Quality and Durability of Agricultural and Food Staffs

e ISSN: 2783-3410

Journal Homepage: https://sanad.iau.ir/journal/qafj/

Research Paper

Ligand Engineering Based on Kojic Acid for Safe Tyrosinase Inhibition in Cosmetic and Agricultural Industries

Reza Farrokhi*, Dadkhoda Ghazanfari

Department of Chemistry, KeC., Islamic Azad University, Kerman, Iran

Received: 04/07/2025, **Accepted:** 27/07/2025

Abstract

Tyrosinase is a key enzyme in the melanogenesis pathway, and its inhibition plays a crucial role in treating pigmentation disorders and preventing enzymatic browning in agricultural products. Conventional tyrosinase inhibitors such as kojic acid and hydroquinone, although effective, pose significant clinical limitations due to toxicity and carcinogenic risks. In this study, a novel ligand with the molecular formula $C_{14}H_{22}O_4$ was designed using molecular docking and in silico drug design techniques to inhibit tyrosinase more safely and effectively. Active sites of the enzyme were identified using Molegro Virtual Docker, and docking simulations were performed via PyRx. Comparative analysis revealed that the engineered ligand exhibited stronger binding affinity than kojic acid, with a significantly higher LD_{50} (over sevenfold) and no evidence of toxicity or carcinogenicity. ADME-Tox and ProTox analyses confirmed the compound's pharmacological safety. The findings suggest that this engineered ligand is a promising low-toxicity tyrosinase inhibitor with potential applications in cosmetics, pharmaceuticals, and agriculture particularly for enhancing postharvest stability of crops by reducing enzymatic browning.

Keywords: Tyrosinase, Molecular docking, Low-toxicity inhibitor, Melanogenesis, Agriculture, Kojic acid

Citation: Farrokhi R, Ghazanfari D, Ligand Engineering Based on Kojic Acid for Safe Tyrosinase Inhibition in Cosmetic and Agricultural Industries. *Quality and Durability of Agricultural Products and Food Stuffs*, 2025; 4(4): 64-79.

DOI: https://doi.org/10.71516/qafj.2025.1211065

© The Author(s) **Publisher:** Islamic Azad University of Kerman, Iran

***Corresponding author** Reza Farrokhi, **Email:** Rezafarrokhi53@gmail.com

Extended Abstract

Introduction

Tyrosinase is a copper-containing enzyme that plays a pivotal role in melanogenesis, a biochemical pathway responsible for melanin biosynthesis in living organisms. Overproduction of melanin can lead to hyperpigmentation disorders such as melasma and even malignant melanoma. In agriculture, tyrosinase activity is also a major cause of enzymatic browning in postharvest fruits and vegetables, reducing their aesthetic and commercial value. Inhibiting tyrosinase is therefore critical not only in therapeutic and cosmetic applications but also in food preservation and crop enhancement. Although commonly used tyrosinase inhibitors like kojic acid, hydroquinone, arbutin, and rhododendrol have shown effectiveness, they come with significant clinical and safety limitations, including toxicity, allergenicity, and carcinogenic potential. Thus, there is a critical need for the development of safer and more effective tyrosinase inhibitors, especially those suitable for broad use across cosmetic, pharmaceutical, and agricultural domains. The objective of this study was to design and evaluate a novel ligand, derived structurally from kojic acid, that could inhibit tyrosinase with improved safety and efficacy. Using advanced in silico tools, molecular docking, and ADME-Tox evaluations, the study aimed to introduce a low-toxicity alternative suitable for real-world applications.

Methods

This study employed a descriptive-analytical in silico approach involving several computational stages. The crystal structure of the tyrosinase enzyme (PDB ID: 5M8P) was obtained from the RCSB PDB database. Chain A, with the highest resolution, was selected as the target for docking simulations. Active binding sites were identified using Molegro Virtual Docker.Candidate ligands with high affinity for tyrosinase were selected from the ZINC database. Their 3D structures were extracted in SDF format from PubChem. A total of ten ligands were shortlisted based on binding affinities greater than 3000 nM.Using AutoDock Vina via PyRx software, docking simulations assessed the binding energies and interaction potentials between ligands and the active sites of tyrosinase. All selected ligands were evaluated through FAF-Drugs4 for their absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity profiles. Filters like PAINS and undesirable substructures were used to screen compounds for drug-likeness. Ligands were further analyzed for LD_{50} values, toxicity class, and potential carcinogenicity or mutagenicity using ProTox-II. Due to unsatisfactory safety profiles of most candidates, including kojic acid, ligand engineering was conducted using HyperChem software. A novel ligand with the formula $C_{14}H_{22}O_4$ was developed through structural optimization and iteration. The engineered ligand underwent the same docking and ADME-Tox procedures and was compared against kojic acid in terms of binding affinity, toxicity, and pharmacokinetic properties.

Results and Discussion

The docking analysis showed that the engineered ligand $C_{14}H_{22}O_4$ exhibited a binding affinity of –6.5 kcal/mol, outperforming kojic acid (–6.0 kcal/mol). In ADME-Tox profiling, the new ligand passed all drug-likeness filters and was classified as “Accepted”, whereas kojic acid was rejected due to unfavorable pharmacokinetics and low molecular weight. Toxicity assessment revealed a significant safety improvement: the engineered ligand had an LD_{50} of 4000 mg/kg and was categorized as Toxicity Class 5 (low toxicity), in contrast to kojic acid’s LD_{50} of 550 mg/kg and

classification in Toxicity Class 3. ProTox-II analysis confirmed that the engineered ligand showed no signs of hepatotoxicity, carcinogenicity, immunotoxicity, or mutagenicity. The compound's structural design improved its hydrophobic balance and molecular weight, making it more compatible for skin penetration and agricultural formulation without the associated risks of existing inhibitors. The results support the hypothesis that rational ligand engineering, based on natural compounds like kojic acid, can yield safer and more effective tyrosinase inhibitors. The study not only achieved a higher binding affinity but also ensured a significantly safer toxicological profile, making the new compound highly promising for industrial applications. In the cosmetic industry, the engineered ligand offers an effective alternative for skin-lightening products, especially in light of the banning or restriction of hydroquinone and rhododendrol in many countries. In agriculture, it provides a bio-safe method to delay enzymatic browning in perishable crops, potentially reducing postharvest losses and enhancing commercial shelf-life. Importantly, while studies such as those by Shao et al. (2018) and Larik et al. (2017) have explored the synthesis of novel inhibitors, they often lacked comprehensive safety profiling. This study fills that gap by integrating pharmacokinetic, toxicological, and molecular interaction analyses in a unified framework.

Conclusion

This research successfully introduces a novel ligand ($C_{14}H_{22}O_4$) derived from kojic acid, engineered to safely and effectively inhibit tyrosinase. Its superior safety profile, stronger binding to the enzyme's active site, and favorable ADME characteristics make it a viable candidate for real-world applications in cosmetics, agriculture, and pharmaceuticals. Future directions include in vitro and in vivo validation of its biological efficacy, stability studies, and formulation development. The study demonstrates the power of in silico techniques in modern drug discovery and highlights a sustainable path toward the development of safer bioactive compounds for human and environmental health.

Keywords: Tyrosinase, Molecular docking, Low-toxicity inhibitor, Melanogenesis, Agriculture, Kojic acid.

Funding: There was no external funding in this study.

Authors' contribution: All authors contributed equally to the writing and preparation of this manuscript.

Conflict of interest: The author declares that there is no conflict of interest.

کیفیت و ماندگاری تولیدات کشاورزی و موادغذایی

شاپا الکترونیکی: ۳۴۱۰-۲۷۸۳

Journal Homepage: https://sanad.iau.ir/journal/qafj/

واحد کرمان

مقاله پژوهشی

مهندسی لیگاند مبتنی بر اسید کوجیک جهت مهار ایمن تیروزیناز در صنایع آرایشی و کشاورزی

رضا فرخی*، دادخدا غضنفری

گروه شیمی، واحد کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان، ایران

دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۱۳ **پذیرش:** ۱۴۰۴/۰۵/۰۵

چکیده

تیروزیناز آنزیمی کلیدی در مسیر تولید ملانین است که مهار آن نقش مهمی در درمان اختلالات پیگمانتاسیون و کاهش قهوه‌ای شدن محصولات کشاورزی دارد. مهارکننده‌های رایج تیروزیناز نظیر اسید کوجیک و هیدروکینون با وجود اثربخشی، به‌دلیل سمیت و عوارض جانبی نظیر سرطان‌زایی، محدودیت‌های بالینی دارند. در این پژوهش، با بهره‌گیری از روش‌های بیوانفورماتیکی و طراحی مولکولی در محیط in silico، یک لیگاند جدید با ساختار $C_{14}H_{22}O_4$ به‌منظور مهار تیروزیناز طراحی شد. جایگاه‌های فعال آنزیم با استفاده از نرم‌افزار Molegro Virtual Docker شناسایی و آنالیز داکینگ با نرم‌افزار PyRx انجام گرفت. مقایسه این لیگاند با اسید کوجیک نشان داد که ترکیب جدید دارای قدرت اتصال قوی‌تر، سمیت کمتر (LD_{50}) بیش از ۷ برابر، و فاقد عوارض سرطان‌زایی است. آنالیزهای ADME-Tox و ProTox نیز ایمنی بالای ترکیب را تأیید کردند. یافته‌ها حاکی از آن است که لیگاند طراحی‌شده می‌تواند جایگزینی مؤثر و کم‌خطر برای مهار تیروزیناز در صنایع آرایشی، دارویی و کشاورزی، به‌ویژه در افزایش ماندگاری پس‌ازبرداشت محصولات کشاورزی از طریق کاهش پدیده قهوه‌ای شدن آنزیمی‌باشد.

