

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

Triagem Virtual de Potenciais Inibidores da Catepsina B1 em *Schistosoma mansoni*

Tamires Abrão Vianna

Monografia apresentada à Coordenação do curso de Biotecnologia, da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Bacharel em Biotecnologia.

Uberlândia

Junho/2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

Triagem Virtual de Potenciais Inibidores da Catepsina B1 em *Schistosoma mansoni*

Tamires Abrão Vianna

Prof. Dr. Nilson Nicolau Júnior

Monografia apresentada à Coordenação do curso de Biotecnologia, da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Bacharel em Biotecnologia.

Uberlândia

Junho/2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

Triagem Virtual de Potenciais Inibidores da Catepsina B1 em *Schistosoma mansoni*

Tamires Abrão Vianna

Prof. Dr. Nilson Nicolau Júnior

Homologado pela coordenação do curso de
Biotecnologia em __/__/____

Prof. Dr. Nilson Nicolau Júnior

Uberlândia

Junho/2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

Triagem Virtual de Potenciais Inibidores da Catepsina B1 em *Schistosoma mansoni*

Tamires Abrão Vianna

Aprovado pela Banca Examinadora em: / / Nota: ____

Nome e assinatura do Presidente da Banca Examinadora

Uberlândia, 15 de junho de 2023

*Dedico este trabalho a minha família,
que sempre me incentivou a ir atrás dos
meus sonhos e sempre me apoiou*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que estiveram junto comigo durante toda minha graduação, como meus amigos e familiares, especialmente meus pais

Agradeço, também, ao professor Nilson por todos os aprendizados ao longo desses anos

RESUMO

A esquistossomose é uma doença parasitária causada pela penetração do helminto *Schistosoma mansoni* na pele do homem, ou através do consumo de alimentos e águas contaminadas. Com ocorrência em diversos países em desenvolvimento, a doença acomete cerca de 252 milhões de indivíduos. Há duas fases de infecção: a aguda, reconhecida pela dermatite cercariana; e a crônica, responsável por diversos sinais e sintomas. Os tratamentos não são eficazes para a fase crônica, e apresentam grandes restrições de uso. Uma importante proteína, podendo ser considerada como um alvo de fármacos, é a catepsina B1 (SmCB1), pois é uma proteína altamente ligada à digestão realizada pelo parasita dentro do intestino humano. O objetivo deste trabalho é buscar novos potenciais inibidores para a SmCB1 através da triagem virtual, usando modelo baseado em forma. Os potenciais inibidores foram selecionados em bibliotecas de drogas, produtos naturais e moléculas *druglike*, sendo associadas à proteína por ancoragem molecular e analisadas quanto às propriedades farmacocinéticas. O ligante que apresentou melhor potencial inibitório foi sugerido para posterior análise *in vitro*, sendo ele o NuBBE 538.

Palavras-chaves: triagem virtual, SmCB1, *Schistosoma mansoni*

Sumário

1. INTRODUÇÃO	1
2. JUSTIFICATIVA	6
3. OBJETIVOS	6
3.1 Objetivo Geral	6
3.2 Objetivos Específicos	6
4. MATERIAIS E MÉTODOS	6
4.1 Geração do Modelo Baseado em Forma.....	6
4.2 Preparo de Bancos de Dados	7
4.3 Triagem e Docking	8
4.4 Análise de Propriedades Farmacocinéticas <i>in silico</i>	9
4.5 Geração de Diagramas de Interação 2D Proteína-Ligante	10
5. RESULTADOS.....	10
5.1 Geração do modelo baseado em forma.....	10
5.2 Preparo de bancos de dados.....	11
5.3 Triagem e Docking	11
5.4 Análise de propriedades farmacocinéticas <i>in silico</i>	12
5.5 Geração de diagramas de interação 2D proteína-ligante	14
6. DISCUSSÃO	17
7. CONCLUSÃO	19
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	20

LISTA DE TABELAS

1. Ranking de moléculas com melhor pontuação (CHEMPLP) na ancoragem molecular dos bancos de dados NuBBE, FDA, CL e EXP..... 12
2. Resultados pkCSM dos bancos de dados NuBBE, FDA, CL e EXP em comparação ao ligante 2OZ2 13

LISTA DE IMAGENS

1. Ciclo de infecção do <i>Schistosoma mansoni</i> , causador da esquistossomose	2
2. Estrutura do inibidor 2OZ2 extraído do PDB	10
3. Modelo baseado em forma gerado a partir do inibidor 2OZ2	11
4. Representação em 2D do ligante NUBBE 538	14
5. Representação em 2D do ligante FDA 1851149	15
6. Representação em 2D do ligante CL 689602	16
7. Representação em 2D do ligante EXP 92692	17

INTRODUÇÃO

A esquistossomose é uma doença parasitária humana desencadeada pela penetração do helminto *Schistosoma mansoni* na pele do homem ou pelo consumo de alimentos e águas contaminadas. Essa doença afeta 54 países da África, Oriente Médio, América do Sul e Caribe (SCHOLTE et al., 2012). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), estimou-se que cerca de 779 milhões de pessoas estão em situação de risco e cerca de 252 milhões de pessoas estão infectadas com o parasita (SILVA-MORAES et al., 2019).

No Brasil, a esquistossomose está presente em 19 estados, sendo consideradas áreas endêmicas os estados de Alagoas, Bahia, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Paraíba Sergipe, Espírito Santo e Minas Gerais. De acordo com dados do Sistema de Informação do Programa de Controle da Esquistossomose (SISPCE), no período de 2009 a 2019, o percentual de positividade para *S. mansoni* nas áreas endêmicas apresentou variação de 5,20% em 2008 e 2,90% em 2018 (MEDEIROS,2021). Sendo que essa redução é explicada por campanhas de prevenção e controle da doença. Entre 2009 e 2019, foram realizados mais de nove milhões de exames e foram detectados 423.117 casos (MEDEIROS,2021).

