



RAQUEL CARVALHO DE SOUZA

**AVALIAÇÃO *IN SILICO* POR DOCKING MOLECULAR DA ATIVIDADE DE
COMPOSTOS DA CAGAITA (*EUGENIA DYSENTERICA*) SOBRE A PROTEÍNA 1
RELACIONADA À TIROSINASE (TRP1).**

Guanambi, BA

2022

RAQUEL CARVALHO DE SOUZA

**AVALIAÇÃO *IN SILICO* POR DOCKING MOLECULAR DA ATIVIDADE DE
COMPOSTOS DA CAGAITA (*EUGENIA DYSENTERICA*) SOBRE A PROTEÍNA 1
RELACIONADA À TIROSINASE (TRP1).**

Projeto de Pesquisa apresentado ao curso de Farmácia do Centro Universitário-UniFG como requisito da avaliação da disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II.

Orientador: Me. Ricardo Costa de Moraes Júnior.

Guanambi, BA

2022

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
2. MATERIAIS E MÉTODOS	8
2.1 Obtenção e preparo dos modelos da enzima tirosinase	8
2.2 Obtenção e análise conformacional dos modelos dos compostos das espécies vegetais selecionadas.	9
2.3 Análise <i>in silico</i> da interação entre compostos e tirosinase por <i>docking</i> molecular	9
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	10
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	19
5. REFERÊNCIAS	20

AVALIAÇÃO *IN SILICO* POR DOCKING MOLECULAR DA ATIVIDADE DE COMPOSTOS DA CAGAITA (*EUGENIA DYSENTERICA*) SOBRE A PROTEÍNA 1 RELACIONADA À TIROSINASE (TRP1).

Raquel Carvalho de Souza¹ **Ricardo Costa de Moraes Júnior**²

¹ Graduanda do curso de Farmácia Generalista – Centro Universitário FG – UniFG

² Docente do curso de Farmácia do Centro Universitário FG – UniFG

RESUMO: As hiperpigmentações constituem uma das dermatopatologias de maior prevalência nas atualidades e tem sua etiologia decorrente da produção disfuncional de melanina. A síntese deste pigmento envolve a metabolização da tirosina orquestrada por 3 enzimas, dentre elas a proteína 1 relacionada a tirosinase (TRP1). Diversos estudos têm evidenciado o potencial de espécies vegetais na inibição da melanogênese por meio da inibição da enzima tirosinase, dentre elas a Cagaita (*Eugenia dysenterica*), que promoveu inibição *in vitro* da tirosinase em estudos anteriores. Entretanto, são desconhecidos na literatura resultados da interação de compostos desta espécie vegetal com a TRP1. No presente estudo é avaliado o potencial de inibição da TRP1 por compostos da Cagaita (epicatequina, ácido gálico, glicosídeo de quercetina e miricetina pentosídeo) por *docking* molecular, um método de avaliação *in silico* que simula a interação molecular e presume o modo de ligação e afinidade entre receptores e ligantes. Foram obtidos modelos da proteína TRP1 no *protein data bank* (código pdb – 5M8M) e de compostos identificados da cagaita na base de dados do Pubchem. A ancoragem dos compostos na proteína e a energia livre da ligação foi avaliada através do software auto-dock Vina e as interações entre os compostos e os resíduos de aminoácidos foram determinadas pelo software *Discovery studio*. Realizou-se como controle a docagem do ácido kójico, um conhecido inibidor da melanogênese que em estudos anteriores também ligou-se à TRP1. Observou-se que todos os compostos apresentaram maior interação com a TRP1 comparada ao ácido kójico. As interações do ácido gálico e a epicatequina com a proteína foram similares às interações do ácido kójico com a TRP1, inclusive com cofatores de Zinco que estão relacionados com a atividade catalítica desta enzima. Os resultados representam uma evidência de que tais compostos podem apresentar potencial como inibidores da melanogênese. São necessários, contudo, que confirme por técnicas *in vitro* e *in vivo* a inibição e a segurança do mesmos.

PALAVRAS-CHAVE: *Docking* molecular, *Eugenia dysenterica*, TRP1, Grid box, Otimização, Eumelanina.

***IN SILICO* EVALUATION BY MOLECULAR DOCKING OF THE ACTIVITY OF
CAGAITA COMPOUNDS (EUGENIA DYSENTERICA) ON TYROSINASE-
RELATED PROTEIN 1.**

ABSTRACT: Hyperchromia constitutes one of the most prevalent dermatopathologies nowadays and has its etiology due to the dysfunctional production of melanin. The synthesis of this pigment involves the metabolization of tyrosine orchestrated by 3 enzymes, among them tyrosinase-related protein 1 (TRP1). Several studies have shown the potential of plant species in the inheritance of melanogenesis through the inheritance of the enzyme tyrosinase, among them Cagaita (*Eugenia dysenterica*), which promoted the *in vitro* inheritance of tyrosinase in previous studies. However, the results of the interaction of compositions of this plant species with TRP1 are unknown in the literature. The present study is to evaluate the potential of TRP1 followed by Cagaita compounds (epicatechin, gallic acid, quercetin glycoside and myricetin pentoside) by molecular docking, an *in silico* evaluation method that simulates the molecular interaction and presumes the mode of binding and receptors between receptors and ligands. Models of the TRP1 proteins were obtained from the protein database (pdb code – 5M8M) and of identified compounds from the cagaita in the Pubchem database. The anchorage of the compounds in the protein and the free energy of the binding were evaluated using the Vina auto-dock software and how dissolved between the compounds and the amino acid residues were determined using the Discovery studio software. Kojic acid was docked as a control, a known melanogenesis inhibitor that in previous studies also bound to TRP1. Note that all compounds showed greater interaction with the detected TRP1 than kojic acid. Gallic acid reflux and epicatechin with protein were similar to kojic acid relaxants with TRP1, including zinc cofactors that are related to the catalytic activity of this enzyme. The results represent evidence that such compounds may have potential as melanogenesis inhibitors. It is necessary, however, that you confirm by *in vitro* and *in vitro* techniques their follow-up and safety.

KEYWORDS: Molecular *docking*, *Eugenia dysenterica*, TRP1, Grid box, Optimization, Eumelanin.

Endereço para correspondência: Rua Humberto de Campos nº 535-Bairro: Centro-Guanambi, BAHIA. CEP: 46430-000.

Endereço eletrônico: e-mail: raquelcarvalhodsouza@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O propósito de empregar substâncias ativas sobre a pele tem o objetivo de preservar seu aspecto sadio ou solucionar demandas estéticas por meio de um ato medicamentoso e/ou cosmético. Uma das desordens cutâneas de maior preocupação são as discromias, caracterizadas por manchas decorrente de excesso (hipercromia) ou falta (hipocromia) de pigmentação da pele. Embora benignas, tais manchas constituem, em sua maior parte, uma alteração estética desagradável (GONCHOROSKI et. al, 2005).

