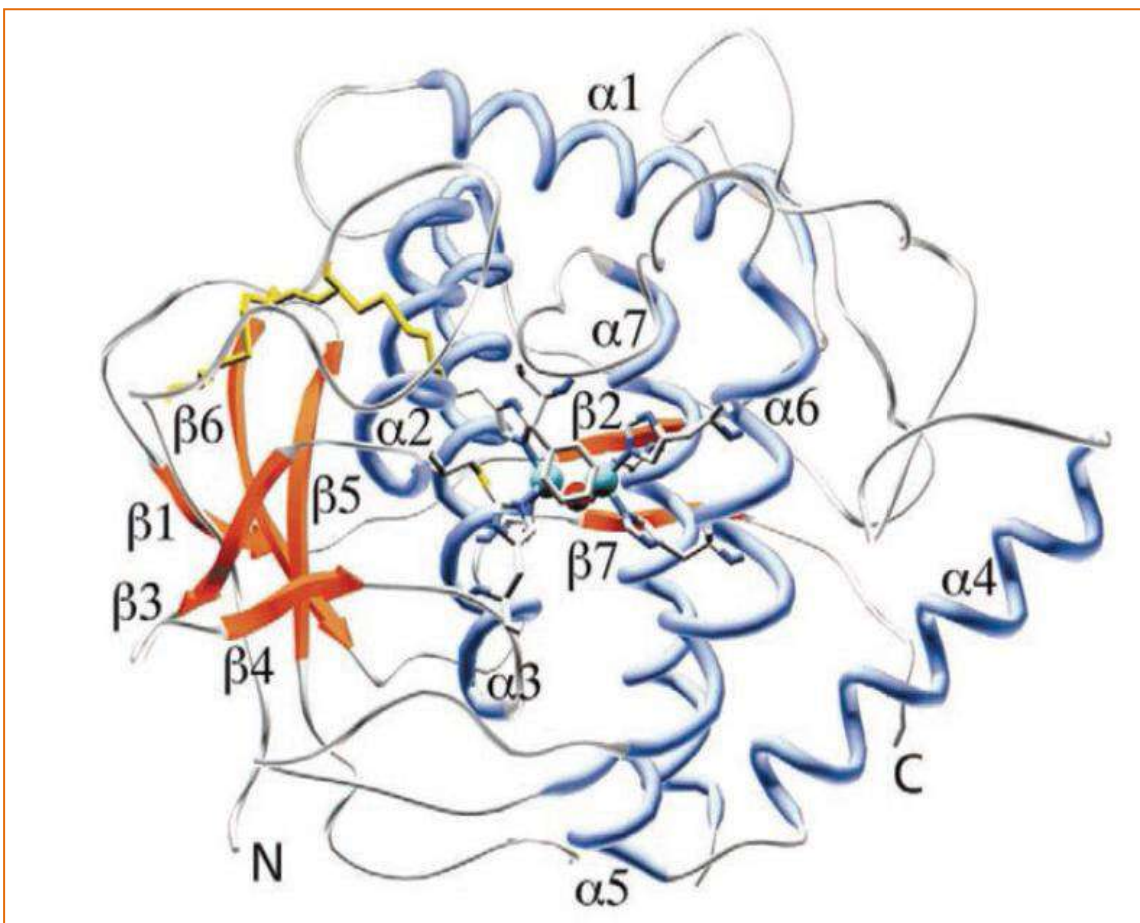
### 3. Description structurale de la tyrosinase

La TYR, (EC 1.14.18.1) aussi appelée polyphénol oxydase ou monophénol mono-oxygénase, est une métalloprotéine formée de 4 sous-unités [7]. Elle semble être universellement distribuée chez les animaux, les plantes, les champignons et les bactéries. La TYR humaine comme celle des mammifères appartient à la famille des protéines transmembranaires de type I, encodée par un gène localisé sur le locus c du chromosome 11 [3]. Elle a été découverte pour la première fois en 1856 par Schoenbein dans le champignon *Boletus luciferus*. Il a observé que l'extrait de ce champignon catalyse l'oxydation en aérobie de certains composés en formant un pigment bleu dans les plantes.

La TYR est une glycoprotéine de 569 acides aminés ayant une masse moléculaire d'environ 128 à 133 KDa [8]. Structuralement parlant, la TYR peut être subdivisée en trois domaines : Le domaine N-terminal, le domaine C-terminal et le domaine central où se trouvent six résidus histidine conservés ainsi que les ions oxydants CuA et CuB [9]. Il est à signaler que la structure secondaire de cette enzyme est principalement  $\alpha$ -hélicoïdale.

### 3.1. Le site actif

Dans la cavité catalytique de l'enzyme se trouve deux atomes de cuivre (site actif catalytique) entourés par quatre hélices  $\alpha$  ( $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$ ,  $\alpha 6$  et  $\alpha 7$  ; Figure N°2). Ces deux ions sont entourés par d'autres hélices,  $\alpha 1$  et  $\alpha 4$ , et plusieurs coudes  $\beta$  [10]. Le CuA est coordonné par les résidus His88, His109 et His118. Le résidu His88 est situé au milieu de l'hélice  $\alpha 2$ , tandis que His109 et His118 se situent au niveau de l'hélice  $\alpha 3$ . De son côté, le second cuivre catalytique, CuB, est coordonné par les résidus His240, His244 et His274 qui se trouvent au niveau des hélices  $\alpha 6$  et  $\alpha 7$  [7].



**Figure N°2 :** Structure de la tyrosinase.

### **3.2. Rôle physiologique de tyrosinase**

La TYR est un membre de la famille des enzymes de cuivre de type 3, elle joue un rôle primordial dans la synthèse des mélanines principalement l'eumélanine et la phéomélanine. En effet, elle catalyse les deux premières étapes de la mélanogenèse correspondant à la conversion de l'acide aminé L-tyrosine en L-DOPA quinone. Cette réaction implique à la fois l'hydroxylation et l'oxydation à deux électrons du substrat, accompagnée de la formation d'eau. La polymérisation spontanée subséquente de l'ortho-quinone conduit au biopolymère mélanine [11].

L'élévation de la synthèse et de l'accumulation des mélanines au niveau de la peau est une caractéristique courante dans de nombreux types de troubles cutanés, y compris l'hyperpigmentation acquise, le lentigo solaire ou sénile, le mélasma, le mélanome et la neurodégénérescence associée à la maladie de Parkinson [2]. Ainsi, l'inhibition de la TYR peut considérablement corriger le taux des mélanines dans les cas précités.

## **4. Les inhibiteurs de la tyrosinase**

Les inhibiteurs de la TYR sont de petites molécules de synthèse, héli-synthèse ou naturels. Ils inhibent sélectivement cette enzyme afin d'abaisser le taux des mélanines chez les patients souffrants d'une hyperpigmentation [3].

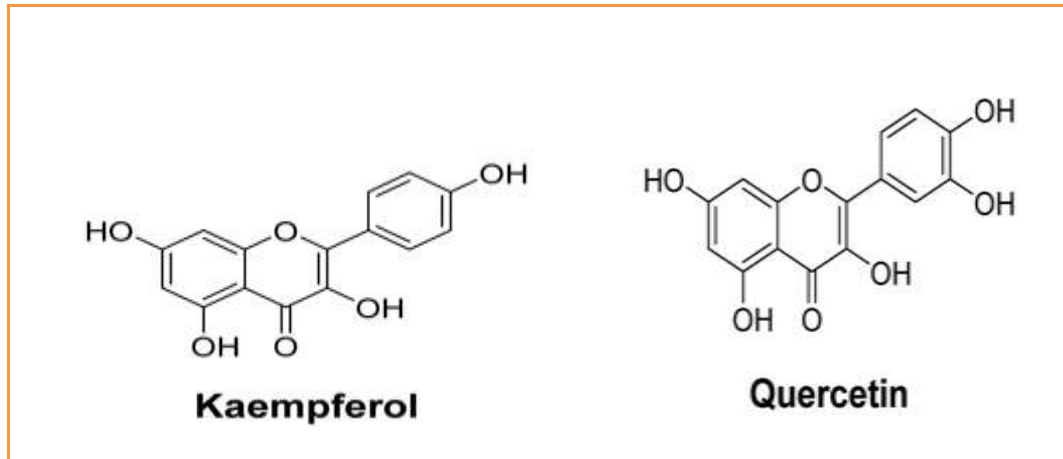
### **4.1. Les inhibiteurs naturels**

Les inhibiteurs de la TYR provenant de sources naturelles attirent généralement plus attention par rapport aux composés synthétisés chimiquement en raison de la demande cosmétique. Dans cette classe d'inhibiteurs, on distingue :

#### **4.1.1. Flavonoïdes**

Les flavonoïdes occupent la plus grande partie dans les inhibiteurs de TYR naturels nouvellement découverts. Une étude réalisé par Nakashima et al (2010) à mis en évidence l'activité anti-TYR de certains flavonoïdes, tels que la quercétine et le kaempférol avec des  $IC_{50}$  respectives de  $15\mu M$  et  $25\mu M$  [12].





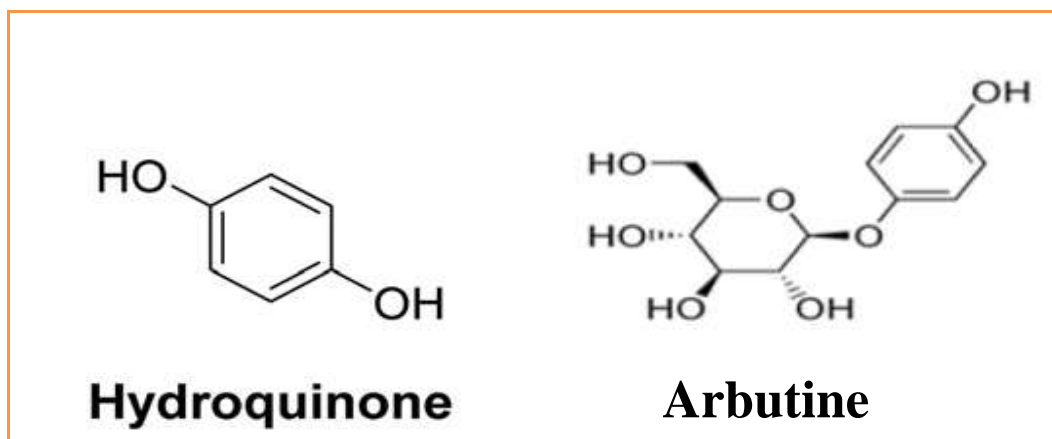
**Figure N°3 :** Structures de la quercetine et le kaempferol.

#### 4.1.2. Hydroquinone

Depuis 1961, l'hydroquinone est utilisé pour le traitement des hypermélanosomes [13]. Par la suite, il a été prouvé que cette molécule inhibe d'une manière compétitive le site actif de la TYR en bloquant la synthèse des mélanines [14] avec un  $IC_{50}$  égal à  $4500 \mu M$  [15].

#### 4.1.3. Arbutine

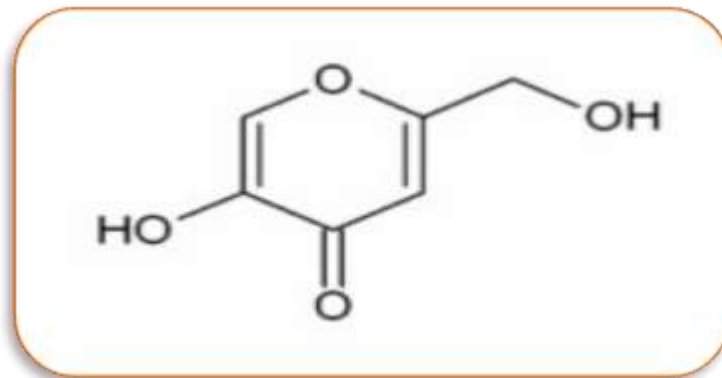
Largement utilisé en cosmétique, l'arbutine est un promédicament de l'hydroquinone inhibant la synthèse des mélanines en bloquant le site actif de la TYR [16] avec un  $IC_{50}$  égal à  $17000 \mu M$  [15]. Il s'agit d'un glycoside naturel fréquent dans les plantes de la famille des *Ericacées*. En présence d'une glycosidase, il se décompose rapidement en glucose et en hydroquinone [3].



**Figure N°4 :** Structures de l'hydroquinone et d'arbutine.

#### 4.1.4. Acide kojique

L'acide Kojique est un inhibiteur fongique de la TYR agissant particulièrement comme un chélateur des ions cuivrique du site actif de la tyrosinase. Ce métabolite est utilisé en cosmétique sous forme de pommades pour blanchiment de la peau [14]. Ce composé est largement utilisé dans la recherche scientifique comme étant un inhibiteur de référence de la TYR. Sa valeur d'IC<sub>50</sub> est égale à 17.94 µM [17].

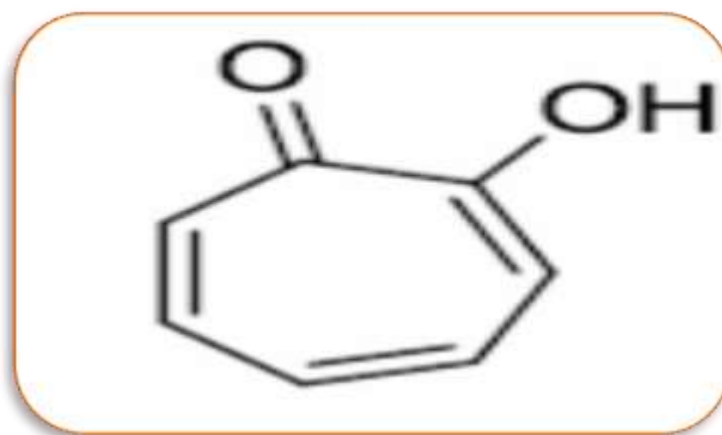


**Figure N°5 :** Structure de l'acide kojique.

## 4.2. Les inhibiteurs synthétiques

### 4.2.1. Tropolone

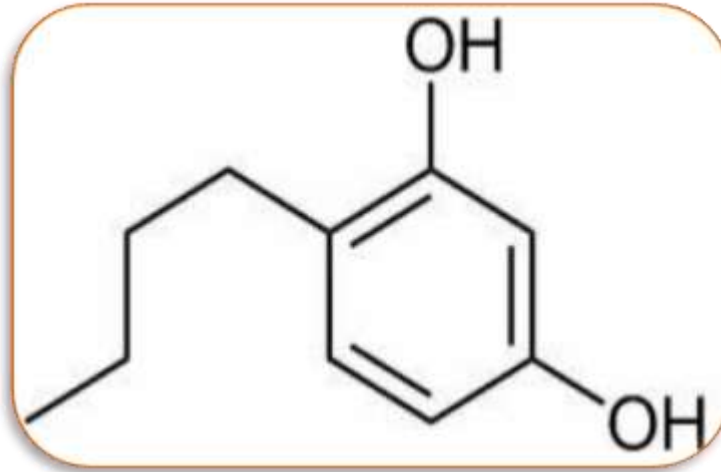
La tropolone est une molécule synthétique connue pour complexer des métaux. Elle a été identifiée comme un puissant inhibiteur de la TYR, avec un IC<sub>50</sub> égal à 0,5 µM [18].



**Figure N°6 :** Structure de la tropolone.

#### 4.2.2. 4-n-butylrésorcinol

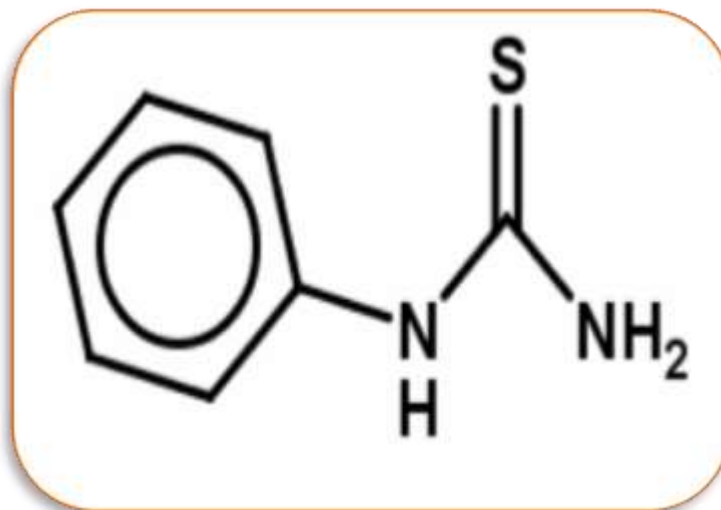
Le 4-n-butylrésorcinol connu sous le nom commercial de Rucinol® est un inhibiteur des voies de synthèse de la mélanine. Il inhibe la TYR, réduisant ainsi la quantité de mélanines produites [13] avec un  $IC_{50}$  égal 13.5  $\mu\text{mol/L}$  [16].



**Figure N°7 :** Structure du 4-n-butylrésorcinol.

#### 4.2.3. N- phenylethiourée

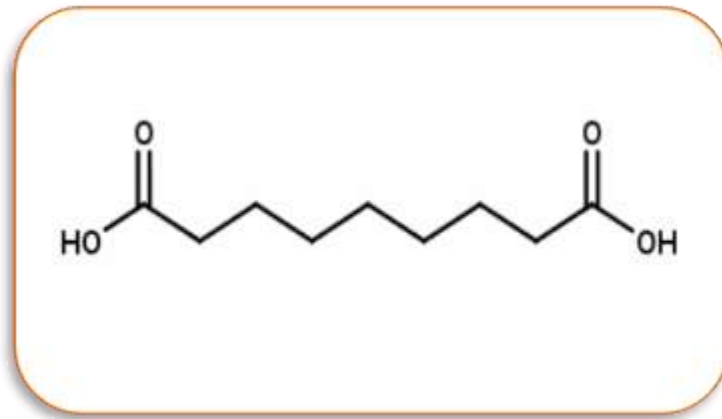
Le N- phenylethiouré se présente comme l'un des meilleurs inhibiteurs compétitifs de la TYR avec un  $IC_{50}$  égal à 1.5 $\mu\text{M}$  [16].



**Figure N°8 :** Structure du N- phenylethiourée.

#### 4.2.4. Acide azélaïque

L'un des traitements de l'hyperpigmentation les plus vendus est connu sous le nom commercial de Skinoren®. Le principe actif de ce produit s'appelant L'acide azélaïque est un puissant inhibiteur de la TYR. Il ne présente aucun effet sur la peau normalement pigmentée [13,19].

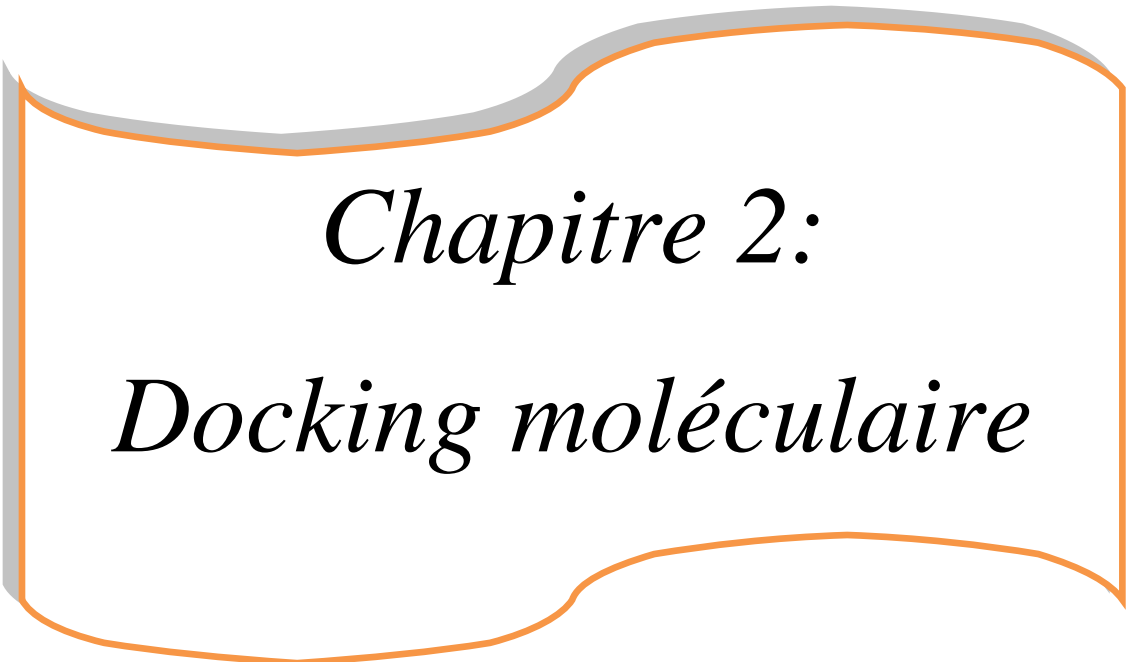


**Figure N°9** : Structure de l'acide azélaïque.

Nous citons dans le tableau N°1 quelques produits cosmétiques vendus sur le marché européen ayant comme effet l'inhibition de la TYR afin de traiter l'hyperpigmentation de la peau.

**Tableau N°1 :** Quelques produits cosmétiques dépigmentants vendus sur le marché Européen et international pour la peau blanche (IMShealth) [20].

Produits	Laboratoire	Dépigmentant
Mela-D® crème visage 30 ml	La Roche-Posay	Acide kojique : inhibiteur de la TYR
Meladerm® crème 50 ml	Civant Skin Care	Arbutine, acide kojique, extrait de Réglisse : inhibiteur de TYR ; Vitamine C : antioxidant
Melascreen dépigmentant® crème 40 ml	Ducray	Acide azélaïque : inhibiteur de la TYR ; Acide glycolique : effet peeling qui élimine la mélanine dans les couches superficielles et facilite la pénétration de l'acide azélaïque.
Revitol Skin Brightener® Crean	Revitol	Arbutine: inhibiteur de TYR.



*Chapitre 2:*  
*Docking moléculaire*

## 1. Introduction

L'action d'une molécule dans une protéine est gouvernée par des principes de reconnaissance mutuelle entre la molécule et sa cible. C'est dans ce contexte que s'inscrit le docking moléculaire. Il s'agit d'un ensemble de méthodes algorithmiques et géométriques permettant la prédiction *in silico* de la conformation (position et orientation relative) la plus favorable d'un ligand au sein de son récepteur [21]. Dans la plupart des cas, il s'agit d'un récepteur macromoléculaire le plus souvent une protéine (cible) et d'une petite molécule (ligand). Le terme docking seul est couramment employé pour désigner un « docking protéine-ligand » [22].

Dans ces dernières décennies, la conception de molécules d'intérêt thérapeutique a bénéficié des progrès issus de diverses disciplines scientifiques telles que la biologie, la pharmacochimie et l'informatique. En effet, avec le développement de l'outil informatique, la modélisation moléculaire et plus précisément le docking moléculaire (assemblage ou arrimage moléculaire) a rapidement investi dans le domaine de la recherche en biologie pour y devenir un outil incontournable [23,24].

Le docking moléculaire a été appliqué avec succès sur un certain nombre de cibles thérapeutiques (protéines) dont la structure 3D en complexe avec le ligand a été parallèlement déterminée. Actuellement, un bon nombre de médicaments mis sur le marché proviennent d'une conception rationnelle basée sur des stratégies de criblage virtuel comme par exemple :

- Des inhibiteurs de l'aldose réductase: par recherche dans des bases de données de composés.
- Un inhibiteur d'un élément de réponse de la trans-activation de la HIV-1 RNA: par docking rigide et recherche dans des bases de données de composés.
- Un inhibiteur de la thrombine et celui de la glyceraldéhyde-3-phosphate dehydrogenase : par docking sur des chimiothèques combinatoires [25].



## **2. Du docking rigide vers l'introduction de la flexibilité**

Les méthodes de docking peuvent être classées en trois catégories selon la prise en compte de la flexibilité du ligand.

La première catégorie considère le ligand et la protéine comme étant rigides, reflétant ainsi le principe du concept « clé-serrure » où seul le ligand (représentant la clé) qui possède la bonne taille et la bonne forme peut ouvrir une serrure, la protéine [26]. Les premiers logiciels de docking se sont donc inspirés de ce concept. La seconde considère le ligand comme étant flexible tout en conservant la protéine rigide. L'utilisation de cette approche pour concevoir un nouveau médicament a permis d'obtenir des résultats plus précis. Ce type de docking reste plus employé aujourd'hui. La dernière catégorie permet de traiter la flexibilité du ligand et de façon partielle la protéine [27].

### **3. Les outils du docking moléculaire**

#### **3.1. Récepteur**

La disponibilité de la structure des protéines est l'un des éléments essentiels à considérer avant de réaliser un docking [28]. En général, les sources d'information de ces structures proviennent majoritairement de la cristallographie aux rayons X et de la RMN. Cette technique est responsable de la majorité des structures issues d'une base de données de structures accessibles gratuitement appelée la «*Protein Data Bank*» (PDB). En mars 2018, plus de 117 000 structures protéiques ont été résolues et injectées dans la PDB grâce à la cristallographie aux rayons X. La RMN fournit, quant à elle, environ 11 000 structures, contre seulement 1500 dans le cas de la microscopie électronique [29]. Lorsque la structure 3D d'une protéine n'a pas encore été résolue expérimentalement, des méthodes de prédiction par homologie de séquence peuvent être mises en œuvre [30].

#### **3.2. Ligand**

Pour obtenir la structure chimique tridimensionnelle d'un ligand, il existe deux méthodes : La première souvent d'aspect commercial, est constituée de bases de données de structures chimiques appelées chimiothèques ou espaces chimiques. Le second moyen consiste à utiliser des ligands de la PDB ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et sauvegarder dans différents formats (pdb, mol, mol2....etc) grâce à des logiciels de

construction moléculaire tels que ChemDraw, Arguslab, Titan ou Sybyl pour ne citer que ces exemples [25].

### 3.3. Les programmes

Le docking est une approche permettant de prédire les interactions probables entre des ligands (substrat, activateur ou inhibiteur) et leur cible. Il se déroule en deux étapes distinctes: La première étape consiste à placer et à positionner le ligand dans son site d'interaction. La seconde étape consiste, quant à elle, à évaluer les poses du ligand générées lors de la première étape pour ne retenir que la ou les meilleures. Les algorithmes utilisés pour ces deux étapes diffèrent en fonction du programme de docking utilisé [31].

