



ACESSO ABERTO

Data de Recebimento:

02/11/2024

Data de Aceite:

14/11/2024

Data de Publicação:

21/11/2024

***Autor correspondente:**

Renato Massaharu Hassunuma,
Doutorado em Odontologia (área
de concentração Biologia Oral),
Rua Luís Levorato, 140 - Chá-
caras Bauruenses, Bauru - SP,
17048-290. Telefone de contato:
(14) 3312-7000. E-mail: rhassu-
numa@gmail.com.

Citação:

HASSUNUMA, R.M; SOUSA,
A.R. CB-DOCK2®: recurso
on-line gratuito para detecção de
cavidades em proteínas guiada
por docagem cega. **Revista
Multidisciplinar em Educação
e Meio Ambiente**, v. 5, n. 4,
2024. [https://doi.org/10.51161/
integrar/rema/4503](https://doi.org/10.51161/integrar/rema/4503)

**CB-DOCK2®: RECURSO ON-LINE GRATUITO
PARA DETECÇÃO DE CAVIDADES EM PROTEÍNAS
GUIADA POR DOCAGEM CEGA**

Renato Massaharu Hassunuma^a, Aguinaldo Robinson de Souza^b.

^a Universidade Paulista, Câmpus Bauru. Rua Luís Levorato, 140 - Chácaras Bauruenses, Bauru - SP, 17048-290.

^b Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Faculdade de Ciências (FC), Câmpus Bauru. Av. Eng. Luís Edmundo Carrijo Coube, 2085 - Núcleo Residencial Presidente Geisel, Bauru - SP, CEP: 17033-360.

RESUMO

Introdução: a docagem cega consiste em uma investigação inicial em busca de cavidades de uma proteína que possam atuar como sítio ativo para um determinado ligante. Sua aplicação é importante especialmente no desenvolvimento e estudo inicial de novos fármacos, antes da realização de outros estudos de docagem molecular. **Objetivo:** apresentar uma análise do servidor web CB-Dock2® como ferramenta didática para apresentação de conceitos relativos à docagem cega. **Material e métodos:** foi desenvolvida uma proposta didática para o estudo e apresentação do servidor, usando como modelo os arquivos IBP.SDF e PDB 6M5D, referente respectivamente ao ibuprofeno e à albumina sérica humana. **Resultados:** as análises de docagem cega baseada em estrutura e em modelos usando o CB-Dock2® mostraram que a cavidade 5/F2 da ASH é a que apresenta a maior probabilidade de interação com o IBP. Pontos positivos e negativos sobre a aplicação didática do CB-Dock2® na apresentação de conceitos de docagem molecular e cega foram discutidos. **Conclusões:** Embora tenham sido observados alguns pontos negativos, como a disponibilidade do servidor apenas no idioma inglês e a ausência de um menu de ajuda para interpretação de resultados, estes podem ser facilmente resolvidos com a devida orientação de um supervisor ao usuário. Assim, o CB-Dock2® pode ser considerada uma ferramenta didática e acessível, especialmente para alunos de Ensino Superior para o desenvolvimento de pesquisas e para a introdução de conceitos referentes à docagem molecular e à docagem cega.

Palavras chaves: Bioinformática. Simulação de Acoplamento Molecular. Software. Materiais de ensino.

ABSTRACT

Introduction: blind docking consists of an initial investigation in search of cavities in a protein that can act as an active site for a given ligand. Its application is especially important in the development and initial study of new drugs, before carrying out other molecular docking studies. **Objective:** to present an analysis of the CB-Dock2® web server as a teaching tool for

DOI: 10.51161/integrar/
rema/4503

Editora Integrar© 2024.

Todos os direitos reservados.

presenting concepts related to blind docking. **Material and methods:** a didactic proposal was developed for the study and presentation of the server, using the IBP.SDF and PDB 6M5D files as a model, referring respectively to ibuprofen and human serum albumin. **Results:** Structure-based and model-based blind docking analyzes using CB-Dock2® showed that ASH cavity 5/F2 has the highest probability of interaction with IBP. Positive and negative points about the didactic application of the CB-Dock2® in the presentation of molecular and blind docking concepts were discussed. **Conclusions:** Although some negative points were observed, such as the availability of the server only in English and the absence of a help menu for interpreting results, these can be easily resolved with proper guidance from a supervisor to the user. Thus, the CB-Dock2® can be considered an accessible teaching tool, especially for Higher Education students for developing research and introducing concepts relating to molecular docking and blind docking.

Keywords: Bioinformatics. Molecular Docking Simulation. Software. Teaching materials.

1 INTRODUÇÃO

A docagem molecular, também conhecida como ancoragem ou docking molecular, é um método utilizado em Bioinformática no intuito de prever o posicionamento preferencial de um ligante à uma segunda molécula à qual a primeira está ligada de forma estável. De forma geral, a maioria dos programas de docagem molecular realizam duas etapas: uma primeira em que a conformação do ligante e de sua posição no sítio ativo são previstos; e uma segunda onde a afinidade de ligação entre os componentes é avaliada (MENG *et al.*, 2011).

Antes do processo de docagem molecular, é possível realizar-se uma pré-avaliação da interação entre um ligante e uma proteína, por exemplo, por meio de um processo denominado docagem cega, que consiste em avaliar toda superfície de uma proteína em busca da quantidade e localização de possíveis cavidades-alvo. Este processo envolve vários testes e cálculos para determinar uma ou mais posicionamentos favoráveis de um complexo ligante-proteína (HASSAM *et al.*, 2017).

Existem vários programas de docagem molecular cega disponíveis, sendo apresentado no presente estudo, o CB-Dock2® (*Cavity-detection guided blind docking*), o qual corresponde à segunda versão de um servidor web para docagem cega lançado originalmente em 2019 pelo Yang Cao Lab – *Structural Bioinformatics Research Group* da Universidade de Sichuan na China. O CB-Dock2® está disponível gratuitamente no link: <https://cadd.labshare.cn/cb-dock2/php/index.php> (YANG CAO LAB, 2021).

