



Serviço Público Federal  
Ministério da Educação

**Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul**



**Bruna Paula Gonçalves Gandarillas**

**Peptídeos da peçonha de escorpiões e sua interação com  
o canal Nav1.7: revisão bibliográfica e modelagem  
molecular**

CAMPO GRANDE – MS

Novembro – 2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL – UFMS

*Campus de CAMPO GRANDE*

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS - INBIO

## **Peptídeos da peçonha de escorpiões e sua interação com o canal Nav1.7: revisão bibliográfica e modelagem molecular**

**Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto de Biociências da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos para a obtenção do título de bacharel em Ciências Biológicas.**

**Aluna:** Bruna Paula Gonçalves Gandarillas

**Orientador:** Malson Neilson de Lucena

CAMPO GRANDE – MS

NOVEMBRO – 2025

## AGRADECIMENTOS

A realização deste Trabalho de Conclusão de Curso marca o fim do início de um sonho que, há muito, germina em mim. Hoje, ele floresce — não apenas como um marco acadêmico, mas como um capítulo precioso na história da minha vida e da minha família. Sou profundamente grata a cada pessoa que, de alguma forma, ajudou a iluminar esse caminho.

Agradeço primeiramente a Deus, que me sustentou com graça e me fortaleceu quando eu fraquejei, que me deu força nos dias difíceis e me guiou quando eu não sabia para onde ir. Sem Ele, eu não teria chegado até aqui.

Aos meus pais e ao meu irmão, minha gratidão eternizada. Obrigada por acreditarem em mim quando até minha própria fé vacilou. À minha mãe, cuja inteligência e força me inspiram todos os dias, sou grata e devedora de todo o esforço e dedicação de uma vida inteira, a senhora sempre será meu abrigo, chão e horizonte — seu amor moldou o melhor de mim. Ao meu irmão, que me ensinou a enfrentar o mundo com coragem e a olhar a vida com mais humanidade. Eu te amo desde o seu nascimento e assim será eternamente, meu irmãozinho, luz suave que ilumina meus passos e enche meus dias de alegria. E à minha avó, com seu amor tão simples e tão gigante que soube enxergar luz nos meus dias nublados e me apoiou quando só ela conseguia ver o lado bonito da vida, obrigada por cuidar de mim desde sempre.

Ao meu orientador, Dr. Malson Neilson de Lucena, agradeço pela paciência, dedicação e orientação cuidadosa ao longo de todo o desenvolvimento deste trabalho. Sua experiência e inteligência foram essenciais para que este projeto ganhasse forma. A esse professor, deixo minha eterna gratidão e carinho. Expresso também minha sincera gratidão à Me. Jéssica Carretone, que dedicou tempo, atenção e apoio ao longo desta trajetória, sempre com um sorriso.

Por fim, agradeço com carinho e saudade àqueles que se foram, mas que deixaram marcas profundas em minha vida. Ao meu avô, que cuidou de mim e do meu irmão como filhos, e que acreditava que o conhecimento e os estudos eram essenciais para qualquer pessoa. Ao meu primo, que me ensinou que a paciência é uma verdadeira virtude — que ambos estejam festejando no céu. Agradeço também àqueles que seguiram outros caminhos, mesmo permanecendo entre nós, e que, enquanto fizeram parte da minha vida, foram pilares de luz e afeto na construção de quem sou. Levo comigo os anos de amor, amizade, carinho e os sonhos que, por um tempo, foram sonhados juntos.