As hiperpigmentações são caracterizadas pelo aparecimento de manchas escuras na pele na região facial e/ou outras regiões expostas ao sol, como braços e colo. O recurso terapêutico inicial é a prevenção com o uso de produtos fotoprotetores, seguido de um tratamento com cosméticos e medicamentos despigmentantes prescritos por dermatologistas. Em certos casos de maior gravidade, é necessário empregar outros procedimentos para assim alcançar um clareamento satisfatório, como por exemplo, utilização do peeling, laser terapia, entre outros (VOLPATO, 2016).

Todos os tratamentos mencionados acima, embora efetivos, são dotados de efeitos adversos, o que tem motivado a indústria farmacêutica e cosmética na pesquisa e desenvolvimento de produtos inovadores. Em tais pesquisas, a enzima tirosinase humana - central no processo de síntese de melanina - tem sido o alvo molecular de maior interesse na investigação de novos ativos, incluindo aqueles derivados de produtos naturais (NICOLETTI et al, 2002). Contudo, outras enzimas menos estudadas apresentam relevância na melanoogênese, como a proteína relacionada à tirosinase 1 (TRP1) (LAI et al., 2017).

Há cerca de dois séculos, a humanidade desfrutava apenas de medicamentos precedentes de fontes naturais. As plantas medicinais eram amplamente usufruídas em várias terapias, da mesma forma que alguns produtos medicamentosos consistem em substâncias de origem mineral ou animal. Com o desenvolvimento das ciências farmacêuticas, muitas concepções sofreram alterações, não só associadas à tecnologia em si, mas também aos aspectos coerentes à saúde (EDLER, 2006).

A *Eugenia dysenterica* pertence à família Myrtaceae, encontrada no Cerrado brasileiro, é popularmente conhecida como “cagaita” ou “cagaiteira”. É uma árvore frutífera nativa dos cerrados; a *E. dysenterica* é encontrada na natureza com uma altura de até 10 m, possui tronco

e ramos tortuosos, casca grossa, fissurada (LIMA, 2007; VIEIRA et al., 2006). Seus frutos possuem aparência globoso e/ou esférico, cor amarelo-clara, moderadamente ácido, epicarpo membranoso, com peso médio entre 14 a 20g, comprimento de 3 a 4 cm e diâmetro de 3 a 5 cm (RIZZINI, 1971; RIBEIRO et al., 1986; NAVES et al., 1995).

Essa espécie é empregada popularmente para fins medicinais e alimentícios. A cagaita é contemplada por ser fonte de vitamina C, pela sua alta umidade e baixo valor energético, com isso, contribui para o fornecimento de vitamina A e folatos, a mesma possui alta quantidade em água, como resultado, apresenta baixo valor calórico (CARDOSO et al., 2011). Sementes dessa espécie apresentam excelente atividade antioxidante e teores significativos de compostos fenólicos (ROESLER et al., 2007). Tem sido atribuído à cagaita e seus compostos uma diversidade de atividades biológicas evidenciadas *in vitro e in vivo*, como, por exemplo: antifúngica, antiviral, gastroprotetora, antidiarréica, laxativas, antioxidantes e anti glicação de extratos aquosos e etanólicos (JUSTINO et al., 2020; LIMA et al, 2020; SOUZA et al, 2002; CECÍLIO et al 2012; PRADO et al, 2014; SOUZA, P M. et al, 2012).

A procura por substâncias presentes em plantas medicinais que tratassem certos tipos de doenças deu início de forma empírica, baseada apenas na observação dos efeitos causados pelo uso de tais espécies. Contudo, o desenvolvimento de ferramentas de purificação, isolamento e identificação de compostos de origem vegetal despertou o interesse no entendimento das interações farmacodinâmicas entre os metabólitos secundários e o organismo. Inicialmente tais estudos envolviam uma diversidade de experimentos laboratoriais *in vitro e in vivo*, o que aumentou os custos da pesquisa, bem como o tempo necessário para executá-las. Como alternativa a tais abordagens, foram desenvolvidos métodos de análises computacionais, como a técnica de *docking* molecular, que se mostra atualmente como uma ferramenta interessante para o entendimento das propriedades farmacológicas (RODRIGUES et al., 2012).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Obtenção e preparo dos modelos da enzima tirosinase

O modelo da TRP1 foi obtido na base de dados do Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>). O modelo 5M8M foi selecionado por estar complexada ao ligante endógeno (tirosina) e a ligantes reconhecidos como inibidores (ácido kójico) e também ser

obtidos a partir de fonte humana por cristalografia de raio X com resolução igual ou inferior a 2,5Å. O modelo selecionado foi baixado da base dados no formato “.pdb”.

O ajuste dos modelos protéicos foi feito por meio do software *Discovery Studio programme v4.5* (Accelrys Inc., San Diego, CA, USA), e se deu pela exclusão de moléculas de água. A partir do ligante ácido kójico complexados, foram identificadas as regiões de interação dos mesmos com a enzima, a fim de determinar o melhor posicionamento da grid box no *docking* molecular, o arquivo ajustado foi salvo no formato .pdb (LEE et al., 2020).

2.2 Obtenção e análise conformacional dos modelos dos compostos das espécies vegetais selecionadas.

Os modelos tridimensionais das moléculas do ácido kójico, epicatequina, ácido gálico e miricetina-pentosíde foram obtidos no formato .sdf a partir de bases PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). As estruturas obtidas foram submetidas à análise conformacional e cálculo da energia livre. Em seguida, foi a otimização e minimização energética a fim de identificar o confôrmero com menor livre de energia e conseqüentemente, o mais adequado para o *docking*. A minimização de energia foi realizada utilizando o método de dinâmica molecular e também o método quântico utilizando o campo de força MMFF94. Todas estas análises foram realizadas com o auxílio do software Avogadro (LEE et al., 2020).

2.3 Análise *in silico* da interação entre compostos e TRP1 por *docking* molecular

Após ajuste do modelo da tirosinase e das moléculas, foi feita avaliação da interação entre os compostos e o alvo molecular por meio da análise de *docking*. Para tal, foi utilizado o software Autodock Vina por meio da interface do software Chimera. A tirosinase foi preparada para o *docking* no software acima mencionado e em seguida foi parametrizada a grid box (região da estrutura tridimensional da proteína delimitada pelo software para a ancoragem do ligante) quanto às suas coordenadas de posição x,y,z (-33; -1.1; -23) e suas dimensões (20x20x20 angstrom). Em sequência, foi incluído o modelo do composto-teste e performado o *docking*. Os resultados foram avaliados pela análise da menor energia de ligação do composto à tirosinase. Por fim, foram verificados quais os aminoácidos envolvidos na interação entre os compostos e a tirosinase e bem como o percentual de similaridade com a interação de inibidores reconhecidos clinicamente (LEE et al., 2020) Para esta última análise, foi utilizado o software *Discovery Studio programme v4.5* (Accelrys Inc., San Diego, CA, USA).

