



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS
BIOATIVOS**

JÉSSICA PAIVA DE MOURA

**ESTUDO *IN SILICO* DE DITERPENOS ABIETANOS CONTRA O
FOTOENVELHECIMENTO**

João Pessoa - PB

2023

JÉSSICA PAIVA DE MOURA

**ESTUDO *IN SILICO* DE DITERPENOS ABIETANOS CONTRA O
FOTOENVELHECIMENTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para a obtenção do título de Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. Área de Concentração: Farmacoquímica.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Luciana Scotti

João Pessoa – PB

2023

FICHA CATALOGRÁFICA

Catálogo na publicação Seção de Catalogação e Classificação

M929e Moura, Jéssica Paiva de.

Estudo *in silico* de diterpenos abietanos contra o fotoenvelhecimento / Jéssica Paiva de Moura. - João Pessoa, 2023.

89 f. : il.

Orientação: Luciana Scotti.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Farmacoquímica. 2. Fotoenvelhecimento. 3. Diterpenos abietanos. I. Scotti, Luciana. II. Título.

UFPB/BC

CDU 615.01(043)

FOLHA DE APROVAÇÃO

Jéssica Paiva de Moura

Estudo *in silico* de diterpenos abietanos contra o fotoenvelhecimento

Aprovada em: 30/11/2023

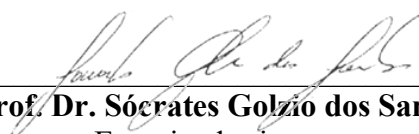
Banca examinadora



Profa. Dra. Luciana Scotti

Presidente da banca

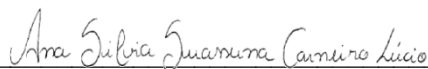
(Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, UFPB)



Prof. Dr. Sócrates Golzio dos Santos

Examinador interno

(Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, UFPB)



Prof.ª Dra. Ana Silvia Suassuna Carneiro Lúcio

Examinador externo

(Professora do magistério superior da FCMPB)

Dedico este trabalho a minha irmã Érika Paiva,
por ter me inspirado a seguir a carreira acadêmica,
me incentivando e apoiando em todos os
momentos.

AGRADECIMENTOS

Expresso minha enorme gratidão a Deus, que tem sido minha fortaleza em todos os momentos da minha vida. Obrigada por sua presença constante nos momentos mais difíceis, nada do que eu alcancei seria possível sem a sua influência na minha vida.

À minha família que me deu tanto apoio nos meus estudos. Agradeço a minha mãe Heralda, por sua presença constante, seu amor incondicional, carinho e dedicação. Grata a minha vó Geralda, pelas demonstrações de doçura, cuidado e preocupação. À meu pai Eliú, minha gratidão por sua constante demonstração de orgulho, amor e apoio. Agradeço também aos meus irmãos Érika e Renan pela amizade e apoio durante todo o tempo. À minha prima Debora, que sempre se fez presente todos os dias com seus conselhos e amizade.

Ao meu noivo João Victor, que sempre foi o meu porto seguro e fonte de felicidade. Sou grata pelo amor, incentivo e ajuda de todos os momentos.

À minhas amigas Leticia, Luana, Daniele e Priscila pelo companheirismo, incentivo e momentos de felicidade.

À todos do grupo de Farmacoquímica: Teresa, Alex e Natália. Agradeço pela colaboração nos estudos e assistência científica.

À minha orientadora estimada, Luciana Scotti, desejo expressar minha profunda gratidão, por sua paciência e orientação sábia ao longo dessa jornada. Agradeço pelo conhecimento compartilhado e pela assistência científica.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro e à Universidade Federal da Paraíba pelo apoio institucional.

À todos aqueles que contribuíram de alguma forma para a concretização deste projeto.

"Comece onde você está, use o que você tem e faça o que você pode."

Arthur Ashe

RESUMO

Fotoenvelhecimento é o envelhecimento prematuro da pele ocasionado pela exposição crônica à radiação ultravioleta. Atualmente a intervenção utilizada para a prevenção do fotoenvelhecimento se refere ao uso de protetor solar, porém estudos relatam que dificilmente a população aplica a quantidade ideal para a proteção adequada. Portanto, a pesquisa contínua de novas estratégias é essencial para prevenir os efeitos indesejáveis causados pela exposição solar. As análises *in silico* são abordagens importantes utilizadas no processo de descoberta de medicamentos contra o fotoenvelhecimento. Elas permitem a análise das propriedades físico-químicas e das atividades biológicas de compostos, e reduzem os custos financeiros e o tempo do processo de descoberta de novos fármacos. Os produtos naturais são metabólitos secundários de plantas que oferecem potencial para o desenvolvimento de novos medicamentos. Com isso, o objetivo desse estudo foi realizar análises *in silico* e desenvolver uma triagem virtual de produtos naturais contra alvos do fotoenvelhecimento. Neste trabalho, foram selecionados 1630 produtos naturais para iniciar a triagem virtual. As metodologias utilizadas neste trabalho foram: a construção de modelos de QSAR (*Quantitative Structure-Activity Relationship*), a análise dos riscos de citotoxicidade, a análise das violações à regra dos cinco de Lipinski, a análise do componente principal por consenso (CPCA), a análise do componente principal (PCA) e o *docking* molecular. O resultado do estudo de QSAR exibiu parâmetros estatísticos adequados e forneceu moléculas provavelmente ativas contra os alvos do fotoenvelhecimento, incluindo a metaloproteinase de matriz-1 (MMP-1) e a metaloproteinase de matriz-12 (MMP-12). Essas moléculas foram avaliadas com relação aos riscos de citotoxicidade e à quantidade de violações à regra dos cinco de Lipinski. Entre aquelas que não apresentaram riscos e não demonstraram violações, selecionou-se os diterpenos abietanos com provável atividade multialvo, obtendo-se: JS781, JS887, JS1233, JS1241, JS1352 e JS1513. A interação desses diterpenos abietanos com o CYP2D6 resultou em metabólitos que não demonstraram riscos de citotoxicidade, com exceção dos metabólitos M3, M6 e M8. A CPCA e a PCA indicaram que os diterpenos abietanos possuem regiões hidrofóbicas, regiões hidrofílicas, grupos doadores de ligação de hidrogênio e grupos aceptores de ligação de hidrogênio. Além disso, JS1352 apresentou um melhor perfil de solubilidade em comparação com os outros diterpenos abietanos estudados. No *docking* molecular, os diterpenos abietanos e os controles realizaram interações similares com alguns resíduos de aminoácido da MMP-1 e da MMP-12, através de ligações de hidrogênio ou de interações hidrofóbicas. Diante desses resultados, acredita-se que os seis diterpenos abietanos analisados possivelmente possuem atividade contra esses alvos e podem ser úteis na pesquisa de compostos contra o fotoenvelhecimento.

Palavras-chave: Fotoenvelhecimento, MMP-1, MMP-12, Diterpenos abietanos, *in silico*.

ABSTRACT

Photoaging is the premature aging of the skin caused by chronic exposure to ultraviolet radiation. Currently, the intervention used to prevent photoaging refers to the use of sunscreen, but studies report that it is difficult for the population to apply the ideal amount for adequate protection. Therefore, continuous research into new strategies is essential to prevent undesirable effects caused by sun exposure. *In silico* analyzes are important approaches used in the process of discovering drugs against photoaging. They allow the analysis of the physicochemical properties and biological activities of compounds, and reduce the financial costs and time of the process of discovering new drugs. Natural products are secondary metabolites of plants that offer potential for the development of new medicines. Therefore, the objective of this study was to perform *in silico* analyzes and develop a virtual screening of natural products against photoaging targets. In this work, 1630 natural products were selected to begin virtual screening. The methodologies used in this work were: the construction of QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) models, the analysis of cytotoxicity risks, the analysis of violations of Lipinski's rule of five, the consensus principal component analysis (CPCA), principal component analysis (PCA) and molecular docking. The result of the QSAR study exhibited adequate statistical parameters and provided molecules likely to be active against photoaging targets, including matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) and matrix metalloproteinase-12 (MMP-12). These molecules were evaluated in relation to the risks of cytotoxicity and the number of violations of Lipinski's rule of five. Among those that did not present risks and did not demonstrate violations, the abietane diterpenes with probable multi-target activity were selected, obtaining: JS781, JS887, JS1233, JS1241, JS1352 and JS1513. The interaction of these abietan diterpenes with CYP2D6 resulted in metabolites that did not demonstrate risks of cytotoxicity, with the exception of metabolites M3, M6 and M8. CPCA and PCA indicated that abiethane diterpenes have hydrophobic regions, hydrophilic regions, hydrogen bond donor groups and hydrogen bond acceptor groups. Furthermore, JS1352 showed a better solubility profile compared to the other studied abiethane diterpenes. In molecular docking, the abiethane diterpenes and controls performed similar interactions with some amino acid residues of MMP-1 and MMP-12, through hydrogen bonds or hydrophobic interactions. Given these results, it is believed that the six abiethane diterpenes analyzed possibly have activity against these targets and could be useful in the search for compounds against photoaging.

Keywords: Photoaging, MMP-1, MMP-12, Abietan diterpenes, *in silico*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Camadas da pele.....	19
Figura 2. Camadas da epiderme e organização das células.....	21
Figura 3. Estrutura de uma molécula de colágeno. (A) é a representação de uma única cadeia alfa de colágeno, onde cada aminoácido é simbolizado por uma esfera. Essa cadeia é organizada como uma hélice, consistindo de três aminoácidos por volta. O terceiro aminoácido é sempre uma glicina, enquanto que X é uma prolina e Y uma hidroxiprolina. (B) é a representação de uma molécula de colágeno, onde cada cadeia alfa é representada de uma cor e enroladas umas nas outras, formando uma tripla hélice.	24
Figura 4. Envelhecimento natural cutâneo e fotoenvelhecimento unilateral.	29
Figura 5. Estrutura básica do terpeno constituído por uma unidade de isopreno.....	39
Figura 6. Esqueleto de diterpenos abietanos.	39
Figura 7. Curvas ROC dos modelos de descritores Dragon. A) Conjunto de teste de MMP-1; B) Validação cruzada de MMP-1; C) Conjunto de teste de MMP-3; D) Validação cruzada de MMP-3; E) Conjunto de teste de MMP-9; F) Validação cruzada de MM-9; G) Conjunto de teste de MMP-12; H) Validação cruzada de MMP-12.	50
Figura 8. Curvas ROC dos modelos de descritores Volsurf. A) Conjunto de teste de MMP-1; B) Validação cruzada de MMP-1; C) Conjunto de teste de MMP-3; D) Validação cruzada de MMP-3; E) Conjunto de teste de MMP-9; F) Validação cruzada de MM-9; G) Conjunto de teste de MMP-12; H) Validação cruzada de MMP-12.	51
Figura 9. Estruturas químicas dos diterpenos abietanos selecionados nas análises.	53
Figura 10. Metabólitos preditos através da interação dos diterpenos abietanos com CYP2D6.	57
Figura 11. Metabólitos preditos através da interação dos diterpenos abietanos com CYP2D6.	58
Figura 12. Peso dos blocos do modelo da CPCA.....	60
Figura 13. Distribuição das moléculas e dos descritores moleculares no modelo da PCA. A) Gráfico das moléculas; B) Gráfico dos descritores.	61
Figura 14. Campos de interação molecular dos diterpenos abietanos interagindo com as sondas DRY (verde), H ₂ O (azul-claro), O de carbonila (vermelho), e NH (azul-escuro). A) JS781; B) JS887; C) JS1233; D) JS1241; E) JS1352; F) JS1513. Níveis de energia de -1 kcal/mol (DRY) e -3 kcal/mol (H ₂ O, NH e O).....	63

Figura 15. Interações em 3D e 2D dos diterpenos abietanos com MMP-1. A) JS781; B) JS887; C) JS1233. As ligações de hidrogênio são destacadas por linhas tracejadas verdes, as interações hidrofóbicas são destacadas em rosa, as interações de van der Waals em verde e as interações estéricas são marcadas em vermelho.	67
Figura 16. Interações em 3D e 2D dos diterpenos abietanos com MMP-1. A) JS1241; B) JS1352; C) JS1513. As ligações de hidrogênio são destacadas por linhas tracejadas verdes, as interações hidrofóbicas são destacadas em rosa, as interações de van der Waals em verde e as interações estéricas são marcadas em vermelho.	68
Figura 17. Interações em 3D e 2D dos controles com MMP-1. A) RO4; B) 1,10-fenantrolina; C) NNGH. As ligações de hidrogênio são destacadas por linhas tracejadas verdes, as interações hidrofóbicas são destacadas em rosa, as interações de van der Waals em verde e as interações estéricas são marcadas em vermelho.	69
Figura 18. Interações em 3D e 2D dos diterpenos abietanos com MMP-12. A) JS781; B) JS887; C) JS1233. As ligações de hidrogênio são destacadas por linhas tracejadas verdes, as interações hidrofóbicas são destacadas em rosa, as interações de van der Waals em verde e as interações estéricas são marcadas em vermelho.	73
Figura 19. Interações em 3D e 2D dos diterpenos abietanos com MMP-12. A) JS1241; B) JS1352; C) JS1513. As ligações de hidrogênio são destacadas por linhas tracejadas verdes, as interações hidrofóbicas são destacadas em rosa, as interações de van der Waals em verde e as interações estéricas são marcadas em vermelho.	74
Figura 20. Interações em 3D e 2D dos controles com MMP-12. A) HS4; B) 1,10-fenantrolina; C) NNGH. As ligações de hidrogênio são destacadas por linhas tracejadas verdes, as interações hidrofóbicas são destacadas em rosa, as interações de van der Waals em verde e as interações estéricas são marcadas em vermelho.	75

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Escala de Fitzpatrick para classificação do tipo de pele.	27
Quadro 2. Escala Goglu do Fotoenvelhecimento.	28
Quadro 3. Dados de alvos do fotoenvelhecimento encontrados no ChEMBL.....	41
Quadro 4. Nome e classe de JS781, JS887, JS1233, JS1241, JS1352 e JS1513.	53
Quadro 5. Riscos de citotoxicidade dos controles.....	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros estatísticos obtidos nos modelos de descritores Dragon.....	49
Tabela 2. Parâmetros estatísticos obtidos nos modelos de descritores Volsurf.....	49
Tabela 3. Dados das moléculas com probabilidade de atividade de consenso $\geq 50\%$ que fazem parte do domínio de aplicabilidade dos modelos.....	52
Tabela 4. Riscos de citotoxicidade das moléculas JS781, JS887, JS1233, JS1241, JS1352 e JS1513.	54
Tabela 5. Análise por consenso de modelos de MMP-1 de descritores Dragon e Volsurf.	55
Tabela 6. Análise por consenso de modelos de MMP-12 de descritores Dragon e Volsurf. ..	55
Tabela 7. Riscos de citotoxicidade e probabilidades dos metabólitos dos diterpenos abietanos gerados pelo Metasite.	56
Tabela 8. Propriedades calculadas para os diterpenos abietanos e violações a regra dos cinco de Lipinski.....	59
Tabela 9. Variância explicada através dos blocos LOGS e OH2 do modelo da CPCA.	60
Tabela 10. Variância explicada pelos componentes 1 e 2 do modelo da PCA.....	60
Tabela 11. Valores das energias de ligação das moléculas e dos controles com a MMP-1. ...	64
Tabela 12. Interações dos diterpenos abietanos e dos controles com MMP-1.	65
Tabela 13. Valores das energias de ligação das moléculas e dos controles com a MMP-12. .	70
Tabela 14. Interações dos diterpenos abietanos e dos controles com MMP-12.	71

LISTA DE ABREVIATURAS

AC	Acurácia
AH	Ácido hialurônico
AP-1	Proteína ativadora 1
CADD	<i>Computer-Aided Drug Design</i>
CI ₅₀	Concentração inibitória média
clogP	Coefficiente de partição octanol/água calculado
CPCA	<i>Consensus Principal Component Analysis</i>
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DOPA	3,4-dihidroxifenilalanina
EGF	Fator de crescimento epidérmico
EROs	Espécies reativas de oxigênio
FA	Floresta aleatória
FN	Falso negativo
FP	Falso positivo
FPS	Fator de Proteção Solar
GAGs	Glicosaminoglicanos
HS4	<i>N-oxidanyl-2-[(4-phenylphenyl)sulfonylamino]ethanamide</i>
ID	Identificador
IL-1 β	Interleucina-1 beta
IL-6	Interleucina-6
IL-8	Interleucina-8
LBVS	<i>Ligand-Based Virtual Screening</i>
MAPKs	Proteínas quinase ativadas por mitógeno
MCC	<i>Matthews Correlation Coefficient</i>
MEC	Matriz extracelular
MMP-1	Metaloproteinase de matriz-1
MMP-12	Metaloproteinase de matriz-12
MMP-3	Metaloproteinase de matriz-3
MMP-9	Metaloproteinase de matriz-9
MMPs	Metaloproteinases de matriz
MVD	<i>Molegro Virtual Docker</i>
NF- κ B	Fator nuclear kappa B
NNGH	<i>N-Isobutyl-N-(4-methoxyphenylsulfonyl) glycylic hydroxamic acid</i>
PATV	Probabilidade de atividade
PC	Componente principal
PCA	<i>Principal Component Analysis</i>
PCA	<i>Principal Component Analysis</i>
PDB	<i>Protein Data Bank</i>
PNs	Produtos Naturais
PPD	Escurecimento Persistente do Pigmento
PR	Precisão
QSAR	<i>Quantitative Structure-Activity Relationship</i>
RMSD	<i>Root Mean Square Deviation</i>
RO4	<i>[[1-[n-hydroxy-acetamidyl]-3-methyl-butyl]-carbonyl-leucinyl]-alanine ethyl ester</i>
ROC	<i>Receiver Operating Characteristic</i>
SBVS	<i>Structure-Based Virtual Screening</i>
SE	Sensibilidade

SMILES	Simplified Molecular-Input Line-Entry System
SP	Especificidade
TIMPs	Inibidores teciduais das metaloproteinases
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
TYR	Tirosinase
TYRP-1	Proteína 1 relacionada à tirosinase
TYRP-2	Proteína 2 relacionada à tirosinase
UV	Ultravioleta
UVA	Ultravioleta A
UVB	Ultravioleta B
UVC	Ultravioleta C
VN	Verdadeiro negativo
VP	Verdadeiro positivo
VS	Virtual screening

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	19
2.1 Biologia da pele	19
2.2 Colágeno, elastina e o envelhecimento cutâneo	23
2.3 Fotoenvelhecimento.....	26
2.3.1 Conceito e sinais clínicos	26
2.3.2 Danos induzidos por radiação UV à pele	29
2.3.3 Metaloproteínas de matriz relacionadas com o fotoenvelhecimento	31
2.3.4 Abordagens para combater o fotoenvelhecimento	33
2.4 Planejamento de fármacos auxiliado por computador.....	36
2.5 Estrutura química e potencial terapêutico de diterpeno abietanos	37
3. OBJETIVOS	40
3.1 Objetivo geral	40
3.2 Objetivos específicos.....	40
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	41
4.1 Coleta de dados.....	41
4.2 Obtenção das estruturas em 3D e tratamento dos conjuntos de dados	42
4.3 Cálculos dos descritores moleculares	42
4.4 Construção de modelos de relação quantitativa entre a estrutura e a atividade	43
4.5 Verificação dos riscos de citotoxicidade e das violações à regra dos cinco de Lipinski....	45
4.7 Análise dos Componentes Principais por Consenso e Análise dos Componentes Principais	46
4.8 <i>Docking</i> molecular.....	47
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
5.1 Modelos de QSAR...49	52
5.2 Verificação dos riscos de citotoxicidade e das violações à regra dos cinco de Lipinski.....	52
5.3 Análise dos Componentes Principais por Consenso e Análise dos Componentes Principais	59
5.5 <i>Docking</i> molecular.....	64
6. CONCLUSÃO.....	76
REFERÊNCIAS	78
APÊNDICES	91

1.INTRODUÇÃO

O envelhecimento da pele pode ser categorizado em dois tipos: intrínseco e extrínseco. O envelhecimento intrínseco, é um processo natural que ocorre com o passar dos anos. Por outro lado, o envelhecimento extrínseco, é ocasionado por fatores extrínsecos (ambientais), nos quais incluem exposição ao sol, ingestão excessiva de álcool, má nutrição, tabagismo e poluição. Entre os fatores extrínseco, a exposição à radiação ultravioleta (UV) é a mais importante, pois contribui com até 80% do envelhecimento extrínseco (HUDSON; BRISSETT; CARNIOL, 2021).

O fotoenvelhecimento, é um fenômeno decorrente da exposição crônica e cumulativa à radiação UV proveniente da luz solar (GROMKOWSKA-KEPKA *et al.*, 2021). Ele é marcado por rugas mais profundas, manchas escuras, textura áspera, telangiectasias e outras manifestações cutâneas mais pronunciadas do que aquelas associadas ao envelhecimento intrínseco (ZOUBOULIS; MAKRANTONAKI; NIKOLAKIS, 2019).

Um dos principais fatores que representam o bem-estar geral em seres humanos é a saúde da pele. Partindo desse pressuposto, há uma busca constante de novas estratégias antienvhecimento para combater os sinais e a disfunção do envelhecimento, e consequentemente promover uma pele saudável, livre de manchas, macia, resistente e translúcida (ZOUBOULIS *et al.*, 2019).

Existem diversas estratégias para amenizar os efeitos do fotoenvelhecimento, como o uso de protetores solares e a utilização de substâncias antioxidantes. A pele danificada pela exposição solar apresenta alterações na estrutura do colágeno e da elastina. Além disso, uma característica marcante é o acúmulo de tecido elástico anormal profundamente na derme, denominado elastose solar (ZHANG, S.; DUAN, 2018). Isso ocorre principalmente devido à ação de metaloproteinases de matriz (MMPs) (YAO *et al.*, 2022). Estudos relatam que a inibição da MMP-1, MMP-3, MMP-9 e MMP-12 é uma das estratégias em frente ao fotoenvelhecimento induzido por UV (WONGRATTANAKAMON *et al.*, 2019; YAO *et al.*, 2022). Assim, há um grande interesse em desenvolver inibidores das MMPs eficazes que possam ser usados no combate ao fotoenvelhecimento (MEDEIROS *et al.*, 2019).

Diante da necessidade urgente de obter substâncias contra o fotoenvelhecimento, deve-se desenvolver estratégias adequadas para atingir esse objetivo. Uma dessas estratégias é o Planejamento de Fármacos Auxiliado por Computador (CADD, Computer-Aided Drug Design) que utiliza análises *in silico* para realizar uma triagem virtual (VS) de moléculas e identificar aquelas com potencial para o desenvolvimento de fármacos (KHOLOD *et al.*, 2018).

Esta abordagem é muito utilizada para diminuir o tempo e custo do processo de descoberta de novos medicamentos em até 50% (PANDEY; SINGH, 2020). A VS pode ser classificada em duas categorias principais: triagem virtual baseada em ligante (LBVS) e triagem virtual baseada em estrutura (SBVS). Na LBVS seleciona-se moléculas que possuem similaridade com ligantes conhecidos de um alvo de interesse. A SBVS utiliza a estrutura 3D de um alvo para realizar a triagem e descobrir compostos promissores, sendo o *docking* molecular uma das principais técnicas usadas para verificar a afinidade da molécula com o alvo (SHEN *et al.*, 2020).

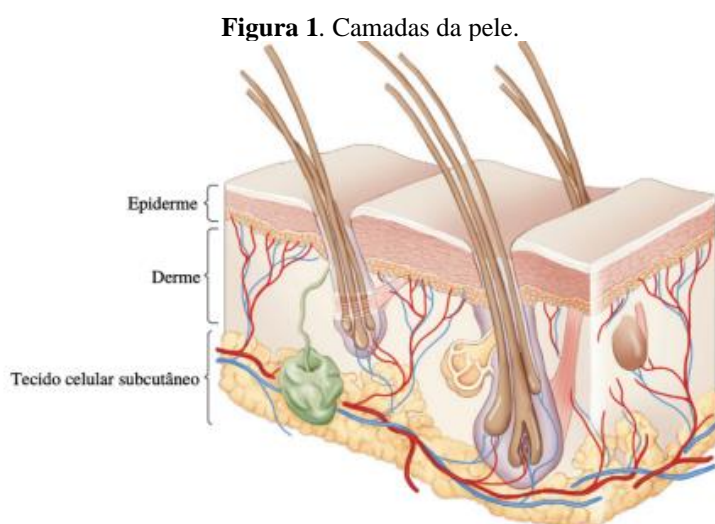
Os produtos naturais são reconhecidos como uma fonte de moléculas com potencial para o desenvolvimento de medicamentos. Os métodos *in silico* são uma abordagem bastante utilizada na fase inicial da pesquisa de produtos naturais (FANG *et al.*, 2017).

Dentro dos produtos naturais, os diterpenos abietanos são encontrados abundantemente na natureza e possuem atividade antimicrobiana, antifúngico, antitumoral, antiviral, antioxidantes e antiinflamatórias, entre outras, sendo considerados promissores na pesquisa de drogas (EKSI; KURBANOGLU; ERDEM, 2020). Os diterpenos abietanos têm demonstrado através de estudos que possuem uma correlação positiva com a atividade antienvhecimento (SALEM *et al.*, 2020). Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi desenvolver análises *in silico* e realizar uma triagem virtual de diterpenos abietanos contra alvos específicos do fotoenvhecimento.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Biologia da pele

A pele é o maior órgão do corpo humano, ela desempenha um papel fundamental na proteção do organismo contra o ambiente externo, ao mesmo tempo em que mantém uma interação contínua com ele. Possui diversas funções, como a de proteger contra agentes infecciosos, radiação ultravioleta, impedir perda de fluidos corpóreos essenciais, sintetizar vitamina D e a termorregulação. A pele é constituída por três camadas: a epiderme, a derme e o tecido celular subcutâneo ou hipoderme (Figura 1) (CRISTINA *et al.*, 2020; LAWTON, 2019; MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2012).



Fonte: Adaptada de MILLER *et al.*, 2012.

A epiderme é a camada mais superficial da pele, não possui vasos sanguíneos e é composta predominantemente por queratinócitos (80-95%). A epiderme divide-se em subcamadas (Figura 2) como o estrato basal, o estrato espinhoso, o estrato granuloso, o estrato lúcido e o estrato córneo (BENTO, 2015; JACKSON; MARSELLA, 2021).

O estrato basal ou estrato germinativo, é a camada mais profunda da epiderme, formada principalmente por células com intensa atividade mitótica que vão produzir os queratinócitos. As células do estrato basal desempenham um papel fundamental na contínua renovação da epiderme. O processo de diferenciação dos queratinócitos começa nessa camada e avança em direção a camada mais superficial das camadas da epiderme, o estrato córneo, para então se diferenciar-se em corneócitos (SILVA, L. M., 2016; YOUSEF; ALHAJJ; SHARMA, 2022).