O servidor CB-Dock2® realiza a docagem cega por meio de duas estratégias de pesquisa de cavidades diferentes. A primeira corresponde à detecção de cavidades baseada na estrutura (*Structure-based cavity detection*), onde a localização das cavidades é realizada pelo algoritmo CurPocket®. Os resultados obtidos são usados para Docagem cega baseada em estrutura (*Structure-based blind docking*) realizada pelo programa AutoDock Vina®. A segunda corresponde à detecção de cavidades baseada em modelos (*Template-based cavity detection*), onde a localização das cavidades é realizada pelo algoritmo FitPocket®. Os resultados são usados para Docagem cega baseada em modelo (*Template-based blind docking*) realizada pelo programa FitDock® (LIU *et al.*, 2022).

Em termos de pesquisas, o CB-Dock2® foi amplamente utilizado em vários estudos de fitoterápicos empregados na Medicina Tradicional Chinesa, como a raiz de Huang Qi (*Astragalus membranaceus*) (TAO *et al.*, 2020), composto Shen Qi Wan (YE *et al.*, 2021), preparação injetável Xiyanping (XIA *et al.*, 2022), compostos derivados da videira Lei Gong Teng (*Tripterygium wilfordii*) (WANG *et al.*, 2021, 2022), óleo essencial da artemisia chinesa (*Artemisia argyi*) (LU *et al.*, 2022), composto *Shenbao Heji* (LV *et al.*, 2022),

entre outros.

Assim, programas computacionais como o CB-Dock2® são destinados especialmente para pesquisas na área farmacêutica, como por exemplo no desenvolvimento e descoberta de novos fármacos, na investigação de novos alvos terapêuticos, no estudo de possíveis interações entre ligantes e moléculas-alvo, no estudo de sistemas bioquímicos complexos, entre outros (HASSUNUMA; SOUZA, 2024).

Assim, o objetivo principal da presente pesquisa foi analisar os recursos do servidor on-line CB-Dock2®, no intuito de apresentar uma proposta didática de como o mesmo pode ser aplicado em sala de aula para apresentação de conceitos bioquímicos variados relacionados a docagem cega e a formação de complexos de ligantes com biomoléculas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A presente pesquisa foi realizada entre dezembro de 2022 a maio de 2024 e refere-se a um estudo narrativo de natureza aplicada, de abordagem qualitativa, com objetivo exploratório, visando o desenvolvimento de uma proposta de aplicação didática do software CB-Dock2® na apresentação de conceitos bioquímicos relacionados à docagem cega e à ligação entre ligantes e proteínas.

No intuito de apresentar o CB-Dock2® de forma prática serão utilizados como modelos o ibuprofeno (IBP) (IBUPROFEN, 2024) e a albumina sérica humana (ASH) (ITO *et al.*, 2020) na detecção de cavidades baseada na estrutura (*Structure-based cavity detection*) e em modelos (*Template-based cavity detection*), sendo apresentados a forma de obtenção e a comparação dos resultados obtidos por cada método.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Proposta didática de redocagem cega do ibuprofeno e da albumina sérica

Na presente pesquisa foi sugerida a redocagem cega da interação entre o ibuprofeno e a proteína albumina sérica humana. Embora já existam diversas pesquisas que tenham caracterizado muito bem a interação entre este ligante e a proteína mencionados (FASANO *et al.*, 2005; GHUMAN *et al.*, 2005), ambos foram escolhidos para serem usados como modelo para apresentação do CB-Dock2®.

O ibuprofeno (IBP) é um anti-inflamatório não esteroideal cuja ação decorre da inibição não seletiva da enzima ciclo-oxigenase-2, produzida nos tecidos durante o processo inflamatório. Esta inibição impede a síntese de prostaglandinas, importantes mediadores da inflamação (ORLANDO, LUCIDO, MALKOWSKI, 2015).

A albumina sérica humana (HSA) é a proteína mais abundante do plasma sanguíneo, sendo presente em concentração de 3,5 a 5 g/dL, um valor que representa a metade do conteúdo total de proteínas. Cerca de 10 a 15 g de HSA são secretadas no sangue pelo fígado diariamente. Suas principais funções são a manutenção da pressão osmótica plasmática, transporte de ligantes endógenos (bilirrubina, íons, ácidos graxos) e exógenos (drogas como o IBP, varfarina, metotrexato, e muitos outros). Pode ser utilizada como indicador de estado nutricional, função hepática, entre outros (MOMAN, GUPTA, VARACALLO, 2022).

3.2 Requisitos para o desenvolvimento da proposta didática de redocagem cega

Para a realização da atividade proposta, o professor necessita de computadores com acesso à internet para utilização do servidor web do CB-Dock2® e os arquivos com extensão .SDF e .PDB para o IBP e ASH, respectivamente. Os links de acesso para o servidor e download de arquivos estão apresentados no Quadro 1.

Quadro 1 – Links para acesso e obtenção de arquivos.

Objeto	Link	Ação
Arquivo SDF do IBP	https://www.rcsb.org/ligand/IBP	Clique no botão Download Files e selecione a opção Structure data file (Ideal SDF). O arquivo PDB será baixado em seu computador.
Arquivo PDB da ASH	https://www.rcsb.org/structure/6M5D	Clique no botão Download Files e selecione a opção PDB format. O arquivo PDB será baixado em seu computador.
CB-Dock2®	https://cadd.labshare.cn/cb-dock2/php/index.php	Utilização do servidor web CB-Dock2®

Fonte: Autores, 2024.

Vale ressaltar que o CB-Dock2® corresponde a um servidor web, não havendo versão disponível para download para uso em desktop ou versão off-line. Por isso, é importante que para o desenvolvimento da atividade proposta o acesso à internet seja disponibilizado.

3.3 Submissão de arquivos no CB-Dock2®

No servidor CB-Dock2® (Figura 1), o usuário deve fazer o carregamento (Upload) do arquivo PDB da proteína em Upload protein (Carregamento da proteína) (a), do arquivo SDF do ligante em Upload ligand (Carregamento do ligante) (b) e informar o e-mail do usuário em More parameters (Mais parâmetros) (c) caso deseje receber os resultados por e-mail. Após os arquivos serem carregados, o usuário pode clicar no Botão Search cavities (Buscar cavidades) (d) e/ou Auto blind docking (Docagem cega automática) (e) para, respectivamente localizar as cavidades da proteína e realizar a docagem cega entre o ligante e a proteína.

