OTIMIZAÇÃO DE NOVOS INIBIDORES DA TIORREDOXINA REDUTASE QUIMICAMENTE RELACIONADOS À MOLÉCULA HIT LMM6, COM FOCO NO DESENVOLVIMENTO DE NOVOS ANTIFÚNGICOS.

Maria Clara Noguti (PIBIC/ UEM), Isis Regina Grenier Capoci (Co-orientadora), Karina Mayumi Sakita (Co-orientadora), Erika Seki Kioshima Cotica (Orientadora). E-mail: ra135064@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas / Microbiologia

Palavras-chave: Interações proteína-ligante; ancoragem molecular; derivados oxadiazólicos

RESUMO

Nos últimos anos, as infecções fúngicas invasivas vêm ganhando destaque entre pacientes críticos. Apesar dos esforços, o arsenal antifúngico permanece restrito a três classes principais. Nesse contexto, o presente projeto teve como foco selecionar novos inibidores da tiorredoxina redutase, a partir de uma pequena lista de derivados oxadiazólicos, quimicamente relacionados a molécula *hit* disponíveis comercialmente no banco de dados da *Life Chemicals*. Vinte e seis moléculas foram avaliadas *in silico* quanto às suas propriedades químicas, farmacocinéticas e toxicológicas, das quais dez apresentaram resultados favoráveis quanto à *drugability*. Essas moléculas foram submetidas ao *docking* molecular no sítio catalítico da tiorredoxina redutase de *Candida albicans*. Estas moléculas também foram submetidas ao *docking molecular* que revelou que as duas moléculas que apresentaram resultados mais promissores quanto aos parâmetros de farmacocinética e toxicológicos também apresentaram melhor interação no sítio catalítico que a molécula hit. Assim, dois novos derivados oxadiazolicos foram selecionados neste estudo e deverão ser posteriormente avaliados *in vitro*.

INTRODUÇÃO

As infecções fúngicas invasivas representam um importante problema de saúde pública, especialmente em indivíduos imunocomprometidos e pacientes submetidos a procedimentos médicos complexos. Além disso, o surgimento de fungos resistentes aos antifúngicos constitui uma preocupação crescente diante do número limitado de classes terapêuticas disponíveis (BERMAN; KRYSAN, 2020). Nesse contexto, a busca por novas opções terapêuticas se faz necessária. As técnicas *in silico* que exploram a triagem virtual de bibliotecas químicas contra alvos específicos constituem uma estratégia importante para descoberta de fármacos, reduzindo tempo e custos (FARIA *et al.*, 2021). Entre os alvos mais promissores,

destaca-se a tiorredoxina redutase (Trr1), envolvida na proteção celular contra o estresse oxidativo. Desta forma, nosso grupo tem se concentrado na seleção de compostos 1,3,4-oxadiazólicos como possíveis inibidores da Trr1, com atividade antifúngica promissora (SAKITA *et al*., 2019). Dentre estes compostos, o LMM6 mostrou-se altamente eficaz contra diversos isolados *de C. albicans* (FARIA *et al*., 2021). Diante disso, este estudo teve como objetivo selecionar novos inibidores da tiorredoxina redutase de fungos patogênicos de relevância mundial, a partir de uma pequena lista de derivados oxadiazólicos, quimicamente relacionados a LMM6 (molécula *hit*) disponíveis comercialmente no banco de dados da *Life Chemicals*.

MATERIAIS E MÉTODOS

O banco de moléculas comercialmente disponíveis da *Life Chemicals* foi utilizado para seleção de compostos que apresentaram similaridade estrutural igual ou superior a 95% ao composto hit (LMM6). Os arquivos sdf e smiles foram extraídos para preparação para ancoragem molecular. A sub-biblioteca de moléculas foi submetida a estudos de *docking molecular*, considerando como alvo a proteína Trr1 de *Candida albicans* (protótipo de fungo leveduriforme) e *Aspergillus fumigatus* (protótipo de fungo filamentoso). O reconhecimento do sítio catalítico foi realizado por meio do software GOLD v.5.8.0. Essa etapa foi realizada em parceria com *Laborataire Lorrain de Recherche em Informatique et ses Apllications* (LORIA), França. Primeiramente, os compostos foram pontuados por um sistema de pesos baseado nas interações químicas, atribuindo maior peso, em ordem decrescente, às seguintes ligações: ponte salina, ligação de hidrogênio, interação π-cátion, interação π-stacking e pontes de halogênio. Posteriormente, os complexos foram visualizados tridimensionalmente no PyMOL para avaliação do posicionamento dos compostos e de suas interações no sítio catalítico da Trr1. Essas interações foram analisadas por meio do software PLIP (*Protein-Ligand Interaction Profiler*). Além disso, as propriedades ADME (Absorção, distribuição, metabolismo e excreção) dos compostos foram avaliadas pelo software ADMETlab.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Triagem *in silico* e seleção dos compostos