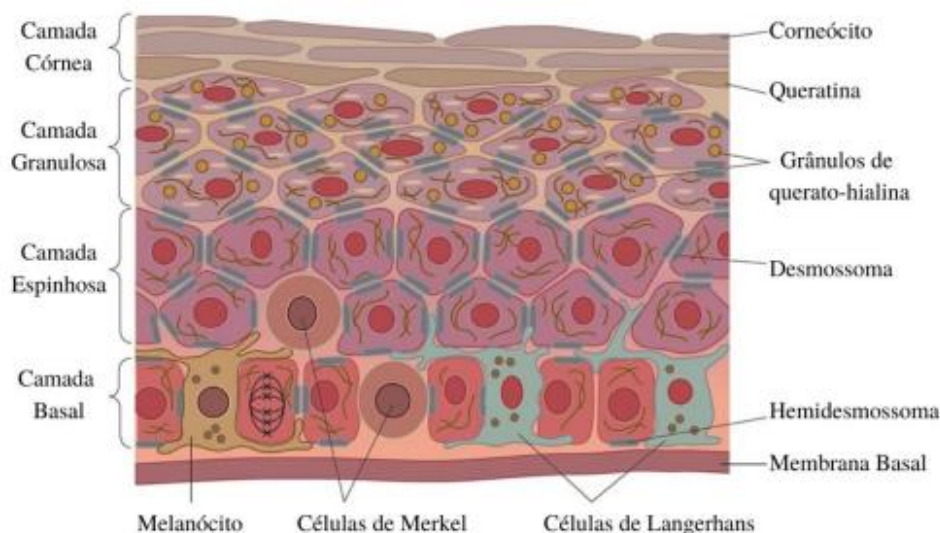
O estrato espinhoso encontra-se localizado acima da camada basal, as células dessa camada vão se achatando à medida que vão sendo empurradas para a superfície. Esse estrato é composto por citoplasma com curtas expansões nos quais possuem feixes de filamentos de queratinas (tonofilamentos). As expansões citoplasmáticas destes queratinócitos se unem com as expansões dos citoplasmáticas das células próximas através de desmossomos, concedendo assim a estas células uma aparência espinhosa (MIGUEL; FERREIRA, 2022).

O estrato granuloso consiste em várias camadas de células achatadas. Esta camada, possui grânulos proteicos de queratohialina, que se concentram no interior do citoplasma celular. Além disso, os corpos lamelares migram em direção à membrana celular, soltando lipídios no espaço entre as células. Ao mesmo tempo, dentro da célula, forma-se uma estrutura proteica em torno da membrana celular (CARVALHO, 2014).

O estrato lúcido encontra-se entre o estrato granuloso e o estrato córneo, sendo presente em locais onde a pele é mais espessa. Nele encontra-se fibras de queratina, porém a queratohialina se mostra bem visível na camada granulosa em forma de grânulos, enquanto que no estrato lúcido ela fica dispersa em torno das fibras de queratina (CARVALHO, 2014; MERCURIO, 2015).

No estrato córneo os queratinócitos terminam o processo de diferenciação e passam a serem chamados de corneócitos, que são células mortas, achatadas, sem núcleos e com grandes quantidades da proteína queratina em seu citoplasma. A queratina dá consistência à epiderme, impossibilitando a perda transdérmica de água e prevenindo a desidratação da pele (MERCURIO, 2015; SILVA, L. M., 2016). Os corneócitos estão continuamente se soltando do resto da camada, através de um processo chamado de descamação, levando consigo possíveis agentes patogênicos (MIGUEL; FERREIRA, 2022). Essas células são organizadas em várias camadas, cerca de 18-20 camadas e mergulhados em uma matriz lipídica. O espaço intercelular é feito através de camadas lipídicas lamelares e é composto basicamente por ceramidas, colesterol e ácidos graxos, tendo somente 15 a 30% de água (SILVA, L. M., 2016).

Figura 2. Camadas da epiderme e organização das células.



Fonte: Adaptada de JACKSON et al., 2021.

Além dos queratinócitos, a epiderme ainda contém outros tipos de células, os melanócitos (responsáveis por conferir o pigmento a pele), as células de Merkel (células epidérmicas relacionadas a terminações nervosas que possuem a percepção do tato) e as células de Langerhans (células que possuem funções de apresentação de antígeno desempenhando um papel essencial na resposta imunológica) (CARVALHO, 2014; MIGUEL; FERREIRA, 2022).

O melanócito é uma célula dendrítica sintetizadora de pigmentos localizado na camada basal. Ele se ramifica entre as camadas mais superficiais, portanto mesmo as extensões do melanócito entrando em contato com os queratinócitos, eles não estabelecem junções celulares. Os melanócitos tem a função da síntese do pigmento melanina e realiza sua transferência para os queratinócitos (DEHDASHTIAN *et al.*, 2018).

A síntese de melanina ocorre em uma organela arredondada, conectada à membrana, chamada de melanossoma. Esse processo ocorre através de diversas reações mediadas por receptores, catalisadas por enzimas e estimuladas por hormônios. Os melanossomas são movidos até os prolongamentos dos melanócitos permitindo que a melanina seja transferida para os queratinócitos. A pele que apresenta muito pigmento pode ter uma quantidade maior de produção de melanossomas, como também um tamanho maior dos melanossomas, uma quantidade elevada de dispersão de melanossomas no queratinócitos e uma degradação mais lenta dos melanossomas em contraste com a pele clara (DEHDASHTIAN *et al.*, 2018).

O processo de síntese da melanina se inicia através do aminoácido tirosina que sofre uma reação de hidroxilação através da enzima tirosinase (TYR) se transformando em 3,4-dihidroxifenilalanina (DOPA). A DOPA também é oxidada pela TYR e se transforma em

melanina. A partir desse momento, ocorrem dois mecanismos biossintéticos diferentes da eumelanina e da feomelanina. A formação da feomelanina ocorre através da reação de um aminoácido chamado cisteína com a dopaquinona. Enquanto que para a formação da eumelanina são necessárias as enzimas TYRP-1 (proteína 1 relacionada à tirosinase) e TYRP-2 (proteína 2 relacionada à tirosinase). A cor da pele, dos olhos e do cabelo depende da distribuição, quantidade e qualidade da melanina, sendo de dois tipos: a feomelanina, de cor amarela/vermelha e a eumelanina, de cor castanha/preta. A proporção eumelanina/feomelanina é um fator que determina a pigmentação dos tecidos. A feomelanina é mais abundante em pessoas de pele clara e cabelos claros, enquanto que a eumelanina é mais predominante em peles negras (SOUSA, C. A. A., 2020).

A melanina realiza uma função essencial na manutenção da homeostase da epiderme. Ela consegue absorver a radiação UV e dissipar grande parte da energia que foi absorvida na forma de calor, com isso desempenha uma importante função de proteger a pele (BOO, 2020).

A hipoderme é a camada mais profunda da pele, e é constituída principalmente por células adiposas e vasos sanguíneos conectados à derme através de fibras de colágeno. Essa camada tem como principal função o isolamento térmico do corpo contra o frio e o calor externo, e a proteção mecânica (amortecedor de traumas e lesões) (BARONI *et al.*, 2012; BENTO, 2015).

A derme é distanciada da epiderme pela membrana basal ou junção dermo-epidérmica, uma camada fina de proteínas da matriz extracelular (MEC) que tem como função regular o movimento das substâncias e células da derme para a epiderme, além de que ancora os queratinócitos na camada basal da epiderme à derme por meio de hemidesmossomas (Figura 2) (MIGUEL; FERREIRA, 2022).

A derme é um tecido conjuntivo denso irregular, elástico e fibroso que concede elasticidade, estrutura e resistência à pele. A derme é caracterizada pela sua existência de fibroblastos que sintetizam e segregam para o espaço extracelular as proteínas presentes na MEC. Além de que há a presença de células imunes, tais como os macrófagos e mastócitos (BENTO, 2015).

Na derme além de nervos, vasos sanguíneos e linfáticos, também estão presentes as estruturas anexas que são as glândulas sebáceas, sudoríparas e folículos pilosos, estas conferem funções como o controle térmico e proteção do organismo. A derme é composta por duas camadas, a mais superficial e delgada é chamada de camada papilar, esta possui tecido conjuntivo frouxo que origina as papilas dérmicas. Enquanto que a camada mais profunda e

espessa é a camada reticular, está é formada por tecido conjuntivo denso não modelado. Tanto a camada papilar como a camada reticular possuem diversas fibras colágenas e elástica. No entanto, as fibras da camada papilar se inserem na camada basal e atuam na fixação da derme com a epiderme. Por outro lado, na derme reticular, as fibras são mais espessas, conferindo à derme sua característica de resistência e elasticidade (POVÓA; DINIZ, 2011; VASCONCELOS, 2015).

A MEC é constituída por três classes principais de moléculas: As proteínas fibrosas, que são em sua maioria membros da família de colágeno; as glicosaminoglicanos (GAGs), que consistem em grandes polissacarídeos ligados covalentemente às proteínas formando os proteoglicanos; e glicoproteínas não colagenosas, como a fibrilina, fibronectina, fibulina, tenascina, laminina e trombospondina (ALBERTS *et al.*, 2017; BAUMANN *et al.*, 2021).

Um dos GAGs mais frequente na pele é o ácido hialurônico (AH), ele desempenha uma função na manutenção da hidratação dos tecidos e realiza o equilíbrio osmótico. Além de que são essenciais no processo de cicatrização de feridas (TRACY; MINASIAN; CATERSON, 2016).

Os proteoglicanos formam uma substância com aspecto semelhante a um gel, com alta hidratação, na qual as glicoproteínas e o colágeno estão embebidos. O gel de polissacarídeos concede a difusão rápida dos nutrientes, hormônios e metabólitos entre o sangue e as células dos tecidos, ao mesmo tempo em que resiste a forças de compressão. As fibras colágenas fortalecem e organizam a MEC, e as fibras de elastina, fornecem a resistência para retorcer logo depois de um estiramento transitório. As inelásticas e longas fibrilas de colágeno ficam entrelaçadas com as fibras elásticas para não deixar que o tecido rasgue, limitando a distensão. Enquanto que as glicoproteínas ajudam na ligação das células, na migração delas, e ainda mantém essas células distantes de áreas que não são adequadas. Como a fibronectina, que é o membro mais conhecido das glicoproteínas, e possui grande relevância para as interações célula-matriz (ALBERTS *et al.*, 2017).

2.2 Colágeno, elastina e o envelhecimento cutâneo

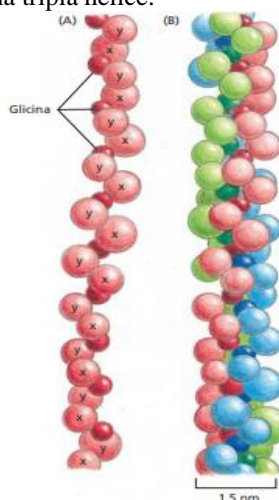
As proteínas são diferenciadas em três tipos de categorias estruturais: proteínas fibrosas, proteínas globulares e proteínas integrais de membrana. As proteínas fibrosas tem a característica de serem alongadas e rígidas, tais como o colágeno (NELSON; COX, 2014). O colágeno é uma proteína fibrosa insolúvel em água, de grande importância na MEC e no tecido

conjuntivo, onde cerca de 70% da derme é constituída de colágeno, concedendo à pele resistência e força. Nos seres humanos existem 29 tipos de colágeno, que são diferentes tanto na sua função como nas suas estruturas. O colágeno é o principal constituinte proteico de tecidos como a pele, tendões, ligamentos e córnea dos olhos. O tipo de colágeno composto na MEC é o colágeno tipo I (85-90%) seguido por baixas quantidades de colágeno tipo III (10-15%). O colágeno tipo I tem como característica fibras espessas que trazem resistência e rigidez à pele conseguindo assim uma manutenção da estrutura da derme. Enquanto que o colágeno tipo III tem como característica fibras finas que dão a elasticidade da pele (RICO *et al.*, 2021; SILVA, L. M., 2016; ZHANG, J. *et al.*, 2014).

A molécula do colágeno (denominada de tropocolágeno) é formada pelo entrelaçamento de três polipeptídios, chamados de cadeia alfa alinhadas em uma tripla hélice (Figura 3). Em geral o colágeno é composto pelos aminoácidos glicina (30%), prolina (12%), alanina (11%) e outros dois aminoácidos derivado da prolina e lisina: hidroxiprolina (10%), hidroxilisina (1%). O aminoácido glicina está localizado a cada três posições na cadeia polipeptídica, onde a glicina faz parte de uma sequência contínua Gli-X-Y, no qual o X se refere a prolina, e Y é uma hidroxiprolina ou hidroxilisina. O colágeno é sintetizado pelos fibroblastos como pró-colágeno. Em seguida, acontece a hidroxilação dos resíduos prolina e lisina, logo a prolina se transforma em hidroxiprolina, ajudando na estabilidade da molécula, devido a sua capacidade de formar pontes de hidrogênio por meio de seu grupamento OH, formando a tripla hélice. O colágeno tipo I tem a presença de duas cadeias α -1 e uma cadeia α -2, em contrapartida o colágeno tipo III possui 3 cadeias α -1. Através disso, as moléculas em estrutura de tripla hélice são empacotadas e secretadas no complexo de Golgi para o espaço extracelular, onde proteinases realizam a clivagem do domínio terminal. Com isso, diversas fibrilas de colágeno, compostas por tropocolágeno, se organizam em feixes paralelos e formam as fibras de colágeno (ALBERTS *et al.*, 2017; PRESTES, 2013; ROLIM, 2013; SILVA, L. M., 2016).

Figura 3. Estrutura de uma molécula de colágeno. (A) é a representação de uma única cadeia alfa de colágeno, onde cada aminoácido é simbolizado por uma esfera. Essa cadeia é organizada como uma hélice, consistindo de três aminoácidos por volta. O terceiro aminoácido é sempre uma glicina, enquanto que X é uma prolina e Y uma

hidroxiprolina. (B) é a representação de uma molécula de colágeno, onde cada cadeia alfa é representada de uma cor e enroladas umas nas outras, formando uma tripla hélice.



Fonte: Adaptada de ALBERTS *et al.*, 2017

A elastina é uma proteína insolúvel presente em diversos tecidos biológicos. Ela desempenha um papel fundamental na elasticidade dos tecidos. Sua presença e produção são vitais para o suporte e integridade de estruturas como os pulmões, vasos sanguíneos, e a pele (BAUMANN *et al.*, 2021).

As fibras elásticas estão localizadas entre as fibras colágenas na derme. Elas são compostas por microfibrilas ricas em elastina e fibrilina que formam três tipos de fibras: as oxitalâmicas, as elaunínicas e as elásticas maduras. Na derme papilar, as fibras elásticas estão dispostas de duas formas: algumas são fibras finas e seguem paralelas à superfície (conhecidas como fibras oxitalâmicas), enquanto outras são ainda mais finas e se ramificam nas papilas dérmicas, seguindo uma orientação perpendicular à superfície (chamadas de fibras elaunínicas). Por outro lado, na derme reticular, as fibras elásticas são espessas, com uma forma curva, são curtas, retorcidas e se localizam paralelas à superfície. As fibras oxitalâmicas são feitas de microfibrilas de fibrilina, e servem como um molde para a formação das fibras elaunínicas quando combinadas com elastina. À medida que acumulam mais elastina, as fibras elaunínicas se transformam em fibras elásticas maduras. Essa organização das fibras elásticas na pele desempenha um papel essencial na manutenção da elasticidade e integridade da pele (FACHINELLI, 2010; WANICK, 2016).

A formação de fibras elásticas tem início quando os fibroblastos secretam monômeros solúveis de tropoelastina (precursor da elastina) no ambiente extracelular. Esses monômeros se ligam aos fibroblastos por meio de interações específicas na superfície celular. Logo após a ligação, ocorre a agregação da tropoelastina em glóbulos microscópicos. Nesse estágio, os

monômeros de tropoelastina se alinham e concentram de forma rápida, um processo conhecido como coacervação, que exige condições fisiológicas ideais, ou seja, uma temperatura de 37°C e uma faixa de pH entre 7-8. Durante a coacervação, as moléculas de tropoelastina são oxidadas por membros da enzima da lisil oxidase. Os feixes de tropoelastina seguem ligados à superfície celular, onde tropoelastina adicional é continuamente acrescentada à medida que a elastina é formada e gradualmente depositada em microfibrilas ricas em fibrilina. Esse processo resulta na produção de uma fibra elástica nascente que é, por fim, liberada da superfície celular (BAUMANN *et al.*, 2021).

No envelhecimento da pele ocorrem alterações funcionais e estruturais, onde os fibroblastos, colágeno e elastina estão diminuídos na derme (ESTEVEZ, M. L. D. B.; BRANDÃO, 2022).

O envelhecimento da pele é influenciado por fatores intrínsecos e extrínsecos. O envelhecimento intrínseco é um processo natural da pele, decorrente do tempo, de fatores genéticos e hormonais (TOBIN, 2017). Enquanto o envelhecimento extrínseco é ocasionado principalmente pela exposição à radiação ultravioleta (UV) (fotoenvelhecimento), que possui um efeito cumulativo, e aumenta os aparecimentos de manchas e rugas. Além disso, outros fatores estão associados ao envelhecimento extrínseco, como o estresse, poluição, maus hábitos de sono, tabaco, bebida alcoólica e dieta (PINTO, 2014). Todos esses fatores ambientais contribuem para a produção de radicais livres podendo danificar as membranas das células, gerando um mau funcionamento ou morte das células, com isso acelerando o processo do envelhecimento da pele. Na parte superficial da epiderme os radicais livres atacam as células, degradando os fibroblastos presente na derme. Além de que podem prejudicar o DNA (ácido desoxirribonucleico), carboidratos, proteínas, lipídios e as membranas celulares na região mais profunda da epiderme, ocasionando nos casos mais graves o câncer (COTINGUIBA *et al.*, 2013).

2.3 Fotoenvelhecimento

2.3.1 Conceito e sinais clínicos

O termo fotoenvelhecimento foi inicialmente introduzido no ano de 1986 e se refere ao envelhecimento prematuro da pele ocasionado pela exposição crônica à radiação UV solar, principalmente a UVA e UVB. A palavra "foto" é derivada da palavra grega "phos," que significa "luz." (HAN; CHIEN; KANG, 2014; OH *et al.*, 2020; YIN; CHEN; HAMBLIN, 2015).

O envelhecimento da pele através da exposição à radiação UV é um processo cumulativo e a severidade deste envelhecimento depende da duração, frequência, e intensidade da radiação UV, além disso, depende também da proteção natural pela pigmentação da pele (KAMMEYER; LUITEN, 2015).

O fotoenvelhecimento é mais comum em populações de pele clara, entretanto todos os tipos de pele podem manifestar essa condição (BOCHEVA; SLOMINSKI; SLOMINSKI, 2019; GILCHREST, 2013). A classificação mais utilizada dos fototipos de pele é a escala Fitzpatrick, desenvolvida no ano de 1975 por Thomas B. Fitzpatrick com base na cor da pele, nas respostas da mesma à exposição solar, considerando o grau de queimadura e bronzeamento. Essa classificação inclui seis tipos de pele, cor da pele e reação à exposição solar (Quadro 1). Especificamente os tipos de pele Fitzpatrick I, II e III possuem uma maior tendência a desenvolver o fotoenvelhecimento do que os tipos de pele IV, V e VI. (D’ORAZIO *et al.*, 2013; SACHDEVA, 2009).

Quadro 1. Escala de Fitzpatrick para classificação do tipo de pele.

Tipo de pele	Características típicas	Resposta da pele ao bronzeamento
I	Pele branca pálida; olhos azuis/verdes; sardas;	Nunca bronzeia, sempre queima
II	Pele branca; olhos azuis, verdes ou castanhos; cabelo ruivo, loiro ou castanho	Bronzeia com dificuldade, queima com facilidade
III	Pele clara; qualquer cor de olhos ou cabelo	Bronzeia gradualmente, queima esporadicamente
IV	Pele morena clara; qualquer cor de olhos ou cabelo	Bronzeia com facilidade, queima ligeiramente
V	Pele morena; qualquer cor de olhos ou cabelo	Bronzeia com facilidade, queima dificilmente
VI	Pele morena escura ou negra; qualquer cor de olhos ou cabelo	Bronzeia muito, nunca queima

Fonte: adaptado de D’ORAZIO *et al.*, 2013.

A prevalência do fotoenvelhecimento na população adulta com fototipos de pele I-III é estimada em até 90%, possivelmente devido a diferença de cada melanina predominante em cada fototipos de pele (HUANG; CHIEN, 2020). Em um estudo feito por GREEN *et al.*, (2011)

foi observado que a probabilidade de uma pessoa apresentar sinais clínicos de uma pele envelhecida pelo sol aumenta significativamente após os 30 anos de idade. Em outro estudo realizado por REBELO *et al.*, (2018) a prevalência do fotoenvelhecimento foi de 61% entre 275 pescadores de Salinópolis no estado do Pará, que estavam com a idade de 18 a 59 anos, durante o ano de 2016. A maior parte dos trabalhadores apresentava fototipo III, além de que 92% da população não utilizavam proteção solar no rosto ou no corpo.

O fotoenvelhecimento é mais predominante em regiões corporais mais susceptíveis à exposição solar, tais como o rosto, pescoço e mãos. Ele é responsável por até 80% do envelhecimento facial. A pele se apresenta com uma coloração amarelada, rugas profundas, elastose, pigmentação irregular, telangiectasias (pequenos vasos sanguíneos dilatados), atrofia grave, ressecamento, queratose solar (pequenas manchas avermelhadas) e lesões pré-cancerígena, diferentemente do envelhecimento natural onde a pele apresenta-se sem manchas, com leve atrofia, e rugas finas (HELFRICH; SACHS; VOORHEES, 2008; KAMMEYER; LUITEN, 2015; MONTAGNER; COSTA, 2009).

A escala para avaliação do fotoenvelhecimento (Quadro 2) foi desenvolvida pelo Dr. Richard Glogau, com base nas características que a pele envelhecida apresenta com o passar dos anos, essa escala tem sido um parâmetro necessário para que os profissionais possam avaliar a gravidade do fotoenvelhecimento e definir qual o melhor tratamento para cada caso (BREDA, 2022; FAGHIHI *et al.*, 2017).

Quadro 2. Escala Glogau do Fotoenvelhecimento.

Tipo	Idade	Alterações da pele
Tipo I Fotoenvelhecimento precoce	28–35	Mudanças pigmentares leves, sem queratose solar e sem rugas ou rugas mínimas
Tipo II Fotoenvelhecimento precoce a moderado	35–50	Manchas marrons precoces, queratose palpável, mas não visível, linhas de expressão paralelas do sorriso aparentes e rugas presentes em movimento
Tipo III Fotoenvelhecimento avançado	50–65	Descolorações evidentes, telangiectasia, queratose visível e rugas presentes em repouso
Tipo IV Fotoenvelhecimento grave	60–75	Pele amarelo-acinzentada, lesões actínicas pré cancerígenas (as quais podem virar câncer de pele), e pele totalmente enrugada

Fonte: Adaptado de FAGHIHI *et al.*, 2017

Em um estudo feito por GORDON e BRIEVA (2012) os sinais do fotoenvelhecimento são evidenciados em um homem de 69 anos que dirigia um caminhão de entrega pelo tempo de 28 anos, (Figura 4) somente um lado do rosto possui as características de pele envelhecida pelo sol, enquanto o outro lado apresenta sinais de envelhecimento natural. A análise histopatológica identificou na derme um acúmulo de material contendo elastina, uma característica do fotoenvelhecimento. Os pesquisadores ainda relatam que os raios UVA foram transmitidos por meio do vidro da janela, penetrando nas camadas superiores da derme e na epiderme.

Figura 4. Envelhecimento natural cutâneo e fotoenvelhecimento unilateral.



Fonte: Adaptada de GORDON; BRIEVA, 2012.

2.3.2 Danos induzidos por radiação UV à pele

A luz solar natural é composta por um espectro contínuo de radiações eletromagnéticas divididas em três regiões principais de comprimento de onda: a radiação UV, a radiação visível e a radiação infravermelha (YAO *et al.*, 2022). A super exposição da pele a radiação UV gera tanto queimaduras na pele, como fotoenvelhecimento, e um maior risco de câncer de pele (SOUZA, P. G. De; CASTRO; SILVA, 2021).

A radiação ultravioleta é subdividida em três principais bandas de acordo com o comprimento de onda, a banda de 100-280nm (UVC), a banda de 280-320nm (UVB) e a banda de 320-400nm (UVA) (WANG, L. *et al.*, 2020). A UVA é classificada em UVA 2 (315–340 nm) e UVA 1 (340–400 nm). A radiação UVC, diferente da radiação UVA e UVB, é

completamente absorvida pela camada de ozônio. A radiação UVA e UVB atingem a terra em porcentagens suficientes para desenvolver danos nas estruturas da pele. Contudo, a exposição crônica a radiação UVA pode danificar a derme de forma mais significativa do que a radiação UVB. A radiação UVA compreende a mais de 90% da radiação solar que atinge a população, ela tem um efeito direto menor sobre o DNA pelo fato de ser a menos energética. Portanto, por ser uma radiação de onda longa, ela consegue penetrar mais profundamente na pele e assim atinge fibroblastos da derme e queratinócitos da epiderme, danificando significativamente a MEC, sendo assim ela tem um papel crucial no desenvolvimento do fotoenvelhecimento. Enquanto a radiação UVB representa 5% da radiação solar, tendo muito mais capacidade de gerar queimaduras solares do que a radiação UVA, atuando na camada basal da epiderme e em menor grau, na parte mais superficial da derme. Diferentemente da radiação UVA, a radiação UVB tem como ação a indução direta de dano ao DNA. Com isso, o DNA absorve esses raios que conseqüentemente levam a sua mutação. Logo, a radiação UVB é responsável pela indução do câncer de pele não-melanoma (BOCHEVA *et al.*, 2022; KRUTMANN *et al.*, 2017; PINTO, 2014).

A radiação UV aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e ativa enzimas que degradam componentes da MEC, as metaloproteinases de matriz (MMPs). EROs compreendem o ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e radicais hidroxila. O excesso de produção de EROs e a falha do sistema antioxidante para lidar com essas espécies levam ao dano oxidativo em proteínas, lipídios e no DNA, causando danos significativos na MEC (LIU, T. *et al.*, 2020; QUAN; FISHER, 2015; SWOMLEY *et al.*, 2014).

A pele envelhecida pelo sol apresenta um aumento da espessura da epiderme e graves danos no tecido conjuntivo dérmico, incluindo uma menor expressão dérmica de colágeno tipo I e colágeno tipo III e uma grande concentração de material contendo elastina abaixo da junção dermo-epidérmica, ocasionando a elastose solar (QUAN; FISHER, 2015; ZHANG, J. *et al.*, 2014). Além de que podem causar um desequilíbrio entre as enzimas que catalisam o processo de síntese do AH, diminuindo a quantidade de AH, levando a uma pele ressecada (SCHWARTZ; PARK, 2012). Contudo, a radiação UV também contribui para o acúmulo de melanina na pele. Ela afeta diretamente os melanócitos, influenciando a expressão da TYR, levando a uma produção anormal de melanina. Logo, a pele apresenta muitas manifestações clínicas, como sardas, manchas escuras e irregularidades na pigmentação. A pele danificada pela exposição solar apresenta alterações na estrutura do colágeno e da elastina, tornando-os

menos completos, mais porosos e fragmentados. Isso ocorre principalmente devido à ação de MMPs liberadas por queratinócitos epidérmicos e fibroblastos dérmicos (YAO *et al.*, 2022).