A l'heure actuelle, un grand nombre de programmes (commerciaux ou libres) de docking moléculaire sont disponibles. Parmi ceux-ci, nous citons à titre exemple AutoDock [32], FlexX [33], Gold [34], Dock [35] et Surflex [36].

Ce dernier programme a été utilisé dans le présent travail afin d'étudier *in silico* l'inhibition de la TYR par divers molécules. Ce programme utilise l'algorithme de Hammerhead pour réaliser le docking semi-flexible des ligands dans le site actif. Surflex commence par générer un ligand idéal pour le site de liaison étudié, communément appelé « protomol ». Pour cela, trois types de fragments (CH<sub>4</sub>, C=O et N-H) sont placés dans de multiples positions dans le site actif, optimisés pour permettre l'établissement d'interactions avec le site de liaison et scorés. Seuls les fragments ayant obtenus les meilleurs scores sont retenus pour construire le protomol qui couvre l'intégralité du site actif [30,37].



*Chapitre 3:*  
*Matériels et Méthodes*

## 1. Matériels

### 1.1. Microordinateur

Dans notre étude, nous avons utilisé un micro-ordinateur ayant une mémoire vive de 2 GO. Les programmes utilisés sont installés sous le système d'exploitation Windows 7.

### 1.2. Programmes

Afin de concrétiser la partie pratique de notre travail, nous avons utilisé plusieurs programmes. En effet, le programme de docking moléculaire Surflex (v1.3) [36] a été utilisé pour simuler les interactions entre la TYR et ses inhibiteurs. De même, les programmes de visualisation moléculaire VMD (1.9.1) [38] et ViwerLite (4.2) [39] ont été utilisés. Le premier logiciel nous a aidé à visualiser et à préparer la protéine cible et le deuxième logiciel nous a permis de visualiser les interactions formées entre les différents inhibiteurs et le site actif étudié. Nous avons également utilisé le programme Titan (1.0.1) afin de construire les ligands issus de la littérature. Enfin, le programme GraphPad Prism (7.03) [40] a été utilisé pour tracer la courbe de corrélation linéaire lors du test de fiabilité de Surflex.

### 1.3. Banques de données

La structure 3D de l'enzyme cible a été retirée de la banque de données PDB (Protein Data Bank) [41]. C'est la plus grande archive de données de macromolécules, principalement les protéines. Les structures 3D des macromolécules disponibles dans cette banque sont accessibles gratuitement et essentiellement déterminées par cristallographie aux rayons X.

## 2. Méthodes

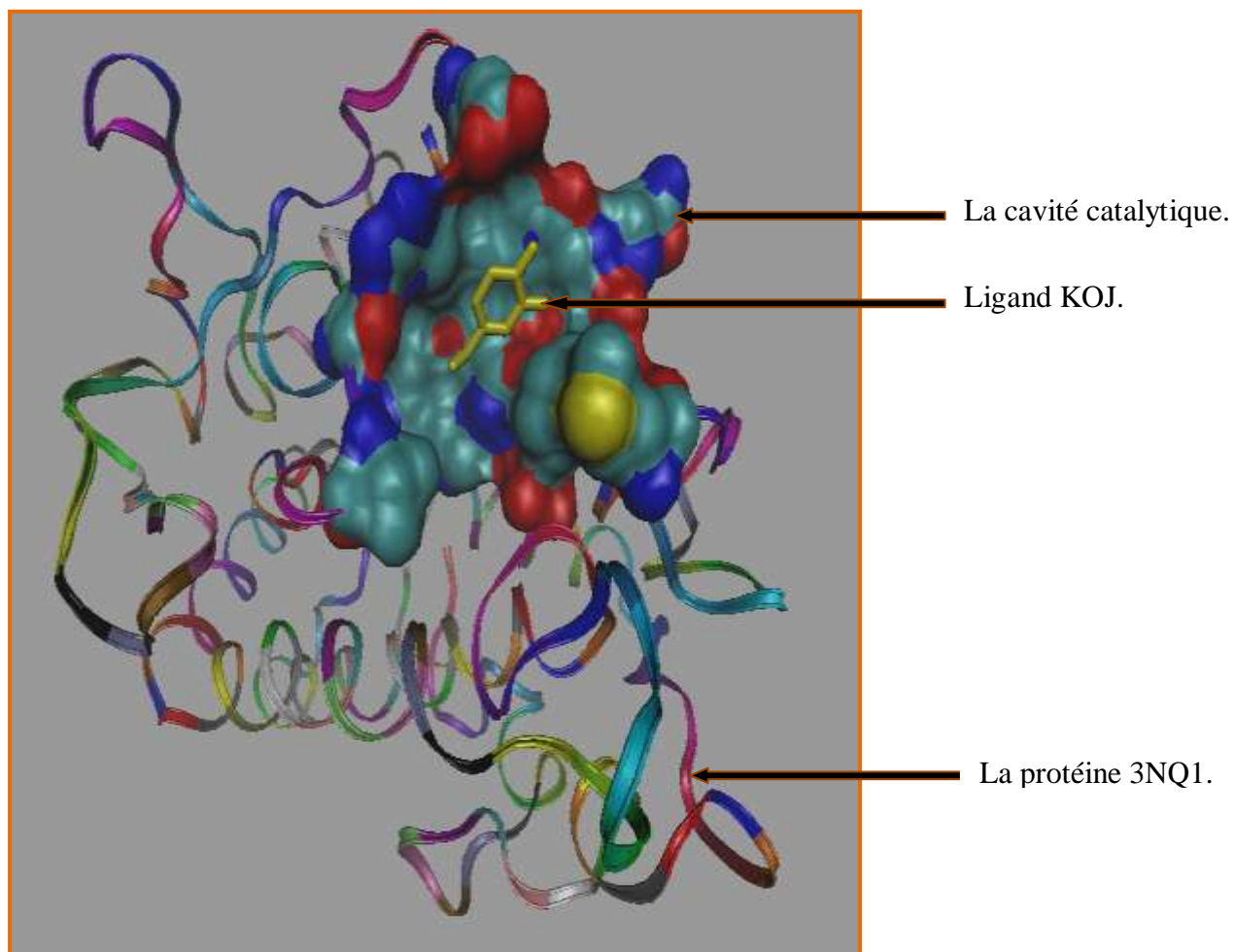
### 2.1. Préparation de la protéine

La structure cristalline 3D de la TYR a été récupérée via la PDB. Dans cette dernière, il n'existe aucune structure 3D de la TYR humaine. De ce fait, nous avons utilisé celle issue de *Bacillus megaterium* car présentant un taux très élevé de similarité vis-à-vis de celle humaine [42]. Il est à signaler que la meilleure structure 3D de la TYR de *Bacillus megaterium* est sous le code **3NQ1** avec une résolution égale à 2.3 Å [43].

L'enzyme étant présentée sous forme homodimérique, la chaîne B a donc été supprimée afin de conserver uniquement la chaîne A tout en éliminant les molécules d'eau et les

différents ligands. La structure de l'enzyme est enregistrée sous le format .mol2 que reconnaît Surfex.

Grâce au programme VMD, nous avons pu définir les résidus d'acides aminés de la cavité catalytique de l'enzyme en visualisant ceux entourant son inhibiteur de référence dans un périmètre de 6Å. Les résidus d'acides aminés de la cavité catalytique représentés en mode « Surf » dans la figure N°10 sont les suivants : Glu158, Met184, Glu195, Gly196, Phe197, Asn199, Gly200, Pro201, Gln202, His204, Asn205, Arg206, His208, Arg209, Gly216, Val218.



**Figure N°10 :** Représentation par VMD de la cavité de la tyrosinase.

## **2.2. Préparation des ligands**

Dans le présent travail, les inhibiteurs de la TYR obtenus à partir de la littérature ont été construits avec le logiciel de construction moléculaire Titan. Par la suite, une étape de minimisation d'énergie est essentielle afin d'optimiser la structure des ligands dessinés et de rechercher une géométrie ayant une basse énergie avant de les sauvegardés sous format .pdb.

## **2.3. Docking avec Surflex**

La procédure du docking utilisée dans le cadre de ce travail est constituée de deux étapes majeures :

### **2.3.1 Génération du protomol**

Pour générer le protomol, nous avons utilisé l'inhibiteur de référence KOJ.pdb ainsi que la chaîne A du code 3NQ1 sous format mol2 préalablement préparée. Cette étape est réalisée grâce à la commande suivante :

```
surflex-dock proto inhibiteur.pdb protéine.mol2 pl
```

### **2.3.2 Docking Moléculaire:**

L'arrimage moléculaire exige des ligands sous format pdb ou mol2 tandis que la protéine et le protomol sont sous format mol2. Le docking moléculaire avec Surflex permet d'avoir les dix meilleures conformations de chaque ligand au sein de la cavité catalytique de l'enzyme, classées par leur score. Cette étape a été réalisée en exécutant la commande suivante :

```
surflex-dock dock inhibiteur.pdb pl-protomol.mol2 protein.mol2
```



*Chapitre 4:*  
*Résultats et Discussion*



## 1. Tests de fiabilité du programme de docking

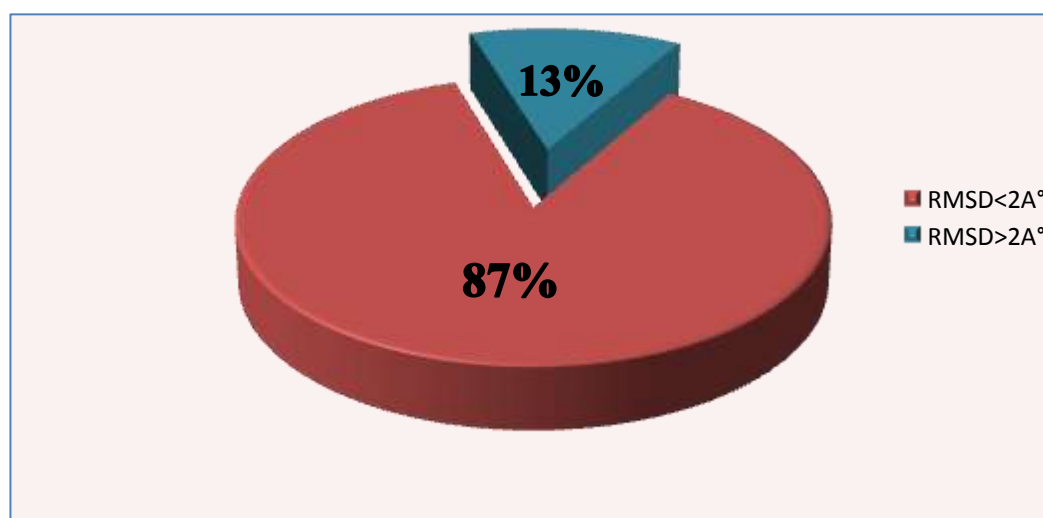
Avant d'aborder l'étude de l'inhibition de la TYR par diverses molécules, nous avons jugé utile d'évaluer tout d'abord la performance du programme Surflex utilisé dans cette étude en faisant appel à trois tests différents :

- l'écart quadratique moyen ou le RMSD (*Root Mean Square Deviation*).
- L'analyse visuelle.
- Le coefficient de corrélation linéaire ( $r$ ).

### 1.1. Le test RMSD

La prédiction du mode d'interaction consiste à déterminer le positionnement correct du ligand par rapport à son récepteur. La capacité d'un programme à réussir ce travail est habituellement jugé au moyen de la déviation quadratique moyenne ou RMSD entre la position du ligand du complexe cristallographique et celles des ligands amarrés par le programme de docking. Un seuil maximal de 2Å est souvent utilisé pour discriminer une bonne d'une mauvaise position [44].

Dans notre cas, le test de fiabilité du logiciel Surflex par le RMSD a été réalisé sur 100 complexes protéine-ligand tirés de façon aléatoire de la PDB (voir annexe 1). Les résultats de ce test sont représentés dans la figure N°11.



**Figure N°11 :** Résultats en % obtenus par Surflex à deux intervalles de RMSD (Å).

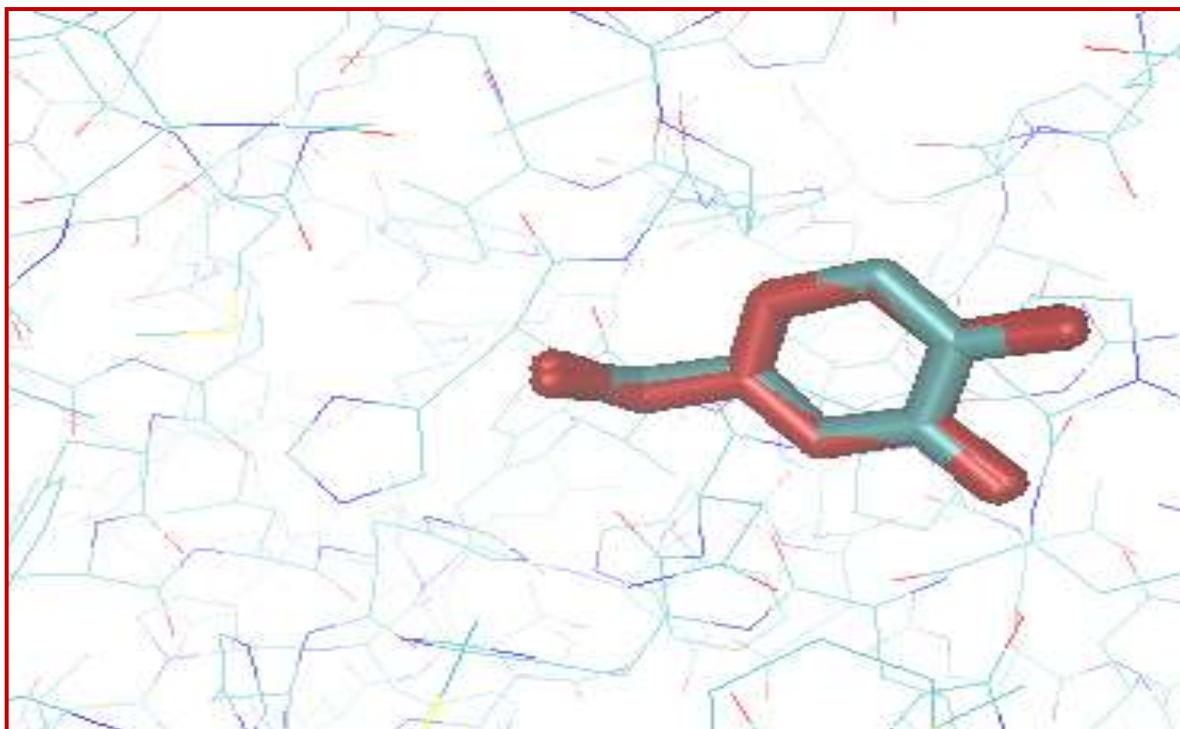
La figure N°11 montre que le programme Surfex reproduit bien les données expérimentales. En effet, 87% des valeurs de RMSD sont inférieures à 2Å. Conformément aux travaux de Chikhi A. (2007) « 88.4% » et Chikhi A., Bensegueni A. (2008) « 63% », ces résultats prouvent la fiabilité du programme Surfex [45,46]

### 1.2. L'analyse visuelle

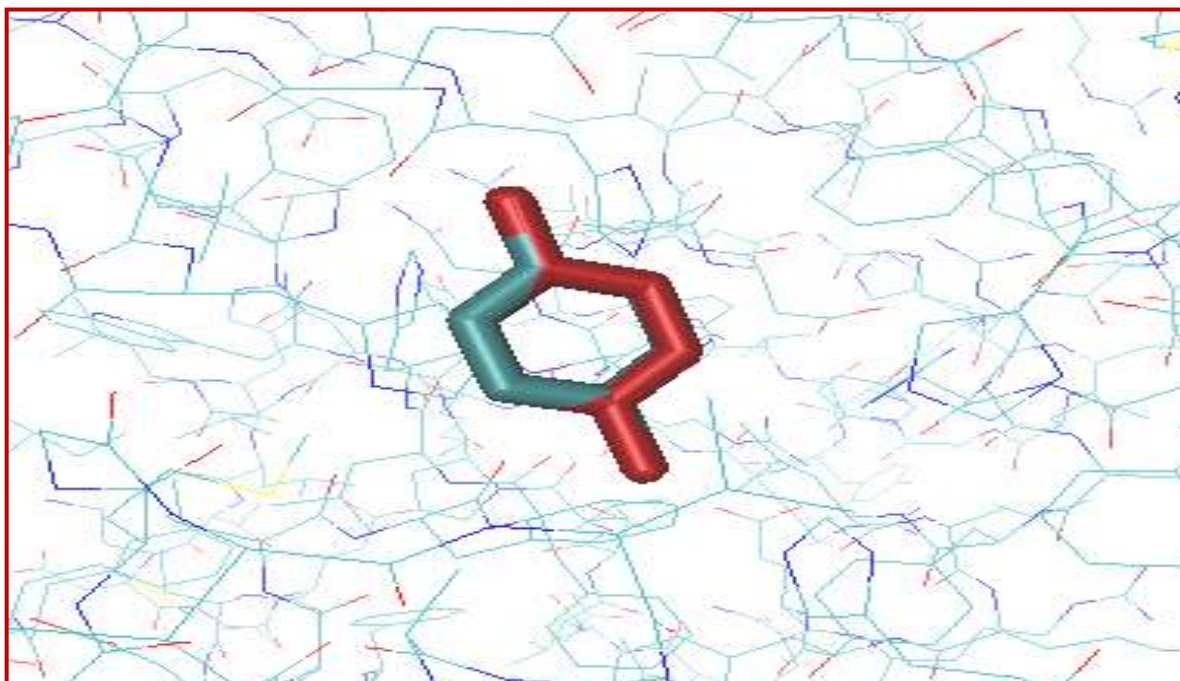
L'analyse visuelle est une étape essentielle pour confirmer les résultats du test par RMSD. Elle permet de montrer si la pose simulée d'un ligand se superpose avec celle de référence. Dans notre cas, nous avons mené une analyse visuelle sur 5 complexes TYR-inhibiteurs disponibles dans la PDB (voir tableau N°2). Les figures N°12-16 montrent une bonne superposition des poses simulées par Surfex (colorées par types d'atomes) et celles de références (colorées en rouge). Ce test conforte davantage la conclusion tirée suite au test de fiabilité par RMSD et confirme la performance de Surfex.

**Tableau N°2 :** Valeurs de RMSD des cinq complexes tyrosinase-inhibiteur étudiés.

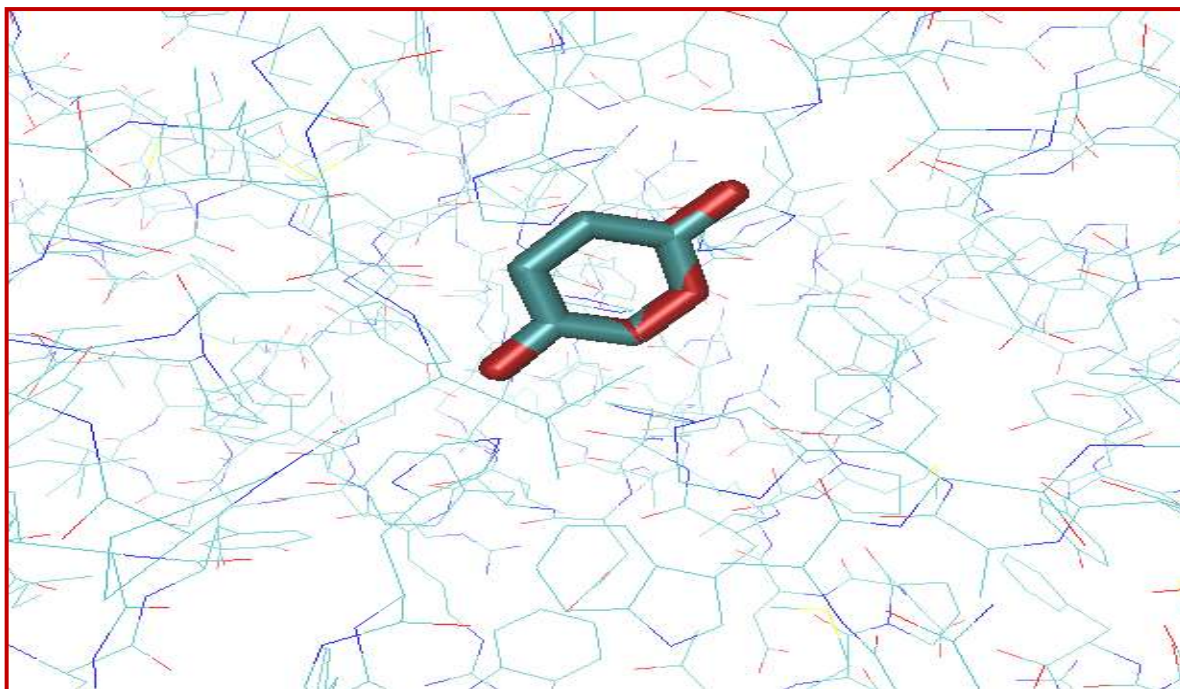
Code PDB du complexe	Code PDB du ligand	RMSD
3NQ1	KOJ	0,127
5I3A	HQE	0,061
5I3B	HQE	0,035
2Y9X	OTR	0,786
5I38	KOJ	1,083



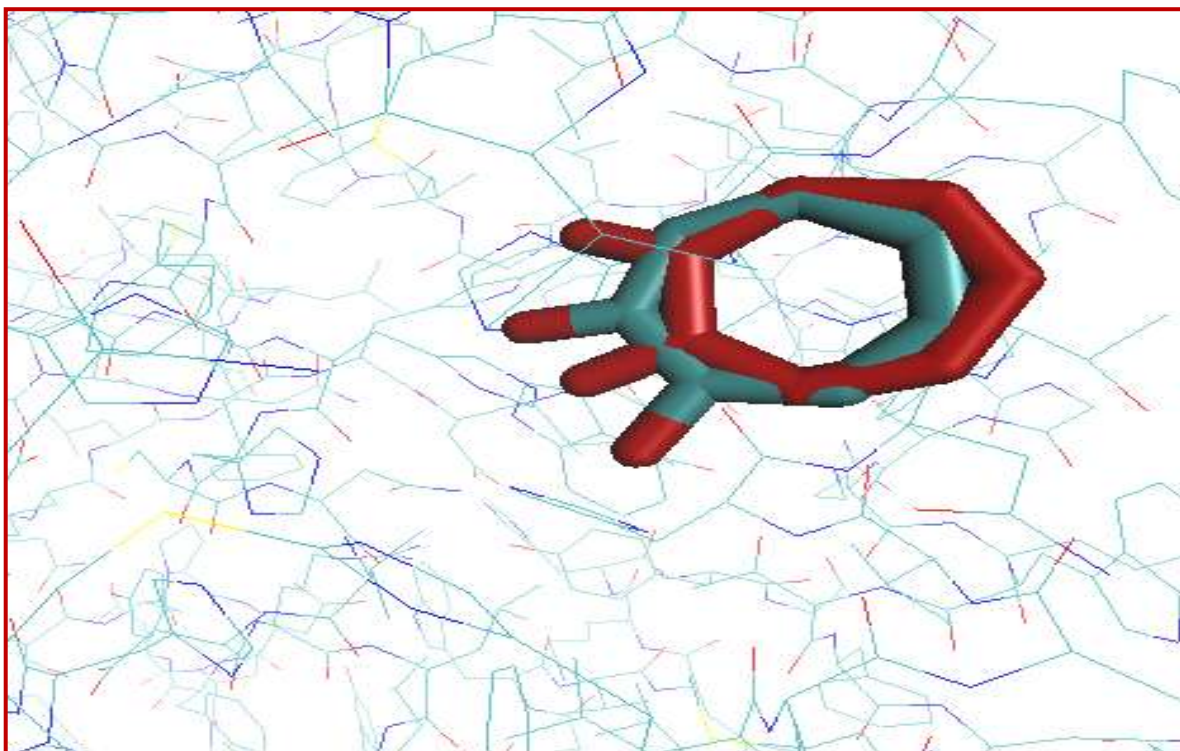
**Figure N°12 :** Superposition des géométries de l'inhibiteur KOJ donnée par rayons X (coloré en rouge) et par docking avec Surfex (coloré par type d'atomes).



**Figure N°13 :** Superposition des géométries du ligand HQE données par rayon-X (coloré en rouge) et par modélisation avec Surfex (colorées par type d'atome).

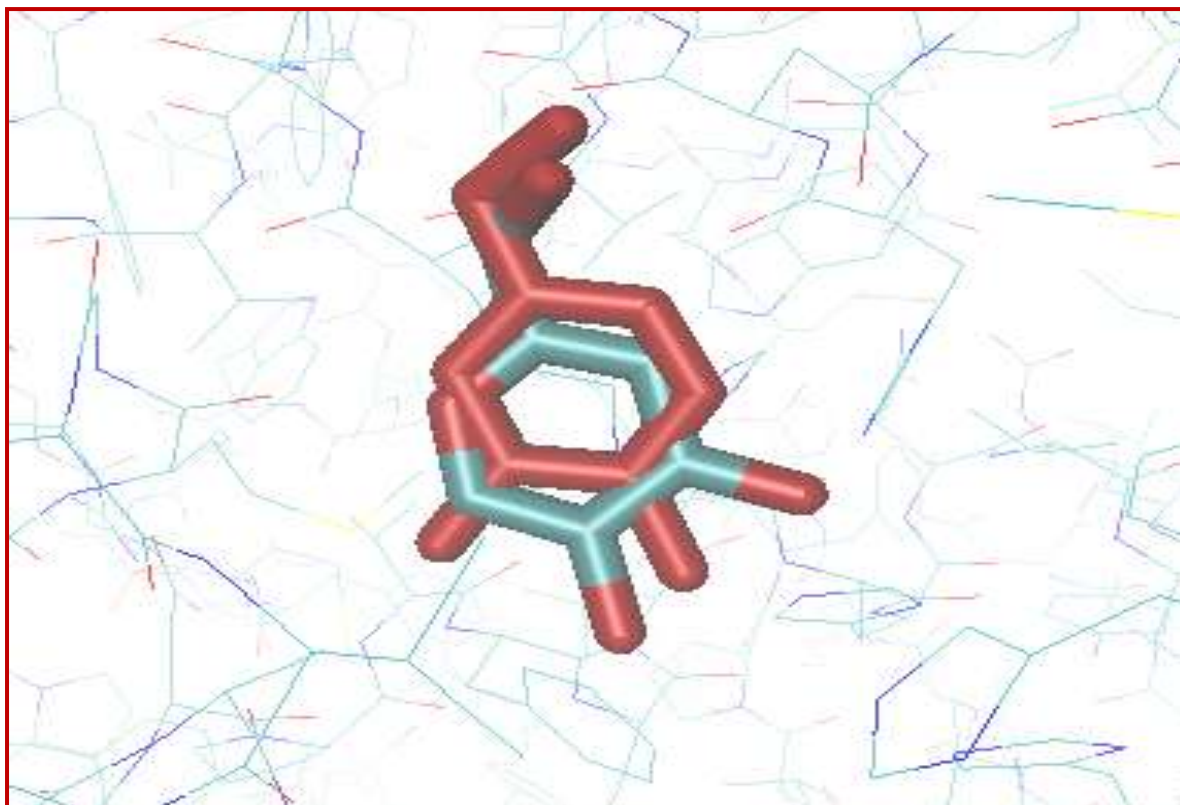


**Figure N°14 :** Superposition de la conformation du ligand HQE issue de la diffraction par rayons X (coloré en rouge) et celle simulée par Surflex (colorées par type d'atome).