## Resumo

Os escorpiões da família Buthidae produzem uma grande diversidade de peptídeos neuroativos capazes de modular canais iônicos, especialmente os canais de sódio dependentes de voltagem (Nav). Esses peptídeos têm crescente interesse biomédico devido ao seu potencial terapêutico em doenças relacionadas à excitabilidade neuronal. Neste trabalho, foram selecionados cinco peptídeos bioativos provenientes de diferentes gêneros de escorpiões, com o objetivo de avaliar seu potencial de interação com o canal Nav1.7, alvo relevante em condições como dor neuropática. As sequências foram obtidas do banco UniProt e submetidas à modelagem estrutural com AlphaFold, seguida de análise estereoquímica por meio de PROCHECK. Todos os peptídeos apresentaram modelos tridimensionais de alta qualidade, com mais de 90% dos resíduos localizados em regiões favoráveis do diagrama de Ramachandran. Em seguida, realizou-se o docking molecular do canal Nav1.7 com o HADDOCK, permitindo avaliar a afinidade, a estabilidade e a complementaridade estrutural dos complexos. Beta-toxin Cn4, MeuNaTxalpha-1 e AaH II apresentaram os melhores desempenhos, com valores de HADDOCK score mais baixos e maior consistência das interações, sugerindo um forte potencial modulador. Já Bom IV e Delta-butx-hj2a apresentaram interações menos estáveis, com RMSD elevados. Os resultados indicam que métodos *in silico* são ferramentas úteis para triagem de peptídeos bioativos, fornecendo subsídios para estudos experimentais futuros e para a identificação de candidatos promissores para aplicações terapêuticas.

**Palavras-chave:** Peçonha; escorpiões; peptídeos bioativos; canais de sódio; Nav1.7; docking molecular; modelagem estrutural; Buthidae.

## ABSTRACT

Scorpions from the Buthidae family produce a wide range of neuroactive peptides capable of modulating ion channels, especially voltage-gated sodium channels (Nav). These peptides are increasingly of interest in biomedical research due to their therapeutic potential for disorders involving neuronal excitability. In this study, five bioactive peptides from different scorpion genera were selected and evaluated for their ability to interact with the Nav1.7 sodium channel, a key target in conditions like neuropathic pain. Sequences were obtained from the UniProt database and used for structural modeling with AlphaFold, followed by stereochemical validation using PROCHECK. All peptides produced high-quality three-dimensional models, with over 90% of residues in favorable regions of the Ramachandran plot. Molecular docking with HADDOCK was then performed to assess affinity, stability, and structural compatibility. Beta-toxin Cn4, MeuNaTxalpha-1, and AaH II showed the best docking results, with lower HADDOCK scores and more consistent interactions, indicating strong modulatory potential. Conversely, Bom IV and Delta-butx-hj2a exhibited fewer stable interactions, as reflected by higher RMSD values. Overall, the findings demonstrate that *in silico* methods are valuable tools for initial screening of bioactive peptides and provide useful insights for future experimental research and the identification of promising candidates for therapeutic development.

**Keywords:** Venom; scorpions; bioactive peptides; sodium channels; Nav1.7; molecular docking; structural modeling; Buthidae.

## LISTA DE ABREVIATURAS

- aa – aminoácidos
- Nav – Voltage-gated sodium channel (canal de sódio dependente de voltagem)
- RMSD – Root Mean Square Deviation (desvio médio quadrático)
- DBP – Disulfide-bridged peptide (peptídeo com pontes dissulfeto)
- NDBP – Non-disulfide-bridged peptide (peptídeo sem pontes dissulfeto)
- PDB – Protein Data Bank AI – Inteligência artificial
- HADDOCK – High Ambiguity Driven protein–protein DOCKing