2.3.3 Metaloproteínas de matriz relacionadas com o fotoenvelhecimento

As MMPs são uma família de endopeptidases dependentes de zinco e cálcio que realizam a degradação de componentes da MEC. Todas as MMPs possuem íons zinco no sítio ativo e requerem a presença de íons cálcio para sua estabilidade e atividade. São descritas 26 diferentes MMPs categorizadas em diferentes subgrupos com base em sua estrutura e especificidade de substrato, incluindo colagenases, matrissinas, estromelinas, gelatinases, e MMPs do tipo membrana. Sobre condições normais, a atividade das MMPs é regulada por inibidores específicos conhecidos como inibidores teciduais das metaloproteínas (TIMPs), que atuam inibindo diretamente as enzimas. A família de TIMPs é composta por quatro proteínas inibitórias encontradas nos espaços intra e extracelulares (TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 e TIMP-4). Quando ocorre um desequilíbrio entre as MMPs e os TIMPs, pode resultar em uma atividade enzimática excessiva, levando à degradação anormal da MEC. A radiação UV tem o efeito de aumentar a expressão de várias MMPs como a MMP-1 (colagenase intersticial), MMP-3 (estromelina-1), MMP-9 (gelatinase B) e MMP-12 (metaloelastase de macrófagos). Isso contribui para a degradação do colágeno e da elastina na pele fotoenvelhecida, resultando em mudanças estruturais significativas (MEDEIROS *et al.*, 2019; SILVA, R. R., 2023; YAO *et al.*, 2022).

Um estudo realizado por FISHER *et al.*, 1996 evidenciou pela primeira vez que mesmo uma baixa exposição à radiação UVB poderia induzir, depois de minutos, a expressão e atividade das MMPs *in vivo*. Isso ocorre devido à regulação positiva dos fatores de transcrição da proteína ativadora 1 (AP-1) e do fator nuclear kappa B (NF-κB) em queratinócitos e fibroblastos. No estudo, os níveis de MMPs atingiram seu pico máximo após 24 horas de exposição e desapareceram entre 48 e 72 horas. A dose mínima de UVB capaz de induzir as MMPs é baixa, equivalente a 2-3 minutos de exposição solar sem causar eritema. Além disso foi visto que pacientes com fototipo alto tiveram menor indução de MMPs, mesmo com alta exposição da radiação UVB. As MMPs ativadas incluem MMP-1, MMP-3 e MMP-9, que degradam componentes da matriz extracelular, levando à desintegração estrutural da pele. A exposição intensa à radiação UV, causa eritema, e assim aumenta as células inflamatórias na derme, levando a maior expressão de MMPs. Esse processo envolve células como neutrófilos,

mastócitos, monócitos, linfócitos e células de langerhans. Isso contribui para o fotoenvelhecimento (WANICK, 2016).

A MMP-1 realiza um papel significativo na quebra do colágeno fibrilar. Em condições normais do corpo, os níveis de MMP-1 são muito baixos, porém, eles são regulados em situações inflamatórias, como o caso do fotoenvelhecimento (CUI; HU; KHALIL, 2017; PITTAYAPRUEK *et al.*, 2016).

A MMP-1 em específico é a única enzima ativa capaz de começar a clivagem da tripla hélice dos colágenos tipo I e III. Enquanto que a MMP-3 e a MMP-9 só clivam as fibrilas de colágeno dos tipos I, III na derme, depois do processo de clivagem ter sido iniciado pela ação da MMP-1. O aumento de colágeno quebrado em grandes fragmentos, provocado pela ação da MMP-1, tem um efeito negativo na síntese de procolágeno tipo I. A MMP-9, por sua vez, degrada o colágeno já clivado pela MMP-1 em pequenos peptídeos. Estes pequenos fragmentos não inibem a produção do procolágeno, como ocorre com os grandes fragmentos. Com isso, as MMPs ativadas pela radiação UV prejudicam a derme de duas maneiras: por meio da degradação do colágeno, e ao inibir a síntese de colágeno devido à existência de fragmentos de proteínas iniciados pela ação da MMP-1. Na pele exposta à radiação UV, encontra-se a presença elevada de MMP-1, contudo apenas uma pequena parte dessa enzima se torna ativa. Como resultado, as MMPs ativas causam uma degradação parcial das fibras de colágeno, resultando em fragmentos insolúveis que se tornam suscetíveis à clivagem proteolítica por outras proteases. Sem uma reparação, os danos ao colágeno se acumulam com a exposição crônica aos raios UV. O mesmo processo afeta as fibras elásticas, onde a elastina pode ser degradada pela MMP-3, MMP-9 e MMP-12 (WANICK, 2016).

A MMP-12 é a enzima mais ativa na degradação da elastina e é secretada por várias células, incluindo células inflamatórias, queratinócitos e fibroblastos (WEIHERMANN *et al.*, 2017). Ela está envolvida no fotoenvelhecimento acarretado por radiação UVA e participa na degradação do colágeno do tipo I (VEERAMANI *et al.*, 2020). A elastose solar induzida pela radiação UV, resulta de um processo em que as fibras elásticas se degradam, em seguida, essas estruturas são reorganizadas de maneira diferente da sua forma original, onde a derme saudável é substituída por aglomerados de fibras elásticas distribuídas aleatoriamente. A pele que não se expõe a radiação UV é composta por fibras elásticas que contém elastina e fibras oxitalânicas. Enquanto que na pele danificada pelo sol as fibras oxitalânicas são degradadas e até ausentes. Relata-se que no fotoenvelhecimento as fibras elásticas se encontram degradadas e a rede de fibras elásticas desorganizadas (BAUMANN *et al.*, 2021; WEIHERMANN *et al.*, 2017). Um

estudo feito por CHEN *et al.*, (2005) mostra uma associação direta entre o desenvolvimento de elastose solar e a indução do gene de MMP12 e da expressão proteica ocasionada pela radiação UV na pele humana *in vivo*. Além de que, estudos relataram uma redução na produção de elastina com o envelhecimento e como resultado da exposição solar. No entanto, a elastose solar implica um aumento de material elástico na pele envelhecida, apesar de ser não funcional. Isso sugere que o envelhecimento da pele pode ser caracterizado por uma diminuição na produção de fibras elásticas funcionais e um aumento na produção de fibras disfuncionais (WEIHERMANN *et al.*, 2017).

A irradiação UV gera EROs e ativa receptores de superfície celular que positivamente regulam cascatas de proteínas quinase ativadas por mitógeno (MAPKs) e expressão de citocinas pró-inflamatórias e fatores de crescimento, como interleucina-1 beta (IL-1 β), interleucina-6 (IL-6) e interleucina-8 (IL-8) fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e fator de crescimento epidérmico (EGF). Isso, por sua vez, desencadeia a expressão das proteínas nuclear c-Fos e c-Jun, formando um complexo de fator de transcrição AP-1, juntamente com o NF- κ B. Esses fatores estimulam a expressão e secreção de enzimas de degradação de matriz, como as MMP-1, MMP-3, MMP-9 e MMP-12 na pele. O aumento na produção de MMPs acelera a degradação do colágeno e elastina e a inibição de procolágeno tipo I. A redução na síntese de colágeno afeta a renovação da MEC de colágeno e compromete sua integridade estrutural. Sendo assim, as enzimas MMP-1 e MMP-12, tem uma importância significativa no desenvolvimento do fotoenvelhecimento por estarem envolvidas na degradação de colágeno, elastina e redução da síntese de colágeno, podendo serem alvos nos estudos de compostos para o fotoenvelhecimento induzido por UV (POON; KANG; CHIEN, 2015; WONGRATTANAKAMON *et al.*, 2019; YAO *et al.*, 2022).

A literatura relata que a inibição de MMP-1, MMP-3, MMP-9 e MMP-12 é uma das estratégias em frente ao fotoenvelhecimento induzido por UV. (WONGRATTANAKAMON *et al.*, 2019; YAO *et al.*, 2022). Dessa forma, há um grande interesse em desenvolver inibidores das MMPs seguros e eficientes que possam ser usados no combate ao fotoenvelhecimento (MEDEIROS *et al.*, 2019).

2.3.4 Abordagens para combater o fotoenvelhecimento

Existem três intervenções diferentes para combater o envelhecimento extrínseco ocasionado pelo sol. A primeira é a prevenção, que envolve o uso de protetor solares. A

segunda estratégia busca retardar ou reduzir os sinais de envelhecimento com o uso de substâncias ativas. A terceira abordagem é necessária quando o envelhecimento já se encontra mais avançado, necessitando de procedimentos como peelings, o uso de lasers, preenchimento com ácido hialurônico e a utilização de toxina botulínica para amenizar os danos ocasionados na pele (CARVALHO, 2014).

Os protetores solares de uso tópico são compostos por filtros ultravioleta, que são substâncias capazes de absorver, dispersar ou refletir a energia vinda da radiação solar. O Fator de Proteção Solar (FPS) indica o quanto um filtro solar protege contra a radiação UVB, oferecendo defesa contra queimaduras solares e danos à pele causados por UVB. Protetores solares de alto FPS são ideais para uso diário, reduzindo a necessidade de fazer a reaplicação na pele, em comparação com os de baixo FPS. Além disso, para a proteção da pele contra a radiação UVA, o valor de Escurecimento Persistente do Pigmento (PPD) é um indicador crucial do grau de proteção contra a radiação UVA de um protetor solar e deve ser mostrado no rótulo do produto. O PPD é calculado como um terço do valor do FPS. Para um protetor solar com FPS 15, o PPD mínimo deve ser 5. A escolha do FPS adequado depende do fototipo de pele e do tempo que a pele pode ficar exposta ao sol sem queimaduras, variando de 5 a 30 minutos de exposição solar, dependendo do caso (FRANCINE *et al.*, 2021).

A quantidade recomendada de protetor solar é de 2 mg/cm², o que resultaria em uma camada de 1 milímetro de espessura sobre a pele. Para um adulto médio (70 quilos e 170 centímetros), seria necessário aplicar entre 35 a 40 gramas para cobrir todo o corpo. Na literatura, sugere-se seguir a orientação da "regra da colher de chá": 1 colher para o rosto, pescoço e cabeça; 2 colheres para o tronco; 1 colher para cada braço; e 2 colheres para cada perna. Além disso, é aconselhável aplicar o protetor solar 15 minutos antes da exposição solar, de maneira uniforme, e ainda reforçar a aplicação da mesma forma a cada 2 horas. Embora seja aconselhável, a população geralmente não aplica a quantidade de 2 mg/cm² quando estão expostos ao sol (SCHALKA; DOS REIS, 2011; SOUZA, M.; BRANDÃO, 2019).

A Organização Mundial da Saúde e a Academia Americana de Dermatologia recomendam que as pessoas adotem medidas de proteção, além do uso do protetor solar com um FPS de pelo menos 30 de forma em geral, vestir roupas adequadas, usar óculos de sol e usar chapéus. Porém, o uso excessivo de protetor solar pode levar a níveis insuficientes de vitamina D no organismo, trazendo consequências negativas na saúde (BRAGA, 2014).

A fotoproteção oral, embora não substitua os filtros solares tópicos, é uma estratégia complementar no cuidado da pele. Ela envolve o uso de substâncias ingeridas que fornecem

uma proteção contra os danos causados pela radiação UV (TAYLOR; ROSEN, 2020). O picnogenol e o extrato de *Polypodium leucotomos* atuam como antioxidantes e possuem propriedades anti-inflamatórias. Esses antioxidantes demonstram diminuir a reação a queimaduras solares. (COSTA, M. M.; FARIAS; OLIVEIRA, 2021; SANTOS, L. G. Dos; ROCHA, 2016). Estudos experimentais apontam o potencial do beta-caroteno na proteção contra danos na pele causados pelo sol, mas evidências clínicas consistentes são escassas. Além disso, pesquisas em células da pele em cultura mostraram que o beta-caroteno não atua apenas como antioxidante, mas também pode ter efeitos pró-oxidantes. Isso justifica a necessidade de estudos adicionais sobre as propriedades pró-oxidantes do beta-caroteno *in vivo* e seu efeito na saúde humana. Além disso, a suplementação isolada de vitamina E ou vitamina C não oferece proteção significativa contra a radiação UV, destacando a importância da combinação de antioxidantes para resultados sinérgicos (PANDEL *et al.*, 2013).

O ácido retinóico (tretinoína), um derivado de vitamina A, aplicado topicamente é o tratamento mais utilizado para o fotoenvelhecimento devido à sua eficácia comprovada. Os retinóides afetam diretamente a síntese de colágeno, estimulando a sua produção. No entanto, seu uso pode resultar em efeitos colaterais indesejados na pele, como descamações e vermelhidão (CARVALHO, 2014).

Em uma revisão sistemática feita por ÁVILA e PRIMO (2021) envolvendo os principais antioxidantes orais para o fotoenvelhecimento, foram analisados estudos pré-clínicos *in vitro* e *in vivo*, e estudos clínicos em humanos. Eles verificaram que muitos estudos encontraram correlações positivas entre o uso dessas substâncias e os efeitos antienvhecimento e anticarcinogênico, no entanto, nenhum deles conseguiu demonstrar a capacidade real de reduzir esses danos. Logo, é fundamental o desenvolvimento de novos trabalhos com diferentes abordagens contra o fotoenvelhecimento.

Diversas pesquisas têm testado produtos naturais contra os alvos do fotoenvelhecimento. No estudo de LIM e KIM (2007) flavonóides como a quercetina e o kaempferol inibiram *in vitro* a expressão de MMP-1, impedindo a degradação anormal das moléculas de colágeno, podendo levar a redução da resposta inflamatória e possivelmente à prevenção do aparecimento de rugas na pele. Outro estudo realizado por DEMEULE *et al.* (2000) demonstrou que catequinas como epigallocatequina-galato e epicatequina galato inibiram *in vitro* a atividade de MMP-9 e MMP-12. Dessa forma essas moléculas podem ser benéficas na proteção da pele contra o fotoenvelhecimento. Assim a abordagem de inibir os alvos do fotoenvelhecimento pode ser eficaz como forma de tratamento.

Portanto, a pesquisa contínua e o desenvolvimento de novas estratégias são essenciais para prevenir os efeitos indesejáveis causados pela exposição solar crônica (NORONHA, 2014). Os métodos *in silico* têm sido utilizados por pesquisadores na seleção de inibidores com potencial contra os diferentes alvos do processo de fotoenvelhecimento (WONGRATTANAKAMON *et al.*, 2019).

2.4 Planejamento de fármacos auxiliado por computador

O Planejamento de Fármacos Auxiliado por Computador (CADD, Computer-Aided Drug Design) utiliza técnicas computacionais em todas as etapas do planejamento e análise de moléculas. Esta abordagem facilita o processo de descoberta de novos fármacos. O CADD tem sido bastante utilizada por cientistas, com isso, resulta na redução da quantidade de compostos que precisam ser sintetizados e testados, trazendo uma economia de tempo e custos no processo de desenvolvimento de novos candidatos a drogas (MAIA, E. H. B. *et al.*, 2020; RIBEIRO, 2018). O CADD permite analisar estruturas químicas, prever as atividades biológicas de compostos e propriedades físico-químicas, otimizar o perfil farmacocinético ou farmacodinâmico de compostos promissores, prever a absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade, bem como verificar a afinidade de ligação de uma molécula no sítio ativo de um alvo (DAR *et al.*, 2019; QARAGHULI; KUBIAK-OSSOWSKA; MULHERAN, 2018).

A técnica de triagem virtual (VS) tem se destacado como uma ferramenta poderosa na triagem de compostos de bibliotecas virtuais, para encontrar compostos promissores (NEVES *et al.*, 2018). A VS pode ser dividida em dois tipos: triagem virtual baseada em ligantes (LBVS) e a triagem virtual baseada em estrutura (SBVS). A LBVS utiliza informações estruturais e propriedades físico-químicas de moléculas com atividade já existente, se baseando no princípio de similaridade (VÁZQUEZ *et al.*, 2020). Onde moléculas que possuem estrutura química parecidas possuem atividades biológicas semelhantes, com isso pode-se prever a atividade de novas moléculas que não possuem a atividade conhecida (DAINA; ZOETE, 2019). Enquanto os métodos da SBVS incluem o mapeamento farmacofórico e modelos de relação quantitativa entre a estrutura e a atividade (QSAR - Quantitative Structure-Activity Relationship). Na elaboração de um modelo de QSAR, a coleta e o tratamento dos dados são a primeira etapa, e logo após, os cálculos de descritores moleculares. Posteriormente, empregam-se algoritmos de aprendizado de máquina para estabelecer a correlação entre os descritores moleculares e a atividade biológica. A análise de QSAR demonstra uma relação matemática entre as

características físico-químicas calculadas e a atividade biológica (NEVES *et al.*, 2018; PANTALEAO *et al.*, 2017).

A SBVS faz uso da estrutura tridimensionais (3D) do alvo para fazer a ancoragem de moléculas no sítio ativo de ligação do alvo e avaliar a possibilidade de sua ligação (GARCIA-HERNANDEZ; FERNÁNDEZ; SERRATOSA, 2020) O *docking* molecular é um dos métodos mais frequentemente da SBVS. Ele é capaz de analisar com precisão a maneira como uma molécula se liga ao sítio ativo de um alvo e prever a afinidade de ligação do complexo que se formou (WANG, Z. *et al.*, 2020). O *docking* molecular possibilita o rastreamento de bibliotecas de compostos em pouco período de tempo, sendo assim, é um método ágil e bastante utilizado na comunidade científica (VARELA-RIAL; MAJEWSKI; FABRITIIS, 2022).

Existem três abordagens distintas para o processo de ancoragem das moléculas: *docking* rígido, onde tanto o ligante quanto o alvo são estruturas rígidas, sem flexibilidade para uma mudança conformacional durante o processo de ligação; *docking* semi-rígido, no qual o ligante é flexível, permitindo ajustes em sua conformação, enquanto o alvo é mantido rígido; *docking* flexível, neste caso, tanto o alvo quanto o ligante são estruturas flexíveis, oferecendo resultados mais precisos, refletindo melhor as condições do mundo real, no entanto, requer um alto custo computacional e o tempo necessário para calcular uma única interação pode se tornar inviável. O *docking* rígido é a abordagem mais rápida, contudo os seus resultados são somente aproximados, uma vez que na realidade tanto o alvo quanto o ligante têm alguma flexibilidade e ajustam-se mutuamente durante a interação. O *docking* semi-rígido busca um equilíbrio entre a qualidade dos resultados e o tempo de execução, sendo, portanto, a mais comumente empregada em pesquisas (ALTÊ, 2022; ELIAS, 2014).

Os produtos naturais estão ganhando destaque nas pesquisas científicas como potenciais fontes de novos medicamentos. Nesse sentido, métodos *in silico* estão sendo cada vez mais utilizados na fase inicial de pesquisa de produtos naturais, simplificando a análise das propriedades farmacológicas dessas substâncias (ARAÚJO *et al.*, 2022).

2.5 Estrutura química e potencial terapêutico de diterpeno abietanos

As plantas produzem diversos compostos químicos que podem ser categorizados como metabólitos primários e metabólitos secundários. Os metabólitos primários são essenciais para as funções básicas e o crescimento da planta. Eles incluem compostos como carboidratos, proteínas, aminoácido, ácidos nucleicos e lipídeos (BORGES; AMORIM, 2020). Enquanto os metabólitos secundários são encontrados em espécies ou gêneros específicos e realiza um papel

essencial na interação das plantas com os diferentes ecossistemas, atuando na defesa da planta contra ataques de patógenos (MENEZES, 2020).

Os produtos naturais (PNs) são substâncias produzidas no decorrer do metabolismo secundário de organismos vivos, e oferecem um grande potencial para o desenvolvimento de novos fármacos. Plantas, bactérias, organismos marinhos e fungos são as principais fontes de PNs (ESTEVEZ, A. C., 2021). Muitos medicamentos disponíveis para tratar doenças são PNs ou derivados de PNs, incluindo agentes antibacterianos como a tetraciclina (de espécies dos *Actinomycetales*) e penicilinas (de espécies de *Penicillium*), baseados em PNs derivados de microrganismos (RODRIGUES; LOPES, 2018).

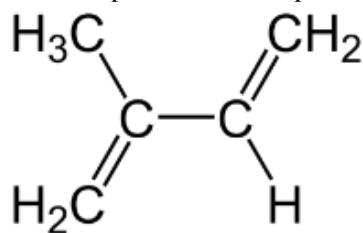
Os terpenos compreendem uma vasta classe de mais de 55.000 moléculas, tornando-se a classe mais extensa de PNs. Eles são categorizados com base no número de unidades de isopreno (C_5H_8) em sua estrutura (Figura 5). As diversas categorias de terpenos englobam hemiterpenos (C5), monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), diterpenos (C20), sesterpenos (C25), triterpenos (C30), tetraterpenos (C40) e politerpenos (com mais de C40 átomos de carbono) (BORGES; AMORIM, 2020).

Esses metabólitos secundários são frequentemente referidos como alcenos naturais devido à presença de uma ligação dupla entre átomos de carbono, o que os classifica como hidrocarbonetos insaturados. Quando um terpeno contém átomos de oxigênio em sua estrutura, ele é denominado terpenoide. Os terpenoides apresentam funções químicas como: aldeídos, álcoois, cetonas, éteres, ácidos, fenóis ou epóxidos terpênicos (FELIPE; BICAS, 2017).

Os terpenos são componentes voláteis que contribuem para o aroma de flores e óleos essenciais de plantas. Devido às suas características, eles desempenham um papel importante como agentes aromatizantes em alimentos, bebidas, perfumes, produtos de cuidados pessoais (NASCIMENTO, 2016). Na indústria farmacêutica, esses compostos desempenham um papel não apenas como excipientes que melhoram a absorção cutânea, mas também são reconhecidos como princípios ativos em medicamentos (OLIVEIRA *et al.*, 2015).

Os terpenos exibem diversas propriedades biológicas, incluindo atividades anticâncer, antibacterianas, antivirais, antiparasitárias, antifúngicas, antihiperglicêmicas, antialérgicas, antiplasmódicas, imunomoduladoras e antiinflamatórias. Dessa forma, acredita-se que os terpenos apresentam efeitos benéficos na prevenção de diversas doenças (SILVA, P. D., 2012).

Figura 5. Estrutura básica do terpeno constituído por uma unidade de isopreno.



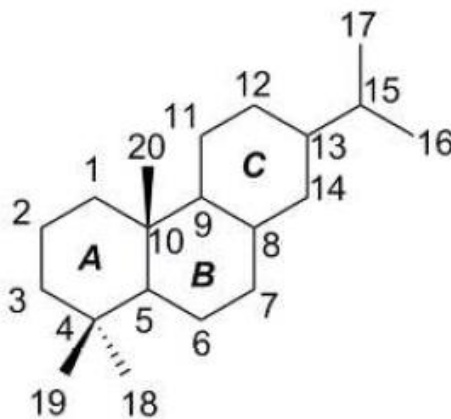
Fonte: Adaptada de SOUSA, J. C. A., 2019

Entre os grupos de terpenos que apresentam potencial biológico, existem os diterpenos abietanos, uma família de compostos encontrados em várias espécies de plantas. Relata-se que eles possuem diversas atividades biológicas, incluindo atividade antimicrobiana, antioxidante, antiprotozoária, gastroprotetora, entre outras, sendo considerados promissores na pesquisa de drogas (GÁBOROVÁ; ŠMEJKAL; KUBÍNOVÁ, 2022; GONZÁLEZ, 2015).

A estrutura dos diterpenos abietano é composta de um esqueleto tricíclico, com três anéis identificados como anel A (carbonos 1–5 e 10), anel B (carbonos 5–10) e anel C (carbonos 8, 9, 11–14) (Figura 6). Ele possui um anel ou radical de três carbonos (15-17) ligado ao carbono 13. Também apresenta dois radicais metila (carbonos 18 e 19) ligados ao carbono 4, e pode possuir um radical metila (carbono 20) ligado ao carbono 10 (GRAYNER *et al.*, 2021).

Abietanos que possuem duplas ligações alternadas no anel C são denominados de abietanos aromáticos e são os tipos de abietanos mais encontrados na natureza (GONZÁLEZ, 2015). O ácido carnósico, um abietano aromático, foi indicado como o principal metabólito do extrato aquoso de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) que apresentou atividade anticolagenase e antielastase *in vitro*, mostrando que esse composto tem correlação positiva com a atividade antienvhecimento (SALEM *et al.*, 2020).

Figura 6. Esqueleto de diterpenos abietanos.



Fonte: Adaptada de GONZÁLEZ, 2015

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Realizar análises *in silico* e desenvolver uma triagem virtual de produtos naturais contra alvos do fotoenvelhecimento.

3.2 Objetivos específicos

- Conseguir os produtos naturais através do banco de dados Sistemax;
- Criar modelos de QSAR utilizando o programa estatístico KNIME;
- Verificar os potenciais riscos de citotoxicidade da série em estudo e de seus possíveis metabólitos por meio do programa OSIRIS DataWarrior;
- Analisar as propriedades das moléculas estudadas no OSIRIS DataWarrior para verificar as violações à regra dos cinco de Lipinski;
- Desenvolver modelos de Análise de Componente Principal por Consenso (CPCA) e de Análise de Componente Principal (PCA), como também analisar os campos de interação molecular usando o programa Volsurf+;
- Fazer a ancoragem molecular dos diterpenos abietanos promissores em alvos relacionados ao fotoenvelhecimento através do programa Molegro Virtual Docker.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Coleta de dados

Nesta pesquisa foram selecionados 1630 PNs do Sistemax (<http://sistemax.ufpb.br>), um *site* que foi desenvolvido na Universidade Federal da Paraíba e possui um banco de dados de metabólitos secundários, disponível para utilização por grupos de pesquisa. Ele apresenta diversas informações valiosas sobre metabólitos secundários, incluindo as espécies exatas e os locais de isolamento dos compostos (ACEVEDO *et al.*, 2021). A pesquisa de metabólitos secundários é feita através de código simplificado do sistema de entrada de linha molecular (SMILES, *Simplified Molecular-Input Line-Entry System*), estruturas químicas, nome dos compostos ou espécies de plantas (COSTA, R. P. O. *et al.*, 2021). Com isso, foi feita uma planilha contendo os SMILES dos PNs.

As moléculas com atividade conhecida contra alvos do fotoenvelhecimento foram pesquisadas no ChEMBL (<https://www.ebi.ac.uk/chembl>), um banco de dados de bioatividade em moléculas semelhantes a drogas (NOWOTKA *et al.*, 2017). Assim, foi possível obter quatro planilhas com informações de atividade para MMP-1, MMP-3, MMP-9 e MMP-12 provenientes do organismo humano (Quadro 3).

Quadro 3. Dados de alvos do fotoenvelhecimento encontrados no ChEMBL.

Nome	ChEMBL ID	Tipo	Organismo
MMP-1	ChEMBL332	<i>Single protein</i>	<i>Homo sapiens</i>
MMP-3	CHEMBL283	<i>Single protein</i>	<i>Homo sapiens</i>
MMP-9	CHEMBL321	<i>Single protein</i>	<i>Homo sapiens</i>
MMP-12	CHEMBL4393	<i>Single protein</i>	<i>Homo sapiens</i>

Fonte: Elaborada pela autora.