**Figure N°15 :** Comparaison des géométries de l'inhibiteur OTR données par rayon-X (coloré en rouge) et par simulation avec Surflex (coloré par type d'atomes).





**Figure N°16 :** Alignement des conformations expérimentale (coloré en rouge) et calculée par Surfex (colorées par type d'atome) de l'inhibiteur KOJ.

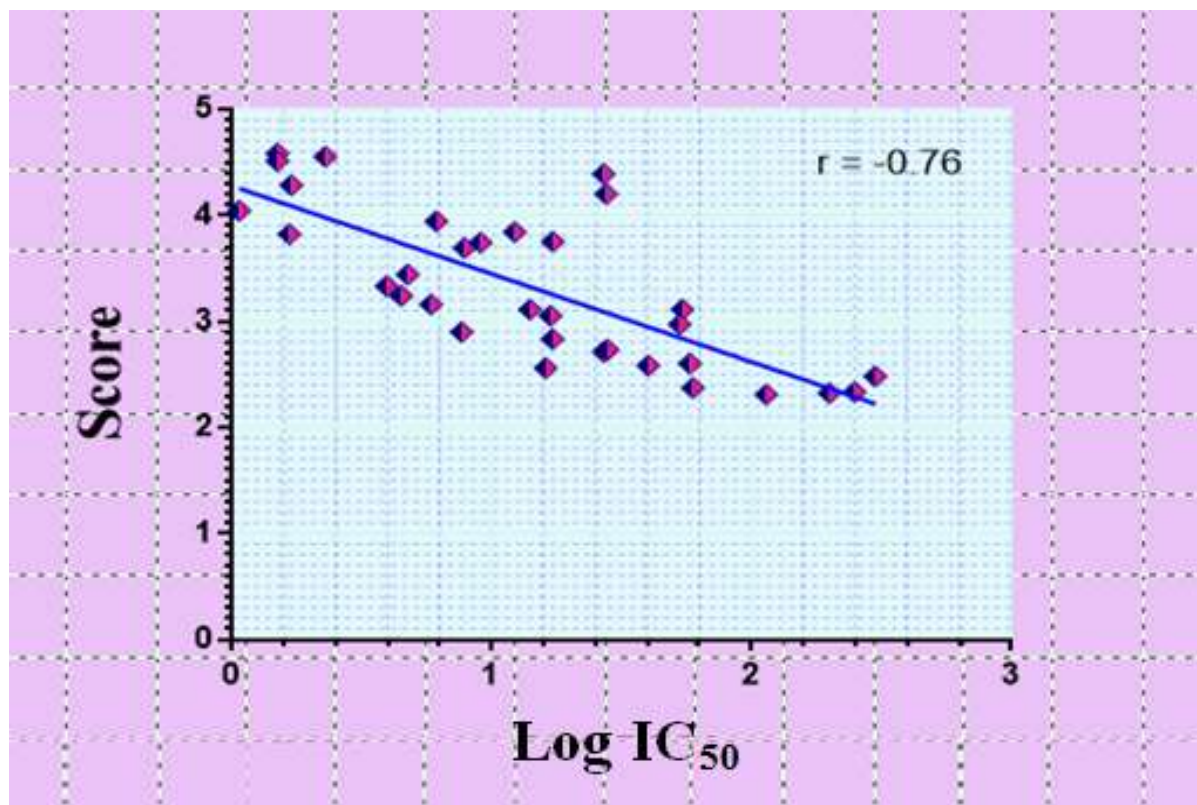
### 1.3. Test du coefficient de corrélation linéaire

Le test par corrélation linéaire consiste à évaluer le degré de relation linéaire existant entre l'affinité de 33 inhibiteurs simulée avec Surfex et les valeurs de leur  $IC_{50}$  déterminées expérimentalement. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau N°3 ainsi que la figure N°17.

**Tableau N°3 :** Affinités de 33 inhibiteurs de la tyrosinase simulée par Surfex et les valeurs de leur IC<sub>50</sub> obtenues expérimentalement.

Composé	IC <sub>50</sub> (µM)	Log IC <sub>50</sub>	Affinité	référence bibliographique
1	07,89	0,89707700	3,69	[16]
2	01,50	0,17609126	4,51	[16]
3	02,30	0,36172784	4,55	[16]
4	01,50	0,17609126	4,58	[16]
5	27,00	1,43136376	4,39	[47]
6	01,70	0,23044892	4,28	[16]
7	27,70	1,44247977	4,20	[16]
8	01,07	0,02938378	4,04	[16]
9	06,13	0,78746047	3,94	[48]
10	12,30	1,08990511	3,84	[16]
11	17,22	1,23603315	3,75	[16]
12	09,10	0,95904139	3,74	[49]
13	04,77	0,67851838	3,44	[16]
14	03,95	0,59659710	3,33	[16]
15	04,50	0,65321251	3,24	[16]
16	05,85	0,76715587	3,16	[16]
17	54,40	1,73559890	3,11	[48]
18	14,10	1,14921911	3,11	[49]
19	16,90	1,22788670	3,05	[48]
20	53,00	1,72427587	2,97	[47]
21	17,15	1,23426412	2,83	[16]
22	27,10	1,43296929	2,71	[48]
23	58,06	1,76387703	2,60	[48]
24	40,20	1,60422605	2,58	[16]
25	300,0	2,47712125	2,48	[48]
26	59,70	1,77597433	2,37	[48]
27	250,0	2,39794001	2,33	[48]
28	200,0	2,30103000	2,32	[48]
29	114,0	2,05690485	2,31	[16]
30	01,67	0,22271647	3,82	[48]
31	07,70	0,88649073	2,90	[49]
32	28,00	1,44715803	2,73	[49]
33	16,17	1,20871002	2,56	[48]

Selon les travaux de Bouchrit H et al. (2014) «  $r = 0.76$  », Merzoug A et al. (2015) «  $r = 0.728$  » [50,51], un programme de docking moléculaire est performant quand la valeur absolue du coefficient de corrélation linéaire dépasse 0.5, ce qui est en parfait accord avec les résultats obtenus. L'analyse par régression linéaire donne un coefficient de corrélation égal à **-0.76**. Autrement dit, les scores fournis par Surfex et les valeurs de  $\text{Log IC}_{50}$  des inhibiteurs étudiés sont fortement corrélés. Nous pouvons conclure alors que le programme Surfex est suffisamment performant pour simuler les interactions TYR-inhibiteur.



**Figure N°17 :** Corrélation entre l'activité biologique ( $\text{Log IC}_{50}$ ) de 33inhibiteurs et leur affinité vis-à-vis de la tyrosinase.

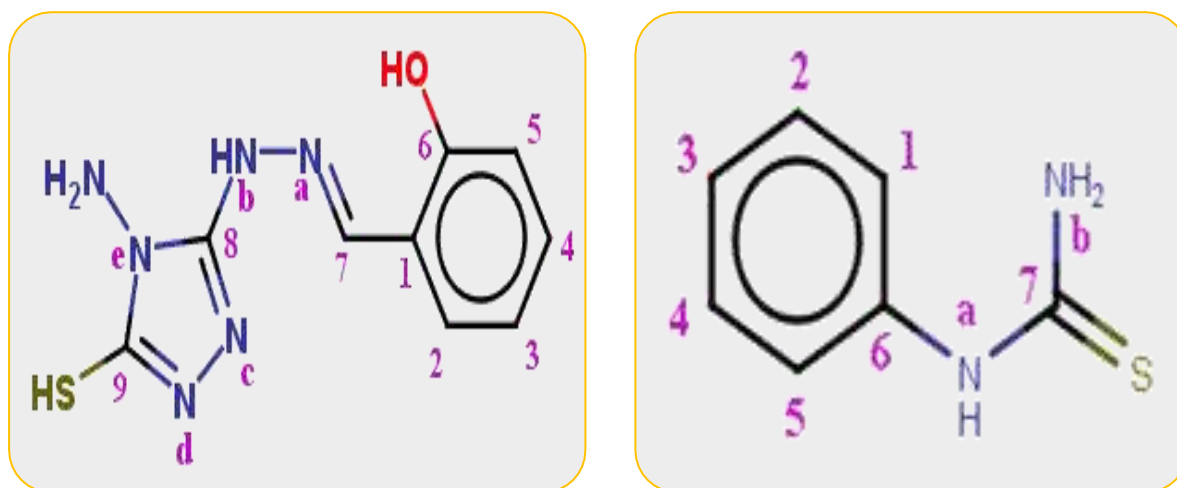
#### 1.4. Conclusion

À la lumière des résultats du test RMSD, l'analyse visuelle et la corrélation linéaire, nous pouvons conclure que le programme Surfex est hautement performant et peut être utilisé en toute confiance pour simuler l'inhibition de la TYR.



## 2. Etude des interactions tyrosinase-inhibiteurs

Afin d'élucider le mode d'interaction des inhibiteurs avec le site actif de la TYR, nous avons choisi les composés **2** et **4** ayant les meilleurs effets inhibiteur tant sur le plan expérimental ( $IC_{50}$ ) que théorique (score) (voir tableau N°3). Les structures chimiques de ces composés sont représentées dans la figure N°18.



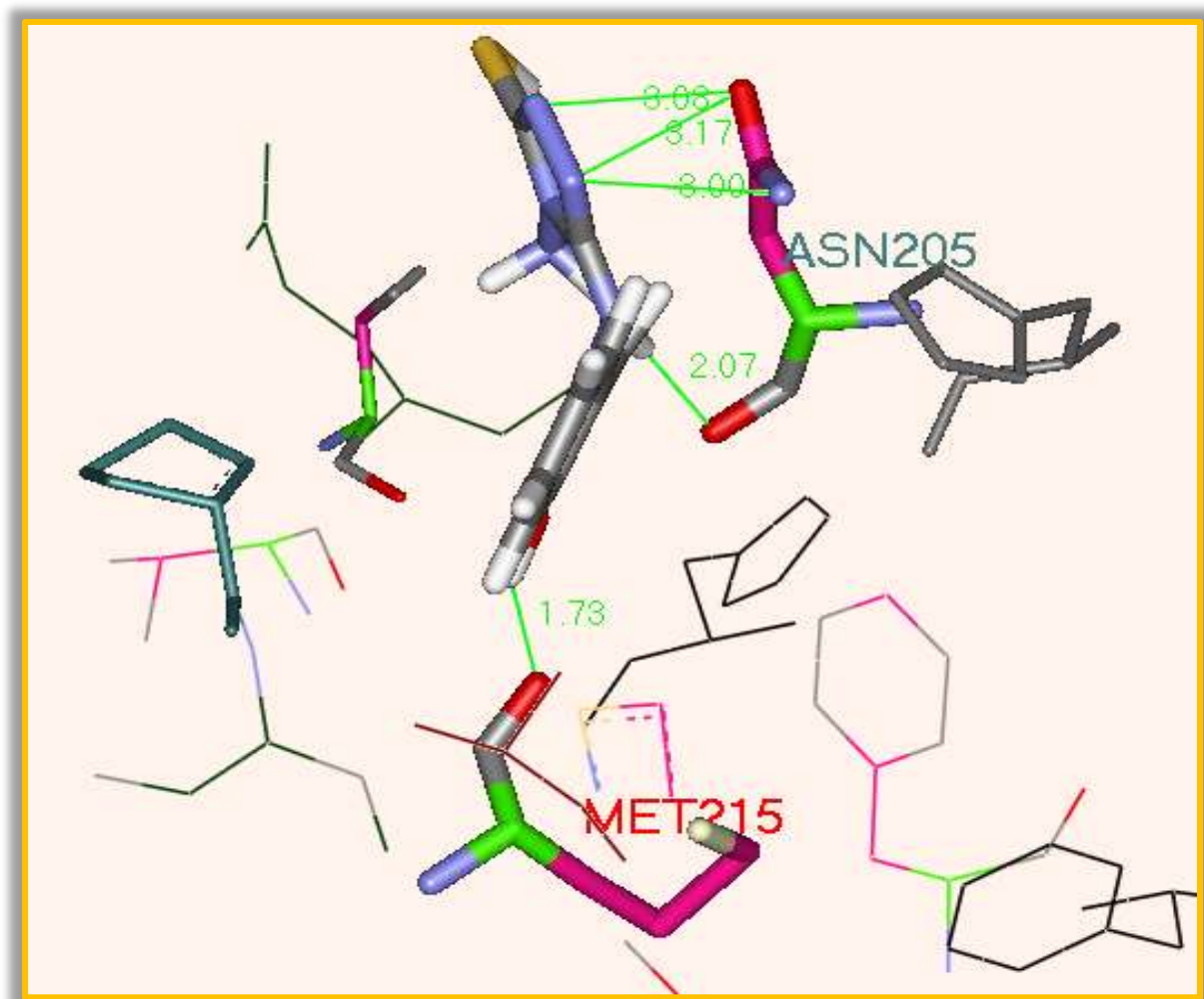
**Figure N°18 :** Structure chimique des composés **2** (à gauche) et **4** (à droite).

A l'heure actuelle, aucune référence bibliographique n'a expliquée le mode d'action de ces composés envers la TYR. Il nous a semblé judicieux d'étudier, à l'échelle moléculaire, les mécanismes mis en jeu dans l'interaction de ces composés vis-à-vis de l'enzyme cible et ce en faisant appel au docking moléculaire.

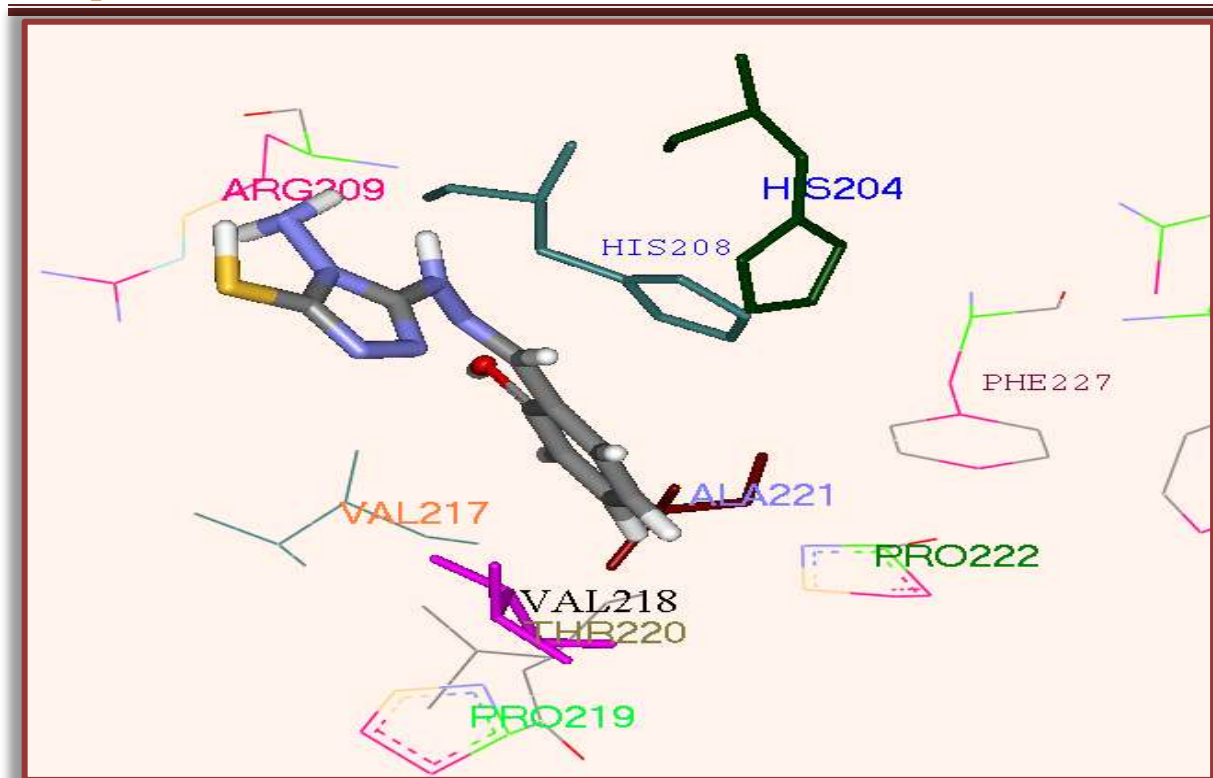
### 2.1. Etude des interactions du complexe tyrosinase-composé 2

La simulation réalisée par Surfex nous a permis d'évaluer le score d'affinité entre le composé **2** et la TYR. Ce score s'évaluant à 4.51 est significativement corrélé à l'activité inhibitrice du composé **2** dont l' $IC_{50}$  égale à  $1.5\mu\text{M}$ . L'analyse visuelle montre que le composé **2** forme cinq liaisons hydrogène avec le site actif de la TYR (voir figure N°19). La première est formée entre la fonction hydroxyle porté par le C6 de l'inhibiteur et l'oxygène de la fonction  $\alpha$ -carboxylique du résidu Met215 avec une distance de  $1.73\text{\AA}$ . La fonction amide du résidu Asn205 établit 3 liaisons hydrogène, l'une avec l'azote en position **d** de l'inhibiteur, distante de  $3.08\text{\AA}$ , et les deux autres avec l'azote en position **c**, avec les distances de  $3.00$  et  $3.17\text{\AA}$ . Enfin, la fonction carboxyle du même résidu forme une dernière liaison hydrogène avec l'hydrogène porté par l'azote en position **b** de l'inhibiteur séparées par une distance de

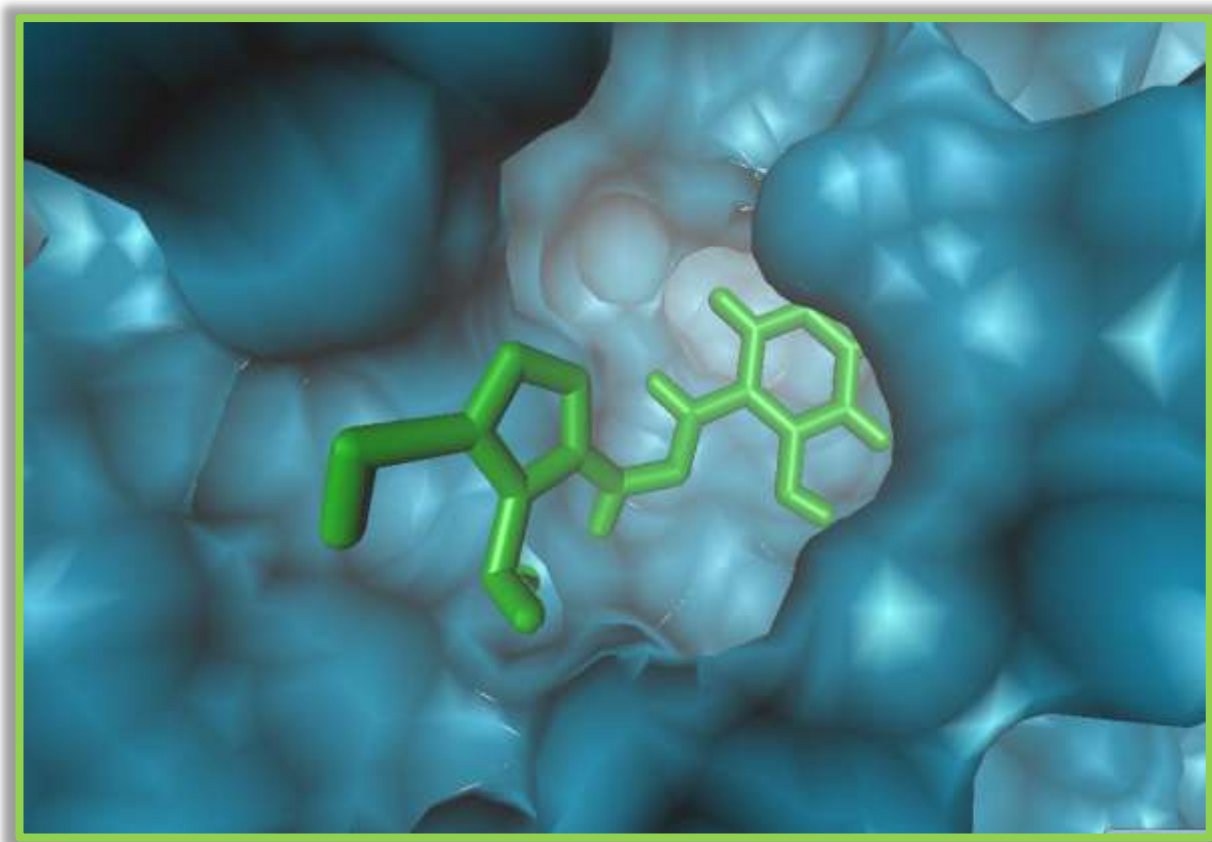
2.07Å. Il faut également souligner l'intervention des résidus His204, His208, Arg209, Val217, Val218, Pro219, Trh220, Ala221, Pro222et Phe227 dans la stabilité du complexe TYR-composé **2** en s'impliquant dans la formation de nombreuses interactions de type hydrophobe.



**Figure N°19 :** Liaisons hydrogène formées entre le composé**2**et le site actif de la tyrosinase.



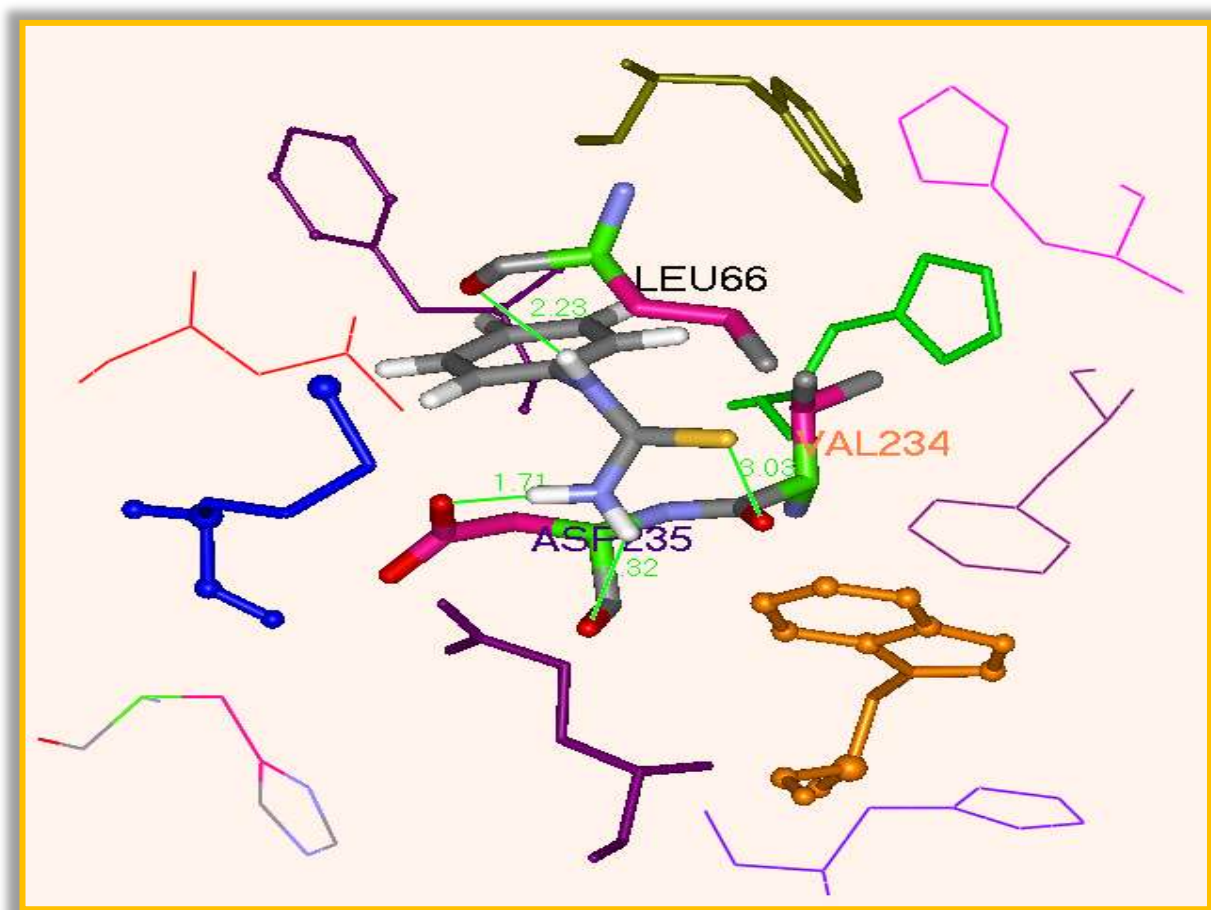
**Figure N°20 :** Interactions hydrophobiques entre le composé 2 et le site actif de la tyrosinase.



