



## DESCOBERTA DE COMPOSTOS INIBIDORES DA ENZIMA CISTEÍNA PROTEASE (CP) DE *LEISHMANIA AMAZONENSIS* UTILIZANDO O VIRTUAL SCREENING

MENEZES, Sarah Coelho de<sup>1</sup>; OLIVIER, Danilo da Silva<sup>2</sup>

### RESUMO

As leishmanioses são antropozoonoses infecto-parasitárias causadas por espécies de protozoários intracelulares do gênero *Leishmania*, que contribuem amplamente nas adversidades da saúde pública, representando um complexo de enfermidades de expressivo espectro clínico e diversidade epidemiológica. É classificada como Doença Tropical Negligenciada (DTN) por ter caráter emergencial e urgência de controle do vetor, além de disponibilidade de tratamento. Uma possibilidade executável para tratamento é a indução de morte do parasita pelo bloqueio de vias ou enzimas específicas que sejam cruciais para sua sobrevivência, como as cisteínas proteases (CPs), enzimas envolvidas na replicação, início da doença e sobrevivência da *Leishmania*, o que as configura como alvos em potencial. No estudo, foram utilizadas ferramentas computacionais para a triagem de milhares de moléculas, como o *Virtual Screening* e *molecular docking* para identificar e avaliar os melhores compostos que possam inibir seletivamente as CPs, para, assim, ser possível ter outro artefato para combater o patógeno.

**Palavras-chave:** Leishmaniose, cisteína protease, *Virtual Screening*, *docking molecular*.

### I. INTRODUÇÃO

As leishmanioses são antropozoonoses infecto-parasitárias causadas por espécies de protozoários intracelulares do gênero *Leishmania*, que contribuem

---

<sup>1</sup> Aluna voluntária do Programa de Iniciação Científica (PIVIC). Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Faculdade de Ciências da Saúde (FCS). sarah.menezes@ufnt.edu.br

<sup>2</sup> Professor Doutor dos Cursos de Física e Engenharia Biomédica, Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), coordenador do projeto de iniciação científica. danilo.olivier@ufnt.edu.br



amplamente nas adversidades da saúde pública, representando um complexo de enfermidades de expressivo espectro clínico com importante diversidade epidemiológica. É classificada como Doença Tropical Negligenciada (DTN) por ter caráter emergencial e urgência de controle do vetor, além de disponibilidade de tratamento (BRASIL, 2017; VASCONCELOS, 2018).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), é estimado que 350 milhões de pessoas estejam expostas ao risco, com registro aproximado de 2 milhões de novos casos englobando as diferentes formas clínicas ao ano. A Leishmaniose Tegumentar (LT), tem vasta distribuição mundial e, especificamente no continente americano, há registro de casos desde o extremo sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina, exceto Uruguai e Chile (BRASIL, 2017).

Como já mencionado, a leishmaniose é um problema de saúde pública de difícil controle. Por isso, é imprescindível o desenvolvimento de novas tecnologias que visem a destruição do patógeno, para que haja diminuição de seu impacto na sociedade. Uma possibilidade executável é a indução de morte do parasita pelo bloqueio de vias ou enzimas específicas que sejam cruciais para sua sobrevivência. Há estudos que provam a eficiência do uso de componentes metálicos, como nanopartículas de prata; além disso, o ataque à enzimas essenciais já é uma estratégia conhecida e estudada pela indústria farmacêutica, por determinados componentes proteicos terem relação direta com a sobrevivência do patógeno (ISLAN, 2017; ONG, 2019).

A determinação de moléculas compatíveis e capazes de agir como inibidoras de determinada enzima pode ser realizada por meio de uma varredura virtual. Denominada *Virtual Screening*, ou Triagem Virtual, essa técnica computacional consiste em realizar a identificação, por meio de uma grande biblioteca de compostos, de moléculas que se ligam a um alvo específico, como enzimas ou receptores. Geralmente segue um fluxo de trabalho, descartando compostos indesejáveis e selecionando os possíveis compostos para a realização de testes



laboratoriais e confirmação de sua atividade biológica (GIMENO, 2019).