## SUMÁRIO

|              |                                                                          |                   |
|--------------|--------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| <b>1.</b>    | <b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>                                        | <b>9</b>          |
| <b>1.1</b>   | <b>Biologia dos escorpiões.....</b>                                      | <b>9</b>          |
| <b>1.2</b>   | <b>Escorpionismo</b>                                                     | <b>no</b>         |
|              | <b>Brasil.....</b>                                                       | <b>12</b>         |
| <b>1.3</b>   | <b>Composição da peçonha de</b>                                          | <b>de</b>         |
|              | <b>escorpiões.....</b>                                                   | <b>13</b>         |
| <b>1.4</b>   | <b>Peptídeos.....</b>                                                    | <b>15</b>         |
| <b>1.5</b>   | <b>Peptídeos da peçonha de</b>                                           | <b>de</b>         |
|              | <b>escorpiões.....</b>                                                   | <b>17</b>         |
| <b>1.6</b>   | <b>Peptídeos com ponte dissulfeto</b>                                    | <b>dissulfeto</b> |
|              | <b>(D.B.P).....</b>                                                      | <b>18</b>         |
| <b>1.6.1</b> | <b>Peptídeos moduladores dos canais de sódio (Na<sup>+</sup>).....</b>   | <b>19</b>         |
| <b>1.6.2</b> | <b>Peptídeos moduladores dos canais de potássio (K<sup>+</sup>).....</b> | <b>22</b>         |
| <b>1.6.3</b> | <b>Peptídeos moduladores dos canais de cálcio (Ca<sup>2+</sup>).....</b> | <b>24</b>         |
| <b>1.6.4</b> | <b>Peptídeos moduladores dos canais de cloreto (Cl<sup>-</sup>).....</b> | <b>26</b>         |
| <b>1.7</b>   | <b>Peptídeos sem pontes dissulfeto (non-disulfide-bridged peptide –</b>  | <b>–</b>          |
|              | <b>NDBPS).....</b>                                                       | <b>27</b>         |
| <b>1.8</b>   | <b>A aplicação dos peptídeos da peçonha de escorpiões na saúde.....</b>  | <b>28</b>         |
| <b>2</b>     | <b>OBJETIVOS.....</b>                                                    | <b>31</b>         |
| <b>3.</b>    | <b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>                                           | <b>31</b>         |
| <b>3.1</b>   | <b>Seleção dos peptídeos .....</b>                                       | <b>31</b>         |
| <b>3.2</b>   | <b>Modelagem molecular dos peptídeos selecionados .....</b>              | <b>32</b>         |
| <b>3.3</b>   | <b>Docking molecular com o alvo Nav .....</b>                            | <b>32</b>         |
| <b>3.3.1</b> | <b>Alvo molecular utilizado: Nav1.7 .....</b>                            | <b>34</b>         |

|                                                                                                   |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>                                                             | <b>35</b> |
| <b>4.1 Seleção dos peptídeos .....</b>                                                            | <b>35</b> |
| <b>4.2 Modelagem molecular dos peptídeos moduladores de canal de sódio selecionados<br/>.....</b> | <b>36</b> |
| <b>4.3 Docking molecular .....</b>                                                                | <b>38</b> |
| <b>5 DISCUSSÃO.....</b>                                                                           | <b>45</b> |
| <b>6 CONCLUSÃO .....</b>                                                                          | <b>47</b> |
| <b>7 REFERÊNCIAS .....</b>                                                                        | <b>47</b> |

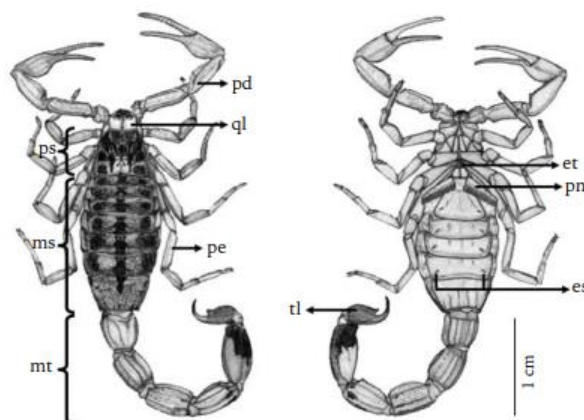
## 1 Revisão Bibliográfica

### 1.1 Biologia dos escorpiões

Os escorpiões são artrópodes terrestres quelicerados pertencentes à classe Arachnida (Brazil; Kobler, Porto 2010) e todas as espécies dessa ordem são peçonhentas. São considerados um dos grupos mais antigos de artrópodes terrestres, com registros fósseis que remontam ao Siluriano, há cerca de 435–450 milhões de anos (Ma) (Polis, 1990; Goyffon; Tournier, 2014). Além disso, elas exibem características únicas em sua fisiologia, assim como na composição e nos efeitos da sua peçonha (Goyffon; Tournier, 2014). Atualmente, existem mais de 2.800 espécies catalogadas, distribuídas em cerca de 18 a 20 famílias, o que demonstra a extensa radiação adaptativa que o grupo experimentou ao longo de sua evolução (Lourenço, 2018). Conseguem habitar diversos ambientes, desde desertos até florestas tropicais úmidas, e também ocorrem em cavernas profundas. Estão ausentes nas regiões mais frias (Brusca, 2018), demonstrando que fatores climáticos e ambientais regulam a distribuição dos escorpiões (Polis, 1990).