**Figure N°21 :** Illustration du positionnement du composé 2 dans le site actif de la tyrosinase.

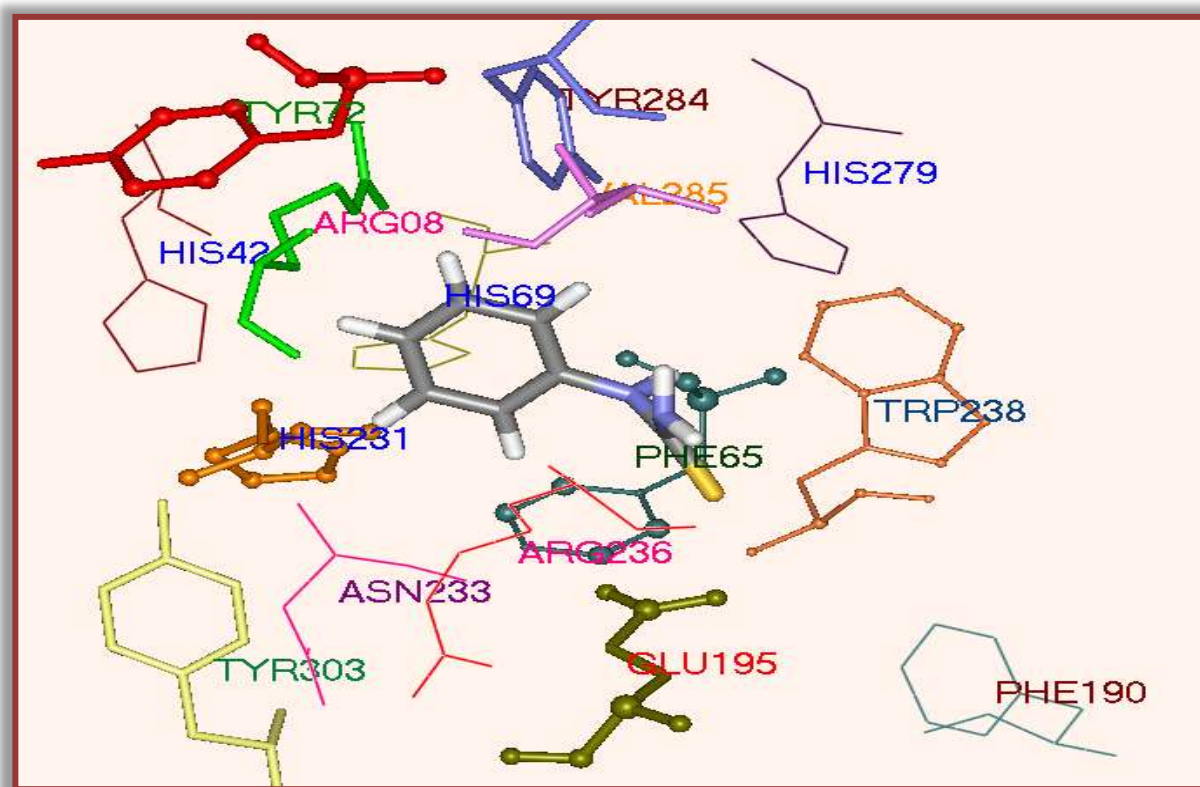
## 2.2. Le complexe tyrosinase-composé 4

La reconstruction du complexe Tyr-composé **4** par docking moléculaire avec Surflex donne un score de 4.58. L'analyse visuelle (voir figure N°22 et 23) révèle la présence de 4 ponts hydrogène : le premier est formé entre l'hydrogène de la fonction amine en position **a** de l'inhibiteur et l'oxygène de la fonction  $\alpha$ -carboxyle du résidu Leu66, séparés par une distance 2.23Å. Deux autres liaisons hydrogène sont constatées entre la fonction amine en position **b** de l'inhibiteur et les deux oxygènes du résidu Asp235, séparés par des distances de 1.71Å et 2.32Å. La dernière liaison est formée entre la fonction thiol de l'inhibiteur et l'oxygène la fonction  $\alpha$ -carboxyle du résidu Val234, séparés par une distance 3.03Å. La stabilité de ce composé au sein du site actif est assurée également par de nombreuses interactions hydrophobiques faisant intervenir les résidus : Tyr72, His42, Arg08, Tyr284, Val285, His69, His231, Asn233, Tyr303, Arg236, Glu195, Phe190, Phe65, Trp238 et His279.

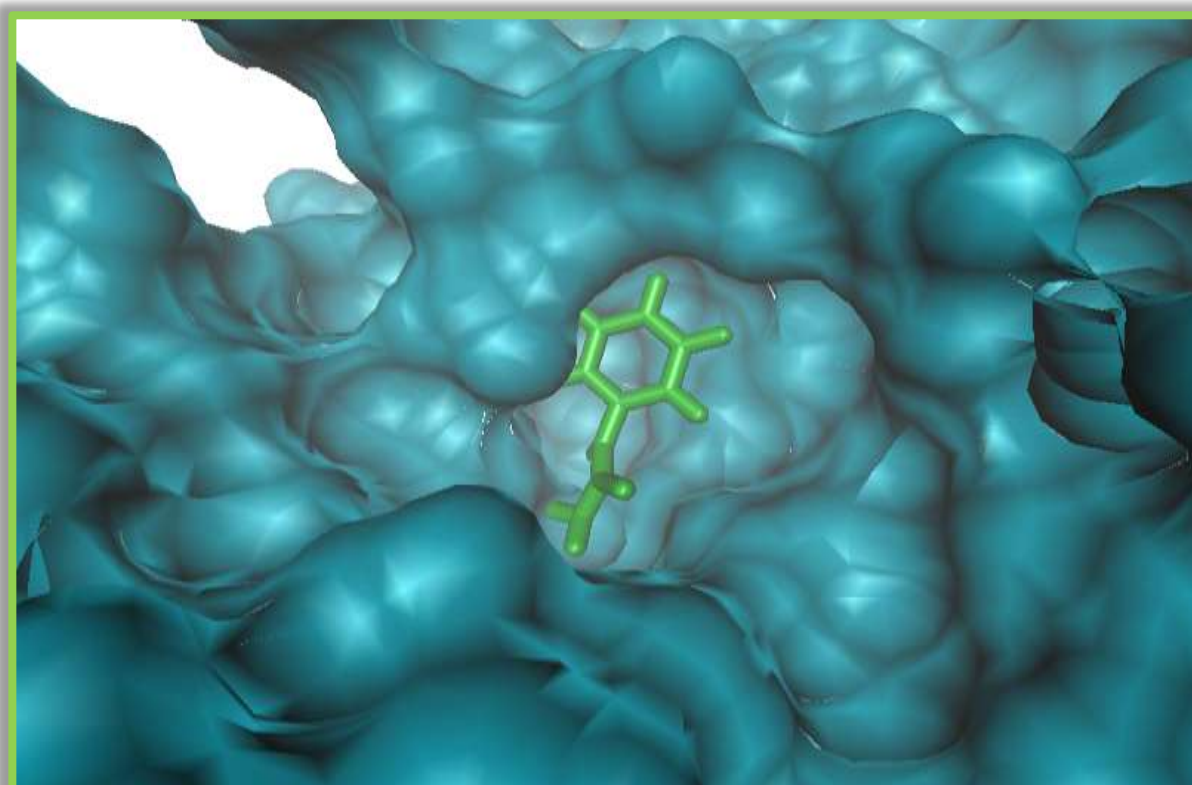


**Figure N°22** : Liaisons hydrogène formées entre le composé **4** et le site actif de la tyrosinase.





**Figure N°23 :** Interactions hydrophobique entre le composé **4** et le site actif de la tyrosinase.



**Figure N°24 :** Illustration du positionnement du composé **4** dans le site actif de la tyrosinase.

### 3. Proposition de nouveaux inhibiteurs de la TYR

#### 3.1. Mono-substitution

Dans la perspective de développer de nouveaux inhibiteurs plus puissants de la TYR, nous avons pris les composés **2** et **4** comme structures de départ, sur lesquelles nous avons mené une mono-substitution en introduisant plusieurs groupements fonctionnels présentant la capacité d'engager des liaisons hydrogène avec le site actif de l'enzyme à savoir les fonctions : Alcool (-OH), Acide (-COOH), Amine (-NH<sub>2</sub>), Nitro (NHO<sub>2</sub>), Nitroso (NHO), Sulfone (SH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) et les halogènes (Cl, F et Br), Cyano (C≡N), Thiol (SH), Amide (CONH<sub>2</sub>), Méthoxy (OCH<sub>3</sub>), Aldéhyde (COH) ...

Au total, nous avons réalisé 168 mono-substitutions à raison de 84 par structure. Le docking moléculaire de ces composés envers le site actif de la TYR fait ressortir 46 composés présentant un score supérieur à 4.51 ; du composé **2** et 07 composés ayant un score supérieur à 4.58 pour le composé **4**.

**Tableau N°4 :** Score de docking des nouveaux inhibiteurs théoriques de la tyrosinase obtenus après mono-substitutions du composé **2**.

N° Composé et Position	Mono substitution sur le composé2						
	C2	C3	C4	C5	a	b	final-0
S1			COOH				6,41
S2		CONH2					6,41
S3		COOH					5,71
S4	F						5,71
S5				NH2			5,66

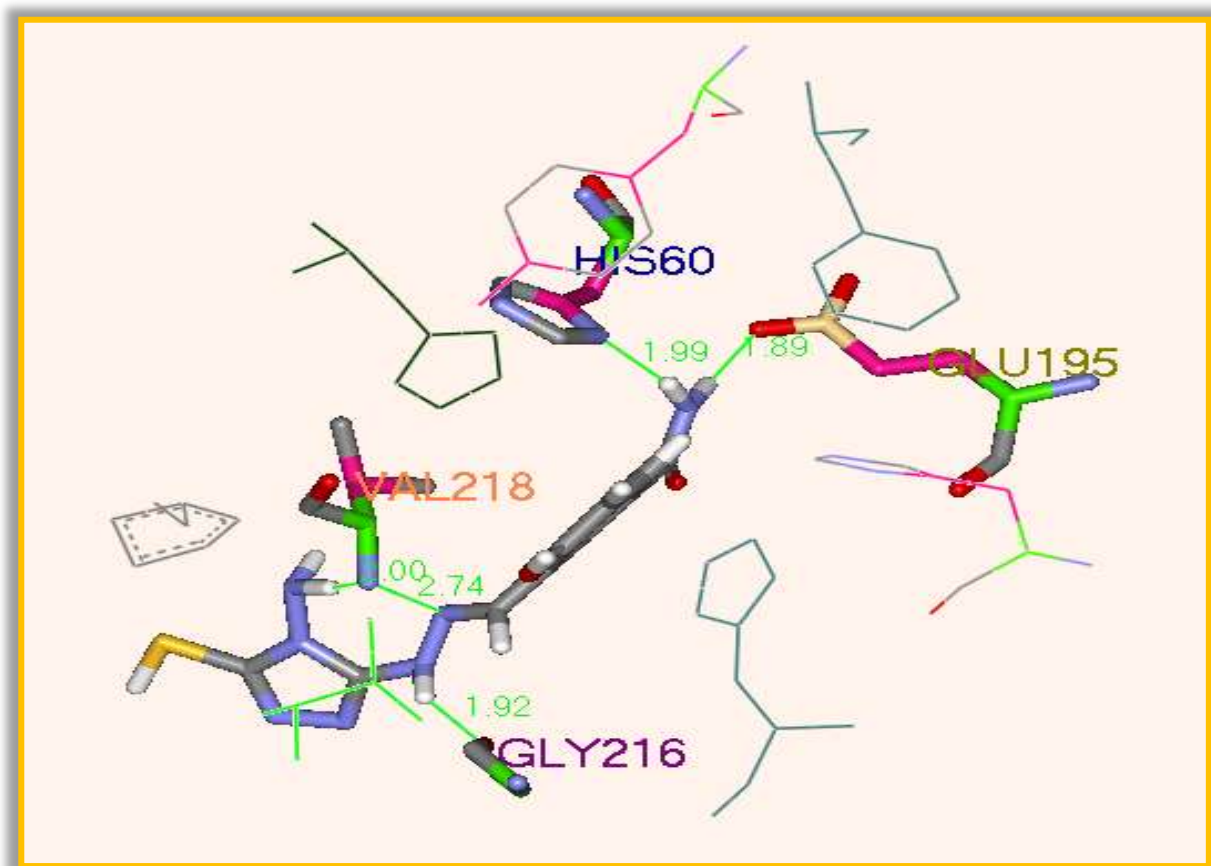
S6			NH2				5,61
S7					COOH		5,57
S8	NH2						5,55
S9						Cl	5,34
S10						OH	5,21
S11				OH			5,15
S12		NH2					5,14
S13						Br	5,09
S14				COH			5,08
S15			Nitroso				5,03
S16				OCH3			5,02
S17		Br					4,98

**Tableau N°5 :** Score de docking des nouveaux inhibiteurs théoriques de la tyrosinase après mono-substitutions du composé de départ 4.

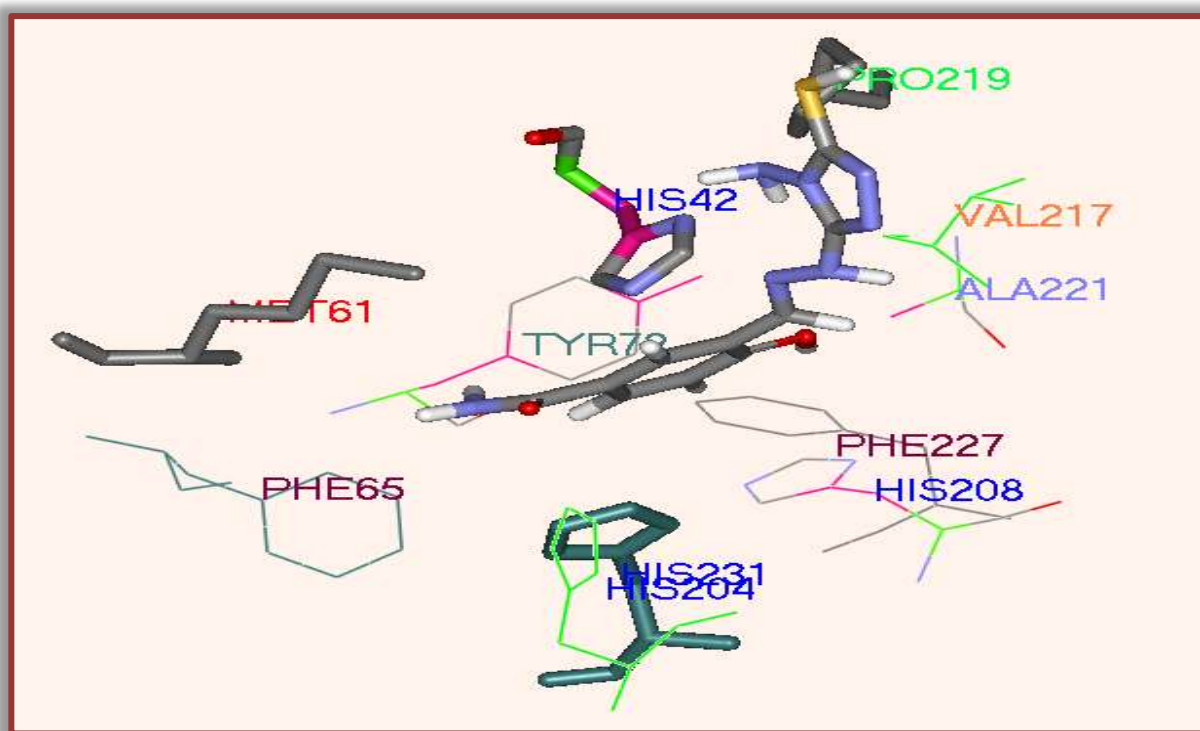
N° Composé et position	Mono substitution sur le composé 4						
	C1	C2	C3	C4	C5	A	final-0
S18		CONH2					5,32
S19				NH2			5,22
S20					CONH2		5,21
S21			CONH2				5,09
S22		NH2					5,02
S23			COOH				4,95
S24	NH2						4,59



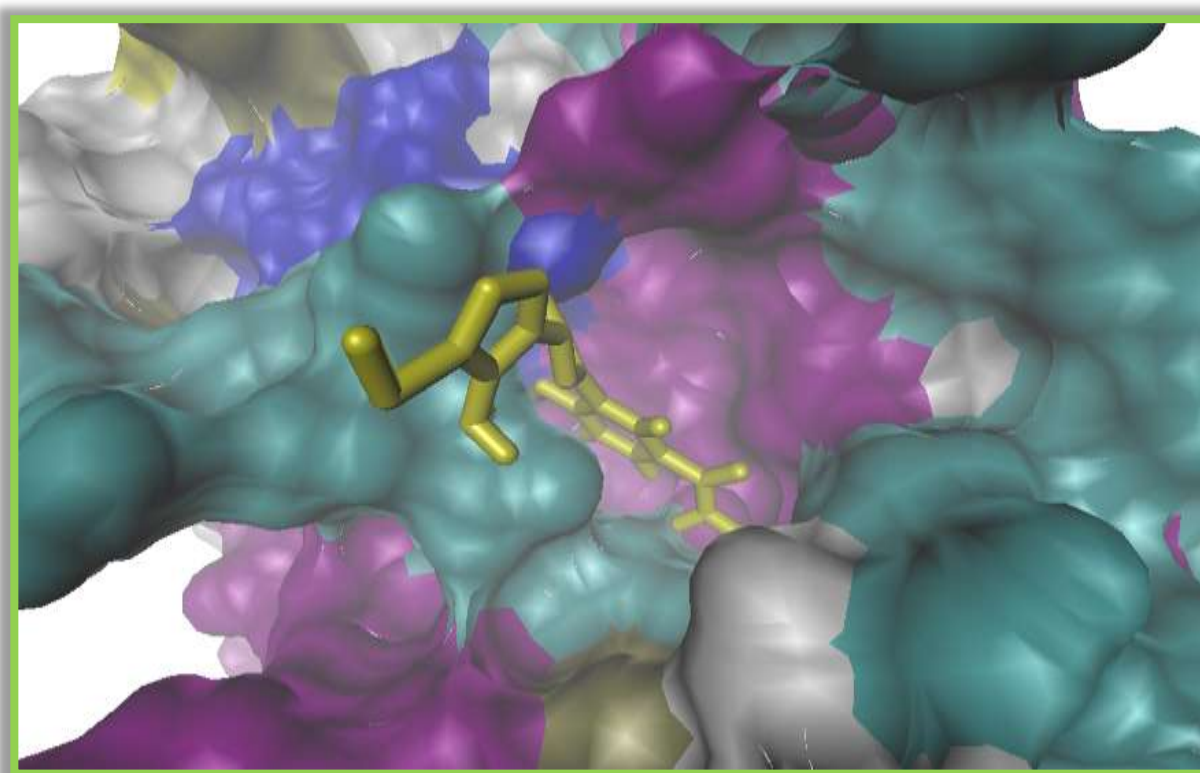
Le tableau 4 montre que sur le composé de départ **2**, l'introduction de la fonction COOH dans la position C4 ou de la fonction CONH<sub>2</sub> dans la position C3 améliorent le score de docking qui passe de 4.51 (cas du composé de départ) à 6.41 (cas des deux composés mono-substitués S1 et S2). Pour ne prendre que l'exemple du composé S2, l'analyse visuelle révèle la présence de 5 ponts hydrogène avec le site actif de la TYR (figure N°25); Deux liaisons hydrogènes sont observées entre la fonction  $\alpha$ -amine du résidu Val218 et l'azote en position **a** et l'hydrogène de la fonction amine de l'inhibiteur, séparés par les distances respectives de 2.74Å et 2.00Å. De même, la fonction amide lié au carbone N°3 de l'inhibiteur établit deux ponts hydrogène avec la fonction carboxyle du résidu Glu195 et l'azote du noyau imidazole du résidu His60, avec les distances de 1.89Å et 1.99Å respectivement. La dernière liaison est formée entre l'hydrogène porté par l'azote en position **b** de l'inhibiteur et l'oxygène de la fonction  $\alpha$ -carboxylique du résidu Gly216 avec une distance de 1.92Å. Il est à noter que le complexe TYR-Composé S2 est également stabilisé grâce à de nombreuses interactions de type hydrophobe faisant intervenir les résidus His42, Met61, Phe65, Tyr72, His204, His208, Val217, Pro219, Ala221, Phe227 et His231 comme le montre la figure N°26.



**Figure N°25 :** Liaisons hydrogène entre le composé S2 et le site actif de la tyrosinase.



**Figure N°26 :** Interactions hydrophobes entre le composé S2 et le site actif de la tyrosinase.



**Figure N°27 :** Représentation du positionnement du composé S2 dans le site actif de la tyrosinase.

### 3.2. Bi-substitution

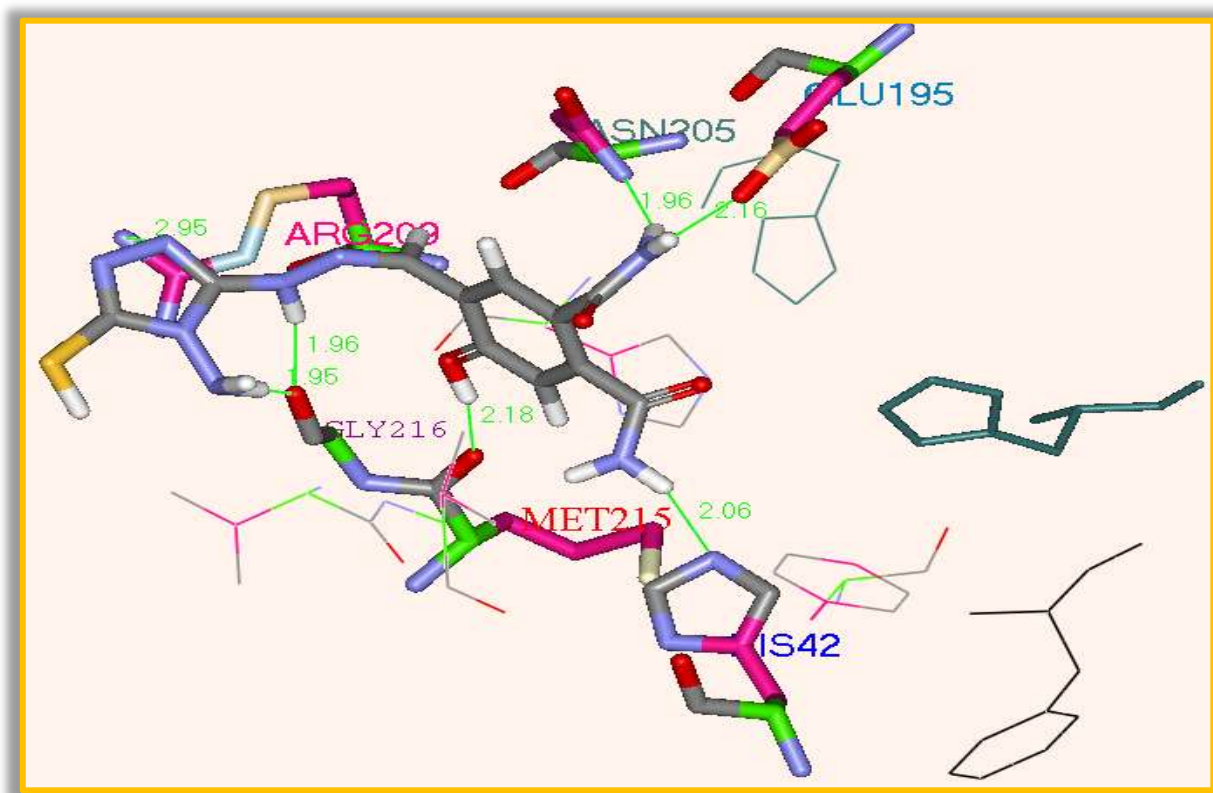
Dans un deuxième temps, nous avons procédé à une bi-substitution en prenant comme structure de départ les deux meilleurs inhibiteurs issus de la mono-substitution (le composé S1 et le composé S2) sur lesquels nous avons introduit les mêmes groupements utilisés lors de la mono-substitution. Au total, nous avons effectué 282 bi-substitutions. L'arrimage moléculaire de ces composés envers le site actif de la TYR fait ressortir 13 inhibiteurs ayant un score supérieur à celui des composés S1 et S2, dont 5 d'entre eux présentant une nette amélioration (tableau N°6).