A terapia específica disponível para essa enfermidade ainda é limitada, sendo os dois principais medicamentos o Praziquantel® e o Oxamniquina® (SILVA-MORAES et al., 2019).O Praziquantel é usado principalmente para o tratamento de pessoas que estão em regiões que há a presença de ovos do parasita, não sendo eficiente para o tratamento da doença crônica (SILVA-MORAES et al., 2019). Além disso, a partir de 2019, a principal produtora desse medicamento no Brasil – Pfizer – suspendeu a sua produção.

O Oxamniquina age de forma que o helminto masculino e feminino fica em regiões distintas do organismo, não havendo a liberação do ovo, sendo usado apenas para a *Schistosoma mansoni* e sem ação para outras espécies causadoras da doença (RUGEL et al.,

2020).Entretanto, como são usados desde a década de 1980, é necessário a busca de medicamentos que tenham menor restrição que esses, uma vez que gestantes, lactantes, crianças menores 2 anos e pessoas que apresentam insuficiência hepática e cardíaca têm uso contraindicado (DE SOUZA et al., 2011).

A transmissão da doença é realizada, principalmente, através da penetração do helminto na pele do homem quando ele entra em contato com água contaminada (PORDEUS et al., 2008). Três são as espécies de *Schistosoma* que causam a doença, sendo que apenas a *Schistosoma mansoni* é endêmica no Brasil. A sobrevivência desse parasita no meio é dependente de um hospedeiro intermediário do gênero *Biomphalaria*, que possui alta distribuição demográfica no Brasil, sendo que a principal espécie é a *B. glabrata* (SCHOLTE et al., 2012).

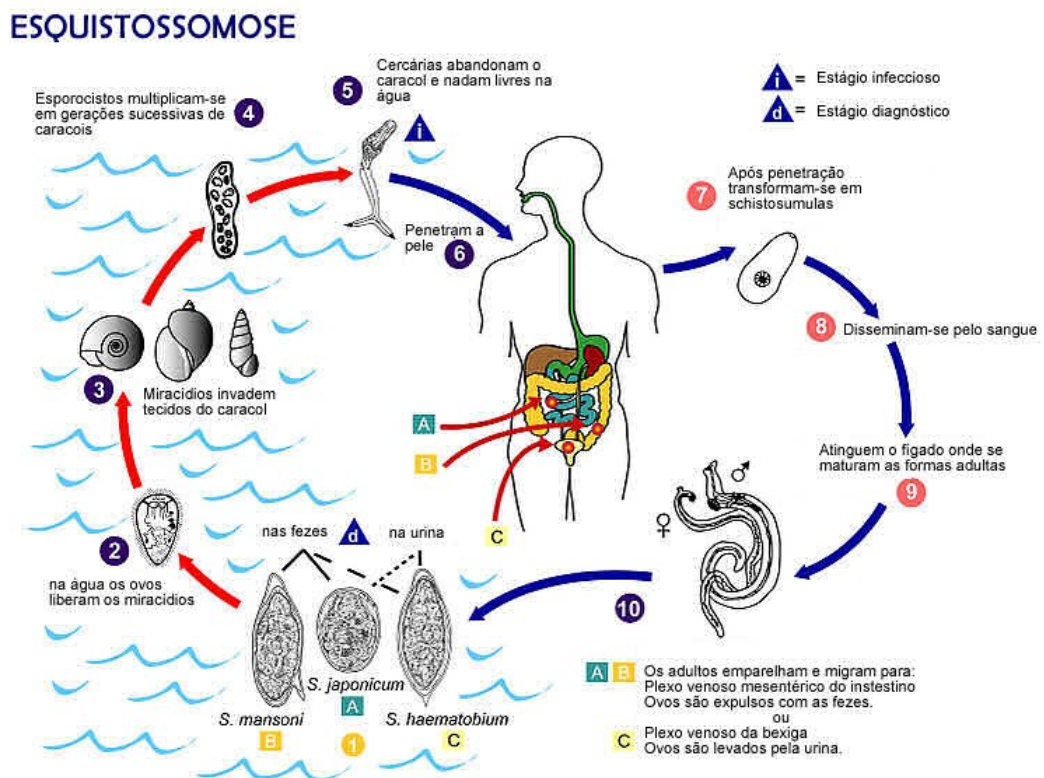


Figura 1 Ciclo de infecção do *Schistosoma mansoni*, causador da Esquistossomose

De acordo com a Figura 1, o molusco infectado libera as cercárias através das vesículas no tegumento do animal, se rompendo e sendo liberadas para atingirem a água nas horas mais quentes do dia. Essas cercárias livres são capazes de penetrar a pele do indivíduo, fixando-se entre os folículos pilosos. Após essa penetração, a forma larvária do helminto percorre pelas mucosas, se adaptando às condições fisiológicas do meio interno realizando mudanças necessárias em si mesma até atingir a forma sexuada. Essa forma sexuada copula de tal forma que as fêmeas realizam a postura desses ovos que podem ser expelidos junto com as fezes que, em contato com água de rios, pode reinfestar o ambiente reiniciando o ciclo evolutivo do parasita (DE SOUZA et al., 2011).

A esquistossomose apresenta duas fases de infecção: a aguda e a crônica. A primeira pode ser dividida em dermatite cercariana, provocada pela penetração das cercárias na pele, e esquistossomose aguda (ou febre de Takayama)(PORDEUS et al., 2008). A dermatite cercariana é caracterizada por ser assintomática ou por ter o surgimento de dermatite com erupções papulares, eritema, edema e prurido, durante até cinco dias após a infecção. Já a febre de Takayama apresenta sintomas após três a sete semanas de exposição, incluindo febre, anorexia, dor abdominal e cefaleia, podendo apresentar em menor frequência diarreia, náusea, vômito e tosse seca (PORDEUS et al., 2008)

Ainda, existe a ocorrência de hepatoesplenomegalia e eosinofilia elevada. Por fim, a fase crônica é datada a partir dos seis meses de infecção podendo durar por muitos anos, causando sinais e sintomas em diversos órgãos com diferentes níveis de gravidade (PORDEUS et al., 2008). Os fármacos de tratamento apresentam cerca de 80% de eficácia em adultos e 70% em crianças até 15 anos (PORDEUS et al., 2008). Entretanto, esses medicamentos não apresentam eficácia significativa em pessoas que possuem baixa intensidade de infecção, sendo possível a reincidência da doença e maior taxa de transmissão (SILVA-MORAES et al., 2019).