Figura 1 – Servidor CB-Dock2®.

The image shows the CB-Dock2 web interface. At the top, there is a logo for CB-Dock2 and the text "Cavity-detection guided Blind Docking". Below the logo are navigation buttons: Home, Dock, Example, Manual, and Contact. The interface is divided into three main sections, each marked with a letter in a circle:

- a** **Upload Protein**: "Select a protein file (pdb format)" with an example link "[Example: MDM2.pdb (PDB: 4HG7)]". Below this is a dashed box containing an upload icon and the text "Choose or drop a protein file here".
- b** **Upload Ligand**: "Select a ligand file (mol2, mol, sdf, pdb format)" with an example link "[Example: Nutlin-3a.sdf]". Below this are two buttons: "Upload Local" and "Draw Ligand". Underneath is a dashed box with an upload icon and the text "Choose or drop a ligand file here".
- c** **More parameters**: "Other customizable parameters". Below this is a text input field with the placeholder "Enter your email address to receive the results (optional)".

At the bottom of the interface are two buttons: **d** "Search Cavities" and **e** "Auto Blind Docking".

Fonte: YANG CAO LAB, 2021.

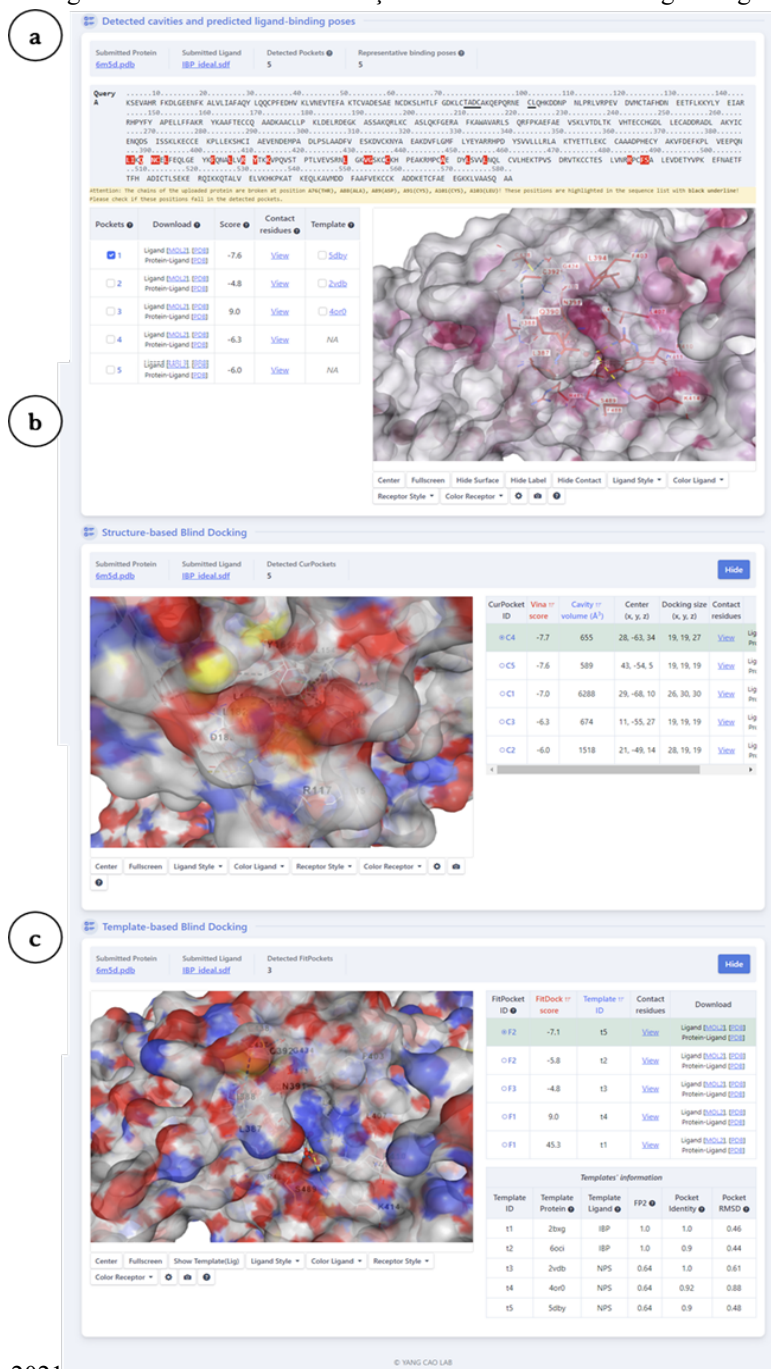
Para efetuar o carregamento dos arquivos, o usuário pode escolher o arquivo salvo no computador clicando com o botão esquerdo do mouse sobre o link *Choose or drop a protein file here* (Escolha ou arraste um arquivo de proteína aqui) ou pode arrastar o arquivo a ser submetido até a área pontilhada.

A localização de resultados e a docagem cega são processos complexos e relativamente demorados, podendo variar de alguns segundos até um pouco mais de um minuto dependendo dos arquivos submetidos (sendo que o tempo aumenta de acordo com o tamanho da proteína). Caso leve muito tempo, é sugerido que o usuário atualize a página (Liu *et al.*, 2022).

3.4 Guia de resultados de detecção de cavidades e de docagem cega

Após clicar no link: *View Result* (Observar resultado) na Seção *Submitted Jobs* (Trabalhos submetidos), que aparece após o carregamento dos arquivos, será aberta uma nova guia no navegador de internet (Figura 2), a qual apresenta os resultados de cavidades detectadas e poses de ligação de ligante previstas (*Detected cavities and predicted ligand-binding poses*) (a); docagem cega baseada em estrutura (*Structure-based blind docking*) (b); e docagem cega baseada em modelo (*Template-based blind docking*) (c).

Figura 2 – Resultados de detecção de cavidades e de docagem cega.



Fonte: YANG CAO LAB, 2021.