A triagem inicial resultou na seleção de nove moléculas derivadas da LMM6, que foram comercialmente adquiridas para os ensaios *in vitro* de atividade antifúngica e citotoxicidade. Destas, uma molécula apresentou a atividade antifúngica *in vitro* mais promissora (MIC = 4 µg/mL para *C. albicans*). Apesar de não apresentar o melhor desempenho nos parâmetros toxicológicos *in silico*, esta não apresentou perfil tóxico no ensaio de citotoxicidade em cultura de fibroblastos, sendo selecionada como protótipo para continuidade do estudo. Para otimizar ainda mais as propriedades da molécula que deverá seguir no *pipeline*, uma nova busca no banco de moléculas comerciais da *Life Chemicals* foi realizada considerando como *cut-off* o índice de Tanimoto ≥ 0,98. Vinte e seis novas moléculas com alta similaridade foram

selecionadas e analisadas quanto ao desempenho nos parâmetros químicos, farmacocinéticos e toxicológicos, resultou em um *ranking* com dez moléculas que apresentaram scores maiores que a molécula protótipo (*hit*) em cada parâmetro avaliado (**Tabela 1**). Destas duas moléculas apresentaram um perfil mais promissor pensando em um novo fármaco, ficam bem colocada em 5 dos 11 parâmetros avaliados.

Tabela 1- Classificação dos derivados da molécula protótipo conforme os parâmetros farmacocinéticos e toxicológicos

MOLÉCULAS	Hepatotoxicidade	Nefrotoxicidade	Hematotoxicidade	GENOTOXICITY	CYTOTOXICITY A549	CYTOTOXICITY Hek293	NEUROTOXICITY	LOG P	REGRA DE LIPINKS	VIA CYP3A4 inibidor	VIA CYP3A4 substrato
MOL 1	24	18	1	5	18	8	5	4	0.0	10	1
MOL 2	18	1	21	16	20	5	1	21	0.0	24	2
MOL 3	2	22	8	26	4	24	22	20	0.0	24	5
MOL 4	21	4	14	1	23	9	25	26	0.0	1	9
MOL 5	13	24	6	22	5	7	4	18	0.0	22	12
MOL 6	3	2	17	3	2	14	16	22	0.0	2	15
MOL 7	11	27	4	21	1	27	12	10	0.0	14	18
MOL 8	4	10	25	18	7	3	6	25	0.0	15	19
MOL 9	1	14	19	15	19	1	21	15	0.0	9	20
MOL 10	5	19	3	24	16	16	19	7	0.0	8	23
HIT	5 RESULTADOS	4 RESULTADOS	3 RESULTADOS	2 RESULTADOS							

Fonte: Elaborado pela autora (2026).

Análise dos derivados e *docking* molecular

As vinte e seis moléculas foram submetidas ao *docking* molecular no sítio catalítico da tiorredoxina redutase de *Candida albicans*, com o objetivo de avaliar suas interações nesse sítio e auxiliar na seleção de moléculas com melhor desempenho. Entre os resultados obtidos, as moléculas MOL1 e MOL6 ficaram entre as dez melhores classificadas, ocupando a décima e a terceira posições, respectivamente. Ambas apresentaram classificação superior à molécula protótipo, que ocupou a vigésima primeira posição no *ranking*. Os tipos de interação observados no sítio catalítico são apresentados na **Tabela 2**.

Tabela 2. Interações das duas melhores moléculas no sítio catalítico da tiorredoxina redutase.

MOLECULA	TIPO DE INTERAÇÃO	AMINOÁCIDOS DO SÍTIO CATALÍTICO
MOL1	Interações hidrofóbica	ILE40 THR48 ALA123 TRP135 ALA141 ALA247
	Ligação de hidrogênio	SER165 ALA166
		CYS142 (distancia 2,9Å)
MOL6	Interações hidrofóbica	ALA123 TRP135 ALA141
	Ligação de hidrogênio	ARG125 ILE248 GLY249
		CYS142 (distancia 2,9Å)
	Interações π-Cation	TRP135

Fonte: Elaborado pela autora (2026).

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitiram selecionar e caracterizar novos derivados oxadiazólicos a partir da avaliação de suas propriedades farmacocinéticas, toxicológicas e de atividade antifúngica. A análise de *docking* molecular indicou diferentes perfis de interação dos compostos com a tiorredoxina redutase de *Candida albicans*, incluindo interações hidrofóbicas, ligações de hidrogênio e *π-stacking*. A comparação dos derivados com a molécula *HIT* permitiu identificar interações conservadas e resíduos recorrentes no sítio analisado. Dessa forma, os resultados *apresentados* permitiram selecionar compostos promissores para estudos futuros voltados ao desenvolvimento de novos antifúngicos direcionados à tiorredoxina redutase.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Estadual de Maringá (UEM) pelo apoio institucional e financiamento para o desenvolvimento deste projeto de iniciação científica.

REFERÊNCIAS

Artigo de revista
BERMAN, J.; KRYSAN, D. J. Drug resistance and tolerance in fungi. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 18, p. 319-331, 2020. Disponível em: https://www.nature.com/articles/s41579-019-0322-2. Acesso em: 20 ago. 2026.

FARIA, D. R. et al. Fungicidal activity of a safe 1,3,4-oxadiazole derivative against *Candida albicans*. **Pathogens**, Basel, v. 10, n. 3, art. 314, 2021. Disponível em: https://www.mdpi.com/2076-0817/10/3/314. Acesso em: 20 ago. 2026.

SAKITA, K. M. et al. Two new 1,3,4-oxadiazoles with effective antifungal activity against *Candida albicans*. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 10, art. 2130, 2019. Disponível em: https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2019.02130/full. Acesso em: 20 ago. 2026.