Nesse cenário enzimático, é interessante mencionar as cisteína proteases (CPs), as quais são enzimas envolvidas na replicação, início da doença e sobrevivência do parasita, o que as configura como alvos interessantes para vacinas, fármacos ou tratamentos alternativos, como a inibição da atividade dessas proteínas (ISLAN, 2017).

As atividades desenvolvidas nesta pesquisa tiveram como motivação expandir o conhecimento da enzima alvo em questão, para que seja possível ampliar as possibilidades de combate à doença, uma vez que a leishmaniose se configura como um problema altamente presente na realidade brasileira. Portanto, este estudo se apresenta extremamente relevante para a área da saúde, em especial para a medicina.

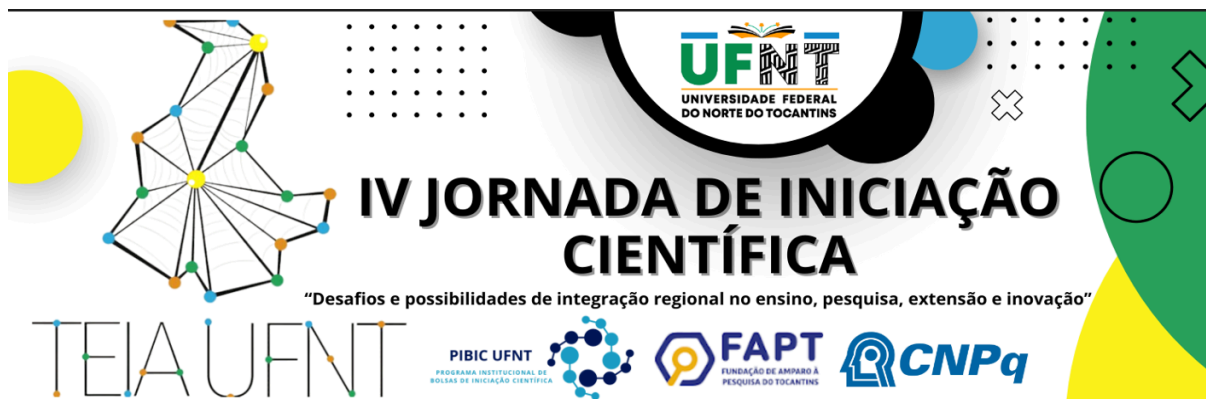
## II. BASE TEÓRICA

A enzima cisteína protease (CP) de *Leishmania amazonensis* desempenha um papel crucial na replicação e manutenção do patógeno no hospedeiro, configurando-se como alvo promissor no desenvolvimento de novos tratamentos.

O uso de *Virtual Screening* permite a triagem de milhares de compostos, avaliando a afinidade de cada molécula ao sítio ativo da enzima escolhida, enquanto o *molecular docking* refina os complexos proteína-ligante, garantindo uma análise efetiva das variações conformacionais e interações moleculares.

## III. OBJETIVOS

Este projeto tem por objetivo geral a busca por moléculas com potencial ação inibitória contra a classe de enzimas cisteína proteases (CPs) de *Leishmania amazonensis*. O projeto será desenvolvido a partir de técnicas computacionais que empregam modelos físicos para descrição de macromoléculas biológicas e suas interações.



Além disso, têm por objetivos específicos a assimilação de técnicas de modelagem por homologia, docagem molecular (*molecular docking*) e triagem virtual (*virtual screening*), a compreensão das propriedades básicas das proteínas, ligantes e suas interações, a apreensão da capacidade de a modelar sistemas biológicos a partir da física, matemática e computação e de aplicar as técnicas de biofísica computacional e bioinformática para a varredura de bibliotecas de moléculas que tenham a possibilidade de se ligar e inibir a enzima em estudo.

#### IV. METODOLOGIA

Trata-se de um estudo cuja metodologia é de revisão de literatura, de caráter descritivo e retrospectivo, em que é analisado diversos estudos já publicados relativos à cisteína protease (CP) de *Leishmania amazonensis* e sua importância e possibilidade de se configurar como possível alvo de bloqueio por compostos inibidores.