3.4.1 Resultados de cavidades detectadas e poses de ligação de ligante previstas (Detected cavities and predicted ligand-binding poses)

A seção Cavidades detectadas e poses de ligação de ligante previstas (Detected cavities and predicted ligand-binding poses) (Figura 3) é subdividida em quatro subseções:

- Informações gerais (a);
- Sequência de resíduos de aminoácidos da proteína analisada - Consulta A (Query A) (b);
- Quadro de informações sobre as cavidades (c);
- Visualizador NGL® (NGL®-viewer) (d).

Figura 3 – Cavidades detectadas e poses de ligação de ligante previstas.

a

Submitted Protein: 6m5d.pdb
Submitted Ligand: IBP_ideal.sdf
Detected Pockets: 5
Representative binding poses: 5

b

Query A
KSEVAHR FKDLGEENFK ALVLIAFAQY LQCCPFEDHV KLVNIEVTEFA KTCVADESAE NCKSLHTLF GDKLCTADCAKQEPQRIE CLQHKDDNP NLPRLVRPEV DVNCTAFHON EETFLKLYLY EIAR
RHPYFY APELLFFAKR YKAAFTCCQ AADKAACLLP KLDELREDEK ASSAQRLKC ASLQKGERA FKANAVARLS QRFPKAEFAE VSKLVDTLK VHTCCGSDL LECADRADL AKYIC
ENQDS ISSKLEKCE KPLLEKSHCI AEVENDEHPA DLPLAADPV ESKDVCKIYA EAKDVFLGNF LYEYARRHPD YSVLLRLRA KYVETTLKCC CAADPHCEY AKVDFEKPL VEEPQN
YEQQLGE YQVMAIAG ITPVQVST PTLVEVSRID GVEKCSQH PEAKRPPCE DYSVYQL CVLHEKTPVS DRVTKCCTES LVHSPCSA LEVDETVPK EFNATF
TFH ADICTLSEKE RQIKKQALV ELVKHKPKAT KEQLKAVDD FAAFVEKCKC ADDKCTFAE EGKLVASQ AA

c

Pockets	Download	Score	Contact residues	Template
<input checked="" type="checkbox"/> 1	Ligand [MOL] [EDS] Protein-Ligand [EDS]	-9.0	View	<input type="checkbox"/> 6oci
<input type="checkbox"/> 2	Ligand [MOL] [EDS] Protein-Ligand [EDS]	-4.8	View	<input type="checkbox"/> 2ydb
<input type="checkbox"/> 3	Ligand [MOL] [EDS] Protein-Ligand [EDS]	12.4	View	<input type="checkbox"/> 4or0
<input type="checkbox"/> 4	Ligand [MOL] [EDS] Protein-Ligand [EDS]	-6.3	View	NA
<input type="checkbox"/> 5	Ligand [MOL] [EDS] Protein-Ligand [EDS]	-6.0	View	NA

d

Center Fullscreen Hide Surface Hide Label Hide Contact Ligand Style Color Ligand Receptor Style Color Receptor

Fonte: YANG CAO LAB, 2021.

As informações apresentadas em cada uma das subseções estão sumarizadas no Quadro 2.

Quadro 2 – Subseções de cavidades detectadas e poses de ligação de ligante previstas.

Subseção	Informações apresentadas
Informações gerais	<ul style="list-style-type: none"> • Proteína submetida (<i>Submitted protein</i>): apresenta o código PDB do arquivo da proteína submetida; • Ligante submetido (<i>Submitted ligand</i>): apresenta o arquivo do ligante submetido; • Cavidades detectadas (<i>Detected pockets</i>): apresenta o número de cavidades detectadas, definida previamente pelo usuário. Cavidades que apresentem uma sobreposição de resíduos acima de 50% são consideradas as mesmas cavidades; • Poses de ligação representativas (<i>Representative binding poses</i>): indica o número de poses com o valor da raiz quadrada do desvio quadrático médio das posições atômicas (RMSD), sendo que valores abaixo de 2 Å são consideradas as poses idênticas.
Sequência de resíduos de aminoácidos da proteína analisada - Consulta A (Query A)	<ul style="list-style-type: none"> • Sequência de resíduos de aminoácidos da proteína submetida, denominada Consulta A (<i>Query A</i>); • Observações gerais sobre o arquivo submetido

Quadro de informações sobre as cavidades	<ul style="list-style-type: none">• Cavidades (<i>Pockets</i>): indica a numeração de cada cavidade da proteína;• Baixar (<i>Download</i>): permite que o usuário baixe um arquivo no formato MOL2 ou PDB do ligante (Ligand [MOL2], [PDB]) ou do complexo proteína-ligante no formato PDB (<i>Protein-Ligand [PDB]</i>) com a melhor posição prevista para cada cavidade;• Pontuação (<i>Score</i>): corresponde ao menor valor obtido a partir do cálculo do RMSD entre as melhores poses obtidas por cada método de docagem;• Resíduos de contato (<i>Contact residues</i>): indica os resíduos de contato em relação à melhor posição em cada cavidade. O link View abre uma janela que mostra a pontuação e os resíduos de contato de cada cavidade;• Modelo (<i>Template</i>): indica o arquivo PDB usado como modelo para detecção de cavidades. A abreviatura NA (<i>No Archive</i>) indica que não foram encontrados arquivos PDB para serem usados como modelo.
--	---

Visualizador NGL® (NGL®-viewer)	<p>Apresenta comandos que permitem personalizar a exibição da molécula:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Centro (<i>Center</i>); • Tela cheia (<i>Fullscreen</i>); • Esconder superfície (<i>Hide surface</i>); • Esconder legendas (<i>Hide labels</i>); • Esconder ligações químicas (<i>Hide contact</i>); • Estilo do ligante (<i>Ligand style</i>): exibe o ligante nos modos bola e varetas (<i>ball&stick</i>), preenchimento de espaço (<i>spacefill</i>), varetas (<i>licorice</i>) e superfície (<i>surface</i>); • Cor do ligante (<i>Color ligand</i>): por elemento químico (<i>by element</i>), por ligante (<i>by ligand</i>) ou monocromático (<i>uniform</i>); • Estilo do receptor (<i>Receptor style</i>): desenho (<i>cartoon</i>), cadeia principal (<i>backbone</i>), preenchimento de espaço (<i>spacefill</i>), varetas (<i>licorice</i>), superfície (<i>surface</i>); • Cor do receptor (<i>Receptor color</i>): por cadeia (<i>by chain</i>), por estrutura secundária (<i>by secondary structure</i>), por hidrofobicidade (<i>by hydrophobicity</i>), por elemento químico (<i>by element</i>), pelo fator-B (<i>by B-factor</i>) ou monocromático (<i>uniform</i>); • Botão de Configurações (<i>Settings</i>); • Botão de Salvar figura (<i>Save picture</i>); • Botão de Menu de ajuda.
---------------------------------	---