Possuem o corpo dividido em prossomo, mesossomo e metassoma (Fig. 1). Prossomo com carapaça e olhos (algumas espécies são cegas). Opistossomo segmentado: mesossomo com sete segmentos e metassoma com cinco segmentos, terminando em télson com glândula venenosa. Quelíceras com três segmentos; pedipalpos grandes e quelados. Mesossomo com gonópodo, pectinas e quatro pares de pulmões foliáceos. Metassoma sem apêndices (Brusca, 2018).

**Figura 1** - Morfologia externa dorsal e ventral de um escorpião (*Tityus aba*): es) par de estigmas respiratórios do sexto segmento mesossomal; et) esterno; ms) mesossoma; mt) metassoma; pe) perna; pd) pedipalpo; pn) pectinas; ps) prossoma; ql) quelícera; tl) télson.



Fonte: Candido e colaboradores (2005)

A respiração é realizada por meio de quatro pares de pulmões foliáceos, localizados no mesosoma, capazes de realizar trocas gasosas eficientes mesmo em condições de baixa umidade, permitindo que esses animais sobrevivam em ambientes secos (Brusca, 2018). O sistema circulatório é aberto, com um coração tubular dorsal que impulsiona a hemolinfa, que contém hemocianina, uma metaloproteína ligada ao cobre, que adquire coloração azulada quando oxigenada, desempenhando papel fundamental no transporte de oxigênio (Goyffon; Tournier, 2014; Brusca, 2018). Já o sistema excretor é formado principalmente por túbulos de Malpighi, estruturas adaptadas à redução de consumo de água, que excretam resíduos nitrogenados sob a forma de ácido úrico, favorecendo a sobrevivência em habitats áridos (Polis, 1990). Internamente, o sistema nervoso é ganglionar ventral. Destaca-se ainda a presença das pectinas, órgãos sensoriais em forma de pente, localizados ventralmente no mesosoma, que desempenham um papel importante na percepção de vibrações, na detecção química do ambiente e na escolha de locais para a deposição do espermatóforo (Polis, 1990).

Os escorpiões são predadores noturnos generalistas, alimentando-se de insetos, aracnídeos menores e, em algumas espécies, pequenos vertebrados. A captura das presas ocorre por meio dos pedipalpos, dotados de pinças robustas, em conjunto com a peçonha inoculada pelo telson, que promove imobilização rápida, (...)

O processo digestivo é predominantemente extraoral, em que enzimas digestivas são liberadas sobre a presa para liquefação dos tecidos, permitindo a ingestão do alimento em estado líquido (Polis, 1990; Lourenço, 2018).

Os escorpiões possuem grande capacidade de adaptação, incluindo hábitos noturnos, resistência à desidratação e baixo metabolismo basal, o que permite que esses animais colonizem ecossistemas extremos, inclusive desertos, onde podem permanecer por longos períodos sem alimento ou água (Polis, 1990; Lourenço, 2018).

A reprodução dos escorpiões ocorre por transferência indireta de espermatozoides via espermatóforo. Durante o ritual conhecido como “dança nupcial” ou “promenade à deux”, o macho conduz a fêmea até o local adequado para a inserção do espermatóforo, processo que pode durar várias horas (Lourenço, 2018; Brusca, 2018). Após a fecundação, a maioria das espécies apresenta desenvolvimento vivíparo, com filhotes que nascem totalmente formados e sobem imediatamente ao dorso da mãe, onde permanecem até realizarem a primeira muda, momento crítico em que recebem proteção materna. (Brusca, 2018). Em algumas espécies ocorre a partenogênese, fenômeno em que os descendentes se desenvolvem a partir de óvulos não fecundados. Esse processo destaca-se em especial em espécies da família Buthidae, notadamente no gênero *Tityus*. A partenogênese pode ser definida como uma forma de reprodução assexuada em que não há participação do gameta masculino. Em escorpiões, ela se manifesta principalmente na forma telítoca, ou seja, as

fêmeas geram apenas descendentes do mesmo sexo. O exemplo mais notório é o de *Tityus serrulatus*, o escorpião-amarelo, considerado a espécie de maior importância médica no Brasil e responsável pela maioria dos acidentes graves registrados em áreas urbanas. Estudos clássicos demonstraram que essa espécie se reproduz exclusivamente partenogenticamente, sendo todas as populações constituídas apenas por fêmeas capazes de gerar novas fêmeas geneticamente muito semelhantes entre si (Matthiesen, 1962; Lourenço, 2002). A ausência de machos em populações naturais de *T. serrulatus* é um dado bem estabelecido e reflete um caso de partenogênese obrigatória, ao contrário do que ocorre em espécies como *Tityus stigmurus* ou *Tityus columbianus*, que podem apresentar tanto populações sexuadas quanto partenogenéticas, caracterizando casos de partenogênese facultativa (González-Sponga, 1984; Lourenço; Cuellar, 1995).