Em humanos a eumelanina é sintetizada a partir de rota metabólica orquestrada por três enzimas (figura 1): A tirosinase, que catalisa a hidroxilação e oxidação da tirosina em DOPA e dopaquinona, respectivamente, representando a enzima crítica e limitante da síntese de melaninas; uma tautomerase denominada proteína 2 relacionada à tirosinase (TRP2) que converte a DOPAcromo em ácido 5,6-dihidroxiindol-2-carboxílico e a proteína 1 relacionada à tirosinase (TRP1). A esta última, tem sido atribuída a oxidação do DHICA em eumelanina. Todas essas três enzimas são glicoproteínas com cofatores metálicas presentes nos melanossomas - organelas onde ocorrem a síntese de melanina nos melanócitos. e mutações nos genes codificantes da tirosinase ou da TRP1 estão relacionadas a acromias, como o albinismo oculocutâneo e no risco aumentado de câncer de pele do tipo melanoma (VIRMOD et al., 2016; LAI et al., 2017).

A estrutura cristalográfica da TRP1 foi determinada pela primeira vez em mamíferos por Lai e colaboradores (2017), que identificou a presença de dois átomos de zinco no sítio catalítico, em distinção ao sítio catalítico da tirosinase, que apesar de apresentar regiões conservadas na cadeia peptídica, apresenta átomos de cobre em seu sítio catalítico. O modelo utilizado no presente estudo foi obtido a partir dos resultados deste autor (código pdb: 5M8M), que evidenciou que o inibidor de melanogênese ácido kójico é capaz de ligar-se também à TRP1. A redocagem desta molécula realizada por este estudo encontrou grande similaridade com os resultados da cristalografia realizada por Lai e colaboradores (2017), conforme observado na figura 2, com interações coincidentes nos aminoácidos Thr391, His381, His377, Tyr362, His215, His192.

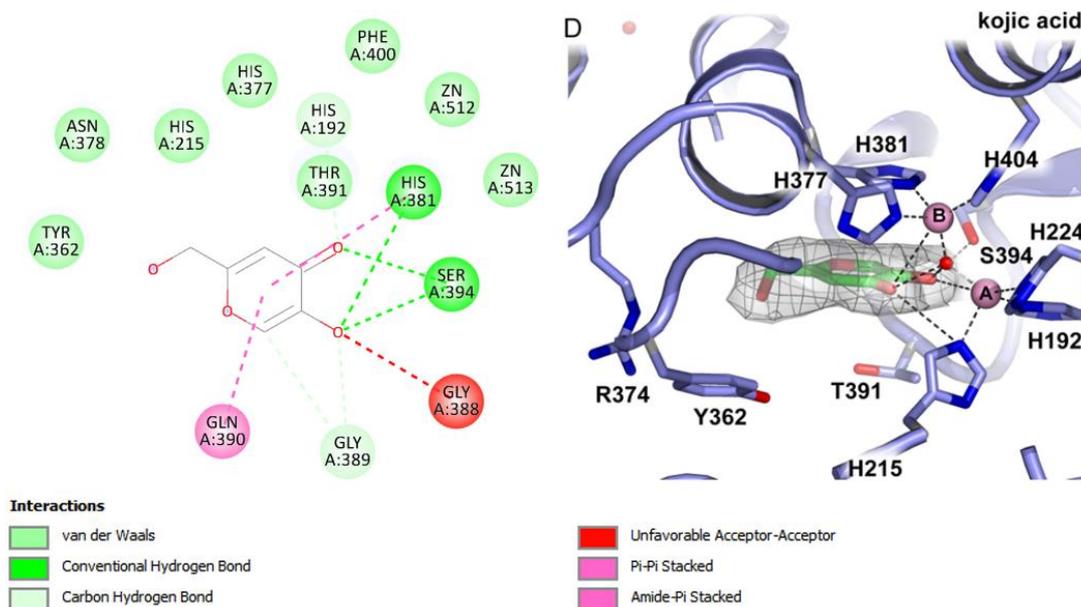


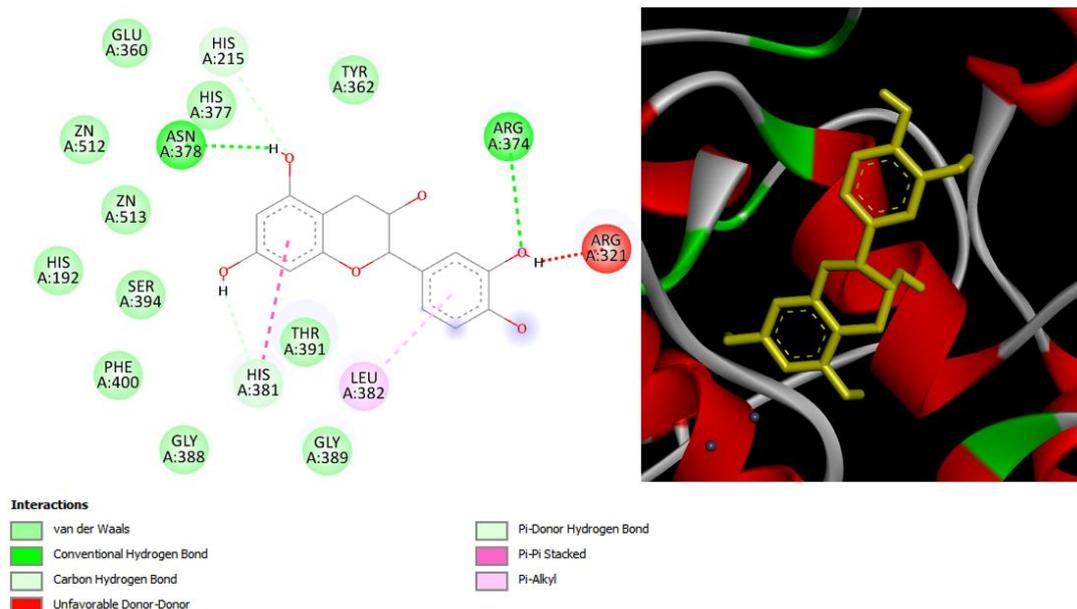
Figura 2: À direita: Resultado em 3D da interação entre a molécula de ácido kójico e a TRP1 realizada por redocagem. À esquerda: representação 2D da interação entre a molécula de ácido kójico e a TRP1 a partir de cristalografia realizada por Lai et al., (2017). Observa-se interações coincidentes nos resíduos de aminoácidos Thr391, His381, His377, Tyr362, His215, His192.

Através de pesquisas com ervas medicinais, baseando-se nos fundamentos tradicionais, vem estancando-se a busca por novas fontes de compostos terapêuticos promissores (BINDU e NARENDHIRAKANNAN, 2019). No meio da diversidade de plantas com uso medicinal, a *Eugenia dysenterica*, espécie frutífera do bioma Cerrado brasileiro pertencente à família Myrtaceae, popularmente nomeada por “cagaita” ou “cagateira”. Diversas partes desta espécie vem sendo comumente utilizada para o tratamento de várias condições patológicas, suas flores são utilizadas para tratamento de infecções de pele e bexiga, o seu fruto como agente laxante e as folhas são usadas para tratar icterícia, infecções microbianas, doenças cardíacas, distúrbios inflamatórios, diarreia e diabetes mellitus (ALMEIDA et al., 1998). As atribuições biológicas popularmente associadas à *E. dysenterica* foram reparadas por estudos que identificaram atividade antifúngica (SOUZA et al., 2002), antiviral (CECÍLIO et al., 2012), gastroprotetora (PRADO et al, 2014), antidiarréica, (LIMA et al., 2011), anti tirosinase (SOUZA et al., 2012) e glicosídeo hidrolases inibitórias (SOUZA, et al, 2012) propriedades dos extratos das folhas (JUSTINO et al, 2022).

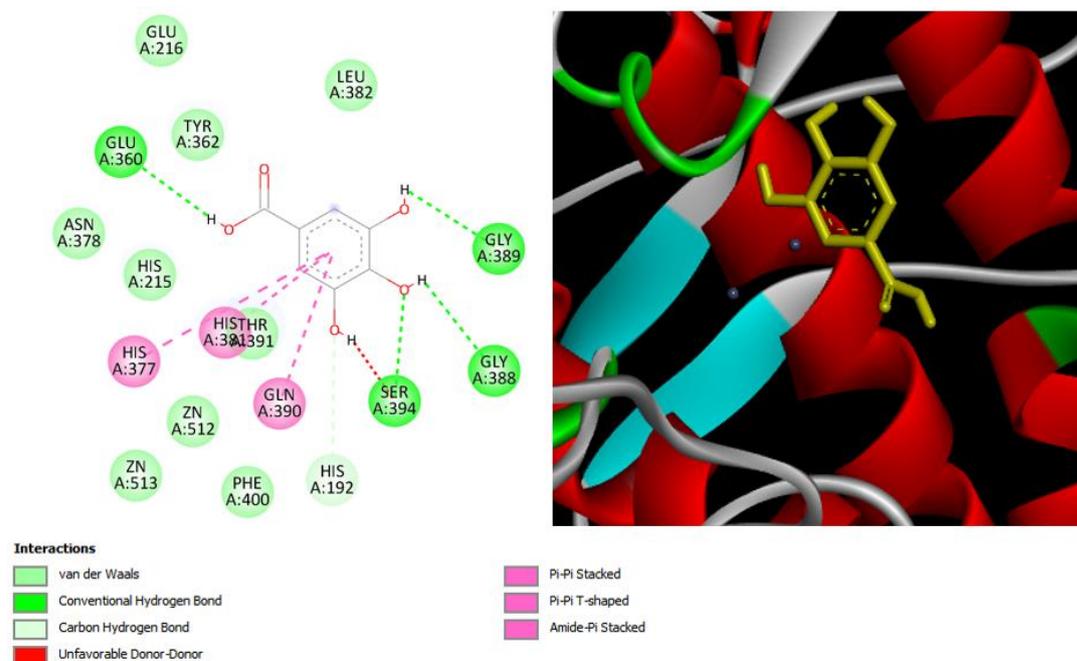
Outros estudos examinam a polpa do fruto de *E. dysenterica*, exibindo as capacidades laxativa (Lima et al., 2010), antioxidante e anti glicação (Justino et al., 2020) de extratos aquosos e etanólicos. Além desses, uma parte rica em polifenóis da polpa da fruta *E. dysenterica* conteve a hiperlipidemia e a hiperglicemia de jejum em camundongos obesos (Donado-Pestana et al., 2015). São muitos os efeitos benéficos para a saúde, especialmente as que estão associadas a atenuação das complicações do diabetes, foram atribuídas aos compostos polifenólicos, como quercetina, catequina, epicatequina galato e proantocianidinas, que estão presentes nas folhas e na polpa dos frutos (JUSTINO et al., 2020; PRADO et al, 2014).

Em estudo fitoquímico, Silveira et al. (2012) avaliou *in vitro* o potencial de inibição da enzima tirosinase de diversos extratos de espécies vegetais do cerrado brasileiro, encontrando destaque para os resultados obtidos com a cagaita, cujo extratos aquosos, etanólicos e hexânicos apresentaram elevado potencial de inibição da tirosinase, inclusive superior ao controle ácido

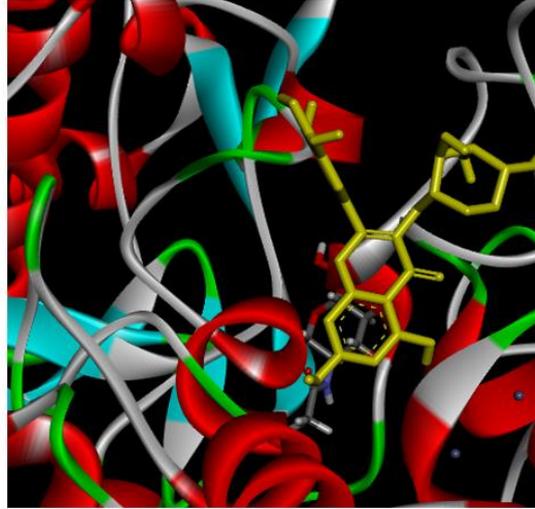
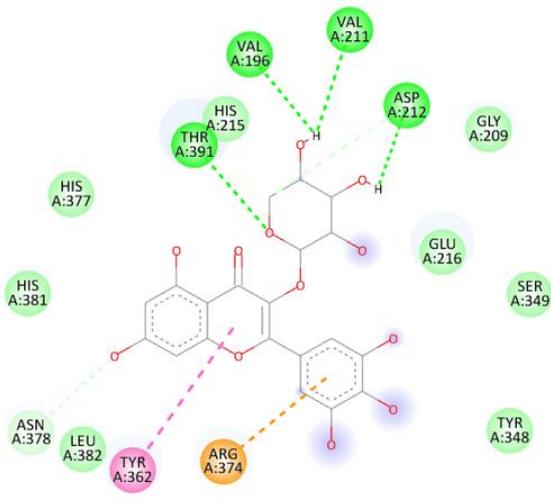
kójico. Os autores detectaram a presença de ácido gálico e de catequinas em análises cromatográficas e descrevem relatos de literatura onde tais grupos de metabólitos já evidenciaram atividade sobre a enzima tirosinase. Tal dado, entretanto não fora localizado para a TRP1. No presente estudo, foram analisados por *docking* as moléculas de ácido gálico, epicatequina, miricetina-pentosídeo e quercetina glicosídeo. Os resultados do *docking* e da análise de interação estão apresentados na tabela 1 e na figura 3.



Epicatequina¹



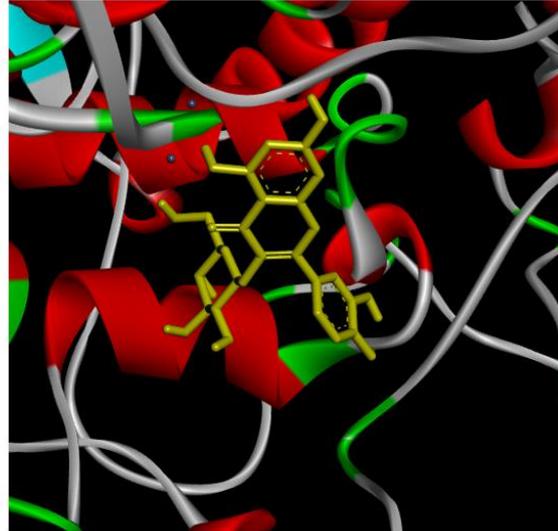
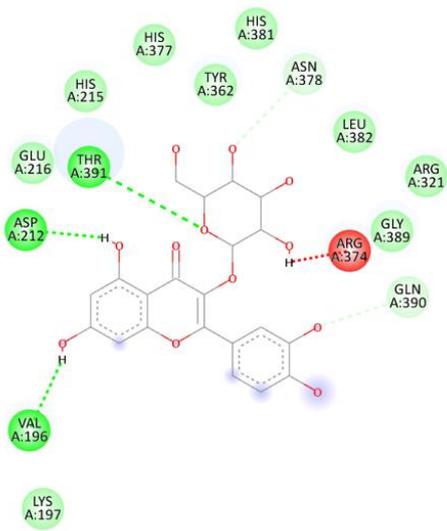
Ácido gálico²



Interactions

- van der Waals
- Conventional Hydrogen Bond
- Carbon Hydrogen Bond
- Pi-Cation
- Pi-Pi T-shaped

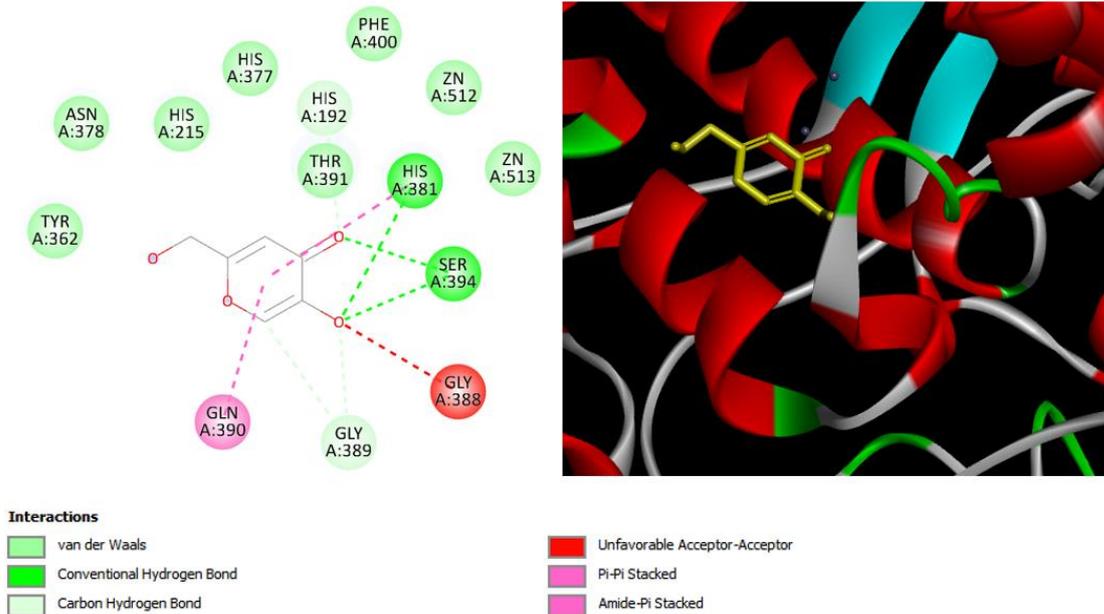
Pentosídeo de miricetina³



Interactions

- van der Waals
- Conventional Hydrogen Bond
- Carbon Hydrogen Bond
- Unfavorable Donor-Donor

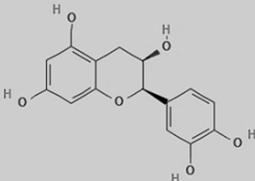
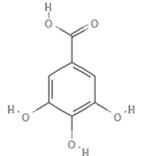
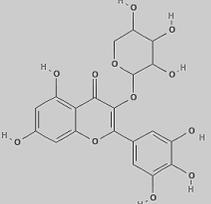
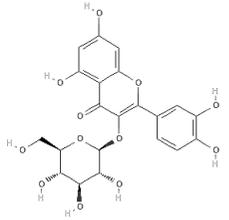
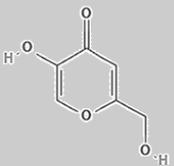
Glicosídeo de quercetina⁴



Ácido Kójico⁵

Figura 3: À direita: Resultado em 3D da interação entre as moléculas (Epicatequina¹; Ácido gálico²; Pentosídeo de miricetina³; Glicosídeo de quercetina⁴ e Ácido kójico⁵) e a TRP1 realizada por redocagem. À esquerda: representação 2D da interação entre as moléculas de (Epicatequina¹; Ácido gálico²; Pentosídeo de miricetina³; Glicosídeo de quercetina⁴ e Ácido kójico⁵) e a TRP1 a partir de cristalografia realizada por Lai et al., (2017).

Tabela 1: Resultados do *docking* molecular de compostos de *Eugenia dysenterica*.

Composto	Menor Energia de ligação (Kcal/mol)	Resíduos de Aminoácido	Percentual de similaridade com Ac. Kójico	Estrutura do composto
Epicatequina	-7,4	His215 ; Arg321; Glu360; Tyr362 ; Arg374 ; His377 ; Asn378 ; His381 ; Leu382; Gly388 ; Gly389 ; Thr391 ; His192 ; Ser394 ; Phe400 ; Zn512 ; Zn513 .	93,0%	
Ácido gálico	-6,5	His192 ; His215 ; Glu216 ; Glu360; Tyr362 ; His377 ; Asn378 ; His381 ; Leu382; Gly388 ; Gly389 ; Gln390 ; Thr391 ; Ser394 ; Phe400 ; Zn512 ; Zn513 .	100%	
Pentosídeo de Miricetina	-7,2	Val196; Gly209; Val211; Asp212; His215 ; Glu216; Tyr348; Ser394 ; Tyr372; Arg374; His377 ; Asn378 ; His381 ; Leu382; Thr391 .	35%	
Glicosídeo de quercetina	-7,2	Val196; Lys197; Asp212; His 215 ; Glu216; Arg321; Tyr362 ; Arg374; His377 ; Asn378 ; His381 ; Leu382; Gly389 ; Gln390 ; Thr391 .	57,14%	
Ácido kójico	-5,8	His192; His215; Tyr362; His377; Asn378; His381; Gly388; Gly389; Gln390; Thr391; Ser394; Phe400; Zn512; Zn513.		

Obs.: Em negrito destaca-se os aminoácidos e elementos químicos de interação com o ácido kójico.

Os modelos *in silico* tornaram-se populares em decorrência das suas vantagens nas análises dos efeitos terapêuticos e tóxicos de novas substâncias que se encontram em desenvolvimento. Permitindo uma ágil compreensão dos potenciais biológicos mesmo com a ausência de testes *in vivo* com menor custo. Neste sentido, a utilização do modelo *in silico* é mais conveniente do que outros tipos de testes, pois utiliza uma quantidade reduzida de insumos e geram menores problemas experimentais quando comparados às análises tradicionais em laboratório. A admissão desse tipo de modelo é também mais válida pela complexidade inerente a alguns tipos de testes ou à impossibilidade de se preparar compostos indispensáveis para a execução dos mesmos (MYATT GJ, et al., 2018). Dentre as diversas análises *in silico*, tem destaque a técnica de *docking* molecular.

O *Docking* ou ancoramento molecular é um procedimento chave para prever a melhor orientação de ajuste de um ligante em uma proteína. Essa interpretação permite caracterizar o comportamento de pequenas moléculas no sítio de ligação das proteínas alvo, bem como, esclarecer as interações moleculares. O processo de *docking* envolve dois passos: (1) previsão da conformação, posição, orientação do ligante dentro dos sítios e (2) avaliação da afinidade de ligação. O *docking* também pode ser aplicado para efetuar triagem virtual de grandes bibliotecas de compostos, relacionar resultados e sugerir hipóteses estruturais de como ligantes ligam-se aos alvos, o que é de extrema importância para a otimização de *leads* (compostos-protótipos com potencial farmacológico no alvo terapêutico escolhido). Esses cálculos podem contribuir para aumentar a viabilidade de encontrar novos inibidores de proteínas-chave de patógenos, ao antecipar como um composto pode ligar-se ao alvo, onde ele pode ligar-se, e que tipos de interações poderiam formar no local de ligação (MENG, X, et al., 2011).

Observa-se a partir dos resultados que todos os compostos conseguiram ligar-se à TRP1 com energia de ligação inferior à observada para o ácido kójico, entretanto apenas os compostos epicatequina e ácido gálico apresentaram grande semelhança com o ácido kójico nas interações com a TRP1. Destaca-se ainda que tais moléculas apresentaram interações com os cofatores Zinco, que de acordo com Lai e colaboradores (2017) representam importantes sítios de interação com o substrato da TRP1 na síntese de melanina. Desta forma, tais compostos mostram-se promissores inibidores da atividade desta enzima e, por consequência, da melanogênese.

O metabólito ácido gálico procede do ácido chiquímico, um intercessor do metabolismo secundário, e é um componente de taninos hidrolisáveis em plantas (GRUNDHOFER et al., 2001). Em literaturas é possível encontrar descrições sobre a utilização do ácido gálico no tratamento de microalbuminúria (SAMPSON et al; LYELL et al., 1849), e seletiva citotoxicidade contra uma variedade de tumores celulares (OHNO et al, 1999; YOSHIOKA et al., 2000). A referida substância apresentou interações com todos os resíduos de aminoácidos pelos quais o ácido gálico interage com sítio catalítico, entretanto, com menor energia de ligação. As interações de maior força da substância ocorreram por meio de ligação de hidrogênio com os resíduos Glu360; Gly388; Gly389 e Ser394.

Segundo Kim (2007), o ácido gálico possui duas finalidades como antimelanogênico e agente antioxidante, de modo que estas duas funções tornem o ácido gálico um composto eficiente para a saúde da pele. É familiarizado com a síntese de análogos por meio de princípios ativos separados naturalmente contribuindo para a obtenção de novos agentes terapêuticos (KIM et al, 2007; BARBOSA, 2010). Segundo Silveira et al., (2012), o ácido gálico já tem atividade anti-tirosinase reconhecida. Entretanto, o presente estudo trata do primeiro relato da interação deste composto com a TRP1.

Os polifenóis são, evidentemente, os mais desenvolvidos fitoquímicos nutricionais (GESCHER, 2010). Compostos fenólicos constituem uma intensa classe de substâncias que apresentam uma hidroxila ligada a um anel aromático. Existem inúmeras subclasses e são consideradas como fenóis simples, fenilpropanóides, flavonóides, taninos e quinonas (LELAND et al., 2006; TANIMOTO, 2010).

A epicatequina (EC), isômero da catequina, é um polifenol que diminui ou indica lesões na mucosa do trato gastrointestinal que são induzidas por inúmeros agentes agressivos, como por exemplo *Helicobacter pylori* e estresse (ITO et al., 2008). A especialidade antioxidante dos polifenóis reduz o dano provocado pelos radicais livres de espécies de oxigênio-reativos e nitrogênio-reativos, que quando expostos levam ao dano na mucosa gástrica como retorno a agentes lesivos como o álcool ou drogas anti-inflamatórias não esteroidais. Estes radicais livres implicam peroxidação lipídica nos tecidos atacando ácidos graxos insaturados, que por meio disso causam o estresse oxidativo. No entanto, a EC pode precaver esse estresse oxidativo e as resultantes lesões teciduais por meio da neutralização dos efeitos provocados pelos radicais livres e não livres (ODABASOGLU, 2008; TANIMOTO, 2010). A substância atribuída demonstrou interações com treze resíduos de aminoácidos pelos quais o ácido gálico interage

com o sítio catalítico, no entanto, com menor energia de ligação. As interações de maior força da substância acontecem por meio de ligação de hidrogênio com os resíduos His381; Asn378 e Arg321.

São ausentes resultados que investiguem os efeitos de substâncias químicas sobre a TRP1 por *docking*. Entretanto, a avaliação por *docking* molecular de compostos oriundos de plantas medicinais sobre a tirosinase é relatada na literatura. Nithitanakool e colaboradores (2009) avaliou a interação por *docking* do pentagalolpiranosídeo, que havia apresentado *in vitro* considerável atividade anti-tirosinase. Os autores identificaram interações semelhantes ao inibidor da melanogênese alfa-arbutin, com interação nos cofatores de cobre da referida enzima. Hu et al., (2012), observou atividade anti-tirosinase da arabinose *in vitro*. Na realização do *docking* na mesma ferramenta utilizada por este trabalho, foi observada energia de ligação de -2,02kcal/mol. Em ambos os estudos, não foram realizadas simulações por *docking* com modelos proteicos de tirosinases humanas. Em contraposição a este fato, os resultados apresentados demonstraram a ligação de compostos com um modelo proteico cristalizado e fonte humana.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio deste trabalho, foi esclarecido quais os compostos possivelmente responsáveis pelas atividades biológicas de espécies com propriedades despigmentantes, sendo assim contribuiu com a disponibilidade de informações a respeito da planta utilizada neste estudo. Esse trabalho visou valorizar e agregar conhecimento a respeito de uma espécie da flora do cerrado e do semiárido brasileiro. Além disso, a contribuição para o manejo sustentável e preservação da biodiversidade.

Com os resultados obtidos neste trabalho foi possível detectar a interação dos aminoácidos como os compostos, sendo que, dois compostos tiveram maior afinidade com a TRP1 do que o ácido kójico, mesmo assim ainda são necessários mais estudos para validação do potencial dos compostos avaliados (*in vitro*, *in vivo* e clínicos). Faz-se, contudo, estudos que confirme, por meio de ensaios *in vitro*, *in vivo* e clinicamente os resultados obtidos pelo *docking*, bem como estudos que atestem a segurança da referida substância.

5. REFERÊNCIAS

ÁCIDO KÓJICO. Disponível em: <www.sintetica.com.br/literaturas/ACIDO_KOJICO.htm>. Acesso em 16 de outubro de 2022.

ALMEIDA, E. F. Utilização do ácido glicólico nas alterações estáticas. *Revista Personalite*. São Paulo, v.11, p.124-135, 2008.

ARROIO, A; HONÓRIO, K.M; SILVA, A. B. F. DA. **Propriedades Químico-Quânticas empregadas em estudos das relações estrutura-atividade**. *Química Nova*, v. 33, n. 3, p. 694–699, 2010.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M., **Química Medicinal: As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos**, 3ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2015. p. 608.

BARROS, K. A. **Estudo *In Silico* De Moléculas Inibidoras Da Melanogênese**. Universidade Federal de Pernambuco. Centro De Ciências Exatas E Da Natureza. Departamento de Química Fundamental. Programa de Pós-graduação em Química. Recife, 2015.

BASTOS, R. S.; SOUSA, C. S.; OLIVEIRA, J. S.; SILVA, M. H. V.; LIMA, F. C. A.; ROCHA, J. A. **Prospecção de Proteínas do Novo Coronavírus, COVID-19, e Potencial da Bioinformática na Busca de Novas Drogas Promissoras**. *Cadernos de Prospecção – Salvador*, v. 13, n. 2, Edição Especial, p. 347-358, abril, 2020.

CASTRO, C. F. S.; SILVÉRIO, M.D.O.; CASTRO, C. F. S.; MIRANDA, A. R. Avaliação da atividade antioxidante e inibitória da tirosinase das folhas de *Dipteryx alata* Vogel (Baru). Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano. **A Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 15, n. 1, p. 59-65, 2013.

FERREIRA, E. E.; BRANDÃO, P. R. G.; KLEIN, B.; PERES, A. E. C. Reologia de suspensões minerais: uma revisão. **Revista Escola Minas**, Ouro Preto, v. 58, n. 1, p. 83-87, 2005.

GONCHOROSKI, D. D.; CÔRREA, G. M. Tratamento de hiperpigmentação pós-inflamatória com diferentes formulações clareadoras. **Revista Inframa**, v. 17, n.3/4, 2005.

GOODARZIA, M.; FREITAS, M. P.; FERREIRAD, E. B. **Influence of Changes in 2-D Chemical Structure Drawings and Image Formats on the Prediction of Biological Properties Using MIA-QSAR**. *QSAR Comb. Sci.* v.28, n. 4, p. 458-464, 2009.

GUIMARÃES, Newton A. **Farmacologia Dermatológica**. In: SILVA, Penildo. *Farmacologia*. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 1254-1260.

JUNIOR, V. F. V.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. **Plantas medicinais: cura segura?** *Química Nova*, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

JUSTINO, A. B et al. Flavonoids and proanthocyanidins-rich fractions from *Eugenia dysenterica* fruits and leaves inhibit the formation of advanced glycation end-products and the activities of α -amylase and α -glucosidase. **Journal of Ethnopharmacology**, 2021.

KIM, K et al. Molecular docking studies of a phlorotannin, dieckol isolated from *Ecklonia cava* with tyrosinase inhibitory activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 2012.

KITCHEN, D. B.; DECORNEZ, H.; FURR, J. R.; BAJORATH, J. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, 2004.

LAI, X et al. Structure of Human Tyrosinase Related Protein 1 Reveals a Binuclear Zinc Active Site Important for Melanogenesis. **A Journal of the Gesellschaft Deutscher Chemiker**, 2017.

LEE, V. S.; CHONG, W. L.; SUKUMARAN, S. D.; NIMMANPIPUG, P.; LETCHUMANAN, V.; GOH, B.; LEE, L.; ZAIN, S. M.; RAHMAN, N. A. **Computational screening and identifying binding interaction of anti-viral and anti-malarial drugs: Toward the potential cure for SARS-CoV-2.** Progress in Drug Discovery & Biomedical Science, 2020.

LOPES, A. A. S. **Inibidores De Tirosinase E Novas Técnicas Laboratoriais De Separação De Produtos Naturais Bioactivos.** Escola De Ciências E Tecnologias Da Saúde. Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias. Lisboa, 2015.

MACRINI, D. J. et al. Extracts from Amazonian plants have inhibitory activity against tyrosinase: an in vitro evaluation. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 2, p. 715-721, 2009.

MACRINI, D. J. **Avaliação de extratos de plantas da região amazônica quanto à atividade inibitória da tirosinase.** Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas. São Paulo, 2004.

MARCIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JR, V. F.; ECHECARRIA, A.; GRYNBERG, N. F. **Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares.** Química Nova. Rio de Janeiro, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

Meng, X.; Zhang, H.; Mezei, M.; Cui, M. **Molecular Docking: A powerful approach for structure-based drug discovery**, *Curr Comput Aided Drug Des.* 2011; 7(2): 146–157. [PMCID:PMC3151162](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3151162/).

MILAN, A. L. K.; MILÃO, D.; SOUTO, A. A.; CORTE, T. W. F. Estudo da hidratação da pele por emulsões cosméticas para xerose e sua estabilidade por reologia. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas.** v. 43, n. 4, out./dez., 2007.

MIOT, L. D. B.; MIOT, H. A.; SILVA, M. G.; MARQUES, M. E. A. **Fisiopatologia do Melasma**. Departamentos de Dermatologia e de Patologia Faculdade de Medicina de Botucatu (Unesp). São Paulo, 2009.

MIRANDA, A. R.; CASTRO, C. F. S.; SILVÉRIO, M. D. O. Avaliação da atividade antioxidante e inibição da tirosinase do extrato das folhas do jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 16, n. 3, p. 693-699, 2014.

MOURA, M.C.; MIRANDA, J.; MARETTO, L. C.; GRIGNOLI, E.; SEGANTIN, J. C. O uso de ácidos e ativos clareadores associados ao microagulhamento no tratamento de manchas hiperocrômicas: estudo de caso. **Revista Científica de FHO**. Uniaras, v. 5, n. 2, 2017.

MUNIZ, H. S. **Métodos híbridos em docagem molecular: implementação, validação e aplicação**. Universidade de São Paulo Instituto de Física de São Carlos. São Carlos, 2018.

NICOLETTI, M. A.; ORSINE, E. M. A.; DUARTE, A. C. N.; BUONO, G. A. **Hipercromias: Aspectos Gerais e Uso de Despigmmentantes Cutâneos**. Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade Paulista– Campus Marquês de São Vicente, São Paulo, v. 14, 2002.

OLIVEIRA, Robson Vicente Machado de; OHARA, Mitsuko Taba. **Avaliação in vitro de óleos brasileiros como promotores de penetração cutânea do 5-hidroxi-2-(hidroximetil)-4-pirona (ácido kójico)**. 2004. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004. Disponível em: < <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9139/tde-19032020-120507/pt-br.php> >.

OLSSON, M. J.; GILLBRO, J. M. **The melanogenesis and mechanisms of skin-lightening agents – existing and new approaches**. Society of Cosmetic Scientists and the Societe Francaise de Cosmetologie, 2011

GILLBRO, J. M.; M. J. OLSSON. *The melanogenesis and mechanisms of skin-lightening agents – existing and new approaches. International Journal of Cosmetic Science*, v. 33, p. 210–221, 2011.

PEREIRA, A. M. V.; MEJIA, D. P. M. **Peelings químicos no rejuvenescimento fácil.**, 2016. Disponível em: <<http://portalbiocursos.com.br/ohs/data/docs/18/9>>. Acesso em: 09 de agosto de 2022.

RIBEIRO, C. J. **Cosmetologia Aplicada a Dermoestética.** 2. ed. São Paulo: Pharmabooks, 2010.

RODRIGUES, R. P.; MANTOANI, S. P.; DE ALMEIDA, J. R.; PINSETTA, F. R.; SEMIGHINI, E. P.; DA SILVA, V. B.; DA SILVA, C. H. P., Estratégias de Triagem Virtual no Planejamento de Fármacos, **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 6, p.739- 736, dez., 2012.

SÁNCHEZ-FERRER, A. et al. Tyrosinase: A comprehensive review of its mechanism. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology**, v. 1247, n. 1, p. 1-11, 1995.

SBD - Sociedade Brasileira de Dermatologia. **Hiperpigmentação.** Disponível em: <<https://www.sbd.org.br/dermatologia/pele/procedimentos/hiperpigmentacao/24/>>. Acesso em: 07 de agosto de 2022.

SILVA, M. M.; GODOY, M. M. **Tratamento de Hiperpigmentação Pós-inflamatória com o uso do Ácido Mandélico.** Faculdade Santa Rita de Cássia, Unifasc. Itumbiara, 2020.

SILVA, F. D. **Docking Molecular para Determinação de Fármacos Com Maior Afinidade aos Alvos Candidatos para o Tratamento de Adenocarcinoma Gástrico.** Faculdade Promove. Belo Horizonte, 2018.

SILVA, R. F.; FILHO, A. P. N.; MENDONÇA, D. C. **Tecnologia e estratégia: o uso de tecnologia de como vantagem competitiva no setor de farmácias de manipulação.** XIII SIMPEP. São Paulo, 2006.

SOUSA, P.M. **Atividade de inibição enzimática por espécies vegetais do bioma Cerrado.** Dissertação (Mestrado – Área de Concentração em Ciências da Saúde) – Departamento de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2011.

SOUZA, P. M et al. **Plants from Brazilian Cerrado with Potent Tyrosinase Inhibitory Activity.** PLOS ONE, v. 7, 2012.

SOUZA, R. L. **Aplicação da técnica de ancoragem molecular na otimização do fármaco hipoglicemiante metformina.** Centro Universitário Luterano de Palmas - ULBRA. Palmas, 2015.

SPADAFORA, M. C. F. A.; PEREIRA, M. D.; LEITE, R. S.; YOSHIDA, E. H.; SANTOS, N. S. Os benefícios dos despigmentantes para o tratamento do melasma e rejuvenescimento facial. **Revista Saúde em Foco**, São Paulo, ed. 11, p. 599-608, 2019.

VELASCO, M. V. R.; OKUBO, F. R.; RIBEIRO, M. E.; STEINER, D.; BEDIN, V. **Rejuvenescimento da pele por peeling químico: enfoque no peeling de fenol.** Anais Brasileiros de Dermatologia, v. 79, n. 1, Rio de Janeiro, 2004.

VIEIRA, L. M.; CASTRO, C. F. S.; DIAS, A. L. B.; SILVA, A. R. Fenóis totais, atividade antioxidante e inibição da enzima tirosinase de extratos de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 17, n. 4, p. 521-527, 2015.

VOLPATO, M. **Novidades no tratamento do melasma. Revista NG.2016.** Disponível em: <<http://ngrevista.com.br/novidades-no-tratamento-do-melasma-edicao-de-fevereirode2016/>> Acesso em: 18 de setembro de 2022.

WOOD, J. H. Reologia farmacêutica. In: LACHMAN, L.; LIBERMAN, H.; KANIG, L.J. (orgs.). **Teoria e prática na indústria farmacêutica.** 2. ed. Fundação Calouste Gulbenkian, 2010. v. 1, cap. 6, p. 211-253.

ZHANG, G et al. Inhibitory effect of morin on tyrosinase: Insights from spectroscopic and molecular docking studies. **Food Chemistry**, 2014