SIM QUI FAM 2022

II Simpósio de Química Farmacêutica & Medicinal

22 a 26 de agosto de 2022

Anais do Simpósio de Química Farmacêutica & Medicinal: II SIMQFAM

Patrocinadores: Apoio: Realização:

SIMPÓSIO DE QUÍMICA FARMACÊUTICA & MEDICINAL

ANAIS DO SIMPÓSIO DE QUÍMICA FARMACÊUTICA & MEDICINAL: II SIMQFAM

Isabelle Castro (Organizadora)

Marcelle Bispo (Coordenadora)

Catalogação na publicação elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da Universidade Estadual de Londrina
Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

S613a

Simpósio de Química Farmacêutica & Medicinal (2. : 20221 : Londrina, PR)
Anais do II Simpósio de Química Farmacêutica & Medicinal / Isabelle Castro (Organizadora) ; Marcelle Bispo Coordenadora). -- Londrina : UEL, 2022.
62 p : il.

Vários autores.
Simpósio realizado nos dias 18 a 22 de outubro de 2021.
Inclui bibliografia.
Disponível em: https://lasmmed.com.br/ii-simqfam/
ISBN 978-65-00-52929-6

1. Química farmacêutica - Congressos. 2. Química medicinal – Congressos. 3. Medicina – Congressos. I. Castro, Isabelle. II. Bispo, Marcelle. III. Simpósio de Química Farmacêutica & Medicinal (2. : 20221 : Londrina, PR). IV. Universidade Estadual de Londrina. V. SIMQFAM. VI. Título.

CDU 615.011

Elaborada pela Bibliotecária Eliane M. S. Jovanovich – CRB 9/1250

ÍNDICE

TRABALHO COMPLETO EXPANDIDO GRADUAÇÃO **5**

ESTUDO COMPUTACIOAL DE DERIVADOS INDÓLICOS COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTIMICOBACTERIANA FRENTE A AHPC 5

TRIAGEM VIRTUAL DE DERIVADOS DO CARVACROL COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTIUREOLÍTICA E ANTIBACTERIANA 8

AVALIAÇÃO *IN SILICO* DE ANÁLOGOS DE UM INIBIDOR DA NS5 METILTRANSFERASE DO VÍRUS DA DENGUE 11

IDENTIFICAÇÃO DE POTENCIAIS INIBIDORES DA HMG-COA REDUTASE DE *SPOROTHRIX* SP. PARA DESENVOLVIMENTO DE NOVOS ANTIFÚNGICOS UTILIZANDO FERRAMENTAS DE MODELAGEM MOLECULAR 14

ABORDAGEM *IN SILICO* APLICADA PARA IDENTIFICAÇÃO DE 4-CROMONAS COM POTENCIAL ATIVIDADE TRIPANOCIDA 16

TRIAGEM VIRTUAL DE INIBIDORES DA PROTEÍNA NÃO ESTRUTURAL 12 COMO ALVO TERAPÊUTICO PARA A COVID-19 19

TRIAGEM VIRTUAL DE DERIVADOS INDÓLICOS COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTITRIPANOSSÔMICA 22

EFEITOS ANALGÉSICO E ANTI-INFLAMATÓRIO DA MARESINA 1 EM MODELO DE ARTRITE EM CAMUNDONGOS 25

TRIAGEM VIRTUAL DE NOVOS ANÁLOGOS DO INIBIDOR NOR-NOHA PARA INIBIÇÃO DA ARGINASE DE *L. MEXICANA* 28

TRIAGEM VIRTUAL NA BIBLIOTECA BRACOLI VISANDO A INTERAÇÃO DA PROTEÍNA NUCLEOCAPSÍDEO DO SARS-COV-2 31

TRABALHO COMPLETO EXPANDIDO PÓS-GRADUAÇÃO **34**

PARAMETRIZAÇÃO DO CRIZOTINIB USANDO O CAMPO DE FORÇA MARTINI 3 34

DESIGN DE DROGAS POR LBDD E DOCKING MOLECULAR MOSTRA BIOATIVIDADE AUMENTADA CONTRA VARIANTES DO SARS-COV-2 37

A PROTECTINA DX REDUZ A INFLAMAÇÃO E DOR EM MODELO DE INFLAMAÇÃO AGUDA EM CAMUNDONGOS 40

ESTUDO DO POTENCIAL ANTIDEPRESSIVO DO AZUL DE METILENO POR DOCKING MOLECULAR 43

TRABALHO COMPLETO SIMPLES GRADUAÇÃO **46**

MODELAGEM MOLECULAR DE NOVOS COMPOSTOS AZÓLICOS COMO INIBIDORES DA CYP51 DE *TRYPANOSOMA CRUZI* 46

IMATINIBE: ANÁLISE DAS PROPRIEDADES *IN SILICO* E PLANEJAMENTO DE ANÁLOGOS 47

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS ANTI-INFLAMATÓRIOS E ANALGÉSICOS DA RESOLVINA D5 EM MODELO DE DOR E INFLAMAÇÃO INDUZIDO POR CARRAGENINA EM CAMUNDONGOS 48

SÍNTESE DE UMA TIAZOLIDINONA USANDO UMA METODOLOGIA ONE-POT E SEM SOLVENTE 49

TRABALHO COMPLETO SIMPLES PÓS-GRADUAÇÃO 50

DESFERRIOXAMINE AND ITS CAFFEINE DERIVATIVE DISTURB MEMBRANES PACKAGE: FTIR AND DSC STUDIES 50

SÍNTESE DE ANÁLOGOS DE UNIFLOROL COM VISTAS À ATIVIDADE BIOLÓGICA 51

PROJETO GRADUAÇÃO 52

AVALIAÇÃO POR *DOCKING* MOLECULAR DE ALCALOIDES B-CARBONÍLICOS COMO POTENCIAIS INIBIDORES DA ACETILCOLINESTERASE 52

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL MEDICINAL DA PLANTA *SYZYGIUM CUMIN* CONTRA A DOENÇA DE DIABETES MELLITUS 53

PROJETO PÓS-GRADUAÇÃO 54

TRIAGEM DE POTENCIAIS INIBIDORES DA TIMIDINA QUINASE DO VÍRUS DA HERPES SIMPLES 54

ESTUDO *IN SILICO* DA ENZIMA L,D-CARBOXYPEPTIDASE CSD6 DO *HELICOBACTER PYLORI* 55

PLANEJAMENTO E TRIAGEM VIRTUAL DE INIBIDORES DA ENZIMA ARGINASE DE *LEISHMANIA AMAZONENSIS* A PARTIR DA QUIMIOTECA DO LASMMED 56

REVISÃO EXPANDIDA GRADUAÇÃO 57

TRIAGEM BIODIVERSIDADE E ETNOBOTÂNICA: O POTENCIAL VEGETAL BRASILEIRO NA DESCOBERTA DE NOVOS FÁRMACOS 57

REVISÃO SIMPLES PÓS-GRADUAÇÃO 59

PLANTAS MEDICINAIS: FITOQUÍMICA E DESENVOLVIMENTO DE FITOFÁRMACOS 59

MEDIADORES LIPÍDICOS PRÓ-RESOLUÇÃO NO CONTROLE DA DOR E INFLAMAÇÃO 60

MARESINA-2: UM MEDIADOR PRÓ-RESOLUTIVO ESPECIALIZADO RECENTEMENTE IDENTIFICADO COM CAPACIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA 61

C-E-G-01

Estudo computacional de derivados indólicos com potencial atividade antimicobacteriana frente a enzima AhpC

Gabriel G. Vanzo (IC)[1], Maria Luiza Zeraik (PQ)[2], Marcelle L. F. Bispo (PQ)[2]*. mlfbispo@uel.br

1 – Curso de Farmácia, Universidade Estadual de Londrina, PR - Brasil.
2 – Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina, PR - Brasil.
Palavras-Chave: *Indol, Tuberculose, Docking molecular, AhpC, Resistência bacteriana.*

Introdução

A tuberculose (TB) é uma doença infectocontagiosa causada pela bactéria *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), sendo uma das principais causas de morte por um agente infeccioso no mundo todo e uma enorme preocupação de saúde pública global.[1] O seu tratamento é complexo e longo, envolvendo uma politerapia de no mínimo 6 meses de duração e 4 fármacos: rifampicina, isoniazida, pirazinamida e etambutol.[2] Mesmo havendo tratamento, o surgimento de cepas resistentes é cada vez mais frequente, como o Mtb resistente à múltiplos fármacos (MDR-Mtb), incluindo essencialmente resistência a rifampicina e isoniazida, que são as duas principais opções terapêuticas.[3] Desse modo, compreender o mecanismo de resistência e desenvolver novas opções terapêuticas se tornou uma estratégia para combater a TB.

A Isoniazida (INH) é um pró-fármaco e para exercer sua atividade necessita passar por uma reação de oxidação realizada pela catalase-peroxidase multifuncional KatG do Mtb.[4] A resistência do Mtb contra a INH pode ocorrer por diferentes mecanismos, sendo um deles a expressão de uma enzima diferente em substituição da KatG, a alquilhidroperoxi-redutase (AhpC), que protege o microrganismo do estresse oxidativo e nitrosativo gerado pelo hospedeiro humano, mas não ativa a INH.[4,5] A AhpC é uma peroxirredoxina, fazendo parte da família de peroxidases, e utiliza dois resíduos de cisteína para sua atividade oxidorredutora, onde um dos resíduos ataca o substrato e é oxidado para ácido sulfênico (Cys-SOH) e o outro ataca então o Cys-SOH formado, estabelecendo uma ponte dissulfeto estável, que será reduzida por outras enzimas posteriormente e completará o ciclo catalítico.[5,6]

Visando essa enzima alternativa, faz-se necessário o desenvolvimento de novas substâncias que possam inibir sua atividade e contribuir para o combate das cepas de Mtb multirresistentes. Nesse contexto, surgem como opção os indóis, que são compostos heterocíclicos nitrogenados que apresentam atividade antimicobacteriana comprovada contra o Mtb, podendo ser considerados promissores candidatos a fármacos anti-TB.[7,8] Portanto, os derivados indólicos pertencentes a quimioteca do Laboratório de Síntese de Moléculas Medicinais (LaSMMed) serão avaliados através do *docking* molecular como possíveis inibidores da AhpC, com posterior avaliação *in silico* da fármaco-similaridade desses compostos.

Objetivos

Realizar um estudo de *docking* molecular dos dezesseis derivados indólicos presentes na quimioteca do LaSMMed, utilizando como possível alvo a enzima alquilperóxiredutase C (AhpC) de *Mycobacterium tuberculosis*, visando a identificação de potenciais inibidores desta enzima. Além disso, realizou-se um estudo *in silico* para prever a fármaco-similaridade (*druglikeness*) das melhores moléculas.

Metodologia

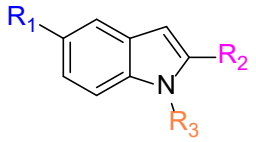
Inicialmente, buscou-se a estrutura cristalográfica da AhpC através do banco de dados Protein Data Bank (PDB - https://www.rcsb.org/), utilizando como palavras-chave "AhpC" e "*Mycobacterium tuberculosis*". O complexo escolhido foi o "Mycobacterium tuberculosis AhpC" (PDB ID: 2BMX), que possui resolução de 2.40 Å. As estruturas tridimensionais dos compostos foram obtidas através da extensão Chem3D HotLink do programa ChemDraw (v. 20.0.0.41), utilizando o campo de força MM2 para minimizar suas energias. A estrutura da AhpC (PDB ID: 2BMX) foi preparada utilizando o Discovery Studio Visualizer (v. 20.1.0.19295), onde a ligação covalente da ponte dissulfeto realizada pelos aminoácidos Cys61 (A) e Cys174 (B) foi quebrada, e em seguida, restaurou-se a valência dos átomos de enxofre. O *docking* molecular foi realizado através do software GOLD (v. 2021.3.0), onde foram adicionados os átomos de hidrogênio na AhpC e o centro do local de ligação foi definido como o ponto médio entre os aminoácidos Cys61, Pro54, Thr58 e Arg133 do

monômero A, além de Cys174 e Cys176 do monômero B. As coordenadas do centrômero obtidas no Discovery Studio Visualizer foram X: 3,000744, Y: 56,702140 e Z: 27,502535. O raio escolhido para a análise do ligante foi de 15 Å. A ancoragem molecular foi realizada com a macromolécula no modo rígido e os ligantes flexíveis, com 50 poses de ancoragem para cada um dos 16 ligantes, utilizando as quatro funções de pontuação disponíveis no programa GOLD (GoldScore, ChemScore, CHEMPLP e ASP), e mantendo as demais configurações definidas como padrão para os cálculos. A validação do protocolo foi feita por consenso entre as quatro funções usando a metodologia de escala, como descrito por Wiggers *et al* (2011).[9] Por último, utilizou-se a plataforma SwissADME (http://www.swissadme.ch) para avaliar o perfil de *druglikeness* dos ligantes, através de cinco filtros diferentes, sendo estes, Lipinski, Ghose, Veber, Egan e Muegge.[10]

Resultados e discussão

Após a validação pela metodologia de escala, os ligantes foram analisados de acordo com seu desempenho, onde os cinco melhores colocados (**Tabela 1**) foram avaliados quanto as suas interações intermoleculares (**Figura 1**).

Tabela 1. Substituintes presentes nos cinco melhores ligantes e sua pontuação de acordo com a soma da metodologia de escala.



Subst.	R_1	R_2	R_3	Pont. Escala (Soma)
38	Cl	3-OH-4-OMePh	-	3,4730
32	H	i-Bu	Bz	2,7270
39	Cl	4-OHPh	-	2,3356
33	Cl	Ph	-	2,0236
31	H	Ph	Boc	1,9786

Fonte: Autor próprio.

Duas características estruturais relevantes para o reconhecimento molecular puderam ser identificadas pela triagem virtual: i) presença de substituintes hidrofóbicos (benzoíla e Boc) em R_3 (**LMed 31** e **32**), e ii) presença de Cloro em R_1 e substituintes doadores de elétrons no anel benzênico (**LMed 33**, **38** e **39**). Esses derivados foram avaliados quanto as interações com os resíduos de aminoácidos da enzima, visto que alguns são mais relevantes no processo catalítico e importantes para sua inibição. Sabe-se que a tríade catalítica é composta por Cys61, Cys174 e Ser176, além dos aminoácidos Pro54, Thr58, Glu64, Arg133 e Arg156, que são tidos como relevantes para o sítio ativo e atividade enzima.[6]

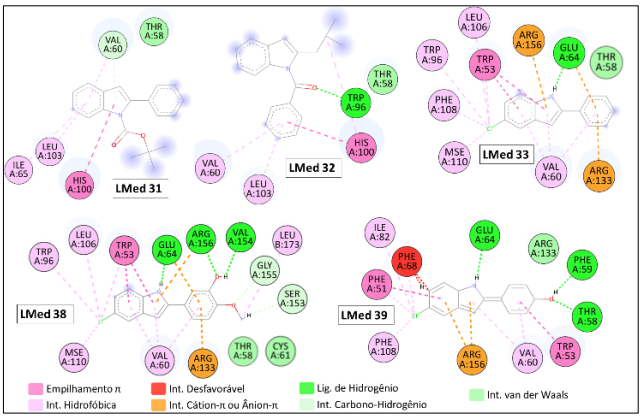


Figura 1. Interações intermoleculares dos cinco melhores ligantes com os aminoácidos da AhpC. Fonte: Autor próprio.

Analisando as interações intermoleculares (**Figura 1**), percebe-se que os ligantes **LMed 31** e **32** possuem pouca relevância, visto que apresentam interações fracas com os resíduos, salvo por uma ligação de hidrogênio presente no **LMed32** com o Trp96, além de que esses dois ligantes não interagem com os resíduos relevantes, havendo apenas interações de van der Waals com a Thr58. Em relação aos três ligantes clorados em R_1 (**LMed 33**, **38** e **39**), pode-se observar uma maior variedade de interações com a macromolécula (**Figura 1**). Primeiramente, em relação ao halogênio, nota-se que o cloro é responsável por estabelecer no mínimo quatro interações hidrofóbicas com diferentes aminoácidos, que apesar de não serem tão fortes, são interações que podem ter relevância no posicionamento do ligante. Outra semelhança entre os três ligantes são os empilhamentos-π realizados com o Trp53. Olhando mais detalhadamente o **LMed39,** percebe-se a presença de dois tipos de interações fortes e relevantes, sendo duas interações cátion-π da Arg156 com os anéis do núcleo indólico e três ligações de hidrogênio, com o Glu64, Thr58 e Phe59, sendo essas duas últimas realizadas através da hidroxila presente no 4-hidroxifenil, que é o substituinte em R_2. Uma última observação para esse ligante é a presença de duas interações

desfavoráveis com a Phe68, o que pode atrapalhar o reconhecimento molecular. Analisando o **LMed38** ficam visíveis interações mais fracas do tipo carbono-hidrogênio, e interações fortes que possuem relevância, como duas interações cátion-π (da Arg133 e Arg156), uma ânion-π (do Glu64) e as três ligações de hidrogênio visíveis, com o Glu64, Arg156 e Val154, onde novamente as duas últimas são realizadas com átomos do substituinte em R_2, que no **LMed38** é a hidroxila do 3-hidroxi-4-metoxifenil presente nessa posição. Por último, há o **LMed33**, onde inicialmente destaca-se uma única ligação de hidrogênio, com o Glu64, número menor quando em comparação aos dois ligantes anteriores. Isso se dá provavelmente pela ausência de grupos doadores ou aceptores desse tipo de interação no substituinte R_2, visto que esse ligante possui apenas uma fenila nessa posição. Porém restam ainda três interações importantes, que são duas cátion-π, com a Arg133 e Arg156, e uma ânion-π, com o Glu64.

De modo geral, é possível visualizar que o **LMed38** apresenta um maior número de interações, sendo que grande parte são fortes e relacionadas com resíduos relevantes, estabelecendo-o como melhor ligante. Os ligantes **LMed 39** e **33** também apresentam um bom número de interações, principalmente algumas de força considerável e com grande relevância, o que mantêm esses dois ligantes como possíveis inibidores. Por último, mesmo com suas boas posições, o **LMed 32** e o **31** (2º e 5º na classificação) não chamam muita atenção quanto às interações, o que diminui as expectativas de ambos atuarem como inibidores.

Por fim, os três derivados mais promissores **LMed 33, 38** e **39** foram avaliados por cinco filtros de fármaco-similaridade (**Tabela 2**).

Tabela 2. Avaliação da fármaco-similaridade dos ligantes **LMed 33**, **38** e **39** através de cinco filtros.

Filtros	Ligantes		
	LMed33	LMed38	LMed39
Lipinski	Sim	Sim	Sim
Ghose	Sim	Sim	Sim
Veber	Sim	Sim	Sim
Egan	Sim	Sim	Sim
Muegge	Não	Sim	Sim

Fonte: SwissADME (http://www.swissadme.ch/).

Ao avaliar os três ligantes (**LMed 33**, **38** e **39**) quanto a fármaco-similaridade (**Tabela 2**), todos foram aprovados nos filtros de Lipinski, Ghose, Veber e Egan. No filtro de Muegge, apenas o **LMed33** foi reprovado por possuir menos que 2 heteroátomos, entretanto essa única violação não será utilizada para excluir o ligante da triagem. Essa avaliação nos permite inferir que as três substâncias selecionadas podem apresentar bons perfis de absorção e biodisponibilidade oral.

Conclusões

O *docking* molecular realizado inicialmente foi validado através da metodologia de escala, estabelecendo um ranking entre as substâncias, onde as cinco melhores foram selecionadas para avaliações posteriores. Após a análise de farmacodinâmica, os ligantes **LMed 31** e **32** demonstraram um menor número de interações intermoleculares fortes e com resíduos de pouca relevância, o que pode ser desfavorável para a inibição enzimática, excluindo essas substâncias da triagem. Os ligantes **LMed 33**, **38** e **39** realizaram grande quantidade de interações fortes e relevantes, consideradas favoráveis à inibição do alvo. A predição de *druglikeness* indicou que os ligantes **LMed 33**, **38** e **39** possuem bom perfil para serem fármacos de uso oral, visto que foram aprovados nos filtros utilizados.

Após a triagem virtual, as substâncias selecionadas foram o **LMed 33**, **38**, e **39**, sendo que a continuidade do projeto visa a síntese desses derivados indólicos e sua avaliação experimental através de ensaios *in vitro* de atividade antioxidante e frente ao *Mycobacterium tuberculosis.*

Agradecimentos

Ao CNPQ pela bolsa concedida.

Referências e notas

(1) Word Health Organization. *Global Tuberculosis Report*. 2021.
(2) Nogueira, A. F. *et al. Rev Bras Farm*. **2012**, *93*, 3.
(3) Silva, P. E. A.; Palomino, J. C. J. *Antimicrob. Chemother*. **2011**, *66*, 1417.
(4) Laborde, J.; Deraeve, C.; Bernardes-Génisson, V. *ChemMedChem*. **2017**, *12*, 1657.
(5) Chong, S. M. S.; Kamariah, N.; Grüber, G. *FEBS Letters*. **2020**, *594*, 2829.
(6) Guimarães, B. G. *et al. J. Biolog. Chem*. **2005**, *280*, 25735.
(7) Onajole, O.K. *et al. J. Med. Chem*. **2013**, *56*, 4093.
(8) Nikonenko, B. V. *et al. Antimicrob. Agents Chemother*. **2016**, *60*, 6422.
(9) Wiggers, H. J. *et al. Mol. Inf.* **2011**, *30*, 565.
(10) Daina, A.; Michielin, O.; Zoete, V. *Sci. Rep*. **2017**, *7*, 42717.

C-E-G-02

Triagem virtual de derivados do carvacrol com potencial atividade antiureolítica e antibacteriana

Isabelle H. Castro (IC)[1,2], Marcelle L. F. Bispo (PQ)[2]*. mlfbispo@uel.br

1 – Curso de Farmácia, Universidade Estadual de Londrina, PR – Brasil.
2 – Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina, PR – Brasil.
Palavras-Chave: *Urease, Helicobacter pylori, Docking molecular; Propriedades físico-químicas e farmacocinéticas*.

Introdução

Apesar da maioria das bactérias serem essenciais para a manutenção da vida na Terra, algumas delas demandam atenção especial por possuírem alto potencial patogênico. Por exemplo, a bactéria Gram-negativa, espiralada e multiflagelada *Helicobacter pylori*, é capaz de colonizar a mucosa gástrica e, por isso, frequentemente está relacionada a infecções do trato gastrointestinal, como úlceras pépticas, gastrites crônicas e câncer gástrico.[1,2]

A urease é uma das principais enzimas que contribuem para a patogenicidade do *H. pylori*.[3] A principal função dessa enzima é a conversão da ureia em amônia, processo que permite a sobrevivência da bactéria em ambientes de alta acidez, como o estômago. Além disso, o hidróxido de amônio gerado pela ação da urease provoca lesões das células epiteliais gástricas.[4]

Devido aos diversos mecanismos fisiopatológicos relacionados à doença causada pelo *H. pylori*, é comum a prescrição de medicamentos com diversos mecanismos de ação. A primeira escolha é o esquema tríplice com amoxicilina (inibidor da síntese da parede celular bacteriana), claritromicina (inibidor da síntese proteica bacteriana) e um inibidor de bomba de prótons (IBP), como o omeprazol. Uma alternativa para o tratamento é a terapia quádrupla, com tetraciclina, metronidazol, um IBP e bismuto.[4,5]

Apesar da eficácia dos tratamentos atuais, o *H. pylori* pode sofrer mutações, levando à resistência a esses medicamentos.[5] Desse modo, é necessária a descoberta de novos fármacos antibacterianos e, nesse contexto, nota-se o potencial da urease como alvo terapêutico, visto que sua inibição demonstra grande importância clínica.[6]

Diversos estudos comprovam o potencial antibacteriano do carvacrol (5-isopropil-2-metilfenol, **Figura 1**), um monoterpeno fenólico encontrado em óleos essenciais de espécies vegetais, como orégano (*Origanum vulgare*).[7] Por exemplo, pode-se destacar o estudo de Korona-Glowniak *et al.* (2020), que mostrou que óleos essenciais ricos em carvacrol apresentaram importante atividade antiureolítica e anti-*H. pylori in vitro*.[8]

Objetivos

Tendo em vista o potencial antimicrobiano demonstrado pelo carvacrol, o presente trabalho relata uma triagem virtual de 40 derivados desse monoterpeno, realizada por *docking* molecular e predição *in silico* de propriedades físico-químicas, farmacocinéticas (absorção, distribuição e toxicidade) e de *druglikeness*, visando a identificação de derivados promissores no combate à infecção por *H. pylori*

Metodologia

O complexo utilizado foi obtido no banco de dados *Protein Data Bank* (PDB ID: 6ZJA, resolução 2,0 Å), no qual se encontra depositada a estrutura da enzima urease de *H. pylori* co-cristalizada com o inibidor (2-[1-(3,5-dimetilfenil)imidazol-2-il]sulfanil-N-hidroxiacetamida) em seu sítio ativo. No programa *Discovery Studio Visualizer* (v21.1.0.20298), as moléculas de água do complexo foram removidas e, apenas as subunidades A, B, N, Q e R da macromolécula foram mantidas, visto que essas subunidades estão na interface do sítio ativo, cujo centro se encontra nas cadeias B e R. Os ligantes foram preparados no programa *Chem3D Ultra* (v. 20.0.0.41), no qual as suas estruturas foram desenhadas e minimizadas energeticamente pelo campo de força MM2 e, posteriormente, salvos em formado ".mol2". No *software* MarvinSketch (v.21.4.0), ainda, verificou-se o estado de protonação do derivado **40**, em pH 7,4, além da busca por tautômeros, considerando o mesmo pH.

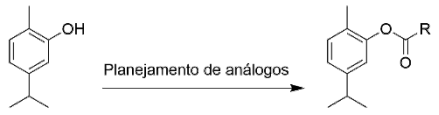
Para o *docking* molecular, foi utilizado o *software* GOLD (v.2020.3.0). Após a inserção do complexo modificado, as ligações rotacionáveis da macromolécula foram configuradas fixas e os hidrogênios polares adicionados, seguidos pela retirada do inibidor previamente co-cristalizado. As coordenadas para a docagem dos ligantes foram definidas como o ponto médio entre os dois íons

níquel presentes no sítio ativo (X = 225,145000; Y = 246,013000; Z = 196,511000) e o raio de interações foi definido como 15 Å. Os ligantes, então, foram inseridos e tiveram suas ligações rotacionáveis estabelecidas como flexíveis, sendo a ancoragem molecular realizada com 50 poses para cada composto. As demais configurações foram mantidas no modo pré-definido do sistema. Os ligantes de *fitness score* (FS) acima de 30 tiveram suas interações intermoleculares analisadas pelo programa *Discovery Studio Visualizer*. Aqueles com as melhores interações foram submetidos à predição *in silico* de propriedades farmacocinéticas (absorção, distribuição e toxicidade) e físico-químicas (LogP), além de quatro filtros de *druglikeness* (Lipinski, Pfizer, GSK e *Golden Triangle*), pela plataforma online ADMETlab 2.0 (https://admetmesh.scbdd.com/).

Resultados e discussão

Em primeiro lugar, é necessária a validação do protocolo de *docking* molecular a ser utilizado, que pode ser realizada por *Redocking*, uma vez que o complexo apresenta um inibidor co-cristalizado. Como critério de validação, pode-se utilizar o valor de RMSD (*Root-Mean-Square Deviation*) que, sendo menor do que 2 Å, valida o procedimento.[9] O *redocking* foi realizado nas quatro funções de pontuação do *software* GOLD (CHEMPLP, ChemScore, ASP e GoldScore) e a função ASP foi escolhida, que resultou em uma pontuação de 40,94 e RMSD igual a 1,4621 Å.

Uma vez validado, o protocolo de *docking* molecular foi aplicado para os 40 derivados do carvacrol (**Figura 1**) frente à urease de *H. pylori*. Dentre os 40 compostos, 12 ésteres derivados do carvacrol (**LMed01-08**, **LMed13-15** e **LMed22**) já haviam sido sintetizados pelo grupo de pesquisa. Posteriormente, foi proposta a avaliação de ésteres benzoilados monossubstituídos com grupos substituintes doadores de ligações de hidrogênio (**LMed09-12**) e os polissubstituídos (**LMed16-21**). Além disso, foram planejados derivados por hibridização molecular com fragmentos heterocíclicos do tipo cumarina (**LMed23**), cromona (**LMed24**) e indol (**LMed25**), que apresentam atividade antiureolítica já registradas na literatura (**Figura 1**).[10-12] Em paralelo, foram propostos derivados com o grupo carbamato como espaçador entre o fragmento do carvacrol e o anel benzênico (**LMed26-39**), de modo a avaliar a contribuição desse grupamento como doador e aceptor de ligação de hidrogênio na complementaridade molecular. Por fim, o derivado nitrado (**LMed40**) foi proposto visando verificar a influência de um grupo retirador de elétrons no reconhecimento molecular.



LMed01 R = CH_3
LMed02/LMed26 R = Ph/NH-Ph
LMed03/LMed27 R = 2-ClPh/NH-2-ClPh
LMed04/LMed28 R = 3-ClPh/NH-3-ClPh
LMed05/LMed29 R = 4-ClPh/NH-4-ClPh
LMed06/LMed30 R = 2-OMePh/NH-2-OMePh
LMed07/LMed31 R = 3-OMePh/NH-3-OMePh
LMed08/LMed32 R = 4-OMePh/NH-4-OMePh
LMed09/LMed33 R = 2-NH_2Ph/NH-2-NH_2Ph
LMed10/LMed34 R = 4-NH_2Ph/NH-4-NH_2Ph
LMed11/LMed35 R = 2-OHPh/NH-2-OHPh
LMed12/LMed36 R = 4-OHPh/NH-4-OHPh
LMed13/LMed37 R = 2-NO_2Ph/NH-2-NO_2Ph
LMed14/LMed38 R = 3-NO_2Ph/NH-3-NO_2Ph
LMed15/LMed39 R = 4-NO_2Ph/NH-4-NO_2Ph
LMed16 R = 2,4-ClPh
LMed17 R = 3,5-NO_2Ph
LMed18 R = 3-NO_2-4-ClPh
LMed19 R = 3-OMe-4-OHPh
LMed20 R = 2-OH-3,5-NO_2Ph
LMed21 R = 2-OH-5-SO_3HPh
LMed22 R = CHCHPh
LMed23 R = 3-cumaril
LMed24 R = 3-cromona
LMed25 R = 2-indol
LMed40 = 4-nitrocarvacrol
LMed40a = 4-nitrocarvacrol ionizado

Figura 1. Estruturas químicas do carvacrol e dos derivados propostos.

De modo geral, os derivados com grupos substituintes mais volumosos demonstraram melhor complementaridade molecular com a enzima, visto que o derivado nitrado neutro (FS = 21,52) e ionizado (FS = 19,53), o éster acetilado (FS = 21,10) e o próprio carvacrol (FS = 19,12) obtiveram piores pontuações na ancoragem molecular. Ainda, ésteres e carbamatos benzoilados com grupos substituintes retiradores de elétrons geraram melhores valores de pontuação do que doadores.

Na análise das interações dos derivados com valores de pontuação acima de 30, foram priorizadas as interações com os resíduos de histidina presentes no sítio ativo (His221 e His248), o que poderia impedir o acesso do substrato da enzima (ureia). O segundo critério de exclusão corresponde à interação concomitante com resíduos da região de *flap* da enzima (Cys321 e His322), o que poderia levar a uma mudança conformacional e, consequentemente, à inibição enzimática.[13,14]

O derivado **LMed25** obteve a maior pontuação, dentre todos os compostos (FS = 34,19), sendo o único éster híbrido a interagir com os quatro resíduos importantes concomitantemente. Observa-se interações do tipo pi-alquil e ligação de hidrogênio com o resíduo de Cys321, enquanto realiza interações do tipo pi-alquil com His322, His221 e His248. Além disso, as demais ligações de hidrogênio e interações pi-sigma e pi-enxofre

podem ter contribuído para a alta pontuação obtida pelo composto (**Figura 2**).