Como mostrado anteriormente, a distribuição geográfica dos escorpiões é ampla e cosmopolita. No Brasil, destacam-se espécies do gênero *Tityus*, como *Tityus serrulatus*, responsável pela maioria dos acidentes escorpiônicos no país, principalmente em áreas urbanas onde se beneficiam de condições ambientais favoráveis e ausência de predadores naturais (Lourenço, 2018). *Scorpionidae*, *Liochelidae*, *Bothriuridae* e *Buthidae* são quatro famílias de escorpiões que já foram identificadas na África Austral (Mabunda et al., 2024). Em outras partes do mundo, como no Norte da África e no Oriente Médio, espécies dos gêneros *Androctonus* e *Leiurus* (família *Buthidae*) são notórias pela alta toxicidade da peçonha, tornando-as particularmente perigosas para humanos (Goyffon; Tournier, 2014). Na Guiana Francesa, as espécies *Tityus obscurus* e *Tityus silvestris* podem causar envenenamentos graves e fatalidades em crianças (Vaucel et al., 2022).

Estudos recentes de mitogenômica demonstraram diferenças substanciais na organização dos genomas mitocondriais entre famílias, incluindo rearranjos genômicos específicos em *Buthidae*, sugerindo trajetória evolutiva própria (Ballesteras et al., 2023). A análise dos genes Hox em escorpiões, especialmente em espécies como *Centruroides sculpturatus*, também indicou duplicações gênicas que podem estar ligadas ao desenvolvimento segmentado do metasoma e à formação de estruturas como o telson (Ballesteras et al., 2023).

Em síntese, os escorpiões representam um grupo zoológico fascinante e complexo, cujo estudo integra aspectos evolutivos, morfológicos, fisiológicos e ecológicos. A combinação de adaptações únicas, produção de peçonha, estratégias reprodutivas sofisticadas, morfologia segmentada e capacidade de colonizar diferentes habitats, reflete um sucesso evolutivo singular entre os artrópodes terrestres. O avanço das técnicas moleculares e filogenômicas vem possibilitando uma reavaliação profunda de sua sistemática, fornecendo uma visão mais precisa sobre a origem, relações evolutivas e potencial biomédico desses animais. Assim, o conhecimento detalhado sobre a biologia, distribuição, morfologia e

sistemática dos escorpiões é essencial não apenas para a zoologia e ecologia, mas também para pesquisas farmacológicas, especialmente no estudo de peptídeos bioativos presentes em sua peçonha, que despontam como promissores candidatos para desenvolvimento de novos fármacos.

## 1.2 Escorpionismo no Brasil

Os acidentes com escorpiões seguem como um problema crescente de saúde pública no Brasil. Dados provisórios de 2024 indicam que foram registrados quase 200 mil picadas, resultando em 133 mortes, com uma letalidade estimada em 0,1% (The guardian, 2025). Esses números representam um aumento de 155% nos casos entre 2014 e 2023, totalizando mais de 1,1 milhão de acidentes no período (The guardian, 2025). No cenário nacional, o ano de 2023 também destacou-se pelo expressivo crescimento de casos: dos cerca de 340 mil acidentes notificados envolvendo animais peçonhentos, mais de 200 mil foram causados por escorpiões, configurando um aumento de 15% em relação ao ano anterior (Ministério da saúde, 2024; Folha de S. Paulo, 2024).

Esse quadro nacional tem se refletido e, em alguns casos, agravado na Região Centro-Oeste, onde a taxa de letalidade observada também preocupa e a presença de espécies de elevada importância sanitária, como *Tityus serrulatus* (Brasil, 2025; Fiocruz, 2024), que apresenta elevada capacidade adaptativa e reprodução partenogenética, o que facilita sua dispersão e colonização de ambientes urbanos (Lacerda et al., 2022; Pucca et al., 2025).