واژه‌های کلیدی: تیروزیناز، داکینگ مولکولی، مهارکننده کم‌سمیت، ملانوژنز، کشاورزی، اسید کوجیک

استناد: رضا فرخی، دادخدا غضنفری، مهندسی لیگاند مبتنی بر اسید کوجیک جهت مهار ایمن تیروزیناز در صنایع آرایشی و کشاورزی، (۱۴۰۴)، کیفیت و ماندگاری تولیدات کشاورزی و موادغذایی، دوره۴، شماره۴، صفحات ۶۴-۷۹.

DOI: https://doi.org/10.71516/qafj.2025.1211065

© نویسندگان

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان، ایران

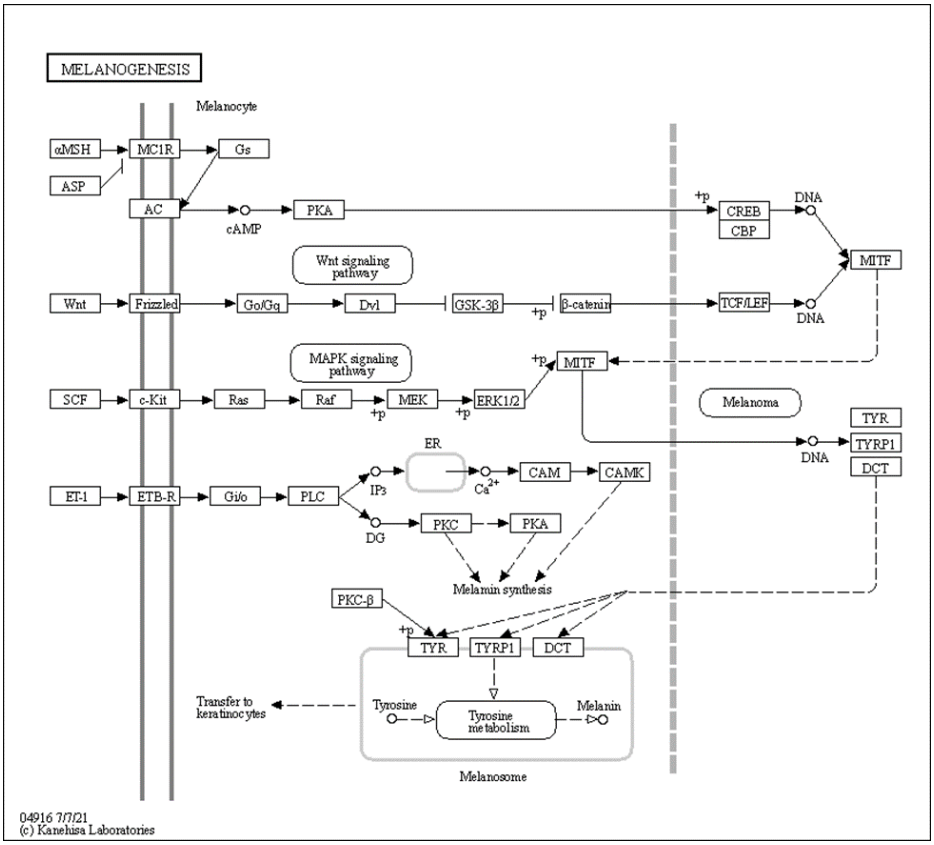
*نویسنده مسئول: رضا فرخی، پست الکترونیک: ma.ghane@iau.ac.ir

مقدمه

ملانین، رنگدانه‌ای طبیعی است که در سلول‌های پوست تولید می‌شود و طیفی از رنگ زرد تا سیاه را شامل می‌شود(۱). این ترکیب یک بیوپلیمر ناهمگن با ساختاری پیچیده است که عمدتاً به‌منظور محافظت از پوست در برابر اشعه فرابنفش تولید می‌شود. افزون بر این، ملانین نقش‌های مهمی در بدن ایفا می‌کند؛ از جمله عملکرد آن به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی که می‌تواند در کاهش التهابات بدن مؤثر باشد. التهابات مزمن ممکن است زمینه‌ساز بروز بیماری‌های قلبی‌عروقی، مشکلات چشمی، بیماری‌های التهابی روده و اختلالات مرتبط با سالمندی شوند(۲،۳). همچنین، ملانین می‌تواند موجب افزایش ترشح هورمون ملاتونین در بدن شود(۴). تولید بیش‌ازحد ملانین در برخی از موارد می‌تواند منجر به بروز بیماری‌های پوستی شود. برخی عوامل مانند افزایش تولید هورمون‌های جنسی در دوران بارداری، تغییرات هورمونی در دوران بلوغ، تعریض لکه‌های پوستی به دلیل آفتاب‌سوختگی و بیماری‌های پوستی، مصرف برخی داروها، وراثت و غیره می‌تواند باعث افزایش تولید ملانین گردد (۵). از جمله بیماری‌هایی که درنتیجه افزایش تولید ملانین در بدن ایجاد می‌شوند، می‌توان به هیپرپیگمنتاسیون و ملانوما اشاره کرد. هیپرپیگمنتاسیون به‌صورت تیره شدن نواحی خاصی از پوست به‌دلیل تجمع بیش‌ازحد ملانین بروز می‌کند و معمولاً بی‌خطر است، اما می‌تواند از نظر زیبایی‌شناسی آزاردهنده باشد. در مقابل، ملانوما نوعی سرطان پوست است که از سلول‌های ملانوسیت منشأ می‌گیرد و در صورت عدم تشخیص و درمان به‌موقع می‌تواند بسیار تهاجمی و خطرناک باشد(۱). هیپرپیگمنتاسیون به افزایش رنگدانه‌ها در پوست گفته می‌شود و معمولاً با پوستی تیره و لکه‌دار همراه است(۵) . درحالی‌که ملانوما یک نوع سرطان پوستی است که ناشی از سلول‌های ملانوسیتی در پوست است که با افزایش تولید ملانین همراه است(۵). بنابراین، برای پیشگیری از بروز این دسته از بیماری‌ها، ضروری است از گسترش لکه‌های پوستی ناشی از آفتاب‌سوختگی جلوگیری شود و نسبت به عوارض جانبی برخی داروها دقت بیشتری صورت گیرد. افزون بر این، تولید بیش‌ازحد ملانین می‌تواند در بروز پیری زودرس نقش داشته باشد. همچنین برخی اختلالات پوستی مانند کلواسما که با تغییر رنگ پوست همراه‌اند، معمولاً با افزایش تولید ملانین در ارتباط هستند(۶). ملانوما یا سرطان پوستی، نوعی سرطان است که از سلول ملانوسیتی (سلول‌های تولیدکننده‌ی ملانین) پوست شروع می‌شود. این نوع سرطان در اکثر موارد به دلیل ایجاد تغییراتی در DNA سلول‌های پوستی شروع می‌شود (۷). ملانوما ممکن است در هر قسمتی از بدن رخ دهد اما بیشتر در مناطقی که از تابش نور خورشید بیشتری تحت تأثیر است و افرادی به شدت پوست روشنی دارند که حساس به نور خورشید می‌باشند، بیشتر در معرض خطر بروز ملانوما قرار دارند (۷). اگر ملانوما در مراحل اولیه تشخیص داده و درمان شود، معمولاً قابل‌درمان است. اما در صورت عدم تشخیص یا درمان نادرست، ممکن است به نوعی خطرناک از سرطان پوست تبدیل شده و به سایر نقاط بدن گسترش یابد. در برخی موارد، این گسترش می‌تواند گسترده باشد و ملانوما را به عنوان یکی از انواع پیش‌رونده و بسیار خطرناک سرطان پوستی مطرح کند (۷). از بعد زیبایی‌شناختی، قدمت استفاده از لوازم‌آرایشی به بیش از ۱۰۰۰۰ سال می‌رسد. در این بین تقریباً ۱۵درصد از جمعیت جهان برای محصولات روشن‌کننده‌ی پوست حاضر به سرمایه‌گذاری می‌باشند (۸). در سال ۲۰۲۰ بازار جهانی عوامل روشن‌کننده پوست به ۲۳ میلیارد دلار رسید (۸). تنها در کشور هند در سال ۲۰۱۰، ۴۳۲ میلیون دلار برای کرم‌ها روشن‌کننده پوست هزینه شده است(۸). در صنعت ضدآفتاب، پارامتر استانداردی به نام "عامل محافظت در برابر آفتاب[1]" وجود دارد که به‌طور مستقیم میزان محافظت پوست در برابر اشعه ماوراءبنفش نوعB ، عامل اصلی آفتاب‌سوختگی، را اندازه‌گیری می‌کند. در شرایط استاندارد، میزان SPF به سه رده تقسیم می‌شود: SPF کمتر از ۲۰، بین ۲۰ تا ۵۰، و بالاتر از ۵۰. با این وجود، حتی بالاترین درجات SPF نیز نمی‌توانند به‌طور کامل مانع نفوذ همه‌ی اشعه‌های مضر ماوراءبنفش شوند(۹). مسیر سیگنالینگ ملانوژنز با استیمولاسیون پروتئین G-coupled receptors شروع می‌شود. این پروتئین‌ها در سطح سلول پیگمانتی واقع شده‌اند و در پاسخ به ایجاد تحریک، تغییرات شیمیایی را

[1] Sun Protection Factor (SPF)

درون سلول ایجاد می‌کنند(۱۰). استیمولاسیون پروتئین G-coupled receptors باعث فعال‌سازی پروتئین (MAPK) می‌شود. این پروتئین چند عملکردی یک کیناز است که به سرعت فعال می‌شود و به عنوان فعال‌کننده‌ی مهم مسیر سیگنالینگ ملانوژنز عمل می‌کند (۱۰). فعال‌سازی (MAPK) باعث فعال‌سازی فاکتور رگولاتوری موجود در میتوکندری می‌شود.این فاکتور باعث فعال‌سازی آدنوزین سیکلاز، که درنهایت به افزایش میزان AMP سیکلیک منجر می‌شود، نیز می‌شود(۱۱). افزایش میزان AMPسیکلیک باعث فعال‌سازی پروتئین کیناز CDK4[1] می‌شود. این پروتئین به همراه سایر پروتئین‌های دیگر، به تشکیل کمپلکس پروتئینی Cyclin D-CDK4 منجر می‌شود (۶). Cyclin D-CDK4 باعث فعال شدن میتفین (MITF) TF می‌شود، این فاکتور ارانسکریپی به عنوان عامل مهمی در تنظیم ژن‌های مرتبط با ملانوژنز و تولید ملانین عمل می‌کند (۱۱).



شکل ۱- مسیر سیگنالینگ ملانوژنز از پایگاه داده KEGG

[1] Cyclin-dependent kinase 4

تیروزینـاز (EC: 1,14,18,1) یـک آنـزیم دارای مـس می‌باشد (۶ یون مس دارد.). دلیل انتخـاب واژه تیروزینـاز برای این آنزیم نـام سوبسـترا معمـول آن یعنـی تیـروزین است(۱). نـام‌هـای دیگـر آن پلی‌فنـول اکسـیداز (PPO)، تیروزین- L دوپـا، اکسـیژن اکسـیدوردوکتاز، کـاتکولاز و دی‌فنـول اکسـیداز اسـت(۱۱). آنـزیم تیروزینـاز یکـی از آنزیم‌هایی است که در مسیر سـیگنالینگ ملانـوژنز نقـش مهمی دارد. این آنزیم در مرحله‌ی اولیه ایـن مسـیر بـرای فعال‌سـازی پـروتئین G-coupled receptors اسـتفاده می‌شود(۱۲). پروتئین G-coupled receptors پروتئینی است که در سطح سلول قرار دارد و با وجود ورود سیگنال هورمون‌ها و نور، فعال می‌شود و باعث انتقال سـیگنال بـه داخل سلول می‌شود. برای فعال شدن این پروتئین، نیاز به اتصـال مـاده‌ای بـه نـام گوانـوزین تری‌فسـفات (GTP) دارد(۱۱). بـه‌منظور ایجـاد اتصـال GTP بـه پـروتئین G-coupled receptors نیاز به آنزیم تیروزینـاز و واحـد پروتئینـی GTP-binding(Ga) اسـت. در ایـن فراینـد، آنزیم تیروزینـاز تیـروزین را بـه دوامـین تبـدیل می‌کنـد. دوامین به عنوان ماده‌ای است که در این مسیر بـه جـای GTP استفاده می‌شود و سیگنال‌ها به داخل سلول منتقل می‌شوند (۱۲). بنابراین نقـش آنـزیم تیروزینـاز در مسـیر سـیگنالینگ ملانـوژنز، فعال‌سـازی G-coupled receptors برای انتقال سـیگنال بـه داخـل سلول و شروع مراحل بعدی مسـیر سـیگنالینگ ملانـوژنز می‌باشـد(۱۱). بـرای درک بهتـر عملکـرد و نقـش آنـزیم تیروزینـاز در مسـیر سـیگنالینگ ملانـوژنز و چگـونگی فعال‌سازی پروتئین G-coupled receptors در ادامه بـه عملکرد این پروتئین پرداخته شده است(۱۳). پروتئین-G coupled receptorsیا همان گیرنده‌های جفت شونده با پروتئین G یکی از انواع گیرنده‌های سطح سلولی هسـتند که نقش مهمی در انتقال سیگنال‌های خـارجی بـه داخـل سلول دارند. این گیرنده‌ها شامل یـک پـروتئین G و سـه زنجیـره‌ی پلی‌پپتیـدی هسـتند کـه به‌صـورت مسـتقل از یکدیگر عمل می‌کنند(۶). هنگامی‌که یک سیگنال خارجی (مثل هورمون) با گیرنده تعامل پیدا می‌کند، پـروتئین G به‌صورت مستقیم با گیرنـده ارتبـاط برقـرار می‌کنـد و بـه جایATP ، GTPبـه پـروتئین G متصـل می‌شـود. ایـن اتصـال موجـب فعـال شـدن پـروتئین G می‌شـود (۱۱). سـپس، پـروتئین G فعـال شـده بـه کمـک زنجیـره‌ی پلی‌پپتیدی خود، به آنزیم آدنیلات سیکلاز متصل می‌شود و باعث تولید cAMP شده و سـپس cAMP بـه کمـک پروتئین کیناز A (PKA) به سـایر پروتئین‌هـای داخلـی سلول متصل می‌شود و انتقال سیگنال از سطح سلولی بـه داخل سلول انجام می‌گیرد (۶). با توجـه بـه اینکـه بـرای فعال‌سـازی پـروتئین G-coupled receptors نیـاز بـه اتصال GTP هست آنزیم تیروزیناز می‌تواند در این مرحله به عنوان کمک‌کننده نقش ایفا کند. این آنـزیم بـا تبـدیل تیروزین به دوامین این کار را انجام می‌دهـد(۱۱). اگرچـه تیروزیناز به‌طور گسترده در میکروارگانیسـم‌ها، گیاهـان و حیوانات وجـود دارد ولـی بـه دلیـل شـباهت زیـاد آنـزیم تیروزیناز قارچی به نوع انسانی، مطالعـات زیـادی بـر روی آنزیم تیروزیناز در قـارچ خـوراکی *Agaricus bisporus* انجام گرفتـه اسـت(۱۴). ایـن آنـزیم قـارچی، در سـاختار کریستالی دارای دو تترامر H2L2 است کـه زیرواحـدهای آن توسـط یـون‌هـای هـالمیوم بـه هـم متصـل شـده‌اند. زیرواحدهای H دومین تیروزینازی و هرکـدام از آن‌هـا بـه دو یون مـس و یـک H دومـین تیروزینـازی و هرکـدام از آن‌ها به دو یون مس و یک مولکول تروپـولن)، مهارکننـده آنزیم تیروزینـاز(متصـل شـده اسـت. یـون‌هـای مـس در کئوردینانس با ۶ اسیدآمینه هیسـتیدین His85، His61، His94، His259، His263 و His296 در جایگـــــاه Lectin-like دارای تاخوردگی L فعال و زیرواحدهایی بـا عملکرد نامشخص می‌باشـند(۱۵). بـا اینکـه نقـش اصـلی آنزیم تیروزیناز در تولید ملانین است و ایـن رنگدانـه‌ها از پوست در مقابل آسیب‌های نور فـرابنفش اشـعه خورشـید حفاظت می‌کند اما تغییـر در تولیـد ملانـین بـا تظـاهرات کلینیکی و پاتولوژیکی فـرم بـدخیم ملانومـا ارتبـاط دارد. علاوه بر این تولید بیش‌ازحد ملانـین در لایـه‌های اپیـدرم منجـر بـه تیرگـی پوسـت می‌گـردد، لـذا اسـتفاده از مهارکننده‌های تیروزیناز بـه عنـوان عوامـل مداخلـه‌گر در پیشرفت ملانومـا و یـا بـه عنـوان عوامـل سـفیدکننده در صنعت آرایشی- بهداشتی بسـیار مهـم اسـت(۱۷). ظهـور رنگدانه‌های قهوه‌ای در برخی دیگر از محصولات کشاورزی مانند قارچ، سیب، گلابی و موز ناشی از عملکرد این آنـزیم بوده و سبب کاهش کیفیت و ارزش تجاری این محصولات می‌گردد. به همین دلیل کاربرد مهارکننـده‌های تیروزینـاز در صنایع غذایی و کشاورزی بسیار با ارزش اسـت(۱۶). از طرفـــی نبایـــد عملکـــرد آنـــزیم تیروزینـــاز را در

تشکیل پوسته کیتینی حشرات مضر برای محصولات کشاورزی نادیده گرفت، بنابراین مهارکننده‌های این آنزیم نیز می‌توانند در تولید آفت‌کش‌ها کاربرد داشته باشند. با توجه به موارد گفته‌شده می‌توان به اهمیت مهارکننده‌های آنزیم تیروزیناز پی برد(۱۵). تا به امروز تعداد زیادی از مهارکننده‌های طبیعی و سنتزی گزارش شده است اما سمیت، حساسیت‌زایی و ناپایداری مهارکننده‌ها از جمله مشکلاتی است که در زمینه مهار آنزیم تیروزیناز در صنعت پزشکی، کشاورزی و غذایی وجود دارد؛ بنابراین توسعه مهارکننده‌های جدید پایدار و غیرسمی برای آنزیم تیروزیناز ضروری به نظر می‌رسد(۱۲). مهارکننده‌های آنزیم تیروزیناز، به‌واسطه‌ی نقش محوری در تنظیم بیوسنتز ملانین و سایر رنگدانه‌ها، ظرفیت بالایی برای بهبود فرآیندهای کشاورزی دارند. این ترکیبات با جلوگیری از تشکیل رنگدانه‌های نامطلوب در میوه‌ها و سبزیجاتی مانند سیب (*Malus domestica*) و مو (*Musa paradisiaca*)، موجب ارتقای کیفیت ظاهری و افزایش ارزش تجاری محصولات می‌شوند. همچنین با مهار اکسیداسیون آنزیمی ترکیبات فنلی، از قهوه‌ای شدن پس از برداشت جلوگیری کرده و ماندگاری محصولات را به‌طور چشمگیری افزایش می‌دهند؛ مسئله‌ای که در کاهش ضایعات کشاورزی نقش بسزایی دارد (۱۵). علاوه بر این، این مهارکننده‌ها از طریق تنظیم تجمع رنگدانه‌ها، گیاهان را در برابر استرس‌های محیطی مانند نور فرابنفش و دماهای بالا محافظت کرده و به حفظ سلامت بافت‌های گیاهی کمک می‌کنند. تولید محصولاتی یکنواخت و عاری از نقص ظاهری نیز رقابت‌پذیری در بازارهای جهانی را افزایش داده و رضایت مصرف‌کنندگان را جلب می‌نماید. این ترکیبات همچنین با کاهش میزان اکسیداسیون بافتی، ضایعات پس از برداشت را به حداقل رسانده و پایداری زنجیره تأمین را تقویت می‌کنند(۱۳). از سوی دیگر، امکان تولید محصولات ارگانیک با ظاهر مطلوب، بدون نیاز به مواد شیمیایی مصنوعی، پاسخی به تقاضای فزاینده برای کشاورزی سالم و پایدار محسوب می‌شود. این مهارکننده‌ها با بهبود مقاومت گیاهان در برابر تنش‌هایی همچون نوسانات دمایی و خشکسالی، عملکرد محصول را افزایش می‌دهند(۱۶). در صنایع غذایی نیز با حفظ رنگ طبیعی و ارزش تغذیه‌ای محصولات، کیفیت فرآورده‌های نهایی تضمین می‌گردد. درنهایت، بهره‌گیری از مهارکننده‌های زیست‌سازگار نه‌تنها هزینه‌های تولید را کاهش می‌دهد، بلکه با جایگزینی مواد شیمیایی مضر، گامی مؤثر در راستای کشاورزی پایدار و دوست‌دار محیط‌زیست به شمار می‌رود(۴). تیروزیناز به عنوان آنزیم مسیر سیگنالینگ ملانوژنز هدف اصلی مهارکننده‌های این مسیر سیگنالینگ و درنتیجه مهار تولید ملانین می‌باشد(۶). در بین مهارکننده‌های آنزیم تیروزیناز، اسید کوجیک، هیدروکینون، آربوتین و رودودندرول از رایج‌ترین ترکیبات محسوب می‌شوند(۱۰). این مهارکننده‌ها از ارگانیسم‌هایی مانند *Agaricus bisporus*، *Streptomyces castaneoglobisporus* و *Bacillus megaterium*/ستخراج می‌شوند. بااین‌حال، این ترکیبات با محدودیت‌های بالینی خاصی همراه هستند. به عنوان نمونه، استفاده از هیدروکینون در اروپا ممنوع شده است، چرا که عوارض جانبی شدیدی مانند افت شدید فشارخون دارد که در برخی موارد حتی می‌تواند منجر به مرگ شود. در ایالات‌متحده، استفاده از این ماده در فرمولاسیون‌های دارویی تا غلظت ۲ درصد مجاز است. هرچند سازمان غذا و داروی آمریکا خواستار ممنوعیت کامل آن شده، اما هنوز حکم نهایی دادگاه در این زمینه صادر نشده است(۱۷). آربوتین توسط اتحادیه اروپا برای استفاده در مصارف آرایشی و بهداشتی نایمن معرفی شده است(۱۸). رودودندرول در ژاپن از سال ۲۰۰۸ به عنوان موادمخدر محسوب می‌شود قبل از آن به عنوان یک ماده سفیدکننده در صنعت زیبایی استفاده می‌شد. فرض بر این است که یک مهارکننده رقابتی برای تیروزیناز می‌باشد. تحقیقات و آمار نشان می‌دهد در سال ۲۰۱۳، در ده کشور آسیایی حدود ۲۰۰۰۰ نفر که از محصولات آرایشی حاوی رودودندرول استفاده کرده‌اند پس از استفاده، به لکودرما مبتلا شده‌اند (۹). در مورد اسید کوجیک مطالعات نشان می‌دهد که استفاده از اسید کوجیک در محصولات آرایشی و بهداشتی ممکن است به برخی از مشکلات پوستی مانند آلرژی، خشکی، سوزش و تحریک، چروکیدگی و افزایش حساسیت پوست منجر شود (۱۸). دوز استفاده از اسید کوجیک باید یک درصد یا کمتر باشد تا به پوست آسیب نزند. چون این ترکیب در دوزهای بالاتر باعث جهش پیدا کردن سلول‌های پوستی و سرطان‌زا می‌شود (۱۷). ازآنجاکه مهارکننده‌های رایج آنزیم تیروزیناز مانند اسید کوجیک، هیدروکینون، آربوتین و رودودندرول با عوارضی همچون سمیت، حساسیت‌زایی و سرطان‌زایی همراه هستند، یافتن جایگزین‌هایی ایمن و اثربخش به‌منظور کاربرد در صنایع آرایشی و کشاورزی ضروری است. در این راستا، طراحی ترکیبات نوین با رویکرد بیوانفورماتیکی و بهره‌گیری از روش‌های *in silico* می‌تواند مسیر نوینی را در توسعه مهارکننده‌های تیروزیناز بگشاید. هدف این پژوهش، طراحی و ارزیابی یک لیگاند مهندسی‌شده بر پایه‌ی ساختار اسید کوجیک است که ضمن حفظ یا

افزایش توان مهارکنندگی آنزیم تیروزیناز، عوارض جانبی آن نظیر سمیت و خاصیت سرطان‌زایی را کاهش دهد. این ترکیب می‌تواند به‌عنوان مهارکننده‌ای ایمن در صنایع آرایشی، دارویی و کشاورزی مورد استفاده قرار گیرد.

روش کار

این پژوهش به‌صورت توصیفی-تحلیلی انجام شد و هدف آن طراحی لیگاندی بود که بیشترین اثر مهارکنندگی را بر مسیر ملانوژنز داشته و درعین‌حال، عوارض جانبی و سمیت آن به حداقل برسد. به همین منظور، از روش‌های طراحی دارو به‌صورت ***in silico***بهره گرفته شد. تمامی مراحل تحقیق با استفاده از یک رایانه دارای پردازنده هشت‌هسته‌ای Intel Core i5 و سیستم‌عامل ویندوز ۱۰ (نسخه ۶۴ بیتی) انجام شده است.

پروتئین هدف

با توجه به نقش مهم و کلیدی آنزیم تیروزیناز، این پروتئین به عنوان پروتئین هدف انتخاب گردید ساختار سه‌بعدی پروتئین از پایگاه داده RCSB PDB گرفته شد(PDB ID : 5M8P). در انتخاب ساختار رعایت شد که ساختار حداقل دارای وضوح ۲/۵ آنگستروم باشد.

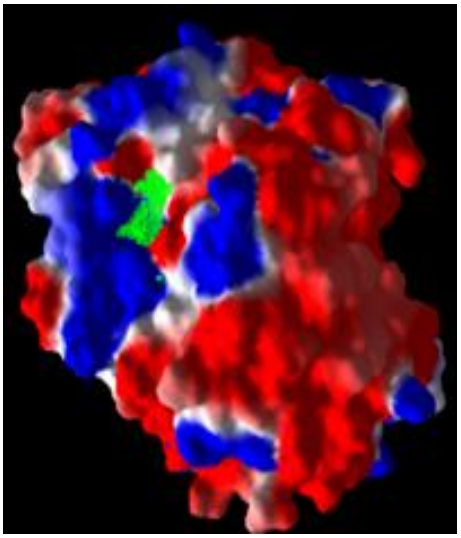
شکل ۲- ساختار سه‌بعدی پروتئین تیروزیناز استخراج شده

ساختار سه‌بعدی پروتئین تیروزیناز با استفاده از روش پراش اشعه ایکس شناسایی شد. این ساختار دارای ۶ زنجیره از پروتئین تیروزیناز می‌باشد. با مراجعه به قسمت full report در صفحه‌ی همین ساختار در پایگاه دادهPDB می‌توان به اطلاعات کامل هر زنجیره و دقت شناسایی ساختار آن دست پیدا کرد . در جدول (۱)، مشخصات ذیل کیفیت هر زنجیره طبق full report ساختار نشان داده شده است.

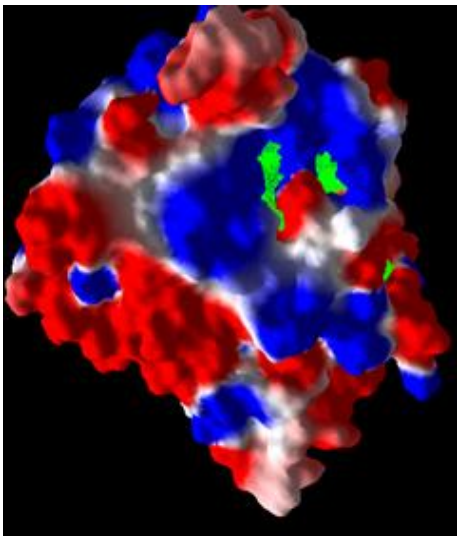
جدول ۱- کیفیت شناسایی هر زنجیره پروتئین در گزارش کامل ثبت شده

Mol	Chain	Length	Quality of chain
1	A	446	%, 82%, 17%
1	B	446	%, 79%, 20%
1	C	446	4%, 70%, 28%
1	D	446	2%, 73%, 27%
2	E	3	33%, 67%
2	J	3	67%, 33%

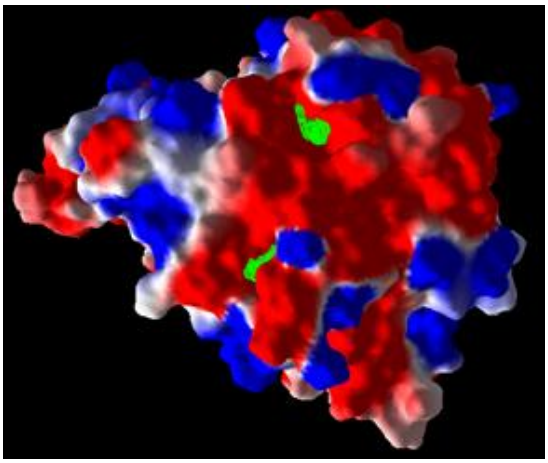
طبق گزارش موجود در پایگاه داده قابل مشاهده است که زنجیره Aدارای دقت و وضوح بیشتری می‌باشد. نواحی سبز توالی آمینواسید دقیق‌تری از نواحی زرد و نواحی زرد دقت و وضوح بیشتری نسبت به نواحی نارنجی دارند. بنابراین زنجیره A ی پروتئین تیروزیناز به عنوان پروتئین هدف انتخاب شد. از کل ساختار 5M8P خروجی گرفته شد.این خروجی با فرمت PDB استخراج شد. سپس با استفاده از نرم‌افزار Molegro Virtual Docker جایگاه‌های فعال (Binding site) پروتئین شناسایی شد. پروتئین دارای سه جایگاه فعال می‌باشد.



شکل ۳- جایگاه فعال شماره‌یک پروتئین تیروزیناز



شکل ۴- جایگاه فعال شماره‌ی دو پروتئین تیروزیناز



شکل ۵- جایگاه فعال شماره سه پروتئین تیروزیناز

انتخاب لیگاند

برای انتخاب لیگاندهای مناسب برای مهندسی از پایگاه داده Zinc 12 استفاده شد لیگاندهایی با Affinity بالای ۳۰۰۰ nM با پروتئین تیروزیناز انتخاب گردید و از پایگاه داده Pubchem ساختار سه‌بعدی لیگاندها با فرمت SDF استخراج شد.

جدول۲- مشخصات لیگاندهای انتخابی

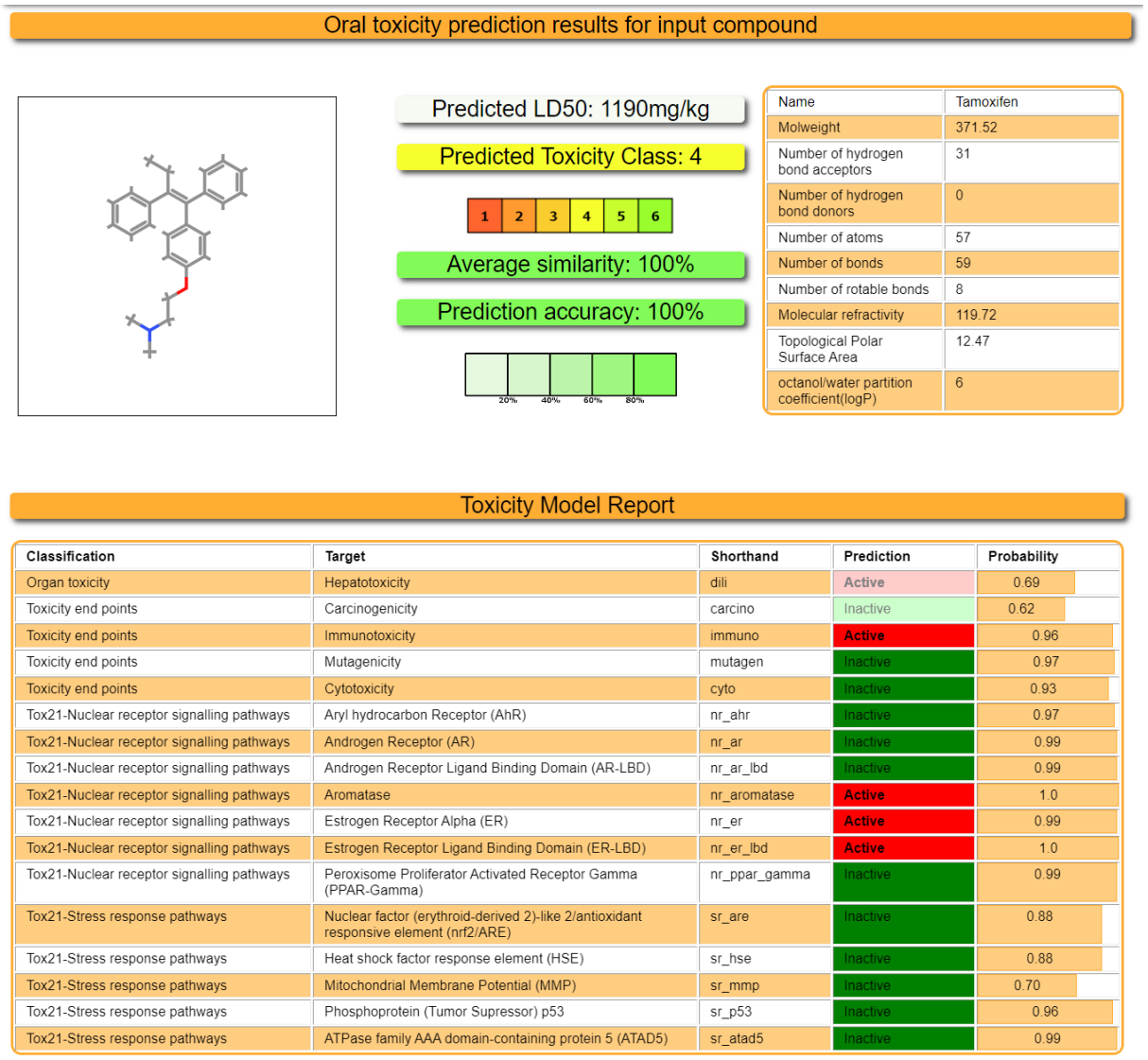
number	Zinc ID	CID	Affinity(nM)	MW(g/m)	xlopP
۱	۱۳۳۱۸۱۸	۳۸۴۰	۹۵۰۰	۱۴۲/۱۱	-۰/۸۹
۲	۵۲۳۶۹۰۸	۱۶۸۷۵۸۷	۹۰۰۰	۱۹۷/۲۳۸	۲/۰۲
۳	۳۹۵۵۲۵	۳۰۰۵۷۷۸	۶۴۷۰	۱۷۷/۲۰۸	۲/۳۲
۴	۶۰۹۳۴۸۲	۶۴۳۶۷۴۴	۶۰۰۰	۱۶۹/۲۰۹	۱/۱۴
۵	۹۰۲۱۵۹	۶۷۳۰۱۴۸۴	۳۶۸۰	۱۹۸/۱۷۸	-۴/۱۶
۶	۶۶۷۵۶۳۰	۳۸۰۳۲۳۳	۴۹۴۰	۱۸۴/۲۶۴	۱/۱۲
۷	۴۰۹۹۸۹۷	۶۱۴۰۲۴۷	۸۳۰۰	۲۳۹/۲۷۴	۲/۴۱
۸	۴۵۸۲۷۰۱	۶۴۷۴۵۸۸	۷۰۰۰	۱۹۳/۲۷۵	۱/۵۶
۹	۲۰۴۱۷۳۳	۴۳۸۹۳۴۶	۹۵۳۰	۱۶۴/۲۰۴	۱/۵۸
۱۰	۱۵۸۷۱۵۲	۳۴۰۰۶۳	۸۸۰۰	۳۳۲/۳۶۴	۲/۷۴

برای هر کدام از لیگاندها آنالیز داکینگ با استفاده از نرم‌افزار PyRx با الگوریتم Auto Dock Vina با پروتئین تیروزیناز انجام شد. این آنالیز احتمال برهم‌کنش بین پروتئین هدف و لیگاند، قدرت پیوند بین آن‌ها، احتمال خودبه‌خود بودن برهمکنش را محاسبه می‌کند. سپس با استفاده از سرور FAF-Drugs4 که به کاربران اجازه می‌دهد تا خواص دارویی مختلف از جمله افزایش جذب، توزیع، متابولیسم و سمیت را بررسی کنند خصوصیات دارویی با استفاده از روش‌های شیمی محاسباتی سنجیده شود. لیگاندها با سه فیلتر PAINS و فیلتر undersire substructure که زیرساخت‌های نامناسب را تشخیص می‌دهد و الگوریتم xlogP3 برای محاسبه logP و الگوریتم Lead Like Soft آنالیز شدند.

جدول ۳- نتایج آنالیز لیگاندهای انتخابی

Ligand CID	Best Binding Affinity by PyRx	ADME-TOX results	ADME-Tox summary
3840	-6	Rejected	MW
1687587	-6.4	Intermediate	Low_Risk_halogenure_F,Low_Risk_hydrazone, Low_Risk_thioketone
3005778	-6.8	Intermediate	Low_Risk_thioester,Low_Risk_thioketone
6436744	-5.5	Intermediate	Low_Risk_hydrazone,Low_Risk_thioketone
67301484	-6	Rejected	LogP
3803233	-6.4	Intermediate	Low_Risk_thioester,Low_Risk_thioketone
6140247	-6.9	Rejected	High_Risk_ortho_aniline,Low_Risk_phenol
6474588	-6.1	Intermediate	Low_Risk_hydrazone,Low_Risk_thioketone
4389346	-6.8	Accepted	-
340063	-8.4	Intermediate	Low_Risk_acrylamide,Low_Risk_phenol

طبق نتایج آنالیز داکینگ و ADME-Tox، ساختار با آیدی CID4389346 تنها ساختار با نتیجه قابل‌قبول می‌باشد. با استفاده از سرور ProTox سمیت و عوارض این ترکیب مورد بررسی قرار گرفت که نتایج ذیل به دست آمد.



Classification	Target	Shorthand	Prediction	Probability
Organ toxicity	Hepatotoxicity	dili	Active	0.69
Toxicity end points	Carcinogenicity	carcino	Inactive	0.62
Toxicity end points	Immunotoxicity	immuno	Active	0.96
Toxicity end points	Mutagenicity	mutagen	Inactive	0.97
Toxicity end points	Cytotoxicity	cyto	Inactive	0.93
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Aryl hydrocarbon Receptor (AhR)	nr_ahr	Inactive	0.97
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Androgen Receptor (AR)	nr_ar	Inactive	0.99
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Androgen Receptor Ligand Binding Domain (AR-LBD)	nr_ar_lbd	Inactive	0.99
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Aromatase	nr_aromatase	Active	1.0
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Estrogen Receptor Alpha (ER)	nr_er	Active	0.99
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Estrogen Receptor Ligand Binding Domain (ER-LBD)	nr_er_lbd	Active	1.0
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma (PPAR-Gamma)	nr_ppar_gamma	Inactive	0.99
Tox21-Stress response pathways	Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2/antioxidant responsive element (nrf2/ARE)	sr_are	Inactive	0.88
Tox21-Stress response pathways	Heat shock factor response element (HSE)	sr_hse	Inactive	0.88
Tox21-Stress response pathways	Mitochondrial Membrane Potential (MMP)	sr_mmp	Inactive	0.70
Tox21-Stress response pathways	Phosphoprotein (Tumor Supressor) p53	sr_p53	Inactive	0.96
Tox21-Stress response pathways	ATPase family AAA domain-containing protein 5 (ATAD5)	sr_atad5	Inactive	0.99

شکل ۶- نتایج آنالیز ProTox لیگاند CID4389346

با توجه به سمیت لیگاند با وجود اینکه توانایی بالایی در برهم‌کنش مناسب با پروتئین هدف دارد، می‌تواند عوارض جانبی زیادی باشد که همین موضوع ارزش مطالعاتی آن را پایین می‌آورد. از طرفی همهٔ لیگاندهای Intermediate دارای مشکلات زیر ساختاری می‌باشد که کار رسیدن به لیگاند مناسب را دشوار می‌کند. از بین لیگاندهای Rejected شده، اسید کوجیک دارای پیشینه مناسب مطالعاتی برای نقش مهارکنندگی تیروزیناز می‌باشد.که مشکلی که برای آن سرور FAF-Drugs4 شناسایی کرده است وزن مولکولی پایین ترکیب است. در مورد داروهای پوستی این موضوع دارای تفاوت‌هایی می‌باشد که حتی داروهایی با وزن مولکولی پایین می‌توانند به‌طور عمیق‌تر و بهتر بر پوست تأثیر بگذارند.پس وزن مولکولی اسید کوجیک نمی‌تواند مانع اثربخشی آن شود.مشکل اصلی اصلاح سمیت این ترکیب و بالا بردن قدرت پیوند آن با پروتئین هدف می‌باشد. به این منظور لیگاند مهندسی شد. برای مهندسی لیگاند از نرم‌افزار Hyperchem استفاده شد. Hyperchem یکی از نرم‌افزارهای مورد استفاده در

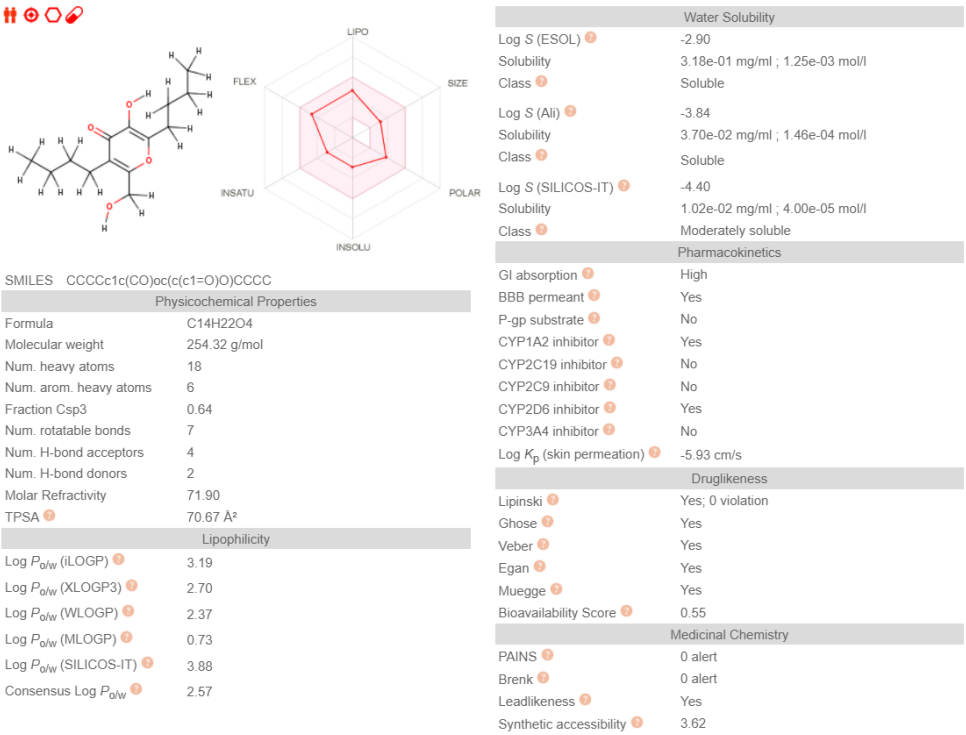
حوزه مهندسی شیمی است که به‌منظور شبیه‌سازی ساختار و خواص مولکولی و شیمیایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. این نرم‌افزار قابلیت‌هایی مانند شبیه‌سازی انرژی سطحی، ترسیم ساختارهای مولکولی و ساختارهای الکترونی را فراهم می‌کند. با استفاده از Hyperchem می‌توان با توجه به اطلاعات مولکولی موردنظر، به بررسی و تحلیل ویژگی‌های مختلف آن پرداخت و از این طریق به ارائه راه‌حل‌های بهتر برای مسائل بیوشیمیایی رسید. مهندسی لیگاند ترکیب اسید کوجیک به‌صورت آزمایش آزمون و خطا انجام شد که موفقیت‌آمیز بود و ترکیب C14H22O4 انتخاب گردید.

نتایج

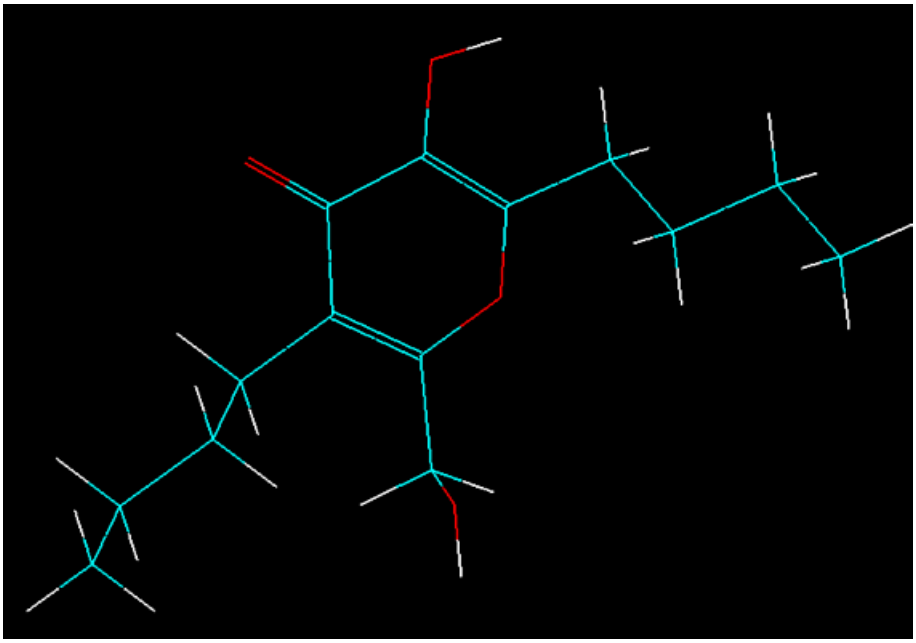
جدول ۴- مقایسه آنالیزهای اسید کوجیک و لیگاند مهندسی شده

Ligand	Best Binding Affinity by PyRx	ADME-Tox results	Toxicity class	LD50(mg/kg)	Toxicity report
$C_{14}H_{22}O_4$	-6.5	Accepted	5	4000	did not have
Kojic Acid	-6	Rejected	3	550	had

لیگاند مهندسی‌شده تحت آنالیزهای داکینگ و ADME-Tox قرار گرفت. نتایج آنالیز داکینگ نشان داد که قدرت پیوند لیگاند مهندسی شده با پروتئین تیروزیناز نسبت به قدرت پیوند اسید کوجیک با همین پروتئین، افزایش یافته است. همچنین لیگاند مهندسی شده در آنالیز ADME-Tox نتیجه Accepted را به دست آورد. لیگاند مهندسی شده تحت آنالیز ProTox هم قرار گرفت که نتایج نشان می‌دهد برعکس ترکیب اسید کوجیک دارای هیچ‌گونه عوارض جانبی یا سرطان‌زایی نمی‌باشد. مشخصات فیزیکی و شیمیایی لیگاند مهندسی شده توسط سرور Swiss ADME محاسبه شد که در شکل(۷)، نتایج ذکر شده است.



شکل ۷- مشخصات کامل لیگاند مهندسی شده



شکل ۸- ساختار لیگاند مهندسی شده در نرم‌افزار Hyperchem

بحث

پژوهش حاضر بر مبنای طراحی لیگاندی نوین با فرمول $C_{14}H_{22}O_4$جهت مهار ایمن و مؤثر آنزیم تیروزیناز در دو حوزه آرایشی-بهداشتی و کشاورزی، گامی نوین در راستای بهینه‌سازی داروهای ضدپیگمانتاسیون برداشته است. با توجه به اینکه مهارکننده‌های سنتی مانند اسید کوجیک، هیدروکینون و رودودندرول با مشکلاتی نظیر سمیت، جهش‌زایی، حساسیت‌زایی و پتانسیل سرطان‌زایی مواجه‌اند (۱۹،۲۰). نتایج داکینگ مولکولی در این مطالعه نشان داد که لیگاند مهندسی‌شده نه‌تنها قدرت اتصال بالاتری به جایگاه فعال آنزیم تیروزیناز دارد بلکه برخلاف بسیاری از ترکیبات پیشین، در تحلیل‌های ADME-Tox و ProTox نیز بدون عوارض جانبی و سرطان‌زایی گزارش شد. در مقایسه، مطالعاتی مانند پژوهش شاو و همکاران (۲۰۱۸) و لاریک و همکاران (۲۰۱۷) گرچه به طراحی مهارکننده‌های مؤثر اشاره دارند، اما به‌طور مشخص به بررسی سمیت و پروفایل ایمنی ترکیبات طراحی‌شده نپرداخته‌اند؛ مسئله‌ای که در توسعه داروهای کاربردی اهمیت اساسی دارد(۲۱،۲۲). در حوزه کشاورزی نیز یافته‌ها از اهمیت بالایی برخوردارند. مهار تیروزیناز به‌ویژه در محصولاتی مانند سیب، موز، و قارچ که به قهوه‌ای شدن آنزیمی حساس هستند، می‌تواند در حفظ کیفیت ظاهری و افزایش ماندگاری نقش بسزایی داشته باشد(۲۳). مهارکننده‌های طراحی‌شده با منشأ اسید کوجیک در این پژوهش، جایگزینی ایمن و مؤثر برای ترکیباتی مانند سولفیت‌ها به‌شمار می‌آیند که کاربرد آن‌ها به دلیل خطرات سلامتی در حال محدود شدن است(۲۴). از منظر زیست‌محیطی نیز این لیگاند می‌تواند به کاهش استفاده از نگه‌دارنده‌های شیمیایی مضر در صنایع غذایی کمک کرده و پاسخ‌گوی نیاز روزافزون به محصولات طبیعی و ارگانیک باشد. این موضوع با روند رو به رشد تولید محصولات سالم در بازار جهانی هم‌راستا است(۲۵). مقایسه بین لیگاند طراحی‌شده و اسید کوجیک نیز بسیار قابل‌توجه است. طبق نتایج، لیگاند جدید با داشتن LD_{50} بیش از ۷ برابر و طبقه‌بندی سمیت کلاس ۵ (در مقایسه با کلاس ۳ برای اسید کوجیک)، علاوه بر کاهش چشمگیر خطرات جانبی، از اثربخشی بیشتری در اتصال به تیروزیناز برخوردار است. این امر اهمیت اصلاح ساختار لیگاندهای مؤثر موجود را نشان می‌دهد تا با بهینه‌سازی ویژگی‌های فارماکوکینتیکی و ایمنی، نسل جدیدی از مهارکننده‌های هدفمند تولید گردد(۲۶). درمجموع، رویکرد استفاده‌شده در این پژوهش که ترکیب طراحی مولکولی، آنالیز داکینگ، ارزیابی سمیت، و بررسی ویژگی‌های دارویی است، الگویی جامع و کارآمد برای توسعه داروهای هدفمند ارائه می‌دهد. گام بعدی در این مسیر، بررسی آزمایشگاهی درون تنی و

برون‌تنی این ترکیب خواهد بود تا پتانسیل آن در شرایط زیستی واقعی نیز به اثبات برسد.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که مهندسی لیگاند بر پایه‌ی ساختار اسید کوجیک با هدف افزایش ایمنی و اثربخشی در مهار آنزیم تیروزیناز، رویکردی موفقیت‌آمیز و امیدبخش است. لیگاند طراحی‌شده با فرمول $C_{14}H_{22}O_4$ نه‌تنها توانایی اتصال قوی‌تری به جایگاه فعال تیروزیناز نسبت به اسید کوجیک از خود نشان داد، بلکه در آزمون‌های سمیت (ProTox) و ارزیابی دارویی (ADME-Tox) نیز فاقد عوارض جانبی و خواص سرطان‌زایی بود. این ویژگی‌ها آن را به گزینه‌ای ایمن، مؤثر و کم‌خطر برای کاربرد در صنایع آرایشی، دارویی و کشاورزی تبدیل می‌کند. با توجه به اثربخشی بالای این لیگاند در جلوگیری از تولید بیش‌ازحد ملانین و همچنین کاهش پدیده قهوه‌ای شدن آنزیمی در محصولات کشاورزی، می‌توان از آن به‌عنوان جایگزینی مناسب برای مهارکننده‌های سنتی و پر عارضه‌ای چون هیدروکینون، آربوتین و حتی خود اسید کوجیک بهره گرفت. ازآنجاکه مرحله‌ی طراحی مولکولی و آنالیزهای *in silico* تنها بخش ابتدایی توسعه یک دارو محسوب می‌شوند، گام بعدی در مسیر کاربردی‌سازی این یافته‌ها، انجام آزمایش‌های آزمایشگاهی و بالینی در شرایط درون‌تنی و برون‌تنی است تا اثربخشی و ایمنی این ترکیب در شرایط واقعی نیز مورد تأیید قرار گیرد. به‌طورکلی، این مطالعه گامی ارزشمند در جهت توسعه مهارکننده‌های تیروزیناز با پروفایل ایمنی بهبودیافته محسوب می‌شود.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی ندارند.

References

1. Solano F. Photoprotection and skin pigmentation: Melanin-related molecules and some other new agents obtained from natural sources. Molecules. 2020;25(7):1537. 1537.
2. Adams DR, Menezes S, Jauregui R, Valivullah ZM, Power B, Abraham M, Jeffrey BG, Garced A, Alur RP, Cunningham D, Wiggs E. One-year pilot study on the effects of nitisinone on melanin in patients with OCA-1B. JCI insight. 2019;4(2): e124387.
3. Fu C, Chen J, Lu J, Yi L, Tong X, Kang L, Pei S, Ouyang Y, Jiang L, Ding Y, Zhao X. Roles of inflammation factors in melanogenesis. Molecular medicine reports. 2020;21(3):1421-30.
4. Baber MA, Crist CM, Devolve NL, Patrone JD. Tyrosinase inhibitors: a perspective. Molecules. 2023;28(15): 5762.
5. Sinha S, Singh SK, Jangde N, Ray R, Rai V. p32 promotes melanoma progression and metastasis by targeting EMT markers, Akt/PKB pathway, and tumor microenvironment. Cell Death & Disease. 2021;12(11): 1012.
6. Kumari S, Tien Guan Thng S, Kumar Verma N, Gautam HK. Melanogenesis Inhibitors. Acta Dermato-Venereologica. 2018;98(10):924-931.
7. Guo W, Wang H, Li C. Signal pathways of melanoma and targeted therapy. Signal transduction and targeted therapy. 2021;6(1):424.
8. Hashim FJ, Vichitphan S, Han J, Vichitphan K. Alternative approach for specific tyrosinase inhibitor screening: Uncompetitive inhibition of tyrosinase by Moringa oleifera. Molecules. 2021;26(15): 4576.
9. Saeedi M, Eslamifar M, Khezri K. Kojic acid applications in cosmetic and pharmaceutical preparations. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2019 Feb 1; 110:582-93.
10. Pillaiyar T, Manickam M, Jung S.H. Recent development of signaling pathways inhibitors of melanogenesis. Cell Signalling. 2017; 40: 99-115.
11. Gillbro JM, Olsson MJ. The melanogenesis and mechanisms of skin-lightening agents–existing and new approaches. International journal of cosmetic science. 2011;(3):210-21221.
12. Koike S, Yamasaki K. Melanogenesis connection with innate immunity and toll-like receptors. International journal of molecular sciences. 2020;21(24):9769.
13. Doğan A, Akocak S. Natural products as tyrosinase inhibitors. The Enzymes. 2024; 56:85-109.

14. Cordero RJ, Casadevall A. Melanin. Current biology. 2020;30(4): R142-3.

15. Campiche R, Curpen SJ, Lutchmanen-Kolanthan V, Gougeon S, Cherel M, Laurent G, Gempeler M, Schuetz R. Pigmentation effects of blue light irradiation on skin and how to protect against them. International journal of cosmetic science. 2020;42(4):399-406.

16. Mann T, Gerwat W, Batzer J, Eggers K, Scherner C, Wenck H, Stäb F, Hearing VJ, Röhm KH, Kolbe L. Inhibition of human tyrosinase requires molecular motifs distinctively different from mushroom tyrosinase. Journal of Investigative Dermatology. 2018;138(7):1601-8.

17. Singh BK, Park SH, Lee HB, Goo YA, Kim HS, Cho SH, Lee JH, Ahn GW, Kim JP, Kang SM, Kim EK. Kojic acid peptide: a new compound with anti-tyrosinase potential. Annals of dermatology. 2016;28(5):555-61.

18. Wang W, Gao Y, Wang W, Zhang J, Yin J, Le T, Xue J, Engelhardt UH, Jiang H. Kojic acid showed consistent inhibitory activity on tyrosinase from mushroom and in cultured B16F10 cells compared with arbutins. Antioxidants. 2022 Mar 4;11(3): 502.

19. Saeedi M, Eslamifar M, Khezri K. Kojic acid applications in cosmetic and pharmaceutical preparations. Biomed Pharmacother. 2019; 110:582–93.

20. Hashim FJ, Vichitphan S, Han J, Vichitphan K. Alternative approach for specific tyrosinase inhibitor screening: Uncompetitive inhibition of tyrosinase by Moringa oleifera. Molecules. 2021 ;26(15):4576.

21. Shao LL, Zhang JH, Zhao W, Xu M. Novel hydroxypyridinone derivatives containing an oxime ether moiety: synthesis, inhibition on mushroom tyrosinase and application in anti-browning of fresh-cut apples. Food Chemistry.2018;242:174–81.

22. Larik FA, Khan MK, Shah NA, Rehman FU. Design, synthesis, kinetic mechanism and molecular docking studies of novel 1-pentanoyl-3-arylthioureas as inhibitors of mushroom tyrosinase and free radical scavengers. European Journal of Medicinal Chemistry. 2017; 141:273–81.

23. Wang W, Zhang X, Liu H, Chen M. Kojic acid showed consistent inhibitory activity on tyrosinase from mushroom and in cultured B16F10 cells compared with arbutins. Antioxidants (Basel). 2022;11(3):502.

24. Campiche R, Valenzuela F, Rossi R, Serini S. Pigmentation effects of blue light irradiation on skin and how to protect against them. International Journal of Cosmetic Science. 2020;42(4):399–406.

25. Doğan A, Akocak S. Natural products as tyrosinase inhibitors. The Enzymes. 2024; 56:85–109.

26. Singh BK, Park SH, Lee HB, Goo YA, Kim HS, Cho SH, Lee JH, Ahn GW, Kim JP, Kang SM, Kim EK. Kojic acid peptide: a new compound with anti-tyrosinase potential. Annals of dermatology. 2016 ;28(5):555-61.