**Tableau N°6 :** Score de docking des nouveaux inhibiteurs théoriques de la tyrosinase obtenus après bi-substitutions.

Composé	BI Substitution						
	S1			S2			
	C2	C3	C4	C5	a	b	Final-o
S25		CONH2	CONH2				<b>8,84</b>
S26		CONH2	COOH				8,04
S27		CONH2		NH2			7,89
S28	OCH3		COOH				7,35
S29		COOH	COOH				7,33

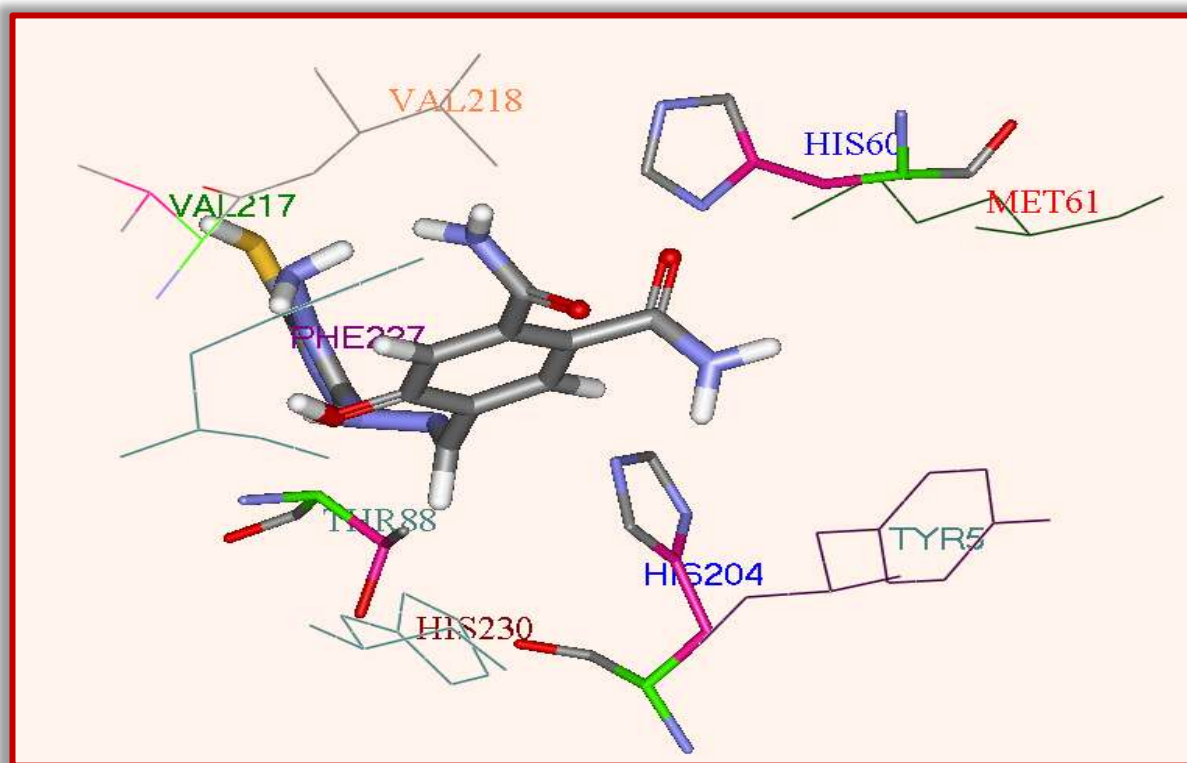
### 3.2.1. Etude d'interaction du composé S25 envers le site actif de la tyrosinase

Le meilleur inhibiteur obtenu dans le présent travail (composé S25) résulte de l'introduction de deux fonctions amide (CONH<sub>2</sub>) sur les positions C3 et C4 du composé de départ (composé **2**). Son score élevé de 8.84 se traduit par la mise en place de 8 liaisons hydrogène avec le site actif de la TYR. Deux sont formées entre la nouvelle fonction C3-amide de l'inhibiteur et les fonctions amine du résidu Asn205 (distance de 1.96Å) et carboxyle du résidu Glu195 (distance de 2.16Å). De même, deux autres liaisons hydrogènes sont formées entre les hydrogènes de la fonction amine et l'hydrogène de l'azote en position **b** de l'inhibiteur et l'oxygène de la fonction  $\alpha$ -carboxyle du résidu Gly216, avec les distances de 1.95 et 1.96Å. Le 5ème pont hydrogène est formé entre la fonction amide en position C4 de l'inhibiteur et l'azote du noyau imidazole du résidu His42 distantes de 2.06Å. La 6ème liaison hydrogène est formée entre l'hydroxyle lié au C6 de l'inhibiteur et la fonction  $\alpha$ -carboxyle du résidu Met215 (distance = 2.18Å). Enfin, la fonction amine du résidu Arg209 établit une liaison hydrogène avec l'azote en position **c** de l'inhibiteur (distance = 2.95Å). Ce composé est davantage stabilisé au sein de la cavité catalytique de la TYR par de nombreuses interactions hydrophobiques formées avec les résidus Tyr5, His60, Met61, Thr88, His204, Val217, Val218, Phe227 et His230.

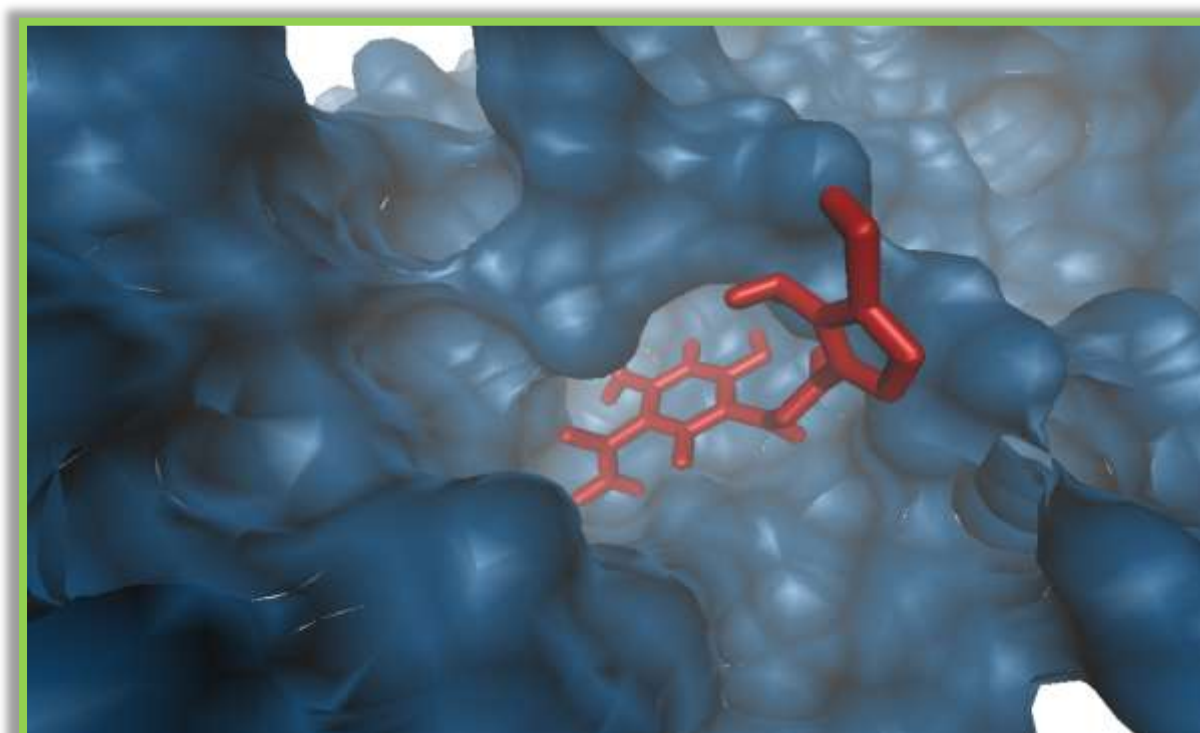


**Figure N°28 :** Liaisons hydrogène entre le composé S25 et le site actif de la tyrosinase.





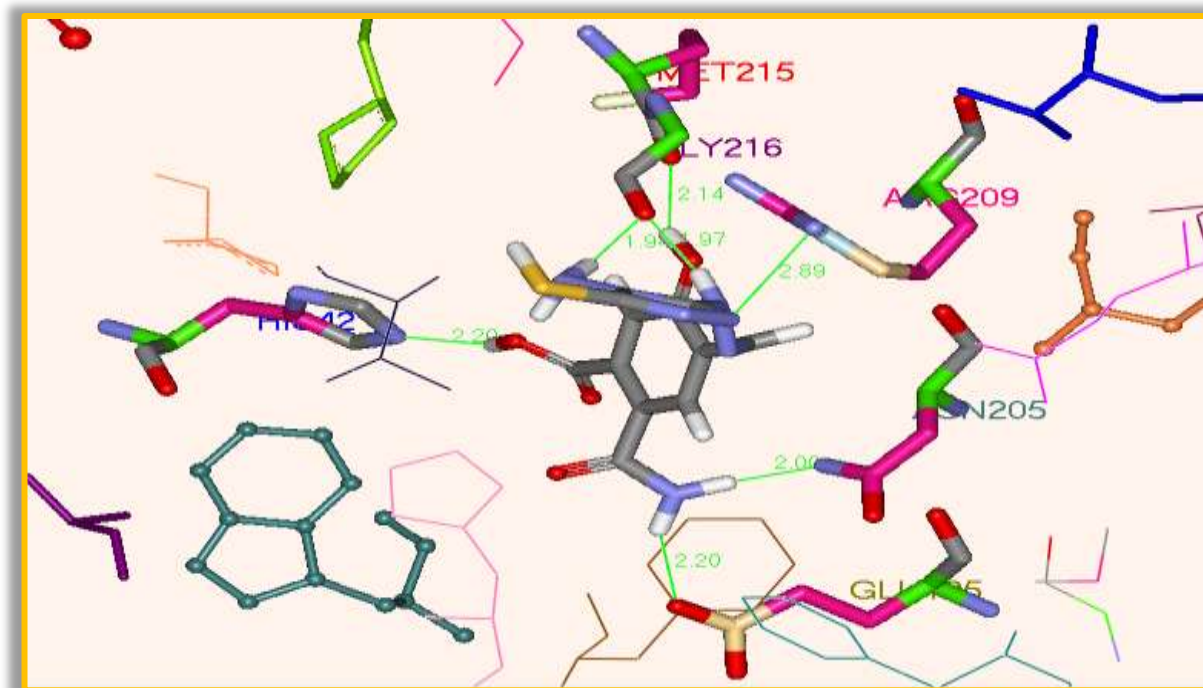
**Figure N°29 :** Interactions hydrophobes formées entre le composé S25 et le site actif de la tyrosinase.



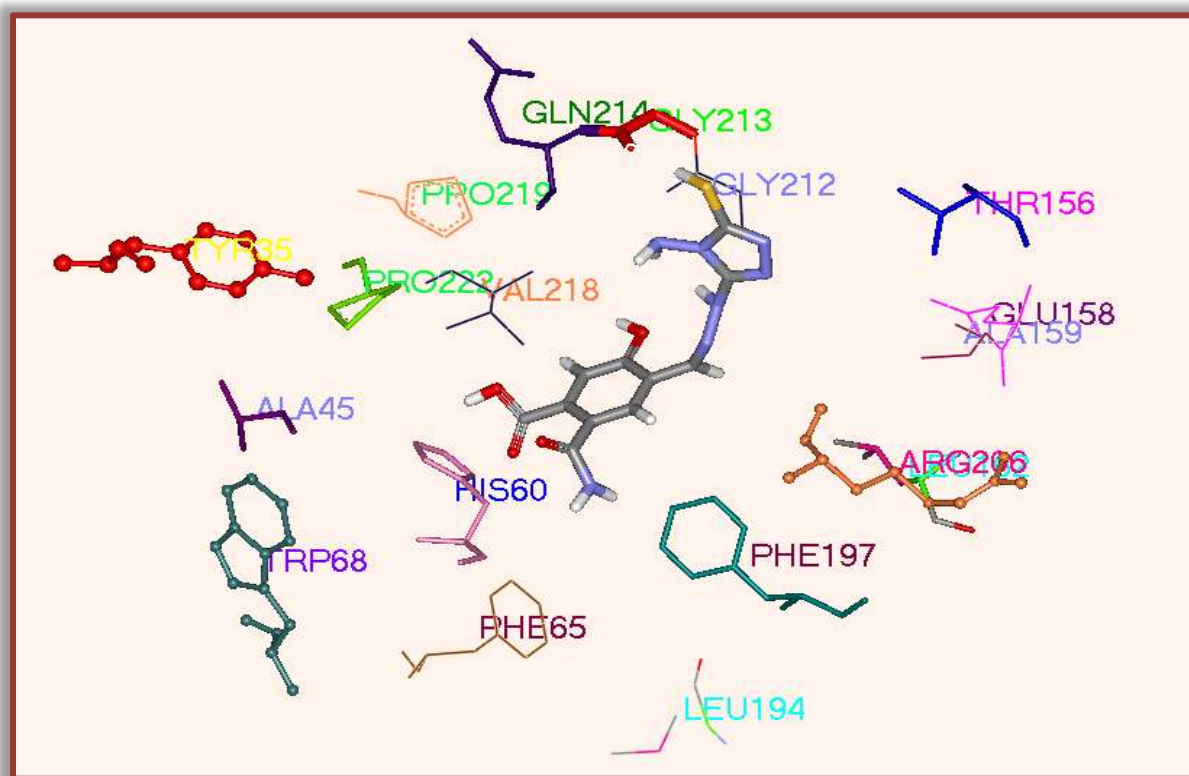
**Figure N°30 :** Illustration du positionnement du composé S25 dans le site actif de la tyrosinase.

### 3.2.2. Le complexe tyrosinase-composé S26

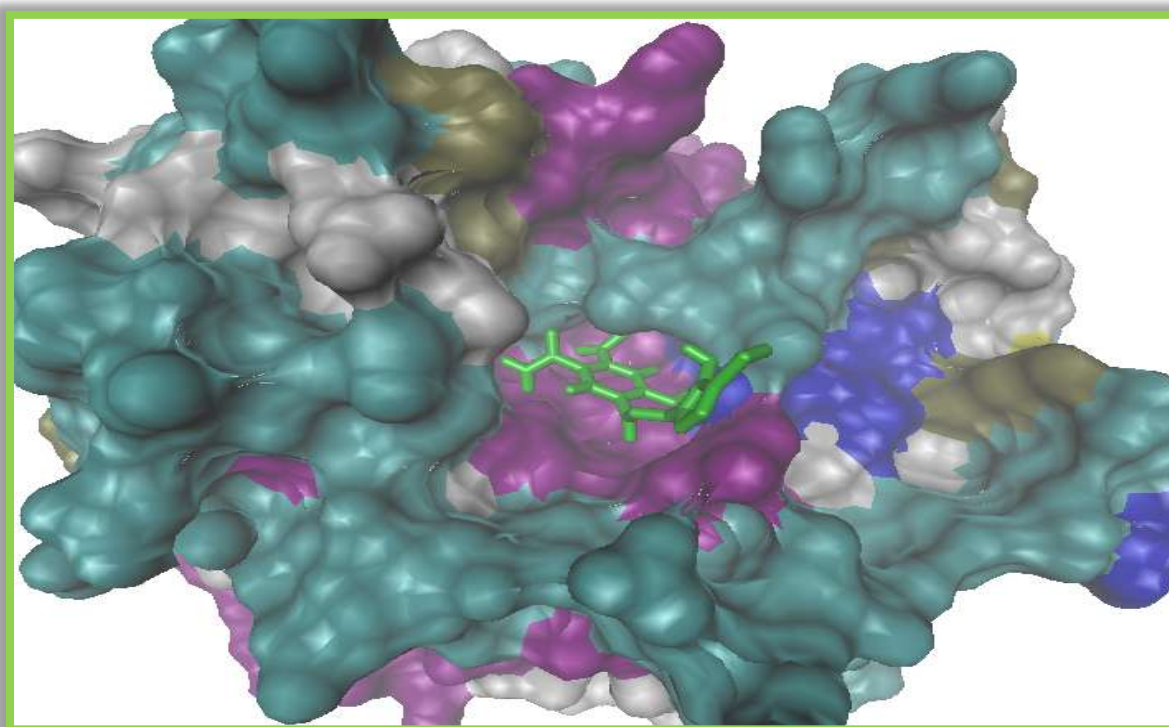
L'analyse visuelle montre que le composé S26 est bien placée dans le site actif de la TYR où il est stabilisé par de nombreuses interactions hydrophobiques grâce aux résidus Tyr35, Ala45, Trp68, His60, Phe65, Phe197, Leu194, Arg206, Leu162, Ala159, Glu158, Thr156, Gly212, Gly213, Gln214, Pro219, Pro222 et Val218. De plus, la figure N°31 montre que ce composé forme sept liaisons hydrogène. La première est formée entre l'hydroxyle porté sur le C6 de l'inhibiteur et l'oxygène de la fonction  $\alpha$ -carboxyle du résidu Met215 séparés par une distance de 2.14Å. La nouvelle fonction amide ajoutée sur le C3 de l'inhibiteur établit deux ponts hydrogène avec l'oxygène de la fonction carboxylique du résidu Glu195 et la fonction  $\alpha$ -amine du résidu Asn205, séparés par une distance de 2.20Å et 2.00Å respectivement. De même, deux autres liaisons hydrogène sont formées entre l'hydrogène de la fonction amine et l'hydrogène porté par L'azote en position **b** de l'inhibiteur et l'oxygène du  $\alpha$ -carboxyle du résidu Gly216, séparés par des distances respectives de 1.94Å et 1.97Å. Un sixième pont hydrogène est constaté entre le groupement carboxyle porté par le C4 de l'inhibiteur et l'azote du cycle imidazole du résidu His42, séparés par une distance de 2.20Å. La dernière liaison hydrogène est formée entre l'azote en position **c** de l'inhibiteur et l'hydrogène de la fonction amine du résidu Arg209, séparés par une distance de 2.89Å.



**Figure N°31 :** Liaisons hydrogène entre le composé S26 et le site actif de la tyrosinase.



**Figure N°32 :** Interactions hydrophobiques entre le composé S26 et le site actif de la tyrosinase.

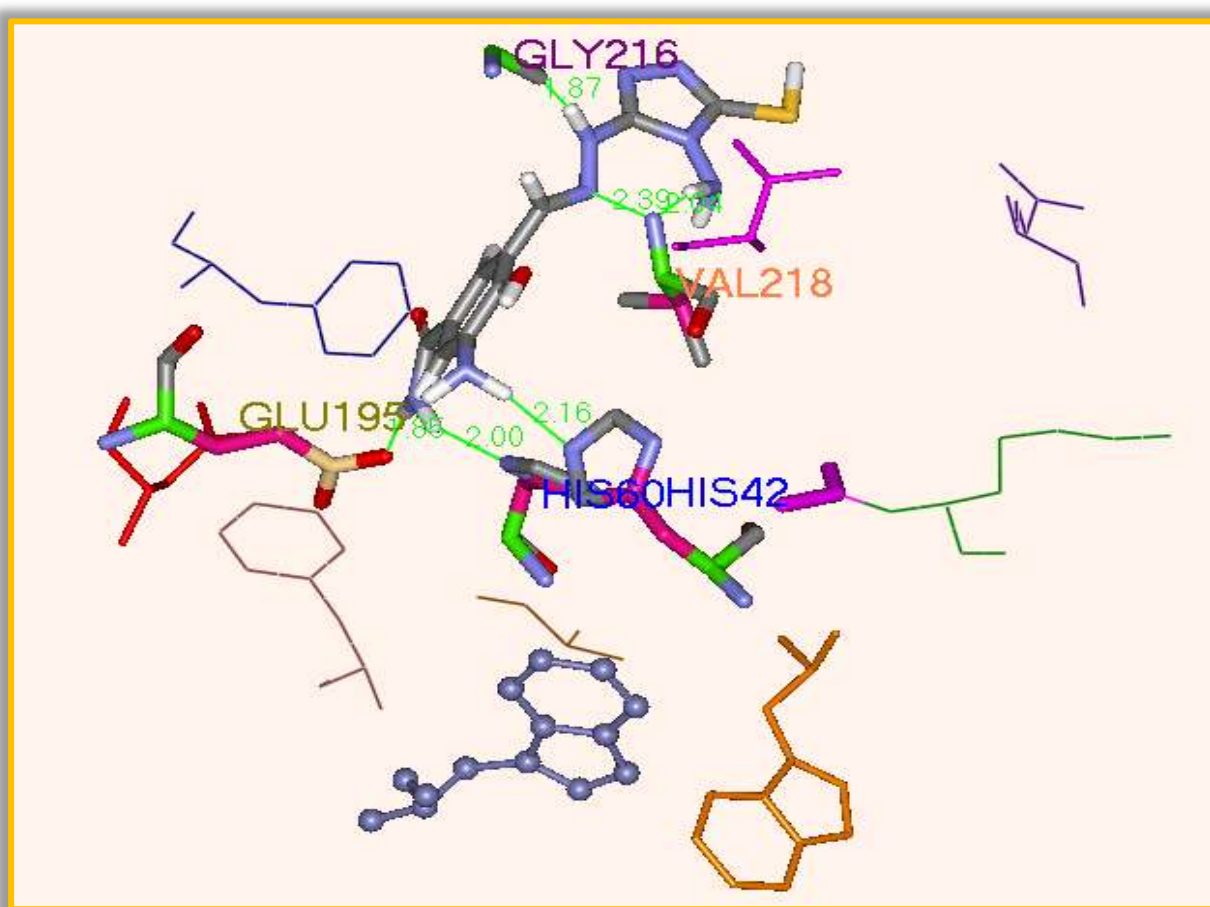


**Figure N°33 :** Illustration du positionnement du composé S26 dans le site actif de la tyrosinase.

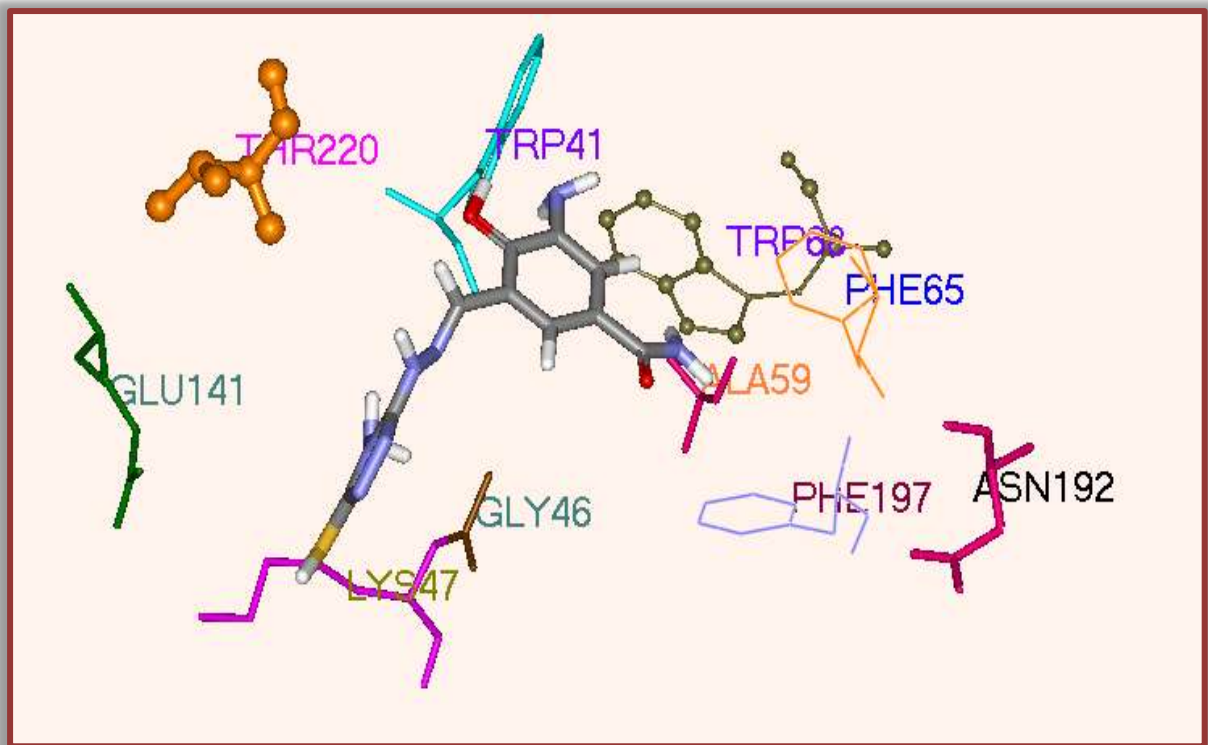


### 3.2.3. Le complexe tyrosinase-composé S27

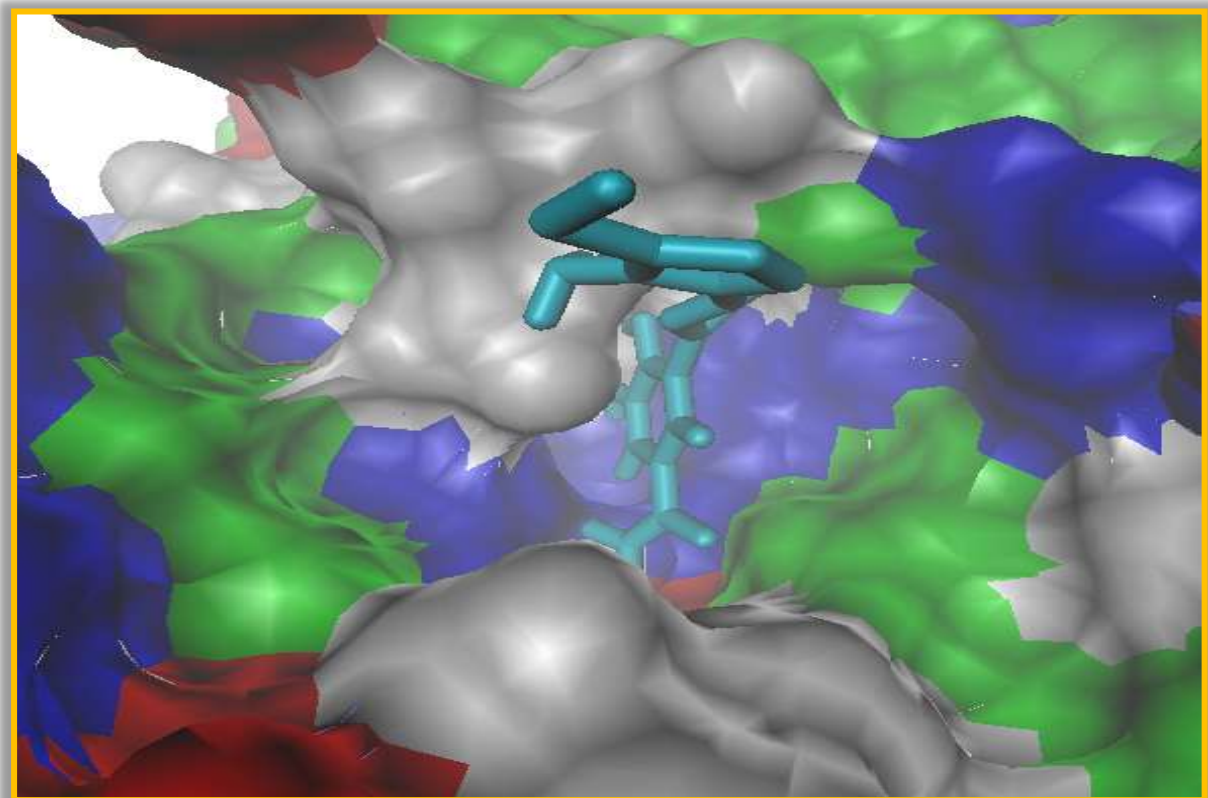
Le composé S27 inhibe la TYR en formant six liaisons hydrogène dont deux font intervenir la fonction  $\alpha$ -amine du résidu Val218 et les fonctions amine (distance = 2.04Å) et l'azote en position **a** de l'inhibiteur (distance = 2,39Å). De même, deux autres liaisons hydrogène sont formées entre la nouvelle fonction amide ajoutée sur la position C3 de l'inhibiteur d'un côté et l'azote du cycle imidazole du résidu His60 (distance = 2.00Å) ainsi que la fonction carboxylique du résidu Glu195 (distance= 1.85Å). La cinquième liaison hydrogène est observée entre la fonction amine porté par le C5 de l'inhibiteur et l'azote du cycle imidazole du résidu His42 avec une distance 2.16Å. Le dernier pont hydrogène est constaté entre la fonction amine de l'inhibiteur et l'oxygène du  $\alpha$ -carboxyle du résidu Gly216 (distante =1,87Å). Le composé S27 est par ailleurs stabilisé dans le site actif de la TYR par d'autres interactions de type hydrophobe avec les résidus : Thr220, Glu141, Lys47, Gly46, Phe197, Asn192, Ala59, Phe65, Trp41 et Trp68.