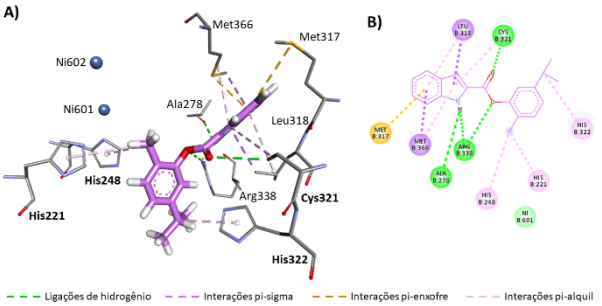


Figura 2. Interações intermoleculares entre **LMed25** (FS = 34,19) e urease de *H. pylori*: A) Visão tridimensional (ligante em bastões rosados e aminoácidos em bastões coloridos por elementos); B) Diagrama bidimensional.

Os sete compostos que cumpriram com ambos os critérios utilizados tiveram suas propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e de *druglikeness* preditas teoricamente, *in silico*, pela plataforma ADMETlab 2.0.
Não houve diferença significativa entre os valores de LogP obtidos para os derivados em questão. Além disso, todos os derivados submetidos à predição parecem apresentar perfil de *druglikeness*, absorção e distribuição semelhantes (**Tabela 1**).

Tabela 1. Propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e de *druglikeness* dos sete derivados mais promissores, preditas *in silico*.

LMed	Violações *druglikeness*	LogP	Absorção intestinal	BHE[a]
10	Pfizer e GSK	4,294	Baixa	Sim (63,3%)
13	Pfizer e GSK	4,463	Baixa	Não (14,7%)
14	Pfizer e GSK	4,694	Baixa	Não (14,8%)
17	GSK	4,517	Baixa	Não (24%)
25	Pfizer e GSK	4,734	Baixa	Não (1,7%)
33	Pfizer	3,923	Baixa	Sim (93,5%)
35	Pfizer e GSK	4,451	Baixa	Sim (58,1%)

[a]Passagem pela barreira hematoencefálica (BHE). Fonte: Autoria própria, 2022; <https://admetmesh.scbdd.com/>

Desse modo, o terceiro critério de seleção se deu pelas predições de toxicidade fornecidas pela plataforma. Assim, foram excluídos três compostos com maior probabilidade de causarem toxicidade aguda oral em ratos, com exceção do **LMed35**, que foi o carbamato de melhores resultados. Visto que carbamatos são menos suscetíveis à hidrólise em meio biológico, o derivado foi mantido, então, para posterior avaliação.[15] Portanto, foram selecionados os derivados **LMed10**, **LMed13**, **LMed14** e **LMed35** (**Figura 1**) para síntese orgânica e posterior avaliação antiureolítica *in vitro*.

Conclusões

É possível concluir que a enzima urease de *H. pylori* demanda moléculas mais volumosas para melhor complementaridade em seu sítio ativo, como visto pelo derivado nitrado (**LMed40**), éster acetilado (**LMed01**) e o próprio carvacrol, que obtiveram os piores valores de pontuação na docagem molecular.
Os derivados **LMed25**, **LMed17** e **LMed33**, apesar de terem obtido os melhores valores de pontuação e interações intermoleculares, apresentaram toxicidade pela predição teórica *in silico* e acabaram sendo excluídos da análise.
Desse modo, foram selecionados para síntese e avaliação antiureolítica *in vitro* os compostos **LMed10**, **LMed13**, **LMed14** e **LMed35**, que demonstraram maior potencial de inibição da urease e melhores perfis de toxicidade, sendo três deles ésteres monossubstituídos e um carbamato monossubstituído.

Agradecimentos

Agradecemos ao CNPq, pelo apoio financeiro concedido, e à Universidade Estadual de Londrina, pela viabilização da realização deste projeto.

Referências e notas

(1) CHEY, W. D.; *Am. J. Gastroenterol.* **2017**, 114, 1829.
(2) LADEIRA, M. S. P.; SALVADORI, D. M. F.; RODRIGUES, M. A. M. *J. Bras. Patol. Med. Lab.* **2003**, 4, 335.
(3) HÁ, N. *et al. Nat. Struct. Biol.* **2001**, 8, 505.
(4) GOLAN, D. E. *et al.* CAP. 45, PG. 760, 2009.
(5) GONG, Y.; YUAN, Y. *Crit. Rev. Microbiol.* **2018**, 44, 371.
(6) RUTHERFORD, J. C. *PLOS Pathog.* **2014**, 10.
(7) SANTURIO, D. F. *et al. Cienc. Rural.* **2011**, 41, 1051.
(8) KORONA-GLOWNIAK *et al. Molecules.* **2020**, 25, 586.
(9) BELL, E. W.; ZHANG, Y. *J. Cheminformatics.* **2019**, 11.
(10) SAEED, A. *et al. Chem. Biodivers.* **2017**, 14.
(11) KAWASE, M. *et al. In vivo.* **2007**, 21, 829.
(12) NAZIR, M. *et al. Roy. Soc. Ch.* **2018**, 8, 25920.
(13) CUNHA, E. S. *et al. Nat. Commun.* **2021**, 12.
(14) MINKARA, M. S. *et al. J. Chem. Theory. Comput.* **2014**, 10, 1852.
(15) YOON, K. J. P. *et al. Bioorgan. Med. Chem.* **2003**, 11, 3237.

C-E-G-03

Avaliação *in silico* de análogos de um inibidor da NS5 Metiltransferase do vírus da dengue

Elen P. Lima[1] (GD), Bruno G. Rodrigues[2] (GD), Flavia Deduch[3] (PG), Gabriela V. Melo[3] (GD), Luan N. Mesquita[4] (GD), Renato R. G. Junior[1] (GD), Thyara F. Alencar[3] (PG), Vinicius S. Takemura[3] (GD), Marcelle L. F. Bispo[3] (PG)*. mlfbispo@uel.br

1 – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina, PR - Brasil.
2 – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, PR - Brasil.
3 – Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina, PR - Brasil.
4 – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pará, PA - Brasil.
Palavras-Chave: *Docking* molecular, *MTase, Antiviral*.

Introdução

A dengue é uma doença viral transmitida por mosquitos do gênero *Aedes*. Cerca de 3 milhões de pessoas vivem em áreas de risco para infecção pelo vírus da dengue (DENV).[1] Além disso, estima-se que 390 milhões de indivíduos são infectados todos os anos, e 96 milhões manifestam algum sintoma da doença.[2] No Brasil, foram registrados mais de 500 mil casos de dengue em 2021, sendo que 341 indivíduos apresentaram a forma grave da doença e 220 vieram a óbto.[3] Até o momento não existem antivirais específicos para o tratamento da dengue, e a única vacina desenvolvida não possui um amplo espectro de proteção.[4] Portanto, é evidente a importância do desenvolvimento de antivirais para o tratamento desta doença.

O vírus da dengue pertence à família *Flaviviridade*, gênero *Flavivirus*, e possui quatro sorotipos diferentes (DENV 1-4). O genoma viral é formado por uma fita simples de RNA que codifica três proteínas estruturais (capsídeo, pré-membrana e envelope) e sete proteínas não-estruturais (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5).[1] A proteína NS5 é a maior e mais conservada entre os quatro sorotipos do DENV, apresentando um domínio C-terminal com atividade de RNA-polimerase dependente de RNA (RdRp), e um domínio N-terminal com atividade de metiltransferase (MTase), sendo responsáveis pela síntese e metilação do genoma viral, respectivamente. O domínio MTase apresenta uma região central que contém os sítios de ligação para *S*-adenosil-L-metionina (SAM), trifosfato de guanosina (GTP) e RNA.[5] Nela também está localizada a tétrade catalítica $Lys_{61}Asp_{146}Lys_{182}Glu_{218}$, importante para a reação de metilação promovida por esta enzima.[6]

Assim como o RNAm de muitas células eucarióticas, a porção 5' do genoma do DENV apresenta uma estrutura cap tipo 1 (m7GpppAm), que consiste em uma porção N-7 metilguanosina (m7G) ligada ao primeiro nucleotídeo do RNAm através de uma ponte trifosfato invertida 5'-5' (**Figura 1a**). A formação do cap do RNA viral depende da ação das proteínas NS3 e NS5. Primeiramente, a proteína NS3 atua como uma RTPase removendo um grupo fosfato da porção 5'-RNA trifosfato. Após, a NS5 MTase transfere uma porção GMP do GTP para o RNA. Por fim, esta mesma enzima catalisa duas reações de metilação sequenciais na porção N-7 guanosina e 2'-*O* ribose, utilizando SAM como doador do grupo metil (**Figura 1b**).[7]

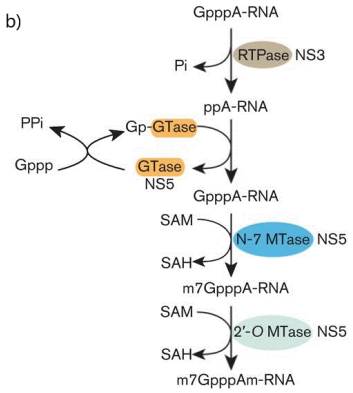


Figura 1. (a) Estrutura do cap do RNA do vírus da dengue. (b) Formação da estrutura do cap do RNA do vírus da dengue. Adaptado de Dong et al., 2014.

A adição desta estrutura no genoma viral possui um papel importante no aprimoramento da tradução do RNA e na evasão do vírus da resposta imune do hospedeiro. Estudos mostraram que defeitos na metilação em N-7 podem prejudicar a replicação viral, enquanto defeitos na metilação em 2'-*O* facilitam a eliminação do vírus pela resposta imune inata.[7] Dessa forma, o desenvolvimento de inibidores da NS5 MTase torna-se uma estratégia interessante no contexto da descoberta de novos antivirais.

Objetivos

Diante da importância da enzima NS5 MTase para a replicação do vírus da dengue, o presente trabalho teve como objetivo planejar e avaliar *in silico* as propriedades farmacodinâmicas e farmacocinéticas de oito análogos de um inibidor desta enzima, previamente descrito na literatura, visando identificar substâncias-protótipo com potencial antiviral frente ao DENV.

Metodologia

Inicialmente, realizou-se a busca da estrutura da NS5 MTase do DENV complexada com um inibidor no banco de dados do Protein Data Bank,[8] utilizando como palavras-chave *MTase* e *dengue*. Dentre as estruturas apresentadas nesta pesquisa, escolheu-se a estrutura da enzima NS5 MTase sem mutações e com maior resolução (PDB ID: 5CUQ, resolução: 1,70 Å).

Para a análise das propriedades farmacodinâmicas do inibidor e dos análogos propostos, validou-se um protocolo de *docking* molecular por *redocking*. Para isso, utilizou-se o programa GOLD (versão 2020), definindo o sítio de ligação de acordo com as coordenadas do ligante previamente obtidas. Além disso, o tamanho do espaço de ligação foi ajustado para um raio de 25 Å, e a função de pontuação escolhida foi a ASP. Após a validação (RMSD = 0,7818 Å), foi realizado o *docking* molecular dos 8 análogos propostos com a enzima NS5 MTase do DENV. Para a realização do *docking* molecular os ligantes foram preparados levando em consideração o seu estado de protonação em pH 7 e pH 9, condição ótima para a reação de metilação em N-7 e 2'-O, respectivamente.[7] A análise das interações dos análogos com a enzima foi realizada no programa Discovery Studio (versão 2020) e PyMOL (versão 2.6.0). Por fim, as propriedades farmacocinéticas (ADMET) dos análogos que obtiveram maior valor de *fitness score* (FS) foram analisadas em plataformas online de predição *in silico*, como SwissADME[9] e ADMETlab[10].

Resultados e discussão

Após uma busca no banco de dados do PBD, optou-se por trabalhar com o complexo sob o código PDB 5CUQ, formado por uma cadeia proteica de 267 aminoácidos, correspondente ao domínio MTase da proteína NS5 do DENV-3, e pelo inibidor 1,3-bis(4-amino-2-metilquinolin-6-il)ureia (NSC) (**Figura 2**).

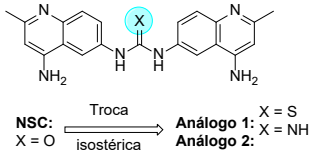


Figura 2. Estrutura química do ligante NSC e dos análogos 1 e 2.

NSC atua como um inibidor competitivo da NS5 MTase do DENV, ligando-se ao mesmo sítio ativo do cofator SAM, bloqueando as reações de metilação em N-7 e 2'-*O* do cap do RNA viral. A interação de NSC com a enzima MTase se dá principalmente por contatos hidrofóbicos, sendo observada apenas uma ligação de hidrogênio com o resíduo de Val132.[11]

Com o objetivo de melhorar a interação do inibidor NSC com a enzima NS5 MTase do DENV-3, foram propostas algumas mudanças em sua estrutura química. Primeiramente, foi realizada a troca bioisostérica do grupo ureia pelos grupos tioureia e guanidina, dando origem aos análogos 1 e 2, respectivamente (**Figura 2**). O *docking* molecular desses análogos com a enzima NS5 MTase do DENV-3, mostrou que a primeira modificação (análogo 1) aumentou as interações com a enzima, conforme verificado pelos valores de FS obtidos (**Tabela 1**). Com base neste resultado, a porção tioureia foi mantida e foram propostos outros 6 análogos, realizando mudanças pontuais na estrutura do análogo 1, de forma a melhorar ainda mais a sua interação com a enzima, bem como a sua farmacocinética (**Figura 3**). Assim, foi realizada a troca de um dos grupos aminoquinolina pelos grupos cromona e 2-metilcromona (análogos 3 e 4, respectivamente), de forma a melhorar a farmacocinética do análogo 1, reduzindo a sua hidrossolubilidade. Para analisar o efeito da adição de grupos halogenados nas propriedades farmacodinâmicas do inibidor 1, foi realizada a troca do grupo metil pelos grupos trifluorometil e cloro (análogos 5 e 6, respectivamente). Por fim, foi realizada a mudança de posição entre os grupos metil e amino (análogo 7), bem como a troca do grupo metil pelo grupo amino (análogo 8), visando promover uma interação com o resíduo Asp146.

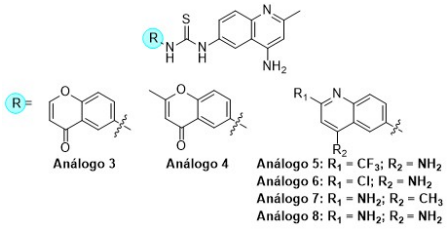


Figura 3. Estrutura química dos análogos propostos **3-8**.

Analisando os valores de fitness obtidos, verificou-se que o análogo 1 apresentou melhor interação com a enzima em pH 7, seguido pelos análogos 4 e 5. Já em pH 9, o análogo 6 apresentou melhor interação com o alvo, seguido dos análogos 5 e 1.

Tabela 1. Valores de fitness obtidos no docking molecular dos análogos propostos.

Análogos	Fitness (pH 7)	Fitness (pH 9)
1	**36.23**	**30.10**
3	30.54	27.71
4	**32.58**	29.47
5	**32.17**	**32.79**
6	30.23	**35.29**
7	30.79	28.89
8	29.99	29.98
NSC	26.46	-

Um estudo mostrou que os resíduos da tétrade catalítica $Lys_{61}Asp_{146}Lys_{182}Glu_{218}$ da MTase são essenciais para a atividade de metilação em 2'-O, enquanto Asp_{146} é mais crítico comparado aos outros três resíduos para a metilação em N-7.[6] Analisando de forma mais detalhada as interações dos análogos 1, 4, 5 e 6 com a NS5 MTase do DENV-3 em pH 7, observou-se que o análogo 6 foi capaz de interagir através de ligações de hidrogênio com os resíduos de Thr104, Asp131 e Asp146, esta última considerada muito relevante para o processo enzimático (**Figura 4**). Apesar dos altos valores de FS obtidos para os análogos 4 e 5, nenhum deles foi capaz de interagir com resíduos importantes para o mecanismo de ação da MTase. Além disso, o complexo do análogo 6 com a enzima NS5 MTase em pH 9 apresenta interações do tipo pi-enxofre entre o grupo tioureia e o resíduo de His110, interações do tipo alquil entre o cloro e o resíduo de Arg163 e Phe133, além de ligações de hidrogênio com o resíduo de Arg163 e interações do tipo pi-alquil com o resíduo de Leu147, indicando que as mudanças estruturais realizadas para a formação do análogo 6 contribuíram para a maior interação deste com a enzima.

Além disso, propriedades ADMET dos análogos 1, 4, 5 e 6 também foram calculadas utilizando programas de predição *in silico*. Os resultados mostraram que o análogo 4 foi o mais promissor, apresentando melhorias na biodisponibilidade oral e clearence renal (2,951) comparado ao inibidor NSC e aos outros análogos. O análogo 6 apresentou um maior volume de distribuição (2,520), maior clearence renal (2,260) e maior tempo de meia-vida (0,580), quando comparado ao inibidor NSC, porém teve a sua biodisponibilidade oral reduzida.

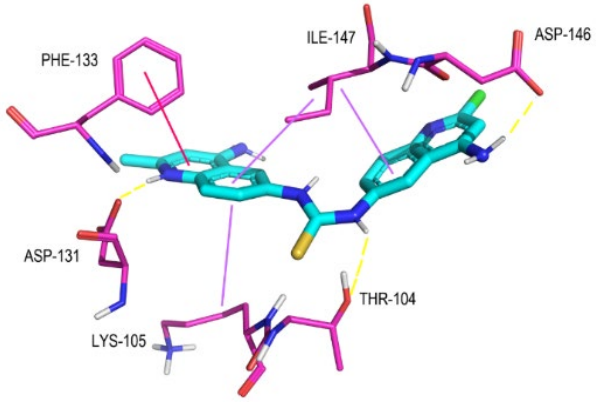


Figura 4. Análogo 6 complexado com a NS5 MTase em pH 7. Legenda: ligação de hidrogênio (pontilhado em amarelo), interação pi-pi (rosa) e interação pi-alquil (lilás).

Conclusões

Dentre os análogos propostos no presente trabalho, o análogo 6 apresentou melhores propriedades farmacodinâmicas, sendo capaz de interagir com um resíduo importante (Asp146) para a função da enzima NS5 MTase. Contudo, as modificações realizadas não contribuíram significativamente para a melhoria das suas propriedades farmacocinéticas. Já o análogo 4 apresentou melhores propriedades farmacocinéticas comparado ao inibidor NSC e aos outros análogos. As propriedades farmacodinâmicas deste análogo também foram aprimoradas comparado ao inibidor NSC, apesar deste análogo não realizar interações com resíduos críticos para a função da enzima. Logo, neste trabalho, identificou-se dois análogos considerados promissores para a inibição da enzima NS5 MTase.

Referências e notas

(1) Wilder-Smith, A. et al. *Lancet*. **2019**, 393, 10169.
(2) Bhatt, S. et al. Nature. **2015**, 496, 7446.
(3) Ministério da Saúde (BR). **2021**.
(4) Gyawali, N. et al. Journal os Vector Borne Diseases. 2016, 53, 4.
(5) Lim, S. P.; Noble, C. G.; Shi, P. Antiviral Research. **2015**, 119.
(6) Zhou, Y. et al. Journal of Virology. **2007**, 81, 8.
(7) Dong, H. et al. Journal of General Virology. **2014**, 95.
(8) https://www.rcsb.org/.
(9) http://www.swissadme.ch/.
(10) https://admetmesh.scbdd.com/.
(11) Brecher, M. et al. ACS Infectious Diseases. **2015**, 1.

(C-E-G-04)

Identificação de potenciais inibidores da HMG-CoA redutase de *Sporothrix sp.* para desenvolvimento de novos antifúngicos utilizando ferramentas de modelagem molecular

Iara Garcia (GD)[1], João Pedro Neves (GD)[1], Paula Alvarez Abreu (PQ)[1]*. iaragarciamiller@gmail.com

1 – Instituto de Biodiversidade e Sustentabilidade NUPEM, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Campus Macaé, RJ - Brasil

Palavras-Chave: *Antifúngicos, Esporotricose, Triagem virtual, HMG-CoA Redutase, Docking molecular.*

Introdução

A esporotricose é a infecção fúngica subcutânea de maior prevalência e distribuição mundial, causada por fungos termodimórficos do gênero *Sporothrix*. A sua transmissão pode ser sapronótica ou zoonótica, esta última tem gatos como os principais transmissores e está relacionada com a epidemia de esporotricose no Sul e Sudeste do Brasil.(1) O tratamento de escolha é o itraconazol e possui desvantagens como o tempo de duração longo, custo e possibilidade de transmissão gato-cuidado.(2) A enzima HMG-CoA redutase(HMGR) tem um papel fundamental na via do mevalonato, catalisando a conversão da molécula HMG-CoA, sendo uma etapa limitante da síntese do ergosterol um dos principais constituintes de membranas celulares fúngicas, conferindo-lhes fluidez, permeabilidade e integridade.(3) As estatinas são hipolipemiantes empregados no controle de dislipidemias e controle do colesterol através do inibição da HMG-CoA Redutase. Está classe também apresenta ação antifúngica in vitro contra leveduras e fungos filamentosos.(4)

Objetivos

O objetivo deste trabalho é identificar potenciais inibidores da HMG-CoA para de *Sporothrix* sp para o desenvolvimento de novos antifúngicos.

Metodologia

A sequência primária de aminoácidos da HGM-CoA redutase de *Sporothrix sp foi submetida ao BLAST no NCBI para a busca por molde com maior percentual de identidade e cobertura. Em seguida,* foi construído o modelo da proteína no servidor *SWISS-MODEL.* Para validação do modelo foi feita a análise da estereoquímica por meio do gráfico de Ramachandran, análise do ambiente químico dos resíduos de aminoácidos por meio do Verify 3D, e a análise da energia global por meio do ProSA. Para validação do método foi feito o *redocking* da estatina, inibidor complexado no molde da HMGR escolhido. O *redocking* com outras estatinas também foi realizado. Por fim, será realizado o docking dessas estatinas no modelo construído. Posteriormente, com base nas interações importantes de inibidores conhecidos da HMGR, será construído um modelo de farmacóforo no servidor *Pharmit* e será feita uma triagem virtual nos bancos de dados do Nubbe, Sigma-Aldrich e FDA, em busca de novos potenciais inibidores. As substâncias vindas da triagem serão submetidas ao *docking molecular* na HMG-redutase de *Sporothrix sp* pelo programa Autodock Vina. A análise do docking será realizada no programa *Pymol* e *Discovery Studio. A*s substâncias que obedeceram ao farmacóforo e interagirem de maneira semelhante ao inibidor serão avaliadas quanto à farmacocinética e toxicidade usando os servidores *FAF-drug4, admetSAR 2* e *pkCSM*. Os compostos mais promissores desse estudo *in silico* serão testados *in vitro* em cepas fúngicas pelo teste microdiluição em caldo (MIC). As moléculas que apresentarem atividade antifúngica serão testadas *in vivo* em lagartas de *Galleria mellonella* para avaliação da toxicidade aguda.

Resultados e discussão

O cristal da porção catalítica da proteína de HMG-CoA redutase de *Homo sapiens* (PDB:2Q1L) foi o que obteve o maior percentual de identidade e cobertura com a enzima de *Sporothrix Schenckii* com valores de 55,21% e , respectivamente. A comparação no Swiss Pdb Viewer entre a proteína molde e modelo apresentou um valor de 0,26 Å do RMSD (Figura 1). Nas análises para validação, o gráfico de Ramachandran do modelo apresentou 91,3% dos resíduos de aminoácidos localizados nas regiões mais favoráveis. Na análise do Verify 3D, foi observado que 88,3% dos resíduos apresentaram uma pontuação maior ou igual a 0,2 no perfil 3D–1D, indicando boa relação entre a sequência primária e a estrutura tridimensional do modelo. E a análise da energia global, avaliada por meio do ProSA, mostrou que o modelo construído

apresentou um valor de score Z de -9,13. O *redocking* com a estatina complexada no proteína molde (PDB: 2Q1L) apresentou um RMSD de 1.218 Å e uma energia de ligação teórica de -8.5 kcal/mol (Figura 2).

O docking das estatinas será realizado no modelo de HMGR de *S. schenckii* com os mesmos parâmetros validados nos *redocking*. Os compostos vindos da triagem por farmacóforo que apresentarem menor energia de ligação do docking no modelo construído terão suas poses e interações avaliadas.

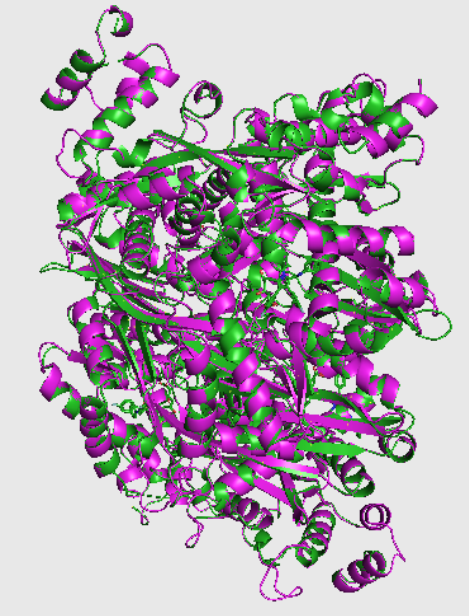


Figura 1. Sobreposição entre a proteína molde 2Q1L (verde) e o modelo de *S. Schenkii* construído (rosa).

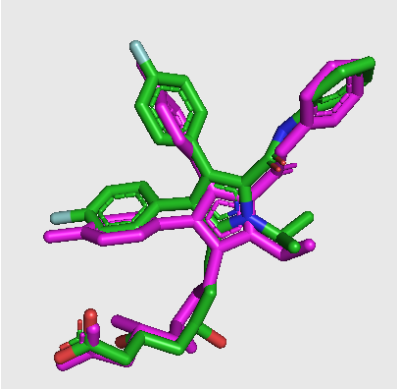


Figura 2 - Sobreposição do ligante co-cristalizado com a proteína (verde) e após o redocking (rosa) (RMSD 1,22 Å). O docking apresentou uma energia de ligação de -8.5 kcal/mol

Conclusões

Neste estudo, espera-se identificar substâncias com potencial de serem inibidores da enzima HMGR de *Sporothrix sp* para o desenvolvimento de novos antifúngicos, além de apresentarem bons perfis farmacocinéticos e de toxicidade.

Agradecimentos

FAPERJ - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro - FAPERJ.
CAPES -Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

Referências e notas

(1) ROSSOW, J. et al. A One Health Approach to Combating Sporothrix brasiliensis: Narrative Review of an Emerging Zoonotic Fungal Pathogen in South America. Journal of fungi (Basel, Switzerland), v. 6, n. 247, **2020**.
(2) GREMIÃO, I. D. F. et al. Guideline for the management of feline sporotrichosis caused by Sporothrix brasiliensis and literature revision. Brazilian Journal of Microbiology, v. 52, n. 1, p. 107–124, **2020**.
(3) JORDÁ, T. PUIG, S. Regulation of Ergosterol Biosynthesis in Saccharomyces cerevisiae. Genes (Basel), v. 11, n. 7:795, **2020**.
(4) TAVAKKOLI, et al. Antifungal effects of statins. *Pharmacology & therapeutics*, 208, 107483, **2020**.

C-E-G-05

Abordagem *in silico* aplicada para identificação de 4-cromonas com potencial atividade tripanocida

Ana C. R. Gimenes[1] (IT), Kaio M. Santiago-Silva[2] (PG), Marcelle L. F. Bispo[2] (PQ), Lucy M. Y. Lioni[1]* (PQ). lionilmy@uel.br

1 – Departamento de Microbiologia, Universidade Estadual de Londrina, PR – Brasil.
2 – Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina, PR – Brasil.
Palavras-Chave: *4-cromonas, Doença de Chagas, Modelagem molecular, Trypanosoma cruzi, ADMET, Cruzaína.*

Introdução

A doença de Chagas (DC), também conhecida como tripanossomíase americana, pode ser encontrada principalmente em áreas endêmicas de 21 países da América Latina.[1] É uma doença potencialmente fatal causada pelo protozoário parasito *Trypanosoma cruzi*, sendo transmitida principalmente a humanos e outros mamíferos pelo contato com fezes/urina de triatomíneos hematófagos infectados conhecidos como barbeiros.[2,3] De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) cerca de 6 a 7 milhões de pessoas em todo o mundo, principalmente na América Latina, encontram-se infectadas com *T. cruzi.*[1] Apesar de representar um enorme impacto na saúde pública e apresentar alta incidência, o tratamento para DC é baseado apenas no uso de benzonidazol ou nifurtimox, os quais apresentam baixa eficácia, em ambas as fases da doença, além de propiciarem uma gama de efeitos adversos.[3,4] Portanto, faz-se necessária a descoberta de novos fármacos para o tratamento da DC.

Nesse âmbito, os derivados que apresentam o núcleo 4-cromona vêm apresentando relevância devido a sua versatilidade sintética e biológica, incluindo potencial antitripanossoma.[5,6]Juntamente a isso, uma forma de acelerar o processo de desenvolvimento de novas terapias é utilizar estratégias computacionais, incluindo a triagem virtual baseada em *docking* molecular, uma vez possibilita a identificação de novas substâncias-protótipos, levando em consideração a possibilidade de predição tanto da afinidade com alvos essenciais para a sobrevivência do parasito, quanto dos parâmetros farmacocinéticos da substância-protótipo.[7,8] Colocando-se, portanto, como um diferencial que oportuniza a economia de recursos e tempo.

No contexto da DC, o parasito *T.cruzi* apresenta mecanismos moleculares que permitem a capacidade infectiva e perpetuação no hospedeiro, os quais podem vir a ser possíveis alvos moleculares para estudos *in silico*. Dentre estas pode-se citar a enzima cruzaína, a qual pertence à família das cisteíno proteases que corroboram para a capacidade infectiva desse parasito.[9] E, portanto, está presente em todas as formas do ciclo biológico.[9] Constituindo-se assim um alvo promissor para o estudo de novas substâncias protótipos que venham possibilitar um tratamento efetivo para DC.

Objetivos

Esse trabalho tem como objetivo explorar o potencial dos derivados contendo o núcleo 4-cromona frente a enzima cruzaína do *T.cruzi* por meio de metodologias *in silico,* como o *docking* molecular e plataformas online para a predição de parâmetros físico-químicos das substâncias-protótipo, para que posteriormente os resultados possam guiar estudos de estrutura-atividade e futuras modificações estruturais.

Metodologia

O complexo da cruzaína co-cristalizado com o inibidor não-covalente Nequimed17 foi obtido no banco de dados *Protein Data Bank* (PDB ID:4KLB), com uma resolução de 2,62 Å. Os ligantes foram preparados por meio do Chem3D (v.17.0), e devidamente otimizados por meio do campo de força MMFF94, sendo os resultados salvos em ".mol2".

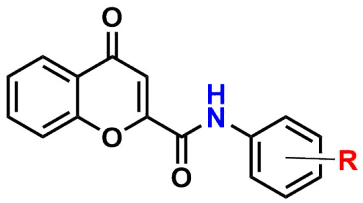
A validação do protocolo foi realizada por *redocking* utilizando-se o *software* GOLD (v. 2020.3.0), no qual foi inserido o complexo enzimático. Este teve suas ligações rotacionáveis fixadas, seguido da retirada das águas e adição dos hidrogênios polares. Ademais, o *redocking* foi centralizado no átomo de enxofre (S) da cisteína 25 (Cys25) com um raio de 15 Å. Em seguida, o ligante 1RV, previamente retirado da cadeia A da estrutura da cruzaína, foi adicionado mantendo-se suas ligações rotacionáveis. Os cálculos de ancoragem molecular foram realizados gerando 50 poses, adotando-se as configurações padrão para os demais parâmetros do *software*. Assim, foi escolhida a função de pontuação do GOLD que

apresentou o *root-mean-square distance* (RMSD) menor que 2,0 Å[10].

Em seguida, o *docking* molecular foi feito no mesmo *software* utilizando-se dos mesmos parâmetros escolhidos para a metodologia de validação. Assim, foram analisadas as interações dos complexos alvo-ligante que apresentaram os *fitness score* (FS) acima de 24 no PyMOL. Posteriormente, analisou-se os parâmetros das propriedades físico-químicas *in silico* e *druglikeness* na plataforma *Swiss ADME*(http://www.swissadme.ch/index.php) e a absorção, distribuição, metabolismo e toxicidade no ADMETLab 2.0 (https://admetmesh.scbdd.com/).

Resultados e discussão

Para a metodologia de *docking* molecular utilizou-se a função de pontuação do GOLD que conseguiu reproduzir de forma mais fidedigna a posição original do ligante no protocolo de validação. Isto é, escolheu-se a função ChemScore, função que apresentou um RMSD menor que 2,0 Å[10] (RMSD = 1,94 Å). A partir disso, as **FCC-01 a FCC-13** (X = NH) com diferentes substituintes **(Figura 1)** foram submetidas ao *docking* molecular utilizando os mesmos parâmetros da validação.