O levantamento bibliográfico deste estudo foi realizado por meio de pesquisas em base de dados Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), SciELO, *National Library of Medicine* (PubMed) e Google Acadêmico, sendo pesquisados artigos publicados nos idiomas inglês e português, apresentando tanto resumo quanto o texto completo.

No que se refere aos critérios de exclusão, artigos duplicados, inacessíveis à leitura íntegra publicados em idiomas diferentes dos escolhidos e que não se enquadraram no objetivo do estudo foram excluídos.

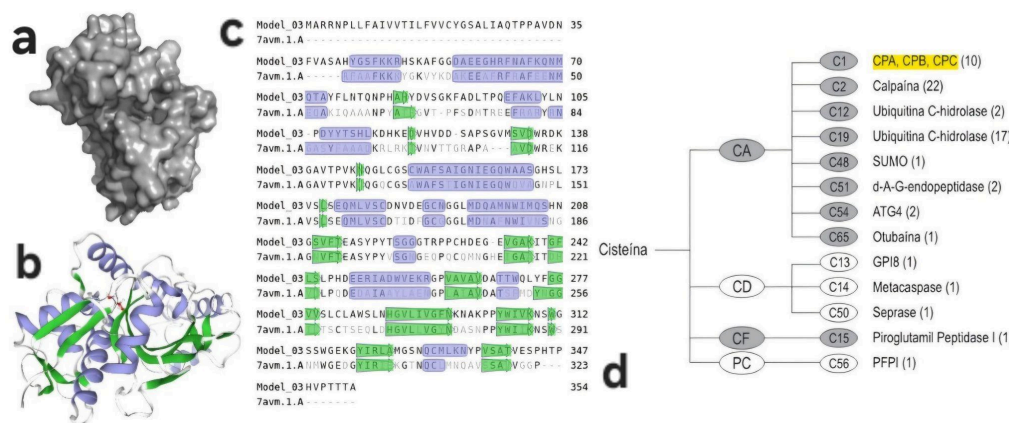
Para o *Virtual Screening* foi utilizado os bancos de dados *Protein Data Bank* (PDB) e *Universal Protein* (UniProt) e para a modelagem por homologia de estruturas de proteínas 3D foram utilizados o site *Swiss-Model* e o software de visualização molecular PyMOL.

#### V. RESULTADOS E DISCUSSÃO



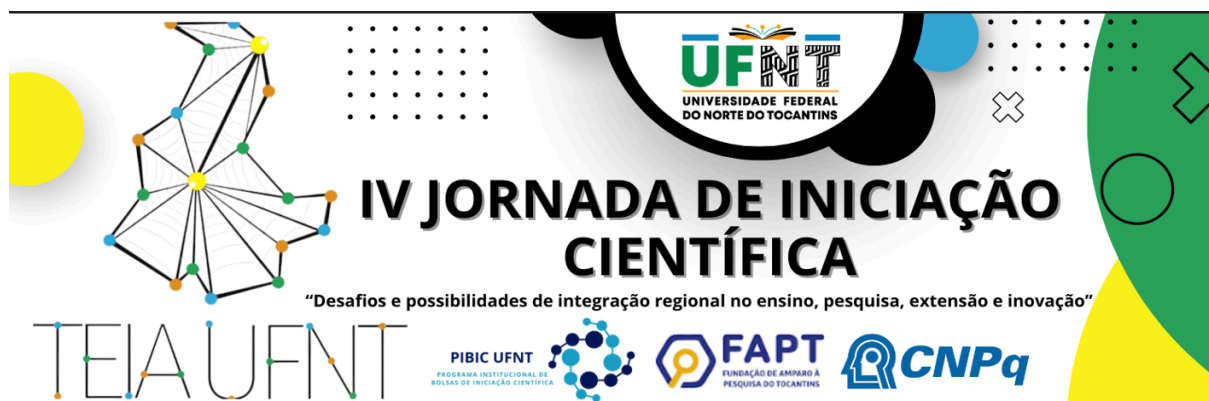
Após a procura em artigos diversos e a obtenção da sequência primária de relativa baixa similaridade, não foi possível a localização do sítio catalítico específico da estrutura estudada. Portanto, a região de busca foi feita manualmente, observando as cavidades presentes na enzima enquanto sua superfície apresentava-se exposta, escolhendo, por fim, uma região ao acaso para a realização dos testes de *docking* molecular com simulações de *Virtual Screening* utilizando a biblioteca de compostos denominada *DrugBank*. A figura 1 ilustra não só a enzima e sua base sequencial, como também apresenta as subdivisões da enzima estudada.

**Figura 1.** Enzima cisteína protease (CP) em estrutura 3D de *L. amazonensis* com identidade sequencial de 52,3% com *Trypanosoma brucei rhodesiense*, junto aos clãs e famílias de CPs em *Leishmania sp.* Os números entre parênteses correspondem ao número de espécies moleculares de cada família e, em destaque com a cor amarela, estão as CPs mais estudadas comumente



(a) Enzima com a superfície exposta, (b) Representação em cartoon, (c) *Model-Template Alignment* evidenciando a sequência primária com coloração por estrutura secundária e (d) Clãs e famílias de CPs em *Leishmania sp.* Fontes: Adaptada de CONCEIÇÃO-SILVA, F.; ALVES, C. R., 2014; *Swiss-Model*; *PyMol*.

O DrugBank se trata de uma lista de compostos os quais possuem uma potencial atividade enzimática inibitória. Após a varredura, os cinco compostos que



apresentaram as menores energias de interação com a enzima CP foram escolhidos.

Os resultados encontrados são relacionados na Tabela 1, exibindo os nomes dos compostos de acordo com o banco de dados, os grupos em que se encontram, o número de átomos e a energia de ligação de cada um.

**Tabela 1.** Compostos compilados por ordem decrescente de energia.

Classificação	ID drugbank	Grupo	Nº de átomos	Energia (kcal/mol)
1	DB12983	Investigativo	40	-9,6
2	DB18657	Experimental	36	-8,6
3	DB04868	Aprovado, Investigativo	39	-8,6
4	DB13109	Investigativo	36	-8,5
5	DB04888	Investigativo	29	-8,5
6	DB08239	Experimental	29	-8,5
7	DB12323	Investigativo	39	-8,4
8	DB14773	Investigativo	35	-8,3
9	DB16063	Investigativo	24	-8,3
10	DB19277	Investigativo	40	-8,2

As moléculas encontradas apresentaram energia de interação com a enzima entre -9,6 kcal/mol e -8,2 kcal/mol. Todos os compostos possuem anéis e uma quantidade de átomos variando entre 24 e 40.



## VI. CONCLUSÃO

Apesar de já haver tratamento efetivo contra a enfermidade e a possibilidade do uso de nanopartículas para o combate contra o patógeno, é necessário mais estudos que foquem em agentes etiológicos específicos, principalmente o *Leishmania (L.) amazonensis*, o qual é o centro desta pesquisa, com a busca de outras moléculas, por meio de *Virtual Screening* e testes laboratoriais, que sejam capazes de inibir vias ou enzimas necessárias para a sobrevivência do parasita, para que, assim, seja possível o desenvolvimento de fármacos ou vacinas funcionais contra a doença.

## VII. REFERÊNCIAS

BRASIL. Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar. 2017, Brasília - DF, 1ª ed., p. 1-191.

CONCEIÇÃO SILVA, F.; ALVES, C. R. **Leishmanioses do continente americano**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2014, 512 p.

GIMENO, A. *et al.* The Light and Dark Sides of Virtual Screening: What Is There to Know?. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 6, p. 1375, 2019.

ISLAN, G. A. *et al.* Nanopharmaceuticals as a solution to neglected diseases: Is it possible? **Acta Tropica**. v. 170, p. 16–42, 2017.

ONG, Y. C. *et al.* Metal Compounds against Neglected Tropical Diseases. **Chem. Rev.** v. 119, n. 2, p. 730–796, 2019.

VASCONCELOS, J. M. *et al.* Leishmaniose tegumentar americana: perfil epidemiológico, diagnóstico e tratamento. **RBAC**, v. 50, n. 3, p. 221-227, 2018.

## VIII. AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com o apoio do LABMADE, INEO e UFNT.