Muitos são os alvos proteicos existentes na esquistossomose, sendo o foco em proteínas com função de penetração tecidual, migração larval, evasão imunológica, coagulação, digestão das proteínas do sangue do hospedeiro ou degradação da matriz celular (SOJKA et al., 2016). Algumas proteínas com essas funções são as quinases, transferases, proteínas estruturais e peptidases, como exemplo a catepsina. (SOTILLO et al., 2015).

As catepsinas são, portanto, conhecidas por serem enzimas proteolíticas, com função principal de degradação de proteínas e peptídeos. A partir do genoma humano, as catepsinas são subdivididas em diferentes grupos: as serinas (Catepsina A e G), aspárticas (Catepsina D e E) e proteases de cisteína lisossomal (Catepsinas B, C, F, H, K, L, L1, L2/V, O, S W, X/Z) (DHEER; NICOLAS; SHANKAR, 2019). Por conta dessa subdivisão e dos vários tipos de catepsina, essas enzimas podem ser usadas como alvos terapêuticos para o tratamento de diversas doenças, como cânceres e parasitoses.

No caso dos cânceres, por apresentarem a catepsina superexpressa, é possível o uso de sequências específicas dela em métodos de *drug delivery* com diferentes técnicas envolvidas, um exemplo é o tratamento de carcinoma de ovário humano com um sistema polimérico de uma sequência da enzima com gemcitabina e paclitaxel (DHEER; NICOLAS; SHANKAR, 2019).

Já as parasitoses, podem ser tratadas com peptidases aspárticas do tipo catepsina D e com endopeptidases do tipo catepsina B. As primeiras são alvos, por exemplo, para o tratamento da leishmaniose causada pela *Leishmania mexicana* por lisar a forma promastigota (SOJKA et al., 2016). Ademais, outros potenciais antiparasitários estão sendo desenvolvidos, como o tratamento da infecção por *Plasmodium falciparum* através das plasmepsinas (SOJKA et al., 2016). Já as catepsinas B estão associadas a diversas doenças humanas, como artrite

reumatoide, metástase, pancreatite e esquistossomose; usando de derivados de nitrila, cetona e vinil sulfonato (LI; FANG; AO, 2017).

A catepsina B1 (SmCB1) é uma endopeptidase presente no *Schistosoma mansoni*. Ela pertence à família papaína, que contém cisteína peptidases. Ela é sintetizada como um zimogênio inativo (37 kDa), sendo convertida em enzima madura e ativa (28 kDa) por reações proteolíticas mediadas por polissacarídeos sulfatados ou catalisado por asparaginil. Quando madura, a catepsina tem atividade tanto endo quanto de exopeptidase associada ao intestino, responsável por digerir proteínas do sangue do hospedeiro, como hemoglobinas, peptídeos solúveis e aminoácidos, usadas como fonte de nutrientes (JÍLKOVÁ et al., 2011).

Um grupo de inibidores de aplicação, como dito anteriormente, é o vinil sulfonato, que se ligam ao tiol do sítio catalítico por ligação covalente, impedindo que haja a digestão das proteínas do sangue do hospedeiro (JÍLKOVÁ et al., 2011).

Os avanços tecnológicos auxiliam na pesquisa e desenvolvimento de fármacos. O Design de Drogas Auxiliado por Computador (CADD) mostra-se presente e essencial, a partir de métodos rápidos e eficientes na busca dos melhores ligantes, em meio a grande quantidade de conhecimento de sequências genômicas e moléculas biológicas tridimensionais, obtendo, assim, resultados com alta confiabilidade *in silico* (SHANMUGAM; JEON, 2017). Com o uso de tais técnicas, é possível o estudo de diversas moléculas sem o uso indiscriminado de investimentos e havendo a redução de tempo.

O processo de busca de ligantes contra um determinado alvo biológico *in silico* é denominado Virtual Screening (Triagem Virtual). Esse método é realizado a partir de cálculos computacionais que verificam as distâncias tridimensionais entre os modelos farmacofóricos e, também, os comparacom as moléculas apresentadas, predizendo o composto com maior potencial de ligação ao alvo biológico.

JUSTIFICATIVA

A esquistossomose é uma doença que afeta, ainda hoje, milhões de pessoas em todo o mundo, sendo que seu tratamento é de difícil administração, já que a posologia indica uma média de 7 comprimidos por paciente tomados, um seguido do outro, com água. Portanto, o presente trabalho visa a busca de novos potenciais inibidores que apresentem características farmacocinéticas aceitáveis, apresentando menos efeitos adversos nos pacientes que as atuais.

OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Virtual screening visando obter potenciais moléculas contra a SmCB1 de *S. mansoni* para o desenvolvimento de novas drogas contra a Esquistossomose.

3.2 Objetivos Específicos

- Construir e validar um modelo baseado em forma a partir de estruturas extraídas do banco de dados PDB em complexo com a proteína SmCB1 de *S. mansoni*.
- Observar as interações entre o receptor, SmCB1, e os compostos retirados nas triagens dos bancos de dados, a partir de ancoragem molecular;
- Analisar as propriedades farmacocinéticas *in silico* dos compostos de melhores resultados;
- Selecionar potenciais inibidores da SmCB1.

MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Geração do Modelo Baseado em Forma

O modelo baseado em forma foi construído a partir do inibidor de SmCB1 derivado de vinil sulfonato, extraído de um complexo do Protein Data Bank (PDB) (FERREIRA et al., 2015), cujo código de identificação é 2OZ2. A forma e as características farmacofóricas deste inibidor foram identificadas e utilizadas para a

construção do modelo baseado em forma pelo software vROCS 3.2.0.4, OpenEye Scientific Software, Santa Fe, NM (HAWKINS et al., 2010).