FCC-01 a 13: X = NH

FCC-01: R = H
FCC-02 a 04: R = 2-Cl ou 3-Cl ou 4-Cl
FCC-05 a 07: R = 2-Br ou 3-Br ou 4-Br
FCC-08 a 10: R = 2-OMe ou 3-OMe ou 4-OMe
FCC-11 a 13: R = 2-NO_2 ou 3-NO_2 ou 4-NO_2

Figura 1. Estrutura das fenilcromonacarboxamidas (FCCs) inicialmente planejadas.

Em seguida, os resultados da docagem foram ranqueados em ordem decrescente de valores de FS, isto é, o maior valor de FS corresponde ao melhor ajuste no sítio catalítico da enzima. Todos os ligantes se encontraram acima do FS do ligante co-cristalizado (11,04) após o *redocking*. Portanto, a **FCC-01** com R = H foi escolhida por apresentar um FS = 24,37, configurando-se como superior aos demais derivados. A partir disso, visando aprimorar as interações com o alvo, planejou-se a troca do espaçador amida (**FCC**: X=NH) por grupos tiouréia (**FCT-01**: X= NHCSNH-), hidrazona (**FCH-01**: X=NH-N=CH-) ou éster (**FCE-01**: X=O), mantendo o anel benzênico sem substituintes. Assim, uma nova rodada de *docking* foi realizada, utilizando-se o mesmo protocolo e os resultados estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1. FS das substâncias-protótipo docadas.

Substâncias	FS
FCC-01: X=NH;	24,37
FCH-01: X= NHCSNH-;	27,94
FCT-01: X= NH-N=CH-;	25,36
FCE-01: X=O;	22,42

Dessa forma, por apresentar um FS inferior as demais, o **FCE-01** foi descartado. A partir disso, analisou-se as interações polares das substâncias restantes com os resíduos de aminoácidos no sítio catalítico da enzima, pois estas são responsáveis por conferir estabilidade ao complexo alvo-ligante. Nesse contexto, todas as três moléculas apresentaram interações com dois resíduos de aminoácidos, assim a **FCC-01 (Figura 2)** interagiu com a Gln21 e o Trp184, a **FCT-01 (Figura 3)** interagiu com a Gln19 e a His162 e a **FCH-01 (Figura 4)** interagiu com a Gly20 e o Asp18. Dessa forma, tais interações são formadas principalmente com os átomos de oxigênio pertencente a carbonila do núcleo 4-cromona e/ou na porção amida, presentes nas substâncias protótipos. Entretanto, nenhuma molécula proposta realizou interações de ligações de H diretamente com os resíduos catalíticos do complexo enzimático (Cys25 e His159).[11]

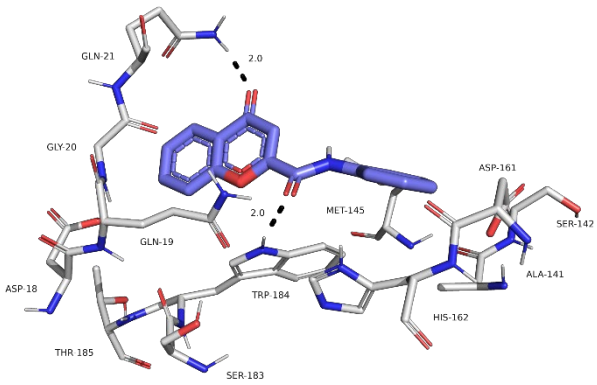


Figura 2: Análise das interações alvo-ligante (Fenil)cromonacarboxamida (**FCC-01**)

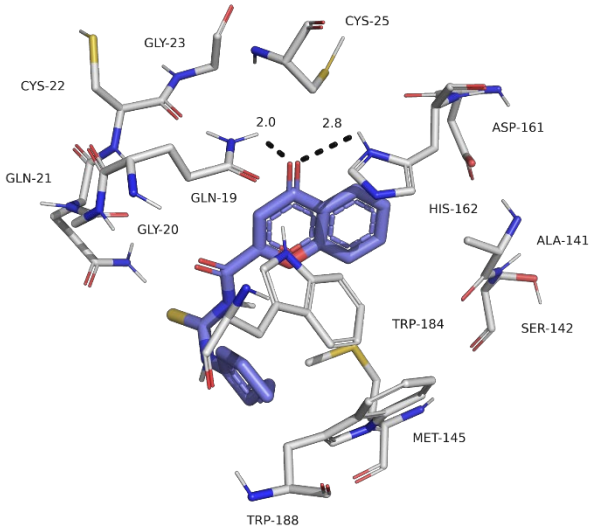


Figura 3: Análise das interações alvo-ligante. (Fenilcarbamotiol)cromonacarboxamida (**FCT-01**)

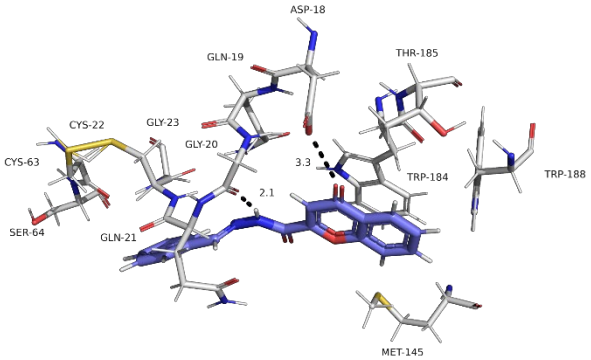


Figura 4: Análise das interações alvo-ligante (Fenil)cromonacarbohidrazina (**FCH-01**)

Ademais, com as análises das propriedades físico-químicas, pode-se concluir que todas as moléculas se configuram como pouco solúveis em água (LogS < -4,50), sendo que dentre eles a tiouréia apresenta a pior solubilidade, apesar de possuir a maior área de superfície polar. Além disso, todos compostos adequam-se aos postulados de Lipinski e Veber, além de apresentarem uma alta absorção intestinal. Entretanto, todas apresentaram porcentagem alta (>90%) de ligação a proteínas plasmáticas, fator que pode influenciar diretamente do índice terapêutico do fármaco. Enquanto o que tange ao metabolismo, todas classificam-se como inibidoras da CYP1A2 e CYP2C19, podendo prejudicar o metabolismo de outros compostos que se utilizam da mesma via e acarretar a elevação de suas concentrações plasmáticas. Ademais, a **FCC-01** e a **FCT-01**, caracterizam-se como substrato das enzimas CYP2C9 e CYP2D6, o que leva a uma maior indução da via, acelerando o metabolismo de outros compostos, e, consequentemente, podendo interferir nos seus efeitos terapêuticos, além disso, também inibem a enzima CYP2C9. Enquanto, a **FCH-01** possui a vantagem de não ser inibidora e nem substrato dessas enzimas. Por fim, as moléculas não possuem atividade indutora ou inibidora no complexo enzimático da CYP3A4, fator de grande importância considerando que este é responsável por grande parte dos metabolismos dos fármacos.

Além disso, para parâmetros de toxicidade, a tiouréia resultou em maiores valores para toxicidade hepática, e, consequentemente para Lesão Hepática Induzida por Drogas (*Drug Induced Liver Injury*). Tendo em vista isso, juntamente com sua menor solubilidade, a tiouréia foi descartada resultando na seleção final das substâncias-protótipo **FCC-01** e **FCH-01**.

Conclusões

A partir das metodologias computacionais pode-se concluir que as substâncias-protótipo com os espaçadores de amida (**FCC-01**) e hidrazona (**FCH-01**) apresentam o melhor potencial dentre os derivados de 4-cromona avaliados *in silico*, visto que apresentaram altas pontuações de FS com a enzima cruzaína. Ainda, também apresentaram os melhores parâmetros de solubilidade e toxicidade e, para a segunda molécula, de não inibição e indução de complexos enzimáticos relevantes da CYP. Como perspectivas, pretende-se sintetizar essas substâncias e avaliar a sua atividade *in vitro* frente a forma epimastigota do *T. cruzi*.

Agradecimentos

À Fundação Araucária e a CAPES pelas bolsas concedidas.

Referências e notas

(1) World Health Organization. 2022. https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis)
(2) Fundação Oswaldo Cruz. 2022. http://chagas.fiocruz.br/sessao/doenca/
(3) Fundação Oswaldo Cruz. 2020. https://periodicos.fiocruz.br/pt-br/content/dia-mundial-da-doen%C3%A7a-de-chagas-144-%C3%A9-celebrado-pela-primeira-vez-no-calend%C3%A1rio
(4) COURA, J. R. *Mem. Inst. Os. Cruz*, **2009**, 549-554.
(5) REIS, J. *et al. J. Med. Chem.*, **2017**, 60, 7941-7957.
(6) BEER, M. F. *et al. Pharm. Biol.*, **2016**, 54, 2188-2194.
(7) JIA, C. *et al. D.Discov*, **2020**, 25, 248-258.
(8) KITCHEN, D. B. *et al. Nat.Rev.Drug.Discov*,**2004**,3,935-949.
(9) FERRÃO, P. M. *et al. PLoS One*, **2015**, 10, e0124832.
(10) VIETH, M. *et al. J. Comput. Chem.*, **1999**, 19, 1612-1622.
(11) DUSCHAK, V.; COUTO, A. *Curr. Med. Chem.*, **2009**, 16, 3174-3202.

C-E-G-06

Triagem virtual de inibidores da proteína não estrutural 12 como alvo terapêutico para a Covid-19

Jacksson A. Pereira[1] (GD), Eduardo D. Costa[2] (PQ)*. damascenomg13@yahoo.com.br

1 – Departamento de Farmácia, Faculdade Ciências da Vida, MG - Brasil.
2 – Departamento de Farmácia, Faculdade Ciências da Vida MG– Brasil
Palavras-Chave: *Covid-19; Coronavírus; In silico, reposicionamento de fármacos.*

Introdução

Os primeiros casos da síndrome respiratória aguda grave do coronavírus 2 (SARS-CoV-2) foram relatados em dezembro de 2019 na cidade de Wuhan, na China[1]. Desde então, a população mundial vem sofrendo com altos custos e impacto social considerável relacionados a essa grave infecção[2]. Já foram confirmados mais 430 milhões de casos de Covid-19 e quase 6 milhões de mortes notificadas em todo o mundo[3],[4].

Várias vacinas para Covid-19 foram desenvolvidas e aprovadas por órgãos regulamentadores e todas se mostraram eficazes na redução do número de hospitalizações e mortes de pacientes com essa doença[5]. Apesar disso, algumas regiões do mundo ainda têm pouco acesso às doses da vacina. Adicionalmente, alguns surtos de infecções estão reaparecendo relacionados ao surgimento de novas variantes que podem não responder às vacinas desenvolvidas até o momento[6]. Na mesma direção, a aplicação clínica do remdesivir, único inibidor sintético da proteína não estrutura 12 (nsp12) usado no tratamento da Covid-19, tem sido restrita pela necessidade de administração intravenosa[7]. Portanto, medicamentos orais eficazes e de baixo custo são a atual prioridade para a prevenção e controle do Covid-19, pois podem ser usados após a exposição ao SARS-CoV-2 ou ao primeiro sinal da doença[8].

Os métodos *in silico* têm sido uma importante ferramenta para a análise das estruturas do vírus SARS-CoV-2, para a investigação de potenciais componentes fitoterápicos e peptídicos com ação anti-Covid, no desenho de várias vacinas e no reposicionamento de medicamentos que podem oferecer melhora de casos graves desta infecção[9].

Objetivos

Realizar triagem *in silico* de fármacos inibidores da proteína nsp12 contra Covid-19 que possam ser administrados por via oral e que apresentem custos financeiros acessíveis.

Metodologia

O desenho metodológico foi organizado da seguinte forma: (1) Triagem virtual utilizando a ferramenta de ancoragem DockThor® (https://www.dockthor.lncc.br/v2/). Foi escolhido um Dataset de medicamentos já disponíveis no mercado que mostravam algum tipo de ação anti-Covid e a proteína nsp12, a proteína de ligação do remdesivir, único fármaco sintético aprovado para tratar a Covid-19. Tanto o Dataset como a nsp12 estão disponíveis na própria plataforma de ancoragem. (2) Análise das características físico-químicas dos compostos (Regra de Lipinski) utilizando a plataforma Molinspiration® (https://www.molinspiration.com/). (3) Avaliação das características de acessibilidade farmacocinética e sintética dos compostos usando o servidor SwissADME® (http://www.swissadme.ch/). (4) Previsão de toxicidade de compostos selecionados usando a ferramenta OSIRIS Property Explorer® (https://www.organic-chemistry.org/prog/peo/).

Resultados e discussão

A partir dos cálculos de Docking molecular, foi verificado que os 12 candidatos selecionados apresentaram valores negativos de energia vinculante, sendo todos favoráveis a interação com o sítio ativo da nsp12. Os valores vinculantes mais favoráveis foram do Elbasvir (-9.833 kcal/mol), do Ledispavir (-9.161kcal/mol), e do Daclatasvir (-9.134kcal/mol). O Sildenafil apresentou menor energia vinculante (-7.789 kcal/mol), porém mostrou ainda sim uma energia altamente favorável.

QUADRO 1: Triagem virtual dos 12 fármacos inibidores da proteína nsp12 baseado na afinidade (kcal/mol) usando método de docking molecular via plataforma DockThor.

Fármaco	Afinidade* (kcal/mol)
Elbasvir	-9.833
Ledispavir	-9.161
Daclatasvir	-9.134
Ivermectina	-8.619

Digoxina	-8.417
Cobicistat	-8.311
Piperaquine	-8.105
Tilorone	-7.974
Dasatinib	-7.902
Digitoxina	-7.879
Darunavir	-7.840
Sildenafil	-7.789

***afinidade:** A previsão de afinidade (kcal/mol) é usada para classificar diferentes ligantes em experimentos de triagem virtual considerando a conformação de alta energia (de acordo com a Energia Total) de cada composto.

O QUADRO 2 mostra os parâmetros físico-químicos dos candidatos a fármacos anti-Covid selecionados. Foram apresentados dados de peso molecular (PM), coeficiente de partição (LogP), numero de doadores de ligação de hidrogênio (nON), número de átomos aceptores de ligação de hidrogênio (nOHNH) e número de violações a regra de Lipinski (regra dos 5, Vio.). Os valores aqui descritos foram previstos usando a plataforma Molinspiration®. Os fármacos que mostraram não violar a regra de Lipinski foram o Tilorone, Dasatinib e o Sildenafil. A não violação dessa regra indica a possibilidade de administração oral do fármaco[10].

QUADRO 2: Propriedades físico-químicas de candidatos a fármacos Anti-Covid-19 via interação com a proteína estrutura 12 (NSP12) obtidos usando a plataforma Molinspiration®.

Fármaco	PM	Log P	nON	nOHNH	Vio.
Elbasvir	882.03	8.85	16	4	3
Ledispavir	889.02	9.21	14	4	3
Daclatasvir	738.89	7.77	14	3	3
Ivermectina	875.11	4.58	14	6	2
Digoxina	780.95	1.12	14	3	3
Cobicistat	776.04	7.45	12	0	3
Piperaquine	535.52	5.60	6	0	2
Tilorone	410.56	4.85	5	3	0
Dasatinib	488.02	3.13	9	5	0
Digitoxina	764.95	2.03	13	4	2
Darunavir	547.67	4.32	10	1	1
Sildenafil	474.59	2.51	10	1	0

O QUADRO 3 detalha os resultados relacionados parametros farmacocinéticos: absorção gastrointestinal (AGi), permeabilidade a barreira hematoencefálica (BHE), inibição da principal enzima do citocromo P450 (CYP3A4). O software SwissADME permite também avaliar a acessibilidade sintética (AS). A AS varia em uma escala de 1-10 em que o valor 1 é atribuído para moléculas mais facilmente sintetizadas e 10 para aquelas com maior dificuldade de síntese.

QUADRO 3: Previsão das propriedades farmacocinéticas dos fármacos selecionados considerando dados obtidos na plataforma SwissADME®.

Fármaco	AGi	BHE	Inibição CYP3A4	AS
Elbasvir	BAIXA	NÃO	SIM	7.52
Ledispavir	BAIXA	NÃO	SIM	8.66
Daclatasvir	BAIXA	NÃO	SIM	6.33
Ivermectina	BAIXA	NÃO	NÃO	10.00
Digoxina	BAIXA	NÃO	NÃO	8.81
Cobicistat	BAIXA	NÃO	SIM	6.70
Piperaquine	ALTA	SIM	NÃO	3.29
Tilorone	ALTA	SIM	SIM	3.49
Dasatinib	ALTA	NÃO	SIM	3.83
Digitoxina	BAIXA	NÃO	NÃO	8.74
Darunavir	BAIXA	NÃO	SIM	5.67
Sildenafil	ALTA	NÃO	SIM	3.95

Foi verificado que os compostos Piperaquina, Tilorone, Dasatinib e Sildenafil apresentaram alta absorção por via oral. A administrados por via oral é um ponto chave para melhor aceitação posológica esquemas terapêuticos favorecendo a maior adesão de pacientes quando comparado com outras vias de administração[11]. Além disso, foi verificado pelos dados de acessibilidade sintética que o fármaco Sildenafil é entre as moléculas selecionadas aquela mais facilmente sintetizada. As moléculas que possuem uma rota de sintese mais simples possuem geralmente um menor custo do processo sintético[12].

O QUADRO 4 mostra a previsão de resultados toxicológicos para os possíveis candidatos a fármacos anti-Covid. A previsão avalia a capacidade de mutagênese (M), tumorogênese (T), efeitos irritantes (EI) e efeitos reprodutivos (ER). Os dados foram obtidos fazendo uso da plataforma OSIRIS Property Explorer®.

Os compostos Ledispavir, Daclatavir, Ivermectina, Digoxina, Digitoxina, Darunavir e Sildenafil apresentam baixo risco para todos os 4 parâmetros analisados.

QUADRO 4: Previsão das propriedades toxicológicas dos fármacos selecionados obtido usando a plataforma OSIRIS Property Explorer®.

Fármaco	M	T	ER	EI
Elbasvir	Alto risco	Alto risco	Baixo risco	Baixo risco

Ledispavir	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco
Daclatasvir	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco
Ivermectina	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco
Digoxina	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco
Cobicistat	Alto risco	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco
Piperaquine	Alto risco	Alto risco	Baixo risco	Alto risco
Tilorone	Alto risco	Alto risco	Baixo risco	Baixo risco
Dasatinib	Baixo risco	Baixo risco	Alto risco	Alto risco
Digitoxina	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco
Darunavir	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco
Sildenafil	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco

Considerando que esse trabalho está focado na obtenção de moléculas anti-Covid que possam ser administrados por via oral e que possuam baixo custo a molécula do Sildenafil é aquela que se candidata como potencial inibidor da proteína não estrutural 12 (nsp12).

Essa triagem inicial não descarta que outras moléculas aqui selecionadas pelos dados de docking molecular sejam testadas em células e animais para avaliação de características farmacocinéticas, farmacodinâmicas e toxicológicas. É necessário considerar a complexidade do processo de descoberta de fármacos e que os métodos computacionais são ferramentas de auxílio na previsão de características ideais para possíveis candidatos à fármacos.

Conclusões

Através de filtros de energia de ligação usando a técnica de Docking molecular e avaliação de parâmetros físico-químicos, farmacocinéticos e toxicológicos *in silico*, a molécula do Sildenafil apresentou características que permitem indicá-lo como candidato à fármaco inibidor da proteína nsp12. No estudo, pode-se considerar que essa molécula apresentará efeito farmacológico a partir da inibição da proteína nsp12 contra Covid-19, características farmacocinéticas adequadas, baixo custo e baixo risco toxicológico.

Agradecimentos

Agradeço aos meus pais, familiares e a Faculdade Ciências da Vida.

Referências e notas

(1) ZHOU P, Yang X lou, Wang XG, et al. Nature **2020**; 579: 270–273.
(2) SOHRABI C, Alsafi Z, O'Neill N, et al. Int J Surg **2020**; 76: 71–76.
(3) CUTLER DM, Summers LH. JAMA **2020**; 324: 1495–1496.
(4) WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard | WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard With Vaccination Data. Disponível em: <https://covid19.who.int/>. Acesso em: 25 fev. **2022**.
(5) FRANCIS AI, Ghany S, Gilkes T, et al. Postgraduate Medical Journal **2022**; 98: 389–394.
(6) WAGNER CE, Saad-Roy CM, Morris SE, et al. Science (1979); 373. Epub ahead of print September 24, **2021**. DOI: 10.1126/SCIENCE.ABJ7364/SUPPL_FILE/SCIENCE.ABJ7364_MDAR_REPRODUCIBILITY_CHECKLIST.PDF.
(7) GOTTLIEB RL, Vaca CE, Paredes R, et al. New England Journal of Medicine **2022**; 386: 305–315.
(8) FAN H, Lou F, Fan J, et al. Lancet Microbe **2022**; 3: e91.
(9) MORADI M, Golmohammadi R, Najafi A, et al. Informatics in Medicine Unlocked 2022; 28: 100862.
(10) LIPINSKI CA, LOMBARDO F, DOMINY BW, et al. Advanced Drug Delivery Reviews **1997**; 23: 3–25.
(11) AUNGST, Bruce J. Journal of Pharmaceutical Sciences, vol. 106, no. 4, p. 921929, 1 Apr. **2017**.
(12) DAINA A, MICHIELIN O, ZOETE V. Scientific Reports; 7. Epub ahead of print March 3, **2017**.

C-E-G-07

Triagem virtual de derivados indólicos com potencial atividade antitripanossômica

Murilo da Silva Lopes Rodrigues[1] (IC), Priscila Goes Camargo[1] (PQ), Marcelle de Lima Ferreira Bispo[1] (PQ)*. mlfbispo@uel.br

1 – Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina, PR - Brasil.
Palavras-Chave: *Docking Molecular, CYP51, Doença de Chagas, Indol.*

Introdução

A doença de chagas (DC) ou tripanossomíase americana é uma doença infecciosa causada pelo parasita *Trypanosoma cruzi* e transmitida por insetos triatomíneos. Pode infectar uma grande variabilidade de hospedeiros invertebrados como as aves, répteis, anfíbios e mamíferos, como o homem[1]. Segundo a Organização Mundial da Saúde, esta doença afeta cerca de 6 a 7 milhões de pessoas (2020), principalmente em países da América Latina[2]. A DC é uma doença negligenciada, por ser endêmica em países emergentes, além disso, conta apenas com dois fármacos para seu tratamento: Nifurtimox e Benznidazol, que são parcialmente efetivos na fase aguda da doença e apresentam muitos efeitos adversos[1]. Portanto, o estudo e desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas é de grande valia. Nesse contexto, alvos moleculares importantes para a sobrevivência de protozoários como *T. cruzi*, estão sendo amplamente estudados[4]. Dentre esses, a 14α-desmetilase (CYP51), é um alvo em destaque por realizar processos oxidativos essenciais nas vias metabólicas do parasito, se tornando objeto de estudo para a investigação do mecanismo de ação de potenciais substâncias bioativas[3].

Objetivos

O presente trabalho tem como objetivo realizar uma triagem virtual baseada em *docking molecular* na enzima CYP51 de 34 compostos indólicos presentes na quimioteca do Laboratório de Síntese de Moléculas Medicinais (LaSMMed).

Metodologia

Os estudos de triagem virtual por *docking molecular* dos compostos indólicos foram realizados com a enzima 14α-desmetilase (CYP51) de *T. cruzi* extraída do PDB sob código 4C27 (resolução de 1.95 Å), conforme descrito por Pereira *et al.*, 2021[4].

As simulações foram realizadas no programa GOLD versão 2020.3.0 utilizando a função de pontuação ASP, e as rotações do ligante e da proteína foram consideradas rígidas. O protocolo foi validado por *redocking* cuja pose que resultou no menor valor de RMSD (Root Mean Square Deviation) foi escolhida. Para os compostos **LMed**, o maior fitness score (FS) foi utilizado para selecionar as melhores poses para análise das interações. Figuras foram geradas e analisadas no programa Discovery Studio versão 2021.1.

Resultados e discussão

Primeiramente, foi realizada a validação do protocolo de *docking molecular* na CYP51 de *T. cruzi* por *redocking*, que mostrou que o ligante co-cristalizado **N26** apresentou um valor de RMSD menor que 2 Å (0,95 Å) e um fitness score de 46.96 (Figura 1).

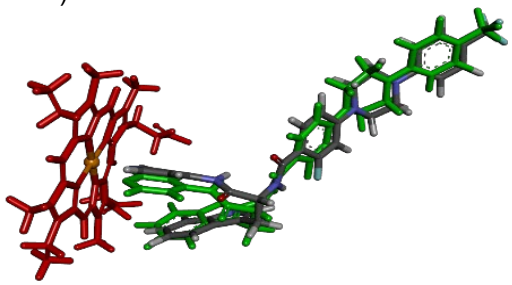


Figura 1. Sobreposição das estruturas dos ligantes no sítio ativo da enzima, resultado do processo de *redocking* (verde) (RMSD = 0,95 Å, ASP), com o grupo HEME (vermelho) e o ligante co-cristalizado **N26** (Cinza).

As estruturas dos compostos indólicos pertencentes a quimioteca do LaSMMed estão representados na **Figura 2**. Substituintes com características químicas diferentes foram introduzidos nas posições R^1, R^2 e R^3 do anel indólico, a fim de se investigar uma possível relação estrutura-atividade. Para a seleção dos compostos a serem avaliados por suas interações com a CYP51, foi estipulado uma faixa de FS de ± 10 baseado no valor de FS do ligante **N26**, de forma a ranquear os compostos. Com este critério, foram selecionados quatro indóis sendo eles o **LMed26**

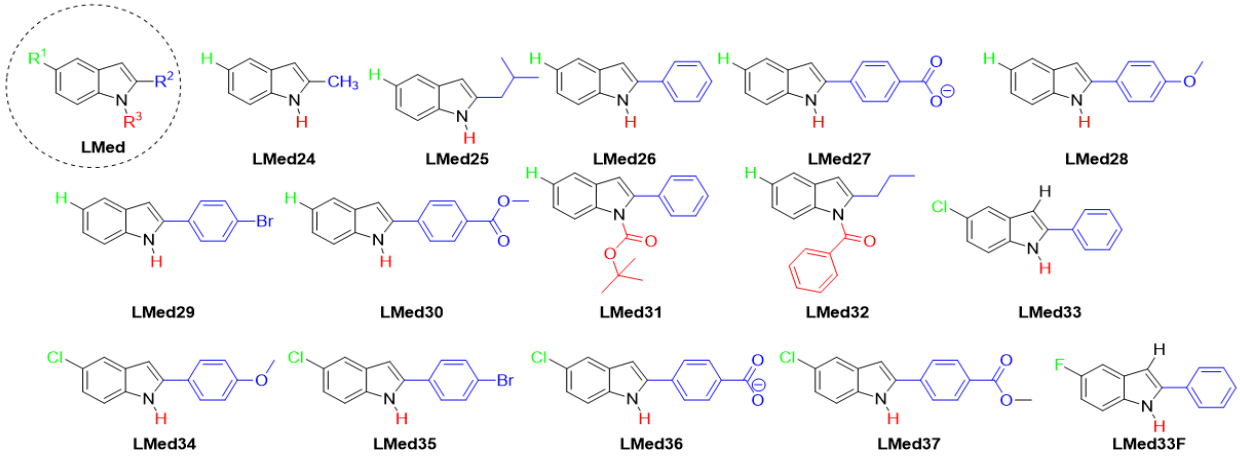


Figura 2. Estruturas químicas dos indóis **LMed24** a **LMed37** presentes na quimioteca do LaSMMed.

(40,54), **LMed31** (38,13), **LMed32** (40,69), **LMed33** (41,14) e o **LMed33F** (41,73).

As estruturas moleculares dos indóis avaliados nesse trabalho, são majoritariamente hidrofóbicas e com grupos substituintes com baixa característica de atuarem como aceptores ou doadores de ligação de hidrogênio. Apesar de não serem observadas interações deste tipo, as interações hidrofóbicas notadas se mostraram importantes para reconhecimento molecular destas moléculas no sítio ativo avaliado (Tabela 1).

Tabela 1. Interação das substâncias **LMed** selecionadas com resíduos importantes presentes no sítio ativo da CYP51.

Resíduos	26	31	32	33	33F
HEME					
Tyr103					
Met106					
Phe110					
Ala115					
Tyr116					
Met123					
Leu127					
Ala287					
Ala291					
Leu356					
Val359					

Legendas interações: Empilhamento Pi-Pi; Pi-sigma; Halogênio; Pi-Alquil; Células sem cor representam a não observação de interações.

Em suma, para todos os compostos as interações observadas foram entre os resíduos de aminoácidos Tyr103, Met106, Phe110, Ala115, Tyr116, Met123, Leu127, Ala287, Ala291, Leu356 e Val359 com o anel pirrólico do núcleo indólico, além disso foi possível observar interações do tipo Pi-Sigma entre os substituintes fenila com o anel de porfirina do grupo prostético HEME.

É interessante ressaltar que estudos com derivados indólicos, relatam que esses compostos são mesmo capazes de interagir com os aminoácidos Tyr116 e 103, resíduos estes que são ricos em elétrons e que envolvem o grupo HEME de maneira favorável para que ele adote sua conformação catalítica[6]. A interação com esses resíduos, prejudica o processo catalítico normal e pode ser um fator favorável para inibição enzimática.

Dentre os compostos avaliados, o derivado que apresentou maior potencial de interação foi o indol **LMed33**, visto que se comparado aos outros indóis foi o que apresentou o maior número de interações, inclusive com o HEME e com os aminoácidos presentes no sítio catalítico da enzima. A adição do cloro na posição R^1 e a adição do grupo fenil em R^2 apresentou melhoras significativas nas interações do composto com os resíduos de aminoácidos e com o grupo HEME (Figura 3A).

Sabendo que o indol **LMed33** foi o que apresentou melhores valores de FS (41,14) devido ao cloro na posição R^1, foi realizado uma substituição nesta posição, trocando o átomo de cloro do indol por um átomo de flúor (**LMed33F**, Figura 3B) com a finalidade de obter melhores interações com a enzima e analisar a importância desse grupamento para a inibição enzimática.

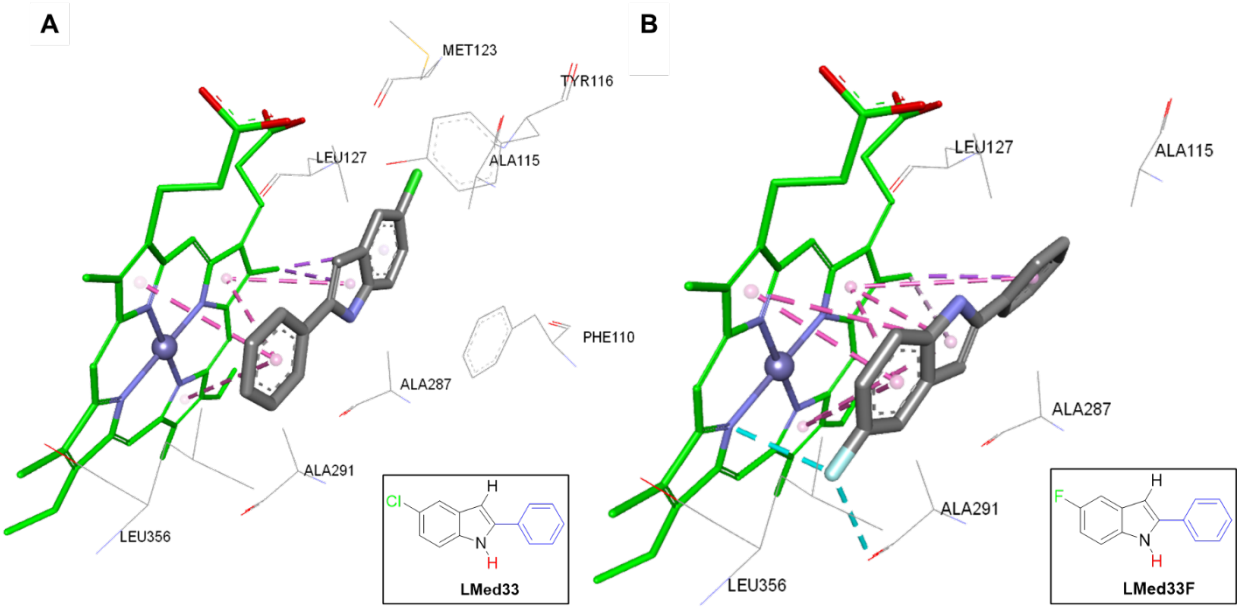


Figura 3. (**A**) Interações do indol **LMed33** e (**B**) **LMed33F** (bastões cinza) no sítio ativo da CYP51 (4C27). Grupo HEME está representado por bastões verde, e os aminoácidos em linhas cinzas.