No estado de Mato Grosso do Sul, os registros de acidentes também demonstram tendência de aumento. Entre 2023 e 2024 foram notificadas 13.227 ocorrências de escorpionismo, representando aproximadamente 75,7% de todos os acidentes por animais peçonhentos no estado. No período de janeiro de 2024 a janeiro de 2025, foram contabilizados 6.101 novos casos, o que indica a persistência e ampliação do problema (Secretaria de Estado de Saúde de Mato Grosso do Sul, 2025a). Até julho de 2025, já haviam sido registrados 3.436 acidentes, reforçando a sazonalidade do agravo, que tende a se intensificar nos meses mais quentes e úmidos (Secretaria de Estado de Saúde de Mato Grosso do Sul, 2025b).

Além da alta incidência, observa-se que a gravidade dos casos em Mato Grosso do Sul tem acometido, sobretudo, crianças. De acordo com levantamento da Secretaria de Saúde, cerca de 60% dos casos graves registrados no estado entre 2023 e 2025 ocorreram em pacientes com menos de 10 anos de idade, revelando uma vulnerabilidade etária significativa (Campos Grande News, 2025). Essa situação é preocupante, uma vez que o

menor volume corporal das crianças aumenta a suscetibilidade ao efeito da peçonha e agrava a evolução clínica (Fiocruz, 2024).

Em Mato Grosso do Sul, a Secretaria de Estado de Saúde vem implementando campanhas de conscientização, reforço da capacidade de atendimento e vigilância constante nos períodos de maior atividade dos escorpiões (Secretaria de Estado de Saúde de Mato Grosso do Sul, 2025b). Esses esforços refletem a necessidade de ações contínuas e articuladas para conter o avanço do escorpionismo, que tem se consolidado como um problema de saúde pública emergente também no Centro-Oeste brasileiro.

Aspectos biológicos, ambientais e socioeconômicos dificultam o controle dos aracnídeos, exigindo ações de monitoramento, controle e educação. A disponibilidade de soro e a capacitação de profissionais são essenciais para reduzir a letalidade. O aumento do escorpionismo no país, causado por urbanização desordenada, clima favorável e saneamento precário, demanda vigilância, educação e controle ambientais urgentes.

### **1.3 Composição da peçonha de Escorpiões**

A peçonha de escorpiões é um fluido biológico altamente especializado, cuja composição bioquímica reflete adaptações evolutivas precisas para a captura de presas e a defesa contra predadores. Trata-se de uma mistura complexa de enzimas, proteínas não enzimáticas, peptídeos bioativos, lipídios, carboidratos, sais minerais e pequenas moléculas com propriedades fisiológicas e farmacológicas variadas (Lourenço et al., 2022). Diferentemente de outros animais peçonhentos, a peçonha de escorpiões apresenta predominância de toxinas proteicas e peptídeos moduladores de canais iônicos, mas também contém uma diversidade de compostos que facilitam a ação desses componentes principais, aumentando a eficácia do envenenamento (Lourenço et al., 2022).

Entre os componentes enzimáticos, destacam-se as fosfolipases A2 (PLA2), que desempenham um papel central na desestabilização de membranas celulares e na facilitação da difusão de toxinas menores. Essas enzimas atuam hidrolisando fosfolipídios da membrana plasmática das células-alvo, liberando ácidos graxos e lisofosfolipídios, que contribuem para a inflamação local, a dor e o aumento da permeabilidade tecidual. Estudos em espécies do gênero *Tityus* demonstram que as PLA2 da peçonha podem atuar sinergicamente com peptídeos neurotóxicos, potencializando efeitos sobre o sistema nervoso central e periférico, incluindo bloqueio da condução nervosa e indução de paralisia muscular em presas (Rodríguez de la Vega; Possani, 2020).

As proteases, embora menos abundantes que as fosfolipases, exercem funções complementares. Proteases de serina e metaloproteases presentes na peçonha de escorpiões degradam proteínas estruturais e plasmáticas, promovendo efeitos citotóxicos

locais e modulando a coagulação sanguínea. Essas enzimas podem contribuir para necrose localizada, hemorragia discreta e alteração da matriz extracelular, facilitando a disseminação dos peptídeos bioativos. Além disso, algumas proteases demonstram atividade imunomoduladora, interferindo na resposta inflamatória do hospedeiro e permitindo que a toxina permaneça mais tempo ativa nos tecidos (Harrison et al., 2024).