**Figure N°34 :** Liaisons hydrogène entre le composé S27 et le site actif de la tyrosinase.



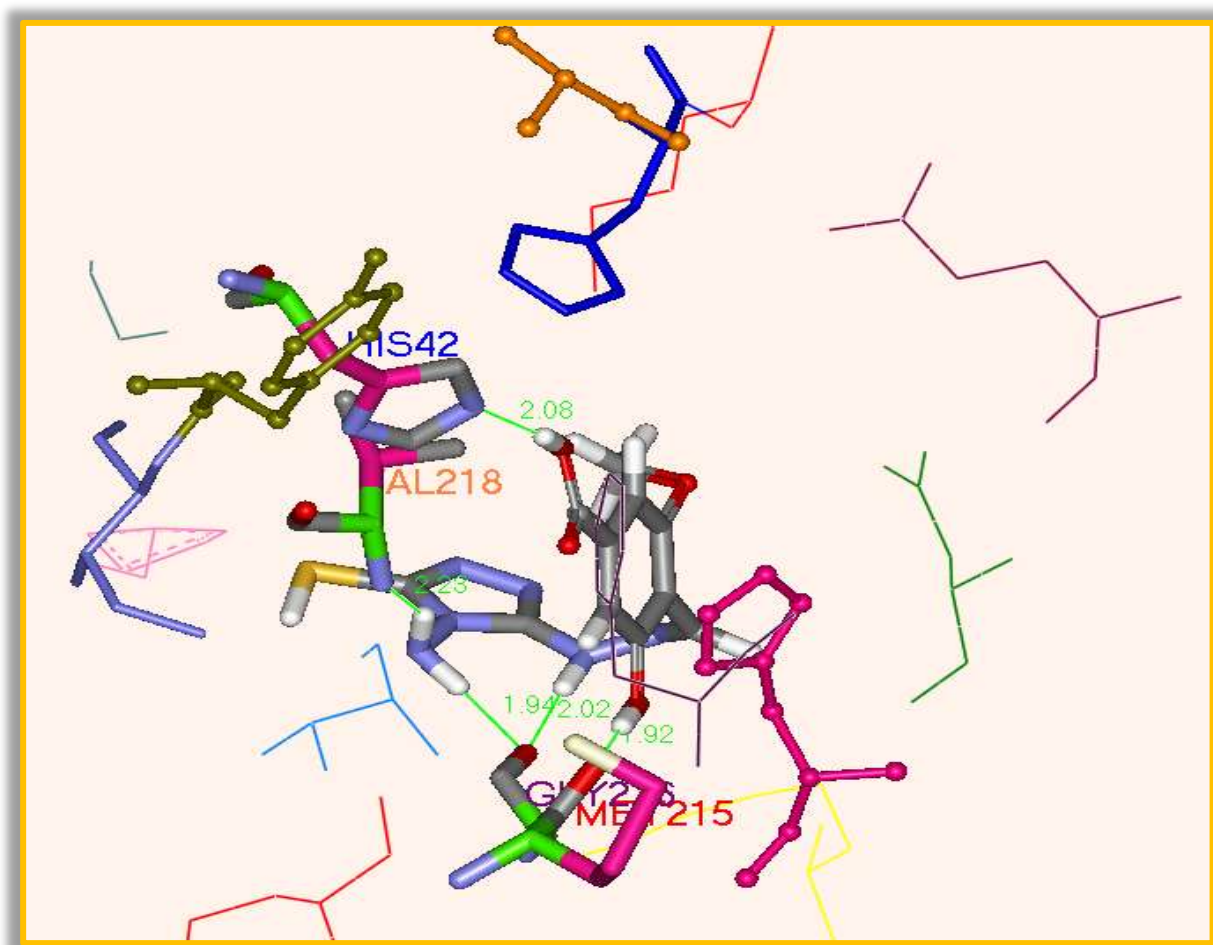
**Figure N°35 :** Interactions hydrophobes entre le composé S27 et le site actif de la tyrosinase.



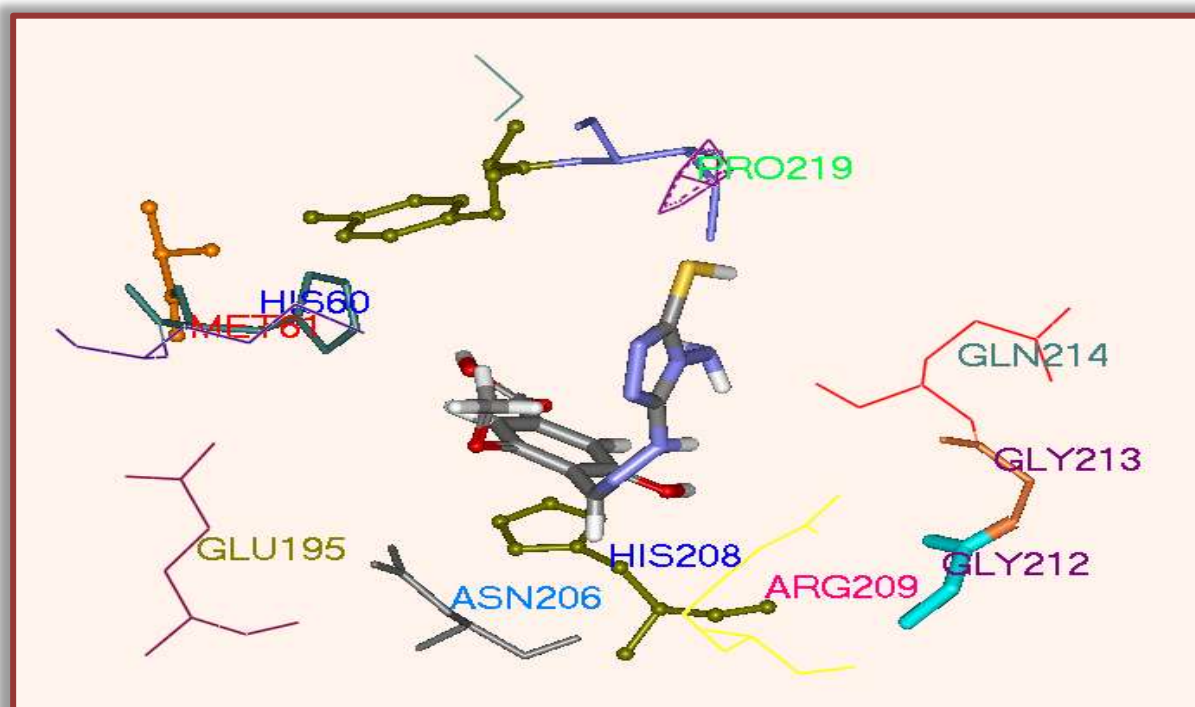
**Figure N°36 :** Illustration du positionnement du composé S27 dans le site actif de la tyrosinase.

### 3.2.4. Le complexe tyrosinase-composé S28

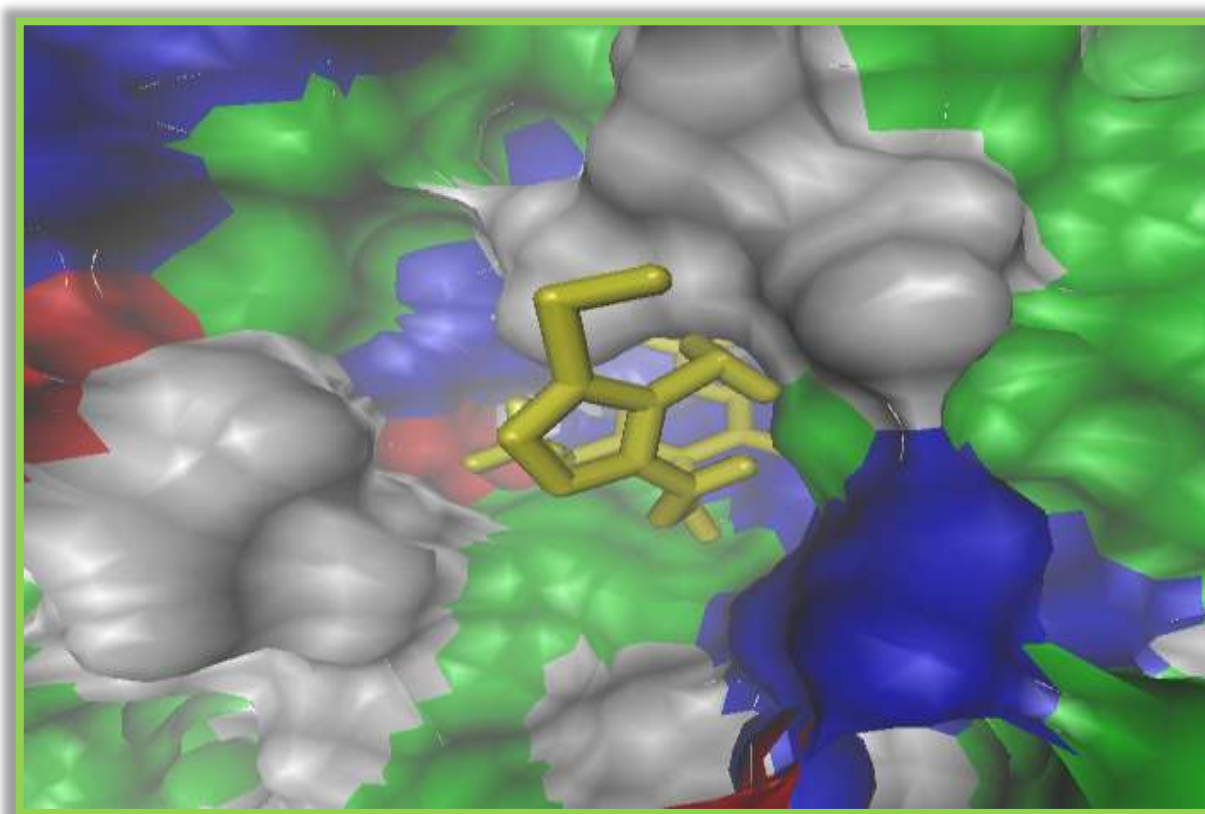
L'analyse visuelle (voir figure N° 37 et 38) révèle la présence de 5 ponts hydrogène entre le composé S28 et la TYR, le premier est formé entre la nouvelle fonction carboxyle porté sur C4 de l'inhibiteur et l'azote du cycle imidazole du résidu His42, séparés par une distance de 2.08Å. La deuxième est constatée entre la fonction amine de l'inhibiteur et la fonction  $\alpha$  - amine du résidu Val218 séparés par une distance de 2.23Å. La troisième distante de 1.92Å est formée entre l'hydroxyle lié au C6 de l'inhibiteur et l'oxygène du  $\alpha$ -carboxyle de résidu Met215. Les deux dernières distantes de 1.94Å et 2.02Å sont formées entre les deux fonctions amines de l'inhibiteur et l'oxygène du  $\alpha$ -carboxyle du résidu du Gly216. De nombreuses interactions de type hydrophobe assurent également la stabilité de ce complexe. Ces interactions sont constatées entre l'inhibiteur et les résidus : His60, Met61, Glu195, Asn206, Arg209, His208, Gly212, Gly213, Gln214 et Pro219, du site actif de l'enzyme.



**Figure N°37 :** Liaisons hydrogène entre le composé S28 et le site actif de la tyrosinase.



**Figure N°38 :** Interactions hydrophobes entre le composé S28et le site actif de la tyrosinase.

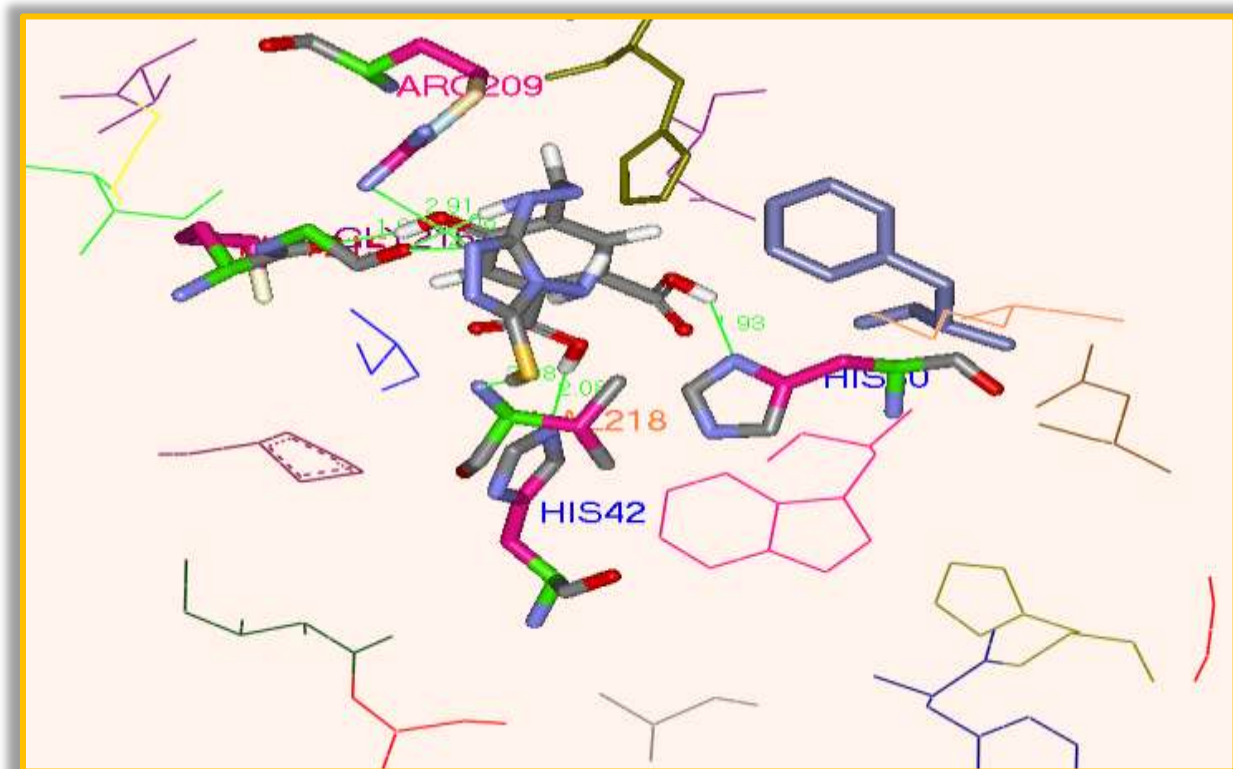


**Figure N°39 :** Représentation du positionnement du composé S28 dans le site actif de la tyrosinase.

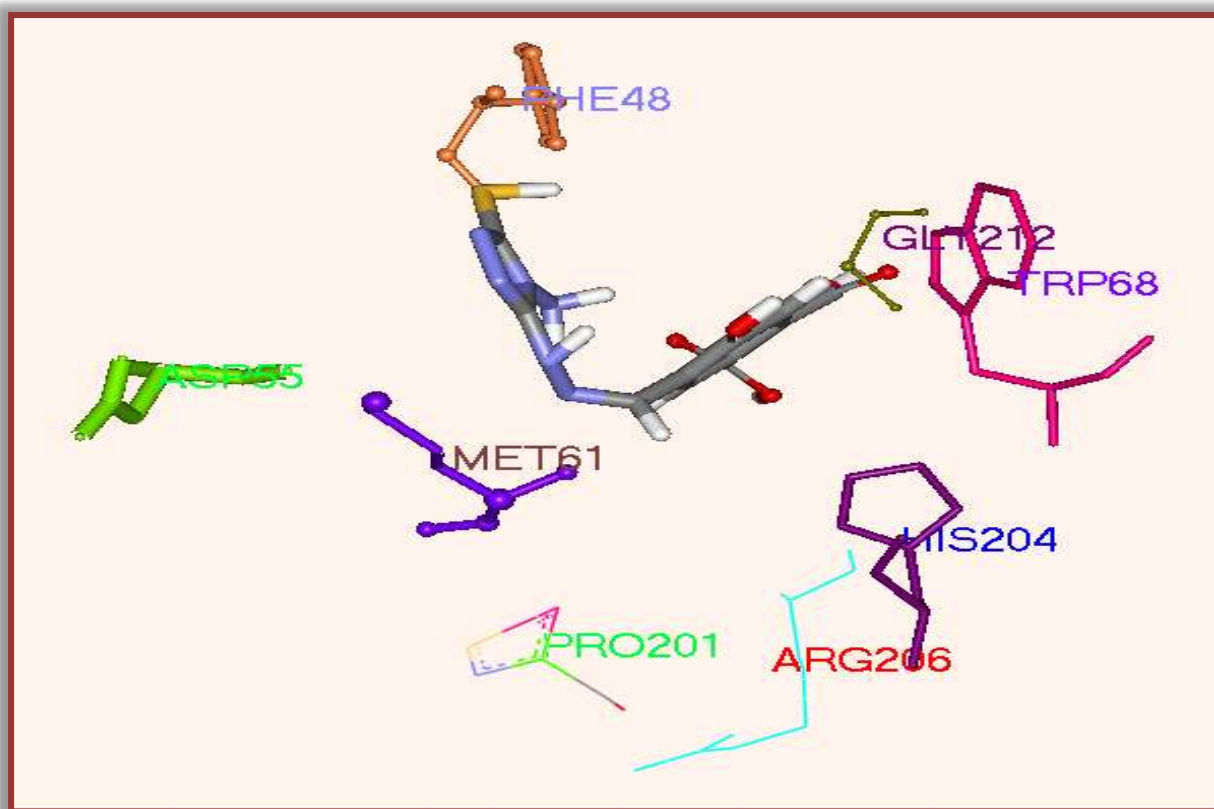


### 3.2.5. Le complexe tyrosinase-composé S29

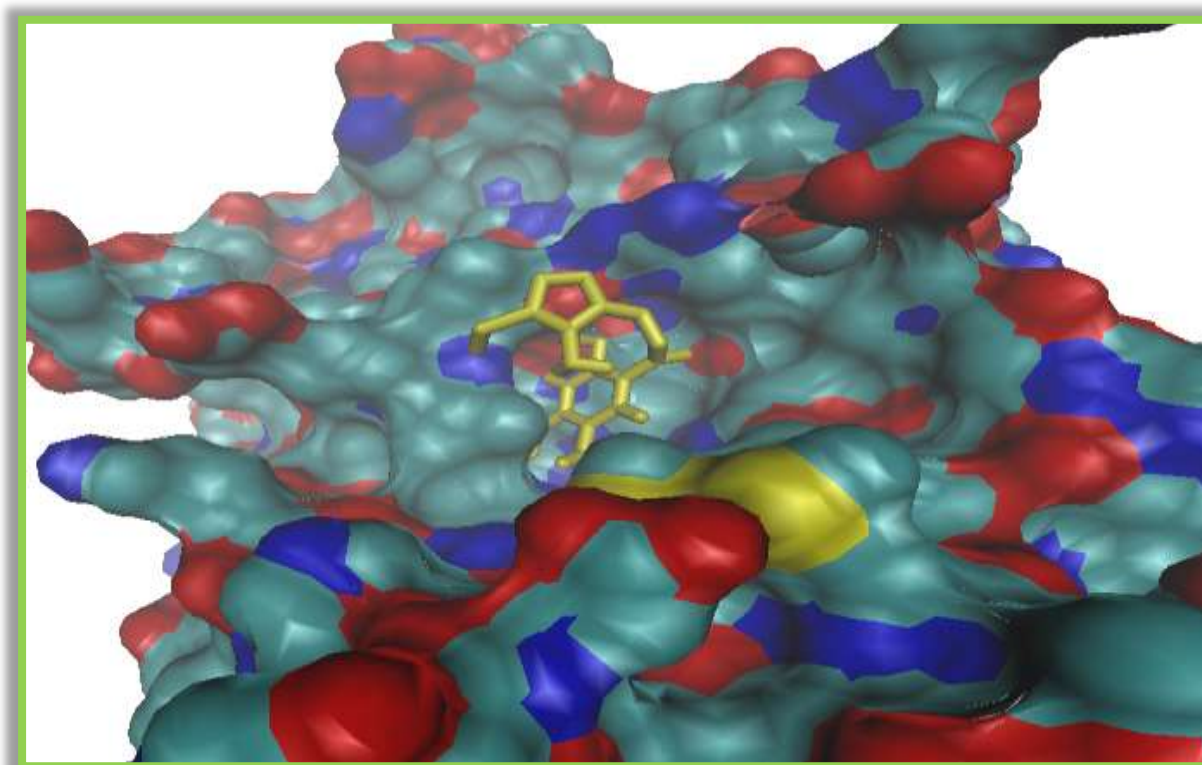
Ce composé forme sept ponts hydrogène avec le site actif de la TYR. Le premier est formé entre le groupement carboxyle porté par le C3 de l'inhibiteur et l'azote du cycle imidazole du résidu His60 (distance=1.93Å). L'hydrogène du groupement carboxyle porté par le C4 de l'inhibiteur et l'azote du cycle imidazole du résidu His42 forment une deuxième liaison hydrogène (distance 2.08Å). La troisième liaison hydrogène est formée entre la fonction thiol de l'inhibiteur et la fonction  $\alpha$ -amine du résidu Val218 séparés par une distance de 2.08Å. La quatrième liaison hydrogène est observée entre l'hydroxyle lié au C6 de l'inhibiteur et l'oxygène de la fonction  $\alpha$ -carboxyle du résidu Met215 séparés par une distance de 1.91Å. Deux autres liaisons hydrogène sont formées entre l'azote en position cde l'inhibiteur d'un côté et la fonction amine du résidu Arg209 (distance =de 2.91Å) ainsi que l'oxygène de la fonction  $\alpha$ -carboxyle du résidu Gly216 (distance = 2.73Å). La dernière liaison est formée entre l'hydrogène de l'azote en position de l'inhibiteur et l'oxygène de la fonction  $\alpha$ -carboxyle du résidu Gly216 séparés par une distance de 2.08Å. Ainsi, ce complexe est stabilisé grâce à de nombreuses interactions de type hydrophobe faisant intervenir les résidus : Phe48, Asp55, Met61, Pro201, Arg206, His204, Gly212 et Trp68. (Voir Figure N° 40 et 41).



**Figure N°40 :** Liaisons hydrogène entre le composé S29 et le site actif de la tyrosinase.



**Figure N°41 :** Interactions hydrophobes entre le composé S29 et le site actif de la tyrosinase.



**Figure N°42 :** Représentation du positionnement du composé S29 dans le site actif de la tyrosinase.

À la lumière de ce travail, nous pouvons proposer les composés S25, S26, S27, S28 et S29 comme nouveaux inhibiteurs de la TYR pour le traitement de l'hyperpigmentation et ce en se basant sur les résultats prometteurs obtenus *in silico*. En effet, les substitutions proposées sur le composé de départ améliorent nettement l'affinité et la sélectivité en mettant en place de nouvelles interactions avec le site actif de la cible en question comme nous l'avons expliqué plus haut. Il est à souligner qu'il n'était pas nécessaire d'appliquer la règle de Lipinski sur les composés proposés puisque les inhibiteurs de la TYR sont très utilisés en cosmétique comme pommades et non pas comme comprimés à prendre par voie orale.





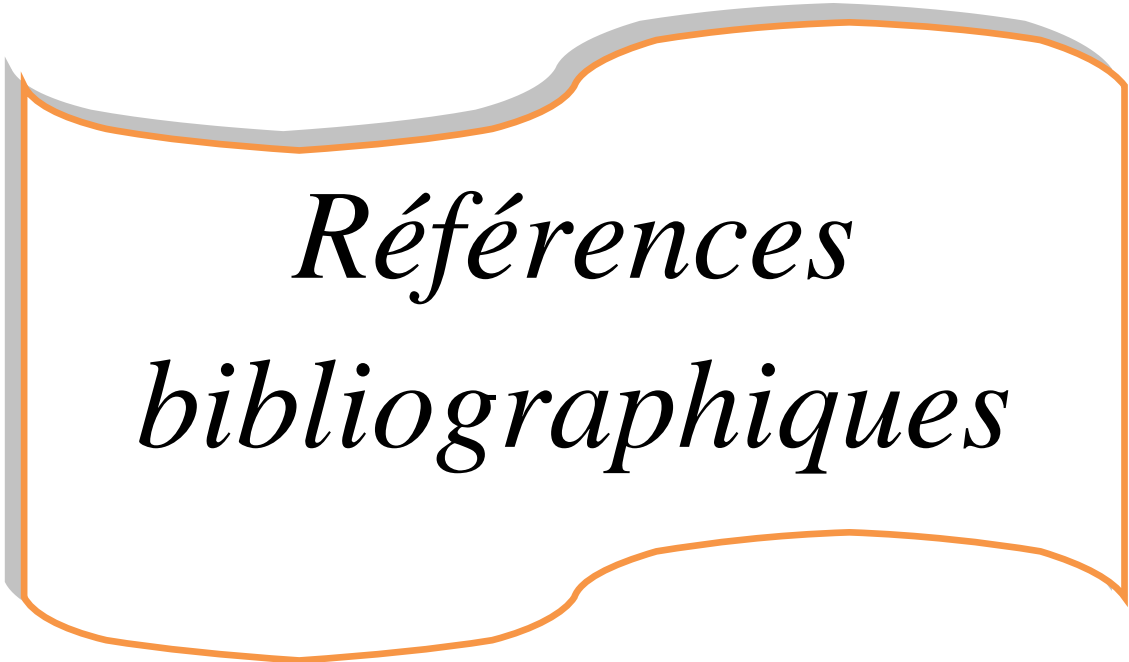
*Conclusion*

Notre objectif essentiel était de nous initier au docking moléculaire afin de proposer de nouveaux inhibiteurs de la TYR; cible thérapeutique très utilisée en médecine cosmétique pour le traitement de l'hyperpigmentation de la peau.