Foi possível observar a partir dos dados provenientes do estudo de *docking molecular* que houve um aumento pouco significativo nos valores de FS com a mudança do átomo de cloro por flúor, onde **LMed33** apresentou um FS de 41,14 e **LMed33F** apresentando um valor de 41,73.

A substituição com o flúor apresentou interações interessantes do ponto de vista de interação enzimática. O flúor devido ao seu baixo raio atômico causa mínimas perturbações estéricas, essa característica influencia na habilidade do flúor realizar interações não covalentes interessantes[6], como observado para **LMed33F** com o grupo HEME(Figura 3B), além disso o flúor foi capaz de fazer interações com o Ala291, aminoácido do sítio catalítico enzimático.

Para o composto **LMed33**, com o substituinte cloro em R^1, não foram observadas essas interações diretas do halogênio com o HEME, ou com os aminoácidos, sendo que as interações foram realizadas pelo núcleo indólico e o anel fenila da estrutura. Outras interações hidrofóbicas também foram observadas, como as interações que se assemelham ao tipo empilhamento-Pi. Quanto às interações com os aminoácidos, o indol interagiu com a Leu127, Ala115, Ala287 e a Leu356, não havendo interação com o os aminoácidos (Tyr103, Tyr116, Met106 e Phe110) relatados na literatura pela formação de um cluster rico em elétrons que auxilia na conformação do grupo HEME[5].

Conclusões

Em síntese é possível ressaltar que nossos estudos com os derivados indólicos aqui avaliados por suas interações com o alvo molecular foram capazes de interagir com resíduos de aminoácidos importantes para o processo catalítico normal da enzima, assim podendo ser um fator favorável para inibição enzimática. Dentre os compostos indólicos os que apresentaram interações mais importantes, os compostos **LMed33** e **LMed33F**, trouxeram melhoras significativas nas interações, sendo os mais promissores para nossos futuros estudos de testes fenotípicos contra *T. cruzi*.

Agradecimentos

Fundação Araucária pela bolsa concedida.

Referências e notas

(1) Neves, D.P. *et al.* Parasitologia humana, 13ª ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2016.
(2) Organização Mundial da Saúde. Chagas disease (also known as American trypanosomiasis), **2020**.
(3) Guedes-da-Silva, F. H., *et al., Antimicrob Agents Chemother.* **2017**, 61(4), e02098-16.
(4) Lima, C.H.S. *et al., Lett Drug Des Discov*, **2020**, 17(2), 184.
(5) Calvet, C. M. *et al., J Med Chem*, **2014**, 57(16), 6989.
(6) Pietrus, W. *et al., Chem Phys Chem*, **2021**, 22(20), 2115.

C-E-G-08

Efeitos analgésico e anti-inflamatório da Maresina 1 em modelo de artrite induzido por dióxido de titânio em camundongos.

Thaila K. E. Maximiano[1] (PG), Anelise Franciosi[1] (PG), Nayara A. Artero[1] (PG), Telma Saraiva-Santos[1] (PG), Marília F. Manchope[2] (PQ), Mariana M. Bertozzi[1] (PG), Tiago H. Zaninelli[1] (PG), Waldiceu A. Verri[1] (PQ)*. waverri@uel.br

1 – Departamento de Ciências Patológicas, Universidade Estadual de Londrina, PR – Brasil.
2 – University of Würzburg, UW – Alemanha.
Palavras-Chave: *Artrite, Dor, Dor Inflamatória, Maresina 1, Mediadores Lipídicos Pró-Resolução.*

Introdução

O processo inflamatório articular crônico pode acarretar em alterações morfológicas que levam a destruição da superfície articular e de suporte, de modo que indivíduos acometidos por esse processo necessitam da substituição parcial ou total da articulação.[1] Esse procedimento de substituição é denominado artroplastia. A artroplastia total articular do quadril e do joelho é um procedimento ortopédico comum e eficaz para o tratamento de pacientes com artrite.[2] No entanto, em cerca de 10-15% dos casos, nano-partículas metálicas, incluindo o dióxido de titânio (TiO_2), são liberadas gerando um microambiente pró-inflamatório que pode resultar na rejeição da prótese.[1] As terapias atuais para estes pacientes incluem o uso de drogas de eficácia limitada e com efeitos adversos severos.[3,4] A Maresina 1 (MaR1) é um Mediador Lipídico Pró-resolução (MLPR) derivado do ácido docosahexaenoico, um metabólito do ômega 3. Os MLPR vem sendo amplamente estudados devido ao seu papel excepcional na resolução da dor e inflamação.[5] Os MLPR não possuem atividade imunossupressora, atuam em baixíssima concentração, na faixa de nanogramas, e seu efeito biológico pode durar por dias.[5] Portanto, a MaR1, um MLPR, é uma excelente candidata para o tratamento de doenças inflamatórias e digna de investigação.

Objetivos

Avaliar o efeito analgésico e anti-inflamatório da MaR1 no modelo de dor e inflamação induzido por dióxido de titânio em camundongos.

Metodologia

Para este objetivo, em camundongos Swiss machos, foi administrado o estímulo de TiO_2 na dose 3 mg via intra-articular. 24 horas após o estímulo de TiO_2, os camundongos foram tratados a cada 72 horas com MaR1 nas doses de 1, 3, 10 ng (para a determinação da melhor dose) ou veículo de etanol 3,2% em salina via intraperitoneal (i.p.). As análises foram realizadas em um período de 30 dias.

Resultados e discussão

A MaR1 na dose de 10 ng foi capaz de reduzir a hiperalgesia mecânica (**Fig 1**), hiperalgesia térmica (**Fig 2**) e proporção de peso relativo das patas (**Fig 3**) de forma significativa.

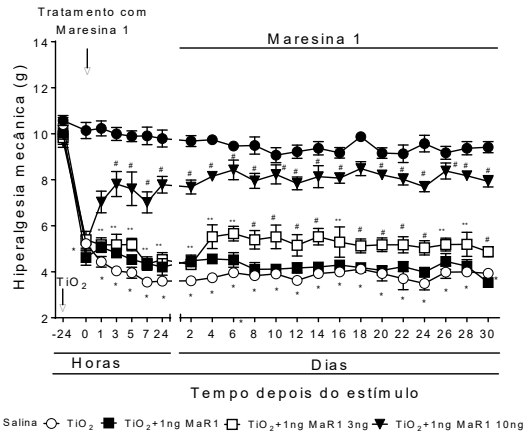


Figura 1. Hiperalgesia mecânica. A análise foi realizada 1, 3, 5, 7 e 24 horas após o tratamento com MaR1 no primeiro dia e em dias alternados do 2° dia ao 30° dia. Os resultados foram apresentados como média ± erro padrão da média (SEM) de 6 camundongos por grupo experimental. Os dados foram submetidos ao ANOVA Two-way seguido pelo pós-teste de Tukey. Resultados com $p<0,05$ foram considerados significativos.

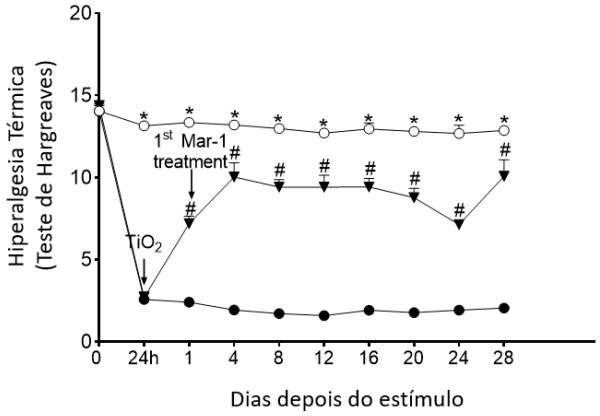


Figura 2. Hiperalgesia térmica. A análise foi realizada 0 e 24 horas do 1° dia após o estímulo com TiO_2 e a cada 4 dias após o tratamento com 10 ng de MaR1 até o 28° dia. Os resultados foram apresentados como média ± erro padrão da média (SEM) de 6 camundongos por grupo experimental. Os dados foram submetidos ao ANOVA Two-way seguido pelo pós-teste de Tukey. Resultados com $p<0,05$ foram considerados significativos.

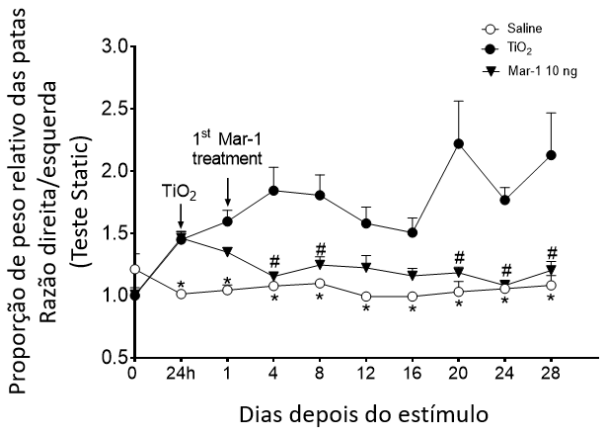


Figura 3. Proporção de peso relativo das patas. A análise foi realizada 0 e 24 horas do 1° dia após o estímulo com TiO_2 e a cada 4 dias após o tratamento com 10 ng de MaR1 até o 28° dia. Os resultados foram apresentados como média ± erro padrão da média (SEM) de 6 camundongos por grupo experimental. Os dados foram submetidos ao ANOVA Two-way seguido pelo pós-teste de Tukey. Resultados com $p<0,05$ foram considerados significativos.

De modo semelhante, a MaR1 na dose de 10 ng foi capaz de promover a redução do edema articular (**Fig 4**) e reduzir o recrutamento de leucócitos para a cavidade articular (**Fig 5**). A MaR1 foi capaz de reduzir tanto células polimorfonucleares quanto mononucleares, além de promover redução dos leucócitos totais de uma forma geral. A redução do recrutamento dessas células imunes certamente contribuiu para a redução da hiperalgesia mecânica, térmica e distribuição do peso relativo das patas nesses camundongos, visto que a produção de mediadores pró-inflamatórios e espécies reativavas de oxigênio pelos neutrófilos e macrófagos contribui para a sensibilização de nociceptores e, portanto, contribui para o mecanismo da dor.[6]

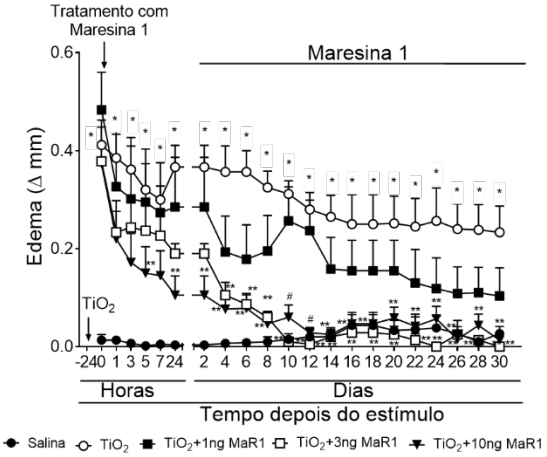


Figura 4. Edema. A análise foi realizada 1, 3, 5, 7 e 24 horas após o tratamento com MaR1 no primeiro dia e em dias alternados do 2° dia ao 30° dia. Os resultados foram apresentados como média ± erro padrão da média (SEM) de 6 camundongos por grupo experimental. Os dados foram submetidos ao ANOVA Two-way seguido pelo pós-teste de Tukey. Resultados com $p<0,05$ foram considerados significativos.

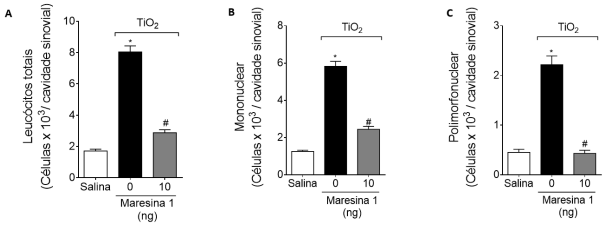


Figura 5. Migração de leucócitos totais e perfil leucocitário. A análise do recrutamento de leucócitos totais (**A**), mononucleares (**B**) e polimorfonucleares (**C**) foi realizada opôs a coleta do lavado articular no 30° dia após o estímulo de TiO_2. Os resultados foram apresentados como média ± erro padrão da média (SEM) de 6 camundongos por grupo experimental. Os dados foram submetidos ao ANOVA one-way seguido pelo pós-teste de Tukey. Resultados com $p<0,05$ foram considerados significativos.

Além de possuir efeitos analgésico e anti-inflamatório significativos, a MaR1 não promove dano gástrico (**Fig 6**), hepático (**Fig 7**), renal (**Fig 8**).

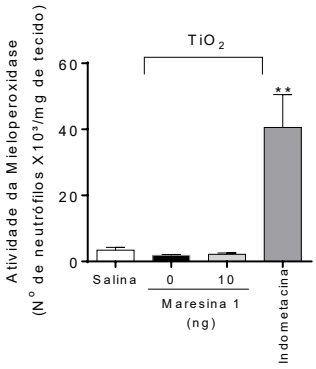


Figura 6. Atividade da MPO no estômago. A análise foi realizada no 30° dia e os camundongos foram tratados a cada 3 dias até o 30° dia. A indometacina na dose de 2,5 mg/kg via i.p. diluída em tampão tris/HCl foi administrada durante 7 dias e utilizada como controle positivo para dano tecidual. Os resultados foram apresentados como média ± erro padrão da média (SEM) de 6 camundongos por grupo experimental. Os dados foram submetidos ao ANOVA one-way seguido pelo pós-teste de Tukey. Resultados com p<0,05 foram considerados significativos.

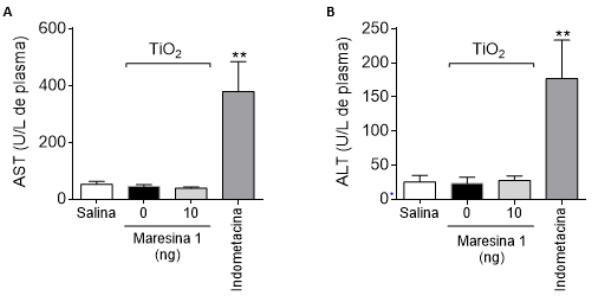


Figura 7. Níveis plasmáticos de AST e ALT. A análise foi realizada no 30° dia e os camundongos foram tratados a cada 3 dias até o 30° dia. O monitoramento dos níveis plasmáticos de AST (**A**) e ALT (**B**) foram utilizados como indicativo de dano hepático. A indometacina na dose de 2,5 mg/kg via i.p. diluída em tampão tris/HCl foi administrada durante 7 dias e utilizada como controle positivo para dano tecidual. Os resultados foram apresentados como média ± erro padrão da média (SEM) de 6 camundongos por grupo experimental. Os dados foram submetidos ao ANOVA one-way seguido pelo pós-teste de Tukey. Resultados com p<0,05 foram considerados significativos.

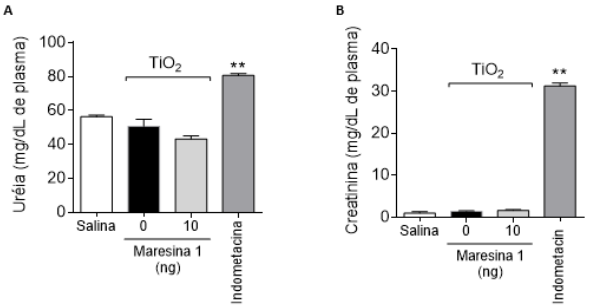


Figura 8. Níveis plasmáticos de ureia e creatinina. A análise foi realizada no 30° dia e os camundongos foram tratados a cada 3 dias até o 30° dia. O monitoramento dos níveis plasmáticos de ureia (**A**) e creatinina (**B**) foram utilizados como indicativo de dano renal. A indometacina na dose de 2,5 mg/kg via i.p. diluída em tampão tris/HCl foi administrada durante 7 dias e utilizada como controle positivo para dano tecidual. Os resultados foram apresentados como média ± erro padrão da média (SEM) de 6 camundongos por grupo experimental. Os dados foram submetidos ao ANOVA one-way seguido pelo pós-teste de Tukey. Resultados com p<0,05 foram considerados significativos.

Conclusões

Portanto, demonstramos que a MaR1 possui efeito analgésico e anti-inflamatório de maneira dose dependente e que a dose de 10 ng foi a dose mais eficiente na redução da dor e inflamação. Também demonstramos que, ao contrário dos tratamentos convencionais, a MaR1 não demonstra causar danos gástricos, hepatotoxicidade e nefrotoxicidade. Considerando a necessidade do uso continuo de analgésicos/anti-inflamatórios por indivíduos acometidos por doenças inflamatórias crônicas, este é um marco de extrema relevância. Dito isso, a MaR1 é uma excelente candidata ao tratamento de artrites e artrite induzida por prótese.

Agradecimentos

Agradeço a minha equipe de trabalho e aos órgãos de financiamento.

Referências e notas

(1) Cobelli, N. *Nat Rev Rheumatol*. **2011**, 7, 600-608.
(2) Kane R. L. *J Bone Joint Surg Am*. **2005**, 87, 1719-1724
(3) Goldstein J. L.; Cryer B. *Drug Healthc Patient Saf*. **2015**, 7, 31-41.
(4) So, A. K.; Martinon, F. *Nat Rev Rheumatol*. **2017**, 13, 639-647.
(5) Fattori V. *Pharmacol Res*. **2020**, 151, 104549
(6) Buckley, C. D.; Gilroy, D. W.; Serhan, C. N. *Immunity*. **2014**, 40, 315-317.

C-E-G-09

Triagem virtual de novos análogos do inibidor NOR-NOHA para inibição da enzima arginase de *Leishmania mexicana*.

Isabelle H. Castro (GD)[1], Leonardo F. Sousa (GD)[2], Lucas C. Mota (GD)[1], Mariana L. Silva (PG)[3], Kaio M. Santiago-Silva (PG)[3], Marcelle L. F. Bispo (PQ)[3*]. mlfbispo@uel.br

1 – Curso de Farmácia, Universidade Estadual de Londrina, PR – Brasil
2 – Curso de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ – Brasil
3 – Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina, PR – Brasil
Palavras-Chave: *Doenças negligenciadas, Poliaminas, Docking molecular, Leishmanioses.*

Introdução

Desde os tempos pré-históricos há conhecimento de protozoários semelhantes aos do gênero *Leishmania.* Entre 1885, data dos primeiros relatos do parasito, e os dias atuais, a descoberta de novas espécies ainda ocorre. Aliado a isso, o fato das leishmanioses acometerem principalmente populações residentes em países pobres ou emergentes dificulta a descoberta de novos tratamentos medicamentosos.[1]

Essa parasitose é transmitida através da picada de mosquitos hematófagos da sub-família *Phlebotominae* e apresenta um ciclo heteroxênico com a presença de duas formas do parasito: as aflageladas (amastigotas) e as flageladas (promastigotas).[2]

As leishmanioses foram consideradas endêmicas no ano de 2020 em 90 países, sendo que 21 deles pertencem ao continente americano.[3] Dentre as formas em que se manifesta, a leishmaniose tegumentar, característica por afetar pele e mucosas, foi responsável por 94% dos casos registrados nas Américas entre 2001 e 2020. A leishmaniose visceral, no entanto, apesar da baixa taxa de contágio, é letal em 90% dos casos não tratados, pois afeta órgãos como medula óssea, fígado e baço.[3]

Os tratamentos disponíveis atualmente são conhecidos pelos extensos efeitos adversos, dificultando a adesão ao tratamento, essencial para regressão da doença. A classe dos antimoniais pentavalentes é a primeira opção para combate ao parasito, mas apresenta alta toxicidade. Portanto, faz-se necessária a descoberta de novas alternativas terapêuticas eficazes e seguras para combater essa enfermidade.[4]

Nesse contexto, dentre os principais alvos moleculares do parasito, está a enzima arginase, que é responsável pela hidrólise de L-arginina em ureia e L-ornitina. Essa última é usada para sintetizar poliaminas que são essenciais para a produção de tripanotiona, um importante agente antioxidante no controle de espécies reativas de oxigênio (ROS). O centro de manganês binuclear dessa metaloenzima coordena-se a partir de uma geometria octaédrica. Tal coordenação é realizada utilizando-se resíduos de aminoácidos como histidina e aspartato, além do uso de dois ligantes não proteicos. [5]

Desse modo, a arginase é essencial para o crescimento e para a infecção celular no hospedeiro vertebrado. Além disso, a L-Arginina também é substrato da enzima óxido nítrico sintase induzível nos macrófagos do vertebrado parasitado, produzindo óxido nítrico mediante liberação de citocinas inflamatórias. Assim a inibição da arginase facilita a resposta imune do organismo após a infecção.[5]

Tendo em vista o seu papel fundamental para o parasito, a arginase pode ser considerada um atraente alvo molecular para a descoberta de novas substâncias-protótipo com potencial atividade anti-leishmania.

Objetivos

Analisar *in silico* as propriedades farmacocinéticas e dinâmicas do inibidor de arginase NOR-NOHA, visando propor análogos estruturais que apresentem tais propriedades otimizadas, usando para isso simulações de *docking* molecular e predições em plataformas online de propriedades físico-químicas relacionadas a fármaco-similaridade e parâmetros associados a absorção, distribuição, metabolismo e toxicidade.

Metodologia

O complexo utilizado para a docagem molecular conta com a estrutura da enzima arginase, da espécie *Leishmania mexicana*, co-cristalizada com o inibidor Nor-N-ômega-hidroxi-L-arginina (NOR-NOHA) em seu sítio ativo, sendo obtido no banco de dados *Protein Data Bank* (PDB ID: 4IU1), de resolução igual a 1,95 Å. Os ligantes foram desenhados e minimizados energeticamente pelo campo de força MM2, no programa Chem3D Ultra

(v. 20.0.0.41) para, então, serem salvos em formado ".mol2".

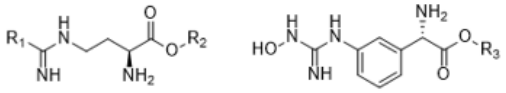
O *docking* molecular foi realizado no *software* GOLD (v.2020.3.0), no qual foi inserido o complexo modificado. As ligações rotacionáveis da macromolécula foram configuradas fixas e os hidrogênios polares adicionados, seguidos pela retirada do inibidor NOR-NOHA, que estava co-cristalizado. As coordenadas para a docagem dos ligantes foram configuradas (X = 14,005917; Y = -20,213500; Z = 29,679750) e o raio de interações foi definido como 12 Å. Os ligantes, então, foram inseridos no programa com suas ligações rotacionáveis flexíveis e a ancoragem molecular foi realizada com 25 poses para cada composto. As interações intermoleculares dos complexos gerados foram analisadas pelo programa *Discovery Studio Visualizer* (v21.1.0.20298) e foram submetidos à predição *in silico* de propriedades farmacocinéticas (absorção, distribuição, metabolismo e toxicidade) e físico-químicas (LogP), além de cinco parâmetros de *druglikeness* (Lipinski, Ghose, Veber, Egan e Muegge), pela plataforma online SwissADME (http://www.swissadme.ch/).

Resultados e discussão

A validação do protocolo de *docking* foi realizada pela técnica de *redocking*, para verificar se os parâmetros utilizados são capazes de reproduzir a pose experimental. O protocolo é considerado validado quando o valor de RMSD (*Root-Mean-Square Deviation*) é menor do que 2 Å.[6] Assim, o *redocking* foi realizado a partir do complexo PDB ID: 4IU1, com as quatro funções de pontuação do *software* GOLD. Visto que todas as funções de pontuação forneceram valores de RMSD menor do que 2 Å, a escolhida foi a GoldScore (RMSD = 1,6072 Å; *Fitness Score* = 65,92).

Em seguida, realizou-se um estudo *in silico* das propriedades farmacocinéticas e dinâmicas do inibidor NOR-NOHA, que evidenciou a baixa lipofilicidade da molécula, impedindo sua absorção passiva pelo trato gastrintestinal. Portanto, foram planejados análogos estruturais visando o aumento da lipofilicidade do inibidor, entretanto, mantendo ou até mesmo aumentando as interações intermoleculares já existentes entre ele e a enzima. Desse modo, os análogos 1 e 2 foram elaborados por meio da inserção do anel 1,2,4-triazol, com o grupo hidroxila nas posições 3 e 5, respectivamente. Para os análogos 3 e 4, por sua vez, foi inserido o anel 1,2,3-triazol, com o grupo hidroxila nas posições 4 e 5, respectivamente. Já o análogo 5 teve um anel benzênico como espaçador aromático inserido entre as principais porções da molécula do inibidor NOR-NOHA que interagem com a enzima. Os 3 últimos análogos (6-8) foram elaborados pela estratégia de latenciação (análogos 6-8), ou seja, para formar pró-fármacos. Os análogos 6 e 8 se tratam de ésteres do inibidor NOR-NOHA, com 16 e 12 átomos de carbono, respectivamente. O análogo 7, em contrapartida, é um éster do análogo 5, visto que este foi o análogo de melhores resultados no *docking* (**Tabela 1**).

Tabela 1. Estruturas do inibidor NOR-NOHA e dos análogos propostos.



Inibidor NOR-NOHA e análogos 1-4, 6 e 8 — Análogos 5 e 7

Estruturas	R_1	R_2	R_3
NOR-NOHA	-NH-OH	H	-
1	1,2,4-triazol, -OH em C3	H	-
2	1,2,4-triazol, -OH em C5	H	-
3	1,2,3-triazol, -OH em C4	H	-
4	1,2,3-triazol, -OH em C5	H	-
5	-	-	H
6	-NH-OH	$(-CH_2)_{15}CH_3$	-
7	-	-	$(-CH_2)_{11}CH_3$
8	-NH-OH	$(-CH_2)_{11}CH_3$	-

Fonte: Autoria própria, 2022.

Uma vez validado, o protocolo foi utilizado para o *docking* molecular de 5 análogos do inibidor NOR-NOHA no sítio ativo da enzima arginase de *L. mexicana* (**Tabela 2**).

Tabela 2. Valores de *fitness* obtidos no *docking* molecular dos análogos propostos e do NOR-NOHA.

Análogos	Fitness Score[a]
NOR-NOHA	65,92
1	65,03
2	65,33
3	65,65
4	58,87
5	68,31

[a]GoldScore. **Fonte:** Autoria própria, 2022.

O análogo de melhores resultados no *docking* molecular foi o análogo 5, com um valor de pontuação de 68,31. Nota-se que esse análogo realiza 8 ligações de hidrogênio, um número maior do que os demais análogos, o que pode ter

contribuído para sua maior pontuação. Além disso, o análogo 5 interage com um íon manganês. Visto que a arginase é uma metaloenzima que necessita da coordenação de geometria octaédrica dos íons manganês para exercer sua atividade, a interação com um dos íons pode ser essencial para a inibição enzimática (**Figura 1**).[5]

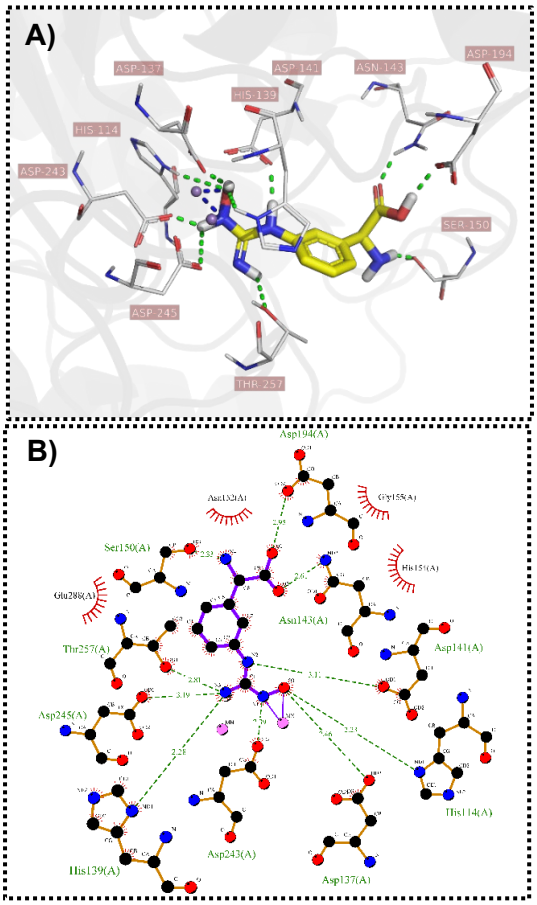


Figura 1. Interações intermoleculares entre o análogo 5 e a enzima arginase de *L. mexicana*: A) Visão tridimensional; B) Visão bidimensional. **Fonte:** Autoria própria, 2022.

Os análogos 1-4 demonstraram perfis farmacocinéticos semelhantes. Dentre os parâmetros de *druglikeness* da plataforma SwissADME, esses compostos foram aceitos apenas por Lipinski. Ainda, não são inibidores de nenhuma das enzimas do citocromo P450 (CYP), não são permeáveis à barreira hematoencefálica e não são substrato da glicoproteína P, no entanto, apresentam baixa absorção passiva pelo trato gastrointestinal (TGI).

Por outro lado, todos os pró-fármacos do estudo (análogos 6-8), apesar de apresentarem alta absorção passiva pelo TGI, demonstraram ser substrato da glicoproteína P, inibidores de pelo menos 2 enzimas CYP da plataforma SwissADME e foram rejeitados por pelo menos 2 dos parâmetros de *druglikeness* da plataforma.

Sendo assim, com exceção dos análogos pró-fármacos, o análogo 5 foi o único de boa absorção pelo trato gastrointestinal, com um valor de LogP de -1,33. Esse análogo também apresenta mais vantagens do que os pró-fármacos, uma vez que não é substrato da glicoproteína P e não é inibidor de nenhuma das enzimas do citocromo P450 registradas na plataforma SwissADME. Essas são características vantajosas, pois a glicoproteína P promove efluxo em direção ao lúmen intestinal, atrapalhando a absorção do composto, caso fosse um fármaco de uso oral.[7] Ademais, por não ser inibidor de nenhuma das enzimas CYP da plataforma, há menores chances de interações medicamentosas com outros fármacos metabolizados por essas enzimas.

Conclusões

Pode-se concluir que o análogo 5 melhores é o mais promissor dentre todos os análogos propostos, uma vez que obteve a maior pontuação no *docking* molecular e interações intermoleculares mais relevantes com o alvo molecular, demonstrando ser o composto de melhor complementaridade com a arginase.

Além disso, o análogo 5 obteve os melhores resultados na predição teórica de propriedades ADME, já que não é substrato da glicoproteína P, não é inibidor de nenhuma das enzimas do citocromo P450 e apresenta alta absorção de forma passiva pelo trato gastrointestinal.

Agradecimentos

Agradecemos à Universidade Estadual de Londrina, por possibilitar a realização desse projeto na Liga Acadêmica de Química Farmacêutica e Medicinal.

Referências e notas

(1) STEVERDING, D. *Parasite Vector*, v. 10, n. 82, 2017.
(2) NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. 12ª Ed. Rio de Janeiro: Atheneu Rio, 2011
(3) OPAS. Leishmanioses: informe epidemiológico das Américas [Internet]. Núm. 10, dezembro de 2021. Washington, D.C.: OPS; 2021. Disponível em: https://iris.paho.org/handle/10665.2/51742
(4) CHAI, Y. *et al. J Inorg Biochem*, Hong Kong, v. 99, n. 12, p. 2257-2263, dez. 2005.
(5) D'ANTONIO, E. L. *et al. Arch Biochem Biophys*, v. 535, p. 163–176, 2013.
(6) BELL, E. W.; ZHANG, Y. *J. Cheminformatics*. v. 11, 2019.
(7) DAINA, A. et al. Sci Rep. v. 3, n. 7, 2017.

C-E-G-10

Triagem virtual de compostos da biblioteca BraCoLi direcionando a Interação da Proteína Núcleocapsídeo do Sars-cov 2

Augusto S L Gonçalves[1] (IC), Adolfo Moraes[1]*(PQ). adolfohmoraes@ufmg.br

1 – Departamento de Química, ICEx, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil
Palavras-Chave: *Docking molecular, Proteína N, Sars-Cov 2, Triagem virtual.*

Introdução

O sars-cov-2 é um betacoronavírus com genomas de RNA de fita Simples com quatro proteínas estruturais essenciais, incluindo glicoproteína spike (S), proteína de envelope (E), proteína de matriz (M) e proteína de nucleocapsídeo (N).[1,2,3] Os medicamentos antivirais atuais desenvolvidos para tratar infecções por coronavírus visam principalmente a proteína S,[4] porem tal proteína e propensa a escapar das interações com os antivirais devido as diferentes padrões de ligação ao receptor da célula hospedeira[4] portanto a importância de novos estudos direcionado a diferentes proteína alvos são necessárias para combater o vírus. A Proteína Núcleocapsídeo (proteína N) do SARS-CoV-2, o vírus que causa o COVID-19, é um potencial alvo de medicamentos antiviral. A principal função desta proteína é interagir com o genoma viral e embalá-lo no complexo ribonucleoproteico,[5] sendo essencial nos ciclos de vida viral.

Objetivos

O objetivo foi determinar possíveis candidatos a fármacos por meio de interações de compostos da Brazilian Compound Library (BraCoLi) com a proteína N

Metodologia

Um estudo descritivo baseado em ferramentas de biologia computacional e triagem virtual foi realizado para explorar dados sobre a proteína SARS-CoV-2 N. Duas estruturas cristalinas da proteína SARS-CoV-2 N foram selecionadas, uma conformação aberta ligada ao RNA viral (PDB ID 7ACS) e uma conformação fechada (PDB ID 6VYO) (Fig. 1), Ambas as estruturas foram preparadas para os cálculos de ancoragem no AutoDock v. 3, retirando as moléculas de água, adicionando hidrogênio polares e campo de forças Cargas de Kollman. As estruturas foram convertidas para o formato PDBQT. O docking molecular foi realizado usando o software AutoDock v. 3 com 1.176 compostos da Brazilian Compound Library (BraCoLi) uma biblioteca virtual de compostos com curadoria manual desenvolvida por grupos de pesquisa brasileiros, para apoiar trabalhos no design de fármacos auxiliados por computador[6]. Dois servidores foram utilizados para a predição do sitio de ligação das proteínas alvos sendo o FTmap e FTsite ambos servidores identificam regiões da superfície que contribui com a energia de ligação. Os docking foram realizados com um caixa de grade virtual em torno da proteína, mantendo a estrutura alvo como rígida e permitindo flexibilidade ao ligante, para cada complexo proteína-ligante o AutoDock gerou 10 conformações com base em energia de ligação livre para cada complexo proteína-ligante. Para a análise foram considerados complexo de ligação energeticamente favorável (menor energia). Os cálculos foram realizados na máquina virtual NMRbox.

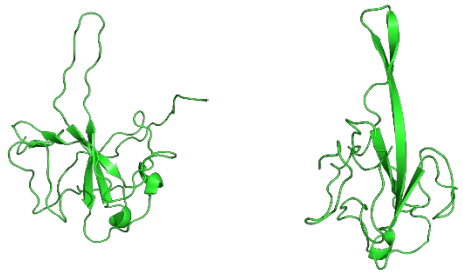


Figura 1. Estruturas cristalinas da proteína nucleocapsídeo Sars-cov-2 na esquerda (PDB ID: 7ACS) E na direita (PDB ID 6VYO).

Resultados esperados

Os resultados de docking foram analisados utilizando os softwares BIOVIA *Discovery Studio, pymol e o servidor plip para* análises de interação proteína-ligante. Conseguimos selecionar as dez moléculas que melhor interagiram com a conformação fechada da proteína. (Tabela 1) e dez compostos para a conformação aberta (Tabela 2), nove em cada dez compostos selecionados para a conformação

aberta interagiram frequentemente com o sitio de ligação identificado pelo FTmap e FTsite (Figura 2 e 3). Parte desses resíduos estão diretamente no sítio de ligação onde o RNA viral se liga que é essencial para a replicação do vírus.

Tabela 1. Lista dos dez compostos que interagiram com a estrutura conformação fechada 6VYO

Dock	Código (BraColi)	Código	Energia
1	216	BraCoLi_v1_ligand_0216	-8.9
2	1089	BraCoLi_v1_ligand_1089	-8.9
3	1091	BraCoLi_v1_ligand_1091	-8.9
4	213	BraCoLi_v1_ligand_0213	-8.7
5	1103	BraCoLi_v1_ligand_1103	-8.5
6	210	BraCoLi_v1_ligand_0210	-8.4
7	211	BraCoLi_v1_ligand_0211	-8.4
8	215	BraCoLi_v1_ligand_0215	-8.4
9	230	BraCoLi_v1_ligand_0230	-8.4
10	214	BraCoLi_v1_ligand_0214	-8.3

Tabela 2. Lista dos dez compostos que interagiram com a estrutura conformação aberta 7ACS

Dock	Código (BraColi)	Código	Energia
1	213	BraCoLi_v1_ligand_0213	-9.9
2	208	BraCoLi_v1_ligand_0208	-9.7
3	230	BraCoLi_v1_ligand_0230	-9.5
4	216	BraCoLi_v1_ligand_0216	-9.4
5	1090	BraCoLi_v1_ligand_1090	-9.2
6	1089	BraCoLi_v1_ligand_1089	-9.1
7	229	BraCoLi_v1_ligand_0229	-9.1
8	1088	BraCoLi_v1_ligand_1088	-9.1
9	203	BraCoLi_v1_ligand_0203	-9.0
10	215	BraCoLi_v1_ligand_0215	-8.9

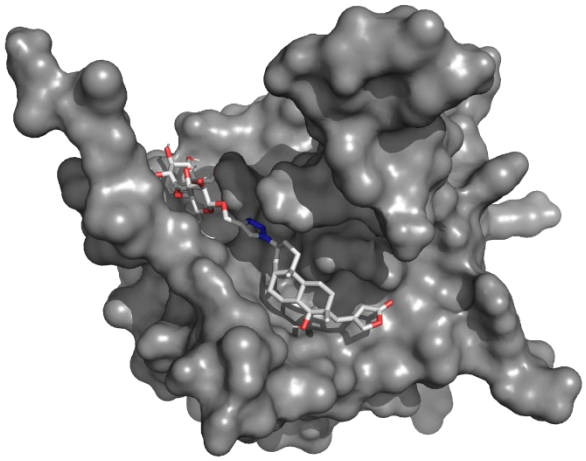


Figura 2. Complexo proteina-ligante representação cartoon da estrutura da proteína do nucleocapsídeo Sars-cov-2conformação aberta e ligante BraCoLi_v1_ligand_0213

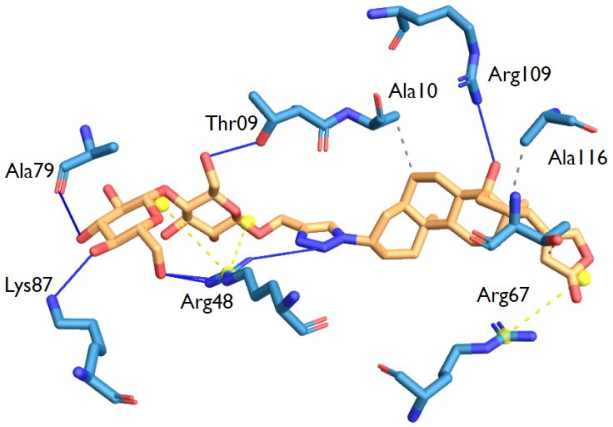


Figura 3. Residuos de aminoacidos da proteina 7ACS interagindo com o ligante BraCoLi_v1_ligand_0213

Considerações finais

Neste estudo, investigamos as interações de compostos antivirais contra a proteína N do SARS-

CoV-2 usando métodos computacionais baseados em estrutura alvo. Os ligantes selecionados nas tabelas acima irão passar por um estudo físico-químico analisando a lipoficilidade e hidrossolubilidade para identificar os compostos com potencial de serem viáveis para estudos posteriores, os compostos serão selecionados para analise experimental e dinâmica molecular. Essas técnicas têm se mostrado uma alternativa avançada para a descoberta de novos fármacos devido à dificuldade e custo de examinar a interação de muitos compostos com proteínas em nível molecular em condições experimentais.

Agradecimentos

Agradecemos ao CNPq e à CAPES pelo apoio financeiro.

Referências e notas

(1) Brian DA, Curr Top Microbiol Immunol. 2005; 287 :1-30.
(2) Cui J., Li F., Shi ZL. Nat Rev Microbiol. 2019; 17 :181-192
(3) Guo Y., Cao Q., Hong Z., Tan Y., Chen S., Jin H. Mil Med Res. 2020; 7:11
(4) Wrapp D., Wang N., Corbett KS, Goldsmith JA, Hsieh CL. Ciência. 2020; 367 :1260-1263
(5) Masters PS, Sturman LS. Adv Exp Med Biol. 1990; 276 :235-238.
(6) Veríssimo, G.C., dos Santos Júnior, V.S., de Almeida, I.A.d.R. et al. Mol Divers (2022).

C-E-PG-01

Parametrização do Crizotinib usando o campo de força Martini 3

Juliana F. Vilacha (PG)[1], Siewert-Jan Marrink* (PQ)[1]. s.j.marrink@rug.nl

1 – Molecular Dynamics Group, Groningen Biomolecular Sciences and Biotechnology Institute, Universidade de Groningen, Holanda

Palavras-Chave: *Cinase, Inibidores, Campo de força 'coarse grained', Martini, parametrização.*

Introdução

Crizotinibe é um inibidor de cinases cujo alvos iniciais eram as cinases c-MET (do inglês Mesenchymal-Epithelial Transition Factor) e ALK (do inglês Anaplastic Lymphoma Kinase. Posteriormente, sua ação foi estendida a um novo alvo no tratamento de câncer de pulmão de células não pequenas, ROS1 (do inglês c-ros oncogene1).[1,2] Apesar de seu sucesso inicial para a inibição dos alvos mencionados, o aparecimento de mutações em todos os alvos levou a um quadro de resistência ao fármaco.[3] Atualmente, estudos para elucidar o mecanismo de resistência de um fármaco são considerados vitais para o desenvolvimento de novas entidades moleculares. Porém, tais estudos, especialmente no campo experimental, não são triviais.

Nesse âmbito, o uso de técnicas de modelagem molecular se tornou um grande aliado para superar limitações no campo experimental ou mesmo para oferecer suporte aos dados experimentais envolvendo interação fármaco-receptor.[4] Contudo, *técnicas in silico* sofrem da limitada capacidade computacional disponível.

O desenvolvimento de campos de força (CF) "coarse-grained" (CG) possibilita a simulação de larga escala e requer apenas moderado poder computacional.[5] Dentre os diversos campos de força, atenção especial é dada ao CF Martini. Desenvolvimentos recentes em sua parametrização possibilitaram os estudos de processos de interação de pequenas moléculas e seus alvos em escalas de microssegundos.[6] Como outros CFs "coarse grained", a ideologia por trás do Martini é o agrupamento de átomos pesados (dois ou mais) em uma única unidade descritiva, uma "bead".[7]

Apesar do CF MARTINI 3 estar totalmente integrado ao pacote GROMACS, facilitando seu uso, e contar com inúmeros algoritmos para sua implementação em sistemas de membrana, temos poucas topologias de pequenas moléculas disponíveis para seu pronto uso.[8] Sendo assim se faz necessária a parametrização de novas moléculas a fim de não somente simular os eventos de ligação desta com seus alvos, mas seu uso posterior em estudos de reposicionamento de fármaco usando o CF Martini

Objetivos

Esse trabalho tem como objetivo principal parametrizar o fármaco crizotinibe para o seu uso em estudos envolvendo o campo de força Martini 3. Seu objetivo secundário é iniciar uma avaliação da capacidade do CF MARTINI em reproduzir simulações de compostos quirais, como é o caso do crizotinibe.

Metodologia

O processo de parametrização de uma entidade molecular demanda uma simulação de todos os átomos (AA, do inglês All Atoms) que servirá como base para determinar os ângulos e comprimentos de ligação a serem reproduzidos no modelo CG. Para o estereoisomero (R), simulações AA de uma única molécula foram realizadas usando o pacote GROMACS 2019.5 e o CF OPLS. A molécula foi simulada em uma caixa cúbica (54.872 nm^3) e solvatada com moléculas de água SPC. Inicialmente todas as simulações AA tiveram suas energias minimizadas durante 5000 ciclos ou até convergência da força máxima (100 kJ mol^{-1} nm^{-1}). Consecutivamente, esses sistemas foram equilibrados durante 250ps sob pressão constante usando um barostato Berendsen. O sistema equilibrado foi então submetido a uma simulação de dinâmica molecular clássica durante 500ns.

Para as simulações CG, um modelo inicial foi desenvolvido usando a "Martini Bible".[7] Para cada otimização proposta, uma minimização de energia (5000 ciclos) e subsequente equilíbrio sobre pressão constante durante 250ps foram realizadas. Se os processos de minimização de energia e equilíbrio forem bem-sucedidos, o sistema é submetido a uma corrida usando o CF MARTINI 3 por 3μs. Análise dos resultados e figuras foram obtidas com ferramentas do pacote GROMACS (versão 2019.5), VMD e GNUplot.

Resultados e discussão

I)Mapeamento proposto para o fármaco crizotinibe baseado no campo de força Martini 3

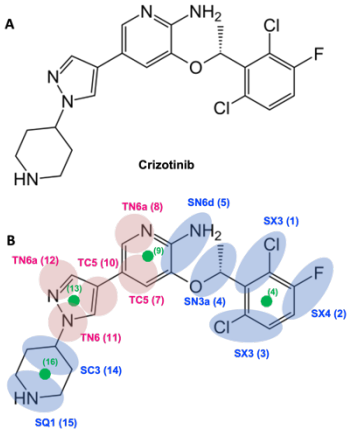


Figura 1. Representação do enantiomero R-crizotinibe. em seu modelo (A) todos-os-átomos, usado nas simulações AA, e seu modelo (B) proposto usando beads do campo de força Martini 3. Termos de ligação, assim como ângulos e diedros entre as "beads", são indicados na tabela1. Sítios virtuais foram utilizados para a estabilização da ligação entre "beads" e são representados por círculos de preenchimento sólido na cor verde. "Beads" do tipo T são representadas em vermelho e do tipo S em azul. O tipo e numeração de todas as ^beads^ e sítios virtuais é representado em parênteses.

O modelo aqui proposto é sugerido baseado no CF Martini 3 mais recente. Para tal modelo focamos na utilização de "T beads" para representar anéis aromáticos, quando possível. Essa escolha se basea em dados da literatura mostrando uma melhor correlação com dados experimentais e com simulações usando campos de força AA.[7,8]

II) **Optimização dos ângulos entre as beads usando R-crizotinibe e simulações AA**

A parametrização de pequenas moléculas usando o CF MARTINI 3 requer que todos os termos de interação intramolecular sejam otimizados. Infelizmente, até o presente momento, esse processo não foi automatizando. Por consequência, se faz necessário o estudo de todos os termos um por um. Em nosso estudo, 50 ciclos de otimização foram realizados, porém, por razões de espaço, limitaremos a mostrar apenas ciclos selecionados para demonstração do processo.

Tabela 1 Ciclos de optimização dos ângulos e diedros do modelo CG proposto para o crizotinibe. Envolvendo "beads" (B) e sítios virtuais (VS,do inglês virtual sites). Para visualização, somente casos relevantes são descritos

		Inicial	Ciclo11ª	Ciclo17
Ângulo1 (B1-B5-B6)	θ (deg)	101	101	101
	κ_θ (kJ mol^{-1})	50	50	50
Ângulo2 (B2-B1-B5)	θ (deg)	135	**139**	**139**
	κ_θ (kJ mol^{-1})	50	50	50
Ângulo3 (B3-B1-B5)	θ (deg)	78	78	78
	κ_θ (kJ mol^{-1})	50	50	**60**
Ângulo4 (B7-B8-B10)	θ (deg)	85	85	85
	κ_θ (kJ mol^{-1})	50	50	50
Ângulo5 (B12-B14-B15)	θ (deg)	78	78	78
	κ_θ (kJ mol^{-1})	50	50	50
Diedro1 (VS4-B1-B6-VS9)	Φ_S(deg)	-66	-66	-66
	κ_Φ (kJ mol^{-1})	4	**2.75**	**2.75**
Duração		35ns	3μs	1.5μs

ªValores escolhidos para prosseguir com as optimizações

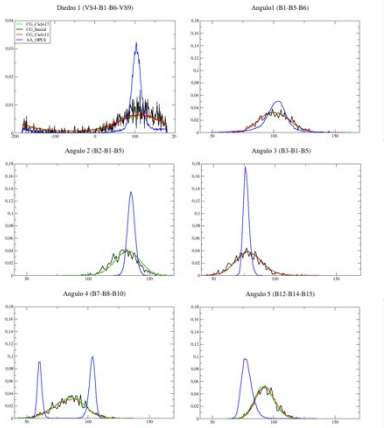


Figura 2. Gráficos de distribuição dos ângulos representados na tabela 1. Distribuições obtidas das simulações AA são representadas em azul, enquanto valores obtidos de simulações CG são representadas nas cores preta (Inicial), vermelha (ciclo 11) e verde (Ciclo 17).

III) Optimização dos termos de ligações entre as beads usando R-crizotinibe

Um dos objetivos principais da parametrização de pequenas moléculas é mimetizar o seu volume em simulações AA. Logo, se faz necessária a correção da distancias entre as "beads" a fim de representarcorretamente a distância entre as

mesmas e, assim, conservar o volume final o mais próximo possível do modelo AA.

Tabela 2. Ciclos de optimização dos termos ligados do modelo CG proposto para o crizotinibe. Para visualização, somente casos relevantes são descritos

		Try11	Try30	Try33	Try36[a]	Try44
Bond1 (VS4-B5)	Length (nm)	0.282	0.282	0.282	0.282	0.282
	κ_b (kJ mol^{-1} nm^{-2})	3500	**4000**	3500	3500	3500
Bond2 (B5-B6)	Length (nm)	0.390	0.390	0.390	0.390	0.390
	κ_b (kJ mol^{-1} nm^{-2})	3500	3500	**4000**	3500	4000
Bond3 (B8-B10)	Length (nm)	0.260	0.260	0.260	0.260	0.260
	κ_b (kJ mol^{-1} nm^{-2})	3500	3500	3500	**4000**	4000
Bond4 (B12-B14)	Length (nm)	0.301	0.301	0.301	0.301	0.301
	κ_b (kJ mol^{-1} nm^{-2})	3500	3500	3500	3500	**4000**
Duração		**3µs**	437ns	70ns	3µs	96ns

[a]Valores escolhidos para prosseguir com as optimizações

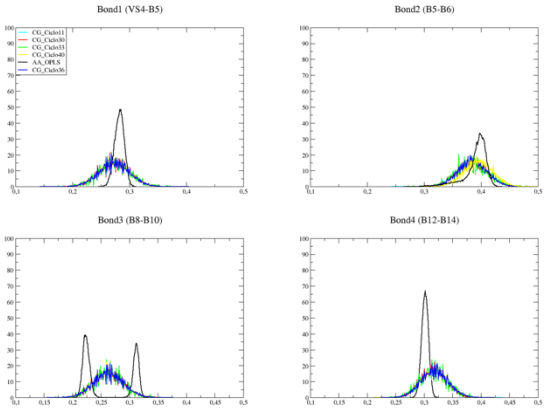


Figura 3. Gráficos de distribuição das ligações entre as "beads" representados na tabela 2. Distribuições obtidas das simulações AA são representadas em azul, enquanto valores obtidos de simulações CG são representadas nas cores ciano (ciclo11), vermelha (ciclo 30), verde (Ciclo 33), azul (Ciclo 36) e amarelo (ciclo 40).

IV) Comparação da área da superfície acessível ao solvente (SASA) e volume

Ao comparar o valor médio da área da superfície acessível ao solvente (SASA) da simulação AA (7.49 nm^2, st.dev: 1.27e-01) com as simulações CG do ciclo 11 (7.508 nm^2, st.dev: 5.02e-01) e do ciclo 36 (7.512 nm^2, st.dev: 5.01e-01) observamos uma discrepância mínima no valor médio (Figura 4). Contudo, nossa simulação AA demonstra um perfil com volume defino enquanto as simulações CG demonstram um perfil de volume com valores variáveis.

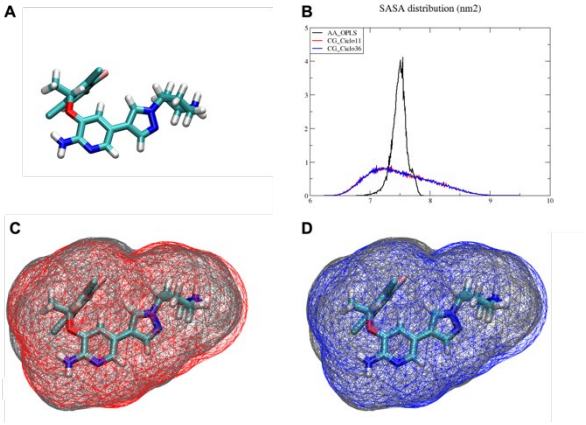


Figura 4 Representação de (A) crizotinibe e a distribuição de sua área de superfície exposta ao solvente durante (A) as simulações AA e CG dos ciclos 11 e 36. A superfície de Conolly é demonstrada comparando a simulação AA à simulação CG do (C) ciclo 11 (vermelho) e do (D) ciclo 36 (azul)

Conclusões

Neste trabalho, propomos um modelo CG para uma droga com atividade inibitória em três receptores cinase distintos: cMET, ALK e ROS1. O maior desafio encontrado neste processo é a parametrização dos termos de ligação entre as "beads" como por exemplo distâcia entre as ligações e ângulos entre elas. Nosso trabalho propõem um modelo parametrizado utilizando simulações AA do R-crizotinibe, o enântiomero utilizado no tratamento de pacientes de câncer com alterações nas cinases mencionadas. Apesar do processo racional de otimização, observamos um modelo final cuja sobreposição com o modelo AA mostra um perfil disperso. Nossa hipótese é que, dado o uso de uma "S bead" para descrever o centro quiral, nosso modelo representa a mistura racêmica e não um único enântiomero.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Universidade de Groningen pela bolsa de doutorado de J.F. Vilachã.

Referências e notas

(1) Zou, H. Y. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **112**, 3493–3498 (2015).
(2) Cui, J. J. *et al. J. Med. Chem.* **54**, 6342–6363 (2011).
(3) Davare, M. A. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **112**, E5381–E5390 (2015).
(4) Vilachã, J. F., Mitchel, S. C., Akele, M. Z., Evans, S. & Groves, M. R. t. *Crystals* **10**, 725 (2020).
(5) Joshi, S. Y. & Deshmukh, *S. A. A. Mol. Simul.* **47**, 786–803 (2021).
(6) Souza, P. C. T. *et al. Nat. Commun.* **11**, 1–11 (2020).
(7) Souza, P. C. T. *et al. Nat. Methods* **18**, 382–388 (2021).
(8) Alessandri, R. *et al. Adv. Theory Simulations* **5**, 2100391 (2022).

C-E-PG-02

Design de drogas por lbdd e docking molecular mostra bioatividade aumentada contra variantes do SARS-CoV-2

Jorge Maurício da Silva Brito (PG)[1*], Nelson Henrique Morgon (PQ)[1]. promaurycyo@gmail.com

1 – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas-SP, Brasil
Palavras-Chave: *COVID-19, Variantes, Modelagem, Pós-fusão, Inibição.*

Introdução

Apesar de as vacinas serem projetadas para a fase de pré-fusão do vírus,[1] contudo, a descoberta de novos agentes terapêuticos para o tratamento da COVID-19 deve se concentrar na fase intracelular da infecção, seja inibindo a clivagem da proteína Spike e, por conseguinte, a automontagem do genoma do vírus, seja inibindo a síntese do RNA viral.[2] E já se sabe que a protease semelhante a 3-quimiotripina (3CLpro) é alvo para inibir a automontagem do genoma do SARS-CoV-2, reduzindo a produção de moldes do vírus para a fase de síntese de novas cópias, o que é feito pela ação do RNA polimerase dependente de RNA (RdRp).[3]

Drogas com potencial de inibição das proteases 3CLpro e RdRp podem ser extremamente relevantes para o tratamento da doença, principalmente, por reduzir o número de células infectadas e favorecer com mais eficácia o tratamento.[4]

Embora o Remdesivir tenha sido considerado um antiviral promissor para o tratamento da COVID-19, entretanto, testes clínicos apontaram apenas um pequeno efeito terapêutico sobre a doença.[4] Por outro lado, em estudos *in silico*, o Casopitant tem mostrado boa atividade de inibição do RdRp.[5]

Objetivos

Com o objetivo de propor novos inibidores das variantes do SARS-CoV-2, fizemos um estudo de modelagem de drogas baseada no ligante (LBDD) com docking molecular de 32 análogos do Remdesivir e 32 análogos do Casopitant, que foram rastreados através de índices de similaridade. O protocolo de seleção inicial dos candidatos mais promissores se deu pelo potencial de bioatividade aumentada contra as proteínas S das variantes Alfa (B.1.1.7), Beta (B.1.351), Kappa (B.1.617.1), Delta (B.1.617.2) e Omicron (B.1.1.529), e das proteases 3CLpro (PDB ID: 6LU7) e RdRp (PDB ID: 6M71). E, finalmente, pelo maior potencial de bioatividade aumentada contra a proteínas S da variante Delta, que é a mais crítica.

Os resultados mostraram cinco farmacóforos com bioatividade aumentada, variando entre 23% e 53%, que representam bem a interação no sítio ativo das proteínas virais, com boa reprodução dos resíduos de aminoácidos experimentalmente observados.

Metodologia

As estruturas 3D e SMILES do Casopitant (DB06634) e do Remdesivir (DB14761) foram baixadas do servidor DrugBank.

A seguir, as estruturas SMILES foram submetidas ao servidor SwissTargetPrediction para a previsão de alvos proteicos de moléculas pequenas,[6] escolhendo-se a espécie Homo sapiens.

Para o Casopitant, os homólogos foram escolhidos da proteína-alvo Neurokinin 1 receptor (UniProt ID: P25103, ChEMBL ID: CHEMBL249).[7]

Do mesmo modo, o Remdesivir foi carregado no servidor SwissTargetPrediction.[6] Entretanto, os seus homólogos foram escolhidos da proteína-alvo Serine/threonine-protein kinase mTOR (UniProt ID: P42345, ChEMBL ID: CHEMBL2842).[8]

Foram obtidas 64 estruturas análogas, em sendo 32 do Casopitant e 32 do Remdesivir.

Todos os 32 homólogos do Casopitant (**D1-D32**) e do Remdesivir (**D33-D64**) foram submetidos ao docking molecular. Além disso, foram calculados os potenciais de bioatividade aumentada (IBP) para cada um dos 64 homólogos, de acordo com a seguinte equação:

$$IBP = -100 \times [(E_{Antiviral} - E_{Homólogo}) / E_{Antiviral}] > 0 \quad (1)$$

onde $E_{Antiviral}$ é a energia do Casopitant ou do Remdesivir e $E_{Homólogo}$ é a energia do respectivo homólogo, produzida pelo docking molecular.

A seleção final se deu baseada em dois critérios: (a) No maior valor de IBP para a variante Delta e (b) na análise da ADME (para absorção, distribuição, metabolismo e excreção) e filtros PAINS, LogP, VEBER e EGAN.[9]

Resultados e discussão

Os homólogos **D35**, **D48**, **D51**, **D53** e **D57** do Remdesivir foram selecionados para a análise dos resultados do docking, pois todos atenderam aos requisitos da ADME e demais filtros sem nenhuma violação. A Tabela 1 mostra os resultados e a Figura 1 mostra suas estruturas 3D.

Vale ressaltar que, previamente ao docking molecular, a geometria de todos os ligantes foi otimizada através de mecânica molecular com o método MMFF94 utilizando-se o programa Avogadro[10].

Tabela 1. Propriedades ADME preditas, filtros PAINS, VEBER, EGAN, LogP, IBP e Energias de ligação (E) para a variante Delta dos homólogos **D35**, **D48**, **D51**, **D53** e **D57**. Todas as propriedades e filtros foram calculados no servidor SwissADME (http://www.swissadme.ch/).

Ligante	MW	Log P	E	IBPd	LV	VEBER	PAINS	EGAN
D35	463.53	3.83	-29.79	53.95	0	sim	sim	sim
D48	449.55	4.75	-27.50	42.12	0	sim	sim	sim
D51	462.54	3.77	-27.85	43.93	0	sim	sim	sim
D53	420.47	2.18	-24.56	26.93	0	sim	sim	sim
D57	474.56	3.45	-26.59	37.42	0	sim	sim	sim

Abreviações: MW, peso molecular; LogP, coeficiente de partição octanol/água; E, energia de ligação obtida no docking para a variante Delta; IBPd, potencial de bioatividade aumentada contra a variante Delta; LV, Violação de Lipinski; VEBER, biodisponibilidade oral; PAINS, compostos de interferência de pan-ensaios; EGAN, predição de absorção.

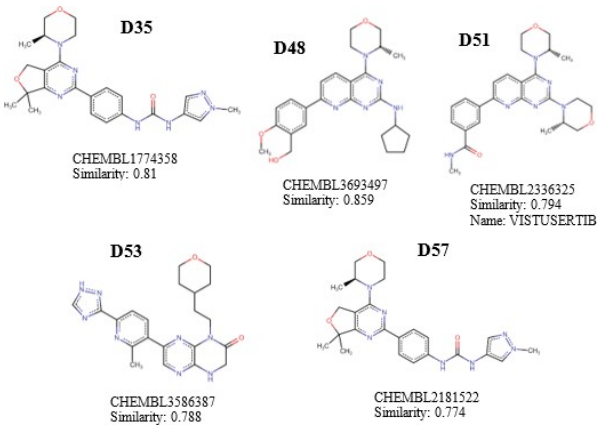


Figura 1. Estruturas 3D dos homólogos **D35**, **D48**, **D51**, **D53** e **D57**. São apresentados os ChEMBL IDs e índices desimilaridade. O homólogo **D51**, também identificado com oChEMBL ID AZD2014, é um inibidor potente de ambos osmTORCs, que está sendo avaliado em vários ensaios clínicos.

Os resultados da Tabela 1 mostram que o homologo **D35** foi o que apresentou o maior potencial de bioatividade aumentada contra a variante Delta (cerca de 53,95%), que ainda é aquela considerada a espécie mais crítica da infecção por COVID-19.
Além disso, o valor do coeficiente de partição octanol/água (logP) foi de 3.83 para esse composto, indicando o seu caráter altamente hidrofóbico e, por conseguinte, a sua tendência dentro do organismohumano é distribuir-se entre as substâncias apolares das células (membranas e fluidos intracelulares).
Aliás, de um modo geral, todos os demais compostos (**D48, D51, D53 e D57**) apresentaram essa mesma tendência.

A estimativa inicial ADME pode reduzir bastante o erro de previsão da farmacocinética nas fases clínicas e, nesse caso, o uso de modelos computacionais têm se mostrado extremamente válidos para tais predições. Nesse aspecto, a Tabela 1 mostra que todos os compostos selecionados não violam nenhumdos requisitos da regra de Lipinski (0 violações), apresentam boa biodisponibilidade oral, boa absorção e excreção. Portanto, em sendo bons candidatos adrogas. Com efeito, os valores positivos (sim ou 0) dos filtros LV, VEBER, PAINS e EGAN obtidos na simulação do servidor SwissADME ratificam exatamente essa condição.

O SARS-CoV-2 usa uma coleção relativamente grande de enzimas de síntese e de processamento de RNA para expressar e replicar o seu genoma. E a enzima que é a peça-chave nesse processo é o RNA polimerase dependente de RNA (RdRp), que sintetiza todo o RNA viral, em sendo um alvo comprovado para o desenvolvimento de novos medicamentos.

O homólogo **D35** apresentou um aumento de estabilização do complexo com o RdRp de 28.08% em relação ao antiviral Remdesivir. Para o **D48**, foi de 18,14%,; para o **D51**, 21,96%; para o **D53**, foi de 2,53% e para o homólogo **D57**, foi de 28,78%. Observa-se que os homólogos **D35**, **D51** e **D57** têm maior poder de impedir a transcrição e replicação do RNA viral, inviabilizando a síntese de RNA e todo o processo de capeamento de mRNA do vírus para a tradução ulterior nos ribossomos da célula, paralisando todo o ciclo da infecção ou reduzindo esse processo substancialmente. No toante ao IBP contra a proteína S da variante Delta, conforme a Tabela 1, o poder de impedir o início da infecção da célula, apenas o homólogo **D53** foi relativamente baixo, os demais mostraram potencial aumentado que variou entre 37% e 53%.

A protease 3CLpro é uma enzima que medeia a replicação e transcrição viral. Ela promove a clivagem proteolítica do RNA do vírus em 11 sítios diferentes e é a partir de tais clivagens que são formadas proteínas virais funcionais, incluindo RNA- polimerase dependente de RNA, helicase, exoribonuclease, endoribonuclease e 2′-O-tribose-metiltransferase. Todas consideradas essenciais nos processos de replicação e infecção viral. Portanto, a inibição da 3CLpro é boa estratégia para interromper o ciclo da infecção viral.

O homólogo **D35** apresentou um aumento de estabilização do complexo com o 3CLpro de 9,14% em relação ao antiviral Remdesivir. Para o **D48**, foi de 26,13%,; para o **D51**, 19,74%; para o **D53**, foi de 20,17% e para o homólogo **D57**, foi de 18,80%. Observa-se que os homólogos **D48**, **D53** e **D57** têm maior poder de impedir a clivagem da proteína viral e, consequentemente, a produção de proteínas estruturais que seriam usadas na síntese de novas cópias.

Conclusões

A interação entre as proteínas virais S, 3CLpro e RdRp foi estudada contra 64 análogos do Remdesivir e Casopitant. Os resultados in silico sugerem que 05 análogos do Remdesivir, com bioatividade aumentada variando de 23% a 53% inibem ou reduzem processos intracelulares da infecção viral do SARS-CoV-2, especialmente a clivagem, tradução do RNA viral e síntese de novas cópias. O estudo atual pode estabelecer as bases para que as 05 drogas apontadas sejam usadas como inibidoras do SARS- CoV-2, precedido de testes in vitro e in vivo.

Referências e notas

(1) Brito, J.S., Miranda, V.R., Morgon, N.H.. In Silico Study Reveals That Casopitant, Grazoprevir, Remdesivir And Rimantadine Antivirals Suppress Pre- And Post-fusion Stages Of Sars-cov-2 Viral Cycle. In : Brito, B.C., Neto, M.L. (orgs.) *Novas pesquisas em Ciências Biológicas e Biodiversidade*. 1ed. São Paulo: Editora dialetica, **2022**, v. 2, p. 61-95.
(2) Jin, Z., Du, X., Xu, Y. et al. *Nature*, **2020**, 582, 289-293.
(3) Cavasotto, C. N. *Current topics in medicinal chemistry*, **2011**, 11(12), 1528-1534.
(4) Lo, H.S., Hui, K.P.Y., Lai, H.M. et al. ACS Cent. Sci., **2021**, 7, 5, 792-802.
(5) Iftikhar, H., Ali, H. N., Farooq, S. et al. *Computers in biology and medicine*, **2020**, 122, 103848.
(6) Daina, A., Michielin, O., Zoete, V. *Nucleic Acids Research*, **2019**, 47(W1), W357-W364.
(7) Johnson, B., Adams, L., Lu, E. et al. *Support Care Cancer*, **2009**, 17,1177-1185.
(8) Park, I.H., Bachmann, R., Shirazi, H., Chen, J. *J. Biol. Chem.*, **2002**, 277(35), 31423-31429.
(9) Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W., Feeney, P.J. *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, **2001**, 46(1-3), 3-26.
(10) Hanwell, M.D., Curtis, D.E., Lonie, D.C. et al. *J. Cheminform.*, **2012**, 4, 17.

C-E-PG-03

A Protectina DX (PDX) reduz a inflamação e dor em modelo de inflamação aguda induzida por Ânion Superóxido em camundongos

Jessica A. Carneiro (PG)[1*], Nayara A. Artero (PG)[2], Waldiceu A. Verri Junior (PQ)[1]. jessicacarneiro@uel.br

1 – Departamento de Ciências Patológicas, Universidade Estadual de Londrina, PR – Brasil.
2 – Departamento de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina, PR – Brasil.
Palavras-Chave: *Inflamação, Dor, Espécies Reativas de Oxigênio, Ânion Superóxido, Mediadores Lipídicos Especializados Pro-resolução, Protectina DX.*

Introdução

Embora vital para a proteção e manutenção da homeostase do organismo, a resposta inflamatória pode se tornar exacerbada e provocar efeitos deletérios ao organismo, promovendo o desenvolvimento de diversas doenças. Fisiologicamente, as espécies reativas de oxigênio (EROs) possuem papel fundamental em diversos processos biológicos, sendo seus índices controlados por sistemas antioxidantes, como através das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase e glutationa reduzida (GSH) (1,2), permitindo um equilíbrio do sistema oxidante-antioxidante do organismo. Entretanto, ao serem geradas em excesso, como ocorre durante o processo inflamatório, há o surgimento do "Estresse Oxidativo", o qual é responsável por proporcionar diversos danos teciduais (3), levar a ativação de cascatas intracelulares que culminam na produção de mediadores pró-inflamatórios (4,5), além de atuar na promoção da hiperalgesia, uma vez que tanto os mediadores pró-inflamatórios, como TNF-α e IL-1β, quanto as EROs, são capazes de ativar canais e receptores presentes na membrana dos nociceptores, como os Canais Iônicos de Potencial Receptor Transiente (TRP), permitindo sua ativação e posterior sensibilização (6,7,8).

O superóxido de potássio (KO_2) é um doador de ânion superóxido, e sua administração é eficiente na indução de respostas inflamatórias e hiperalgésicas (9), uma vez que é capaz de ativar vias transcricionais que levam a síntese de mediadores pró-inflamatórios e também proporcionar o aumento da produção de EROs (8, 9, 10).

A resolução da inflamação é um processo ativo, em que interações célula-célula em conjunto com a biossíntese celulares de mediadores lipídicos bioativos são capazes de gerar sinais que cessem a liberação de mediadores pró-inflamatórios e a migração leucocitária, permitindo o retorno do organismo à homeostase (11). Desta forma, enquanto na fase inicial aguda da resposta inflamatória há síntese de prostaglandinas e leucotrienos (iniciadores clássicos), a partir do ácido araquidônico (AA), na fase resolutiva, há uma modificação no tipo de mediador sintetizado, sendo que a classe a ser produzida se trata dos Mediadores Lipídicos Pró-Resolução (MLPRs), que podem ser biossintetizados a partir do ácido araquidônico (ômega-6), como é o caso das lipoxinas, e através do ácido graxo ômega-3, como é caso das resolvinas da série E (RvE), sintetizadas a partir do ácido eicosapentaenóico (EPA), resolvinas da série D (RvD), maresinas (MaRs) e protectinas (PDs) sintetizadas a partir do ácido docosahexaenoico (DHA) (11,12).

A protectina DX é um MLPR pertencente à família das protectinas, e é sintetizada via 15-lipoxigenase humana (15-LOX) (13). Este lipídeo pró-resolução demonstras características anti-inflamatórias, como a inibição da atividade das ciclooxigenase 1 e 2 (14) e redução do recrutamento leucocitário (15,16), e antioxidantes, levando a uma menor geração de EROs e maior expressão de enzimas antioxidantes como a catalase (17), demonstrando que este MLPR pode ser uma nova alternativa para o tratamento da dor e inflamação. Entretanto, frente à ausência de trabalhos presentes na literatura que contemplem e elucidem o potencial terapêutico da PDX na dor e inflamação desencadeadas por uma ERO, faz-se necessário mais estudos acerca de seu potencial anti-inflamatório, analgésico e antioxidante.

Objetivos

Avaliar o efeito analgésico e anti-inflamatório da Protectina DX (PDX) em modelo de dor e inflamação aguda induzido por Ânion Superóxido (KO_2) em camundongos.

Metodologia

- Animais: foram utilizados camundongos Swiss machos provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Londrina (CEUA-UEL: Nº 003.2021, os quais foram tratados uma única vez com as doses de 1, 3 e 10 ng de PDX ou veículo (salina isotônica), por via intraperitoneal, 1 hora antes da injeção intraplantar de KO_2 (30 µg/pata).

- Hiperalgesia mecânica: avaliada através da versão eletrônica do método de von Frey. Os limiares basais foram determinados antes do tratamento com a PDX (i.p.) ou veículo (i.p.), e do estímulo inflamatório com KO_2 (i.pl.). Após o estímulo, as medidas foram feitas nos tempos: 30 minutos, 1 hora, 3 horas, 5 horas e 7 horas.

- Hiperalgesia térmica: foi avaliada utilizando o Teste de Hargreaves e o Teste de placa quente (± 52ºC) sendo os limiares basais determinados antes do tratamento com PDX (i.p.) ou veículo (i.p.) e do estímulo com KO_2 (i.pl.). Após o estímulo, as medidas foram feitas nos tempos: 30 minutos, 1 hora, 3 horas, 5 horas e 7 horas. O tempo máximo de permanência é de 20 segundos, para evitar dano tecidual plantar nos animais.

- Comportamento de dor manifesta (contorção abdominal, sacudidas e tempo gasto lambendo a pata): para o comportamento de contorção abdominal, o estímulo de KO_2 (1 mg/animal, i.p.) foi administrado 1 hora após o tratamento com PDX (10 ng/animal, i.p.) ou veículo (salina isotônica, i.p.), sendo os comportamentos nociceptivos quantificados através da contagem do número total de contorções que ocorreram ao longo de 20 minutos após o estímulo. Para os outros comportamentos avaliados (sacudidas e lambidas de pata), os animais foram estimulados com KO_2 (30 µg, i.pl.), 1 hora após o tratamento com PDX (10 ng/animal, i.p.) ou veículo (salina isotônica, i.p.), sendo os comportamentos avaliados ao longo de 30 minutos após o estímulo.

- Static Weight Bearing (SWB): as alterações na distribuição de peso da pata foram feitas através do aparelho *Static Weight Bearing*. Os limiares basais foram determinados antes do tratamento com a PDX (10 ng, i.p.) ou veículo (salina isotônica, i.p.), e do estímulo inflamatório com KO_2 (30 µg, i.pl.). Após o estímulo, as medidas foram feitas nos tempos: 1 hora, 3 horas, 5 horas e 7 horas.

- Análise Histológica: o tecido plantar foi coletado 7 horas após o estímulo com KO_2, coradas em hematoxilina-eosina (HE) e levadas ao microscópio óptico para análise quantitativa e qualitativa, sendo analisadas através do software Image J.

- Análise estatística: foi feita através do software Prisma 8.0. A normalidade dos dados foi verificada por Teste Shapiro-Wilk. Para dados normais, foram realizados testes ANOVA de uma ou duas vias seguidas de pós teste Tukey. Para distribuição não normal, foi realizado o teste não paramétrico Kruskal-Wallis seguido do teste Dunn's. Para todas as análises, as diferenças consideradas significativas apresentam $P < 0,05$.

Resultados e discussão

Tabela 1. A PDX apresenta efeitos analgésicos e anti-inflamatórios em modelo de dor e inflamação induzido por KO_2.

Parâmetros Analisados	Efeito da Protectina DX
Hiperalgesia Mecânica	Reduz a hiperalgesia mecânica
Hiperalgesia Térmica	Reduz a hiperalgesia térmica
Comportamentos de Dor Manifesta	Reduz os comportamentos de dor manifesta
Distribuição de peso corporal	Reduz o desbalanço na distribuição de peso corporal
Infiltrado Leucocitário	Reduz o infiltrado leucocitário na derme do tecido plantar

Primeiramente, a eficácia do tratamento com PDX (i.p.), em diferentes doses (1, 3 e 10 ng), foi avaliado em modelo agudo de dor induzido por KO_2 (30 µg/pata). Para a determinação da curva de dose-resposta da PDX, foram realizados os experimentos de hiperalgesia mecânica determinada por von Frey e de hiperalgesia térmica determinada por placa quente. Os resultados obtidos destes experimentos indicaram a dose de 10 ng como a mais eficiente, desta forma, esta foi a dose empregada nos demais experimentos.
Corroborando com o perfil analgésico indicado nos experimentos de hiperalgesia mecânica e térmica, a dose de 10 ng de PDX (i.p.) também reduziu o número de contorções abdominais, o número de sacudidas de pata e o tempo gasto do animal lambendo a pata (comportamentos de dor manifesta) induzidos por KO_2 (i.pl.). Avaliou-se

também a distribuição de peso corporal nas patas traseiras dos roedores, de forma que, o animal que apresenta algesia tende a distribuir o peso em direção à pata não lesionada (esquerda). Assim, os resultados obtidos demonstram que a PDX (10 ng, i.p.) reduz o desbalanço na distribuição de peso dos animais, demonstrando potencial analgésico.

Neste estudo, a PDX também promoveu a redução do infiltrado inflamatório na derme do tecido plantar dos animais induzidos com KO_2, além de parâmetros inflamatórios menos acentuados (menor neovascularização, maior integridade tecidual e menor infiltrado leucocitário), demonstrando um potencial anti-inflamatório.

Dados presentes na literatura, que empregam testes comportamentais de nocicepção, evidenciam a ação antinociceptiva dos MLPRs, como Maresina 1 (MaR1), Resolvina D1 (RvD1) e Protectina D1 (PD1), que são capazes de mediar a atividade dos canais TRP, reduzir a geração de citocinas pró-hiperalgésicas e EROs, inibindo comportamentos de dor evocada e não-evocada (18,19,20). Dados semelhantes aos que foram encontrados em nossos resultados, uma vez que a PDX foi capaz de inibir os comportamentos de hiperalgesia mecânica e térmica, e de dor manifesta, além de também reduzir a distribuição assimétrica do peso das patas traseiras dos animais avaliada através do SWB. Possíveis explicações para tal efeito analgésico da PDX podem ser encontradas em dados já expostos da literatura, os quais evidenciam seu perfil antioxidante e anti-inflamatório, visto que a PDX é capaz de inibir da ativação da NADPH oxidase (NOX), regular positivamente da expressão de enzimas antioxidantes (14) e reduzir a expressão de mediadores pró-inflamatórios (21), inibindo a ativação de receptores e canais presentes na membrana dos nociceptores, impedindo a ativação e sensibilização destes.

Nossos resultados demonstraram que a PDX reduziu o infiltrado leucocitário na derme do tecido de pata, além de promover a manutenção da integridade tecidual, efeito observado em outros achados que empregam a PDX (22,23). Um possível mecanismo envolvido neste efeito é a redução da expressão de citocinas (IL-1β, TNF-α e IFN-γ) e quimiocinas (CCL2 e CCL5) (23).

Deste modo, este trabalho demonstrou, pela primeira vez, a capacidade da uma protectina, a PDX, em reduzir a dor e inflamação desencadeada por uma ERO, o ânion superóxido, doado pelo superóxido de potássio (KO_2).

Conclusões

A PDX foi eficiente em promover a redução da dor evocada por estímulos mecânico e térmico, nos testes de dor não evocada como de dor manifesta (contorções abdominais, sacudidas e lambidas de pata) e assimetria na distribuição de peso, e no recrutamento leucocitário, demonstrando eficácia no controle da geração excessiva de ERO e seus subsequentes efeitos deletérios, como o estresse oxidativo, a inflamação e a dor. Desta forma, os resultados obtidos neste trabalho demonstram o potencial analgésico e anti-inflamatório da PDX em modelo agudo de inflamação iniciada pelo ânion superóxido através da administração de seu doador, o superóxido de potássio (KO_2), a apresentando como uma alternativa promissora na terapêutica da dor e inflamação de origem aguda associada a um estímulo oxidante.

Agradecimentos

Agradeço ao Laboratório de Dor, Inflamação, Neuropatia e Câncer (LADINC), à Universidade Estadual de Londrina, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação Araucária.

Referências e notas

(1) Zelko, I. N.; Mariani, T. J.; Folz, R. J. *Free Radical Biology & Medicine* **2002**, 33.
(2) Kayama, Y. *et al. International Journal of Molecular Sciences* **2015**, 16.
(3) PONS, L. *et al. Gastroenterology* **1991**, 100, 4.
(4) Gloire, G., Piette, J. *Antioxid Redox Signal* **2009**, 11, 9.
(5) Glezer, I. *et al. Rev Bras Psiquiatr* **2000**, 22, 1.
(6) Fernandes, E. S. *et al. FASEB Journal* **2013**, 27, 4.
(7) Keeble, J. E. *et al. Pain* **2009**, 141, 1–2.
(8) Ndengele, M. M. *et al. The FASEB Journal* **2008**, 22, 9.
(9) Maioli, N. A. *et al. Brazilian Journal of Medical and Biological Research* **2015**, 48, 4.
(10) Salvemini D. *et al. Science* **2011**, 51, 5.
(11) Serhan, C. N.; chiang, N.; dalli, J. *Seminars in Immunology* **2015**, 27, 3.
(12) Serhan, C. N. *et al. Biochimica etBiophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids* **2015**, 1851, 4.
(13) Mukherjee, P. K. *et al. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2004**, 101, 22.
(14) Liu, M. *et al. Lipids* **2014**, 49, 1.
(15) Serhan, C.N. *et al. J. of immunology* **2006**, 176, 3.
(16) Zhuo, X. J. *et al. Experimental and Molecular Medicine* **2018**, 50, 4.
(17) Hwang, H. J. *et al. Cellular Signalling* **2019**, 53.
(18) Bang, S. *et al. British Journal of Pharmacology* **2010**, 161, 3.
(19) Fattori, V. *et al. Br J Pharmacol* **2009**, 176, 11.
(20) Park, C. K. *et al. Journal of Neuroscience* **2011**, 31, 50.
(21) Zhao, Q. X. *et al. Frontiers in Physiology* **2021**, 12.
(22) White, P. J. *et al. Nature Medicine* **2014**, 20, 6.
(23) Xia, H. *et al. Immunologic Research* **2020**, 68, 5.

C-E-PG-04

Estudo do potencial antidepressivo do azul de metileno por docking molecular

José Gabriel Fontenele Gomes[1] (PG)*, Bruno de Sousa Barbosa[1] (PG). jgabrielfontenele@gmail.com

1 – Departamento de Farmacologia, Universidade Federal do Piauí, PI - Brasil

Palavras-Chave: *Antidepressivo, Azul de metileno, Docking.*

Introdução

A depressão é uma patologia grave e debilitante que pode, em última caso, levar ao suicídio. O tratamento farmacológico para depressão grave é baseado em fármacos com ação voltada para o sistema monoaminérgico.[1] Adentrando os mecanismos da depressão, as monoaminas (MAOs) são um grupo de neurotransmissores e que são a serotonina, dopamina, noradrenalina e adrenalina.Os MAOs catalisam a desaminação oxidativa das monoaminas biogênicas. MAO-A e MAO-B que são duas isoformas de MAOs em humanos. Os inibidores da MAO executam seu mecanismo terapêutico pelo bloqueio do MAO-A/B, aumentando a disponibilidade de monoaminas na fenda sináptica.[2] O azul de metileno (MB), uma molécula centenária, utilizada para o tratamento da malária, tem se provado com efeito neuroprotetor contra vários processos patológicos. Provas crescentes mostraram que a MB efetua atividades neuroprotetoras em vários distúrbios cerebrais, como diminuir o comportamento agudo depressivo, melhorando sintomas residuais de depressão.[3] A fim de explicar brevemente esse método, a modelagem molecular é um método geral que descreve o sistema de reação das moléculas e prevê as propriedades físicas macroscópicas. Atualmente, a tecnologia de simulação molecular inclui acoplamento molecular, simulação de dinâmica molecular e combina cálculo de energia livre. Entre esses métodos, o acoplamento molecular é o mais utilizado nas pesquisas de modelagem molecular, inclusive nesse trabalho.[4]

Objetivos

Analisar o potencial antidepressivo do azul de metileno por meio de suas interações com as duas isoformas da MAO.

Metodologia

O presente estudo foi desenvolvido com uma metodologia do tipo quantitativa-descritiva. Foram utilizadas as bases de dados *Protein Data Bank* (PDB) para seleção das proteínas, e *PubChem* para a obtenção da estrutura do ligante. As MAOs em suas duas isoformas foram baixadas do PDB, sendo PDB ID: 2BXS para MAO-A e PDB ID: 1GOS para a MAO-B. sendo posteriormente submetidas ao programa *Biovia Discovery Studio* (BDS) para a preparação, onde foram removidos ligantes e águas. O sítio ativo de ambas, foi determinado segundo as coordenadas presentes nos arquivos de cada proteína.[5,6] Tais coordenadas foram utilizadas como região para o *docking*. O ligante e as proteínas foram submetidas a preparação final com o programa *AutoDock Tools* (v. 4.6), e o *docking* em si foi realizado com o *AutoDock Vina*, sendo selecionadas para visualização as conformações de menor energia (kcal/mol). A análise das interações obtidas foi realizada por meio do BDS. As visualizações tridimensionais de proteínas e ligantes foi feita no programa *ChimeraX*. O ligante em estudo foi ainda submetido às análises farmacocinéticas, realizadas na plataforma *SwissADME*, e toxicológicas, na plataforma *pkCSM*. Realizou-se ainda a comparação de seus parâmetros frente a regra de Lipinski.

Resultados e discussão

A seguir, observa-se a estrutura tridimensional e bidimensional do composto azul de metileno.

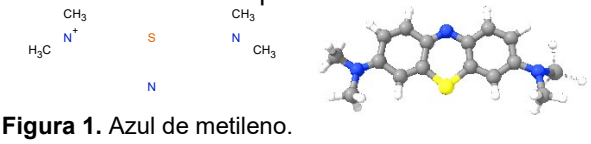


Figura 1. Azul de metileno.

Tabela 1. Regra de Lipinski aplicada ao ligante.

Isoforma	Afinidade (kcal/mol)
MAO-A	-8.3
MAO-B	-7.4

Nota-se que em ambas as isoformas da MAO, o ligante foi capaz de realizar interações com energias favoráveis. As interações do ligante com a MAO-A podem ser visualizadas na figura abaixo.

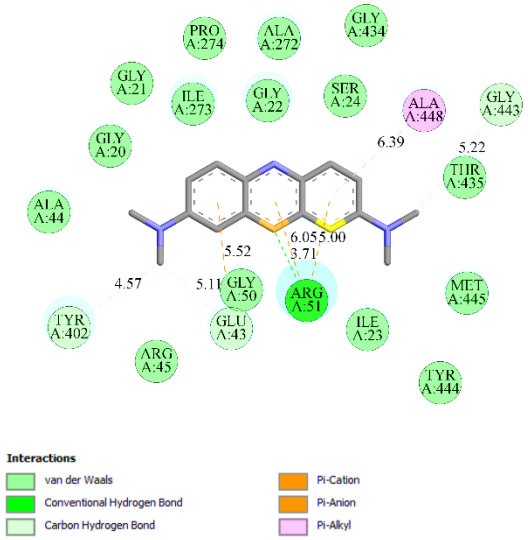


Figura 2. Interações do azul de metileno com a MAO-A.

Frente aos resultados, observa-se a presença de uma interação do tipo convencional de hidrogênio, sendo forças intermoleculares mais fortes, o que contribuiu para a afinidade com a MAO-A ser maior que na MAO-B. As interações do ligante com a MAO-B podem ser visualizadas na figura abaixo.

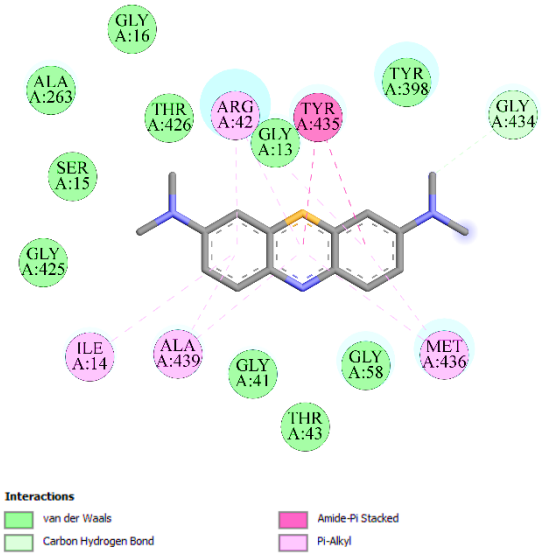


Figura 3. Interações do azul de metileno com a MAO-A. Na MAO-B, as interações são principalmente do tipo Van der Waals

Tabela 2. Regra de Lipinski aplicada ao ligante.

LogP	Massa Molecular (g/mol)	Doadores de Hidrogênio	Aceptores de Hidrogênio
1.86	284.40	0	1

Com relação a regra dos cinco da Pfizer, ou regra de Lipinski, o ligante não apresentou violações na regra, sendo então considerado um composto potencial para uso, principalmente por via oral.

Tabela 3. Análise farmacocinética do ligante.

Parâmetro	Resultado
Absorção gastrintestinal	Alta
Permeabilidade na barreira hematoencefálica	Sim
Substrato da glicoproteína-P	Sim
Inibidor CYP1A2	Não
Inibidor CYP2C19	Não
Inibidor CYP2C9	Não
Inibidor CYP2D6	Não
Inibidor CYP3A4	Não
Log *Kp* (permeabilidade cutânea)	-6.4

Em relação a sua farmacocinética, o azul de metileno apresenta bons parâmetros, principalmente de absorção intestinal e permeabilidade de barreira hematoencefálica. Também mostra-se como não sendo inibidor de enzimas da superfamília do CYP450. Um ponto desfavorável, é ser substrato para a glicoproteína P.

Tabela 4. Análise toxicológica do ligante.

Parâmetro	Resultado
Dose máxima tolerada em humanos	0.082 (log mg/kg/dia)
Inibição de receptores hERG I	Não
Inibição de receptores hERG II	Não
Dose letal 50 (LD50) em ratos	2.531 (mol/kg)
Toxicidade crônica oral em ratos (LOAEL)	0.659 (log mg/kg_bw/day)
Hepatotoxicidade	Não
Sensibilização da pele	Não

Toxicidade em *T. pyriformis*	1.089 (log ug/L)
Toxicidade em peixes	-0.248 (log mM)
Toxicidade AMES	Sim

Em relação a sua toxicidade, o azul de metileno mostra-se como um composto seguro, com baixa ou nenhuma toxicidade, a depender do parâmetro analisado.

Conclusões

Consoante aos estudos realizados, o azul de metileno mostra-se como um composto com notável capacidade de inibição das duas isoformas da MAO, sendo sua afinidade maior para a MAO-A. Destaca-se ainda que sua farmacocinética e toxicidade, nos estudos *in silico*, são favoráveis, indicando ser seguro. Maiores estudos *in vitro* e *in vivo* ainda são necessários para comprovação de seu potencial antidepressivo.

Referências e notas

(1) Pereira, V. S.; Hiroaki-Sato, V. A. *Acta neuropsychiatrica*. **2018**, 30, 6.
(2) Doron, R.; Versano, Z.; Burstein, O.; Franko, M.; Shamir, A.; Toledano, R.; Rehavi, M. *Journal of Molecular Neuroscience*. **2019**. 69, 3.
(3) Yin, S.; Shao, J.; Wang, X.; Yin, X.; Li, W.; Gao, Y.; Li, S. *Behaviroural Brain Research*. **2019**. 356, 1.
(4) Tao, X.; Huang, Y.; Wang, C.; Chen, F.; Yang, L.; Ling, L.; Chen, X. *International Journal of Food Science & Technology*. **2020**. 55, 1.
(5) Binda, C.; Newton-Vinson, P.; Hubálek, F.; Edmondson, D. E.; Mattevi, A. *Nature Structural Biology*. **2001**. 9, 1.
(6) de Colibus, L.; Li, M.; Binda, C.; Lustig, A.; Edmondson, D.E.; Mattevi, A. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **2005**. 102, 36.

Categoria: Trabalho Completo Graduação (C-S-G-01)

Modelagem molecular de novos compostos azólicos como inibidores da CYP51 de *Trypanosoma cruzi*

Bárbara Novo (IC)[1,2], Magaly Albuquerque (PQ)[1], Camilo Lima (PQ)*[1]. camilolima@iq.ufrj.br

1 – Departamento de Química Orgânica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ – Brasil
2 – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, RJ - Brasil
Palavras-Chave: *Doença de Chagas, Modelagem Molecular, Planejamento de Fármacos, CYP51, Docking Molecular.*

Introdução

A Doença de Chagas (DC) é uma doença parasitária que infecta milhões de pessoas, principalmente na América Latina onde é endêmica, com a morte de 10.000 indivíduos/ano pelo mundo. Ainda hoje é uma das principais doenças tropicais, sendo considerada negligenciada pela OMS.[1] O tratamento da DC utiliza fármacos pouco eficientes na redução da morbidade e mortalidade na fase crônica, indicando a urgência por novos fármacos disponíveis.[2] Contudo, a busca por novas moléculas é um processo de alto risco, com grande investimento financeiro e baixa taxa de sucesso. Assim, o desenho de fármacos assistido pelo computador (CADD) torna-se uma importante ferramenta para diminuir os custos e aumentar a chance de desenvolver um novo fármaco. A CYP51 é um atraente alvo para busca de novas entidades químicas, visto a quantidade de compostos avaliados experimentalmente. Neste trabalho, a técnica de docking molecular foi utilizada para compreender os modos de ligação e as interações estereoeletrônicas entre enzima-ligante, importante no planejamento de novos compostos com potencial para um melhor perfil farmacológico, reduzindo o tempo e o investimento despendido nessa busca.

Resultados e discussão

Após uma pesquisa bibliográfica, cinco compostos com o inverso do logaritmo na base 10 de EC_{50} (pEC_{50}), foram selecionados devido a diversidade química. A seguir, esses compostos foram usados para o estudo de docking seguindo protocolo descrito na literatura utilizando o programa GOLD.[2] Os ligantes 7VIB, 27k, 4CA e 6VIA são volumosos, diferenciando na porção terminal que fica longe do grupamento Heme.[3] Avaliando a interação por ligação de hidrogênio, observamos a importância dos resíduos Ala291 e Met460. Já o ligante 15GU interage longe do grupo Heme, mantendo a interação com Ala291. Interessante observar que Tyr116 é descrito como importante na literatura, sendo observada apenas para o ligante 4CA.[4] Devido à similaridade estrutural e a diversidade das interações por ligação de hidrogênio, estudos de dinâmica molecular serão realizados para avaliação da importância da influência da água e da movimentação da proteína na interação enzima-ligante.

Tabela I. Relação dos melhores inibidores e seus valores de pEC_{50} e dos resíduos que realizam interação com estes.

Inibidor	Resíduos	pEC_{50}
7VIB	Ala291, Met460	8,66
27k	Ala291	6,64
4CA	Tyr116, Ala291, Thr459	6,55
15GU	Glu205, Ala291, Gln293	5,71
6VIA	Ala291, Met460	5,55

Conclusões

Assim, a partir do estudo de docagem foi possível observar que os resíduos Ala291 e Met460 são importantes para a atividade biológica. Considerando que as estruturas 7VIB, 27k, 4CA e 6VIA são parecidas, outros estudos de modelagem como dinâmica molecular são necessários para observas as peculiaridades estruturais de cada composto que possam auxiliar na diferenciação de cada um.

Agradecimentos

FAPERJ, CNPq, CAPES e ao Laboratório de Modelagem Molecular (LabMMol).

Referências e notas

(1) WHO | What is Chagas disease? WHO. 2016. https://www.who.int/chagas/disease/en/.
(2) PEREIRA, P. M. L. et al. Parasitology International, v. 80, p. 102225, fev. 2021. Acesso em: 9 ago. 2022.
(3) CHOI, J. Y. et al. ACS Medicinal Chemistry Letters, v. 5, n. 4, p. 434–439, 22 jan. 2014. Acesso em: 9 ago. 2022.
(4) FRIGGERI, L. et al. Journal of Medicinal Chemistry, v. 57, n. 15, p. 6704–6717, 29 jul. 2014. Acesso em: 9 ago. 2022.

C-S-G-02

Imatinibe: análise das propriedades *in silico* e planejamento de análogos

Beatriz P. Sanches[1] (GD), Camila C. Valentim[1] (GD), Giulia M. Assi[1] (GD), Luiza C. Dacanal[1] (GD), Nicole I. C. Lima[1] (GD), Pedro Henrique R. de Brito[1] (GD), *Marcelle L. F. Bispo[2]* (PQ). mlfbispo@uel.br

1 – Curso de Farmácia, Universidade Estadual de Londrina, PR – Brasil.
2 – Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina, PR - Brasil.
Palavras-Chave: *Imatinibe, Leucemia Mieloide Crônica, Análogos, Docking molecular.*

Introdução

A Leucemia Mieloide Crônica (LMC) é uma neoplasia decorrente do gene de fusão quimérico BCR-ABL, responsável pela produção de uma oncoproteína com atividade não controlada de tirosina quinase.[1] O principal fármaco utilizado em seu tratamento é o Imatinibe (**Figura 1**). Seu alvo molecular é a tirosina quinase LCK, expressa em linfócitos T, caracterizada como essencial para o desenvolvimento e ativação dessas células. Apesar de sua relativa segurança e eficácia, ainda são relatados problemas relacionados a sua dosagem ótima e a resistência.[2] Assim, faz-se necessária a descoberta de novas alternativas terapêuticas para o tratamento da LMC. Nesse contexto, o propósito desse estudo é avaliar as propriedades farmacocinéticas e dinâmicas do Imatinibe usando ferramentas *in silico* e, a partir de então, propor análogos desse fármaco, visando otimizar tais propriedades, o que será verificado por meio de análises de *docking* molecular e por predições *in silico* de propriedades farmacocinéticas.

Resultados e discussão

Para análise das propriedades farmacodinâmicas do Imatinibe foi analisado o complexo 2PL0 no Protein Data Bank (PDB), no qual o fármaco está co-cristalizado no sítio ativo da tirosina quinase LCK. As propriedades físico-químicas relacionadas a *druglikeness* e ADMET foram preditas nas plataformas online SwissADME e ADMETlab. Então, o fármaco em questão foi analisado em termos farmacodinâmicos e farmacocinéticos, obtendo-se informações que indicaram a possibilidade de aprimoramento das propriedades relacionadas com a interação e/ou afinidade do fármaco com a LCK, uma vez que em termos farmacocinéticos, o fármaco apresenta caráter lipofílico adequado e relativa solubilidade em água. Com objetivo de aumentar a potência do fármaco, otimizações utilizando estratégias como adição de grupamentos polares (em vermelho e azul – **Análogos 1** e **2**) e restrições conformacionais (em rosa – **Análogos 3** e **4**) foram empregadas (**Figura 1**).

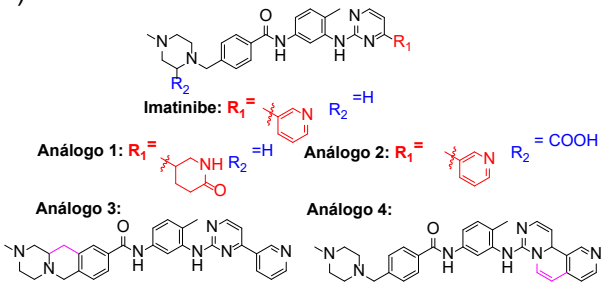


Figura 1. Imatinibe e análogos 1-4 propostos.

Para verificar se haveria uma melhora entre as interações dos análogos propostos com o alvo, foram realizadas simulações de *docking* molecular, utilizando o programa GOLD (v. 2020). O protocolo de *docking* foi previamente validado por *redocking*, obtendo-se um RMSD igual a 0.3164 Å (ASP). Infelizmente, os resultados de *docking* revelaram que nenhum dos análogos planejados apresentou valores de fitness maiores (27.8584-38.2864) que do Imatinibe (54.3467), assim, nenhum deles pode ser caracterizado como melhor que o fármaco com relação às propriedades farmacodinâmicas.

Conclusões

Concluiu-se que as alterações propostas nos análogos não alteraram significativamente as propriedades farmacocinéticas. Já os resultados de *docking* mostraram que os valores de *fitness* encontrados foram menores do que o maior valor apresentado pelo Imatinibe. Dessa forma, nenhum dos análogos apresentou aprimoramento em algum aspecto que pudesse melhorar a administração, ação e eficácia do Imatinibe.

Agradecimentos

As professoras Marcelle de L. F. Bispo e Anna Paola Butera pelos ensinamentos e oportunidade de desenvolver esse trabalho.

Referências e notas

(1) BOLLMANN, P.W. Einstein, 2011, 10, 236-243.
(2) FUNKE et al. Rev. Bras. Hematol. Hemoter, 2008, 30, 27-31.

C-S-G-03

Avaliação dos efeitos anti-inflamatório e analgésico da Resolvina D5 em modelo de dor e inflamação induzido por carragenina em camundongos

Vitória R. Araújo[1] (GD) (IT), Thaila K. E. Maximiano[1] (PG), Mariana M. Bertozzi[1] (PG), Telma Saraiva-Santos[1] (PG), Tiago H. Zaninelli[1] (PG), Maria R. F. De Paula[1] (TC), Waldiceu A. Verri[1] (PQ)*. waverri@uel.br

1 – Departamento de Ciências Patológicas, Universidade Estadual de Londrina, PR – Brasil.
Palavras-Chave: *Carragenina, Dor, Dor Inflamatória, Resolvina D5, Mediadores Lipídicos Pró-Resolução.*

Introdução

A inflamação é uma resposta imediata causada por um agente agressor ou injúria tecidual.[1] Os mediadores químicos formados no local de inflamação agem em receptores de neurônios sensoriais especializados, nociceptores, provendo sua sensibilização e ativação.[2] A Resolvina D5 (RvD5) é um mediador lipídico pró-resolução (MLPR) derivado do ácido docosahexaenoico, um metabólito do ômega-3.[3] Os MLPR são amplamente estudados devido a suas capacidades anti-inflamatória e analgésica, no entanto, no que se refere a RvD5, esses efeitos são pouco caracterizados.[2] Para avaliação dos mesmos, a carragenina, um polissacarídeo sulfatado presente em algas marinhas vermelhas, foi utilizada. Esse polissacarídeo é capaz de promover a produção de diversos mediadores pró-inflamatórios e espécies reativas de oxigênio, sendo, portanto, um modelo de dor e inflamação agudo perfeitamente adequado.[4] Um melhor entendimento das propriedades analgésica e anti-inflamatória da RvD5 pode torná-la um tratamento promissor para o tratamento de doenças de cunho inflamatório, tais como artrites.

Resultados e discussão

Camundongos Swiss machos foram tratados com RvD5 nas doses de 3, 10 e 30 ng ou veículo de etanol 3,2% em salina, via intraperitoneal, uma hora antes do estímulo com a carragenina em 300 µg/ 20 µL, via intra-plantar. Demonstramos que a RvD5 apresenta efeito analgésico e anti-inflamatório de maneira dose-dependente. A dose de 10 ng por animal foi a dose mais eficaz, sendo capaz de reduzir a hiperalgesia mecânica e térmica em todos os tempos avaliados **(Fig 1A, 1B e 1C)**. De modo semelhante, a RvD5 na dose de 10 ng foi capaz de reduzir edema e atividade da enzima mieloperoxidase (MPO) (**Fig 1D e 1E)**.

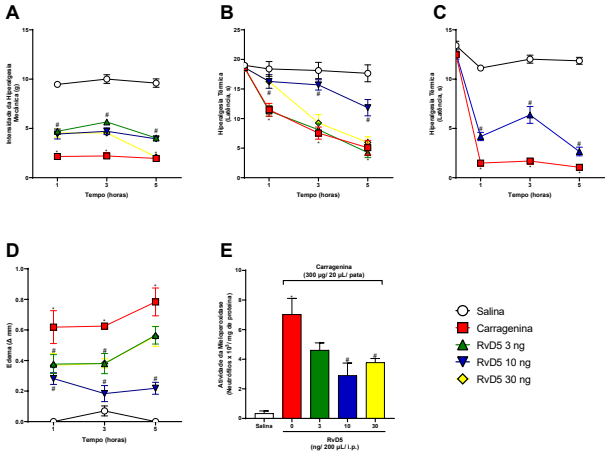


Figura 1. Hiperalgesia mecânica pelo método de von Frey (**A**), hiperalgesia térmica pelo método de placa quente (**B**) e hargreaves (**C**), edema (**D**) e atividade da MPO (**E**). Avaliações de **A**, **B**, **C** e **D** foram feitas 1, 3 e 5 horas após o estímulo com a carragenina. Tecido subplantar em **E** foi coletado 5 horas após o estímulo. Resultados são representados em limite de retirada da pata em gramas (**A**) e limite de retirada da pata em segundos (**B** e **C**), espessura da pata em mm (**D**) e atividade da MPO (**E**). Análise realizada pelo ANOVA Two-way e one-way seguida de teste post hoc de Tukey. $p<0,05$ foram considerados significativos.

Conclusões

Portanto, a RvD5 possui efeito analgésico e anti-inflamatório significativos, no entanto, mais análises são necessárias para confirmar sua eficácia e efetividade.

Agradecimentos

Agradeço a toda a minha equipe de trabalho.

Referências e notas

(1) Buckley, C. D.; Gilroy, D. W.; Serhan, C. N. *Immunity*. **2014**, 40, 315-327.
(2) Fattori, V. *Pharmacol Res.* **2020**, 151, 104549.
(3) Perry S. C. J. *Lipid Res.* **2020**, 61, 1087-1103.
(4) Verri, W. A. *Pharmacol Ther.* **2006**, 112, 116-38.

C-S-G-04

Síntese de uma tiazolidinona usando uma metodologia *one-pot* e sem solvente

Maria Eduarda Crescêncio da Silva[1,2] (AF), Marcelle L. F. Bispo[2*]. mlfbispo@uel.br

1 – Instituto Federal do Paraná – Londrina, PR- Brasil.
2 – Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina, PR - Brasil.
Palavras-Chave: *Líquido iônico, 1,3-tiazolin-4-onas, Síntese orgânica*.

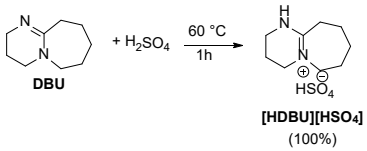
Introdução

As 1,3-tiazolin-4-onas são classificadas como compostos heterocíclicos de cinco membros, contendo um átomo de enxofre, um de nitrogênio e três de carbono, incluindo um grupo carbonila, que se encontra na posição 4 do anel. Essas substâncias apresentam diversas atividades biológicas relacionadas, tais como antimicrobiana, anticâncer, anticonvulsivante e antidiabética, dentre outras.[1] Portanto, nosso grupo de pesquisa tem investigado a síntese e aplicação biológica de derivados contendo esse núcleo heterocíclico, sobretudo frente ao *M. tuberculosis* e a *Leishmania amazonensis*.

Nesse sentido, o objetivo desse trabalho consiste em sintetizar uma tiazolidin-4-ona (**1**) através de uma metodologia *one-pot* e um líquido iônico como solvente e catalisador.[2]

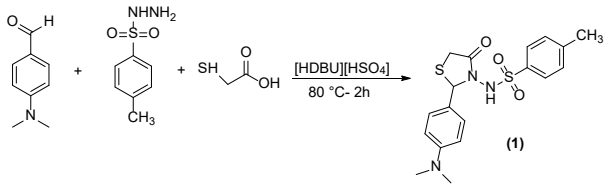
Resultados e discussão

Primeiramente, obteve-se o líquido iônico que é formado por um cátion e um ânion. Nesse caso, o cátion é o 1,8-Diazabiciclo [5.4.0] undec-7-eno (DBU) protonado pelo ácido sulfúrico, logo o ânion é o hidrogenossulfato (HSO_4^-). A reação foi mantida sob agitação magnética a 60° C por 1h e, posteriormente, o bruto reacional foi evaporado a pressão reduzida, obtendo-se um óleo viscoso em rendimento quantitativo (Esquema 1).



Esquema 1. Obtenção do líquido iônico [HDBU][HSO_4].

Em seguida, o [HDBU][HSO_4] foi utilizado como solvente na reação de obtenção da tiazolidinona desejada (1), conforme representado no esquema 2.



Esquema 2. Obtenção da tiazolidinona.

A reação teve início com o [HDBU][HSO_4] (20 mol%) sendo adicionado no centro do balão, o que traz um pouco de dificuldade por conta de sua viscosidade. Logo após, foi adicionado $HSCH_2COOH$ (1,0 eq), a hidrazina (1,0 eq) e o aldeído (1,0 eq), e o meio reacional foi mantido a 80 °C sob agitação por 2h. Após consumo da hidrazina ser confirmado por CCD, adicionou-se H_2O com gelo ao balão, extraiu-se com acetato de etila (3 x 10 mL). Após evaporação das fases orgânicas, obteve-se um sólido alaranjado, que foi então recristalizado com etanol e água. O rendimento final foi de 6%. Esse baixo rendimento pode ser atribuído a dificuldade de manipulação e agitação magnética do meio reacional devido a alta viscosidade do líquido iônico. Para tentar contornar esse problema foi adicionado mais 1,0 equivalente de ácido tioglicólico, mas ainda sim a agitação não foi uniforme. Ainda sim, o produto obtido foi um sólido branco, sendo caracterizado por RMN de ^1H. O espectro mostrou a presença dos sinais característicos do núcleo tiazolidinônico como dupletos (J = 16,2 Hz) em 3,46 e 3,60 ppm.

Conclusões

Apesar do baixo rendimento, a tiazolidinona **(1)** foi devidamente sintetizada por meio e caracterizada com pureza adequada para ser avaliada em ensaios biológicos.

Agradecimentos

Ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica Júnior concedida.

Referências e notas

(1) Mech, D., Kurowska, A., Trotsko, N. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, 22, 11533.
(2) Malla, A. M. et al. *RSC Advances*, **2015**, 25, 19552.

C-S-PG-01

Desferrioxamine and its caffeine derivative disturb membranes package: FTIR and DSC studies.

Jesus Antonio Alvarado-Huayhuaz[1] (PG), Lucas Thadeu Felipe Kokuszi[2] (GD), Desirée Magalhães dos Santos Costa[2] (PQ), Adriano Wehrli[3] (PQ), Karina Machado[3] (PQ), Vânia Rodrigues de Lima[2]* (PQ). vrlima23@hotmail.com

1 – LIBIPMET, Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Ingeniería, Lima, Perú.
2 – GIIMM, Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, RS, Brasil.
3 – COMBI-Lab, Centro de Ciências Computacionais, Universidade Federal do Rio Grande, RS, Brasil.
Keywords: *Desferrioxamine, Desferrioxamine-Caffeine, Soybean Asolectin, Liposomes, FTIR, DSC.*

Introduction

Soybean asolectin (ASO) liposomes provide important physico-chemical parameters to be used for drugs and drug-delivery systems design and development[1,2]. Desferrioxamine (DFO) is an iron chelator used in iron overload diseases, such as thalassemia, while its caffeine derivative (DFCAF) has shown efficient activity against cancer stem cells and improved the permeability of a Hela cell model[3,4]. DFO and DFCAF metallic complexes showed a Trojan horse effect in some microrganisms[5]. However, DFCAF molecular mechanism of action is still unknown. In this work, it was evaluated the effects DFO and DFCAF in ASO physico-chemical parameters.

Results and discussion

The effects of DFO and DFCAF in ASO liposomes hydration degree, *trans-gauche* isomerization, and molecular mobility were monitored by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). In parallel, their influence on the lipid thermodynamic parameters such as phase transition temperature (T_m) and enthalpy variation (ΔH) was studied by differential scanning calorimetry (DSC). No shifts in the wavenumber of the lipids FTIR peaks (Figure 1) were observed after interaction with DFO and DFCAF. However, FTIR bandwidths results suggested that DFO perturbed dipolar interactions between the ASO´s choline group and the neighboring phosphate one. Furthermore, DFO increased the mobility of ASO´s phosphate. DFCAF did not interact with the lipid polar region. Both DFO and DFCAF affected lipid interfacial region, but in opposite ways. DFO increased the mobility of the ASO´s carbonyl group and DFCAF promoted a stronger effect on it, ordering this region. Opposite changes were also observed in the hydrophobic regions of the ASO, induced by DFO and DFCAF. DFO ordered the ASO´s methylene groups and DFCAF increase their motion rate. DSC data indicates that rotational *trans-gauche* isomerization played a significant role in the ASO methylene disorder induced by DFCAF. The DFO-promoted ordering effect of DFO was reflected by the increase of lipid enthalpy variation by 2.5 times compared to the ASO control value.

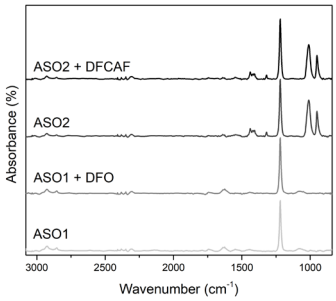


Figure 1. HATR-FTIR spectra of ASO (control prepared without DMSO), ASO prepared in DMSO (ASO2, control), ASO in the presence of DFO (ASO+DFO) and in the presence of DFCAF (previously solubilized in DMSO, ASO2+DFCAF).

Conclusions

DFO interacts to ASO polar regions and DFCAF is preferentially located in ASO´s interface. DFO disordered ASO interfacial region, while DFCAF ordered it. Opposite effects were observed for ASO hydrophobic regions, where DFO ordered them and DFCAF induced higher mobility than control. This may reflect in release drug parameters, as well as protection extent against oxidation by reactive species.

Acknowledgments

Convenio 237-2015-FONDECYT / CNPQ.

References

(1) dos Santos, D. M. *et al. J Mol Struct.* **2020**, 1220, 128749.
(2) dos Santos, M. C. *et al. Bioorg Chem.* **2021**, 110, 104786.
(3) Li, B. *et al. J Trace Elem Med Biol.* **2019**, 52, 232-8.
(4) Alta, E. P. *Biometals.* **2014**, 27, 1351-60.
(5) Huayhuaz, J. A. *J Trace Elem Med Biol.* **2017**, 41, 16-22.

C-S-PG-02

Síntese de Análogos de Uniflorol com vistas à Atividade Biológica

Luana B. Niero[1] (PG), Marília S. Borges[1] (PG), Paulo E. Feuser[2](PQ), Patrícia A. Amaral[1] (PQ)*. amaral@unesc.net

1 – Laboratório de Plantas Medicinais (LaPlaM), Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientas, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Santa Catarina – Brasil.
2 – Laboratório de Fisiopatologia Experimental, Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Santa Catarina – Brasil.
Palavras-Chave: *Calea uniflora, Cromanonas, Atividade biológica, Citotoxicidade, Leishmaniose.*

Introdução

As Leishmanioses são um grupo de doenças negligenciadas causadas por diversas espécies de parasitas do gênero *Leishmania*. Estas doenças estão relacionadas principalmente a situações de vunerabilidade.[1] Atualmente, o tratamento farmacológico disponível para as Leishmanioses é limitado e possui diversos problemas.[2] Uma das maiores inspirações para a síntese de novos fármacos são as fontes naturais, que produzem uma diversidade química que possuem a capacidade de interagir com nossos sistemas biológicos. Dentre as plantas nativas brasileiras que já apresentaram metabólitos ativos (cromanonas) contra *Leishmania*, está a *Calea uniflora* Less..[3] Considerando a necessidade de novos tratamentos específicos e o potencial das cromanonas de *C. uniflora*, o objetivo desta pesquisa foi sintetizar e avaliar a citotoxicidade de análogos de cromanonas do tipo *Calea*. Para alcançar os objetivos propostos, desenhou-se uma rota sintética composta cinco etapas e para avaliar a citotoxicidade, utilizou-se células NIH3T3 e HeLa.

Resultados e discussão

A etapa I, trata-se de uma reação de acetilação. Nas condições testadas, obteve-se um rendimento de 99% para a molécula (2). A etapa II, trata-se do Rearranjo de Fries. O melhor rendimentos nessas condições para o produto (3) foi de 77%. Na etapa de ciclização de Kabbe (III), obteve-se rendimento de 67% para (4). Na etapa de redução (IV) obteve-se um rendimento de 38% para (5). A última etapa da rota sintética, trata-se da esterificação de Steglich, e foi responsável por introduzir diversidade química. Com a utilização do ácido 4-fenilbut-3-nóico, obteve-se a molécula 6 com rendimento de 45%. Com o ácido trans-2,3-dimetil acrílico, obteve-se o produto 7 com rendimento de 51%. A rota sintética proposta para a síntese dos análogos de Uniflorol, a partir da molécula 4-hidroxiacetofenona (1), está representada na figura 1.

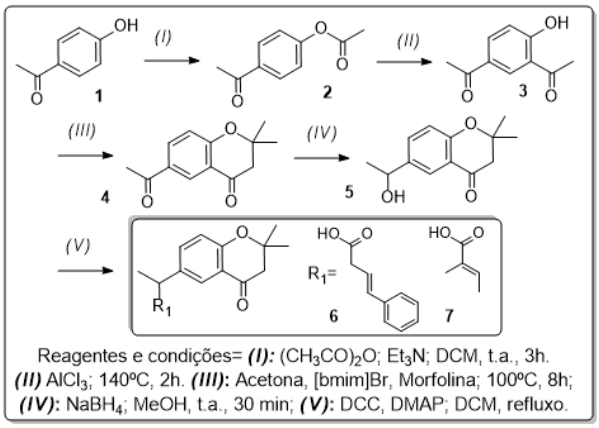


Figura 1. Rota sintética proposta.

Em relação à análise de citotoxicidade, a molécula **6** mostrou ser citotóxica para fibroblastos (NIH3T3) em concentrações ≥137,2 μM ($p<0,05$). Já a molécula **7** apresentou citotoxicidade ($p<0,05$) em concentrações ≥33,07 μM, mostrado ter potencial toxicidade para fibroblastos. Em HeLa, o composto **6** apresentou citotoxicidade em concentrações ≥82,3 μM ($p<0,05$) e o composto **7** apresentou citotoxidade em concentrações ≥66,14 μM ($p<0,05$).

Conclusões

A rota sintética proposta para a síntese dos análogos de Uniflorol foi eficiente e com bons rendimentos. Também proporcionou o desenvolvimento de uma molécula promissora, que apresentou menor toxicidade em células saudáveis (NIH3T3), mostrando-se um potencial candidato como molécula antileishmania.

Agradecimentos

PIBIC/UNESC, LaPlaM e Fisiopat (UNESC).

Referências e notas

(1) WHO. World Health Organization. Health topics: Leishmaniasis. Geneva: WHO, **2021**.
(2) BRASIL. Ministério da Saúde. Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar. Brasília: Ministério da Saúde, **2017**. 189 p.
(3) Nascimento *et al. Z Naturforsch C J Biosci*, **2007**, 62(5-6):353-6.

(P-G-01)

Avaliação por *docking molecular* de alcaloides β-carbolínicos como potenciais inibidores da acetilcolinesterase

Luiz Fernando Barbosa da Silva (GD)[1], Buana Carvalho de Almeida (PQ)[1]*. buana@ifpi.edu.br

1 – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – campus Parnaíba. PI – Brasil.

Palavras-Chave: *Acetilcolinesterase, Alcaloides, Docking molecular.*

Introdução

A Doença de Alzheimer (DA) é uma doença neurodegenerativa que acomete principalmente os idosos. Os sintomas mais comuns são: perda de memória, distúrbios na fala e disfunção cognitiva que, com o passar do tempo, se tornam cada vez mais graves.[1] A hipótese colinérgica, atrelada a enzima acetilcolinesterase (AChE), se baseia no comprometimento dos neurônios colinérgicos e na diminuição drástica da síntese do neurotransmissor acetilcolina (ACh), comprometendo a função colinérgica, levando a disfunção cognitiva.[2,3] Assim, uma estratégia terapêutica adotada para esta hipótese, é o uso de fármacos que atuem na inibição da AChE, para que seja possível o aumento de ACh na fenda sináptica.[4] Entre os produtos naturais, os alcaloides são considerados compostos promissores para o tratamento da DA. Já os alcaloides β-carbolínicos possuem ação anticolinesterásica.[5] Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivo realizar um estudo de *docking molecular* de alcaloides β-carbolínicos como potenciais inibidores da acetilcolinesterase.

Metodologia

A estrutura cristalográfica da enzima acetilcolinesterase será obtida pelo banco de dados Protein Data Bank (PDB: 4EY7, R = 2,35Å). As estruturas dos alcaloides β-carbolínicos serão retirados a partir do estudo feito por Santos (2016) e passarão por uma otimização de geometria pelo método MMFF94 no programa *Avogrado* v1.2.0. O estudo de *docking* será feito no programa GOLD v2022.1. A enzima será preparada adicionando os átomos de hidrogênio. As coordenadas do sítio ativo serão adquiridas de acordo com a posição do ligante co-cristalizado (E20), com o raio de 10Å. Serão geradas 100 poses para os ligantes, com a função *score* GoldScore e para *rescore* será empregada a função ASP. A validação do protocolo será feita por *redocking,* com RMSD ≤ 2Å. As interações das poses geradas serão analisadas com o Discovery Studio Visualizer. A figura 1 mostra, de forma simplificada, como será o protocolo de *docking molecular*.

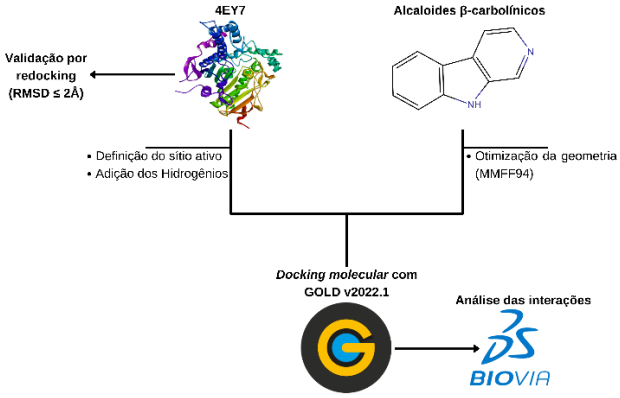


Figura 1. Fluxograma demostrado o protocolo de *docking molecular*.

Resultados esperados

Com a realização desse trabalho, espera-se contribuir para a descoberta de novas moléculas, através de estudos de *docking molecular*, que possam atuar na inibição da enzima acetilcolinesterase. Assim, a partir dessas análises, espera-se compreender os possíveis modos de interação dessas moléculas com o sítio ativo do alvo, classificando as melhores poses de acordo com sua pontuação *score*, assim, utilizar esses dados para analises futuras.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Instituto Federal do Piauí – *campus* Parnaíba.

Referências e notas

(1) Souza, S.P. et al. *Revista Fitos*, **2013**, 07, 04.
(2) Sharma, K.N. et al. *Epilepsy & Behav*, **2020**, 103, 106.
(3) Ferreira-Vieira, T. H. et al. *Curr. Neuropharmacol*, **2016**, 14, 101–115.
(4) Dias, C. Rauter, A. *RSC Drug Discoery Series*. **2015**.
(5) Konrath, E. L. et al. *J. of Pharmacy and Pharmacology*, **2013**, 65,12.
(6) Santos, S.P.D. Dissertção (Mestrado em Química Orgânica) - *Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal*, **2016**.

P-G-02

Avaliação do potencial medicinal da planta *Syzygium cumin* contra a doença de diabetes mellitus

Danielle S. S. Viana[1] (GD), Lohanny C. L. Silva[1] (GD), Leonardo V. S. Oliveira[1] (DG), Layanne C. Silva [1], Ana M. A. Uchôa Thomaz* (PQ). capar.20171sqp0147@aluno.ifpi.edu.br

1 – Departamento de Química, Instituto Federal do Piauí, PI - Brasil.
Palavras-Chave: *Prospecção, Diabetes Mellitus, Metabólitos Secundários.*

Introdução

Muitas medidas terapêuticas têm sido utilizadas no tratamento do Diabetes mellitus (DM) antes da descoberta da insulina e centenas de plantas mostraram atividade antidiabética. No entanto, existem diferentes tipos de agentes hipoglicemiantes orais disponíveis junto com a insulina para tratar o diabetes.

Derivados com propriedades hipoglicêmicas foram usados na medicina popular em todo o mundo desde os tempos antigos. O tratamento do Diabetes mellitus com agentes de origem natural tem a vantagem de não causar efeitos colaterais porque têm sido usados há séculos.

A prevalência global de diabetes mellitus em 2010 era de 6,4%, afetando 285 milhões de adultos com idade entre 20 e 79 anos e este número deverá aumentar para uma prevalência de 7,7% com 439 milhões de adultos diabéticos até o ano de 2030. O Brasil é caracterizado pela biodiversidade rica flora, o que atrai o interesse dos meios científicos internacionais no estudo, proteção e uso racional desses recursos.[1] Existem várias plantas tropicais que fornecem a matéria-prima para a produção de analgésicos, sedativos, diuréticos, laxantes, hipoglicemiantes, antibióticos e semelhantes.

Metodologia

Para a realização deste trabalho será realizada uma pesquisa de caráter descritivo e exploratório. A pesquisa descritiva permite o pesquisador anotar e relatar acontecimentos verificados sem alterá-los. Sendo assim, este tipo de pesquisa empenha-se em investigar fenômenos.

A abordagem exploratória busca compreender os mais diferentes estudos na sua essência como que diz respeito a sua fundamentação, definição e âmbito na que faz parte, ou seja, demonstra a realidade dos fatos. Deste modo, esta proporciona ao pesquisador uma maior compreensão e percepção da área estudada. As informações do levantamento bibliográfico serão adquiridas por meio do banco de dados da *Web of Science* e *Science Direct*.

Resultados esperados

Tanto óleos essenciais como componentes não voláteis (extratos), extraídos de plantas têm sido estudados quanto à avaliação do seu potencial antioxidante, demonstrando alta eficiência. O uso das plantas medicinais como agentes terapêuticos remonta os primórdios da espécie humana, cujo conhecimento foi passado de geração em geração no decorrer da história.[2]

As plantas possuem moléculas chamadas metabólitos secundários, consideradas não essenciais para a sua sobrevivência, mas que são importantes para sua plena adaptação ao habitat, podendo atribuir proteção contra patógenos. Os metabólitos secundários esperados nesse estudo podem ser divididos em três grandes grupos que variam com relação às suas rotas biossintéticas: Terpenóides, alcalóides e polifenóis.

Considerações Finais

Diante do exposto, espera-se analisar os princípios ativos no conjunto de fatores que favoreçam o tratamento da doença Diabetes mellitus.

Referências e notas

(1) Baliga, M. S. *et al. The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, v. 19, n. 3, **2013**.
(2) Almeida A. A. *et al. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, v. 43, n. 3, . 199-204, **1999**.

P-PG-01

Triagem de Potenciais Inibidores da Timidina Quinase do Vírus da Herpes Simples

Karoline Leite[1] (PG)*, Alexandre Orsato[1] (PQ), Marcelle L. F. Bispo[1] (PQ), Lígia C. F. Galhardi[1] (PQ). karoline.leite@uel.br

1 - Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina, PR - Brasil.
Palavras-Chave: *Herpes, Triagem Virtual, Inibidores, Timidina Quinase*.

Introdução

A herpes faz parte das doenças virais que mais afetam os seres humanos. Por não existir medicamento antiviral que possa curar permanentemente a doença, apresenta alta prevalência em todo o mundo.[1] Os vírus herpes simples (HSV) causam infecções orais e genitais, que podem evoluir para infecções severas. O medicamento mais utilizado para o tratamento é o aciclovir, porém o uso constante deste tem aumentado significativamente o surgimento de cepas de vírus resistentes.[2]

Considerando a crescente resistência do HSV, torna-se necessário o estudo de novas estratégias de inibição viral para a descoberta de fármacos antivirais inovadores. Nesse contexto, a timidina quinase (TK) que tem papel fundamental na síntese do DNA viral, é um alvo importante, assim sua inibição poderia melhorar o prognóstico de pacientes.[3] O Laboratório de Síntese de Moléculas Medicinais (LaSMMed-UEL), tem trabalhado nos últimos anos na construção de uma vasta quimioteca, com diferentes classes químicas que apresentam uma ampla versatilidade biológica. Portanto, nesse projeto pretende-se identificar dentre as substâncias da nossa quimioteca possíveis inibidores da TK do HSV.[4,5]

Metodologia

Inicialmente, será realizada uma triagem virtual baseada em *docking* molecular da quimioteca do LaSMMed, utilizando o programa GOLD (2020.3.0). O complexo ligante-TK será obtido pelo Banco de Dados de Proteínas (PDB) e o protocolo de *docking* será validado por *redocking*. A análise das interações intermoleculares será feita pelo programa Discovery Studio Visualizer (v21.1.0.20298). Os candidatos que resultarem no melhor desempenho nas simulações computacionais serão selecionados para a etapa posterior de avaliação de atividade antiviral contra a infecção do HSV *in vitro*. O candidato com a maior potência contra o HSV nestes testes servirá como referência para o desenho de novos candidatos, que serão sintetizados e submetidos à avaliação anti-herpética *in vitro*. Por fim, será realizado um estudo de relação estrutura-atividade anti-herpética.

Resultados esperados

Com este trabalho, espera-se descobrir substâncias que sejam capazes de inibir a TK do HSV e, consequentemente, inibir a infecção por este vírus *in vitro*. Consequentemente, a quimioteca do LaSMMed será expandida com novas substâncias inibidoras do HSV. Esses resultados poderão ser utilizados como referência para futuros trabalhos no grupo de pesquisa e para a comunidade em geral.

Considerações finais

Assim, pretende-se descobrir uma substância-líder promissora que proporcione a diminuição no número de infecções decorrentes do vírus da herpes.

Agradecimentos

À UEL, ao Programa de Pós-Graduação em Química-UEL, ao Laboratório de Síntese de Moléculas Medicinais (LaSMMed), à CAPES e ao CNPq.

Referências e notas

(1) Looker Kj, Magaret As, May Mt, Turner Kme, Vickerman P, Gottlieb Sl, *et al. Plos One*, **2015**, 10, 1–17.
(2) Santos, N. S. O.; Romanos, M. T. V.; Wigg, M. D. **Introdução À Virologia Humana**. 2a Edição Ed. Rio De Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.
(3) Topalis D, Gillemot S, Snoeck R, Andrei G. *Drug Resistance Updates*, **2018**, 37, 1–16.
(4) Penello Am, Campos Bc, Simão Ms, Gonçalves Ma, Souza Pmt, Salles Rs, *et al. Jornal Brasileiro De Doenças Sexualmente Transmissíveis*, **2010**, 22, 64–72.
(5) Mucsi, I.; Molnár, J.; Motohashi, N. *International Journal Of Antimicrobial Agents*, **2001**,18, 67–72.

P-PG-02

Estudo *in silico* da Enzima L,D-Carboxypeptidase Csd6 da *Helicobacter Pylori*

Heracles P. Wanzeler (PG)[1*], José Rogério A. Silva (PQ)[1]. hpwanzeler@gmail.com

1 – Laboratório de Planejamento de Fármacos, Universidade Federal do Pará, PA - Brasil.
Palavras-Chave: *Helicobacter Pylori, Csd6, Ancoragem Molecular, Dinâmica Molecular, Mecanismo de Reação.*

Introdução

Helicobacter Pilory (*H. Pilory* ou *HP*) é uma bactéria microaeróbica, gram-negativa, de morfologia espiralada, superfície lisa, polos arredondados e detentora de flagelos unipolares. Esta pode viver no estômago humano, pois possui capacidade adaptativa para viver em meio ao suco gástrico[1]. A *HP*, correlacionada no meio clínico a doenças gastrointestinais (dispepsia funcional, úlceras duodenais, câncer gástrico), é um grande problema a nível mundial. De fato, estimou-se a prevalência global da infecção por *H. Pylori* para 2015, obtendo-se um total de 4,4 bilhões de pessoas infectadas mundialmente - representando mais da metade da população mundial prevista para aquele ano. E o principal fator na prevalência da infecção, ainda em estudo, é o socioeconômico na infância, e o modo de transmissão, especulado, a via oral-oral, gastro-oral ou oral-fecal[2,3]. Uma das proteínas importantes na determinação da forma helicoidal e, provavelmente, no controle de glicosilação do flagelo é a biomacromolécula Csd6, a inibição desta proteína, possivelmente, inibirá uma ou mais características básicas para a colonização, assim reduzindo ou eliminando a virulência da bactéria[4]. Deste modo, o objetivo será aplicar técnicas de simulação computacional via Ancoragem molecular e Dinâmica Molecular (DM) em compostos com similaridade ao meso-diaminopimelato (mDAP), este desempenha papel importante na síntese do peptidoglicano, para identificação de potenciais inibidores da Csd6, além da busca na compreensão do mecanismo catalítico da enzima Csd6 da HP.

Metodologia

Os compostos selecionados, obtidos pelo ChemSpider (http://www.chemspider.com/), serão filtrados segundo os critérios: equação de Tanimoto[5] (similaridade com mDAP em 80%), regra dos 5 de Lipinski[6], seguida pela regra Veber[7], sobreposição molecular[8] (similaridade com mDAP em 80%), análise ADMET pelo ADMETlab (https://admetmesh.scbdd.com/) e geração de confôrmeros de menor energia pelo Avogadro 1.1.0[9]. A ancoragem molecular será realizada pelo *AutoDock* 4.2[10] na estrutura cristalográfica Csd6 da *H. Pylori* depositada no *Protein Data Bank* (https://www.rcsb.org/) sob código 4Y4V. Para fins de validação, a auto-ancoragem do produto reacional D-alanina (provável, fragmento da mDAP) será realizada e avaliada em termo de interações junto a tríade catalítica (His-160, Gly-161 e Cys-176) e outros aminoácidos-chave, de acordo com Kim et. al. (2015)[4]. Em seguida, os compostos melhores pontuados serão submetidos aos ensaios via DM no programa Gromacs[11]. Por fim, o mecanismo reacional da Csd6 será realizado aplicando-se o método de Mecânica Quântica/Mecânica Molecular (MQ/MM) no programa AMBER20[12].

Resultados esperados

Espera-se que sejam identificados novos pontos de partida para potenciais inibidores contra a bactéria HP, pois a preocupação com a multirresistência bacteriana a 1ª linha de tratamento tornou-se emergente.

Agradecimentos

A Universidade Federal do Pará, CAPES e CNPQ.

Referências e notas

(1) KETLEY, J. M.; van VLIET, A. H. M., University of Texas Medical Branch at Galveston, **1996**.
(2) KATELARIS, P. et al. Diretrizes mundiais da Organização Mundial de Gastroenterologia, **2021**.
(3) HOOI, J. K. Y; et al. Gastroenterology, **2017**, 153, 2, 420.
(4) KIM, H. S.; et al. J. Biol. Chem., **2015**, 290, 41, 25103.
(5) TANIMOTO, T.T. International Business Machines Corp., **1958**.
(6) LIPINSKI, C. A.; et al. Adv. Drug Deliv. Rev., **1997**, 23, 3.
(7) VEBER, D. F. et al. J. Med. Chem., **2002**, 45, 12, 2615.
(8) BIOVIA, Dassault Systèmes, Discovery Studio Modeling Enviroment, v21.1, San Diego: Dassault Systèmes, **2021**.
(9) HANWELL, M. D. et al. J. Cheminform., **2012**, 4, 17.1,
(10) MORRIS, G. M. et al. J. Comp. Chem., **1998**, 19, 14, 1639,
(11) Van Der SPOEL, D. et al. J. Comp. Chem., **2005**, 26, 16, 1701.
(12) SEABRA, G. D. M. et al. J. Phys. Chem. A, **2007**, 111, 5655.

P-PG-03

Planejamento e triagem virtual de inibidores da enzima arginase de *Leishmania amazonensis* a partir da quimioteca do LaSMMed

Mariana Luiza Silva (PG)[1], Kaio Maciel Santiago-Silva(PG)[1], Marcelle L. F. Bispo (PQ)[1]*. mlfbispo@uel.br

1 – Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina, PR – Brasil.

Palavras-Chave: *Arginase, Leishmanioses, Docking.*

Introdução

As leishmanioses são doenças tropicais negligenciadas causadas por um parasito do gênero *Leishmania*, que são transmitidos por fêmeas de insetos flebotomíneos infectados. As formas cutâneas e visceral da doença acometem milhões de pessoas em todo o mundo, sobretudo em regiões menos desenvolvidas economicamente.[1]

Um dos grandes problemas enfrentados no combate à leishmaniose é a escassez de medicamentos, bem como a dificuldade de administração, as suas toxicidades elevadas e seus efeitos adversos graves. Devido esses problemas, faz-se necessária a descoberta de novas substâncias bioativas com potencial antileishmania.[2]

Nesse contexto, a enzima arginase é considerada um alvo molecular promissor. Essa metaloenzima dependente de manganês catalisa a reação de hidrólise do aminoácido L-arginina em L-ornitina e ureia, exercendo um papel fundamental para o mecanismo defesa redox de diversos parasitos, sendo também importante para o seu crescimento e infectividade.[3] Assim, pretende-se nesse projeto planejar novas substâncias a fim de realizar a docagem dessas em um modelo de arginase de *Leishmaniosis amazonensis* (LaARG) construído por homologia.

Metodologia

Em projetos anteriores, foram identificados na quimioteca do LaSMMed possíveis inibidores de arginase de *L. amazonensis*, através de uma triagem virtual baseada em docking molecular. Tais substâncias contém indóis ou tiazolidinonas em suas estruturas. Assim, por meio de estratégias clássicas de planejamento estrutural, como hibridização molecular e bioisosterismo, foram propostos 104 novos possíveis inibidores, destes 66 ineditos na literatura. Então, essas moléculas serão submetidas a uma nova triagem via *docking* molecular em LaARG. As estruturas dos ligantes serão desenhados e terão suas energias minimizadas (campo de força MM2) através de software como Chem3D (v. 2020). O Marvin Sketch (v. 21.20) será usado para prever tautômeros e estados de protonação (pH = 7,4). O preparo do alvo molecular será feito no Discovery Studo Visualizer (v. 2021), retirando as águas e identificando as coordenadas do bolsão catalítico como o centro dos íons Mn^{+2}. A docagem molecular será realizada no programa GOLD (v. 2020), sendo o protocolo devidamente validado pela metodologia de escala, que contempla as quatro funções de pontuação do programa e as relacionam.[4] Por fim, os cinco primeiros ligantes ranqueados terão suas interações com a LaARG analisadas no Discovery Studo Visualizer.

Resultados esperados

Espera-se que a partir dos estudos de *docking* molecular seja possível a identificação de novos possíveis inibidores da enzima arginase de *L. amazonensis* passíveis de serem submetidos a ensaios de triagem mais avançados, incluindo a comprovação de suas atividades *in vitro* e *in vivo*, no contexto do desenvolvimento de novos fármacos.

Considerações finais

A arginase é um alvo interessante para a descoberta de novos fármacos para o controle das Leishmanioses. Entretanto, a identificação de possíveis inibidores por meio de triagem virtual deverá ser posteriormente validada por meio de ensaios fenotípicos e/ou enzimáticos *in vitro*.

Agradecimentos

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

Referências e notas

(1) ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. OPAS. Informe de Leishmanioses. **2019**, Nº 7.
(2) Singh, S.; Sivakumar, R. *J. Inf Chemother*, **2004**, 10, 307-315.
(3) Balaña-Fouce, R. et al. *Mol Biochem Parasitol*, **2012**, 181(2), 85-93.
(4) Wiggers, H. J. et al. *Mol Inform*. **2011**, 30, 565–578.

R-E-G-01

Biodiversidade e etnobotânica: o potencial vegetal brasileiro na descoberta de novos fármacos.

João Victor de Sousa Coutinho (GD)[1], Natan Lopes Chanca (GD)[1], Maicon Marvila Miranda (PG)[1]*.

1 – Departamento de Química e Bromatologia, Centro Universitário São Camilo, ES - Brasil.

Palavras-Chave: *Etnobotânica, Compostos bioativos, Biodiversidade, Fármacos.*

Introdução

A química farmacêutica e medicinal consiste numa área de estudos multidisciplinar, que atua na descoberta e no desenvolvimento de novos candidatos a fármacos. O desenvolvimento de moléculas, geralmente, se dá através do planejamento racional, modelagem molecular e síntese, o que gera a transformação de substâncias já conhecidas, dando origem a novas estruturas orgânicas.[1]

Todavia, quando trata-se da descoberta de compostos químicos com propriedades terapêuticas, é de grande valia recorrer ao estudo de compostos oriundos de vegetais, animais, microrganismos e matrizes minerais. Desses, um dos principais objetos de pesquisa visando a evidenciação de novos fármacos são os organismos vegetais.[2 3]

Como característica evolutiva, objetivando a conservação da espécie, diversas plantas desenvolveram a capacidade de biossintetizar moléculas. Essas compõe o seu metabolismo secundário, e apresentam diversas propriedades com potencial terapêutico.[4]

Tendo em vista a tamanha biodiversidade nacional, é notório o potencial brasileiro na descoberta de novos fármacos. Outrossim, salienta-se, que o patrimônio de conhecimento biossocial relacionado a ação terapêutica de espécies vegetais é enorme, e compõe a cultura de diversos povos em todo o país. [2 3]

O estudo da etnobotânica, e a consolidação do conhecimento popular, é de suma importância nesse processo, tornando viável a descoberta do potencial terapêutico em metabólitos secundários vegetais. [5 6]

Objetivos

O objetivo deste trabalho é discorrer sobre a relação entre a biodiversidade brasileira e o conhecimento etnobotânico, sendo esses fatores primordiais na descoberta de novos fármacos.

Metodologia

A presente obra configura um trabalho descritivo, de natureza qualitativa. Para a sua consolidação, utilizou-se obras completas publicadas em bases de dados de alta relevância, como o SciELO e PubMed, mediante aos descritores "Farmacobotânica"; "Biodiversidade Brasileira"; "Química Medicinal".

No total encontrou-se 48 artigos, desses, 11 possuíam maior relevância para a elaboração do estudo. Como critério de inclusão admitiu-se trabalhos completos, revisado por pares, derivadas de estudos nacionais. Todavia, foram excluídos obras anteriores ao ano de 2000, com idiomas diferentes do português.

Resultados e discussão

O Brasil é detentor de seis grandes biomas: Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pantanal e Pampas. O termo bioma é conceituado como um conjunto de vida (vegetais, microrganismos e animais) constituído pelo agrupamento de tipos de vegetação contíguos e identificáveis em escala regional, com condições geoclimáticas similares e história compartilhada de mudanças, o que resulta em uma diversidade biológica própria. [7]

As pesquisas dos distintos biomas brasileiros são realizadas em parceria com outras instituições de pesquisa e ensino, como as universidades, e têm como objetivo conhecer e caracterizar a metabolômica e a genômica dessas plantas, de forma a comprovar o seu potencial para o uso medicinal. [7 8]

Esses biomas são utilizados há milênios por diversos povos, a exemplo dos indígenas, hoje localizados em regiões como a amazônia, e Aracruz, município do Espírito Santo, tendo esses contato direto com a floresta amazônica e mata atlântica, respectivamente. Encontrar fontes de cura na natureza por meio da observação do funcionamento dos ecossistemas possibilitou o controle de doenças e agravos em saúde, e garantiu a sobrevivência de muitos indivíduos. Pode-se dizer que vislumbrar o ambiente, entende-

lo e buscar formas de usar a natureza a seu favor, foi uma das principais características evolutivas do ser humano, o que garantiu a espécie chegar na contemporaneidade com tamanho arcabouço científico. [3 6]

Porém, infelizmente há um desprezo por esses conhecimentos etnobotânicos ancestrais, por parte de muitos na atualidade. Consequentemente diversas aplicações farmacobotânicas têm se perdido ao longo das décadas. Isso representa um grande retrocesso no campo de química farmacêutica e medicinal, retardando diversos possíveis estudos. [2 3]

Vale ressaltar os inúmeros incentivos da OMS para a estudos do tipo, e a aplicação desses tanto na descoberta de novas moléculas, para a produção de fármacos industriais, quanto para o desenvolvimento e aplicação dos fitoterápicos. [5 9]

Nesse sentido, o conhecimento tradicional é de extrema importância, sendo a base para o desenvolvimento das pesquisas, uma associação entre o conhecimento antigo e as inovações tecnológicas. Especialmente no que diz respeito às plantas medicinais, preservar esse conhecimento popular é essencial, pois, as informações sobre a aplicação das plantas são passadas pelos povos tradicionais de geração para geração. [9]

Unindo esses saberes a modernas ferramentas biotecnológicas, como transgenia, genômica, cultura de células e nanotecnologia, vários grupos de cientistas pelo Brasil buscam na riqueza genética da biodiversidade brasileira a base para o desenvolvimento de tecnologias e produtos que possam melhorar a qualidade de vida da população, como a descoberta de novas moléculas e criação a de novos fármacos. [8]

Na contramão disso, há baixos incentivos governamentais para tal associação de conhecimentos. Essa trágica realidade acaba interferindo na evolução do cenário de descoberta de novos fármacos nacionais, e as descobertas realizadas encontram uma vasta barreira burocrática para testes, validações e aprovações. [10]

Em decorrência desse fator, muitos pesquisadores acabam realizando parcerias internacionais, para estudos mais elaborados e testes clínicos.[1] Consequentemente, as patentes de fármacos oriundos da biodiversidade vegetal brasileira estão nas mãos de estrangeiro. [2 3]

Atualmente, tornou-se algo normal a natureza nacional ser estudada por grupos de pesquisas internacionais, o que ressalta o potencial apresentado nesse trabalho. Esse fator contribui para a reflexão sobre os caminhos da pesquisa farmacêutica no país, e indica a necessidade de investimentos, não apenas no campo monetário, entretanto, sobretudo, nos setores de ensino. [3]

É necessário difundir a cultura dos povos brasileiros nas universidades, além de estimular a busca por esses conhecimentos ancestrais locais. Ademais, entender a biodiversidade brasileira é fundamental, conhecendo as oportunidades que a natureza pode proporcionar dentro do campo de química farmacêutica e medicinal. [5 6]

Conclusões

Portanto, é notório que a imensidão do conhecimento popular nacional, unida da vasta biodiversidade vegetal torna o Brasil um celeiro potencial para o desenvolvimento tecnológico e científico em química farmacêutica e medicinal. Todavia são necessários investimentos que viabilizem a compreensão universitária sobre a riqueza do patrimônio natural presente na nação.

Agradecimentos

Agradecemos ao professor Maicon Miranda Marvila pela orientação e oportunidade de desbravar mais sobre o campo de química medicinal.

Referências e notas

(1) GUIDO, R.V.C.; ANDRICOPULO, A.D.; OLIVA, G. 2010, 24, 7.
(2) BARREIRO , Eliezer de Jesus; BOLZANI, Vanderlan da Silva. *Nova Química*. 2009, 32, 02.
(3) JÚNIOR , Cláudio Viegas; BOLZANI, Vanderlan da Silva; BARREIRO , Eliezer de Jesus. *Nova Química*. 2006, 29, 06
(4) FUMAGALLI, Elisângela *et al. Rev. Bra. Farm.* 2009, 14, 04.
(5) SÁ-FILHO, Geovan Figueiredo *et al. Res. Soc. and Des.* 2021, 10, 13.
(6) GANDOLFO, Elisa Serena e Hanazaki, Natália. *Acta Botanica Brasilica.* 2011, 25, 01.
(7) IBGE, 2005.
(8) REZENDE, E. A.; RIBEIRO, M. T. F. *REV. BRAS. PL. MED.* 2005, 03, 37.
(9) GRALA, Ana Paula da Paz *et al. Bra. Jor. Des.* 2021, 07, 04
(10) SANTOS, Laymert Garcia. *CEPRAB*. 2007, 78, 04.
(11) RAMOS, Milena Yum. *Edu. e Pes.* 2018, 01, 44.

R-S-PG-01

Plantas Medicinais: Fitoquímica e Desenvolvimento de Fitofármacos

Bruna S. S. Marinho[1] (PG)*. bssmarinho@gmail.com

1 – Departamento de Histologia e Embriologia, Universidade Federal de Pernambuco, PE – Brasil.
Palavras-Chave: *Biocompostos, Bioensaios, Metabólitos secundários, Métodos de extração.*

Introdução

As plantas possuem compostos fitoquímicos que provém de metabólitos secundários e podem beneficiar o organismo por feitio medicinal ou prejudicar por ser tóxicos. [1] É comum o uso popular desses metabólitos através de chás para tratar diversos malefícios. Porém, para que uma planta medicinal possa ser considerada um fitofármaco, ela necessita passar por etapas como: seleção vegetal, estudos botânicos e fitoquímicos e diversos ensaios pré-clínicos e clínicos. Essas etapas são obrigatórias para obter aprovação de órgão regulamentador, como a Agência Nacional de Vigilâncias Sanitária (ANVISA) para sua comercialização.[2] Portanto, este trabalho teve o objetivo de expor os grupos de metabólitos secundários encontrados nas plantas medicinais e descrever suas principais funções para o organismo, além de explanar o desenvolvimento de um fitofármaco.

Resultados e discussão

A partir de revisões literárias em bases de dados como PUBMED E SCIELO foi observado que os grupos de metabólitos secundários encontradas em plantas medicinais são: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados.[1] Esses biocompostos podem ser isolados e designados à bioensaios para testar suas diversas funções para o organismo, que geralmente possuem atividades: anti-inflamatórias, antipiréticas, antinociceptiva, antimicrobiana, antioxidante, anticancerígena, gastro ou hepatoprotetora, entre outras.[3] No entanto, para que fitofármacos possam ser aprovados para comercialização, é necessário que ocorra estudos de validação nas quais as etapas são: Seleção da planta por abordagem etnofarmacológica; Coleta, exsicata e estudo botânico (morfológico e anatômico) do espécime vegetal; Coleta e secagem do órgão para estabilização e conservação dos biocompostos; Processos farmacotécnicos de transformação (rasura ou pulverização); Processos extrativos (aquosos: infusão ou decocção; alcóolico: maceração ou percolação); Rotaevaporação ou liofinilização; Prospecção fitoquímica e/ou caracterização por cromatografia ou espectroscopia; Ensaios toxicológicos, biológicos e farmacológicos em fase pré-clinica (uso de animais) e clínica (de voluntários à comercialização).[1,3]

A partir dos bioensaios é possível comprovar a segurança e atividade farmacêutica da planta medicinal e assim identificar as concentrações (dose mínima terapêutica, dose mínima toxicológica e potencias substâncias ativas) para desenvolver formas estáveis, conservadas e prazo de validade viável para sua apresentação, podendo ser: sachês ou envelopes farmacêuticos, capsula de gelatina, droga vegetal em pó com excipientes diluentes, comprimidos, diluição de gotas de extrato fluido em água; veículo em xarope; semisólidas (pomadas, creme, gel), entre outros. Para aprovação e comercialização é necessário, no entanto, o registro com relatório de petição seguindo o RDC n. 26/2014.[1,2,3]

Conclusões

A fitoquímica estuda da estrutura química molecular até as propriedades biológicas das plantas que muitas vezes são utilizados na medicina popular com o objetivo de tratar algum malefício. Entretanto, bioensaios são necessários que a planta medicinal seja aprovada e comercializada como um fitofármaco.

Referências e notas

(1) Silva, E. C. V. da ., Silva, A. de S. ., Silva, D. F. ., Ferreira, M. D. L. ., Oliveira Filho, A. A. de ., & Sousa, A. P. de. (2022). Scientific Electronic Archives, 15(3).
(2) Gregorio, L. E. ., & Mascarenhas, N. G. (2022). Concilium, 22(3), 191–212.
(3) dos Reis Sá, João Batista Ribeiro, and Rafaela Maianna Cruz de Castro Freitas. Brazilian Journal of Development 8.6 (2022): 43897-43907.

R-S-PG-02

Mediadores lipídicos pró-resolução no controle da dor e inflamação

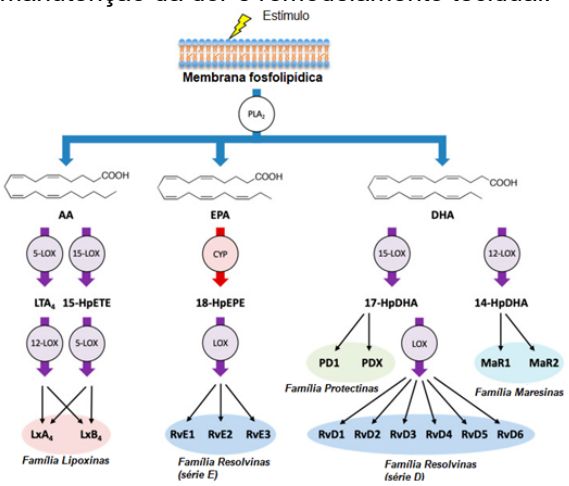
Beatriz H. S. Bianchini (PG)[1], Kassyo L. S. Dantas (PG)[1], Waldiceu A. Verri Jr.[1*]. beatriz.hoffmann@uel.br

1 – Departamento de Ciências Patológicas, Universidade Estadual de Londrina, PR - Brasil.

Palavras-Chave: *SPMs, Lipoxinas, Resolvinas, Protectinas, Maresinas.*

Introdução

Mediadores lipídicos pró-resolução especializados (SPMs - Specialized Lipid Mediators) são uma nova classe de mediadores lipídicos que ativamente induzem a resolução do processo inflamatório, regulado por moléculas derivadas do ácido graxo ômega 3 como o ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido docosahexaenóico (DHA) e, ômega 6 como o ácido araquidônico (AA), sendo subdivididos nas famílias das lipoxinas, resolvinas, protectinas e maresinas. Embora tenham sido primeiramente identificados na resolução do processo inflamatório, os mediadores lipídicos pró-resolução desempenham papel na defesa do hospedeiro, manutenção da dor e remodelamento tecidual.[1]



Fonte: Adaptado de Yasukawa *et* al., 2020.[2]

Resultados e discussão

Quando administrado *in vivo* na inflamação experimental, os SPMs exercem suas ações protetivas via inibidores, bloqueadores ou antagonistas das vias pró-inflamatórias.[3] Estes mediadores orquestram a resolução da inflamação com eventos celulares específicos, como a mudança da liberação de citocinas para os fenótipos anti-inflamatórios M2, detêm capacidade de parar a infiltração e ativação de neutrófilos, induzem atividade fagocítica de macrófagos e apresentam ações antimicrobianas aprimoradas na defesa do hospedeiro que culminam para o retorno da homeostase.[4]

Tabela 1. Evidências analgésicas pré-clínicas dos mediadores lipídicos pró-resolução especializados

Mediador lipídico	Ações analgésicas e anti-inflamatórias
LXA4, RvD1, RvD2, RvD5, RvE1, MaR1	Reduz a hiperalgesia mecânica e térmica
LXA4, RvD1, RvD2, RvD5, MaR1	Reduz a liberação de citocinas pró-inflamatórias
LXA4, RvE1	Reduz o edema
RvD1, RvD2, RvD5, RvE1, MaR1	Reduz o tempo de lamber / sacudir a pata estimulada
LXA4, RvD1, MaR1	Diminui ativação do NFκB

Fonte: Adaptado de Fattori *et* al., 2020.[5]

Conclusões

As terapias contemporâneas ainda são restritas a medicamentos que apresentam diversos efeitos colaterais, eficácia limitada, alto custo e, em alguns casos, toxicidade. Assim, se faz necessário o desenvolvimento de novas terapias capazes de reduzir a inflamação e a dor. Nesse contexto, o uso dos mediadores lipídicos pro-resolução, representam potencial abordagem terapêutica.

Referências e notas

(1) Serhan CN. Novel Pro-Resolving Lipid Mediators in Inflammation Are Leads for Resolution Physiology. Nature. 2014;510:92–101.
(2) Yasukawa, Ken et al. Eicosanoids in Skin Wound Healing. International journal of molecular sciences vol. 21,22 8435. 10 Nov. 2020.
(3) Levy, B. D.; Serhan, CN. Resolution and Regulation of Inflammation. [s.l.] Elsevier Inc., 2014.
(4) Arnardottir, H. H. et al. Aging Delays Resolution of Acute Inflammation in Mice: Reprogramming the Host Response with Novel Nano-Proresolving Medicines. The Journal of Immunology, v. 193, n. 8, p. 4235–4244, 2014
(5) Fattori, Victor et al. "Specialized pro-resolving lipid mediators: A new class of non-immunosuppressive and non-opioid analgesic drugs." Pharmacological research vol. 151 (2020): 104549.

R-S-PG-03

Maresina-2: um Mediador Pró-Resolutivo Especializado recentemente identificado com capacidade anti-inflamatória.

Kassyo L. S. Dantas[1] (PG), Beatriz H. S. Bianchini[1] (PG), Waldiceu A. Verri. Jr.[1] (PQ)*. kassyo.l.s.dantas@uel.br

1 – Departamento de Ciências Patológicas, Universidade Estadual de Londrina, PR-Brasil.
Palavras-Chave: *SPMs, Maresina-2, anti-inflamatório, pró-resolutivo.*

Introdução

A inflamação é caracterizada como uma resposta adaptativa desencadeada por uma série de estímulos ou condições nocivas, como em processos infecciosos ou lesão tecidual. Embora a inflamação resulte na resolução, processos inflamatórios agudos descontrolados podem causar danos aos tecidos e levar a inflamação crônica.[1] Estudos recentes demonstram que mediadores pró-resolutivos especializados (SPMs), como resolvinas, lipoxinas, protectinas e maresinas apresentam capacidades de modular mecanismos inflamatórios e anti-inflamatórios.[2] Portanto, entender os mecanismos por quais essas modulações acontecem é importante para o desenvolvimento de pesquisas e novas terapias em doenças inflamatórias. Aqui, iremos discutir sobre os principais papeis atribuídos a Maresina-2 (MaR2) em modelos experimentais e seu potencial como um mediador pró-resolutivo especializado.

Resultados e discussão

A MaR2, identificada mais recentemente como membro da família das maresinas (mediadores de macrófagos na resolução da inflamação), são sintetizadas principalmente por macrófagos a partir do ácido docosahexaenóico (DHA) via 12-lipoxigenase humana (12-LOX).[3] Deng B (2014) e colaboradores através de experimentos utilizando camundongos e macrófagos humanos, demonstraram que a MaR2 em modelo de peritonite reduziu a infiltração de neutrófilos na cavidade peritoneal e aumentou a fagocitose de macrófagos humanos.[4] YU Cheng-xiu (2022) investigou o efeito terapêutico e o mecanismo de MaR2 em camundongos asmáticos. MaR2 reduziu a proliferação de células pulmonares caliciformes e a formação de tampões brônquicos de muco, reduziu o número de células inflamatórias circundantes aos alvéolos, diminuiu o número de eosinófilos e macrófagos no lavado broncoalveolar e os níveis de interleucina (IL) -4, IL-5, IL-13, IgE sérica total e IgE específica de ovalbumina. Também inibiu a atividade do inflamasoma NLRP3 e produção subjacente de IL-1β e IL-18 e diminui a expressão de ICAM-1 no tecido pulmonar de camundongos asmáticos e, ainda, atenuou o desequilíbrio de espécies reativas de oxigênio diminuindo os níveis de malondialdeído e mieloperoxidase e aumentando superóxido dismutase e glutationa do tecido pulmonar asmático.[5] Fattori V (2022) mostrou que a MaR2 reduziu a dor inflamatória, o recrutamento de neutrófilos e monócitos e os níveis de TNF-α, IL-1β, IL-6, VEGF, CCL2, CCL3 e CCL17 no tecido plantar de camundongos estimulados via intraplantar com LPS. Ainda, demonstrou que a MaR2 exibe efeitos analgésicos por inibir a ativação do nociceptor TRPV1 e TRPA1 *in vitro* e *in vivo*. Reduziu a liberação de CGRP por neurônios TRPV1$^+$ e TRPA1$^+$ DRG e por CD11b$^+$ próximas a nociceptores peptidérgicos.[6] Visto então, a MaR2 atua em diferentes contextos inflamatórios, se mostrando um importante SPM.

Conclusões

A Maresina-2 foi recentemente identificada como um mediador anti-inflamatório e pró-resolutivo de macrófagos humanos, no entanto, ainda pouco se sabe sobre seus mecanismos e possíveis papeis na resolução de doenças inflamatórias, necessitando de maiores estudos.

Referências e notas

(1) Medzhitov, R. *Nature*, v. 454, n. 7203, p. 428-435, **2008**.
(2) Serhan, Charles N.; CHIANG, Nan; DALLI, Jesmond. The resolution code of acute inflammation: Novel pro-resolving lipid mediators in resolution. In: *Seminars in immunology. Academic Press*, **2015**. p. 200-215.
(3) Deng, Bin *et al. PloS one*, v. 9, n. 7, p. e102362, **2014**.
(4) Deng B, Wang CW, Arnardottir HH, Li Y, Cheng CY, Dalli J, et al. (**2014**). *PLoS One* 9 : e102362.
(5) YU, Cheng-xiu *et al. Molecular Immunology*, v. 146, p. 78-86, **2022**.
(6) Fattori, Victor *et al. Neuropharmacology*, p. 109189, **2022**.