Outro componente enzimático de destaque é a hialuronidase, conhecida como "enzima de difusão". Essa enzima degrada o ácido hialurônico presente na matriz extracelular, aumentando a permeabilidade tecidual e permitindo que peptídeos neurotóxicos e citotóxicos se espalhem mais rapidamente no organismo da presa. A ação da hialuronidase é essencial para a eficácia da peçonha, especialmente em presas maiores ou mais resistentes, e pode atuar sinergicamente com fosfolipases e proteases para amplificar os efeitos fisiológicos locais e sistêmicos (De Lima et al., 2013).

Além das enzimas, a peçonha de escorpiões contém proteínas não enzimáticas que desempenham papéis cruciais. Entre elas, destacam-se proteínas que modulam canais iônicos de sódio, potássio, cálcio e cloro, embora em menor escala que os peptídeos. Essas proteínas podem interagir com receptores neuronais ou membranas celulares, contribuindo para efeitos neurotóxicos e cardiotoxícos. Citotoxinas proteicas promovem lise celular direta ou induzida por receptores, enquanto hemotoxinas modulam permeabilidade vascular e resposta inflamatória, integrando a ação coordenada da peçonha (Pashmforoosh; Baradaran, 2022).

Os lipídios presentes na peçonha de escorpiões, embora minoritários em termos de quantidade, desempenham funções estruturais e moduladoras importantes. Fosfolipídios e esfingolipídios ajudam a estabilizar toxinas sensíveis, isto é, de peptídeos e proteínas que podem sofrer desnaturação térmica, degradação enzimática ou perda de atividade funcional em condições desfavoráveis, formando complexos que facilitam a entrega de peptídeos neurotóxicos e proteicas citotóxicas e podem atuar como mediadores inflamatórios locais. Em algumas espécies, lipídios específicos podem interagir com a membrana celular da presa, alterando sua fluidez e aumentando a eficácia das enzimas hidrolíticas (Acunha et al., 2023).

Carboidratos e glicoproteínas também integram a composição da peçonha escorpiônica. As glicoproteínas podem atuar como moléculas de reconhecimento, ligando-se a receptores celulares específicos e contribuindo para a seletividade da ação da peçonha. Além disso, carboidratos podem desempenhar papel na imunomodulação e na estabilidade estrutural das toxinas proteicas, protegendo-as da degradação enzimática ou química antes de atingirem seu alvo (Gonçalves et al., 2024).

A peçonha de escorpiões apresenta ainda sais minerais e íons, como cálcio, potássio, sódio e magnésio, que auxiliam na estabilidade conformacional das proteínas e na condução elétrica necessária para a ação de neurotoxinas. O cálcio, por exemplo, é essencial para a

função de algumas neurotoxinas que modulam a liberação de neurotransmissores, enquanto o potássio e o sódio participam da manutenção do gradiente iônico necessário para a excitabilidade neuronal (Alvarenga et al., 2021).

Pequenas moléculas bioativas, como aminas vasoativas, nucleotídeos e metabólitos secundários, também estão presentes e contribuem para efeitos imediatos da peçonha, incluindo vasoconstrição ou vasodilatação, modulação da coagulação e indução de dor intensa. Essas moléculas, apesar de encontradas em menores concentrações, podem potencializar a ação dos peptídeos e proteínas, gerando efeitos fisiológicos sinérgicos que aumentam a eficiência predatória da peçonha (Gonzalez et al., 2019).

A composição química da peçonha de escorpiões não é estática; variações podem ocorrer entre espécies, indivíduos da mesma espécie e mesmo entre diferentes populações geográficas. Essas variações refletem adaptações ecológicas, dietéticas e evolutivas, permitindo que cada espécie de escorpião maximize sua eficácia predatória e defensiva de acordo com o ambiente em que habita. A análise proteômica, transcriptômica e metabolômica das peçonhas tem revelado uma complexidade bioquímica surpreendente, indicando que mesmo componentes minoritários podem ter funções críticas na fisiologia da toxina (Santibáñez-López; Cid-Urbe; Possani, 2022).