4.2 Preparo de Bancos de Dados

O modelo obtido na etapa anterior, foi usado na triagem virtual de bibliotecas de compostos oriundos de quatro bancos de dados: O primeiro, chamado NuBBE, com 2223 moléculas, é conhecido por conter compostos originários de produtos naturais brasileiros. O segundo banco de dados foi o FDA (Federal Drug Administration), contendo 1495 moléculas. O terceiro e quarto são bancos de dados da empresa Chembridge, sendo que o CL (CORE Library) possui mais de 830 mil compostos lead-like e o EXP (Express-Pick contém cerca de 500 mil pequenas moléculas com propriedades drug-like.

Todas as bibliotecas foram processadas no programa FILTER do OMEGA 2.5.1.4, OpenEye Scientific Software, Santa Fe, NM (HAWKINS et al., 2010). A filtragem utilizou-se de cálculos de propriedades físicas e estudo de grupos funcionais para a eliminação de compostos indesejáveis, ou seja, aqueles que apresentam funções tóxicas; com baixa biodisponibilidade oral; com alta facilidade de formar ligações covalentes com o alvo e compostos que podem causar interferências durante o ensaio experimental.

Os compostos resultantes foram inseridos no QUACPAC 1.6.3.1, OpenEye Scientific Software, Santa Fe, NM (<http://www.eyesopen.com>), de forma a se buscar e enumerar o pKa de todas as moléculas inseridas a fim de se obter àquelas que apresentam cargas compatíveis com o sangue, e os tautômeros de cada composto, visando a obtenção das protonações corretas.

Por fim, a biblioteca de compostos obtidos no QUACPAC foi submetida à geração de confômeros a partir do programa OMEGA, obtendo bancos de dados de multi-confômeros bioativos com alta rapidez e credibilidade, características importantes para a confecção de modelos farmacofóricos ativos e eficazes.

4.3 Triagem e Docking

A triagem foi realizada a partir do software ROCS 3.2.1.4 Software, Santa Fe, NM (HAWKINS et al., 2010), usando o score *Tanimoto combo* que resulta no ranking dos 500 melhores resultados de acordo com esse score. O score *Tanimoto* mensura a similaridade molecular dos compostos colocados para análise, sendo que são levados em consideração a representação das características moleculares e o coeficiente de similaridade, usado para quantificar o grau de semelhança entre duas dessas representações (HAWKINS et al., 2010)

Esse score é descrito pela expressão 1, na qual: *self A* e *self B* demonstram os valores de auto sobreposição ou pontuação de cor para as moléculas A e B; e o *overlapAB* mostra o valor de sobreposição ou pontuação de cor entre as moléculas A e B (HAWKINS et al., 2010).

$$Tanimoto_{A,B} = \frac{overlapAB}{selfA + selfB - overlapAB}$$

A ancoragem molecular foi realizada de forma a se buscar o modelo ideal dentro das bibliotecas de compostos preparadas anteriormente. Essa etapa final de triagem e docking foi realizada no programa GOLD (FERREIRA et al., 2015), avaliando a ancoragem flexível entre as proteínas e o ligante. O GOLD utiliza um algoritmo

genético para encontrar soluções por meio de ancoragem ramificando inúmeras cópias de modelos flexíveis do ligante no sítio ativo do receptor; redefinindo segmentos dessa cópia de forma aleatória até que seja gerado um conjunto convergido de estruturas. O algoritmo de pontuação e ranqueamento usado foi o CHEMPLP.

4.4 Análise de Propriedades Farmacocinéticas *in silico*

Após a análise da ancoragem, o software online pkCSM (PIRES; BLUNDELL; ASCHER, 2015) estimou as principais características de propriedades farmacocinéticas de cada molécula selecionada, sendo elas: absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade (ADMET) com o propósito de manifestar modelos de regressão e classificação preditivos. Essa etapa é importante para que se afirme que os potenciais inibidores estão dentro dos parâmetros ideais para a seleção de moléculas com biodisponibilidade oral.

A partir do ranking obtido na etapa anterior, as 5 melhores moléculas de cada banco de dados foram submetidas ao web server pkCSM da universidade de Melbourne e da Universidade de Cambridge, no qual foram analisadas propriedades de toxicidade dos compostos, sendo elas: toxicidade AMES, referente ao potencial mutagênico dos compostos usando bactérias e, portanto, o seu potencial carcinogênico; a hepatotoxicidade, que deve ser levada em conta na produção de drogas, já que lesões ao tecido hepático podem ser agravadas no decorrer do tratamento; inibição dos canais de potássio pelo hERG, pois esses são os principais causadores na síndrome do QT longo, que acarreta arritmia ventricular fatal; a máxima dose tolerada, expressa em log (mg/kg/dia), cujos valores iguais ou menores a 0,477 são considerados baixos, isto é, uma dose que causará pequena toxicidade; e, a concentração necessária para causar a

morte de 50% dos peixes Flathead Minnows, sendo que o valor é dado em log, de forma que log menor que -0,3 é considerado uma alta taxa de toxicidade.

Os valores levados em consideração para definir se um composto é vantajoso ou não são os quatro primeiros, sendo que se ele não apresentar aquela característica, é um ponto positivo. E os dois últimos são usados para situação de desempate.

4.5 Geração de Diagramas de Interação 2D Proteína-Ligante

Com o auxílio do programa LigPlot+ (LASKOWSKI; SWINDELLS, 2011), foram construídos diagramas 2D da interação ligantes-SmCB1, possibilitando a demonstração das interações intermoleculares resultantes da abordagem de ancoragem.

RESULTADOS

5.1 Geração do modelo baseado em forma

O inibidor 2OZ2 (Figura 2), extraído do Protein Data Bank (PDB), foi analisado por meio do software vROCS 3.2.1.4, OpenEye Scientific Software, Santa Fe, NH (HAWKINS *et al.*, 2010), possibilitando a geração de um modelo baseado em forma a ser usado como molde para os testes seguintes.