Nas planilhas que continham as moléculas bioativas, foram incluídas aquelas com informações de atividade referentes à concentração inibitória média (CI₅₀) (FRANCO *et al.*, 2021). Com isso, foi obtido as planilhas com os PNs e as dos bioativos para iniciar as análises *in silico*. Posteriormente foi feito os tratamentos dos dados.

4.2 Obtenção das estruturas em 3D e tratamento dos conjuntos de dados

A padronização das estruturas químicas é recomendada na quimioinformática, por evitar representações diferentes do mesmo grupo funcional nas moléculas (AHER; KHAN; ROY, 2020). Nesta etapa, hidrogênios que faltam na estrutura química são adicionados, misturas ou sais são removidos, além de que, ocorre a conversão para estrutura 3D e anéis aromáticos. Todas as estruturas químicas foram padronizadas e agrupadas em um único arquivo do tipo SDF usando o programa Standardizer 20.19.0 da ChemAxon (COSTA, W. S., 2021).

Os tratamentos dos conjuntos de dados das planilhas obtidas foram realizadas com o programa *Microsoft Office Excel* (VILLA REAL *et al.*, 2015). De início foram removidas as moléculas que estavam duplicatas e que não estavam com valores de atividades, sendo assim os compostos que ficaram na planilha foram diferentes uns dos outros estruturalmente, além de que só ficaram os compostos importantes para posterior análise. Logo depois foram convertidos os valores de CI_{50} das moléculas de nanomolar (nM) para molar (M), e então, estes valores foram transformados em pCI_{50} ($-\log(CI_{50})$). Posteriormente, foi construído e visualizado um gráfico de dispersão indicando *outliers* (pontos de dados que se desviam significativamente dos valores típicos em um conjunto de dados.) A presença de valores diferentes pode afetar a análise de dados negativamente e a precisão de modelos de QSAR (TA *et al.*, 2021; VENTURA, 2015). Sendo assim, os *outliers* foram excluídos das planilhas. Em seguida, cada planilha contendo as moléculas bioativas foi dividida na metade, na qual as moléculas com os valores maiores de pCI_{50} foram classificadas como ativas, e aquelas que obtiveram valores menores de pCI_{50} foram classificadas como inativas. Além disso, foi feita uma borda, no qual algumas moléculas foram excluídas para que houvesse uma diferença de pCI_{50} de 0,03 entre as moléculas ativas e inativas (MOURA, 2021).

4.3 Cálculos dos descritores moleculares

Para que um computador processe e compreenda uma estrutura química, é necessário representá-la numericamente. Os descritores moleculares desempenham esse papel, fornecendo informações detalhadas sobre a estrutura de uma molécula por meio de cálculos matemáticos. Eles podem ser classificados da seguinte maneira: em unidimensionais (representa informações calculadas a partir da fórmula molecular da molécula), bidimensionais (corresponde à informação molecular com relação ao tamanho e distribuição eletrônica do composto) e tridimensionais (descrevem propriedades relacionadas a conformação 3D das

moléculas). Esses descritores desempenham um papel fundamental na representação das estruturas químicas, tornando-as acessíveis para análises e processamentos computacionais (ALVES *et al.*, 2018; CHANDRASEKARAN *et al.*, 2018). Vários programas realizam cálculos dos descritores moleculares, neste trabalho, os programas utilizados foram Dragon e VolSurf+(CAVALCANTI, 2018).

Depois da padronização das moléculas bioativas e dos PNs, foram importados os arquivos SDF no programa Dragon 5.4 e no programa VolSurf+, onde foram realizados os cálculos dos descritores moleculares. Como foi utilizado dois programas diferentes para gerar os descritores moleculares, foi possível realizar posteriormente o consenso dos modelos de QSAR, tendo o objetivo de melhorar a confiabilidade dos modelos de predição. O modelo de consenso é obtido ao calcular a média das predições dos modelos (ALVES *et al.*, 2018). Através dos dados obtidos do Dragon 5.4 e do VolSurf+ foi realizado os modelos de QSAR.

4.4 Construção de modelos de relação quantitativa entre a estrutura e a atividade

Um modelo de QSAR é uma equação matemática que vincula a estrutura química a propriedades biológicas. A metodologia de QSAR envolve a aplicação de métodos estatísticos para criar modelos capazes de prever com precisão propriedades biológicas de compostos com base em sua estrutura química (ALVES *et al.*, 2018). Com intuito de predizer a atividade biológica dos PNs, desenvolveu-se modelos de QSAR no programa KNIME.

O KNIME é uma plataforma amplamente empregada para processamento e análise de dados. Com o KNIME, os usuários têm a capacidade de criar fluxos de trabalho de dados, executar etapas de análise específicas e examinar resultados finais, incluindo modelos por meio de uma interface gráfica. A criação de fluxos de trabalho é permitida no KNIME, no qual possui códigos (nós) que apresentam funções predefinidas, padronizadas, testadas e com opção de poderem ser configuradas (SYDOW *et al.*, 2019). Nesta pesquisa, o fluxo de trabalho utilizado com todos os nós fundamentais para o desenvolvimento das predições foi fornecido por MONTEIRO, Alex France Messias; SCOTTI; SCOTTI (2020).

Modelos de aprendizado de máquina utilizam algoritmos para criar equações matemáticas que analisam dados e fazem previsões com base nessa análise (ABUALKIBASH, 2019). O KNIME oferece uma variedade de algoritmos de aprendizado de máquina, como Floresta Aleatória (FA - *Random Forest*), WEKA, *Support Vector Machine*, entre outros. Neste estudo, foi escolhido o algoritmo FA para os compostos serem classificados. O número de árvores no FA pode ser ajustado para melhorar o desempenho do modelo (NEVES *et al.*, 2021).

Inicialmente, foram importadas no programa KNIME as planilhas das moléculas bioativas e a dos PNs. Foi realizado a classificação das moléculas por meio do algoritmo FA. Posteriormente foram particionadas as moléculas bioativas, onde 80% delas foram para um conjunto de treino, e 20% delas foram para um conjunto de teste. Logo, os compostos que apresentam atividades desconhecidas foram classificados pelo algoritmo do modelo, se baseando na similaridade com as moléculas bioativas, por meio dos descritores moleculares. Com isso, acredita-se que os compostos com os valores de descritores moleculares parecidos com os valores das moléculas bioativas possivelmente apresentam atividade similar (GRISONI; CONSONNI; TODESCHINI, 2018).

Cada modelo desenvolvido nesse trabalho gerou parâmetros estatísticos que determinaram a confiabilidade do modelo. Nos quais foram: a sensibilidade (SE), que mede a capacidade de um modelo em identificar corretamente os verdadeiros positivos; a especificidade (SP), que avalia a proporção do modelo em identificar corretamente verdadeiros negativos; a precisão (PR), capacidade do modelo de classificar corretamente as moléculas preditas como ativa; e acurácia (AC), que representa a proximidade da medição com a verdade. O modelo calculou esses parâmetros por meio de expressões matemáticas, onde VP indica verdadeiro positivo, FN indica falso negativo, VN indica verdadeiro negativo e FP indica falso positivo (CAVALCANTI, 2018; WANG, S. *et al.*, 2020). Através dos resultados dos parâmetros de SE da equação 1, SP da equação 2, AC da equação 3 e PR da equação 4 para cada modelo, considerou-se valores $\geq 0,7$ para uma confiabilidade da predição. Outro parâmetro utilizado foi coeficiente de correlação de Matthews (MCC - *Matthews Correlation Coefficient*) da equação 5, este faz uma avaliação geral da matriz de confusão. O MCC é uma medida estatística de confiabilidade que demonstra um valor alto somente se a predição obtiver ótimos resultados em todas as categorias da matriz de confusão (VP, FN, VN e FP)(CHICCO; JURMAN, 2020). Nesta pesquisa, o modelo foi considerado adequado quando o MCC exibiu um valor $\geq 0,5$.

Equação 1- SE, Equação 2- SP, Equação 3- AC, Equação 4- PR, Equação 5- MCC

$$(1) SE = \frac{VP}{(VP + FN)}$$

$$(2) SP = \frac{VN}{(VN + FP)}$$

$$(3) AC = \frac{(VP + VN)}{(VP + VN + FP + FN)}$$

$$(4) PR = \frac{VP}{(VP + FP)}$$

$$(5) MCC = \frac{(VP \times VN) - (FP \times FN)}{\sqrt{(VP + FP) \times (VP + FN) \times (VN + FP) \times (VN + FN)}}$$

Também foi observado a curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*), utilizada para avaliar o desempenho do modelo e identificar o equilíbrio entre as taxas de acerto e as taxas de erro dos classificadores, representando a taxa de verdadeiros positivos e a taxa de falsos positivos. Modelos próximos ao eixo Y são considerados conservadores, indicando poucos erros de falsos positivos (FÉLIX, 2020). Neste estudo, o modelo foi considerado adequado quando os valores da curva ROC do conjunto de dados teste e da validação cruzada indicaram valores entre 0,7 e 1. Após identificação dos compostos com resultados satisfatórios nos modelos, foi verificado os seus riscos de citotoxicidade.

4.5 Verificação dos riscos de citotoxicidade e das violações à regra dos cinco de Lipinski

Durante o aprimoramento de drogas por meio de modificações químicas, as propriedades físico-químicas podem sofrer alterações significativas, resultando em um perfil farmacocinético indesejado e incompatibilidade com a administração oral. Lipinski e sua equipe conduziram um estudo abrangente com mais de 2000 fármacos, identificando propriedades físicas químicas importantes para a solubilidade em água e permeabilidade intestinal, fundamentais para a eficácia oral. Os resultados desse estudo levaram à criação da "regra dos cinco de Lipinski" (SANTOS, V. L. D. A.; GONSALVES; ARAÚJO, 2018). A regra dos cinco de Lipinski cumpre quatro requisitos: coeficiente de partição octanol/água calculado ($\log P$) ≤ 5 , peso molecular ≤ 500 daltons, número de aceptores de ligação de hidrogênio (soma de átomos de O e N) ≤ 10 e número de doadores de ligação de hidrogênio (soma de grupos OH e NH) ≤ 5 (BRITO, 2011; WALTERS, 2012). Neste estudo, foi utilizado o programa OSIRIS DataWarrior 5.2.1 para calcular esses parâmetros e analisar se os compostos possuem um perfil adequado para absorção oral. Depois de verificar as violações à regra dos cinco de Lipinski, a análise dos riscos de citotoxicidade dos PNs foi realizada.

A avaliação do risco de citotoxicidade é crucial para prever os possíveis efeitos colaterais de compostos que possuem um potencial para o desenvolvimento de fármacos. Isso auxilia na tomada de decisões durante o processo de descoberta de drogas. No estudo, foram utilizados

parâmetros de risco de toxicidade, como mutagenicidade, carcinogenicidade, efeitos irritantes na pele e efeito tóxico no sistema reprodutor para analisar os riscos de citotoxicidade dos PNs. Essas propriedades foram analisadas pelo programa gratuito OSIRIS DataWarrior 5.2.1 (<http://www.openmolecules.org/datawarrior>) (SIDDIQUI *et al.*, 2022).

Foi utilizado o programa MetaSite 6.0.1 para prever os metabólitos dos diterpenos abietanos e dos controles do fotoenvelhecimento através da interação com uma enzima do citocromo P450 que está envolvida no metabolismo de fase 1 (T'JOLLYN *et al.*, 2011). A superfamília das enzimas citocromo P450 é crucial na transformação de substâncias lipofílicas em compostos mais polares, facilitando a excreção renal e afetando o perfil farmacocinético de medicamentos. Além disso, as enzimas citocromo P450 desempenham um papel significativo em interações medicamentosas e questões de toxicidade relacionadas ao metabolismo. Entre as enzimas citocromo P450, a CYP2D6 é fundamental no metabolismo hepático de drogas. O Metasite 6.0.1 tem a capacidade de prever os sítios específicos da estrutura molecular mais provável de acontecer o metabolismo do citocromo P450, fator essencial no desenvolvimento de medicamentos para otimizar a eficácia e minimizar problemas de toxicidade. Neste estudo a enzima do fígado selecionada no programa para estimar os metabólitos foi a CYP2D6 (LIU, R. *et al.*, 2012). Os metabólitos dos diterpenos abietanos e dos controles com probabilidades > 50% e massa molecular > 100 g/mol foram selecionados para análise de citotoxicidade no OSIRIS DataWarrior 5.2.1.

4.7 Análise dos Componentes Principais por Consenso e Análise dos Componentes Principais

O programa Volsurf+ foi utilizado para realizar a Análise dos Componentes Principais por Consenso (CPCA, *Consensus Principal Component Analysis*) e a Análise dos Componentes Principais (PCA, *Principal Component Analysis*) (CRIVORI *et al.*, 2004). CPCA e PCA são ferramentas quimiométricas utilizadas para extrair e interpretar informações a partir de qualquer descrição multivariada de um sistema biológico. A CPCA foi utilizada nesse estudo para identificar os blocos de descritores que mais contribuíram para o modelo desenvolvido no programa, incluindo blocos de descritores hidrofóbicos, hidrofílicos, de solubilidade, entre outros. O PCA condensa as informações em dois gráficos, o gráfico que representa as moléculas em estudo e um gráfico que representa os descritores moleculares que mais caracterizam essas moléculas (FERNANDES, 2012; MAIA, M. S. *et al.*, 2020).

Para desenvolver o modelo da CPCA, o arquivo SDF contendo os diterpenos abietanos foi importado no programa. Logo, foi construído o modelo utilizando 128 descritores agrupados em 13 blocos. O programa Volsurf+ indicou os dois blocos que mais contribuíram para o componente principal (PC) 1 e PC 2 que foram selecionados para a PCA. O modelo da CPCA foi considerado adequado quando PC1 e PC2 explicaram em conjunto mais do que 60% da variância total dos dados. Em seguida utilizou-se os dois blocos provenientes da CPCA para construir o modelo da PCA, obtendo-se os gráficos das moléculas e dos descritores moleculares. As propriedades desse modelo também foram observadas e ele foi aceito quando PC1 e PC2 explicaram em conjunto mais do que 60% da variância total dos dados (SCOTTI *et al.*, 2012).

O programa Volsurf+ utiliza quatro sondas para interagir com os átomos das moléculas: sonda hidrofóbica (DRY), sonda de água (H₂O), sonda de nitrogênio de amida (N1) e sonda de oxigênio de carbonila (O). A interação dessas sondas com as moléculas permite a geração de campos de interação moleculares em 3D, que podem ser visualizados no programa (SALAHINEJAD; GHASEMI, 2014). Dessa forma, foram obtidas imagens dos campos de interação molecular dos diterpenos abietanos interagindo com as sondas para observar as regiões hidrofóbicas e hidrofílicas em suas estruturas como também as possíveis interações com as sondas. Logo em seguida, foram realizados os procedimentos de *docking* molecular.

4.8 *Docking* molecular

Foi utilizado o programa Molegro Virtual Docker (MVD) para ancoragem dos diterpenos abietanos e dos controles com a MMP-1 e MMP-12. Este programa prever a ligação de uma molécula no sítio do alvo, executando operações de *docking* de forma rápida e flexível (BASUKI; MAULANASARI; ASTUTI, 2017). Para a realização das análises de *docking*, foi necessário obter as estruturas da MMP-1 (PDB ID: 2TCL) e da MMP-12 (PDB ID: 3F17) do *site* Protein Data Bank (PDB, www.rcsb.org). As estruturas escolhidas foram provenientes da técnica de difração de raios x, além de que elas indicaram valores de resolução, onde a MMP-1 foi 2.20 Å, e a MMP-12 foi 1.10 Å.

A MMP-1 estava acoplada com o inibidor *[[1-[n-hydroxy-acetamidyl]-3-methyl-butyl]-carbonyl-leucinyl]-alanine ethyl ester* (RO4) (BORKAKOTI *et al.*, 1994), enquanto a MMP-12 estava acoplada ao inibidor *N-oxidanyl-2-[(4-phenylphenyl)sulfonylamino]ethanamide* (HS4) (BERTINI *et al.*, 2007). O objetivo de utilizar esses inibidores foi para estabelecer o sítio das enzimas, como também atuar como controles.

Foram utilizados dois inibidores não específicos de MMPs, 1,10-fenantrolina e *N-Isobutyl-N-(4-methoxyphenylsulfonyl) glycyl hydroxamic acid* (NNGH) como controles para análise de *docking* com MMP-1 e MMP-12 (LIM; KIM, 2007). Os controles selecionados para essa análise foram obtidos no banco de dados PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). No qual, foi possível conseguir as estruturas em 3D dos controles em um arquivo SDF. Posteriormente foi utilizado o programa Standardizer 20.19.0 para gerar um arquivo SDF contendo os controles e os diterpenos abietanos padronizados para a análise do *docking* molecular (AZMI *et al.*, 2021). O *docking* molecular consiste na afinidade de ligação entre um ligante e um alvo. Com isso, é possível prever a energia de ligação, interação, e caracterizar os modos de ligação. Os valores que apresenta uma energia de ligação baixa são os melhores, indicando que a ancoragem do ligante-alvo possui alta estabilidade, e assim o ligante possui uma alta afinidade com o alvo (SILVA, R. *et al.*, 2023).

Para iniciar as análises de *docking*, os alvos e os ligantes foram importados no MVD. Cada alvo foi preparado, e removido as moléculas de água e cofatores. Logo depois, foi iniciada a ancoragem dos ligantes com os alvos e verificados os valores de ligação. Para validar a ancoragem molecular foi feito o *redocking*, uma análise que utiliza o ligante acoplado no alvo para verificar o desvio quadrático médio (RMSD - *Root Mean Square Deviation*). O RMSD é um parâmetro importante, e é calculado entre a conformação do ligante co-cristalizado e a conformação desse ligante após o *docking*. As análises de ancoragem molecular são consideradas confiáveis ao obter valores de $\text{RMSD} < 2 \text{ \AA}$, demonstrando que os modos de ligação e os sítios de encaixe do ligante foram precisos e adequados (FIRDAYANI *et al.*, 2018; MISHRA; SHARMA, 2016). Nesta pesquisa, foi utilizado o programa Biovia Discovery Studio Visualizer 19.1.0.18287 para gerar figuras em 3D e em 2D das interações dos ligantes com os resíduos de aminoácidos dos alvos (BAROROH, S.SI., M.BIOTEK. *et al.*, 2023). Com isso, foi possível verificar quais eram os resíduos de aminoácidos em comum entre os diterpenos abietanos e os controles, além de que as interações dos diterpenos abietanos com os resíduos dos sítios ativos.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Modelos de QSAR

Os parâmetros estatísticos que avaliaram a confiabilidade de todos os modelos elaborados no KNIME foram: sensibilidade, especificidade, acurácia, precisão, MCC e da curva ROC. O desempenho de cada modelo é apresentado na Tabela 1 e na Tabela 2, exibindo os resultados dos parâmetros avaliados.

Conforme a (Tabela 1), os valores dos parâmetros foram de: 0,80 a 0,95 para sensibilidade; 0,72 a 0,85 para especificidade; 0,77 a 0,86 para a acurácia; 0,75 a 0,86 para a precisão; e 0,56 a 0,72 para o MCC. Na Tabela 2, os valores dos parâmetros foram de: 0,79 a 0,95 para sensibilidade; 0,68 a 0,82 para especificidade; 0,75 a 0,83 para a acurácia; 0,71 a 0,82 para a precisão; e para o MCC de 0,52 a 0,69. Verificou-se que os parâmetros de sensibilidade, especificidade, acurácia e precisão foram aproximados de 0,7 ou maiores, enquanto que o MCC apresentou valores $> 0,5$. Com isso, acredita-se que os modelos gerados são robustos e tiveram ótimos resultados (KONG; YAN, 2017).

Tabela 1. Parâmetros estatísticos obtidos nos modelos de descritores Dragon.

Modelo	Validação	Sensibilidade	Especificidade	Acurácia	Precisão	MCC
MMP-1	Teste	0,87	0,72	0,79	0,75	0,60
	Cruzada	0,80	0,75	0,77	0,75	0,56
MMP-3	Teste	0,84	0,84	0,84	0,84	0,68
	Cruzada	0,84	0,81	0,83	0,82	0,66
MMP-9	Teste	0,86	0,85	0,86	0,86	0,72
	Cruzada	0,85	0,78	0,82	0,80	0,64
MMP-12	Teste	0,95	0,73	0,84	0,78	0,71
	Cruzada	0,87	0,73	0,80	0,76	0,61

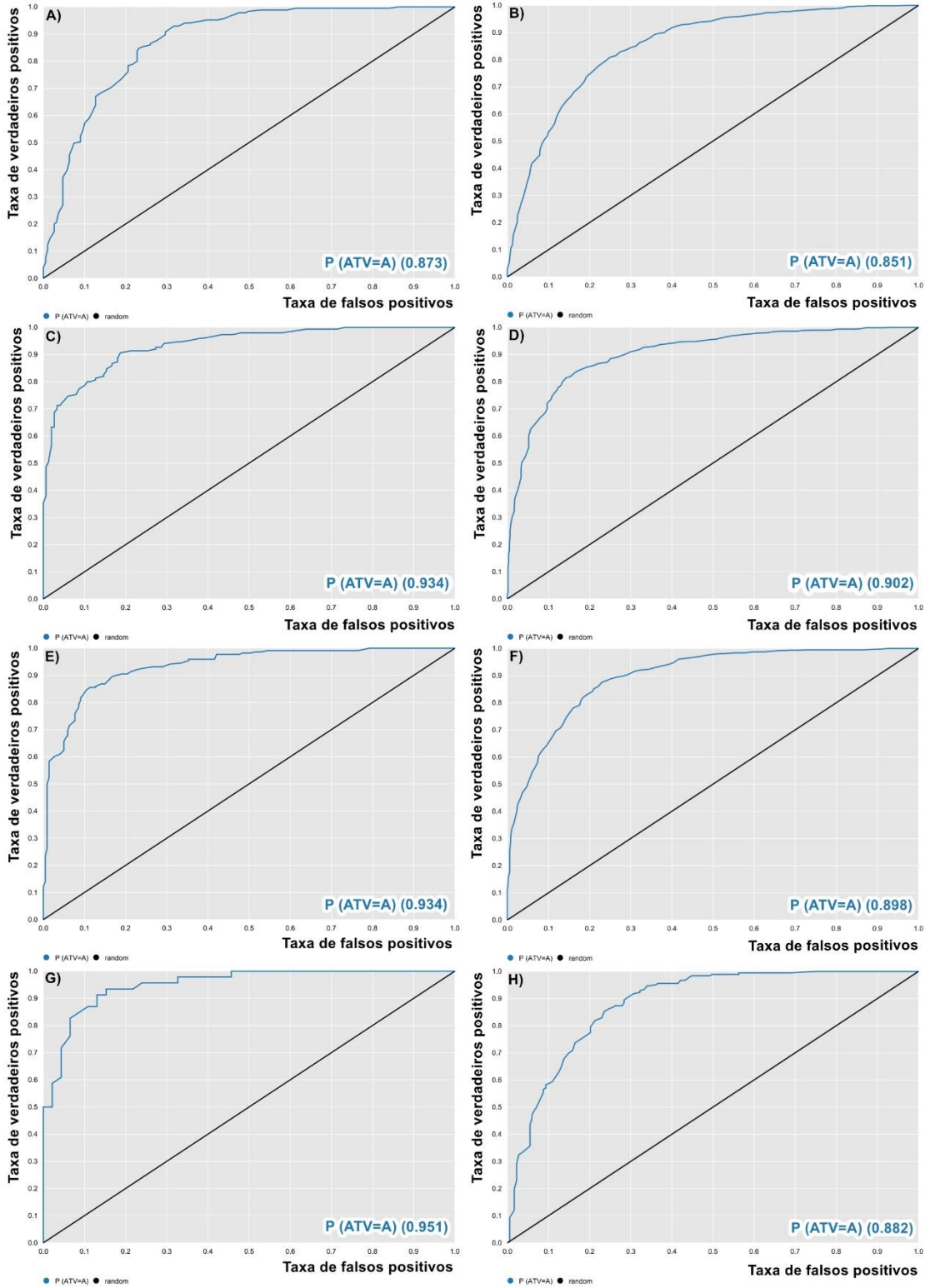
Fonte: Elaborada pela autora.

Tabela 2. Parâmetros estatísticos obtidos nos modelos de descritores Volsurf.

Modelo	Validação	Sensibilidade	Especificidade	Acurácia	Precisão	MCC
MMP-1	Teste	0,83	0,68	0,75	0,71	0,52
	Cruzada	0,81	0,72	0,77	0,74	0,54
MMP-3	Teste	0,82	0,82	0,82	0,82	0,64
	Cruzada	0,82	0,76	0,79	0,77	0,59
MMP-9	Teste	0,85	0,80	0,83	0,81	0,66
	Cruzada	0,79	0,73	0,76	0,74	0,53
MMP-12	Teste	0,95	0,71	0,83	0,77	0,69
	Cruzada	0,83	0,72	0,78	0,75	0,56

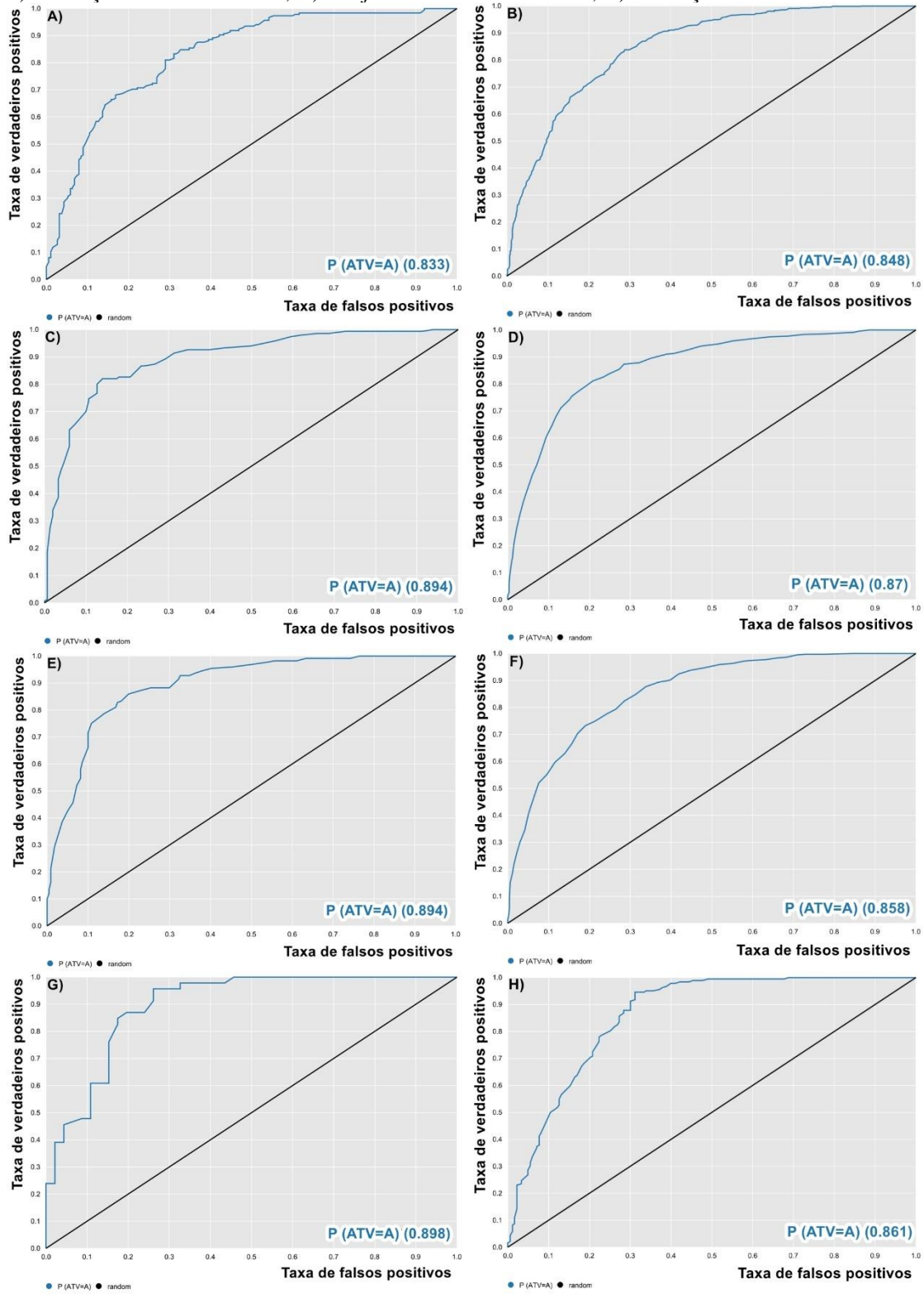
Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 7. Curvas ROC dos modelos de descritores Dragon. A) Conjunto de teste de MMP-1; B) Validação cruzada de MMP-1; C) Conjunto de teste de MMP-3; D) Validação cruzada de MMP-3; E) Conjunto de teste de MMP-9; F) Validação cruzada de MM-9; G) Conjunto de teste de MMP-12; H) Validação cruzada de MMP-12.



Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 8. Curvas ROC dos modelos de descritores Volsurf. A) Conjunto de teste de MMP-1; B) Validação cruzada de MMP-1; C) Conjunto de teste de MMP-3; D) Validação cruzada de MMP-3; E) Conjunto de teste de MMP-9; F) Validação cruzada de MM-9; G) Conjunto de teste de MMP-12; H) Validação cruzada de MMP-12.



Fonte: Elaborada pela autora.

Através dos gráficos da curva ROC também foi possível analisar os modelos. De acordo com a Figura 7, os resultados da curva ROC indicaram valores $> 0,85$ para o modelo de MMP-1, valores $> 0,90$ para MMP-3, valores $> 0,89$ para MMP-9, e valores $> 0,88$ para MMP-12. Na Figura 8, os resultados da curva ROC nos modelos foram: valores $> 0,83$ para MMP-1, valores $> 0,87$ para MMP-3, valores $> 0,85$ para MMP-9 e valores $> 0,86$ para MMP-12. Um modelo é considerado perfeito quando o valor da curva ROC é 1. Portanto, diante desses resultados, é possível que o modelo classificou corretamente as moléculas, pois obteve-se valores acima de 0,83, próximo a 1 (KONG; YAN, 2017). Sendo assim, os compostos preditos como ativos por meio dos modelos podem ter uma atividade contra os alvos do fotoenvelhecimento.

Assim, iniciou-se a triagem virtual das 1630 moléculas obtidas do *site* Sistemax. Onde foi selecionado as moléculas preditas como ativas e que estavam dentro do domínio de aplicabilidade (compostos que tiveram similaridades estruturais com as moléculas bioativas dos modelos). Após a verificação desses parâmetros, foi realizado o consenso nos resultados dos modelos que utilizaram os descritores do Dragon e do Volsurf. Após a análise do consenso, observou-se que nenhuma molécula do modelo de MMP-3 apresentou % ATV de consenso $\geq 50\%$. Somente os modelos de MMP-1, MMP-9 e MMP-12 indicaram moléculas com % ATV de consenso $\geq 50\%$ (Tabela 3).

Tabela 3. Dados das moléculas com probabilidade de atividade de consenso $\geq 50\%$ que fazem parte do domínio de aplicabilidade dos modelos.

Modelo	Total	Domínio	% ATV de consenso
MMP-1	45	Confiável	52% a 82%
MMP-9	2	Confiável	51% a 59%
MMP-12	28	Confiável	50% a 63%

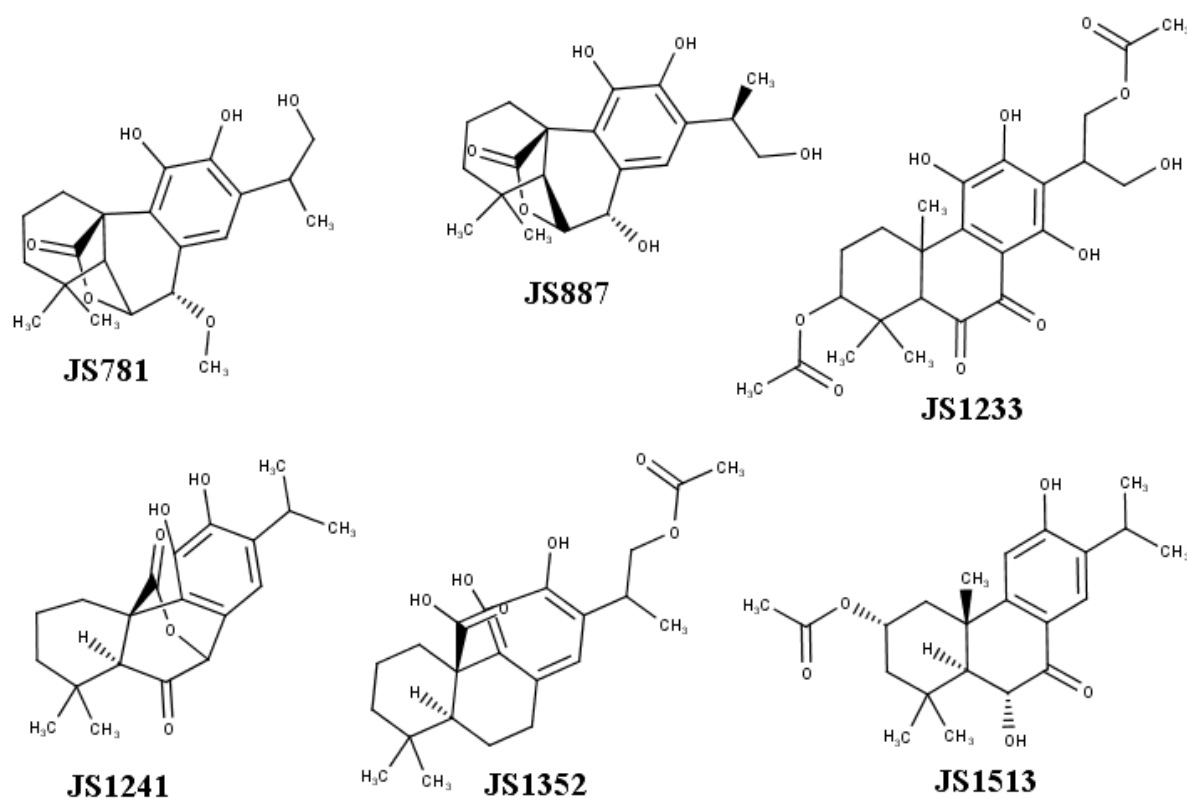
Fonte: Elaborada pela autora.

5.2 Verificação dos riscos de citotoxicidade e das violações à regra dos cinco de Lipinski

Após selecionar as moléculas que apresentaram % ATV de consenso $\geq 50\%$, foi realizada a análise dos riscos de citotoxicidade no OSIRIS DataWarrior. Como resultado, as duas moléculas contra MMP-9 tiveram riscos de citotoxicidade, sendo assim elas foram eliminadas da triagem virtual. Das 45 moléculas do modelo de MMP-1, 31 moléculas não exibiram riscos de citotoxicidade, enquanto que das 28 moléculas do modelo de MMP-12, 25

não demonstraram riscos. Dessas moléculas que não demonstram riscos de citotoxicidade, selecionou-se aquelas que não apresentam violações à regra dos cinco de Lipinski e que exibiram uma possível atividade multialvo contra MMP-1 e MMP-12. Assim, obteve-se as moléculas JS781, JS887, JS1233, JS1241, JS1352 e JS1513 (Figura 9). Os nomes e classes dessas moléculas são informados no Quadro 4 e o resultado dos seus riscos de citotoxicidade pode ser visualizado na Tabela 4.

Figura 9. Estruturas químicas dos diterpenos abietanos selecionados nas análises.



Fonte: Elaborada pela autora.

Quadro 4. Nome e classe de JS781, JS887, JS1233, JS1241, JS1352 e JS1513.

ID	Nome	Classe
JS781	(1R,8S)-3,4-dihidroxi-5-(1-hidroxiopropan-2-il)-8-metoxi-11,11-dimetil-16-oxatetraciclo[7.5.2.0 ^{1,10} .0 ^{2,7}]hexadeca-2,4,6-trien-15-ona	Diterpeno abietano
JS887	(1R,8S,10S)-3,4,8-trihidroxi-5-[(2R)-1-hidroxiopropan-2-il]-11,11-dimetil-16-oxatetraciclo	Diterpeno abietano

	[7.5.2.0 ¹ , ¹⁰ .0 ² , ⁷]hexadeca-2,4,6-trien-15-ona	
JS1233	2-[7-(acetiloxi)-1,3,4-trihidroxi-4b,8,8-trimetil-9,10-dioxo-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-2-il]-3-acetato de hidroxipropila	Diterpeno abietano
JS1241	(1R,10S)-3,4-dihidroxi-11,11-dimetil-5-(propan-2-il)-16-oxatetraciclo[6.6.2.0 ¹ , ¹⁰ .0 ² , ⁷]hexadeca-2(7),3,5-trieno-9,15-diona	Diterpeno abietano
JS1352	(4aR,10aS)-7-[1-(acetiloxi)propan-2-il]-5,6-dihidroxi-1,1-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-4a-ácido carboxílico	Diterpeno abietano
JS1513	(3S,4aS,10R,10aS)-6,10-dihidroxi-1,1,4a-trimetil-9-oxo-7-(propan-2-il)-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-3-il acetato	Diterpeno abietano

Fonte: Elaborada pela autora.

Tabela 4. Riscos de citotoxicidade das moléculas JS781, JS887, JS1233, JS1241, JS1352 e JS1513.

ID	Mutagenicidade	Carcinogenicidade	Irritação na pele	Efeito tóxico no sistema reprodutor
JS781	Nenhum	Nenhum	Nenhum	Nenhum
JS887	Nenhum	Nenhum	Nenhum	Nenhum
JS1233	Nenhum	Nenhum	Nenhum	Nenhum
JS1241	Nenhum	Nenhum	Nenhum	Nenhum
JS1352	Nenhum	Nenhum	Nenhum	Nenhum
JS1513	Nenhum	Nenhum	Nenhum	Nenhum

Fonte: Elaborada pela autora.

Na Tabela 5, os valores de % ATV de consenso variaram de 54% a 68%, na qual JS781 exibiu a maior probabilidade (68%), seguida de JS1352 (61%), JS1233 (59%), JS1513 (56%), JS887 (55%) e JS124 (54%).

Tabela 5. Análise por consenso de modelos de MMP-1 de descritores Dragon e Volsurf.

Moléculas	Domínio	%ATV Dragon	% ATV Volsurf	% ATV de consenso
JS781	Confiável	55%	82%	68%
JS887	Confiável	50%	61%	55%
JS1233	Confiável	56%	63%	59%
JS1241	Confiável	51%	58%	54%
JS1352	Confiável	59%	64%	61%
JS1513	Confiável	55%	58%	56%

Fonte: Elaborada pela autora.

Na Tabela 6, os valores de % ATV de consenso variaram de 53% a 63%, na qual JS1352 obteve a maior probabilidade (63%), seguida de JS1233 (59%), JS1513 (58%), JS781 (57%), JS1241 (55%) e JS887 (53%).

Tabela 6. Análise por consenso de modelos de MMP-12 de descritores Dragon e Volsurf.

Moléculas	Domínio	%ATV Dragon	% ATV Volsurf	% ATV de consenso
JS781	Confiável	52%	63%	57%
JS887	Confiável	53%	54%	53%
JS1233	Confiável	54%	65%	59%
JS1241	Confiável	56%	54%	55%
JS1352	Confiável	56%	71%	63%
JS1513	Confiável	50%	66%	58%

Fonte: Elaborada pela autora.

Os riscos de citotoxicidade também foram verificados para os controles e os metabólitos dos diterpenos abietanos. Na Tabela 7, observou-se que a interação dos diterpenos abietanos com CYD2D6 resultou em diversos metabólitos com probabilidades de 100% e 71%. A maioria deles não tiveram riscos de citotoxicidade, porém o M3 obteve baixo risco de mutagenicidade, M6 possuiu baixo risco de efeito tóxico no sistema reprodutor e o M8 apresentou baixo risco de efeito irritante na pele. Contudo, no Quadro 5, a 1,10-fenantrolina apresentou alto risco de mutagenicidade e de causar efeito tóxico no sistema reprodutor. Observou-se que a interação de JS781 com CYP2D6 *in silico* gerou o diterpeno abietano JS887. Logo, JS781 se torna uma molécula promissora por não apresentar riscos de citotoxicidade, e gerar um metabólito também isento de riscos e possivelmente ativo. Dessa

forma, acredita-se que os diterpenos abietanos e seus prováveis metabólitos (Figura 10 e Figura 11) tiveram resultados satisfatórios na análise dos riscos de citotoxicidade.

Tabela 7. Riscos de citotoxicidade e probabilidades dos metabólitos dos diterpenos abietanos gerados pelo Metasite.

Substrato da CYP2D6	Metabólito	Classificação por probabilidade	Riscos de citotoxicidade dos metabólitos
JS781	JS887	100%	Nenhum
JS887	M1	100%	Nenhum
	M2	100%	Nenhum
JS1233	M3	100%	Baixo risco de mutagenicidade
	M4	100%	Nenhum
	M5	100%	Nenhum
JS1241	M6	100%	Baixo risco de efeito tóxico no sistema reprodutor
	M7	100%	Nenhum
JS1352	M8	100%	Baixo risco de efeito irritante na pele
	M9	100%	Nenhum
	M10	100%	Nenhum
JS1513	M11	100%	Nenhum
	M12	100%	Nenhum
	M13	100%	Nenhum
	M14	71%	Nenhum
	M15	71%	Nenhum

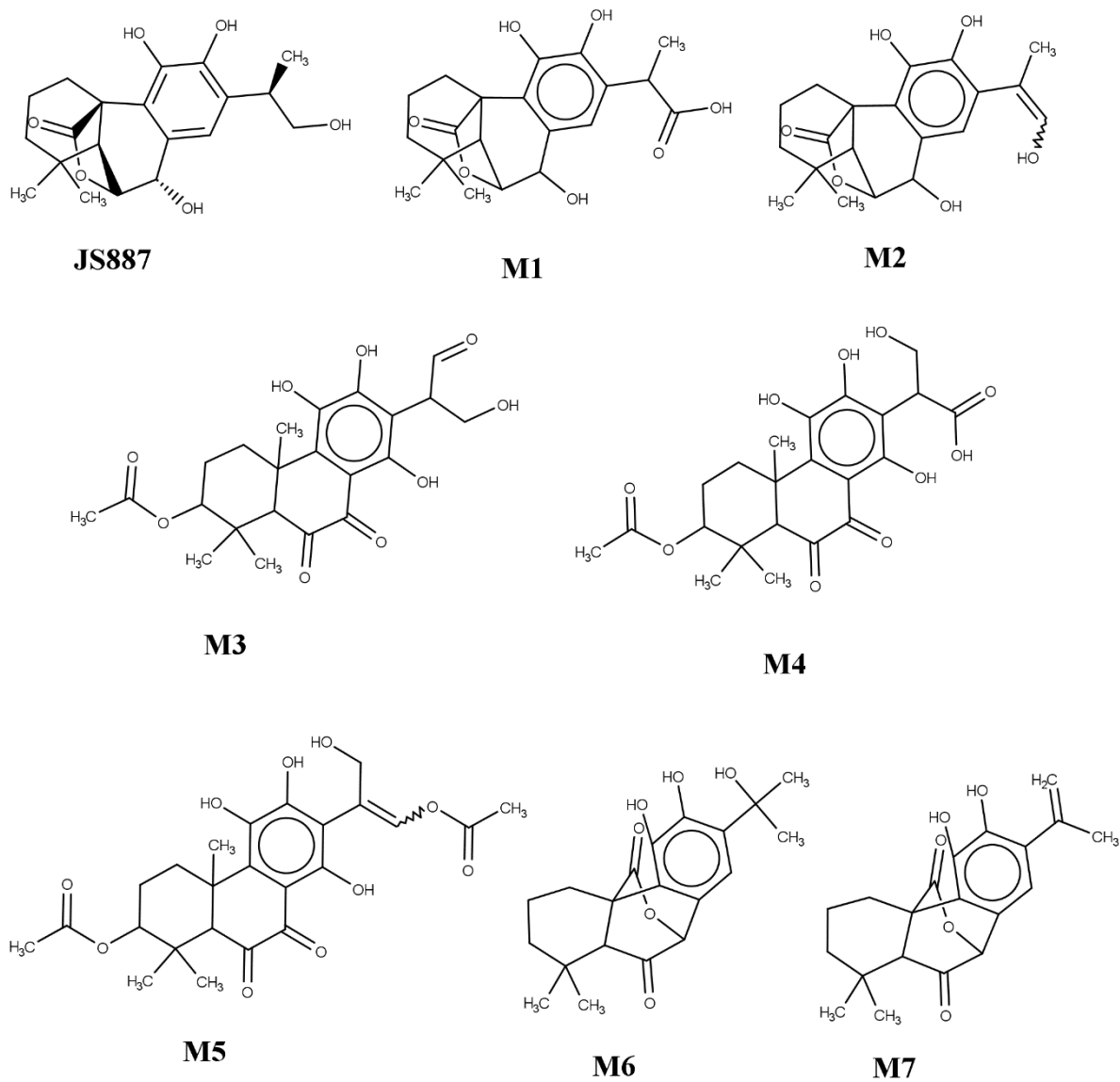
Fonte: Elaborada pela autora.

Quadro 5. Riscos de citotoxicidade dos controles.

Controle	Mutagenicidade	Carcinogenicidade	Irritação na pele	Efeito tóxico no sistema reprodutor
1,10-Fenantrolina	Alto risco	Nenhum	Nenhum	Alto risco
NNGH	Nenhum	Nenhum	Nenhum	Nenhum

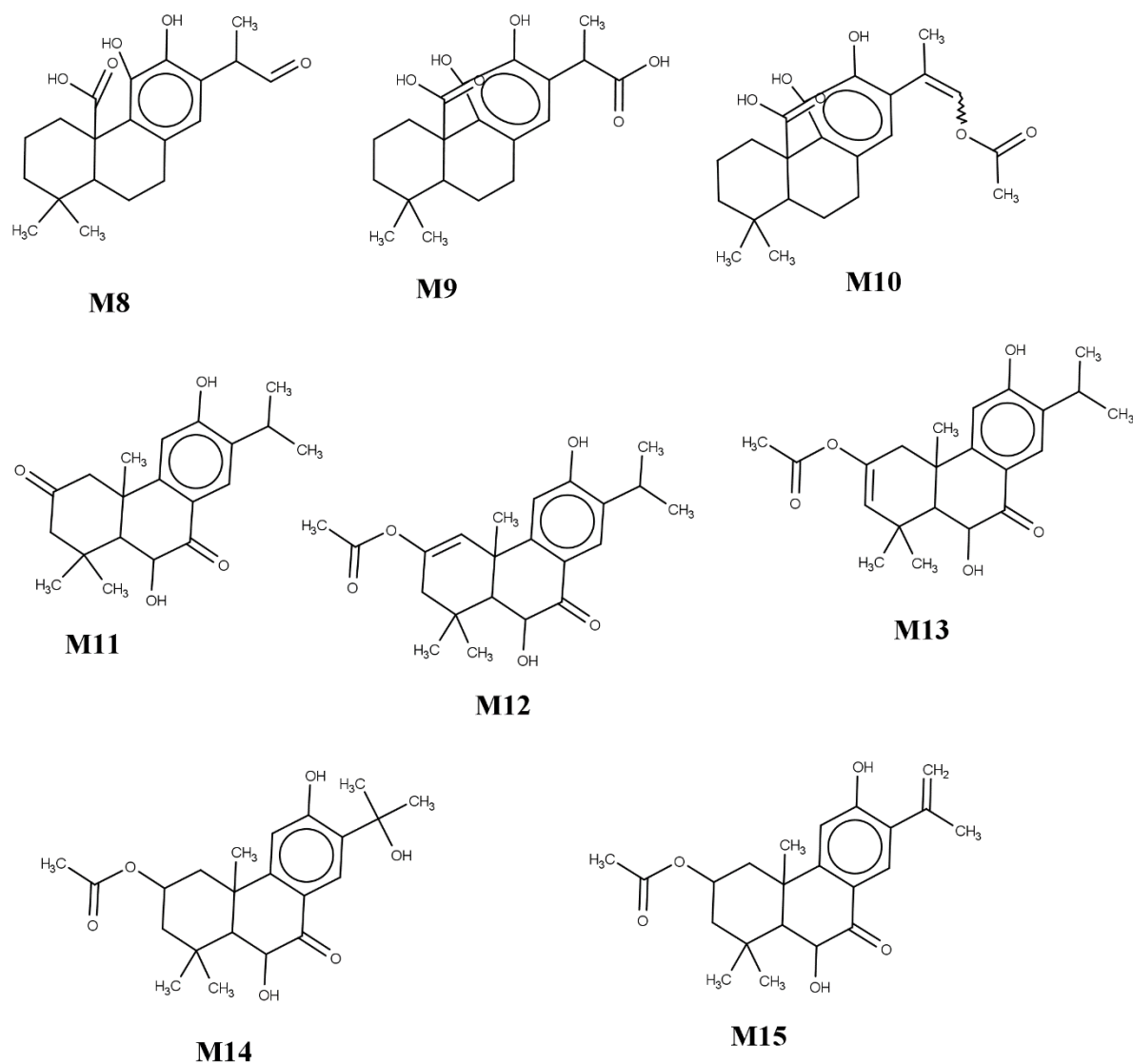
Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 10. Metabólitos preditos através da interação dos diterpenos abietanos com CYP2D6.



Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 11. Metabólitos preditos através da interação dos diterpenos abietanos com CYP2D6.



Fonte: Elaborada pela autora.

Algumas propriedades dos diterpenos abietanos foram calculadas para analisar sua solubilidade, tamanho e grupos doadores e aceptores de hidrogênio, dessa forma foi possível identificar a quantidade de violações à regra dos cinco de Lipinski (Tabela 8). Observou-se que os diterpenos abietanos possuem peso molecular <500 g/mol, sugerindo que são moléculas pequenas que podem atravessar com mais facilidade as membranas biológicas. Eles obtiveram valores de cLogP <5, um parâmetro que representa a quantidade de espécies não ionizadas distribuídas em um sistema octanol/água. Entende-se que a molécula é mais lipofílica quando o cLogP exibir um valor positivo ou mais hidrofílica quando o valor for negativo (CIMATTI, 2013). Assim, todos os diterpenos estudados são mais lipofílicos.

Tabela 8. Propriedades calculadas para os diterpenos abietanos e violações à regra dos cinco de Lipinski.

ID	Peso molecular (g/mol)	cLogP	Aceptores de hidrogênio	Doadores de hidrogênio	Violações
JS781	376.447	2.1004	6	3	0
JS887	362.42	1.6725	6	4	0
JS1233	478.492	1.6827	10	4	0
JS1241	344.406	2.7429	5	2	0
JS1352	390.474	3.3055	6	3	0
JS1513	374.475	3.5992	5	2	0

Fonte: Elaborada pela autora.

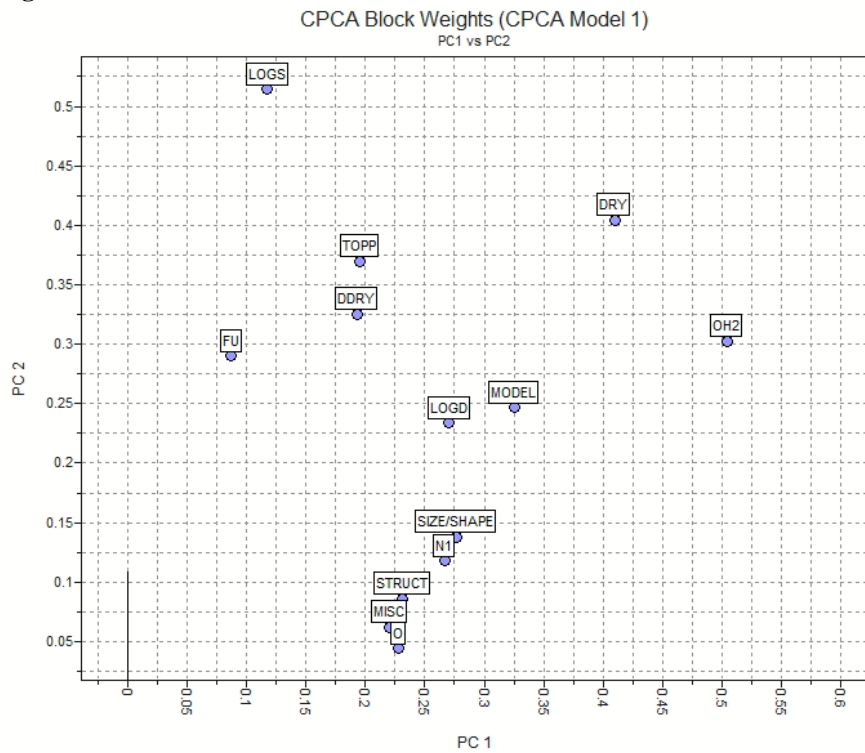
Todos os diterpenos abietanos exibiram valores de aceptores de hidrogênio (átomos de oxigênio) ≤ 10 , e valores de doadores de hidrogênio (hidroxilas) <5 . Dessa forma os diterpenos abietanos cumpriram todos os requisitos da regra dos cinco de Lipinski, possuindo características físico-químicas adequadas à biodisponibilidade oral.

5.3 Análise dos Componentes Principais por Consenso e Análise dos Componentes Principais

Após o estudo das violações à regra dos cinco de Lipinski, os modelos da CPCA e PCA foram desenvolvidos no Volsurf+. A partir do modelo da CPCA foi possível observar os blocos de descritores com maior peso por meio de um gráfico (Figura 12).

No gráfico da Figura 12, cada bloco de descritores está distribuído no espaço, onde a posição dos blocos indica a sua contribuição para cada componente principal (PC). Blocos mais distantes da origem do gráfico contribuem mais para o PC, enquanto que os blocos próximos contribuem menos para o PC. Com isso, os blocos mais importantes foram LOGS e OH2. Na Tabela 9, observa-se que PC1 e PC2 explicaram mais de 61% da variância total dos dados usando o bloco LOGS e explicaram mais de 73% da variância total usando o bloco OH2. Assim, como esses dois blocos contribuíram mais para o modelo da CPCA, foram utilizados seus descritores para criar o modelo da PCA.

Figura 12. Peso dos blocos do modelo da CPCA



Fonte: Elaborada pela autora.

Tabela 9. Variância explicada através dos blocos LOGS e OH2 do modelo da CPCA.

Bloco	% da variância total explicada (PC1 + PC2)
LOGS	61,720
OH2	73,415

Fonte: Elaborada pela autora.

O modelo da PCA foi construído com 34 descritores dos blocos LOGS e OH2, e obteve ótimos resultados, já que mais de 66% da variância total dos dados foi explicada por PC1 e PC2 (Tabela 10).

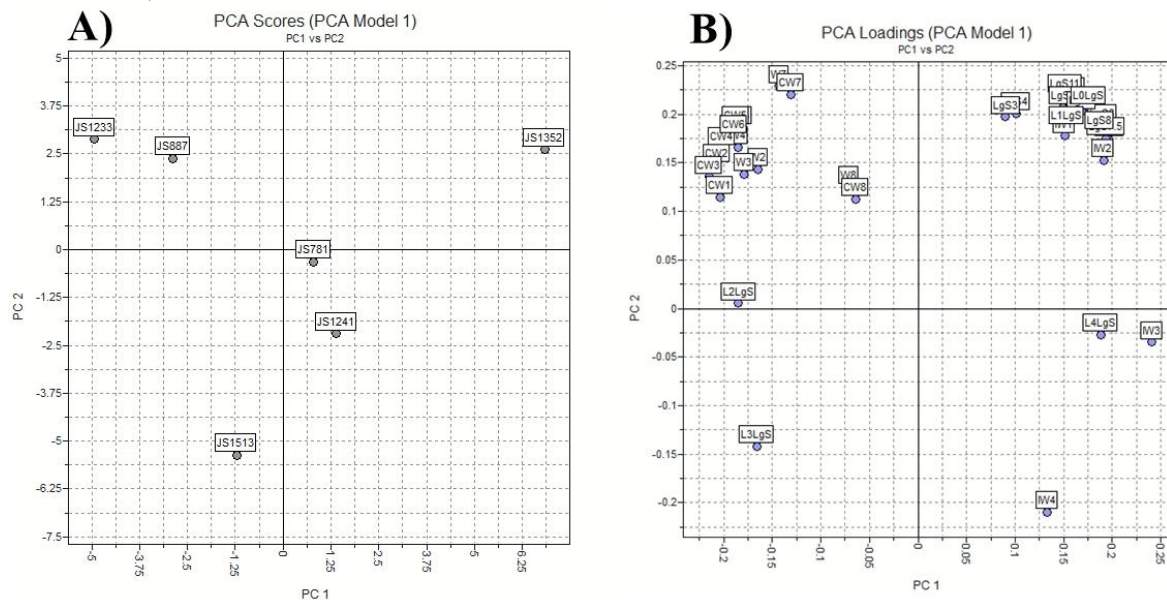
Tabela 10. Variância explicada pelos componentes 1 e 2 do modelo da PCA.

PC	% da variância total explicada	% da variância total explicada e acumulada
1	34,228	34,228
2	32,193	66,421

Fonte: Elaborada pela autora.

Posteriormente foram construídos os gráficos que mostram a distribuição dos descritores e das moléculas no espaço (Figura 13). Os significados dos descritores obtidos foram consultados no manual do Volsurf+ (<http://www.moldiscovery.com>).

Figura 13. Distribuição das moléculas e dos descritores moleculares no modelo da PCA. A) Gráfico das moléculas; B) Gráfico dos descritores.



Fonte: Elaborada pela autora.

No gráfico B, nota-se que uma parte dos descritores foi produzida através da sonda H₂O: volumes hidrofílicos (W1 - W8), fatores de capacidade (CW1 - CW8) e momentos de energia de interação referentes a regiões hidrofílicas (IW1-IW4). Os descritores de volumes hidrofílicos descrevem o envelope molecular que interage com as moléculas de água, enquanto que os descritores de fatores de capacidade representam a proporção do volume hidrofílico sobre a superfície molecular total. Com relação aos momentos de energia de interação referentes a regiões hidrofílicas, quanto maior o momento, mais clara é a separação entre locais de interação polar e hidrofóbica, e quanto menor, mais próximos estão as porções polares do centro da molécula ou em extremidades opostas da molécula. Notou-se que as moléculas JS1233 e JS887 estão mais relacionadas com os descritores de CW e W, produzidos pela sonda de H₂O. Isso indica que elas têm um caráter mais hidrofílico do que os restantes das moléculas que são mais lipofílicas. JS1513 não estava relacionada com a sonda de H₂O, mostrando que é a molécula mais lipofílica entre todas.

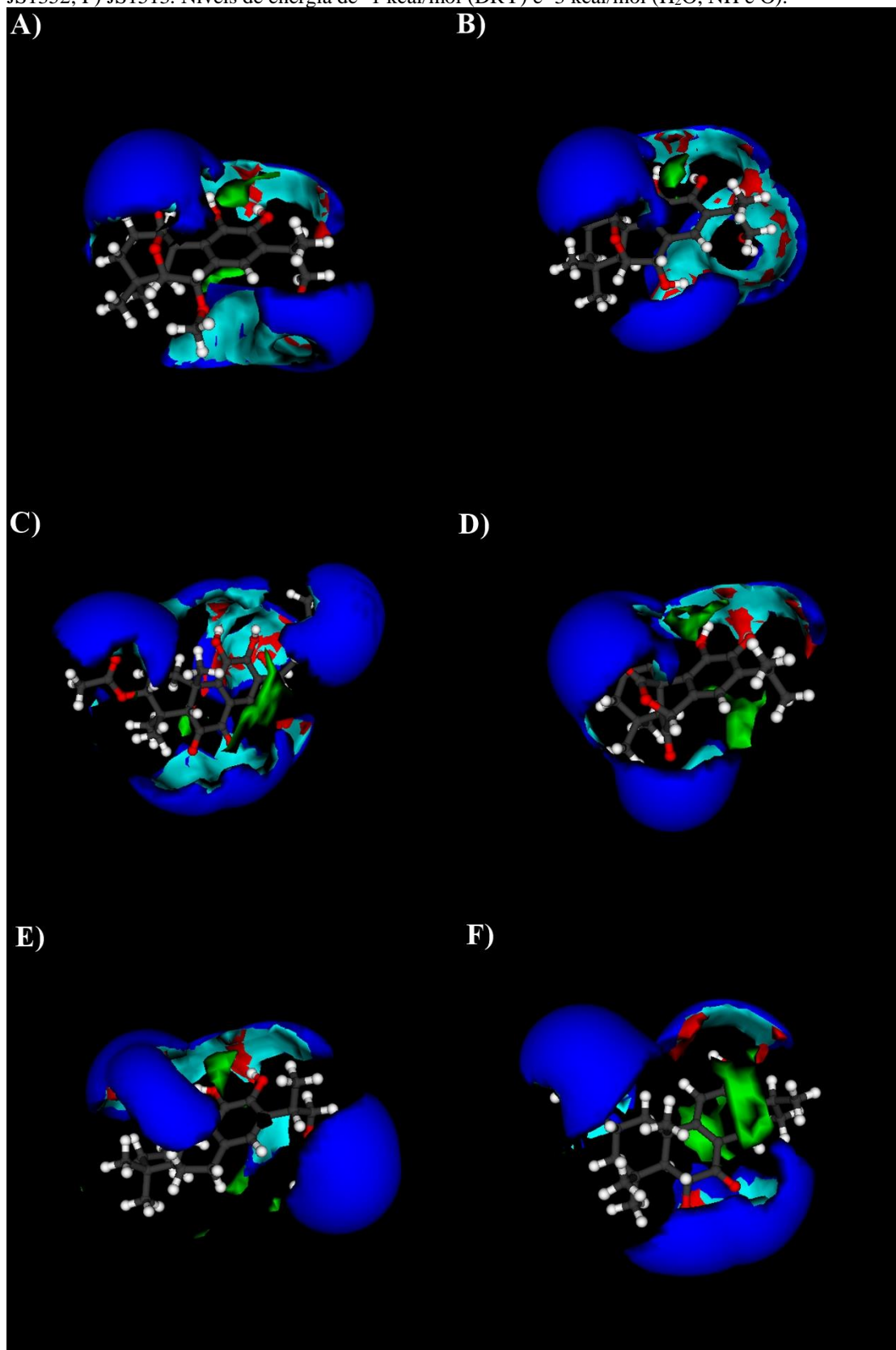
Os outros descritores caracterizaram a solubilidade: coeficientes de perfil de solubilidade (L0LgS - L4LgS), que fazem a distinção de compostos com solubilidade similar, mas com diferente perfil dependente de pH; solubilidades em vários pH (LgS3 - LgS11), sendo

o logaritmo de solubilidades calculadas em diversos pH (de 3 a 11). Observou-se que a molécula JS1352 está mais relacionada com os descritores de solubilidade. Então possivelmente apresenta um melhor perfil de solubilidade em comparação com os outros diterpenos abietanos estudados.

Depois disso, foram geradas imagens dos diterpenos abietanos interagindo com a sonda de água (H₂O), sonda hidrofóbica (DRY), sonda aceptora de ligação de hidrogênio (O de carbonila) e sonda doadora de ligação de hidrogênio (NH) (Figura 14).

Os campos de interação molecular indicaram que os diterpenos abietanos exibiram regiões hidrofílicas (em azul-claro) como também regiões hidrofóbicas (em verde) em suas superfícies moleculares. Observa-se que ocorreu diversas interações entre os diterpenos abietanos e a sonda NH (em azul-escuro) devido à quantidade elevada de átomos de oxigênio em suas estruturas (de 5 a 10), gerando grandes campos de interação molecular que sugerem as regiões dos diterpenos abietanos que podem aceitar ligações de hidrogênio. Os campos resultantes das interações dos diterpenos com a sonda O de carbonila (em vermelho) foram menores, pois estes possuíam de 2 a 4 hidroxilas capazes de doar ligações de hidrogênio.

Figura 14. Campos de interação molecular dos diterpenos abietanos interagindo com as sondas DRY (verde), H₂O (azul-claro), O de carbonila (vermelho), e NH (azul-escuro). A) JS781; B) JS887; C) JS1233; D) JS1241; E) JS1352; F) JS1513. Níveis de energia de -1 kcal/mol (DRY) e -3 kcal/mol (H₂O, NH e O).



Fonte: Elaborada pela autora.

5.5 Docking molecular

Após obter os resultados do Volsurf+, os diterpenos abietanos foram submetidos ao estudo da ancoragem molecular para investigar sua afinidade e as interações com os alvos. Os diterpenos abietanos demonstraram atividade multialvo frente a MMP-1 e a MMP-12 no estudo de QSAR, dessa forma esses alvos foram escolhidos para realizar a ancoragem com as moléculas em estudo.

O *docking* molecular foi validado através da realização do redocking, obtendo-se os seguintes valores de RMSD: 0,311637 Å na ancoragem com MMP-1, e 0,266815 Å na ancoragem com MMP-12. Assim, como os valores de RMSD foram menores que 2 Å, entende-se que o programa conseguiu encaixar o inibidor PDB corretamente na posição original, demonstrando que o programa é uma ferramenta adequada e seu resultado é confiável.

Na Tabela 11, observa-se que todas as moléculas tiveram valores de energia de ligação mais baixas (-68,0385 kcal/mol a -120,083 kcal/mol) em comparação com o inibidor 1,10-fenantrolina (-60,1553 kcal/mol). Somente a JS1513 apresentou um valor menor de energia de ligação (-120,083 kcal/mol) em comparação com o inibidor NNGH (-118,398 kcal/mol).

Tabela 11. Valores das energias de ligação das moléculas e dos controles com a MMP-1.

Molécula	Energia de ligação (kcal/mol)
JS781	-72,4405
JS887	-68,0385
JS1233	-93,6818
JS1241	-74,7381
JS1352	-95,1539
JS1513	-120,083
RO4	-164,227
1,10-fenantrolina	-60,1553
NNGH	-118,398

Fonte: Elaborada pela autora.

No que diz respeito as interações dos diterpenos abietanos e dos controles com os resíduos de aminoácidos de MMP-1 (Tabela 12), observou-se que todos os diterpenos abietanos, exceto o JS1241, fizeram interações hidrofóbicas com o resíduo Leu81 da mesma maneira que os controles. Também verificou-se que JS1233, JS1241, JS1352, JS1513 e todos os três controles formaram interações hidrofóbicas com o resíduo His118. Com relação as moléculas que fizeram ligações de hidrogênio com o mesmo resíduo, notou-se que JS781,

JS887, JS1513 e todos os controles de MMP-1 formaram ligações de hidrogênio com Tyr140 (Figura 15, Figura 16, Figura 17). Ainda JS781, JS887, JS1241, JS1352 e os inibidores RO4 e NNGH interagiram Ala82 por meio de ligações de hidrogênio. Além disso, JS781, JS887, JS1233 e RO4 fizeram ligações de hidrogênio com o resíduo Ser139. Como os diterpenos abietanos e os controles fizeram interações semelhantes com os resíduos de aminoácidos do MMP-1, acredita-se que isso aumenta a probabilidade dos diterpenos abietanos possuírem atividade contra o alvo, sendo moléculas promissoras.

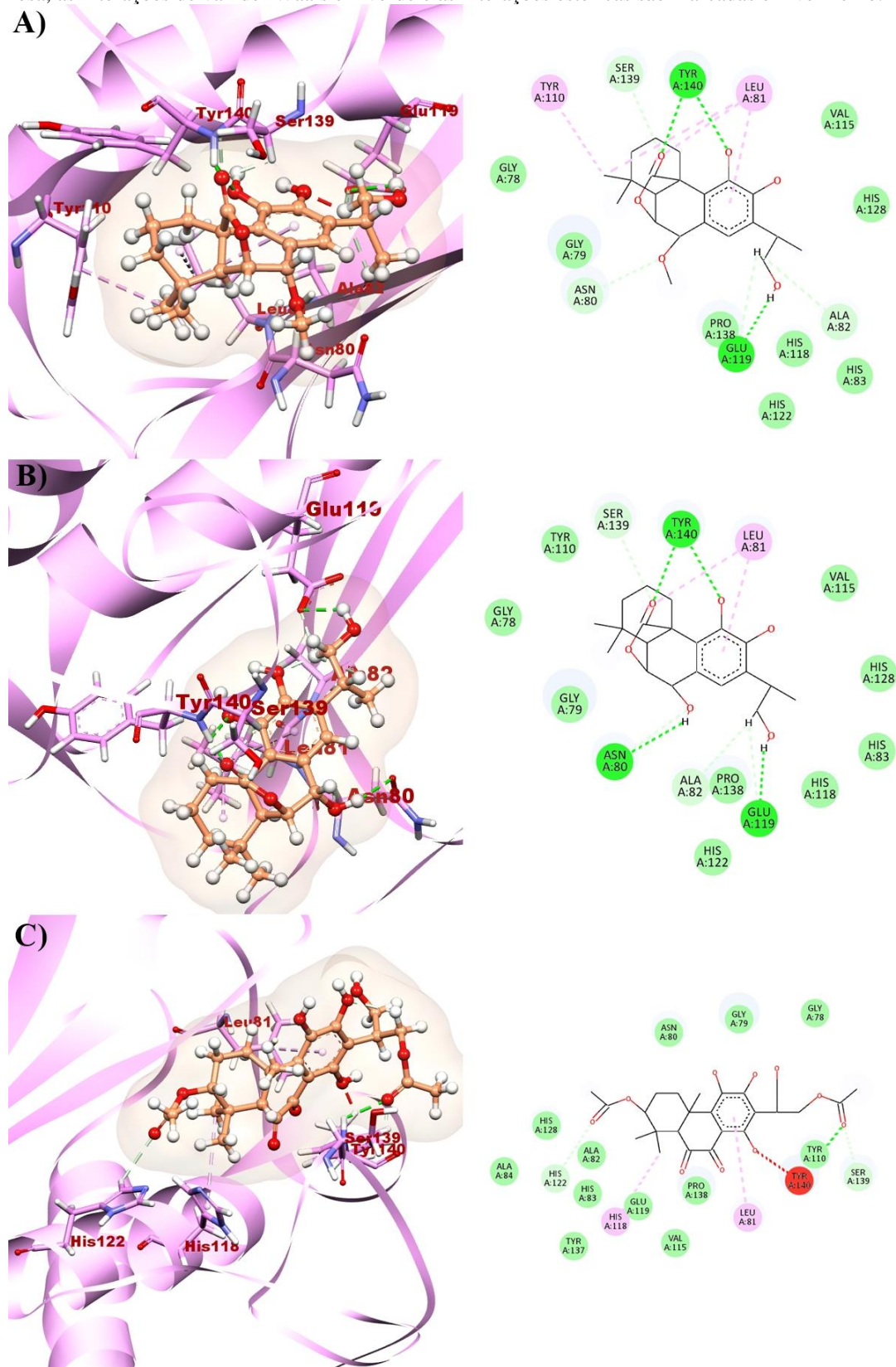
Tabela 12. Interações dos diterpenos abietanos e dos controles com MMP-1.

Molécula	Interações	
	Tipos	Resíduos de aminoácidos
JS781	Hidrogênio	Ser139, Tyr140, Ala82, Glu119
	Hidrofóbica	Try110, Leu81
	Van der Waals	Gly78, Val115, His128, His83, His118, His122, Pro138, Gly79.
	Estérica	-
	Eletrostática	-
JS887	Hidrogênio	Ser139, Tyr140, Glu119, Ala82, Asn80
	Hidrofóbica	Leu81
	Van der Waals	Val115, His128, His83, His118, His122, Pro138, Gly79, Gly78, Tyr110
	Estérica	-
	Eletrostática	-
JS1233	Hidrogênio	Tyr110, Ser139, His122
	Hidrofóbica	Leu81, His118
	Van der Waals	Asn80, Gly79, Gly78, Pro138, Val115, Glu119, Tyr137, His83, Ala82, Ala84, His128
	Estérica	Tyr140
	Eletrostática	-
JS1241	Hidrogênio	Ala82, Asn80
	Hidrofóbica	His128, His118
	Van der Waals	Val115, Leu81, Ser139, Tyr140, Gly79, Pro138, His122, His83, Tyr137, Glu119
	Estérica	His118
	Eletrostática	-
JS1352	Hidrogênio	Gly79, Ala82
	Hidrofóbica	Val115, His118, Leu81, Tyr110, Tyr140

	Van der Waals	Gly78, Ser139, Pro138, Asn80, Glu119, His128, His122, His83, Glu109
	Estérica	Tyr140
	Eletrostática	-
JS1513	Hidrogênio	Val115, Tyr140, Asn80
	Hidrofóbica	Leu81, Pro138, His128, His118
	Van der Waals	Tyr137, Thr141, Ser139, Gly79, Tyr110, Ala82, His83, Glu119, Leu135, Arg114
	Estérica	-
	Eletrostática	-
RO4	Hidrogênio	Gly79, Leu81, Asn80, His118, Ala82, Glu119, His122, His128, Pro138, Ser139, Tyr140
	Hidrofóbica	Tyr110, Leu81, His118
	Van der Waals	Arg114, Gly78, Val115, Tyr137, His83, Ala84
	Estérica	Glu119
	Eletrostática	-
1,10-fenantrolina	Hidrogênio	Tyr140
	Hidrofóbica	Leu81, His118
	Van der Waals	Gly79, Asn80, Pro138, Ala82, Glu119, Val115, Arg114, Ser139
	Estérica	-
	Eletrostática	-
NNGH	Hidrogênio	Leu81, Asn80, Tyr140, Pro138, Ala82, Glu119, His128, His118
	Hidrofóbica	Val115, Leu81, His118
	Van der Waals	Tyr137, Ser139, Tyr110, Gly79, His83, Ala84, His122, Arg114
	Estérica	-
	Eletrostática	-

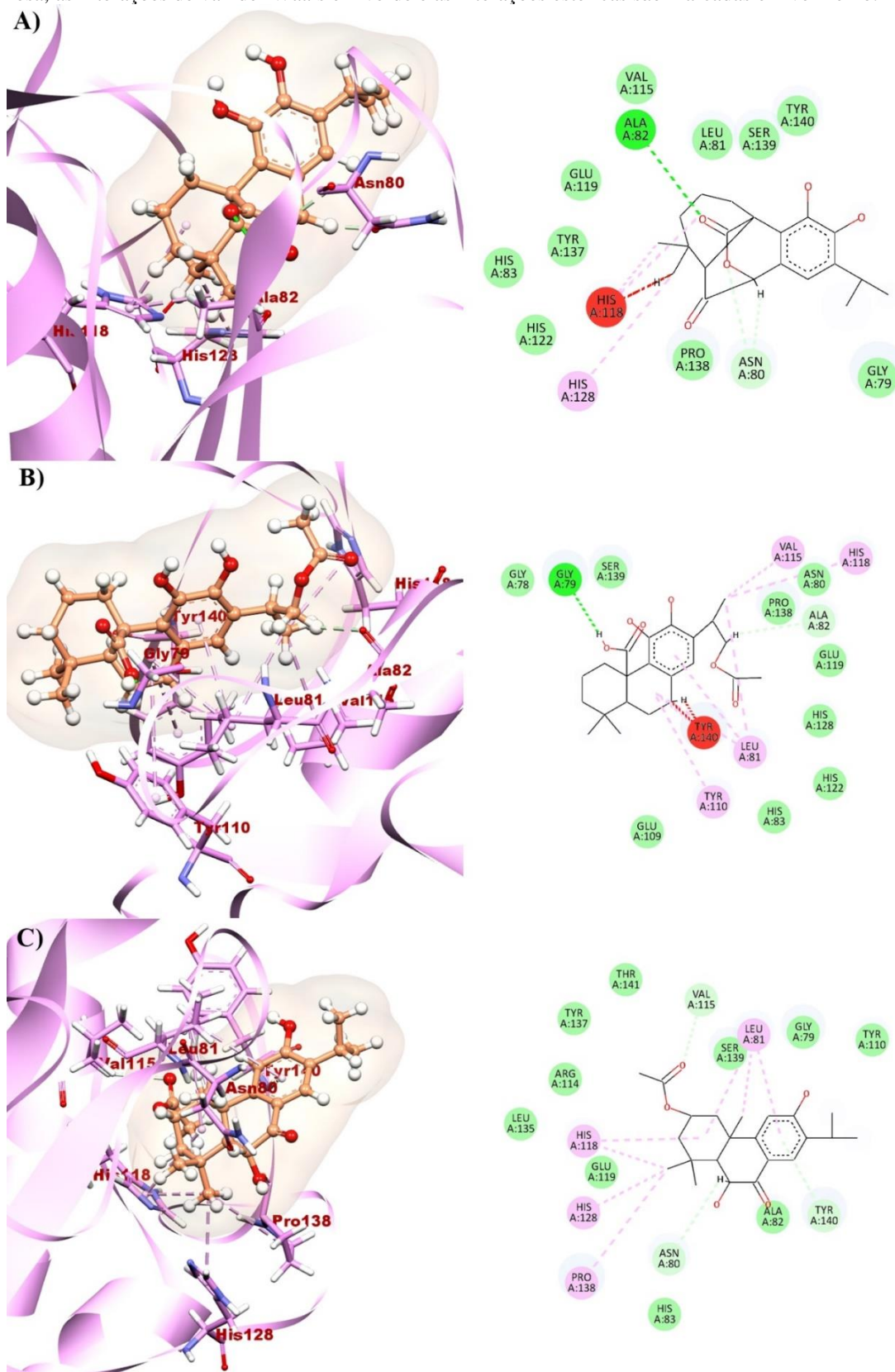
Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 15. Interações em 3D e 2D dos diterpenos abietanos com MMP-1. A) JS781; B) JS887; C) JS1233. As ligações de hidrogênio são destacadas por linhas tracejadas verdes, as interações hidrofóbicas são destacadas em rosa, as interações de van der Waals em verde e as interações estéricas são marcadas em vermelho.



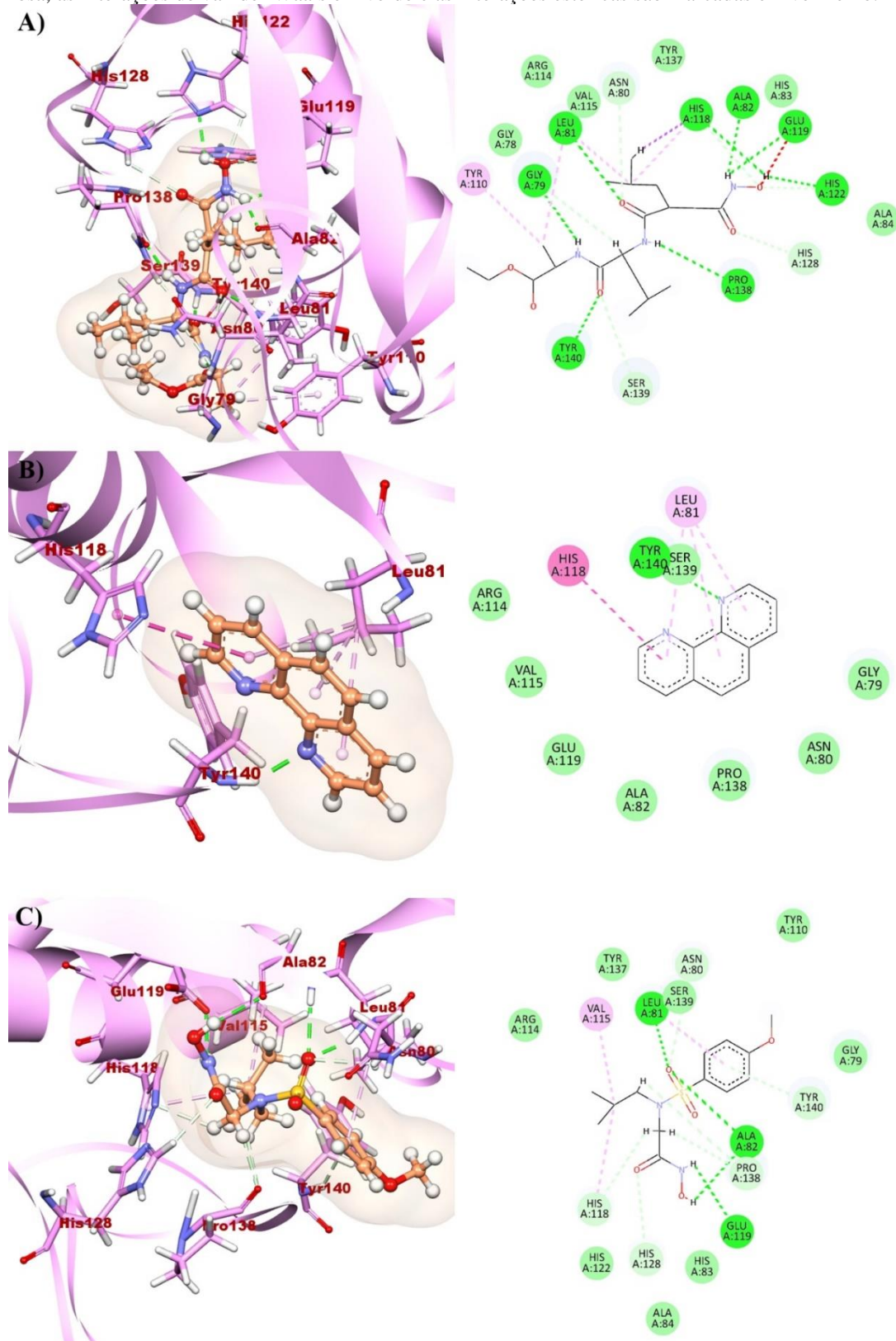
Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 16. Interações em 3D e 2D dos diterpenos abietanos com MMP-1. A) JS1241; B) JS1352; C) JS1513. As ligações de hidrogênio são destacadas por linhas tracejadas verdes, as interações hidrofóbicas são destacadas em rosa, as interações de van der Waals em verde e as interações estéricas são marcadas em vermelho.



Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 17. Interações em 3D e 2D dos controles com MMP-1. A) RO4; B) 1,10-fenantrolina; C) NNGH. As ligações de hidrogênio são destacadas por linhas tracejadas verdes, as interações hidrofóbicas são destacadas em rosa, as interações de van der Waals em verde e as interações estéricas são marcadas em vermelho.



Fonte: Elaborada pela autora.

Tabela 13. Valores das energias de ligação das moléculas e dos controles com a MMP-12.

Molécula	Energia de ligação (kcal/mol)
JS781	-110,205
JS887	-120,618
JS1233	-154,816
JS1241	-103,348
JS1352	-146,037
JS1513	-118,404
HS4	-141,923
1,10-fenantrolina	-82,061
NNGH	-121,554

Fonte: Elaborada pela autora.

Na Tabela 13, as moléculas JS1233 e JS1352 apresentaram energia de ligação menor (-154,816 kcal/mol) e (-146,037 kcal/mol) respectivamente, em comparação com todos os controles, que tiveram valores de -141,923 kcal/mol (o inibidor PDB HS4), -82,061 kcal/mol (1,10-fenantrolina) e -121,554 kcal/mol (NNGH). Além disso foi verificado que todas as moléculas apresentaram energias de ligação mais baixas que o inibidor 1,10-fenantrolina (-82,061 kcal/mol).

No que se refere as interações dos diterpenos abietanos e dos controles com os resíduos de aminoácidos de MMP-12 (Tabela 14), observou-se que todos os diterpenos abietanos e os três controles realizaram interações hidrofóbicas com os resíduos de aminoácido His218 e Leu181. JS887, JS1352, JS1513 e o controle NNGH também formaram interações hidrofóbicas com Leu214 (Figura 18Figura 19Figura 20). Verificou-se que todos os diterpenos abietanos fizeram ligações de hidrogênio com o resíduo Thr239, da mesma maneira que o controle 1,10-fenantrolina. Ainda, JS781, JS887, JS1241, JS1352 e 1,10-fenantrolina interagiram com o resíduo Phe237 através de ligações de hidrogênio. Esses resultados indicam que os diterpenos abietanos possuem potencial para inibir a MMP-12.

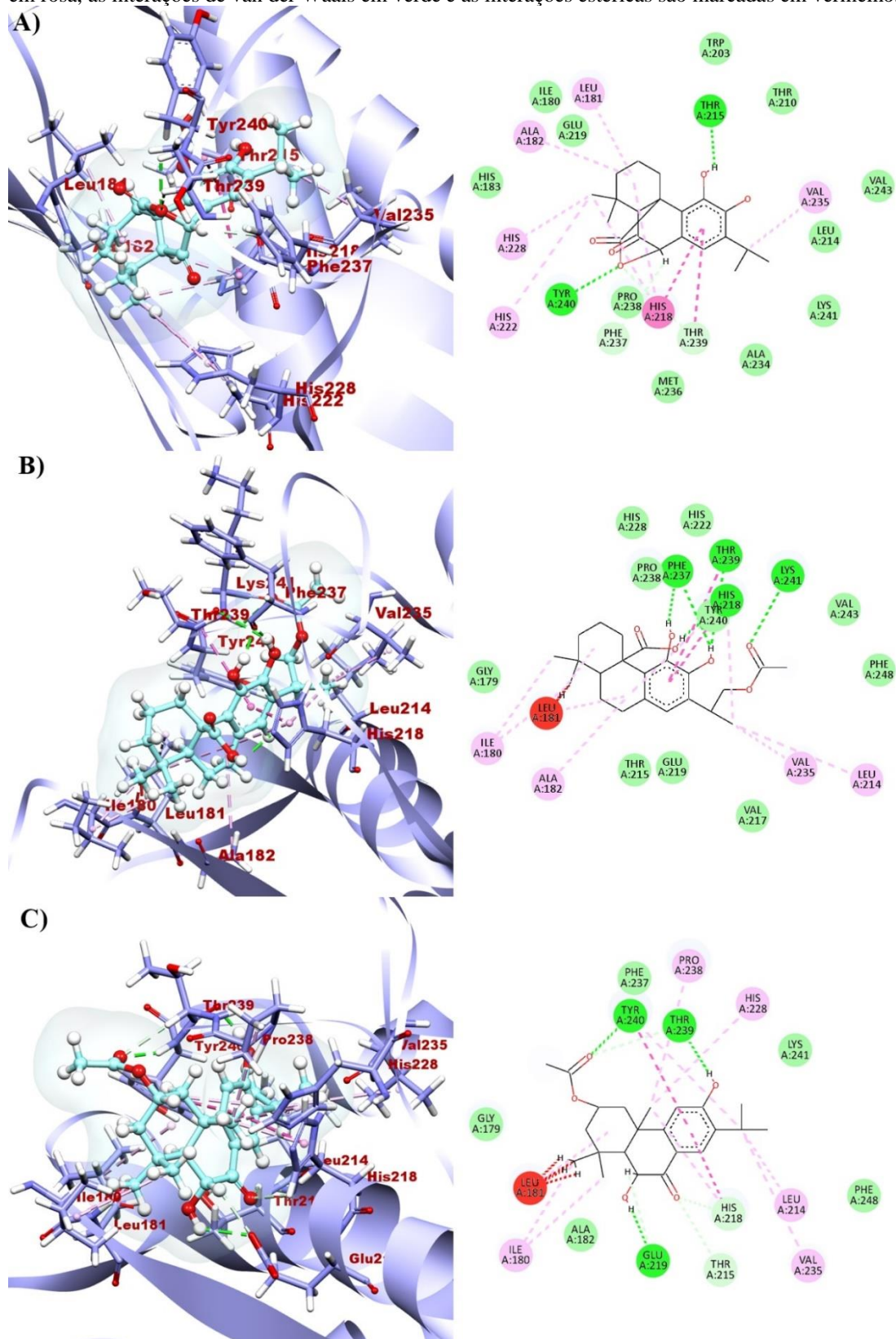
Tabela 14. Interações dos diterpenos abietanos e dos controles com MMP-12.

Molécula	Interações	
	Tipos	Resíduos de aminoácidos
JS781	Hidrogênio	Phe237, Thr239, Tyr240, Lys241
	Hidrofóbica	His218, Thr239, Val235, Ile80, Leu181
	Van der Waals	His228, Pro238, Val217, Tyr242, Trp203, Thr210, Glu219, Ala182, Gly179
	Estérica	Leu181, Thr215, Leu214, His218
	Eletrostática	-
JS887	Hidrogênio	Tyr240, Thr215, Ala234, Phe237, Thr239
	Hidrofóbica	Ala182, Leu181, Val235, Leu214, His218, Ile180, Thr239, His228
	Van der Waals	His183, Glu219, Trp203, Thr210, Phe248, Lys241, Met236, Pro238, His222
	Estérica	Leu181, His218
	Eletrostática	-
JS1233	Hidrogênio	Thr239, Lys241, Val235, Thr215
	Hidrofóbica	His228, Pro238, His218, Thr239, Leu181, Ile180
	Van der Waals	Leu214, Tyr242, Val243, Ala234, Pro232, Lys233, Phe248, Val217, Tyr240, Thr210, Glu219, Ala182, His183, Gly179
	Estérica	Phe237, Val235
	Eletrostática	-
JS1241	Hidrogênio	Thr215, Thr239, Phe237, Tyr240
	Hidrofóbica	Leu181, Val235, Thr239, His218, His222, His228, Ala182
	Van der Waals	Ile180, Glu219, Trp203, Thr210, Val243, Leu214, Lys241, Ala234, Met236, Pro238, His183
	Estérica	-
	Eletrostática	-
JS1352	Hidrogênio	Phe237, Thr239, His218, Lys241
	Hidrofóbica	Thr239, His218, Leu214, Val235, Ala182, Ile180, Leu181
	Van der Waals	His228, Pro238, His222, Tyr240, Val243, Phe248, Val217, Glu219, Thr215, Gly179
	Estérica	Leu181
	Eletrostática	-
JS1513	Hidrogênio	Tyr240, Thr239, His218, Thr215, Glu219

	Hidrofóbica	Pro238, His228, Tyr240, Leu214, Val235, His218, Ile180, Leu181
	Van der Waals	Gy179, Phe237, Lys241, Phe248, Ala182
	Estérica	Leu181
	Eletrostática	-
HS4	Hidrogênio	Ile180, His218, His228, His222, Ala182, Leu181
	Hidrofóbica	His218, Tyr240, Thr239, Leu181
	Van der Waals	Val235, Lys241, Leu214, Pro238, Thr215, Gly179, Glu219, His183, Phe237
	Estérica	-
	Eletrostática	-
1,10-fenantrolina	Hidrogênio	Phe237, Thr239, Pro238
	Hidrofóbica	Leu181, His218, Tyr240
	Van der Waals	Lys241, Val235, Leu214, Thr215, Glu219, Ala182, Ile180
	Estérica	-
	Eletrostática	-
NNGH	Hidrogênio	Leu181, Pro238, His228, Glu219, His218
	Hidrofóbica	Leu181, His218, Leu214, Tyr240
	Van der Waals	Val235, Lys241, Thr215, Thr239, Gly179, Ile180, Phe237, His222, His183, Ala182
	Estérica	-
	Eletrostática	-

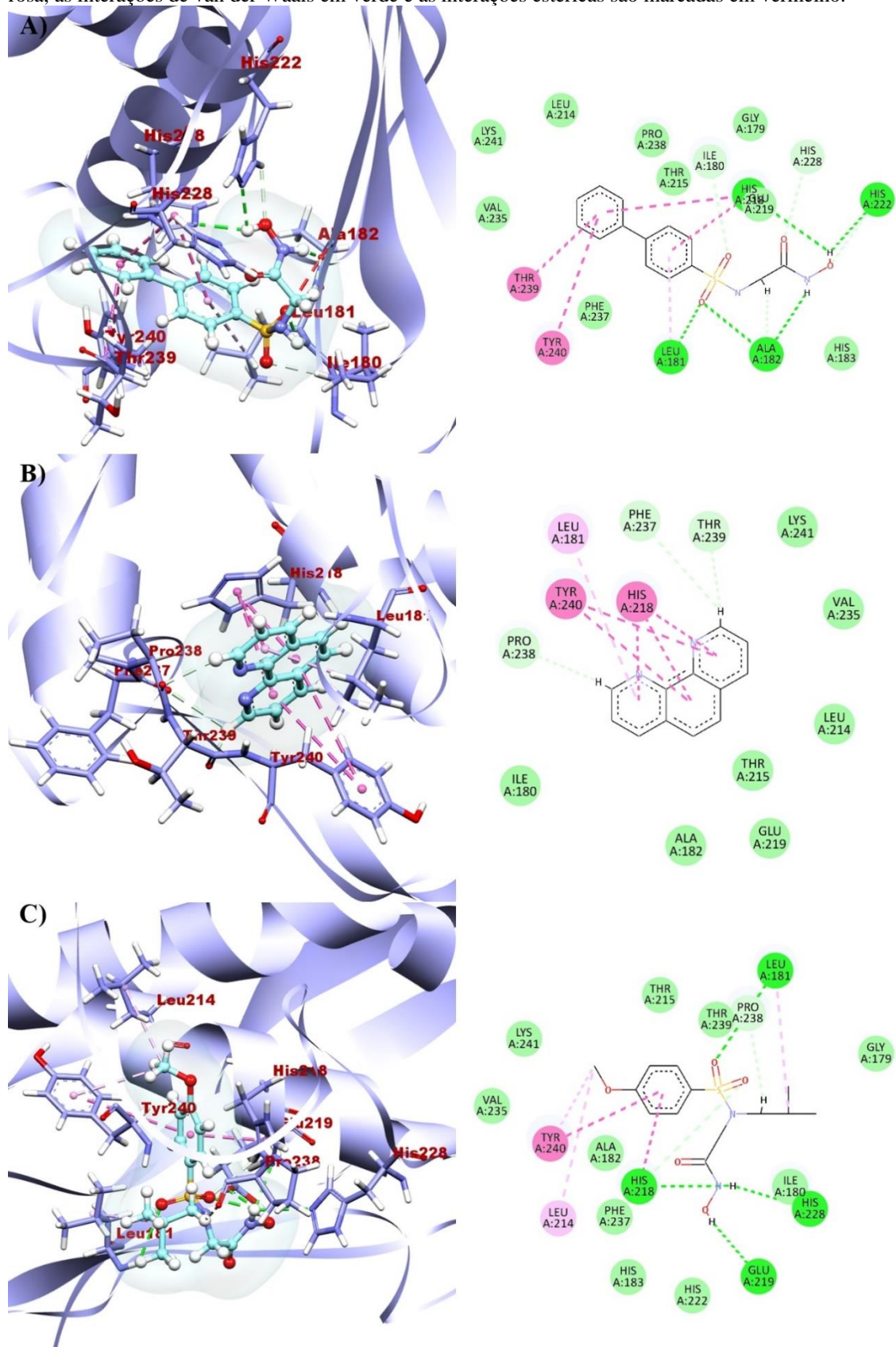
Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 19. Interações em 3D e 2D dos diterpenos abietanos com MMP-12. A) JS1241; B) JS1352; C) JS1513. As ligações de hidrogênio são destacadas por linhas tracejadas verdes, as interações hidrofóbicas são destacadas em rosa, as interações de van der Waals em verde e as interações estéricas são marcadas em vermelho.



Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 20. Interações em 3D e 2D dos controles com MMP-12. A) HS4; B) 1,10-fenantrolina; C) NNGH. As ligações de hidrogênio são destacadas por linhas tracejadas verdes, as interações hidrofóbicas são destacadas em rosa, as interações de van der Waals em verde e as interações estéricas são marcadas em vermelho.



Fonte: Elaborada pela autora.

6. CONCLUSÃO

A partir das análises *in silico* desenvolvidas neste trabalho, foi possível identificar seis diterpenos abietanos promissores contra os alvos do fotoenvelhecimento: JS781, JS887, JS1233, JS1241, JS1352 e JS1513. Conforme os resultados das análises, pode-se fazer as seguintes considerações:

- No estudo de QSAR, os diterpenos abietanos demonstraram semelhanças estruturais com as moléculas bioativas utilizadas para criar os modelos e apresentaram possíveis atividades contra MMP-1 e MMP-12.
- Na análise dos riscos de citotoxicidade, os diterpenos abietanos e seus metabólitos não exibiram riscos de toxicidade, com exceção do M3, M6 e M8. Entretanto, eles demonstraram um menor risco comparado ao inibidor de MMPs 1,10-fenantrolina. Diante disso, os diterpenos abietanos obtiveram bons resultados na avaliação dos riscos de citotoxicidade.
- Na verificação das violações à regra dos cinco de Lipinski, os seis diterpenos abietanos tiveram peso molecular <500 g/mol, sugerindo que são moléculas pequenas que podem atravessar com mais facilidade as membranas biológicas. Também se observou que todos os diterpenos abietanos são mais lipofílicos e não violaram a regra dos cinco de Lipinski, indicando que eles provavelmente possuem um perfil adequado para absorção oral.
- Os resultados obtidos no programa Volsurf+ demonstraram que os diterpenos abietanos possuem regiões hidrofóbicas e hidrofílicas. JS1352 estava mais relacionada com os descritores de solubilidade, apresentando um melhor perfil de solubilidade em comparação com os outros diterpenos abietanos estudados. Também observou-se que os diterpenos abietanos realizaram várias interações com a sonda NH, indicando que eles podem aceitar ligações de hidrogênio. Eles também interagiram com a sonda O de carbonila, sendo capazes de doar ligações de hidrogênio.
- Nos procedimentos de *docking* molecular, todos os diterpenos abietanos apresentaram valores de energia de ligação menores do que a do controle 1,10-fenantrolina, quando ancorados com MMP-1 e MMP-12. Os diterpenos abietanos e os controles realizaram interações similares com alguns resíduos de

aminoácido dos dois alvos, através de ligações de hidrogênio ou de interações hidrofóbicas.

- Diante dos resultados, conclui-se que os seis diterpenos abietanos selecionados na triagem virtual apresentaram propriedades físico-químicas adequadas e possivelmente exibem atividade contra os alvos do fotoenvelhecimento, MMP-1 e MMP-12. Logo, são necessários estudos experimentais para testar sua atividade contra esses alvos.

REFERÊNCIAS

ABUALKIBASH, Munther. Machine Learning in Network Security Using KNIME Analytics. **International Journal of Network Security & Its Applications**, [s. l.], v. 11, n. 5, p. 1–14, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.5121/ijnsa.2019.11501>

ACEVEDO, Chonny Herrera *et al.* Machine learning models to select potential inhibitors of acetylcholinesterase activity from Sistemax: a natural products database. **Molecular Diversity**, [s. l.], v. 25, n. 3, p. 1553–1568, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11030-021-10245-z>

AHER, Rahul Balasaheb; KHAN, Kabiruddin; ROY, Kunal. A Brief Introduction to Quantitative Structure-Activity Relationships as Useful Tools in Predictive Ecotoxicology. *In: METHODS IN PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY*. [S. l.: s. n.], 2020. p. 27–53. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0150-1_2

ALBERTS, B *et al.* **Biologia Molecular da Célula**. [S. l.]: Artmed Editora, 2017. *E-book*.

ALTÊ, Glorister Alves. **Planejamento Computacional de Inibidores da glutathione peroxidase 4- GPX4**. 91 f. 2022. - Universidade Federal de Santa Catarina, [s. l.], 2022.

ALVES, Vinicius M *et al.* CHEMINFORMATICS: AN INTRODUCTION. **Química Nova**, [s. l.], v. 41, n. 2, p. 202–212, 2018.

ARAÚJO, Daniel Lopes *et al.* Natural Products With Anticancer Activity: A Review Of In Vitro, In Vivo And Molecular Docking Assays. **RECIMA21 - Revista Científica Multidisciplinar - ISSN 2675-6218**, [s. l.], v. 3, n. 1, p. 15, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.47820/recima21.v3i1.899>

ÁVILA, Luma Aquino; PRIMO, Fabian Teixeira. A utilização de antioxidantes orais na fotoproteção: revisão sistemática. **VITTALLE - Revista de Ciências da Saúde**, [s. l.], v. 33, n. 2, p. 97–108, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.14295/vittalle.v33i2.12399>

AZMI, Muhammad Bilal *et al.* In silico investigation on alkaloids of Rauwolfia serpentina as potential inhibitors of 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase. **Saudi Journal of Biological Sciences**, [s. l.], v. 28, n. 1, p. 731–737, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.10.066>

BARONI, Adone *et al.* Structure and function of the epidermis related to barrier properties. **Clinics in Dermatology**, [s. l.], v. 30, n. 3, p. 257–262, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2011.08.007>

BAROROH, S.SI., M.BIOTEK., Umi *et al.* Molecular interaction analysis and visualization of protein-ligand docking using Biovia Discovery Studio Visualizer. **Indonesian Journal of Computational Biology (IJCB)**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 22, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.24198/ijcb.v2i1.46322>

BASUKI, Sovia Aprina; MAULANASARI, Neva Melinda; ASTUTI, Engrid Juni. Toxicity on Class of Antibiotic Agents Using Toxtree Software and Its Interaction with Its Receptors Using Molecular Virtual Docker Software. [s. l.], v. 2, n. Hsic, p. 175–180, 2017. Disponível em:

<https://doi.org/10.2991/hsic-17.2017.28>

BAUMANN, Leslie *et al.* Clinical Relevance of Elastin in the Structure and Function of Skin. **Aesthetic Surgery Journal Open Forum**, [s. l.], v. 3, n. 3, p. 1–8, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/asjof/ojab019>

BENTO, Bruna Silva. **Fotoenvelhecimento cutâneo: Processo|Produtos**. 78 f. 2015. - Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, [s. l.], 2015.

BERTINI, Ivano *et al.* Exploring the subtleties of drug-receptor interactions: The case of matrix metalloproteinases. **Journal of the American Chemical Society**, [s. l.], v. 129, n. 9, p. 2466–2475, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ja065156z>

BOCHEVA, Georgeta *et al.* Protective Role of Melatonin and Its Metabolites in Skin Aging. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 23, n. 3, p. 1–23, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms23031238>

BOCHEVA, Georgeta; SLOMINSKI, Radomir M.; SLOMINSKI, Andrzej T. Neuroendocrine aspects of skin aging. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 20, n. 11, p. 1–19, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms20112798>

BOO, Yong Chool. Up- or Downregulation of Melanin Synthesis Using. **Biomedicines**, [s. l.], v. 8, 2020.

BORGES, Larissa Pacheco; AMORIM, Víctor Alves. Metabólitos Secundários De Plantas. **Plant Physiology**, [s. l.], p. 590–610, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/9781108486392.022>

BORKAKOTI, N. *et al.* Structure of the catalytic domain of human fibroblast collagenase complexed with an inhibitor. **Nature Structural & Molecular Biology**, [s. l.], v. 1, n. 2, p. 106–110, 1994. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nsb0294-106>

BRAGA, Lucas Souza. **Uso de protetor solar e deficiência de vitamina D na infância e adolescência: uma revisão sistemática**. 38 f. 2014. - Universidade Federal Da Bahia, [s. l.], 2014.

BREDA, Pedro Luís de Castro Lanzoni. Tratamento com vitaminas antioxidantes no envelhecimento cutâneo: revisão de literatura / Treatment with antioxidant vitamins in skin aging: literature review. **Brazilian Journal of Health Review**, [s. l.], v. 5, n. 2, p. 5252–5266, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.34119/bjhrv5n2-107>

BREWER, David *et al.* **Molecular basis of sun-induced premature skin ageing and retinoid antagonism**. [S. l.: s. n.], 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/379335a0>

BRITO, Monique Araújo de. Pharmacokinetic study with computational tools in the medicinal chemistry course. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 47, n. 4, p. 797–805, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1984-82502011000400017>

CARVALHO, Mariana Francisca Simões. **Fotoenvelhecimento da Pele: Fisiopatologia Molecular e Prevenção**. 1–61 f. 2014. - Universidade Fernando Pessoa, [s. l.], 2014.

CAVALCANTI, Élide Batista Vieira Sousa. **Estudos quimiotaconômicos e triagem virtual de flavonoides Isolados da família asteraceae com potencial atividade Leishmanicida**. 298 f. 2018. - Universidade Federal da Paraíba, [s. l.], 2018.

CHANDRASEKARAN, Balakumar *et al.* Computer-Aided Prediction of Pharmacokinetic (ADMET) Properties. *In: DOSAGE FORM DESIGN PARAMETERS*. [S. l.]: Elsevier Inc., 2018. v. 2, p. 731–755. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814421-3.00021-X>

CHEN, Zhou *et al.* Heat modulation of tropoelastin, fibrillin-1, and matrix metalloproteinase-12 in human skin in vivo. **Journal of Investigative Dermatology**, [s. l.], v. 124, n. 1, p. 70–78, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.0022-202X.2004.23550.x>

CHICCO, Davide; JURMAN, Giuseppe. The advantages of the Matthews correlation coefficient (MCC) over F1 score and accuracy in binary classification evaluation. **BMC Genomics**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 1–13, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12864-019-6413-7>

CIMATTI, Helen Mariana Baldan. **Farmacocinética pré-clínica e avaliação toxicológica do novo composto α -2-adrenérgico 3- (2-cloro-6-fluorobenzil)-imidazolidina-2-4-diona - PT-31 GIRSUPAN**. 131 f. 2013. - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, [s. l.], 2013.

COSTA, Matheus Matos; FARIAS, Ana Paula Andrade; OLIVEIRA, César Augusto Batasini. A importância dos fotoprotetores na minimização de danos a pele causados pela radiação solar. **Brazilian Journal of Development**, [s. l.], v. 7, n. 11, p. 101855–101867, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.34117/bjdv7n11-011>

COSTA, Renan P.O. *et al.* The SistematX Web Portal of Natural Products: An Update. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [s. l.], v. 61, n. 6, p. 2516–2522, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.1c00083>

COSTA, Wesley Santos. **Modelos de aprendizado de máquina para avaliação preditiva de ecotoxicidade de agrotóxicos em apis mellífera**. 2021. - Universidade Evangélica De Goiás, [s. l.], 2021.

COTINGUIBA, George Gomes *et al.* Método de Avaliação da Defesa Antioxidante: Uma Revisão de Literatura. **UNOPAR Cient., Ciênc. biol. saude**, [s. l.], v. 15, n. 3, p. 231–237, 2013.

CRISTINA, Bárbara *et al.* Antioxidantes como forma de prevenção contra a ação dos radicais livres no processo de envelhecimento cutâneo. [s. l.], p. 1–10, 2020.

CRIVORI, Patrizia *et al.* Model based on GRID-derived descriptors for estimating CYP3A4 enzyme stability of potential drug candidates. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, [s. l.], v. 18, n. 3, p. 155–166, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1023/B:JCAM.0000035184.11906.c2>

CUI, Ning; HU, Min; KHALIL, Raouf A. Biochemical and Biological Attributes of Matrix Metalloproteinases. **Gene**, [s. l.], v. 147, n. 1, p. 1–73, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.02.005>.Biochemical

D'ORAZIO, John *et al.* UV radiation and the skin. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 14, n. 6, p. 12222–12248, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms140612222>

DAINA, Antoine; ZOETE, Vincent. Application of the SwissDrugDesign Online Resources in Virtual Screening. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 20, n. 18, p. 4612, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms20184612>

DAR, Khalid Bashir *et al.* Modern Computational Strategies for Designing Drugs to Curb Human Diseases: A Prospect. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 18, n. 31, p. 2702–2719, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1568026619666190119150741>

DEHDASHTIAN, Amir *et al.* Anatomy and physiology of the skin. **Melanoma: A Modern Multidisciplinary Approach**, [s. l.], p. 15–26, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-319-78310-9_2

DEMEULE, Michel *et al.* Matrix metalloproteinase inhibition by green tea catechins. **Biochimica et Biophysica Acta- Protein Structure and Molecular Enzymology**, [s. l.], v. 1478, n. 1, p. 51–60, 2000. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0167-4838\(00\)00009-1](https://doi.org/10.1016/S0167-4838(00)00009-1)

EKSI, Gulnur; KURBANOGLU, Sevinc; ERDEM, Sinem Aslan. Analysis of diterpenes and diterpenoids. *In: RECENT ADVANCES IN NATURAL PRODUCTS ANALYSIS*. [S. l.]: Elsevier, 2020. p. 313–345. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816455-6.00009-3>

ELIAS, Thiago Castilho. **Simulação computacional de mutações em plasmodium Falciparum que podem conferir resistência e busca de novos Fármacos capazes de combater o mutante**. 81 f. 2014. - Universidade Federal De Alfenas, [s. l.], 2014. Disponível em: <http://elibrary.almaata.ac.id/1714/%0Ahttps://osf.io/yejcm/%0Ahttp://elibrary.almaata.ac.id/%0Ahttps://bmjopen.bmj.com/lookup/doi/10.1136/bmjopen-2019-030624%0Ahttps://ppjp.ulm.ac.id/journal/index.php/JPKMI/article/view/2758%0Ahttp://stikara.ac.id/jupermik>

ESTEVEES, Arthur Caputo. **Derivados do ácido fumárico utilizados no tratamento de esclerose múltipla: um overview**. 2021. - Universidade Federal De São Paulo – Unifesp, [s. l.], 2021.