Estudos recentes também têm mostrado que a interação entre os diferentes componentes da peçonha (enzimas), proteínas não enzimáticas, lipídios, carboidratos, sais minerais e pequenas moléculas é altamente sinérgica. Fosfolipases e hialuronidases preparam o caminho tecidual para que os peptídeos neurotóxicos e citotóxicos atuem de forma mais eficiente. Proteínas moduladoras de canais iônicos e pequenas moléculas bioativas potencializam efeitos sistêmicos, enquanto glicoproteínas e lipídios garantem estabilidade e seletividade, criando uma peçonha que é, simultaneamente, potente, complexa e adaptativa (Lourenço et al., 2022).

A compreensão detalhada da composição da peçonha de escorpiões é fundamental não apenas para estudos de toxicologia e fisiologia, mas também para o desenvolvimento de antivenenos, terapias farmacológicas e moléculas bioativas com potencial medicinal, dada a diversidade funcional de seus componentes (Naderi et al., 2023).

#### **1.4 Peptídeos**

Os peptídeos são as moléculas mais abundantes na peçonha dos escorpiões, e são compostas por cadeias curtas de aminoácidos ligados por ligações peptídicas, situando-se entre os aminoácidos isolados e as proteínas. Estruturalmente, essas moléculas apresentam grande diversidade, podendo ser lineares ou cíclicas, e frequentemente apresentam modificações pós-traducionais, como fosforilação, glicosilação ou metilação, que conferem

maior estabilidade, especificidade e atividade biológica. Os peptídeos podem ser classificados de acordo com sua origem, função ou mecanismo de ação, sendo alguns dos mais estudados os peptídeos hormonais, antimicrobianos, neurotransmissores, bioativos de alimentos e terapêuticos (Calis et al., 2023).

Peptídeos hormonais, como a insulina e o glucagon, atuam como mensageiros químicos que regulam processos fisiológicos essenciais, ligando-se a receptores específicos e ativando cascatas de sinalização intracelular, modulando metabolismo, crescimento e reprodução. Os peptídeos antimicrobianos são geralmente catiônicos e apresentam atividade contra bactérias, fungos e vírus, atuando principalmente por interação direta com membranas celulares, promovendo desorganização lipídica e formação de poros, além de modularem respostas imunológicas e inflamatórias. Peptídeos neurotransmissores, como endorfinas e encefalinas, desempenham funções essenciais no sistema nervoso, modulando a percepção da dor, o humor e a comunicação neuronal por meio da ligação a receptores específicos e regulação da liberação de neurotransmissores. Os peptídeos bioativos de alimentos são liberados durante a digestão ou processamento enzimático de proteínas e apresentam efeitos benéficos à saúde, incluindo atividade antihipertensiva, antioxidante, imunomoduladora e reguladora do metabolismo lipídico. Já os peptídeos terapêuticos, desenvolvidos artificialmente ou isolados de fontes naturais, são utilizados como fármacos para o tratamento de doenças metabólicas, cardiovasculares, infecciosas e oncológicas, devido à sua elevada especificidade e baixa toxicidade em relação a pequenas moléculas químicas (Wang et al., 2022; Bidram et al., 2024).

Do ponto de vista estrutural, os peptídeos cíclicos tendem a apresentar maior resistência à degradação proteolítica e afinidade mais elevada por seus alvos biológicos, enquanto os peptídeos lineares são mais flexíveis e adaptáveis, podendo interagir com diferentes receptores e membranas celulares (Calis et al., 2023; Ji et al., 2023).

Os mecanismos de ação dos peptídeos são igualmente variados, podendo envolver interação direta com membranas, ligação a receptores específicos, inibição enzimática ou modulação de vias metabólicas e sinalizações intracelulares. Essa diversidade funcional reflete a evolução adaptativa e a coevolução entre peptídeos e seus alvos, conferindo-lhes grande potencial biológico. As aplicações dos peptídeos na ciência e na medicina são extensas e crescentes (Wang et al., 2022; Antimicrobial Peptides Review, 2021).

Na indústria farmacêutica, peptídeos são empregados como drogas para diabetes, doenças cardiovasculares, distúrbios neurológicos, câncer e infecções, além de servirem como biomarcadores diagnósticos e ferramentas em biotecnologia, atuando como sondas moleculares ou agentes direcionados em terapias de liberação controlada. