



REPOSICIONAMENTO DE FÁRMACOS NA PARACOCCIDIOIDOMICOSE

Vinícius Bezerra Dias

Orientador: Profa. Dra. Laís de Brito Rodrigues

Coorientador: Dr. Leandro do Prado Assunção

Trindade-GO

2021

CENTRO UNIVERSITÁRIO GOYAZES

REPOSICIONAMENTO DE FÁRMACOS NA PARACOCCIDIOIDOMICOSE

Vinícius Bezerra Dias

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Centro Universitário
Goyazes como requisito parcial à
obtenção do título de Bacharel em
Farmácia

Orientador: Profa. Dra. Laís de Brito Rodrigues

Coorientador: Dr. Leandro do Prado Assunção

Trindade - GO

2021

Vinícius Bezerra Dias

REPOSICIONAMENTO DE FÁRMACOS NA PARACOCCIDIOIDOMICOSE

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro Universitário Goyazes como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Farmácia, aprovado pela seguinte banca examinadora:

Prof. Dra. Laís de Brito Rodrigues
Centro Universitário Goyazes

Prof. Me. Hallison Ranieri Gonçalves Brito
Centro Universitário Goyazes

Prof. Dr. Leandro do Prado Assunção
Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública

Trindade - GO

15/06/2021

REPOSICIONAMENTO DE FÁRMACOS NA PARACOCCIDIOIDOMICOSE

Vinícius Bezerra Dias¹
Leandro do Prado Assunção²
Laís de Brito Rodrigues³

RESUMO

O *Paracoccidioides spp.* é um fungo termodimórfico causador de uma micose sistêmica conhecida como paracoccidoidomicose. Basicamente, essa doença tem incidência mundial com maiores taxas de infecção em países da América do Sul, onde destaca – se o Brasil que chega a atingir 80% dos casos. Além disso, sabe – se que o tratamento da doença é bem limitado, uma vez que a grande maioria dos pacientes infectados fazem uso de antifúngicos com baixa eficácia por longos períodos. Assim sendo, se torna de extrema importância a descoberta de tratamentos alternativos para essa doença. Com isso, o objetivo deste trabalho é proporcionar um reposicionamento de fármaco para um melhor tratamento da paracoccidoidomicose. Para as análises de reposicionamento/drogabilidade foram utilizadas ferramentas de bioinformática, disponíveis online, para identificar e caracterizar proteínas exclusivas do fungo. Posteriormente, verificar com auxílio de banco de dados específicos e algoritmos computacionais moléculas alvas a essas proteínas. Dessa forma, foram encontradas 4 enzimas exclusivas de *Paracoccidioides spp.* presentes nos ciclos do metilcitrato e glioxilato. A nível farmacológico foram encontradas 13 moléculas experimentais e 2 já aprovadas e validadas no mercado. Portanto, com as análises de reposicionamento e drogabilidade foram encontradas novas moléculas que podem ser precursoras no tratamento da paracoccidoidomicose.

PALAVRAS-CHAVE: *Paracoccidioides*, Paracoccidoidomicose, Antifúngicos, Tratamento, Reposicionamento de Fármaco.

DRUG REPOSITIONING IN PARACOCCIDIOIDOMYCOSIS DISEASE

Vinícius Bezerra Dias¹
Leandro do Prado Assunção²
Laís de Brito Rodrigues³

ABSTRACT

Paracoccidioides spp. is a thermimorphic fungus causing a systemic mycosis known as paracoccidoidomycosis. Basically, this disease has a worldwide incidence with the highest infection rates in South American countries, where Brazil stands out, reaching 80% of cases. In addition, it is known that the treatment of the disease is very limited, since the vast majority of infected patients use antifungals with low efficacy for long periods. Therefore, it is extremely important to find alternative treatments for this disease. Thus, the objective of this work is to provide a repositioning of the drug for a better treatment of paracoccidoidomycosis. For the repositioning / drugstore analyzes, bioinformatics tools were used, available online,

to identify and characterize proteins unique to the fungus. Subsequently, with the aid of specific databases and computational algorithms, verify molecules targeting these proteins. Thus, 4 enzymes unique to *Paracoccidioides spp.* present in methylcitrate and glyoxylate cycles. At the pharmacological level, 13 experimental molecules and 2 already approved and validated on the market were found. Therefore, with the repositioning and drug addiction analyzes, new molecules were found that can be precursors in the treatment of paracoccidioidomycosis.

KEY WORDS: *Paracoccidioides*, Paracoccidioidomycosis, Antifungals, Treatment, Drug Repositioning.

Acadêmico do Curso de Farmácia da Faculdade União de Goyazes

²Orientador: Profa. Doutora Laís de Brito Rodrigues, pela Faculdade União de Goyazes

1. INTRODUÇÃO

Os fungos são bastante conhecidos por serem ótimos decompositores de matérias orgânicas no nosso planeta. Durante esses processos liberam alguns compostos, incluindo o dióxido de carbono e devolvem para o solo compostos nitrogenados e outras substâncias importantes no ciclo de reutilização de plantas e animais. São organismos eucariontes heterotróficos que captam nutrientes do meio externo para produção de energia. De maneira geral, têm a capacidade de oxidar biomoléculas, tais como carboidratos, lipídeos e proteínas, presentes no meio externo para síntese de ATP (SANTOS et al, 2015; MADAIL, 2021).

Esse mecanismo de oxidação é baseado na liberação de exoenzimas no ambiente, pois a parede celular rígida dos fungos retarda o mecanismo de absorção de nutrientes. Na superfície do material orgânico, ocorrem diversas reações químicas catabólicas que facilita a digestão de nutrientes para os fungos. O processo de produção de energia em fungos é constituído de diversas etapas e tem como principais vias metabólicas a glicólise, beta oxidação, oxidação de aminoácidos, ciclo do ácido cítrico e fosforilação oxidativa (SANTOS et al, 2015; MADAIL, 2021).

Outras vias, como a do glioxilato e do metilcitrato (FIGURA 1), também apresentam papel fundamental na sobrevivência e adaptação dos fungos. (SANTOS; LEHNINGER; NELSON e COX, 2014). O ciclo do glioxilato é uma via exclusiva de alguns organismos tais como plantas, bactérias, protistas, invertebrados e fungos. Enquanto, em animais essa rota metabólica é ausente. Em geral, essa via metabólica consegue converter unidades de dois carbonos do acetil em unidades de

quatro carbonos também chamado de succinato que podem ser utilizadas como moléculas precursoras de outras reações (SANTOS, 2015).

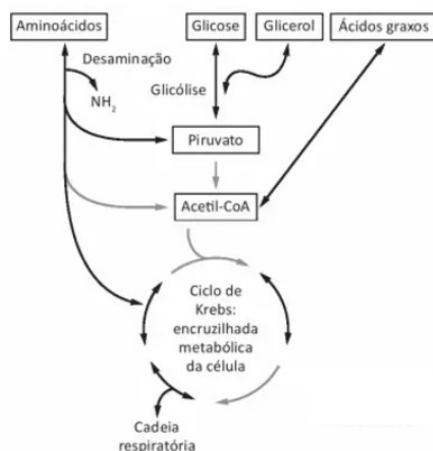


FIGURA 1. Os ciclos do metilcitrato e glioxilato. Em azul: nome da via metabólica. Em vermelho: são as enzimas participantes das reações. LOPES, Sônia; ROSSO, Sérgio. BIO. São Paulo: Saraiva, 2010. 2 v.

O *Paracoccidioides spp.* é um fungo causador da paracoccidioidomicose uma doença com incidência cosmopolita. No entanto, algumas pesquisas mostram uma crescente taxa de infecção desta micose na América do Sul, principalmente no Brasil chegando a atingir 80% dos casos notificados. Esse fungo tem como característica o termodimorfismo, ou seja, pode ser encontrado em morfologias distintas a depender da temperatura. Ambientes com temperatura de 23 a 25 °C pode estar sob a forma de micélio, enquanto em temperaturas corporais, cerca de 36,5 °C, pode assumir a forma de levedura que é a forma infectante (FIGURA 2) (SHIKANAI-YASUDA et al, 2017).

Na fase leveduriforme o fungo atinge principalmente a região dos pulmões, no qual pode disseminar para outros tecidos e órgãos através dos sistemas de circulação sanguínea e linfático. No ambiente, é encontrado como *Paracoccidioides brasiliensis* (*P. brasiliensis*) e o *Paracoccidioides lutzii* (*P. lutzii*) (SHIKANAI-YASUDA et al, 2017).

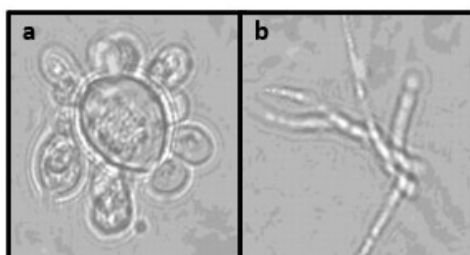


FIGURA 2. Microscopia do *Paracoccidioides spp.* a. Forma de levedura. b. Forma de micélio. Adaptado de Nunes e colaboradores, 2005.

A paracoccidioidomicose ocorre através da inalação de esporos presentes no ambiente. Os esporos atingem os alvéolos pulmonares e se diferenciam em leveduras, instalando, desse modo, a doença. O processo de instalação ativa a resposta imune inata do hospedeiro, levando à mobilização de células fagocíticas, macrófagos e neutrófilos presentes no pulmão (SHIKANAI-YASUDA et al, 2017).

O ciclo do glicoxilato e metilcitrato (FIGURA 3) são importantes para adaptação e sobrevivência do *Paracoccidioides spp.* em condições adversas, principalmente durante o processo de infecção, pois as enzimas, isocitrato liase e malato sintase, presentes nesta via metabólica, permitem que a síntese de succinato seja feita a partir do Acetil-CoA, sendo transportado para o interior da mitocôndria no qual será originado o malato. O malato, por sua vez, é convertido a oxalacetato levando a formação de glicose através da gliconeogênese. Dessa forma, o ciclo do glicoxilato tem como principal função a conversão de moléculas de ácidos graxos em carboidratos estruturais para composição de estruturas conjugadas e biossíntese da parede celular (LEHNINGER; NELSON e COX, 2014).

Ademais, também já foi descrito na literatura que esse fungo tem enzimas reguladoras do ciclo do metilcitrato que tem a capacidade de converter moléculas de três carbonos, propionato, em energia e outras substâncias. Essa conversão do propionato tem papel fundamental no ciclo de vida dos fungos, inclusive do *Paracoccidioides spp.*, uma vez que essa molécula é a segunda mais abundante no ambiente e pode ser utilizada como fonte de energia na ausência de acetato (SANTOS, 2015).

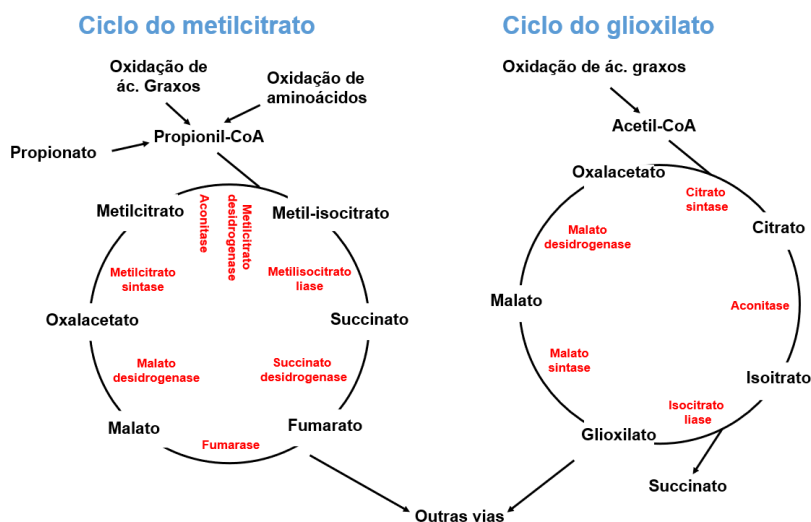


FIGURA 3. Os ciclos do metilcitrato e glicoxilato. Em azul: nome da via metabólica. Em vermelho: são as enzimas participantes das reações. Adaptado de Lehninger, Nelson e Cox (2014) e Santos (2015).

O tratamento farmacológico dessa micose é realizado com auxílio de anti-inflamatórios e antifúngicos já existentes no mercado, diferente de outros fungos patogênicos, *P. brasiliensis* é fungo sensível à maioria das drogas antifúngicas, inclusive aos sulfamídicos. Conseqüentemente, vários antifúngicos podem ser utilizados para o tratamento desses pacientes, tais como anfotericina B, sulfamídicos (sulfadiazina, associação sulfametoxazol/trimetoprim), azólicos (cetoconazol, fluconazol, itraconazol) (SHIKANAI-YASUDA et al, 2006). O tempo de tratamento leva em média 6 meses podendo ser prolongado por mais 2 anos de acordo com o estado clínico do paciente e se ele possui alguma doença crônica ou não, como por exemplo etilistas e tabagistas, que segundo estudos possuem menor adesão aos tratamentos farmacológicos (COSTA R.L.B. 2008). É uma infecção de difícil tratamento, pois o fungo apresenta uma grande variabilidade antigênica. Além disso, por ser uma doença com evolução lenta, há baixa adesão ao tratamento. Outro ponto importante para a falha no tratamento, está relacionado a melhora parcial dos sinais e sintomas, levando ao abandono do tratamento e consequente piora no quadro infeccioso, além da indução de resistência frente aos fármacos (SHIKANAI-YASUDA et al, 2017).

Uma alternativa promissora para obtenção de novos fármacos no tratamento de doenças negligenciadas, como é o caso da Paracoccidioidomicose é o reposicionamento de fármacos. O reposicionamento consiste em utilizar medicamentos já existentes no mercado, ou até mesmo aqueles que estejam em fase de pesquisa experimental, e utilizá-los com outra finalidade. Essa metodologia, além de muito útil, tem demonstrado ser muito vantajosa, uma vez que os investimentos iniciais nas descobertas de novas moléculas são reduzidos. As únicas ferramentas necessárias são algoritmos computacionais e o auxílio da inteligência artificial (BUCKLE; COLS, 2013; GOES et al., 2014).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Buscar, através da análise *in silico*, uma nova forma de tratamento para a Paracoccidioidomicose.

2.2 Objetivos específicos

- Encontrar proteínas exclusivas presentes no *Paracoccidioides spp*;

- Caracterizar funcionalmente enzimas específicas do *Paracoccidioides spp*;
- Verificar o impacto dessas enzimas no metabolismo geral do fungo;
- Buscar alvos farmacológicos que apresenta interação as enzimas exclusivas do *Paracoccidioides spp*. a partir do reposicionamento de fármacos;
- Descrever quimicamente e farmacologicamente dos alvos encontrados.

3. METODOLOGIA

3.1 Análise *in silico* das proteínas exclusivas do *Paracoccidioides spp*.

Para buscar proteínas exclusivas do *Paracoccidioides spp*. foi feita uma breve revisão na literatura a partir das bases de dados de periódicos *on-line*, Google Acadêmico e Pubmed. Posteriormente, as sequências de aminoácidos das biomoléculas encontradas foram analisadas pela ferramenta *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST), disponível em <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>. No geral, essa ferramenta tem a capacidade de alinhar sequências de proteínas de vários organismos simultaneamente. Dessa forma, foi possível fazer o alinhamento de todas as enzimas presentes no ciclo do metil citrato e glioxilato com o proteoma humano.

3.2 Análise de bioinformática para caracterização funcional

Para classificação funcional das enzimas exclusivas do ciclo do metilcitrato e glioxilato foram utilizados os bancos de dados público *uniprot* (<https://www.uniprot.org/>) e *fungiDB* (<https://fungidb.org/fungidb/app>). Além disso, para localização celular foi utilizada a ferramenta *Protein Subcellular Localization Prediction* (Wolfpsort), disponível em <https://wolfpsort.hgc.jp/>, que tem como principal função prever o componente celular de uma determinada proteína a partir da sequência de aminoácidos. Basicamente, essa ferramenta faz uma busca na literatura dos trabalhos científicos publicados sobre a proteína pesquisada e apresenta como *output* a frequência dos principais componentes encontrados. Em seguida, foram feitas análises para determinar as características estruturais das proteínas metilcitrato desidrogenase, metilcitrato liase, malato sintase e isocitrato liase. Primeiramente, foi utilizado a ferramenta *Simple Modular Architecture Reserch Tool* (*smart protein*), disponível em <http://smart.embl-heidelberg.de/>, para verificar os domínios conservados de cada proteína. Posteriormente, foi utilizada a versão 2 do

Sequence Manipulation Suite (Sms2), <https://www.bioinformatics.org/sms2/>, para determinar o peso molecular, pKa e a hidrofobicidade de cada enzima.

3.3 Interação de proteínas

As redes de proteínas foram determinadas pelo *Protein-Protein Interaction Networks* (STRING) disponível em <https://string-db.org/>. Essa análise é realizada por meio da busca de indicadores presentes na literatura tais como banco de dados que descreve a proteína, artigos experimentais, genes vizinhos, gene fusionado (*operon*), co-ocorrência, co-expressão e homologia de proteínas. Dessa forma, o STRING disponibiliza a interação da proteína alvo com outras proteínas. Nesse trabalho, foram consideradas as 10 principais interações com maiores *scores* e com valor de p menor que 0,05.

3.4 Análise de drogabilidade

De acordo com Rocha (2015) análise de drogabilidade é a habilidade que uma proteína apresenta de interagir com alta afinidade com fármacos disponíveis no mercado ou em estudos pré-clínico. Para análise de drogabilidade foram utilizados os bancos de dados *DrugBank* e *Therapeutic Targets Database* (TTD) disponíveis em: <https://go.drugbank.com/> e <http://db.idrblab.net/ttd/>. Essas duas ferramentas tem a capacidade de buscar interações das proteínas estudadas com alvos farmacológicos experimentais e aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA) e Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Nesse trabalho, foram considerados como alvos farmacológicos as interações que apresentaram valor de p menor que 0,05.

3.5 Análise estatística

Para a análise de dados foram utilizadas planilhas eletrônicas da Microsoft Excel versão 2016. Foram feitas análises descritivas, com o cálculo das frequências absolutas e relativas, e a construção dos gráficos a partir dos valores calculados. Além disso, em todas as análises de bioinformáticas foram consideradas os testes estatísticos *default* de cada ferramenta com nível de significância de 0,05.

4. RESULTADOS

O desenvolvimento de novos medicamentos está cada vez mais complexo, uma vez que é necessário grandes investimentos para descoberta de novas

moléculas. Além disso, o período de comprovação clínica é outra barreira que pode retardar ou lentificar a descoberta de novas drogas. Com isso, as análises de drogabilidade/reposicionamento de fármacos juntamente com as ferramentas computacionais de bioinformática surgem como uma alternativa viável para tratamento de diversas doenças. Assim sendo, uma das primeiras etapas para prosseguir com o reposicionamento de medicamentos é fazer uma varredura no proteoma de microrganismos patogênicos para encontrar moléculas exclusivas em cada espécie. Nesse trabalho, a partir de revisões bibliográficas como por exemplo, Santos e colaboradores (2020) com o metabolismo de propionato, encontramos duas vias metabólicas exclusivas do fungo *Paracoccidioides spp.* sendo elas a via do glioxalato com 5 enzimas e ciclo do metilcitrato com 7 enzimas (Tabela 01).

Tabela 01. Proteínas presentes nos ciclos do glioxilato e metilcitrato e comparação com o proteoma humano.

Código	Proteína	Via metabólica	Humanos
PAAG_04559	Metilcitrato desidrogenase	Ciclo metilcitrato	Não
PAAG_03612	Aconitase	Ciclo metilcitrato/Ciclo do glioxalato	Sim
PAAG_04549	Metilisocitrato liase	Ciclo metilcitrato	Não
PAAG_04238	Succinato desidrogenase	Ciclo metilcitrato	Sim
PADG_08119	Fumarase	Ciclo metilcitrato	Sim
PAAG_00053	Malato desidrogenase	Ciclo metilcitrato/Ciclo do glioxalato	Sim
PAAG_04550	Metilcitrato sintase	Ciclo metilcitrato/Ciclo do glioxalato	Sim
PAAG_06951	Isocitrato liase	Ciclo do glioxalato	Não
PAAG_04542	Malato sintase	Ciclo do glioxalato	Não

A partir do alinhamento das proteínas do ciclo do metilcitrato e glioxalato observamos que a metil citrato desidrogenase e a metil citrato liase não estão presentes em humanos. Assim como o metilcitrato, o ciclo do glioxilato também possui 2 enzimas, Isocitrato liase e Malato sintase, que não está presente no proteoma humano. Assim sendo, no ciclo do metilcitrato em torno de 30% das enzimas não apresentam identidade com o genoma humano. Enquanto, na via do glioxilato aproximadamente 40% das proteínas regulatórias não são encontradas em humanos (Figura 04). Posteriormente, foram feitas análises para caracterização funcional das 4 proteínas exclusivas de *Paracoccidioides spp.* presentes no ciclo do metilcitrato e glioxilato. Assim sendo, observamos a localização celular de cada enzima, onde 50% estão presentes no citoplasma e outros 50% estão na

mitocôndria (Figura 05). Além disso, também foram analisadas os componentes celulares secundários e terciários dessas proteínas, uma vez que elas podem apresentar mais de uma função biológica dentro célula. Logo, na segunda localização destaca – se os componentes nucleares (25%), mitocôndria (25%) e citoplasma (50%). Na terceira localização, temos 50% classificadas como nucleares e 50% nos peroxissomos.

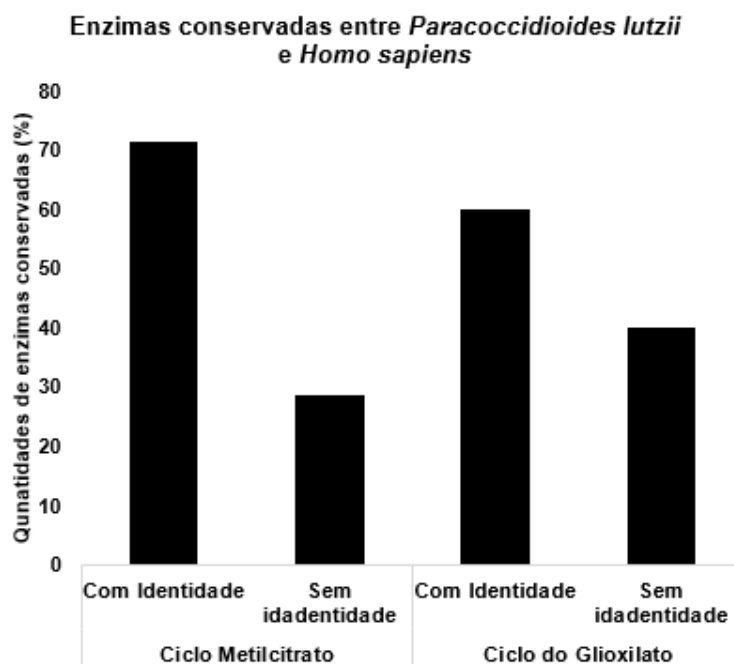
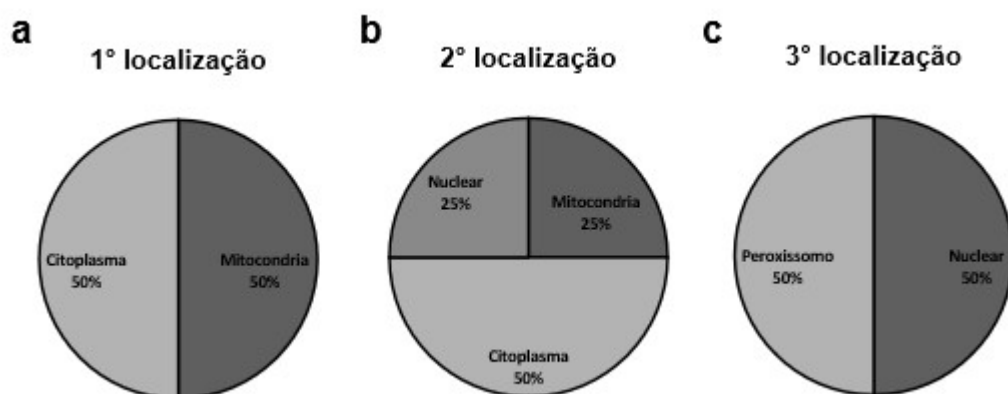


Figura 04. Quantidade de proteínas do ciclo do metilcitrato e glioilato que apresentaram identidade com o proteoma humano.

Com isso, temos que enzimas metilcitrato desidrogenase e metilcitrato liase estão localizadas no citoplasma e mitocôndria. Enquanto a isocitrato liase e a malato sintase já foram descritas no citoplasma, núcleo e mitocôndria. Essas mudanças de localização indicam que essas quatro proteínas podem apresentar mais de uma função biológica dentro da célula.



molecular o que facilita o transporte entre os componentes celulares. Além de que, todas as proteínas estão numa faixa de ponto hidrogeniônico (pH) alcalino, no qual variaram de 7.31 até 8,81 (Tabela 02). Assim sendo, essas moléculas apresentam uma melhor atividade em condições alcalinas e podem interagir melhor com biomoléculas ácidas em reações de ácido-base.

Tabela 02. Características químicas das enzimas exclusivas do ciclo do metilcitrato e glicoxilato.

Código	Proteína	Peso Molecular	Ponto isoeletrico	Hidrofobicidade
PAAG_04559	Metilcitrato desidrogenase	61.85 KDa	pH 8.51	-0,204
PAAG_04549	Metilisocitrato liase	66.63 KDa	pH 8.81	-0,437
PAAG_06951	Isocitrato liase	60.05 KDa	pH 7.30	-0,426
PAAG_04542	Malato sintase	59.37 KDa	pH 8.09	-0,4

Posteriormente, foram feitas análises de hidrofobicidade para verificar se essas moléculas são hidrossolúveis ou hidrofóbicas. Portanto, percebemos que todas as enzimas apresentaram scores menores que zero indicando características hidrofílicas. Logo depois das análises funcionais foram realizados ensaios de interações entre proteínas com objetivo de verificar o impacto das quatro enzimas no metabolismo geral do fungo (Figura 07).

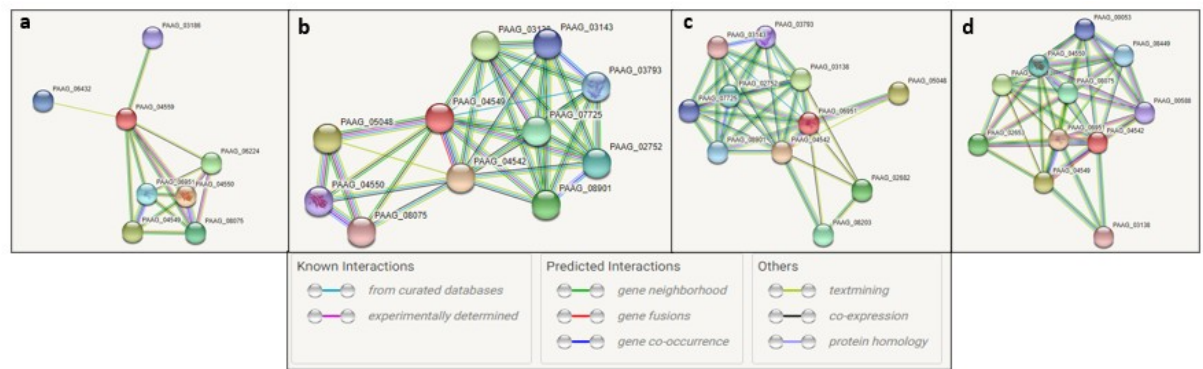


Figura 07. Redes de interações das enzimas metilcitrato desidrogenase, metilcitrato liase, isocitrato liase e a malato sintase com as 10 principais proteínas descritas na literatura.

Dessa forma, observamos que todas as proteínas analisadas apresentam interação com diversas enzimas do metabolismo celular. Logo, alguma interação ou inibição dessas enzimas podem acarretar alterações irreversíveis no metabolismo, principalmente energético ou anabólico, influenciando no crescimento fúngico e consequentemente reduzindo a taxa de sucesso durante um processo infeccioso.

Portanto, a posteriori, foram realizadas investigações de drogabilidade para buscar moléculas já existentes no mercado, seja experimental ou já aprovadas, que tem efeito farmacológico diferentes da sua origem. Nesse trabalho, quando comparamos as sequências de aminoácidos com os bancos de dados DrugBunk e TTD foram encontradas 13 moléculas experimentais e 2 já aprovadas e validadas no mercado (Tabela 03).

Tabela 03. Análise de drogabilidade das enzimas metilcitrato desidrogenase, metilcitrato liase, isocitrato liase e a malato sintase.

Código	Drug Bank	TTD	Fase
PAAG_04559	-	-	Experimental
PAAG_04549	Glyoxylic acid	-	Experimental
PAAG_06951	Glyoxylic acid/Isocitric Acid	PA-824/TVB-2640/FAS1/FAS2	Experimental
PAAG_04542	Glyoxylic acid	DM-99/EGS-21/Tesofensine/KW-2450/CLX-0900	Experimental
PAAG_04559	-	-	Aprovado
PAAG_04549	-	-	Aprovado
PAAG_06951	-	Cerulenin	Aprovado
PAAG_04542	-	Meglitinides/Metformin/Ryzodeq	Aprovado

Dentre as 13 moléculas identificadas no TTD e no DrugBunk destaca – se o ácido glioilico em fase experimental e o Cerulenin e Metformin já aprovados no mercado pela Anvisa e a FDA. No caso, o ácido glioilico é um precursor de várias vias metabólicas atuando com um mecanismo de retroalimentação negativa. Contudo, já o Cerulenin é um antifúngico utilizado em outras micoses que pode ser aproveitado como controle de qualidade nessas análises. Além de tudo, a metformin é um medicamento utilizado para diabetes *mellitus* tipo 2 que pode ser testada com atividade antifúngica.

5 – DISCUSSÃO

O tratamento farmacológico contra a paracoccidiodomicose, basicamente, consiste na administração da associação de anti-inflamatórios e antifúngicos que possuam efeito fungistáticos e fungicidas. Contudo, esses dois tipos de tratamentos apresentam longos períodos de recuperação. Além de tudo, sabe – se que a escolha da droga irá variar de acordo com as circunstâncias em que o paciente se encontra como, por exemplo, gravidade clínica, histórico prévio de resistência terapêutica, capacidade que este paciente possui de absorção gastrointestinal do fármaco a ser

administrado e associação a uma possível comorbidade. (AMBRÓSIO, et al, 2014). Assim sendo, percebe – se que é necessário o desenvolvimento de novos medicamentos contra a paracoccidiodomicose. Neste trabalho, foram encontradas 4 proteínas candidatas a teste terapêuticos com novos medicamentos, uma vez que essas enzimas são exclusivas do ciclo do metilcitrato e glioxilato. Esses resultados corroboram com os encontrados por Oliveira (2018) que descobriu 145 proteínas alvos e 811 drogas compatíveis. Ademais, com o auxílio de programas computacionais de bioinformática foram identificadas 46 proteínas com potenciais moléculas alvo de novos fármacos conservadas entre espécies.

A posteriori, as quatro proteínas encontradas foram submetidas a análise de componentes celulares, no qual observamos que 50% das proteínas estão localizadas no citoplasma e os outros 50% estão na mitocôndria. Assim sendo, esses resultados estão de acordo com grande parte da literatura clássica de metabolismo celular, uma vez que mais de 80% das enzimas participantes de vias metabólicas estão localizadas no citoplasma e na mitocôndria. Atualmente, sabe – se que o metabolismo energético, principalmente na oxidação de biomoléculas, ocorre principalmente no citoplasma e mitocôndria (LEHNINGER, NELSON & COX, 2014). Recentemente, Assunção e colaboradores (2020) mostraram que fungos como *Histoplasma capsulatum*, que apresenta semelhança filogenética com *P. brasiliensis*, que diversas vias metabólicas tais como glicólise, gliconeogênese, via das pentoses fóstato ocorrem no citoplasma. Enquanto, ciclo do ácido cítrico, fosforilação oxidativa, beta oxidação, ciclo do glioxilato são mediados na mitocôndria. No entanto, também já foi mostrado que diversas proteínas localizadas em uma organela também podem ser encontradas em outros componentes celulares. Dessa forma, essas proteínas que estão relacionadas a diversas funções biológicas são conhecidas como proteínas *moonlight* sendo características por apresentarem papel fundamental em diversos processos biológicos. Com isso, todas as proteínas foram submetidas as análises de caracterização funcional onde verificamos os principais domínios existentes, o peso molecular, ponto isoelétrico e hidrofobicidade. No geral, temos que cada proteína possui um domínio específico, no qual destaca – se PrpD, pep mutase e malato sintase. Enquanto, as outras características mostraram resultados semelhantes entre as proteínas, em que a maioria tem características básicas com ponto isoelétrico acima de 7,3. Além de

tudo, todas apresentaram características hidrossolúveis, uma vez que o score de hidrofobicidade foram negativos.

A partir de todas essas características é possível hipotetizar que fármacos com propriedades semelhantes podem apresentar melhor interação por essas proteínas. Em relação ao tratamento da paracoccidíomicose sabe-se que o fungo tem sensibilidade a maioria dos antifúngicos existentes no mercado, tais como as sulfonamidas, azóis, anfotericina B e terbinafina (AMBRÓSIO, et al, 2014). Dessa forma, podemos destacar duas classes de antifúngicos disponíveis no mercado para tratamento sendo eles os azólicos e as anfotericinas. No caso dos azólicos temos o itraconazol, cetoconazol e o voriconazol que geralmente são administrados por via oral de uma dose diária ou administrado via tópica de uma região específica afetada, sendo de difícil tratamento, pois em média o tratamento percorre um período de seis meses a um ano e meio. Além disso, também existem relatos na literatura que destacam interações medicamentosas dos azólicos com bloqueadores H₂ tais como o omeprazol. Sabe-se que a associação desses dois medicamentos por via oral pode comprometer o mecanismo de absorção reduzindo a eficiência e ação do antifúngicos (AMBRÓSIO, et al, 2014). Enquanto, as anfotericinas B são comumente usadas no tratamento do *Paracoccidioides spp.* por terem uma maior taxa de eficiência. No geral, esse medicamento é administrado por via intravenosa, num período de 3 a 6 horas diárias, com diluição em Sistema de Gestão Integrado (SGI) e concentração máxima de 10mg/ml. Além disso, o uso constante do medicamento exige a monitorização dos sinais vitais a cada trinta minutos, principalmente, que os pacientes acometidos por essa micose sistema são imunossuprimidos. Esse controle tem como função acompanhar e evitar reações adversas e anafiláticas, pois concentrações elevadas de anfotericina B podem aumentar a ação imune estimuladora hormonal/celular fazendo com que a produção de anticorpos e as reações de hipersensibilidade tardias sejam potencializadas. Além de tudo, já foi comprovado que esse medicamento tem ação nefrotóxica que pode se agravar se associado outros fármacos como, por exemplo, os aminoglicosídeos (AMBRÓSIO, et al, 2014). Ainda vale ressaltar que medidas não farmacológicas também são utilizadas para otimizar o resultado do tratamento como por exemplo dieta adequada, para promover a recuperação da desnutrição, caso presente e a interrupção do tabagismo e alcoolismo, caso o paciente seja usuário (AMBRÓSIO, et al, 2014).

6 – CONCLUSÃO

Portanto, a partir das análises de bioinformática foram descobertas quatro proteínas exclusivas (metilcitrato desidrogenase, metilcitrato liase, isocitrato liase e a malato sintase) de *Paracoccidioides spp.* que podem ser utilizadas como alvos terapêuticos. Além disso, as análises de reposicionamento revelaram 13 moléculas com alta afinidade pelas sequências de proteínas, em que 2 já são medicamentos aprovados pela Anvisa e pela FDA. Com isso, a Cerulenin e a Metformina que são usados no tratamento de alguns fungos específicos e para diabetes *mellitus* tipo 2 podem ser submetidos a ensaios clínicos para validação contra a paracoccidioidomicose.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA R. V. M de. **Filogenia Molecular das Enzimas Isocitrato Liase e Malato Sintase e sua Evolução em Viridiplantae**. Natal, Universidade Federal do Rio Grande do Norte: Centro de Biociências, Programa de Pós-Graduação em Sistemática e Evolução .2014.

AMBRÓSIO A. V. A.; CAMELO C. C. S.; BARBOSA C. V.; BRAZÕES F. A. de S.; RODRIGUES L. F.; AGUIAR R. A.; IQUEIRA V. S.; JARDIM V. B.; MOURA A. C. L.; SANTOS L. da S.; CRUZ S. G.; SIQUEIRA W. C.; ROCHA-SILVA F.; CALIGIORNE R. B.; GÓES A. M.; PEDROSO E. R. P. **Paracoccidioidomicose (doença de Lutz-SPLENDRE-almeida): tratamento, duração do tratamento, recidiva, reação paradoxal, prognóstico, profilaxia**. Belo Horizonte, Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical, Departamento de Clínica Médica, da Faculdade de Medicina da UFMG. 2014.

ANDRADE R. V. de. **Análise do Transcriptoma e da Expressão Diferencial de Genes de Micélio e Levedura de *Paracoccidioides brasilienses***. Brasília, Universidade de Brasília – UnB, Departamento de Biologia Celular, Laboratório de Biologia Molecular. 2006

ASSUNÇÃO L. DO P.; MORAES D.; SOARES L. W.; BAILÃO M. G. S-.; SIQUEIRA J. GOMES. DE.; BAEZA L. C.; BÃO S. N.; SOARES. C. M. DE A.; BAIÃO A. M. **Insights Into Histoplasma capsulatum Behavior on Zinc Deprivation.** Goiânia, Molecular Biology and Biochemistry Laboratory, Institute of Biological Sciences II, Federal University of Goiás (UFG) .2020.

COSTA R. L. B.; **Paracoccidioidomicose: Fatores Prognósticos Associados À Evolução Da Doença E Ao Abandono Do Tratamento.** Rio de Janeiro, Fundação Oswaldo Cruz, Instituto De Pesquisa Clínica Evandro Chagas. 2008.

DIAS P. C. R.; LERI R.; MARQUES S. A.; MARQUES M. E. A.; STOLF H.O.; **Paracoccidioidomicose cutânea: reveladora de doença sistêmica.** Botucatu, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (Unesp), Faculdade de Medicina de Botucatu. 2015.

GOMES E.; WINGETER M A.; SVIDZINSKI T. I. E. Dissociação Clínico-Radiológica Nas Manifestações Pulmonares Da Paracoccidioidomicose. Maringá, 2008.

GÓES A. M.; SILVA L. da S. S.; ARAÚJO S. de A; CRUZ S. G.; SIQUEIRA W. C.; PEDROSO E. R. P. **Paracoccidioidomicose (Doença De Lutz-Splendore-Almeida): Etiologia, Epidemiologia E Patogênese.** Belo Horizonte, Instituto de Ciências Biológicas; Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical, Depto. .2014.

LUIZ R. NUNES, REGINA COSTA DE OLIVEIRA, DANIELA BATISTA LEITE, VIVIAN SCHMIDT DA SILVA, EVERALDO DOS REIS MARQUES, MÁRCIA ELIANA DA SILVA FERREIRA, DIÓGENES CUSTÓDIO DUARTE RIBEIRO, LUCIANO ÂNGELO DE SOUZA BERNARDES, MARIA HELENA S. GOLDMAN, ROSANA PUCCIA, LUIZ R. TRAVASSOS, WAGNER L. BATISTA, MARINA PASETTO NÓBREGA, FRANCISCO G. NOBREGA, DING-YAH YANG, CARLOS A. DE BRAGANÇA PEREIRA, GUSTAVO H. GOLDMAN. **Transcriptome Analysis of *Paracoccidioides brasiliensis* Cells Undergoing Mycelium-to-Yeast Transition.** Eukaryotic Cell Dec 2005, 4 (12) 2115-2128; DOI: 10.1128/EC.4.12.2115-2128.2005.

LEHNINGER, T. M., NELSON, D. L. & COX, M. M. **Princípios de Bioquímica**. 6ª Edição, 2014. Ed. Artmed.

LUIZ R. NUNES, REGINA COSTA DE OLIVEIRA, DANIELA BATISTA LEITE, VIVIAN SCHMIDT DA SILVA, EVERALDO DOS REIS MARQUES, MÁRCIA ELIANA DA SILVA FERREIRA, DIÓGENES CUSTÓDIO DUARTE RIBEIRO, LUCIANO ÂNGELO DE SOUZA BERNARDES, MARIA HELENA S. GOLDMAN, ROSANA PUCCIA, LUIZ R. TRAVASSOS, WAGNER L. BATISTA, MARINA PASETO NÓBREGA, FRANCISCO G. NOBREGA, DING-YAH YANG, CARLOS A. DE BRAGANÇA PEREIRA, GUSTAVO H. GOLDMAN. **Transcriptome Analysis of *Paracoccidioides brasiliensis* Cells Undergoing Mycelium-to-Yeast Transition**. Eukaryotic Cell Dec 2005, 4 (12) 2115-2128; DOI: 10.1128/EC.4.12.2115-2128.2005.

LEHNINGER, T. M., NELSON, D. L. & COX, M. M. **Princípios de Bioquímica**. 6ª Edição, 2014. Ed. Artmed.

OLIVEIRA A. A. de. **Reposicionamento In Silico De Fármacos Para Tratamento Da Paracoccidioidomicose**. Goiânia, Universidade Federal De Goiás: Programa De Pós-Graduação Em Medicina Tropical E Saúde Pública. 2018.

Prado R. S. do. **Paracoccidioides: perfil proteômico após exposição à argetilactona, avaliação da inibição por argetilactona sobre isocitrato liase e padronização do método de micro-ensaio para as enzimas do ciclo do glioxilato**. Goiânia, Universidade Federal De Goiás Programa De Pós-Graduação Em Medicina Tropical E Saúde Pública. 2014.

PIMENTEL L. O. de L. **Papel da Hidrofobicidade na Evolução de Proteínas**. São José do Rio Preto, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campos de São José do Rio Preto. 2015.

ROCHA G. V. **Cálculos de Potenciais de Superfície para Análise de Drogabilidade**. Rio de Janeiro, Instituto Oswaldo Cruz Programa De Pós-Graduação Em Biologia Computacional E Sistemas. 2015.

SANTOS L. P. A. dos. **Metabolismo do propionato em Paracoccidioides lutzii**. Goiânia, Universidade Federal de Goiás Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública .2015.

SHIKANAI-YASUDA, M. A.; MENDES R.P.; COLOMBO A. L.; TELLES F. Q.; KONO A.; PANIAGO A. M. M.; NATHAN A.; FRANCISCONI DO VALLE A. C.; BAGAGLI E.; BENARD E.; FERREIRA M. S.; TEIXEIRA M. de M.; VERGARA M. L. S; PEREIRA R. M.; CAVALCANTE R. DE S.; HAHN R.; DURLACHER R. R.; KHOURY Z.; CAMARGO Z. P.; MORETTI M. L. MARTINEZ R. **Consenso Brasileiro em Paracoccidioidomicose**. Brasília, Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2006.