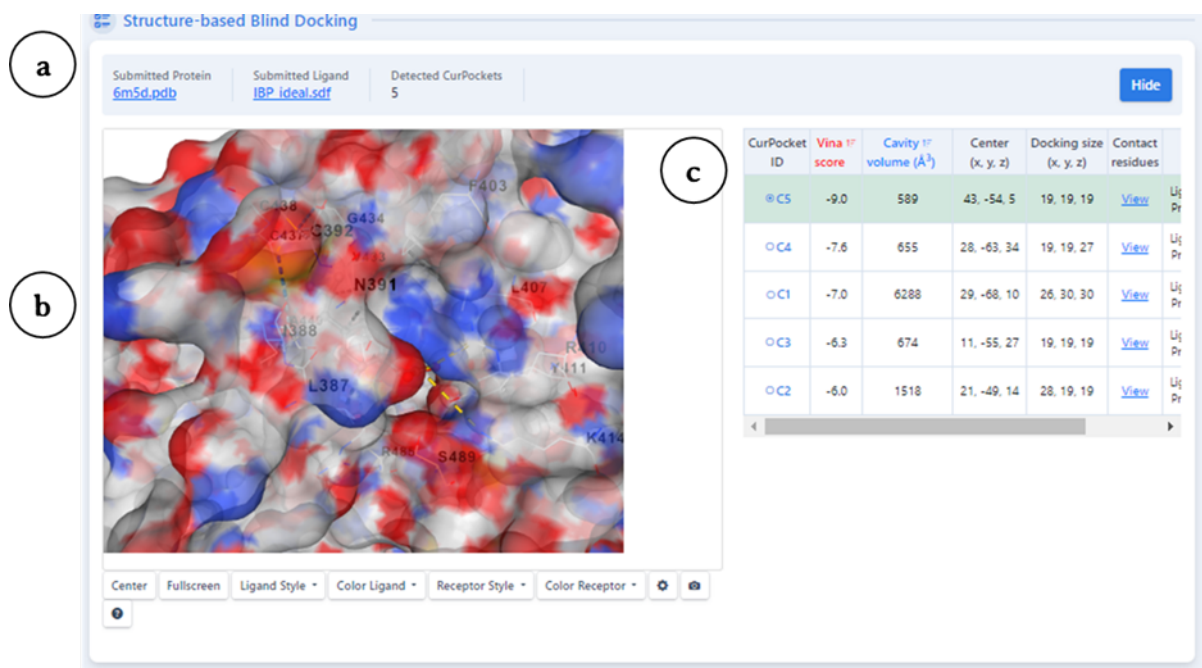
Fonte: Autores, 2024.

3.4.2 Resultados de docagem cega baseada em estrutura (*Structure-based blind docking*)

A docagem cega baseada em estrutura (*Structure-based blind docking*) utiliza o algoritmo CurPocket® para localização das cavidades da proteína e o programa AutoDock Vina® para obter os resultados de docagem cega. O CurPocket® é um programa computacional que analisa as curvaturas da superfície da proteína (ou seja, suas cavidades) no intuito de prever os sítios de ligação (LIU et al., 2020; LIU et al., 2022). Os resultados desta análise (Figura 4) são apresentados em três subseções:

- Informações gerais (a);
- Visualizador NGL® (*NGL®-viewer*) (b).
- Quadro de resultados (c).

Figura 4 – Docagem cega baseada em estrutura.



Fonte: YANG CAO LAB, 2021.

As informações apresentadas em cada uma das subseções estão sumarizadas no Quadro 3.

Quadro 3 – Subseções da docagem cega baseada em estrutura.

Subseção	Informações apresentadas
Informações gerais	<ul style="list-style-type: none"> • Proteína submetida (<i>Submitted protein</i>): apresenta o código PDB do arquivo da proteína submetida; • Ligante submetido (<i>Submitted ligand</i>): apresenta o arquivo do ligante submetido; • Cavidades detectadas (<i>Detected pockets</i>): apresenta o número de cavidades detectadas, definida previamente pelo usuário; • Botão ocultar (<i>Hide</i>): oculta os resultados apresentados.
Visualizador NGL® (NGL®-viewer)	Apresenta comandos que permitem personalizar a exibição da molécula, conforme apresentado anteriormente no Quadro 2.

<p>Quadro de resultados</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Código de identificação da cavidade (<i>Cur-Pocket ID</i>): indica a numeração da cavidade; • Pontuação Vina (<i>Vina score</i>): corresponde ao resultado de docagem cega baseada em estrutura obtido pelo AutoDock Vina®; • Volume da cavidade (<i>Cavity volume</i>): indica o tamanho da cavidade em angstroms (Å); • Centro (<i>Center</i>): indica a posição do centro da cavidade nos eixos x, y e z; • Tamanho do sítio de ligação (<i>Docking size</i>): o tamanho da cavidade nos eixos x, y e z; • Resíduos de contato (<i>Contact residues</i>): ao clicar no link <i>View</i>, exibe todos os resíduos da cavidade que interagem com o ligante; • Baixar (<i>Download</i>): permite baixar um arquivo no formato MOL2 ou PDB do ligante (<i>Ligand [MOL2], [PDB]</i>) ou do complexo proteína-ligante no formato PDB (<i>Protein-Ligand [PDB]</i>).
-----------------------------	--

Fonte: Autores, 2024.

Na docagem cega baseada em estrutura (*Structure-based blind docking*) são determinadas as cavidades da proteína que possuem maior chance de atuarem como sítio de ligação. Por meio do valor Vina (*Vina score*), é possível determinar qual cavidade da proteína apresenta a maior chance de interagir com o ligante (HASSUNUMA, SOUZA, 2024).