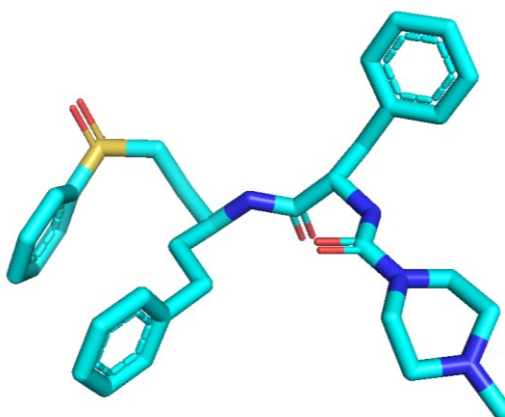


Figura 2 Estrutura do inibidor 2OZ2 extraído do PDB

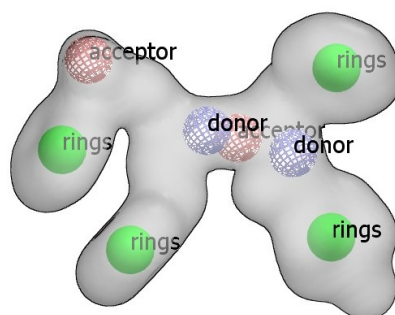


Figura 3 Modelo baseado em forma gerado a partir do inibidor 2OZ2

5.2 Preparo de bancos de dados

Os bancos de dados NuBBE, FDA, CL e EXP foram propriamente tratados a partir da filtragem de compostos indesejáveis. Além disso, os estados de protonação e desprotonação do ligante foram determinados baseado no pH 7,4. Por fim, foram gerados os possíveis tautômeros e confômeros para triagem virtual. Os confômeros são gerados a partir do programa OMEGA, que gera conformações bioativos com alta rapidez e credibilidade.

5.3 Triagem e Docking

Os bancos de dados passaram pela triagem virtual através do programa ROCS, usando o modelo baseada em forma previamente gerado e produzindo, assim, um ranking das melhores 500 melhores moléculas para cada banco de dados. Esse ranking é resultado da avaliação do score *Tanimoto combo* de cada uma das moléculas, sendo possível verificar o quanto cada ligante se encaixa ao modelo, tanto no caso de conformação quanto em pontos de interação bem definidos.

Em seguida, os compostos pré-selecionados foram submetidos ao programa GOLD, que avalia a ancoragem presente entre as proteínas e os ligantes. Dessas 500

moléculas testadas, apenas 5 de cada banco de dados foram escolhidas de acordo com as melhores pontuações no ranqueamento CHEMPLP, mostrados na Tabelas 1.

Tabela 1 Ranking de moléculas com melhor pontuação (CHEMPLP) na ancoragem molecular dos bancos de dados NuBBE, FDA, CL e EXP

Ranking	Ligante	CHEMPLP
NuBBE		
1°	310	73.9696
2°	2002	73.3064
3°	2166	72.0541
4°	859	71.6253
5°	538	70.9849
FDA		
1°	4175630	78.4284
2°	3810860	75.2201
3°	1851149	73.9330
4°	3873936	70.8523
5°	1550499	70.7683
CL		
1°	616065	79.2912
2°	628728	75.7381
3°	689602	75.0435
4°	333820	74.494
5°	635980	73.2849
EXP		
1°	92804	83.1150
2°	210883	77.4229
3°	129100	75.6567
4°	92692	75.5505
5°	92760	75.2587

5.4 Análise de propriedades farmacocinéticas in silico

Os resultados das moléculas dos bancos de dados NuBBE, FDA, CL e EXP em comparação com a 2OZ2 estão apresentados na Tabela 2 abaixo, sendo possível perceber que o melhor resultado do primeiro banco de dados é o NuBBE 538, já que, diferente dos demais, ele não é capaz de inibir o hERG II.

Já o banco de dados FDA, apresenta o composto 1851149 como o melhor resultado, pois, mesmo que apresente hepatotoxicidade e inibição do hERG II, apresenta baixa dose máxima humana tolerada e boa toxicidade Minnows.

No banco de dados CL, todos os compostos apresentam hepatotoxicidade e inibem o hERG II, sendo que a 689602 apresenta baixa dose máxima tolerada e um bom resultado para a toxicidade causada em peixes Minnows.

Por fim, o banco de dados EXP apresentou como melhor resultado o composto 92692, pois possui baixa dose máxima humana tolerada e boa toxicidade Minnows.

Tabela 2 Resultados pkCSM dos bancos de dados NuBBE, FDA, CL e EXP em comparação ao ligante 2OZ2

Código	Toxicidade AMES	Hepatotoxicidade	Inibidor hERG I	Inibidor hERG II	Dose Máxima Tolerada (log)	Toxicidade Minnows
2OZ2	Não	Sim	Não	Sim	-0.979	5.069
NuBBE						
310	Não	Não	Não	Sim	-1.412	-0.325
2002	Não	Não	Não	Sim	0.412	-4.037
2166	Não	Não	Não	Sim	0.273	-4.268
859	Não	Não	Não	Sim	0.559	-3.660
538	Não	Não	Não	Não	0.610	0.890
FDA						
4175630	Sim	Sim	Sim	Sim	-0.209	-0.587
3810860	Não	Sim	Não	Sim	-0.092	-1.016
1851149	Não	Sim	Não	Sim	-0.243	0.588
3873936	Não	Sim	Não	Sim	0.600	-0.516
1550499	Sim	Não	Sim	Sim	0.307	-0.514
CL						
616065	Não	Sim	Não	Sim	-0.122	-1.035
628728	Não	Sim	Não	Sim	-0.158	-0.987
689602	Não	Sim	Não	Sim	0.046	0.481
333820	Não	Sim	Não	Sim	-0.236	-1.562
635980	Não	Sim	Não	Sim	0.040	-0.147
EXP						
92804	Não	Sim	Não	Sim	0.622	-0.863
210883	Sim	Sim	Não	Sim	0.360	0.738
129100	Não	Sim	Não	Sim	0.624	-1.300
92692	Não	Sim	Não	Sim	-0.046	-0.267
92760	Não	Sim	Não	Sim	0.639	-0.360

5.5 Geração de diagramas de interação 2D proteína-ligante

O programa LigPlot+ foi utilizado para a geração de imagens que representem as interações 2D proteína-ligante das melhores moléculas de cada banco de dados a partir do ranking da ancoragem.

A molécula NuBBE 538, representada na Figura 4, realizou ligação de hidrogênio com os resíduos de aminoácidos Gln94, Gly269 e Trp292 e apresentou interações hidrofóbicas com 15 resíduos de aminoácidos, sendo eles: Ala271, Arg96, Cys97, Cys100, Cys189, Gly98, Gly143, Gly144, Gly190, Gly244, His180, His270, Ile193, Leu146 e Ser95.

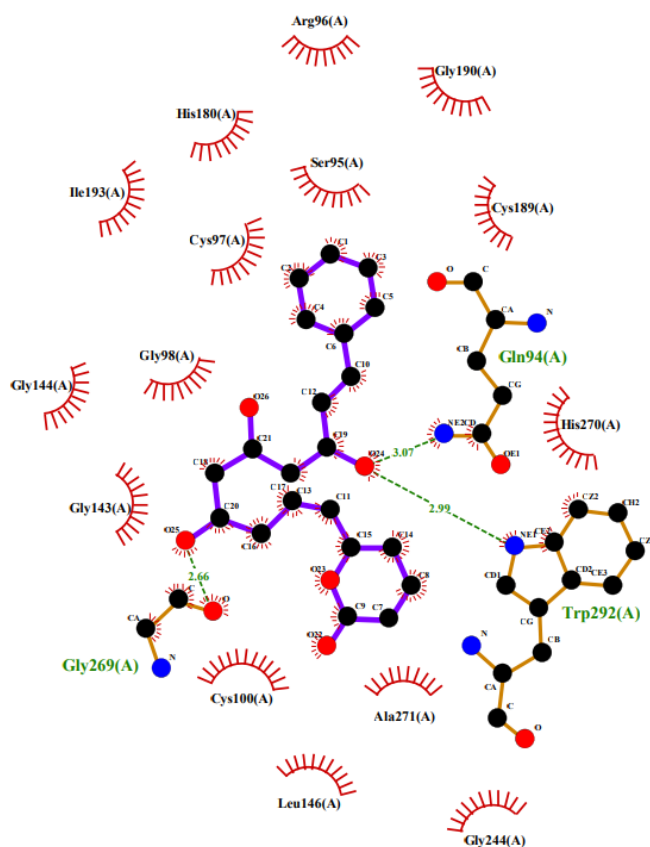


Figura 4 Representação em 2D do ligante NUBBE 538. As formas em arcos vermelhos representam resíduos de aminoácidos envolvidos em interações hidrofóbicas, as linhas tracejadas em verde representam ligações de hidrogênio, a cor marrom representa aminoácidos e a cor roxa representa o ligante

A molécula FDA 1851149, representada na Figura 5, não realizou ligação de hidrogênio com a proteína e apresentou interações hidrofóbicas com 20 resíduos de aminoácidos, sendo eles: Ala271, Arg96, Cys97, Cys100, Cys189, Gln94, Gly98, Gly143, Gly144, Gly190, Gly244, Gly269, His180, His270, Ile19, Leu146, Phe245, Ser95, Trp101 e Trp292.

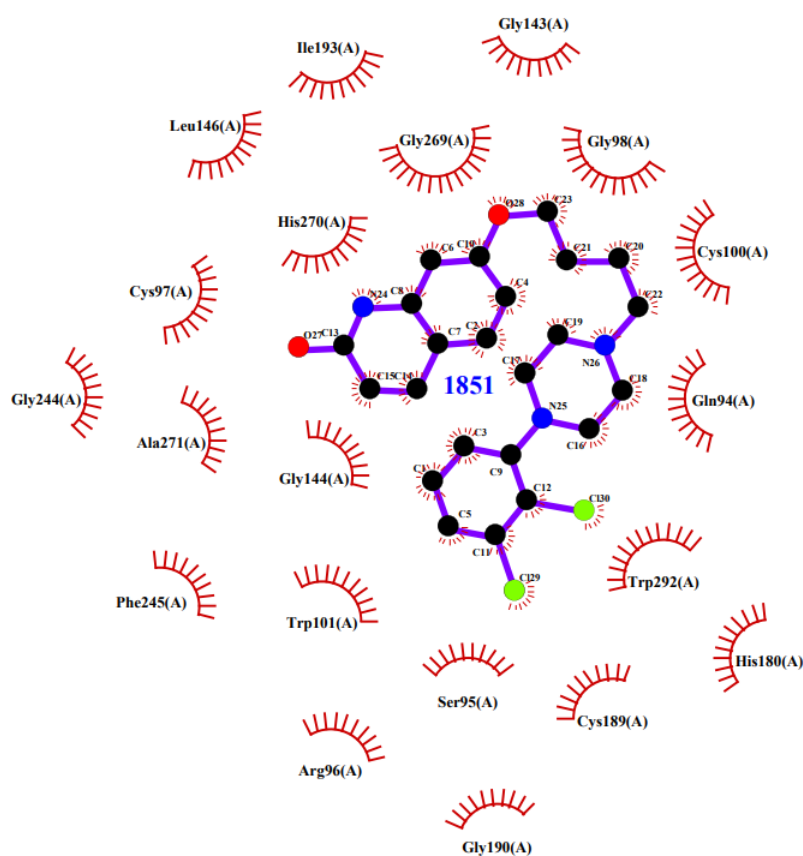


Figura 5 Representação em 2D do ligante FDA 1851149. As formas em arcos vermelhos representam resíduos de aminoácidos envolvidos em interações hidrofóbicas, as linhas tracejadas em verde representam ligações de hidrogênio, a cor marrom representa aminoácidos e a roxa representa o ligante.

A molécula CL 689602, representada na Figura 6, realizou uma ligação de hidrogênio com o resíduo de aminoácido Gly269 e apresentou interações hidrofóbicas

com 12 resíduos de aminoácidos, sendo eles: Ala271, Cys100, Gly143, Gly144, Gly244, Ile145, His270, Leu146, Leu252, Trp101, Trp292 e Val247.

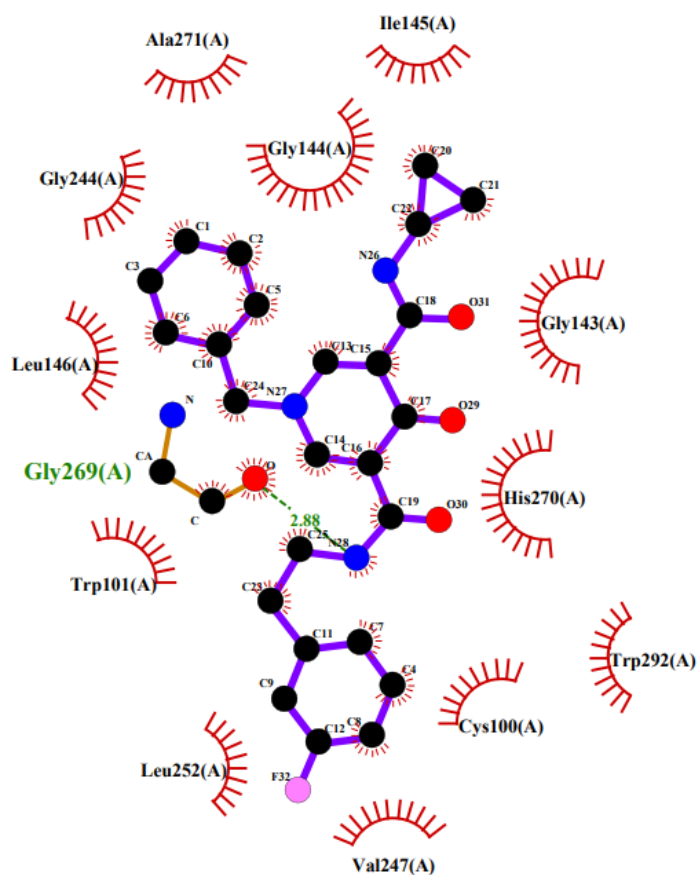


Figura 6 Representação em 2D do ligante CL 689602. As formas em arcos vermelhos representam resíduos de aminoácidos envolvidos em interações hidrofóbicas, as linhas tracejadas em verde representam ligações de hidrogênio, a cor marrom representa aminoácidos e a cor roxa representa o ligante

A molécula EXP 92692, representada na Figura 7, realizou ligação de hidrogênio com o resíduo de aminoácido Gly269 e apresentou interações hidrofóbicas com 16 resíduos de aminoácidos, sendo eles: Ala271, Cys97, Cys100, Gln94, Gly98, Gly143, Gly244, His180, His270, Ile193, Leu146, Leu252, Leu267, Ser95, Trp292 e Val247.

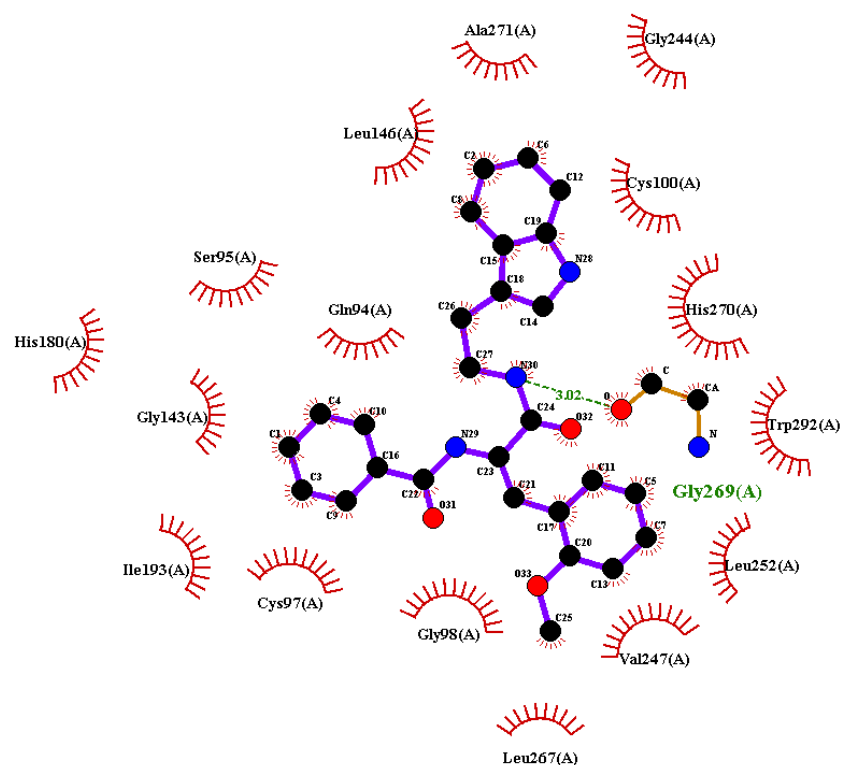


Figura 7 Representação em 2D do ligante EXP 92692. As formas em arcos vermelhos representam resíduos de aminoácidos envolvidos em interações hidrofóbicas, as linhas tracejadas em verde representam ligações de hidrogênio, a cor marrom representa aminoácidos e a cor roxa representa o ligante

DISCUSSÃO

Entre os ligantes de maior destaque está o NuBBE 538, um composto natural de *Cryptocarya moschata*, popularmente conhecida como canela-batalha ou louro-precioso. Essa é uma árvore da família *Lauraceae* que atinge 25 metros de altura e 2 metros de diâmetro. Tem domínio no cerrado brasileiro e na mata atlântica, com ocorrência nos estados do Tocantins, Alagoa, Bahia, Pernambuco, Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina.

Extratos produzidos a partir de folhas das árvores de *Cryptocarya moschata* demonstraram eficiência antimicrobiana, sendo usadas para o tratamento de infecções causadas

por *Candida albicans*, por exemplo, que podem causar candidíase orofaríngea (DE OLIVEIRA ZOCCOLOTTI et al., 2021). Além dessa característica antimicrobiana que pode ser explorada mais a frente como ação no *Schistosoma mansoni*, esse composto, quando analisada sua farmacocinética, não apresentou potencial mutagênico e hepatotoxicidade; argumento esse que reforça a ideia de que esse composto pode ser avaliado para o combate da esquistossomose.

O segundo ligante de destaque foi o FDA 1851149, conhecido como aripiprazole, usado como tratamento para esquizofrenia; episódios de estado de mania; depressão, quando o tratamento com antidepressivos não é suficiente; além de tratar síndrome de Tourette e controlar comportamentos como agressão e mudança de humor em crianças e adultos (AHFS, 2023). Com relação a sua farmacocinética, expressa na Tabela 2, ele também apresenta uma boa dose tolerável, mas possui a possibilidade de causar hepatotoxicidade. Apesar de possuir boas características para um possível desenvolvimento de fármaco, ainda não há estudos que confirmem a interação entre esse ligante com o *Schistosoma mansoni*.

Já no caso dos ligantes referentes ao banco de dados CL e EXP, por serem bancos de dados particulares, os estudos realizados dessas drogas possui acesso restrito. No caso dos resultados de farmacocinética desses bancos de dados, ambos os melhores compostos apresentam boa dose tolerável, mas hepatotoxicidade e inibição do hERG 2.

Com relação às interações apresentadas no diagrama 2D, o composto NuBBE 538 apresentou maior quantidade de ligações de hidrogênio com a proteína, sendo que a ligação com a Gly269 é repetida nas moléculas das bases de dados CL e EXP. Já as interações hidrofóbicas que ocorrem em todas as moléculas são com os resíduos de aminoácidos: Ala271, Cys100, Gly143, Gly244, His270 e Leu146.

Além disso, alguns resíduos de aminoácidos ocorrem em todos os ligantes, mas em diferentes posições. A Gly269 está presente em ligações de hidrogênio nas moléculas dos

bancos de dados NuBBE, CL e EXP e como interação hidrofóbica no composto do FDA. Isso é visto com o Trp292, mas apresenta ligação de hidrogênio apenas no NuBBE 538 e nas demais é uma interação hidrofóbica. Os demais resíduos ocorrem entre três ou duas moléculas.

CONCLUSÃO

Este trabalho possibilitou a construção de um modelo baseado em forma a partir de um complexo inibidor-catepsina B1 de *Schistosoma mansoni* obtido no banco de dados do *Protein Data Bank*. Além disso foram realizadas triagens virtuais com a utilização deste modelo, o que possibilitou a seleção de 500 moléculas com potencial de ligação a catepsina B1 utilizando-se de bancos de dados de produtos naturais, de fármacos e compostos *druglike*. A partir de análises das propriedades farmacocinéticas e das interações 2D ligante-receptor, foram selecionadas as 4 moléculas mais promissoras para o desenvolvimento de novas drogas, tendo como principal destaque o composto natural 538 oriundo da base de dados NuBBE.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DE OLIVEIRA ZOCCOLOTTI, J. et al. Antimicrobial efficacy and biocompatibility of extracts from *Cryptocarya* species. **PLoS ONE**, v. 16, n. 12 December, 1 dez. 2021.

DE SOUZA, F. P. C. et al. Esquistossomose mansônica: aspectos gerais, imunologia, patogênese e história natural. **Rev Bras Clin Med**, v. 9, n. 4, p. 300–307, jul. 2011.

DHEER, D.; NICOLAS, J.; SHANKAR, R. **Cathepsin-sensitive nanoscale drug delivery systems for cancer therapy and other diseases. Advanced Drug Delivery Reviews** Elsevier B.V., , 1 nov. 2019.

FERREIRA, L. G. et al. **Molecular docking and structure-based drug design strategies. Molecules** MDPI AG,, 1 jul. 2015.

HAWKINS, P. C. D. et al. Conformer generation with OMEGA: Algorithm and validation using high quality structures from the protein databank and cambridge structural database. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 50, n. 4, p. 572–584, 26 abr. 2010.

JÍLKOVÁ, A. et al. Structural basis for inhibition of cathepsin B drug target from the human blood fluke, *Schistosoma mansoni*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 286, n. 41, p. 35770–35781, 14 out. 2011.

LASKOWSKI, R. A.; SWINDELLS, M. B. LigPlot+: Multiple ligand-protein interaction diagrams for drug discovery. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 51, n. 10, p. 2778–2786, 24 out. 2011.

LI, Y. Y.; FANG, J.; AO, G. Z. **Cathepsin B and L inhibitors: a patent review (2010 - present). Expert Opinion on Therapeutic Patents** Taylor and Francis Ltd., 3 jun. 2017.

PIRES, D. E. V.; BLUNDELL, T. L.; ASCHER, D. B. pkCSM: Predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 58, n. 9, p. 4066–4072, 14 maio 2015.

PORDEUS, L. C. et al. **The Occurrence of Acute and Chronic Forms of the Schistossomiais Mansonic in Brazil from 1997 to 2006: A Revision of Literature A ocorrência das formas aguda e crônica da esquistossomose mansônica no Brasil no período de 1997 a 2006: uma revisão de literatura** *Epidemiol. Serv. Saúde, Brasília*. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.>>.

RUGEL, A. R. et al. Why does oxamniquine kill *Schistosoma mansoni* and not *S. haematobium* and *S. japonicum*? **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 13, p. 8–15, 1 ago. 2020.

SCHOLTE, R. G. C. et al. **Spatial distribution of Biomphalaria spp., the intermediate host snails of Schistosoma mansoni, in Brazil**. [s.l: s.n.].

SHANMUGAM, G.; JEON, J. **Computer-aided drug discovery in plant pathology**. **Plant Pathology Journal** Korean Society of Plant Pathology,, 2017.

SILVA-MORAES, V. et al. **Diagnosis of schistosoma mansoni infections: What are the choices in brazilian low-endemic areas? Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** *Fundacao Oswaldo Cruz*, , 1 fev. 2019.

SOJKA, D. et al. **Parasite Cathepsin D-Like Peptidases and Their Relevance as Therapeutic Targets**. **Trends in Parasitology** Elsevier Ltd., 1 set. 2016.

SOTILLO, J. et al. A quantitative proteomic analysis of the tegumental proteins from *Schistosoma mansoni* schistosomula reveals novel potential therapeutic targets. **International Journal for Parasitology**, v. 45, n. 8, p. 505–516, 1 jul. 2015.