ESTEVEES, Maria Luiza D'Agostini Borges; BRANDÃO, Byron José Figueiredo. Colágeno e o Envelhecimento Cutâneo. **BWS Journal**. 2022 Julho; v, [s. l.], v. 5, p. 1–10, 2022. Disponível em: <https://bwsjournal.emnuvens.com.br/bwsj/article/view/161/177>

FACHINELLI, Aldo. **Fibras elásticas da parede abdominal anterior em pacientes com hérnia ventral**. 2010. - Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio, [s. l.], 2010.

FAGHIHI, Gita *et al.* The effectiveness of a 5% retinoic acid peel combined with microdermabrasion for facial photoaging: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. **Dermatology Research and Practice**, [s. l.], 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2017/8516527>

FANG, Jiansong *et al.* In silico polypharmacology of natural products. **Briefings in Bioinformatics**, [s. l.], v. 19, n. 6, p. 1153–1171, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/bib/bbx045>

FELIPE, Lorena O.; BICAS, Juliano L. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Química Nova na Escola**, [s. l.], v. 39, n. 2, p. 120–130, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.21577/0104-8899.20160068>

FÉLIX, Mayara Barbalho. **Design racional de fármacos auxiliado por computador com vistas ao direcionamento da síntese de novos derivados híbridos tiofeno-indólicos para o tratamento da leishmaniose**. 144 f. 2020. - Universidade Federal da Paraíba, [s. l.], 2020.

FERNANDES, Mariane Ballerini. **Permeabilidade in vitro e in silico de análogos à nifuroxazida com atividade potencial frente a cepas multirresistentes de Staphylococcus aureus**. 2012. - Universidade de São Paulo, [s. l.], 2012.

FIRDAYANI, Firdayani *et al.* Molecular Docking and Dynamic Simulation Studies of Benzoylated Emodin into HBV Core Protein. **Journal of Young Pharmacists**, [s. l.], v. 10, n. 2s, p. S20–S24, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.5530/jyp.2018.2s.5>

FRANCINE, Samara *et al.* Avaliação Das Consequências Do Uso Inadequado Do Filtro Solar. **Revista Transformar**, [s. l.], p. 372–386, 2021.

FRANCO, Daiana P. *et al.* The importance of coumarins for medicinal chemistry and the development of bioactive compounds in the last years. **Química Nova**, [s. l.], v. 44, n. 2, p. 180–197, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170654>

GÁBOROVÁ, Mária; ŠMEJKAL, Karel; KUBÍNOVÁ, Renata. Abietane diterpenes of the genus *Plectranthus* sensu lato. **Molecules**, [s. l.], v. 27, n. 1, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules27010166>

GARCIA-HERNANDEZ, Carlos; FERNÁNDEZ, Alberto; SERRATOSA, Francesc. Learning the Edit Costs of Graph Edit Distance Applied to Ligand-Based Virtual Screening. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 20, n. 18, p. 1582–1592, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1568026620666200603122000>

GILCHREST, Barbara A. Photoaging. **Journal of Investigative Dermatology**, [s. l.], v. 133, p. E2–E6, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/skinbio.2013.176>

GONZÁLEZ, Miguel A. Aromatic abietane diterpenoids: their biological activity and synthesis. **Natural Product Reports**, [s. l.], v. 32, n. 5, p. 684–704, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/C4NP00110A>

GORDON, Jennifer R.S.; BRIEVA, Joaquin C. Unilateral Dermatoheliosis. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 366, n. 16, p. e25, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1056/nejmicm1104059>

GRAYER, Renée J. *et al.* Differences in diterpenoid diversity reveal new evidence for separating the genus: *Coleus* from *Plectranthus*. **Natural Product Reports**, [s. l.], v. 38, n. 10, p. 1720–1728, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/d0np00081g>

GREEN, A. C. *et al.* Factors associated with premature skin aging (photoaging) before the age of 55: A population-based study. **Dermatology**, [s. l.], v. 222, n. 1, p. 74–80, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000322623>

GRISONI, Francesca; CONSONNI, Viviana; TODESCHINI, Roberto. Impact of Molecular Descriptors on Computational Models. *In*: BROWN, J. B. (org.). **Computational Chemogenomics. Methods in Molecular Biology**. New York: Humana Press, 2018. v. 1825, p. 171–209. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8639-2_5

GROMKOWSKA-KEPKA, Krystyna Joanna *et al.* The impact of ultraviolet radiation on skin photoaging — review of in vitro studies. **Journal of Cosmetic Dermatology**, [s. l.], v. 20, n. 11, p. 3427–3431, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jocd.14033>

HAN, Anne; CHIEN, Anna L.; KANG, Sewon. Photoaging. **Dermatologic Clinics**, [s. l.], v. 32, n. 3, p. 291–299, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.det.2014.03.015>

HELFRICH, Yolanda Rosi; SACHS, Dana L.; VOORHEES, John J. Overview of skin aging and photoaging. **Dermatology nursing / Dermatology Nurses' Association**, [s. l.], v. 20, n. 3, p. 177–184, 2008.

HUANG, Amy H.; CHIEN, Anna L. Photoaging: a Review of Current Literature. **Current Dermatology Reports**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 22–29, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13671-020-00288-0>

HUDSON, Caroline; BRISSETT, Anthony; CARNIOL, Paul. Analysis and Assessment of Facial Aging. **Current Otorhinolaryngology Reports**, [s. l.], v. 9, n. 4, p. 415–421, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s40136-021-00369-z>

JACKSON, Hilary A; MARSELLA, Rosanna. **BSAVA manual of canine and feline dermatology**. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association, 2021. (BSAVA manuals series).

KAMMEYER, A.; LUITEN, R. M. Oxidation events and skin aging. **Ageing Research Reviews**, [s. l.], v. 21, p. 16–29, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.arr.2015.01.001>

KHOLOD, Yana *et al.* Computer-Aided Drug Discovery: Molecular Docking of Diminazene Ligands to DNA Minor Groove. **Journal of Chemical Education**, [s. l.], v. 95, n. 5, p. 6, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.7b00989>

KONG, Yue; YAN, Aixia. QSAR models for predicting the bioactivity of Polo-like Kinase 1 inhibitors. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, [s. l.], v. 167, n. April, p. 214–225, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2017.06.011>

KRUTMANN, Jean *et al.* The skin aging exposome. **Journal of Dermatological Science**, [s. l.], v. 85, n. 3, p. 152–161, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2016.09.015>

LAWTON, Sandra. Skin 1: the structure and functions of the skin. **Nursing Times**, [s. l.], v. 115, n. 12, p. 30–33, 2019.

LIM, Hyun; KIM, Hyun Pyo. Inhibition of mammalian collagenase, matrix metalloproteinase-1, by naturally-occurring flavonoids. **Planta Medica**, [s. l.], v. 73, n. 12, p. 1267–1274, 2007.

Disponível em: <https://doi.org/10.1055/s-2007-990220>

LIU, Ruifeng *et al.* 2D SMARTCyp reactivity-based site of metabolism prediction for major drug-metabolizing cytochrome P450 enzymes. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [s. l.], v. 52, n. 6, p. 1698–1712, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ci3001524>

LIU, Tao *et al.* Recent advances in the anti-aging effects of phytoestrogens on collagen, water content, and oxidative stress. **Phytotherapy Research**, [s. l.], v. 34, n. 3, p. 435–447, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ptr.6538>

MAIA, Eduardo Habib Bechelane *et al.* Structure-Based Virtual Screening: From Classical to Artificial Intelligence. **Frontiers in Chemistry**, [s. l.], v. 8, n. April, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00343>

MAIA, Mayara S. *et al.* Lignans and Neolignans Anti-tuberculosis Identified by QSAR and Molecular Modeling. **Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening**, [s. l.], v. 23, n. 6, p. 504–516, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1386207323666200226094940>

MEDEIROS, Ayala Formiga *et al.* Os efeitos das Metaloproteínas da matriz extracelular - MMPS e clorexidina no mecanismo de adesão dentária. **Rev. Salusvita (Online)**, [s. l.], v. 38, n. 4, p. 1127–1149, 2019. Disponível em: https://secure.unisagrado.edu.br/static/biblioteca/salusvita/salusvita_v38_n4_2019/salusvita_v38_n4_2019_art_17.pdf

MENEZES, Sabrina Lima Murussi. Plantas E Metabólitos Secundários: Uma Proposta Para O Ensino De Química Orgânica. [s. l.], p. 01–127, 2020.

MERCURIO, Daiane Garcia. **Caracterização da pele fotoenvelhecida, desenvolvimento e eficácia clínica de formulações dermocosméticas por técnicas de biofísica e análise de imagem**. 209 f. 2015. - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, [s. l.], 2015.

MIGUEL, Eduardo; FERREIRA, Baptista. **Calcinose Cutânea Em Cães: Revisão de Literatura e Descrição de 3 Casos Clínicos**. 2022. - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, [s. l.], 2022.

MILLER, W H; GRIFFIN, C E; CAMPBELL, K L. **Muller and Kirk's Small Animal Dermatology**. [S. l.]: Elsevier Health Sciences, 2012. *E-book*.

MISHRA, Ganesh Prasad; SHARMA, Rajesh. Identification of Potential PPAR γ Agonists as Hypoglycemic Agents: Molecular Docking Approach. **Interdisciplinary Sciences – Computational Life Sciences**, [s. l.], v. 8, n. 3, p. 220–228, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12539-015-0126-7>

MONTAGNER, Suelen; COSTA, Adilson. Bases biomoleculares do fotoenvelhecimento. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, [s. l.], v. 84, n. 3, p. 263–269, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0365-05962009000300008>

MONTEIRO, Alex France Messias; SCOTTI, Marcus Tullius; SCOTTI, Luciana. In Silico Studies of Potentially Active 2-Amino-Thiophenic Derivatives Against HIV-1. **International**

Journal of Quantitative Structure-Property Relationships, [s. l.], v. 5, n. 2, p. 100–119, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.4018/IJQSPR.2020040104>

MOURA, Érika Paiva. **Estudo in silico de flavonoides e compostos análogos pertencentes à família asteraceae contra a doença de alzheimer**. 2021. - Universidade Federal da Paraíba, [s. l.], 2021.

NASCIMENTO, César Augusto. Caracterização funcional de terpeno sintases de citros. [s. l.], p. 1–62, 2016.

NELSON, David; COX, Michael. **Princípios de Bioquímica**. 6. ed. [S. l.: s. n.], 2014.

NEVES, Bruno J. *et al.* Automated framework for developing predictive machine learning models for data-driven drug discovery. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [s. l.], v. 32, n. 1, p. 110–122, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20200160>

NEVES, Bruno J. *et al.* QSAR-Based Virtual Screening: Advances and Applications in Drug Discovery. **Frontiers in Pharmacology**, [s. l.], v. 9, n. NOV, p. 1–7, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01275>

NORONHA, Mariana David Miranda de. **Tendências mais recentes na fotoproteção**. 81 f. 2014. - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, [s. l.], 2014.

NOWOTKA, Michał M. *et al.* Using ChEMBL web services for building applications and data processing workflows relevant to drug discovery. **Expert Opinion on Drug Discovery**, [s. l.], v. 12, n. 8, p. 757–767, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/17460441.2017.1339032>

OH, Jung Hwan *et al.* Antiphotaging effect of 3,5-dicaffeoyl-epi-quinic acid against uva-induced skin damage by protecting human dermal fibroblasts in vitro. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 21, n. 20, p. 1–12, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms21207756>

OLIVEIRA, M. A. *et al.* Aplicação De Terpenos Como Agentes Analgésicos: Uma Prospecção Tecnológica. [s. l.], v. 4, p. 033–039, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.7198/s2318-3403201400020005>

PANDEL, Ruza *et al.* Skin Photoaging and the Role of Antioxidants in Its Prevention. **ISRN Dermatology**, [s. l.], p. 1–11, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2013/930164>

PANDEY, Surabhi; SINGH, B.K. De-novo Drug Design, Molecular Docking and In-Silico Molecular Prediction of AChEI Analogues through CADD Approaches as Anti-Alzheimer's Agents. **Current Computer-Aided Drug Design**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 19, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1573409915666190301124210>

PANTALEAO, Simone Q. *et al.* The Role of QSAR and Virtual Screening Studies in Type 2 Diabetes Drug Discovery. **Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 13, n. 8, p. 706–720, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1573406413666170522152102>

PINTO, Marina Sofia Sousa. **Fotoenvelhecimento: Prevenção e Tratamento**. 69 f. 2014. - Universidade do Algarve Faculdade de Ciências e Tecnologia, [s. l.], 2014.

PITTAYAPRUEK, Pavida *et al.* Role of matrix metalloproteinases in Photoaging and photocarcinogenesis. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 17, n. 6, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms17060868>

POON, Flora; KANG, Sewon; CHIEN, Anna L. Mechanisms and treatments of photoaging. **Photodermatology Photoimmunology and Photomedicine**, [s. l.], v. 31, n. 2, p. 65–74, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/phpp.12145>

POVÓA, Guilherme; DINIZ, Lucia Martins. Growth hormone system: Skin interactions. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, [s. l.], v. 86, n. 6, p. 1159–1165, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0365-05962011000600015>

PRESTES, Rosa Cristina. Colágeno e Seus Derivados: Características e Aplicações em Produtos Cárneos. **UNOPAR Cient., Ciênc. biol. saude**, [s. l.], 2013.

QARAGHULI, Mohammed; KUBIAK-OSSOWSKA, Karina; MULHERAN, Paul. Thinking outside the Laboratory: Analyses of Antibody Structure and Dynamics within Different Solvent Environments in Molecular Dynamics (MD) Simulations. **Antibodies**, [s. l.], v. 7, n. 3, p. 21, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antib7030021>

QUAN, Taihao; FISHER, Gary J. Role of age-associated alterations of the dermal extracellular matrix microenvironment in human skin aging: A mini-review. **Gerontology**, [s. l.], v. 61, n. 5, p. 427–434, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000371708>

REBELO, Emanuelle Bittencourt *et al.* Exposição solar e envelhecimento precoce em trabalhadores praianos do município de Salinópolis/Pa. **Estudos Interdisciplinares sobre o Envelhecimento**, [s. l.], v. 23, n. 3, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.22456/2316-2171.83350>

RIBEIRO, Frederico Fávaro. **Uso De Ferramentas Do Planejamento Racional De Fármacos Auxiliado Por Computador Aplicado a Uma Série De Tiossemicarbazonas E Seus Bioisósteros Frente À Doença De Chagas**. 2018. - Universidade Federal de Pernambuco, [s. l.], 2018.

RICO, Gustavo A. Llanos *et al.* Collagen type i biomaterials as scaffolds for bone tissue engineering. **Polymers**, [s. l.], v. 13, n. 4, p. 1–20, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/polym13040599>

RODRIGUES, Ana Rita Miradouro; LOPES, Carla martins. **Produtos Naturais na Descoberta de Fármacos**. 53 f. 2018. - Universidade Fernando Pessoa, [s. l.], 2018.

ROLIM, Ana Emília Holanda. **Estudo in vivo de materiais biomiméticos, associados ou não à administração enteral de estrôncio, para o reparo de defeito ósseo**. 217 f. 2013. - Universidade Federal da Bahia, [s. l.], 2013.

SACHDEVA, Silonie. Fitzpatrick skin typing: Applications in dermatology. **Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology**, [s. l.], v. 75, n. 1, p. 93–96, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.4103/0378-6323.45238>

SALAHINEJAD, M.; GHASEMI, J. B. 3D-QSAR studies on the toxicity of substituted benzenes to *Tetrahymena pyriformis*: CoMFA, CoMSIA and VolSurf approaches. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s. l.], v. 105, n. 1, p. 128–134, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.05.011>

em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.11.019>

SALEM, Mohamed A. *et al.* Using an UPLC/MS-based untargeted metabolomics approach for assessing the antioxidant capacity and anti-aging potential of selected herbs. **RSC Advances**, [s. l.], v. 10, n. 52, p. 31511–31524, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/D0RA06047J>

SANTOS, L. G. dos; ROCHA, M. S. da. O uso de antioxidantes orais na fotoproteção. **Revista Acadêmica Oswaldo Cruz**, [s. l.], v. 11, p. 1–8, 2016.

SANTOS, Victória Laysna Dos Anjos; GONSALVES, Arlan De Assis; ARAÚJO, Cleônia Roberta Melo. Didactic approach for the development of bioactive molecules: Lipinski's five-rule and preparation of 1,3,4-oxadiazol heterocyclic in domestic microwave oven. **Química Nova**, [s. l.], v. 41, n. 1, p. 110–115, 2018.

SCHALKA, Sergio; DOS REIS, Vitor Manoel Silva. Fator de proteção solar: Significado e controvérsia. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, [s. l.], v. 86, n. 3, p. 9, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0365-05962011000300013>

SCHWARTZ, Stephen R.; PARK, Joosang. Ingestion of BioCell Collageno, a novel hydrolyzed chicken sternal cartilage extract, enhanced blood microcirculation and reduced facial aging signs. **Clinical Interventions in Aging**, [s. l.], v. 7, p. 267–273, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/CIA.S32836>

SCOTTI, Luciana *et al.* Experimental methodologies and evaluations of computer-aided drug design methodologies applied to a series of 2-aminothiophene derivatives with antifungal activities. **Molecules**, [s. l.], v. 17, n. 3, p. 2298–2315, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules17032298>

SHEN, Chao *et al.* From machine learning to deep learning: Advances in scoring functions for protein–ligand docking. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 1–23, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/wcms.1429>

SIDDIQUI, Sahabjada *et al.* Virtual screening of phytoconstituents from miracle herb nigella sativa targeting nucleocapsid protein and papain-like protease of SARS-CoV-2 for COVID-19 treatment. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, [s. l.], v. 40, n. 9, p. 3928–3948, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1852117>

SILVA, Lorena Maione. **Encapsulação da vitamina c em lipossomas para o tratamento do envelhecimento cutâneo: desenvolvimento tecnológico, analítico e avaliação da performance biológica in vitro em modelos de permeação cutânea e em linhagens celulares de queratinócitos e fibrobl.** 2016. - Universidade Federal de Goiás, [s. l.], 2016.

SILVA, Paulo Daniel. **Compostos Fenólicos e Terpenos de Myrcia hiemalis e Myrcia myrtifolia (Myrtaceae) Compostos Fenólicos e Terpenos de Myrcia hiemalis e Myrcia myrtifolia (Myrtaceae).** 227 f. 2012. - Universidade Federal da Bahia, [s. l.], 2012.

SILVA, Rhanna *et al.* Planejamento de fármacos contra covid-19: uma experiência de ensino remoto de química farmacêutica. **Química Nova**, [s. l.], v. 46, n. 4, p. 381–389, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20230020>

SILVA, Raylander Rodrigues. Estudo Da Especificidade Das MMPs E Suas Interações Com Potenciais Inibidores Por Meio De Modelagem Molecular. [s. l.], p. 69, 2023.

SOUSA, Catarina Alexandra Alcobaça. **Melanossomas e tráfego de vesículas na pigmentação da pele e cabelo**. 2020. - Universidade de Lisboa, [s. l.], 2020.

SOUSA, Júlio César Araújo. **Carvacrol e Irgasan como carrapaticidas: estudo de formulação e análise de custos**. 2019. - Universidade Federal do Maranhão, [s. l.], 2019.

SOUZA, Patrick Gomes de; CASTRO, Marcia Seixas de; SILVA, Leidiane Pereira da. A Biologia Da Proliferação Fibroblástica: a Excessiva Deposição Extracelular De Colágeno Durante O Reparo De Lesões Na Pele. **Brazilian Journal of Development**, [s. l.], v. 7, n. 3, p. 28989–29010, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.34117/bjdv7n3-560>

SOUZA, Maria; BRANDÃO, Byron. Recomendações do uso de protetor solar: revisão da literatura. **BWS Journal**, [s. l.], p. 1–9, 2019.

SWOMLEY, Aaron M. *et al.* Abeta, oxidative stress in Alzheimer disease: Evidence based on proteomics studies. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease**, [s. l.], v. 1842, n. 8, p. 1248–1257, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2013.09.015>

SYDOW, Dominique *et al.* TeachOpenCADD-KNIME: A Teaching Platform for Computer-Aided Drug Design Using KNIME Workflows. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [s. l.], v. 59, n. 10, p. 4083–4086, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.9b00662>

T'JOLLYN, H. *et al.* Evaluation of three state-of-the-art metabolite prediction software packages (Meteor, MetaSite, and StarDrop) through independent and synergistic use. **Drug Metabolism and Disposition**, [s. l.], v. 39, n. 11, p. 2066–2075, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1124/dmd.111.039982>

TA, Giang Huong *et al.* Development of a hierarchical support vector regression-based in silico model for Caco-2 permeability. **Pharmaceutics**, [s. l.], v. 13, n. 2, p. 1–26, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13020174>

TAYLOR, Jennifer H.; ROSEN, Cheryl F. Systemic Photoprotection. **Current Dermatology Reports**, [s. l.], v. 9, n. 3, p. 181–188, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13671-020-00306-1>

TOBIN, Desmond J. Introduction to skin aging. **Journal of Tissue Viability**, [s. l.], v. 26, n. 1, p. 37–46, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jtv.2016.03.002>

TRACY, Lauren E.; MINASIAN, Raquel A.; CATERSON, E. J. Extracellular Matrix and Dermal Fibroblast Function in the Healing Wound. **Advances in Wound Care**, [s. l.], v. 5, n. 3, p. 119–136, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/wound.2014.0561>

VARELA-RIAL, Alejandro; MAJEWSKI, Maciej; FABRITIIS, Gianni. Structure based virtual screening: Fast and slow. **WIREs Computational Molecular Science**, [s. l.], v. 12, n. 2, p. 1–17, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/wcms.1544>

VASCONCELOS, Rebeca Horn. **Alterações Dermatomorfológicas De Camundongos Inoculados Com O Veneno Total Da Serpente Philodryas Nattereri (Dipsadidae)**. 1–67 f. 2015. - Universidade Estadual do Ceará, [s. l.], 2015.

VÁZQUEZ, Javier *et al.* Merging Ligand-Based and Structure-Based Methods in Drug Discovery: An Overview of Combined Virtual Screening Approaches. **Molecules**, [s. l.], v. 25, n. 20, p. 4723, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules25204723>

VEERAMANI, kandan P. *et al.* Opuntiol prevents photoaging of mouse skin via blocking inflammatory responses and collagen degradation. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [s. l.], v. 2020, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2020/5275178>

VENTURA, Thiago Meirelles. **Criação de um ambiente computacional para detecção de outliers e preenchimento de falhas em dados meteorológicos**. 2015. - Universidade Federal de Mato Grosso, [s. l.], 2015.

VILLA REAL, Luana *et al.* Ensino de estatística por meio da geometria dos fractais. [s. l.], 2015.

WALTERS, W. Patrick. Going further than Lipinski's rule in drug design. **Expert Opinion on Drug Discovery**, [s. l.], v. 7, n. 2, p. 99–107, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1517/17460441.2012.648612>

WANG, Lei *et al.* Anti-photoaging and anti-melanogenesis effects of fucoidan isolated from *Hizikia fusiforme* and its underlying mechanisms. **Marine Drugs**, [s. l.], v. 18, n. 8, p. 1–12, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/MD18080427>

WANG, Shuai *et al.* Docking-based virtual screening of TβR1 inhibitors: Evaluation of pose prediction and scoring functions. **BMC Chemistry**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 1–8, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13065-020-00704-3>

WANG, Zhe *et al.* Combined strategies in structure-based virtual screening. **Physical Chemistry Chemical Physics**, [s. l.], v. 22, n. 6, p. 3149–3159, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/C9CP06303J>

WANICK, Fabiana Braga França. **Estudo Da Remodelação Dérmica Induzida Pela Aplicação Intradérmica Do Ácido Hialurônico Na Pele Fotoenvelhecida**. 154 f. 2016. - Universidade Federal Fluminense, [s. l.], 2016.

WEIHERMANN, A. C. *et al.* Elastin structure and its involvement in skin photoageing. **International Journal of Cosmetic Science**, [s. l.], v. 39, n. 3, p. 241–247, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ics.12372>

WONGRATTANAKAMON, Pathomwat *et al.* Investigation of the Skin Anti-photoaging Potential of Swertia chirayita Secoiridoids Through the AP-1/Matrix Metalloproteinase Pathway by Molecular Modeling. **International Journal of Peptide Research and Therapeutics**, [s. l.], v. 25, n. 2, p. 517–533, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10989-018-9695-8>

YAO, Wanzi *et al.* Current trends in the anti-photoaging activities and mechanisms of dietary

non-starch polysaccharides from natural resources. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [s. l.], v. 62, n. 32, p. 9021–9035, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1939263>

YIN, Rui; CHEN, Qiquan; HAMBLIN, Michael R. Skin aging and photoaging. *In: SKIN PHOTOAGING*. [s. l.]: Morgan & Claypool Publishers, 2015. v. 2, p. 1-1-1–4. Disponível em: <https://doi.org/10.1088/978-1-6270-5455-3ch1>

YOUSEF, Hani; ALHAJJ, Mandy; SHARMA, Sandeep. **Anatomy, Skin (Integument), Epidermis**. [s. l.]: StatPearls Publishing, Treasure Island (FL), 2022. *E-book*.

ZHANG, Jia-an *et al.* The Protective Effect of Baicalin against UVB Irradiation Induced Photoaging: An In Vitro and In Vivo Study. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 9, n. 6, p. 1–13, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099703>

ZHANG, Shoubing; DUAN, Enkui. Fighting against Skin Aging: The Way from Bench to Bedside. **Cell Transplantation**, [s. l.], v. 27, n. 5, p. 729–738, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/0963689717725755>

ZOUBOULIS, Christos C. *et al.* Aesthetic aspects of skin aging, prevention, and local treatment. **Clinics in Dermatology**, [s. l.], v. 37, n. 4, p. 365–372, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2019.04.002>

ZOUBOULIS, Christos C.; MAKRANTONAKI, Eugenia; NIKOLAKIS, Georgios. When the skin is in the center of interest: An aging issue. **Clinics in Dermatology**, [s. l.], v. 37, n. 4, p. 10, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2019.04.004>

APÊNDICES

PRODUÇÕES CIENTÍFICAS

1. *Targets Involved in Skin Aging and Photoaging and their Possible Inhibitors: A Mini-review*

DOI: 10.2174/1389450124666230719105849

2. *Epileptic Targets and Drugs: A Mini-Review*

DOI: 10.2174/1389450123666220927103715

3. *Proposition of In silico Pharmacophore Models for Malaria: A Review*

DOI: 10.2174/0113862073247691230925062440