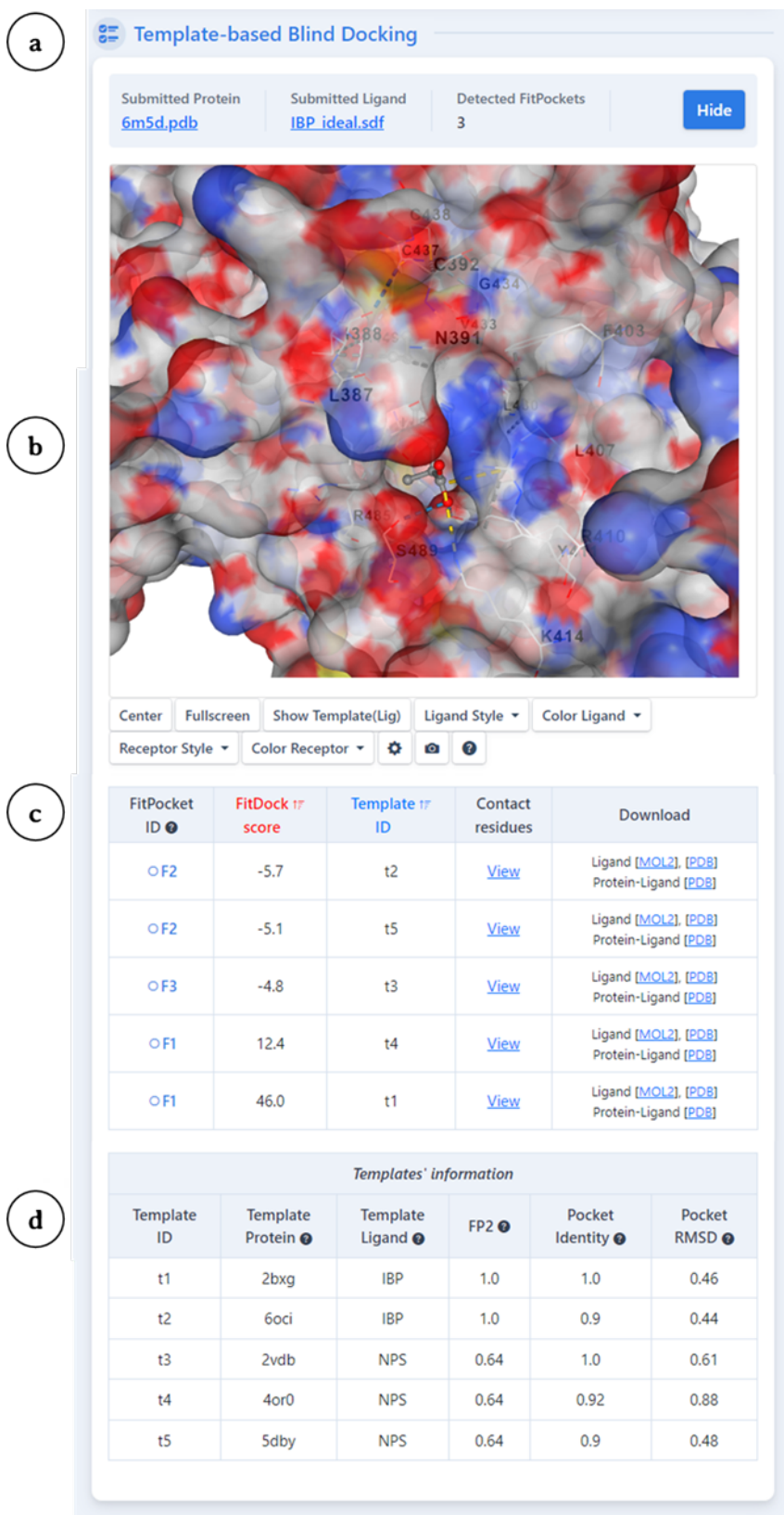
No exemplo apresentado, a cavidade que apresenta a maior chance de interação com o ligante corresponde à C5, pois apresenta um menor valor Vina. Entretanto, vale ressaltar que estes são resultados iniciais e a confirmação dos resultados e investigação dos demais sítios de interação que devem ser realizados por meio de outros recursos de docagem molecular.

3.4.3 Resultados de docagem cega baseada em modelo (*Template-based blind docking*)

A docagem cega baseada em modelo (*Template-based blind docking*) utiliza o algoritmo FitPocket® para localização das cavidades da proteína e o programa FitDock® para obter os resultados de docagem cega. O FitPocket® avalia possíveis conformações do ligante no sítio ativo da proteína e gera poses de docagem refinadas, avaliando a afinidade do complexo ligante-proteína (YANG *et al.*, 2022). Os resultados desta análise (Figura 5) são apresentados em quatro subseções:

- Informações gerais (a);
- Visualizador NGL® (NGL®-viewer) (b).
- Quadro de resultados (c);
- Informações dos modelos (d).

Figura 5 – Docagem cega baseada em modelo.



Fonte: YANG CAO LAB, 2021.

As informações apresentadas em cada uma das subseções estão sumarizadas no Quadro 4.

Quadro 4 – Subseções da docagem cega baseada em modelo.

Subseção	Informações apresentadas
Informações gerais	<ul style="list-style-type: none"> • Proteína submetida (<i>Submitted protein</i>): apresenta o código PDB do arquivo da proteína submetida; • Ligante submetido (<i>Submitted ligand</i>): apresenta o arquivo do ligante submetido; • Cavidades detectadas (<i>Detected pockets</i>): apresenta o número de cavidades detectadas, definida previamente pelo usuário; • Botão ocultar (<i>Hide</i>): oculta os resultados apresentados.
Visualizador NGL® (NGL®-viewer)	Apresenta comandos que permitem personalizar a exibição da molécula, conforme apresentado anteriormente no Quadro 2.
Quadro de resultados	<ul style="list-style-type: none"> • Código de identificação da cavidade (<i>FitPocket ID</i>): indica a numeração da cavidade; • Pontuação FitDock (<i>FitDock score</i>): corresponde ao resultado de docagem cega baseada em modelo obtido pelo FitDock®; • Código de identificação do modelo (<i>Template ID</i>): indica a numeração do modelo usado para comparação; • Resíduos de contato (<i>Contact residues</i>): ao clicar no link View, exibe todos os resíduos da cavidade que interagem com o ligante; • Baixar (<i>Download</i>): permite baixar um arquivo no formato MOL2 ou PDB do ligante (<i>Ligand [MOL2], [PDB]</i>) ou do complexo proteína-ligante no formato PDB (<i>Protein-Ligand [PDB]</i>).

<p>Informações dos modelos</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Código de identificação do modelo (Template ID): indica o código do modelo; • Proteína modelo (Template protein): corresponde ao arquivo PDB da proteína usada como modelo; • Ligante modelo (Template ligand): corresponde ao código do ligante usado como modelo no site RCSB PDB; • Similaridade de topologia (FP2): indica a similaridade entre o ligante modelo e o submetido, sendo que o valor 1,0 corresponde a 100% de similaridade e assim por diante; • Identidade da cavidade (Pocket identity): indica a similaridade na sequência de resíduos na região da cavidade da proteína modelo e a consultada, sendo que o valor 1,0 corresponde a 100% de similaridade e assim por diante; • RMSD da cavidade (Pocket RMSD): indica o valor da raiz quadrada do desvio quadrático médio das posições atômicas (RMSD).
--------------------------------	---

Fonte: Autores, 2024.

Da mesma forma que a mostrada anteriormente, na docagem cega baseada em modelo (*Template-based blind docking*) são determinadas as cavidades da proteína que possuem maior chance de atuarem como sítio de ligação, porém desta vez usando o valor FitDock (*FitDock score*), o qual indicará qual cavidade da proteína apresenta a maior chance de interagir com o ligante (HASSUNUMA, SOUZA, 2024).

No exemplo apresentado, a cavidade que apresenta a maior chance de interação com o ligante corresponde à F2, pois apresenta um menor valor FitDock. Comparando os resíduos da cavidade 5 (indicada pela docagem cega baseada em estrutura) com a F2 (indicada pela docagem cega baseada em modelo), observa-se tratam-se da mesma cavidade. Assim sendo, neste caso, os resultados de ambos tipos de docagem cega realizada pelo CB-Dock2 sugerem que a cavidade 5/F2 da ASH é a que apresenta a maior chance de interação com o IBP.

Assim como na docagem cega baseada em estrutura são necessários outros recursos de docagem molecular para confirmar o resultado obtido e verificar a interação do ligante com os demais sítios ativos da proteína.

3.4.4 Pontos positivos e negativos observados na elaboração da proposta didática para o CB-Dock2

Após a análise do servidor web CB-Dock2®, foram observados alguns pontos positivos e negativos para sua utilização em sala de aula, os quais estão sumarizados no Quadro 5.

Quadro 5 - Lista de pontos positivos e negativos observados

Pontos negativos	Pontos positivos
O programa está disponibilizado apenas no idioma inglês.	Existem publicações sobre a utilização CB-Dock2 em língua portuguesa (HASSUNUMA; SOUZA, 2024), incluindo o presente estudo.
A docagem molecular e a docagem cega são assuntos complexos para alunos de ensino médio e pouco abordados para alunos de ensino superior.	O CB-Dock2 pode ser utilizado para introduzir a docagem cega como ferramenta de Bioinformática no desenvolvimento de novos fármacos.
A interpretação dos resultados pode ser complicada sem uma devida orientação ou sem um material de apoio.	A utilização do programa é bastante simples e intuitiva, sendo obtidos resultados com poucos comandos.
Os resultados obtidos são apenas uma investigação inicial sobre uma possível interação entre ligante e proteína, sendo necessários outros recursos de docagem molecular para avaliar os resultados.	O servidor permite uma introdução rápida e uma abordagem simples a docagem molecular e cega.
O CB-Dock2 é um servidor on-line e seu uso depende de internet disponível.	O programa é gratuito, disponível na internet e não requer computadores de configurações avançadas.

Fonte: Autores, 2024.

4 CONCLUSÕES

A docagem cega corresponde a uma abordagem inicial no processo de docagem molecular, onde é realizada a investigação de toda a superfície de uma proteína no intuito de localizar as cavidades que possam atuar como possíveis sítios de ligação. Trata-se de um excelente recurso, por exemplo, na área de indústria e pesquisa farmacêutica para o estudo de possíveis candidatos a medicamentos e no estudo de como diferentes fármacos atuam no metabolismo celular.

A análise do servidor web CB-Dock2® mostrou que se trata de uma ferramenta de pesquisa bastante intuitiva e de fácil utilização, podendo ser obtidos resultados de docagem molecular sem gastos em compras de programas e na obtenção de arquivos necessários. Por meio de poucos comandos e num tempo relativamente curto, é possível o usuário obter resultados de docagem cega baseada em estrutura e em modelos computacionais relevantes.

Embora tenham sido observados alguns pontos negativos, como a disponibilidade do servidor apenas no idioma inglês e a ausência de um menu de ajuda para interpretação de resultados, estes pontos podem ser superados com a devida orientação de um supervisor ao usuário. Assim, o CB-Dock2® pode ser uma ferramenta didática e acessível, especialmente para alunos de Ensino Superior para o desenvolvimento de pesquisas e para a introdução à docagem molecular e à docagem cega.

CONFLITO DE INTERESSE

Não há conflito de interesse na presente pesquisa.

REFERÊNCIAS

FASANO, M.; CURRY, S.; TERRENO, E.; GALLIANO, M.; FANALI, G.; NARCISO, P.; NOTARI, S.; ASCENZI, P. The extraordinary ligand binding properties of human serum albumin. **I. U. B. M.**

B. Life, v. 57, n. 12., p. 787-96, 2005 Dec. Disponível em: <https://iubmb.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1080/15216540500404093>. Acesso em: 28 mai. 2024.

GHUMAN, J.; ZUNSZAIN, P. A.; PETITPAS, I.; BHATTACHARYA, A. A.; OTAGIRI, M.; CURRY, S. Structural basis of the drug-binding specificity of human serum albumin. **J. Mol. Biol.**, v. 353, n. 1, p. 38-52, 2005 Oct. 14. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022283605008855>. Acesso em: 28 mai. 2024.

HASSAN, N. M.; ALHOSSARY, A. A.; MU, Y.; KWOH, C. K. Protein-ligand blind docking using Quickvina-w with inter-process spatio-temporal integration. **Sci. Rep.**, v. 7, n. 1, p. 15451, 2017 Nov. 13. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5684369/>. Acesso em: 27 mai. 2024.

HASSUNUMA, R. M.; SOUZA, A. R. **CB-Dock2**: implementando a detecção de cavidades em proteínas guiada por docagem cega. Bauru: Canal 6 Editora, 2024. Disponível em: <https://canal6.com.br/livreacesso/livro/cb-dock2-implementando-a-deteccao-de-cavidades-em-proteinas-guiada-por-docagem-cega/>. Acesso em: 27 mai. 2024.

IBUPROFEN. 2024. Disponível em: <https://www.rcsb.org/ligand/IBP>. Acesso em: 27 mai. 2024.

ITO, S.; SENOO, A.; NAGATOISHI, S.; YAMAMOTO, M.; TSUMOTO, K.; WAKUI, N. Crystal structure of human serum albumin. 2020 Dec. 09. Disponível em: <https://www.rcsb.org/structure/1AO6>. Acesso em: 27 mai. 2024.

LIU, Y.; GRIMM, M.; DAI, W. T.; HOU, M. C.; XIAO, Z. X.; CAO, Y. CB-Dock: a web server for cavity detection-guided protein-ligand blind docking. **Acta Pharmacol. Sin.**, v. 41, n. 1, p. 138-44, 2020. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41401-019-0228-6>. Acesso em: 30 mai. 2024.

LIU, Y.; YANG, X.; GAN, J.; CHEN, S.; XIAO, Z. X.; CAO, Y. CB-Dock2: improved protein-ligand blind docking by integrating cavity detection, docking and homologous template fitting. **Nucleic. Acids Res.**, v. 50, n. W1, p. W159-64, 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9252749/>. Acesso em: 27 mai. 2024.

LU, S. T.; TANG, L. L.; ZHOU, L. H.; LAI, Y. T.; LIU, L. X.; DUAN, Y. Study on the multitarget mechanism and active compounds of essential oil from *Artemisia argyi* treating pressure injuries based on network pharmacology. **Evid. Based Complement. Alternat. Med.**, v. 2022, p. 1019289, 2022 Jan. 19. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8791709/>. Acesso em: 27 mai. 2024.

LV, H.; WANG, J.; ZHU, Y.; JIANG, T. Study on the mechanism of compound kidney-invigorating granule for osteoporosis based on network pharmacology and experimental verification. **Evid. Based Complement. Alternat. Med.**, v. 2022, p. 6453501, 2022 Jan. 4. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8752261/>. Acesso em: 27 mai. 2024.

MENG, X. Y.; ZHANG, H. X.; MEZEI, M.; CUI, M. Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. **Curr. Comput. Aided. Drug Des.**, v. 7, n. 2, p. 146-57, 2011 Jun. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3151162/>. Acesso em: 27 mai. 2024.

MOMAN, R. N.; GUPTA, N.; VARACALLO, M. Physiology, Albumin. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2022 Jan. 4. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459198/>. Acesso em: 28 mai. 2024.

ORLANDO, B. J.; LUCIDO, M. J.; MALKOWSKI, M. G. The structure of ibuprofen bound to cyclooxygenase-2. **J. Struct. Biol.**, v. 189, n. 1, p. 62-6, 2015 Jan. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4411162/>.

[nih.gov/pmc/articles/PMC4276492/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4276492/). Acesso em: 28 mai. 2024.

TAO, Y. G.; HUANG, X. F.; WANG, J. Y.; KANG, M. R.; WANG, L. J.; XIAN, S. X. Exploring molecular mechanism of huangqi in treating heart failure using network pharmacology. **Evid. Based Complement. Alternat. Med.**, n. 2020, p. 6473745, 2020 Apr. 23. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7195658/>. Acesso em: 27 mai. 2024.

WANG, F.; AN, S. J.; YIN, Y.; LI, J. J.; SUN, C. H.; LAN, J.; ZHAO, W. J.; LI, C. Q. Triptolide is a promising therapeutic approach in treating thyroid cancer based on in silico and in vitro experiment. **Drug Des. Dev. Ther.**, v. 15, p. 4275-87, 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8523527/>. Acesso em: 27 mai. 2024.

WANG, X.; LIU, Q.; WU, S.; XU, N.; LI, H.; FENG, A. Identifying the effect of celastrol against ovarian cancer with network pharmacology and in vitro experiments. **Front. Pharmacol.**, v. 13, p. 739478, 2022 Mar. 18. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8971755/>. Acesso em: 27 mai. 2024.

XIA, L. J.; ZHANG, L. M.; YANG, K.; CHEN, T.; YE, X. W.; YAN, Z. J. The pharmacological mechanism of xiyanping injection for the treatment of novel coronavirus pneumonia (Covid-19): based on network pharmacology strategy. **Evid. Based Complement. Alternat. Med.**, v. 2022, p. 9152201, 2022 Jul. 8. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9271007/>. Acesso em: 27 mai. 2024.

YANG CAO LAB: Structural bioinformatics research group, 2021. Disponível em: <http://cao.labshare.cn/clab/index.html>. Acesso em: 27 mai. 2024.

YANG, X.; LIU, Y.; GAN, J.; XIAO, Z. X.; CAO, Y. FitDock: protein-ligand docking by template fitting. **Brief Bioinform.**, v. 23, n. 3, p. bbac087, 2022 May 13. Disponível em; <https://academic.oup.com/bib/article/23/3/bbac087/6548375>. Acesso em: 30 mai. 2024.

YE, X. W.; DENG, Y. L.; ZHANG, X.; LIU, M. M.; LIU, Y.; XIE, Y. T.; WAN, Q.; HUANG, M.; ZHANG, T.; XI, J. H.; ZHANG, J. L. Study on the mechanism of treating COVID-19 with Shenqi Wan based on network pharmacology. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, v. 47, n. 8, p. 1279-89, 2021 Aug. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/03639045.2021.1989453>. Acesso em: 27 mai. 2024.