Au préalable, nous avons testé la performance du programme Surflex utilisé dans cette étude au moyen de trois critères différents. Le premier test consiste à calculer le RMSD entre la meilleure conformation du ligand simulée par Surflex et celle déterminée expérimentalement qu'on retrouve dans la PDB. Sur l'ensemble de 100 complexes tirés arbitrairement de la PDB, 87% ont présenté un RMSD parfaitement dans les normes (inférieur à 2 Å). L'analyse visuelle faisant suite au test par RMSD confirme davantage la fiabilité du Surflex en montrant de bonnes superpositions des modèles des ligands simulés et expérimentaux. Le dernier test consiste à évaluer le coefficient de corrélation linéaire existant entre les scores de 33 inhibiteurs de la TYR issus de la littérature et les valeurs de leur  $IC_{50}$  déterminées expérimentalement. Avec un coefficient de corrélation égal à (-0.76), nous pouvons conclure que le programme Surflex est suffisamment fiable pour simuler les interactions TYR-inhibiteurs.

Dans l'espoir de proposer de nouveaux inhibiteurs plus affins et plus puissants de la TYR, nous avons utilisé les composés **2** et **4** comme structure de départ sur lesquels nous avons mené des substitutions structurales en introduisant plusieurs groupements fonctionnels présentant la capacité d'engager des liaisons hydrogène avec le site actif de l'enzyme. Le docking moléculaire de ces composés envers la TYR fait ressortir 168 (dont 53 issus de la mono-substitution et 115 de la bi-substitution) comme inhibiteurs potentiels, parmi lesquels les composés S25 ; S26 ; S27 ; S28 et S29 présentant une nette amélioration de leur score qui passe de 4.51 (score du composé de départ) à 8.84 ; 8.04 ; 7.89 ; 7.35 et 7.33 respectivement. La visualisation des interactions de ces composés montre un bon positionnement et une meilleure sélectivité au sein de la cavité catalytique de la TYR.

Il sera idéale dans le prolongement de cette étude de tester *in vitro* et/ou *in vivo* l'activité biologique des composés nouvellement proposés en vue de valider les résultats théoriques.



*Références  
bibliographiques*

- [1] Hazan C. Recherche d'inhibiteurs de haute affinité de l'ADN polymérase beta par criblage virtuel et RMN. Thèse de doctorat d'université : Biologie structurale. Toulouse : l'Université Toulouse III - Paul Sabatier. France. 2008. 258 p.
- [2] Ketata A., Neifar A., Mihoubi W., Pigeon P., Gouzi H., Mallet J.M et al. The inhibition of tyrosinase by some aryl butenes: A desired activity or a side effect to avoid. *Journal of Organometallic Chemistry*. 2017; **848**: 133-141.
- [3] Okombi S. Recherche et étude de molécules a activite antityrosinase et leur utilisation comme agents depigmentants en dermocosmetique. Thèse de doctorat en Chimie organique. Grenoble : Université Joseph Fourier Grenoble 1. France. 2005. 171 p.
- [4] Li Q., Yang H., Mo J., Chen Y, Wu Y., Kang C. Identification by shape-based virtual screening and evaluation of new tyrosinase inhibitors. *PeerJ*. 2018; **6**: 4206.
- [5] Briganti S., Camera E., Picardo M. Chemical and instrumental approaches to treat hyperpigmentation. *Pigment Cell Research*. 2003; **16**: 101-110.
- [6] Ortiz-Ruiz V., Garcia-Molina., Tudela J., Tomas V., Garcia-Canovas F. Discrimination between alternative substrates and inhibitors of tyrosinase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2015; **63**: 2162-2171.
- [7] Klabunde T., Eicken Ch., Sacchettini J. C., Krebs B. Crystal structure of a plant catechol oxidase containing a dicopper center. *Nature structural biology*. 1998; **5**: 1084-1090.
- [8] Leboukh S. Etude comparative entre la cinétique d'oxydation du phénol par la tyrosinase libre et immobilisée dans le gel d'alginate de calcium. Thèse de magister d'université : Sciences et Techniques de l'Environnement. Annaba : Université de Badji Mokhtar. Algérie. 2011. 92 p.
- [9] Kanteev M., Goldfeder M., Fishman A. Structure function correlations in tyrosinases. *Protein Science*. 2015; **24**: 1360-1369.

- [10] Soussou A. Étude des propriétés structurales, morphologiques et électrochimiques de couches minces de nanocomposites hybrides de type hydroxyde double lamellaire (HDL) /biomolécules : Application aux biocapteurs de polyphénols. Thèse de doctorat d'université : Physique, Laser, Matière et Nanosciences. Bordeaux : Université de Bordeaux. France . 2016. 189 p.
- [11] Hamann J.N., Herzigkeit B., Jurgeleit R., Tuzcek F. Small-molecule models of tyrosinase : From ligand hydroxylation to catalytic monooxygenation of external substrates. *Coordination Chemistry Reviews*. 2016; **334**: 1-13.
- [12] Nakashima S., Matsuda H., Oda Y., Nakamura S., Xu F., Yoshikawa M. Melanogenesis inhibitors from the desert plant *Anastatica hierochuntica* in B16 melanoma cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2010; **18**: 2337-2345.
- [13] Eve O. Les produits depigmentants. Thèse de doctorat en pharmacie. Grenoble : Université Joseph Fourier. France. 2011. 79 p.
- [14] Lee S.Y., Baek N., Nam T.G. Natural, semisynthetic and synthetic tyrosinase inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2016; **31**: 1-13.
- [15] Bernard P., Berthon J.Y. Resveratrol : an original mechanism on tyrosinase inhibition. *International Journal of cosmetic Science*. 2000; **22**: 219-226.
- [16] Pillaiyar T., Manickam M., Namasivayam V. Skin whitening agents : medicinal chemistry perspective of tyrosinase inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2017; **32**: 403-425.
- [17] Dong H., Liu J., Liu X., Yu Y., Cao S. Combining molecular docking and QSAR studies for modelling the anti-tyrosinase activity of aromatic heterocycle thiosemicarbazone analogues. *Journal of Molecular Structure*. 2017; **1151**: 353-365.
- [18] Haudecoeur R. Pharmacochimie des aurones pour la modulation d'enzymes. Thèse d'université : Chimie-Biologie. Paris : Université de Grenoble. France. 2011. 258 p.
- [19] Boumehti A. Les éphélides chez l'enfant : étiopathogénie et manifestations cliniques (a propos de 2 cas). Thèse de doctorat en médecine. Fès : université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Maroc. 2017. 161 p.

- [20] Kamagaju L. Problématique de la dépigmentation cutanée au Rwanda. Modulateurs de la tyrosinase extraits de plantes utilisées en médecine traditionnelle. Thèse de doctorat en Sciences Biomédicales et Pharmaceutiques. Bruxelles : Université libre. France. 2014. 194 p.
- [21] Krid Y. Conception *in silico* de nouveaux flavonols inhibant potentiellement l'Enzyme de Conversion de l'Angiotensine pour le traitement de l'hypertension artérielle. Mémoire de Master en Biochimie Moléculaire et Santé, Université des Frères Mentouri, Constantine. Algérie. 2013. 51 p.
- [22] Boukli-Hacene F. Etude de l'interaction de quelques sels de métaux avec les sucres en solution aqueuse par modélisation moléculaire. Thèse de doctorat en Chimie Organique Appliquée. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid. Algérie. 2016. 104 p.
- [23] Beautrait A. Développement et validation de la plateforme de criblage virtuel VSM-G et étude du domaine FAT de la kinase d'adhérence focale FAK. Thèse de doctorat d'université : Chimie Informatique et Théorique. Nancy I : Université Henri Poincaré. France. 2008. 217p.
- [24] El Hadj Said K. Contribution à l'étude de l'inhibition d'enzyme par des Tripodes pyrazoliques par modélisation moléculaire. Mémoire de Master en Chimie Organique, Université de Tlemcen. Algérie. 2016. 50 p.
- [25] Mokrani E.H. Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation informatique. Thèse de magister d'université : Technologie des explorations biochimiques. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie. 2012. 75 p.
- [26] Vuorinen A and Schuster D. Methods for generating and applying pharmacophore models as virtual screening filters and for bioactivity profiling. *Methods*. 2015; **71**: 113-134.
- [27] Sotriffer C., Klebe G., Stahl M., Böhm H.-J. Docking and Scoring Functions/Virtual Screening. *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery*. 2003; **1**: 281–331.
- [28] Spyraakis F., Cozzini P., Kellogg G. E. Docking and Scoring in Drug Discovery. *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery*. 2010; **48**: 601–684.
- [29] [En ligne]. <https://www.rcsb.org/stats/summary>. Consulter le : [03-03-2018].

- [30] Nathalie L. Méthode de criblage virtuel *in silico* : importance de l'évaluation et application à la recherche de nouveaux inhibiteurs de l'interleukine 6. Thèse de doctorat d'université : bioinformatique. Paris : Université Paris-Sud. France. 2014. 314 p.
- [31] François M. Développement d'une nouvelle méthode de docking basée sur les mécanismes enzymatiques et guidée par des groupes prosthétiques. Thèse de doctorat de l'université : chimie. Paris sud : Université Paris SUD. 2015. 117 p.
- [32] Morris G.M., Goodsell D.S., Halliday R.S. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *Journal of Computational Chemistry*. 1998; **19**: 1639-1662.
- [33] Rarey M., Kramer B., Lengauer T., Klebe G.A. Fast flexible docking method using an incremental construction algorithm. *Journal of Molecular Biology*. 1996; **261**: 470-489.
- [34] Jones G., Willett P., Glen R.C., Leach A.R., Taylor R. Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking. *Journal of Molecular Biology*. 1997; **267**: 727-748.
- [35] Ewing T.J., Makino S., Skillman A.G., Kuntzi D. DOCK 4.0 : search strategies for automated molecular docking of flexible molecule databases. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. 2001; **15**: 411-428.
- [36] Jain N. Surflex-Dock 2.1 : Robust performance from ligand energetic modeling, ring flexibility, and knowledge-based search. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. 2007; **21**: 281-306.
- [37] Rayar A.M. *In silico* drug design et chimie médicinale : développement de nouvelles molécules coumariniques, sélectives de la cyclooxygénase-2. Thèse de Doctorat du Conservatoire National des Arts et Métiers. Bioinformatique. Paris : École doctorale sciences des metiers de l'ingenieur. France. 2017. 398 p.
- [38] Theoretical and computational biophysics group. VMD v 1.9.1. [En ligne] <http://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/vmd-1.9.1/>.
- [39] [En ligne] <http://viewerlite.software.informer.com/4.2/>.
- [40] GraphPad Prism7 version 7.03. [En ligne] <https://www.graphpad.com>.



- [41] Protein Data Bank (PDB). Biological Macromolecular Resource. [En ligne]. <http://www.pdb.org/pdb/home>. Consulté le : [25-04-2018].
- [42] Nokinsee D., Shank L., Lee V.S., Nimmanpipug P. Estimation of Inhibitory Effect against Tyrosinase Activity through Homology Modeling and Molecular Docking. *Enzyme Research*. 2015; **2015**: 1-13.
- [43] Sendovski S., Kantee M., Ben-Yosef V.S., Adir N., Fishman A. First Structures of an Active Bacterial Tyrosinase Reveal Copper Plasticity. *Journal of Molecular Biology*. 2011; **405**: 227-237.
- [44] Gabb J., Jackson R.M., Sternberg M.J.E. Modelling protein docking using shape complementarity, electrostatics and biochemical information. *Journal of Molecular Biology*. 1997; **272**: 106-120.
- [45] Chikhi A. Calculs et modelisations des interactions peptide deformylase –substances antibacteriennes a l'aide de techniques de "docking" (arrimage) moleculaire. Thèse de Doctorat d'université : Biochimie appliquée. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie. 2007. 126 p.
- [46] Chikhi A., Bensegueni A. Comparative Study of the Efficiency of Three Protein-Ligand Docking Program. *Journal of Proteomics and Bioinformatics*. 2008; **1**: 161-165.
- [47] Loizzo M.R., Tundis R., Menichini F. Natural and Synthetic Tyrosinase Inhibitors as Antibrowning Agents : An Update. *Food Science and Food Safety*. 2012; **11**: 378-398.
- [48] Gao H. Predicting tyrosinase inhibition by 3D QSAR pharmacophore models and designing potential tyrosinase inhibitors from Traditional Chinese medicine database. *Phytomedicine*. 2018; **38**: 145-157.
- [49] Diaz P., Raffin C., Pelisson I. Inhibiteurs de la tyrosinase et leur utilisation pour traiter les desordres hyperpigmentaires. Brevet WO 2006103345 (A1). 5 October. 2006.
- [50] Boucherit H., Chikhi A., Bensegueni A., Merzoug A., Hioual k. S., Mokrani E. H. Theoretical study of the interactions involved in the inhibition of *Mycobacterium tuberculosis* methionine aminopeptidase by several molecules. *Computational Biology and Bioinformatics*. 2014; **2**: 63 -73 p.

[51] Merzoug A., Mermoum S., Khaled S., Chikhi A., Bensegueni A., Boucherit H. Theoretical Study of the Interactions Involved in the Inhibition of *Staphylococcus aureus* Peptide Deformylase by GSK1322322 Derivatives. *Journal Academia Fondation*. 2015; **5**: 29p.



*Annexes*

**Annexe 1 :** Résultats obtenue de RMSD des complexes protéines-ligands.

N°	Code PDB	Code des ligands	RMSD (Å)
1	1AIM	ZYA	1,45
2	1DIF	A85	1,03
3	1DM2	HMD	1,685
4	1EB2	BPO	1,89
5	1G36	R11	1,55
6	1HPX	KNI	1,253
7	1IDA	OPO	1,871
8	1IDB	ODO	2,379
9	1JS3	142	1,362
10	1K1I	FD1	1,45
11	1K1J	FD2	1,977
12	1K1L	FD3	1,68
13	1K1M	FD4	2,126
14	1K1N	CCR	1,513
15	1K1O	IGN	1,454
16	1K1P	MEL	1,273
17	1N7I	LY1	0,063
18	1N7J	IDI	1,005
19	1OI9	N20	1,767
20	2Y9X	OTR	0,786
21	4JBS	P52	2,095
22	1RTH	U05	0,306
23	1RTI	HEF	1,599
24	1VRT	NVP	2,041
25	1YKR	628	0,627
26	1YZ3	SKA	0,041
27	1ZVX	FIN	1,387
28	2AN5	TTL	0,043
29	2EEP	AIO	1,294
30	2FS9	C4A	1,862
31	2G5P	ADF	1,844
32	2G70	HNT	7,845
33	2G71	FTS	0,348
34	2HBU	UN9	0,257
35	2I78	KIQ	1,058
36	2OBF	F83	0,484
37	2ONZ	TMJ	0,997
38	2OPB	F21	1,142

39	2OPH	277	0,129
40	2QDH	M2P	0,893
41	2QJR	PZF	0,563
42	2R4B	GW7	1,383
43	2RJP	886	3,198
44	2RJQ	BAT	1,489
45	2V35	J54	1,366
46	2XEY	YVQ	1,806
47	2XBU	5GP	2.41
48	2XF0	4UB	1,554
49	2FR6	CTN	2.041
50	2ZJF	BSU	0,932
51	3BIZ	61E	0,588
52	3C56	PH4	0,639
53	3N9R	TD3	0,433
54	3N9S	TD4	1,522
55	3NQ1	KOJ	0,127
56	3PCG	4HP	0,912
57	3Q2A	PAB	0,337
58	3Q3M	Z82	0,089
59	3QQK	X02	2,239
60	3R8Z	Z63	1,381
61	3VLL	SHA	0,259
62	3VP2	BP0	0,034
63	3VP3	BP8	0,078
64	3VP4	BP9	0,443
65	3VVG	ZGB	16,215
66	3ZM5	IGM	2,191
67	4CDL	LLK	0,673
68	4E3M	OND	3,778
69	4G2R	H1L	3,879
70	4GLW	OXT	0,057
71	4GLX	OX5	0,077
72	4IU6	FZ1	0,896
73	4MIK	JIL	0,389
74	4MP7	PFT	1,824
75	4MPC	PV2	1,731
76	4MQ4	2D5	1,53
77	4MW1	44F	1,019
78	4NCM	704	0,388
79	4PES	2PJ	1,856
80	4PNC	7NP	0,879
81	4R68	W31	1,854

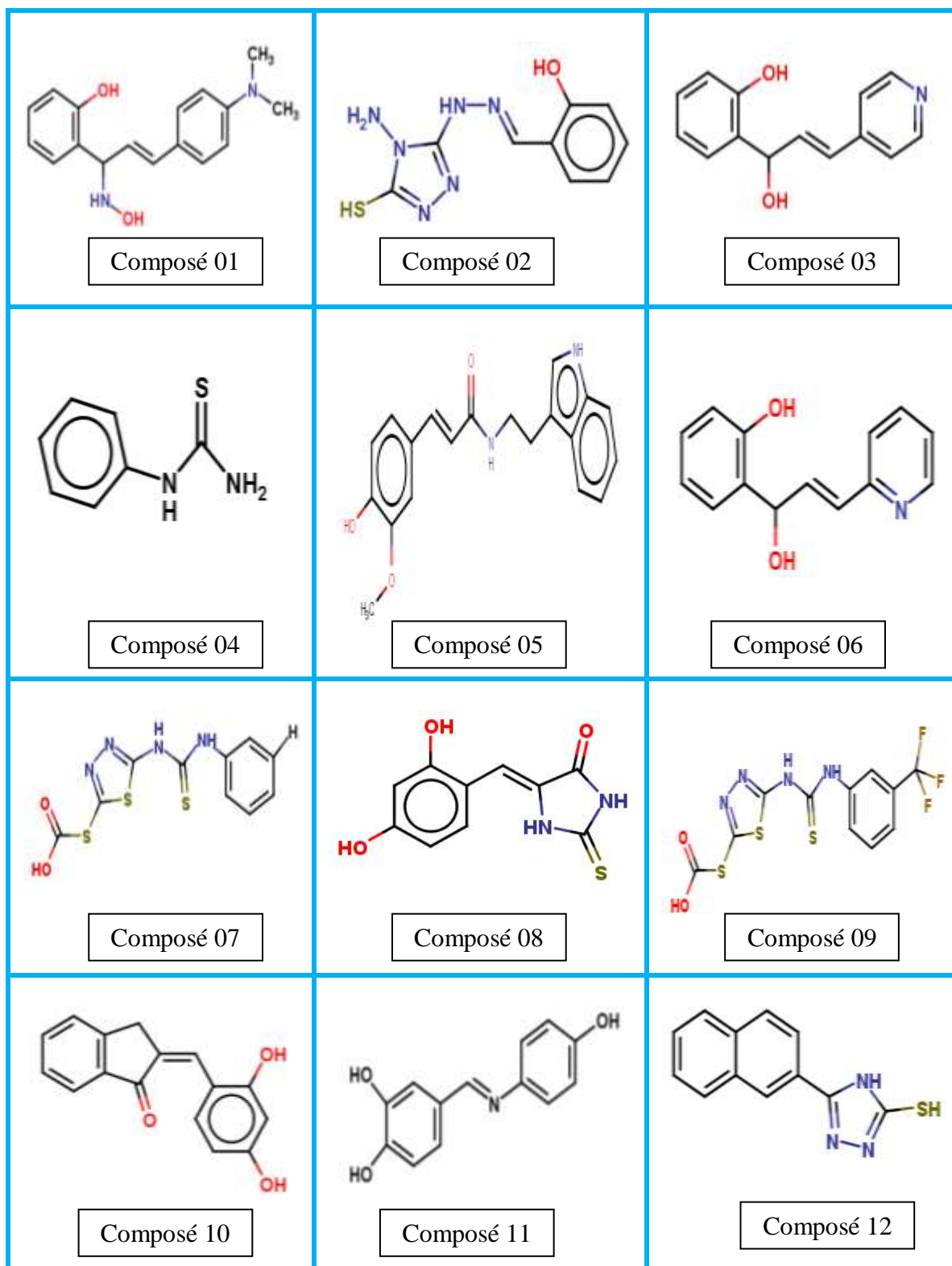
---

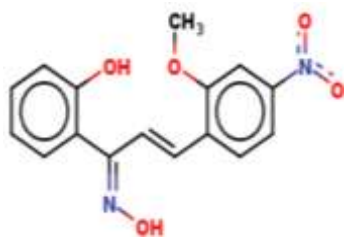
82	4WK7	3PQ	1,057
83	4WKE	3PU	1,257
84	4WKI	3PW	1,463
85	4ZSD	7I6	1,869
86	4ZX4	4TL	0,195
87	5FI2	5XX	1,463
88	5FI6	5XY	1,932
89	5FI7	5XZ	1,744
90	5I38	KOJ	1,083
91	5I3A	HQE	0,061
92	5I3B	HQE	0,035
93	5IFU	P6M	1,91
94	5KKC	6V0	0,864
95	5LO1	6Z4	0,288
96	5TFT	P6U	1,944
97	5URS	8LA	1,269
98	5W8H	9Y1	0,216
99	9HVP	0E9	1,282
100	3QTQ	X35	1,002

---

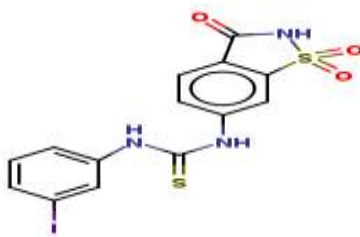


**Annexe 2 :** Structures des inhibiteurs de tyrosinase utilisés dans l'étude de la régression Linéaire.

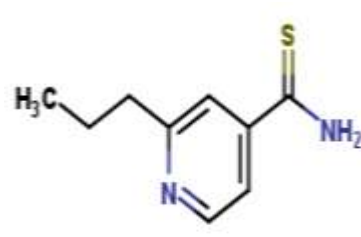




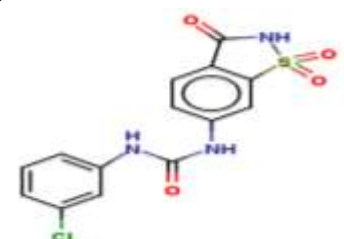
Composé 13



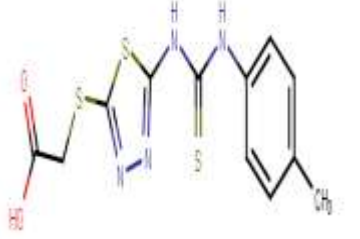
Composé 14



Composé 15



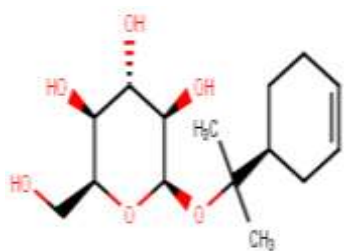
Composé 16



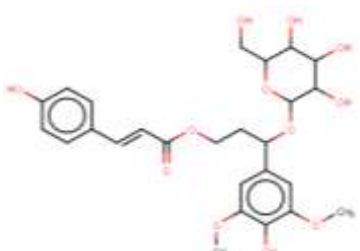
Composé 17



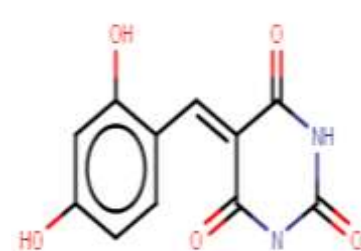
Composé 18



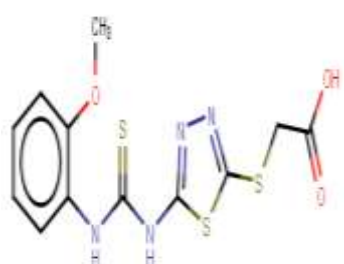
Composé 19



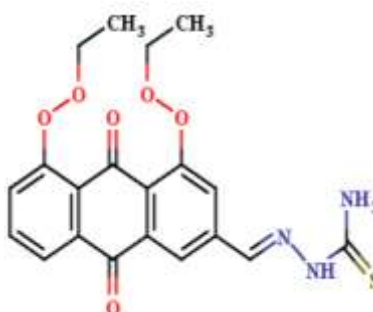
Composé 20



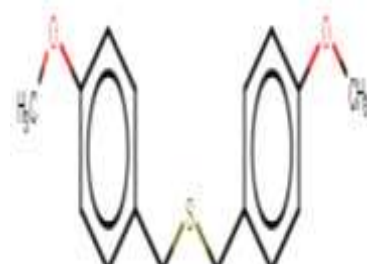
Composé 21



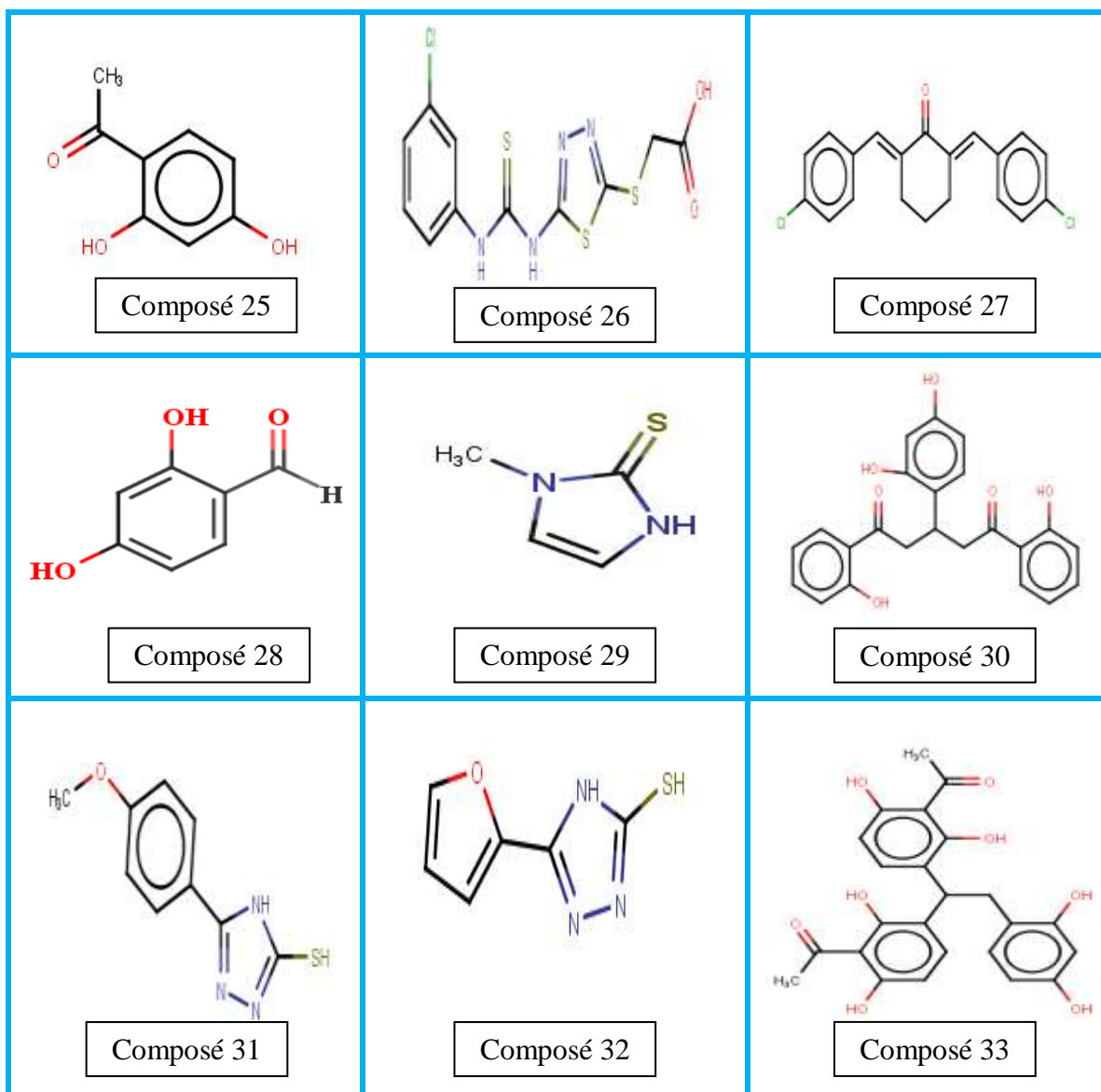
Composé 22



Composé 23



Composé 24



**Annexe 3 :** les mono-substitutions du Composé 2.

## Mono substitution

composé	C2	C3	C4	C5	a(C)	c(N)	Final-0
1			CONH2				5,42
2			COOH				6,41
3		CONH2					6,41
4		COOH					5,71
5	F						5,71
6				NH2			5,66
7			NH2				5,61
8					COOH		5,57
9	NH2						5,55
10						Cl	5,34
11						OH	5,21
12				OH			5,15
13		NH2					5,14
14						Br	5,09
15	OH						5,08
16				COH			5,08
17			Nitroso				5,03
18				OCH3			5,02
19		COH					5,02
20		Br					4,98
21				COOH			4,97
22				Cyano			4,97
23			F				4,96
24			OCH3				4,95
25			OH				4,93
26	COOH						4,92
27	OCH3						4,88
28	SH						4,87

---

29		F	4,85
30		Br	4,81
31		HSO2	4,8
32		Nitroso	4,75
33	Nitroso		4,71
34		NH2	4,70
35		CONH2	4,70
36	CONH2		4,66
37	F		4,61
38		CONH2	4,52
39		Cl	4,52
40	OCH3		4,40
41		COOH	4,37
42		SH	4,31
43		F	4,29
44		Cl	4,28
45		Nitro	4,26
46	OH		4,21
47	HSO2		4,19
48		SH	4,16
49		F	4,00
50		Nitro	3,95
51		Br	3,90
52		Cl	3,90
53		HSO2	3,89
54		CONH2	3,88
55	SH		3,87
56		NH2	3,83
57		HSO2	3,82
58		HSO2	3,80
59	Cl		3,77
60		Cyano	3,72
61	Cyano		3,69

---

62	Cl	3,65
63	Br	3,54
64	Cyano	3,53
65	COH	3,49
66	SH	3,37
67	COH	3,26
68	Cyano	3,19
69	COH	3,03
70	OCH3	3,02
71	Br	2,96
72	Cyano	2,95
73	Nitro	2,94
74	COH	2,89
75	OCH3	2,78
76	Nitroso	2,77
77	SH	2,75
78	OH	2,74
79	HSO2	2,64
80	Nitro	2,63
81	Nitro	2,63
82	Nitro	2,62
83	Nitroso	2,49
84	Nitroso	1,66

**Annexe 4** : les bi-substitutions du composé 2.**BI Substitution**

composé	C2	C3	C4	C5	a (C )	c (N)	Final-o
1		CONH2	CONH2				<b>8,84</b>
2		CONH2	COOH				8,04
3		CONH2		NH2			7,89
4	OCH3		COOH				7,35
5		COOH	COOH				7,33
6			COOH	CONH2			7,26
7		NH2	COOH				6,76
8		CONH2	NH2				6,74
9		OCH3	COOH				6,73
10	NH2		COOH				6,56
11		CONH2	Cyano				6,55
12		CONH2		COH			6,53
13			COOH		NH2		6,4
14		NH2	COOH				6,33
15		CONH2			SH		6,39
16		HSO2	COOH				6,31
17	OCH3	CONH2					6,31
18	CONH2	CONH2					6,30
19			COOH			Nitroso	6,29
20		COH	COOH				6,21
21	OH		COOH				6,19
22		CONH2			NH2		6,17
23	COOH	CONH2					6,15
24		CONH2	Br				6,14
25			COOH			OCH3	6,11
26		Nitroso	COOH				6,1
27	COH		COOH				6,03
28	Cyano		COOH				6,02
29		CONH2				COOH	6,02
30		CONH2	F				6,01
31		CONH2	OH				5,92
32		CONH2		COOH			5,90
33			COOH			Cyano	5,89
34	CONH2		COOH				5,83
35	NH2	CONH2					5,82
36		CONH2		OH			5,78
37		CONH2		Cl			5,77
38			COOH			COH	5,70



39	Cl	CONH2				5,68
40		CONH2	COH			5,68
41		CONH2			Cl	5,65
42		CONH2		F		5,63
43			COOH	COH		5,61
44			COOH	Nitroso		5,61
45		CONH2		Nitro		5,61
46		OH	COOH			5,59
47		Cyano	COOH			5,54
48		CONH2			OH	5,54
49		CONH2			Br	5,54
50	F	CONH2				5,53
51			COOH	CONH2		5,51
52		CONH2		CONH2		5,50
53			COOH		NH2	5,49
54			COOH	HSO2		5,48
55	HSO2	CONH2				5,48
56			COOH	Cl		5,46
57	Nitroso	CONH2				5,44
58	Cyano	CONH2				5,42
59	OH	CONH2				5,38
60		CONH2	Cyano			5,34
61		CONH2		Cyano		5,30
62		CONH2		Nitroso		5,30
63	Nitroso		COOH			5,28
64		CONH2			CONH2	5,24
65			COOH	COOH		5,17
66		CONH2			NH2	5,14
67		CONH2	SH			5,13
68	SH	CONH2				5,06
69		CONH2	Cl			5,02
70			COOH	OCH3		5,01
71			COOH	NH2		5,00
72		CONH2			OH	4,99
73			COOH	Cyano		4,96
74			COOH		Cl	4,95
75		CONH2			COH	4,94
76	Nitro	CONH2				4,93
77			COOH	COH		4,90
78	COOH		COOH			4,86
79		CONH2		HSO2		4,85
80			COOH		COOH	4,81
81			COOH	OH		4,79
82		CONH2		CONH2		4,77

83			COOH	OCH3	4,76
84		CONH2		OCH3	4,75
85			COOH	SH	4,70
86		CONH2		Nitroso	4,67
87			COOH	OH	4,63
88			COOH	CONH2	4,63
89	COH	CONH2			4,63
90		Br	COOH		4,56
91	SH		COOH		4,52
92		CONH2		F	4,51
93		CONH2		COOH	4,48
94		CONH2		Nitroso	4,43
95	Cl		COOH		4,40
96			COOH	F	4,37
97		CONH2		SH	4,35
98	Br	CONH2			4,24
99			COOH	HSO2	4,19
100			COOH	HSO2	4,18
101		CONH2		Cl	4,18
102		CONH2		Cyano	4,18
103		CONH2		Cyano	4,13
104		Cl	COOH		4,12
105			COOH	SH	4,09
106		CONH2		Nitro	4,09
107			COOH	OH	4,06
108		CONH2	Nitro		4,05
109	HSO2		COOH		4,04
110		CONH2	HSO2		4,04
111		F	COOH		4,02
112			COOH	Cl	3,99
113			COOH	Br	3,90
114			COOH	Nitro	3,85
115			COOH	F	3,83
116		CONH2		F	3,82
117		CONH2		HSO2	3,76
118			COOH	Cyano	3,73
119		CONH2		HSO2	3,68
120			COOH	Nitroso	3,67
121		CONH2		Nitro	3,64
122			COOH	F	3,62
123		CONH2	OCH3		3,56
124		CONH2		OCH3	3,52
125			COOH	Br	3,51
126		CONH2	Nitroso		3,49
127			COOH	COOH	3,46
128		CONH2		OCH3	3,46

129		COOH	SH		3,44
130		SH	COOH		3,43
131		COOH		Br	3,42
132	F	COOH			3,38
133		CONH2		SH	3,38
134		CONH2		Br	3,30
135		Nitro	COOH		3,27
136		CONH2		Br	3,24
137	Br	COOH			3,13
138		CONH2		COH	2,84
139	Nitro	COOH			2,76
140		COOH	Nitro		2,66
141		COOH		Nitro	2,33

**Annexe 5** : les mono-substitutions du composé 4.

## Mono substitution

composé	C1	C2	C3	C4	C5	N	final-0
1		CONH2					5,32
2				NH2			5,22
3					CONH2		5,21
4			CONH2				5,09
5		NH2					5,02
6			COOH				4,95
7	NH2						4,59
8				OH			4,56
9				COOH			4,53
10	COOH						4,46
11					OH		4,34
12			OH				4,33
13					NH2		4,32
14	HSO2						4,32
15		COOH					4,28
16		SH					4,22
17	CONH2						4,10
18					SH		3,99
19				CONH2			3,88
20		HSO2					3,86
21			NH2				3,78
22					COH		3,62

23		OH		3,55
24	F			3,48
25		COH		3,47
26			CONH2	3,44
27	F			3,44
28			F	3,44
29		COH		3,42
30			OH	3,41
31			F	3,40
32			COOH	3,37
33			HSO2	3,37
34			Cyano	3,35
35			OCH3	3,32
36		HSO2		3,30
37			SH	3,25
38	OCH3			3,23
39		Cl		3,21
40		Nitroso		3,20
41	OH			3,15
42			COH	3,11
43	COH			3,08
44			F	3,08
45			Cl	3,08
46			Cl	3,05
47			COH	3,03
48			Br	3,02
49		F		2,99
50			NH2	2,91
51	Cl			2,90
52			Nitroso	2,90
53			Cyano	2,88
54			OCH3	2,87
55			Cl	2,87
56	Cyano			2,87
57		OCH3		2,85
58			Br	2,83
59		Br		2,82
60			Cyano	2,77
61			Nitro	2,76
62			Nitro	2,66
63			SH	2,63
64	Nitro			2,62
65	SH			2,61
66			HSO2	2,58
67			Nitro	2,58
68			COOH	2,57

69		Nitroso					2,57
70		Cyano					2,56
71			OCH3				2,50
72	Br						2,50
73					HSO2		2,50
74					Br		2,47
75		Cl					2,46
76	Nitroso						2,45
77			SH				2,42
78					Br		2,42
79		Nitro					2,41
80				OCH3			2,38
81				Nitroso			2,37
82				Nitro			2,36
83						Nitroso	2,30
84				Cyano			2,11

**Annexe 6 :** les bi-substitutions du composé 4.

## BI Substitution

composé	C1	C2	C3	C4	C5	N	final-0
1		CONH2		CONH2			5,58
2		CONH2		Cl			5,58
3			CONH2	NH2			5,30
4		NH2		NH2			5,07
5				NH2		F	5,07
6	OH	CONH2					5,06
7				NH2	OCH3		5,02
8		COOH		NH2			5,01
9		CONH2	SH				4,99
10			COOH	NH2			4,89
11				NH2	OH		4,87
12		CONH2	NH2				4,83
13		Nitrose		NH2			4,82
14			F	NH2			4,81
15		CONH2			NH2		4,80
16				NH2	COH		4,79
17				NH2	COOH		4,75
18		F		NH2			4,71
19		Cl		NH2			4,70
20				NH2		NH2	4,68
21	OH			NH2			4,67

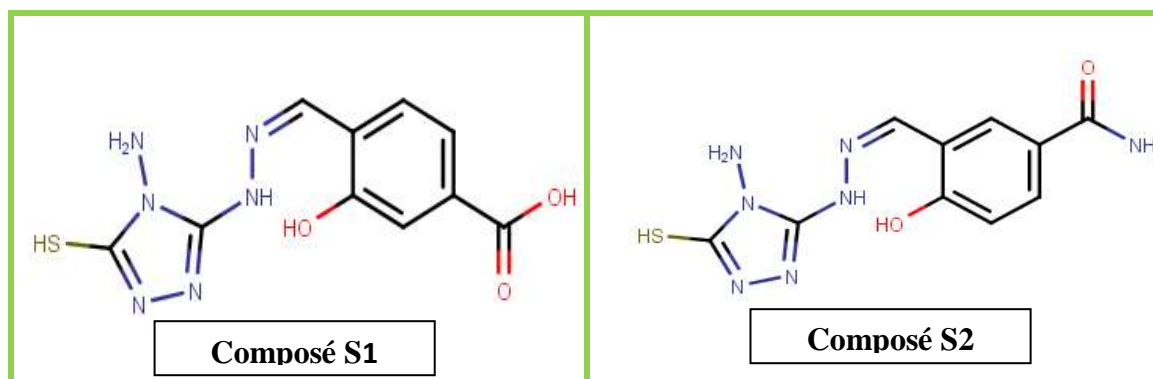
22		OH		NH2		4,64
23		CONH2	COOH			4,63
24		CONH2	Cl			4,56
25	CONH2			NH2		4,53
26		CONH2		HSO2		4,53
27		HSO2		NH2		4,49
28		CONH2		NH2		4,48
29	NH2			NH2		4,46
30				NH2	Cl	4,46
31		CONH2			F	4,45
32		CONH2			F	4,45
33		CONH2		Cyano		4,44
34		Br		NH2		4,42
35				NH2	Br	4,42
36		CONH2		Br		4,42
37	F	CONH2				4,37
38				NH2	COOH	4,35
39				NH2	SH	4,35
40		CONH2			CONH2	4,33
41				NH2	COH	4,32
42				NH2	Cyano	4,31
43		CONH2		SH		4,31
44	Br			NH2		4,30
45		CONH2		OCH3		4,29
46		CONH2			Br	4,29
47				NH2	Nitrose	4,25
48		CONH2			HSO2	4,25
50		CONH2			OCH3	4,24
51	F			NH2		4,22
52	COOH	CONH2				4,22
53		CONH2			COOH	4,22
54			OH	NH2		4,21
55		CONH2	OCH3			4,21
56	COOH			NH2		4,20
57				NH2	F	4,19
58		CONH2		F		4,19
59		CONH2			Cyano	4,18
60		CONH2			Cyano	4,13
61		CONH2	Cyano			4,11
62		CONH2			OH	4,11
63				NH2	OH	4,10
64		CONH2			Cl	4,09
65		Cyano		NH2		4,08
66		CONH2			Nitro	4,06
67	Br	CONH2				4,04
68	OCH3			NH2		4,02

69		CONH2		COOH		4,02
70		CONH2	OH			4,02
71			NH2	NH2		4,01
72		CONH2	CONH2			4,00
73		CONH2			NH2	3,99
74			Cl	NH2		3,97
75				NH2	CONH2	3,97
76		CONH2		Nitro		3,97
77	SH	CONH2				3,97
78		CONH2			SH	3,97
79				NH2	NH2	3,96
80	HSO2	CONH2				3,94
81	CONH2	CONH2				3,92
82		SH		NH2		3,91
83				NH2	OCH3	3,90
84				NH2	SH	3,90
85		CONH2			OH	3,89
86		CONH2	F			3,89
87		COH		NH2		3,88
88				NH2	Nitrose	3,87
89		CONH2		nitrose		3,85
90			Br	NH2		3,82
91	OCH3	CONH2				3,82
92				NH2	Cyano	3,79
93	NH2	CONH2				3,76
94				NH2	CONH2	3,75
95		Nitro		NH2		3,73
96				NH2	Nitro	3,72
97		CONH2			Nitrose	3,71
98		CONH2			SH	3,71
99		CONH2			Nitro	3,66
100				NH2	Nitro	3,63
101		CONH2	HSO2			3,61
102		CONH2			COH	3,60
103			Nitro	NH2		3,59
104			HSO2	NH2		3,56
105		CONH2	COH			3,56
106	Nitro	CONH2				3,55
107		CONH2			Br	3,55
108		CONH2	Nitro			3,51
109		OCH3		NH2		3,45
110	Cl	CONH2				3,43
111			SH	NH2		3,42
112		CONH2			CONH2	3,42
113		CONH2			Nitroso	3,40
114		CONH2	Br			3,40

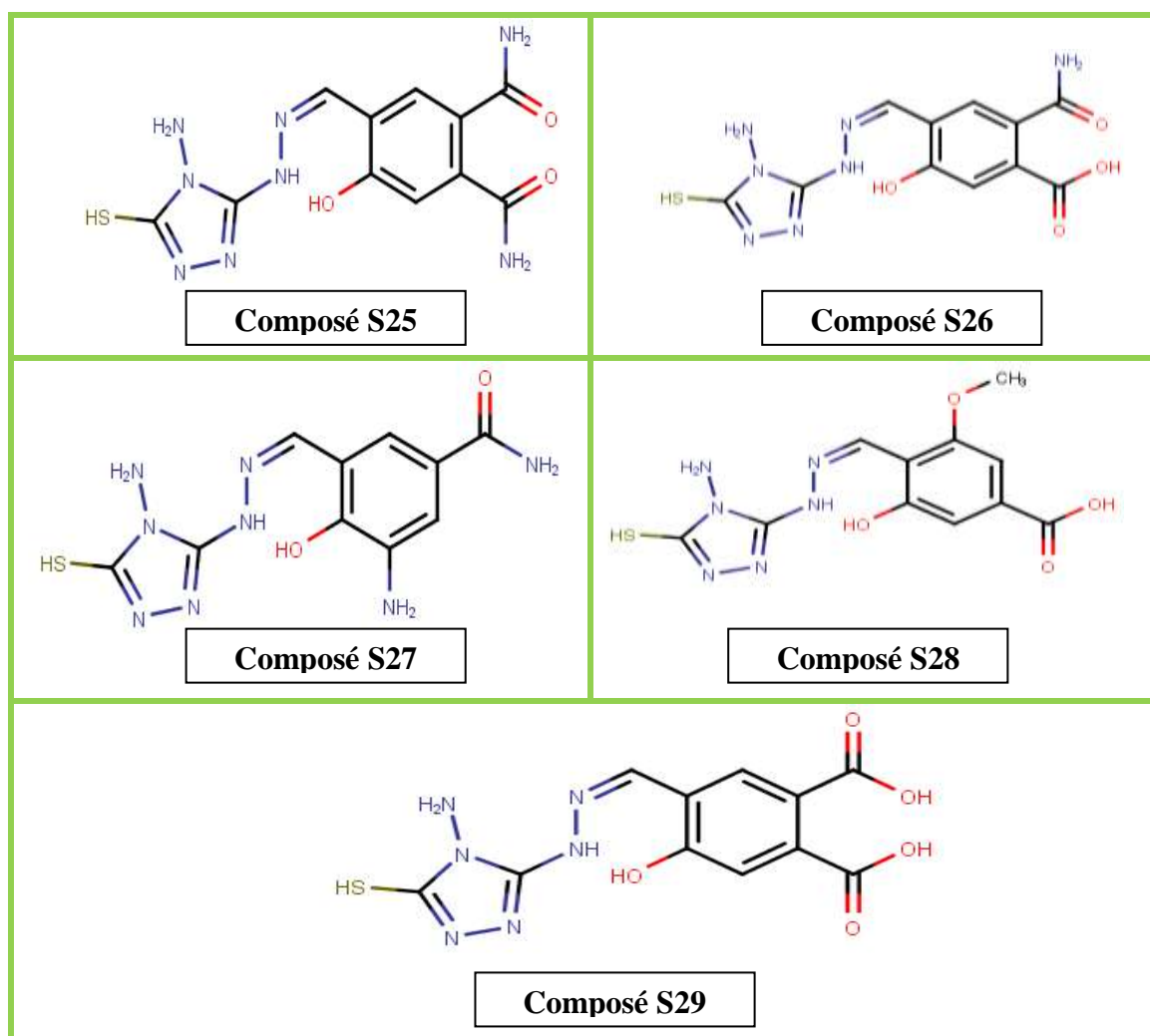


115		Nitroso	NH <sub>2</sub>		3,37
116	Cyano		NH <sub>2</sub>		3,37
117		CONH <sub>2</sub>		HSO <sub>2</sub>	3,37
118			NH <sub>2</sub>	Br	3,30
119			NH <sub>2</sub>	Cl	3,25
121	Nitrose	CONH <sub>2</sub>			3,25
122			OCH <sub>3</sub>	NH <sub>2</sub>	3,19
123	Nitrose		NH <sub>2</sub>		3,18
124	HSO <sub>2</sub>		NH <sub>2</sub>		3,18
125			NH <sub>2</sub>	HSO <sub>2</sub>	3,15
126		CONH <sub>2</sub>		OCH <sub>3</sub>	3,15
127		CONH <sub>2</sub>		Cl	3,13
128	COH	CONH <sub>2</sub>			3,09
129	Nitro		NH <sub>2</sub>		3,08
130		CONH <sub>2</sub>	OH		3,06
131		CONH <sub>2</sub>		COOH	3,00
132	COH		NH <sub>2</sub>		2,99
133	Cyano	CONH <sub>2</sub>			2,98
134	SH		NH <sub>2</sub>		2,85
135			COH	NH <sub>2</sub>	2,81
136	Cl		NH <sub>2</sub>		2,81
137		CONH <sub>2</sub>	COH		2,61
138		CONH <sub>2</sub>	Nitrose		2,60
139			NH <sub>2</sub>	HSO <sub>2</sub>	2,49
140			Cyano	NH <sub>2</sub>	2,18
141		CONH <sub>2</sub>		COH	2,12

**Annexe 7 :** Structures des meilleurs inhibiteurs de tyrosinase après mono-substitution du composé 2.



**Annexe 8 :** Structures des meilleurs inhibiteurs de tyrosinase après bi-substitution du composé S1 et composé S2.





# *Résumés*

### Résumé

Dans notre travail, nous avons fait appel aux approches par docking moléculaire avec Surfex afin de proposer de nouveaux inhibiteurs de la tyrosinase ; cible thérapeutique validée pour le traitement de l'hyperpigmentation de la peau. En effet, l'activité inhibitrice du composé **2** (score=4,51) et **4** (score=4.58) a pu être améliorée grâce à une approche très utilisée dans le domaine de la conception rationnelle des médicaments : la substitution. Les résultats obtenus révèlent les composés S25, S26, S27, S28 et S29 comme nouveaux inhibiteurs théoriquement puissants envers la tyrosinase avec des scores respectifs de 4.51 à 8.84 ; 8.04 ; 7.89 ; 7.35 et 7.33.

**Mots clés** : Docking moléculaire, Surfex ,Affinité ,Tyrosinase.

### Abstract

In our work, we used molecular docking approaches with Surflex to propose new TYR inhibitors, a validated therapeutic target for the treatment of skin hyperpigmentation. Indeed, the inhibitory activity of compound **2** (score=4.51) and **4** (score=4.58) could be improved thanks to an approach widely used in the field of rational drug design: substitution. The results obtained reveal compounds S25, S26, S27, S28 and S29 as novel theoretically potent tyrosinase inhibitors with respective scores of 4.51 to 8.84; 8.04; 7.89; 7.35 and 7.33.

**Key words:** Molecular Docking, Surflex, Affinity, Tyrosinase.

الملخص

في عملنا هذا استعملنا برنامج الالتحام الجزيئي Surfex لاقتراح نماذج نظرية جديدة لمثبطات إنزيم التيروسيناز، الذي يلعب دور مهم في معالجة فرط التصبغ. في الواقع يمكن تحسين النشاط التثبيطي للمركب 2 (معدل الانجذاب = 4.51) و المركب 4 (معدل الانجذاب = 4.58) من خلال النهج المتبع على نطاق واسع في مجال التصميم العقلاني: الاستبدال. النتائج التي تم الحصول عليها سمحت بإبراز المركبات S25, S26, S27, S28, S29 كمثبطات جديدة نظريا و فعالة ضد التيروسيناز بمعدل انجذاب من 4.51 إلى 8.84, 8.04, 7.89, 7.35, 7.33. على التوالي.

**الكلمات المفتاحية:** الالتحام الجزيئي , Surfex , معدل الانجذاب , التيروسيناز.

**Conception *in silico* de nouveaux inhibiteurs de la tyrosinase pour le traitement de l'hyperpigmentation de la peau.**

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie appliquée.

**Résumé**

Dans notre travail, nous avons fait appel aux approches par docking moléculaire avec Surflex afin de proposer de nouveaux inhibiteurs de la tyrosinase ; cible thérapeutique validée pour le traitement de l'hyperpigmentation de la peau. En effet, l'activité inhibitrice du composé **2** (score=4,51) et **4** (score=4.58) a pu être améliorée grâce à une approche très utilisée dans le domaine de la conception rationnelle des médicaments : la substitution. Les résultats obtenus révèlent les composés S25, S26, S27, S28 et S29 comme nouveaux inhibiteurs théoriquement puissants envers la tyrosinase avec des scores respectifs de 4.51 à 8.84 ; 8.04 ; 7.89 ; 7.35 et 7.33.

**Mots clés :** Docking moléculaire, Surflex, Affinité, Tyrosinase.

**Laboratoire de recherche :** Laboratoire de Biochimie Appliquée.

Jury d'évaluation :

**Président du jury :** *Mr. BENSEGHENI A.* (Professeur à UFM Constantine 1).

**Rapporteur :** *Mr. MOKRANI E.H.* (Maitre assistant A à UFM Constantine 1).

**Examineur :** *Mr. CHIKHI A.* (Professeur à UFM Constantine 1).

**Date de soutenance :** 03/07/2018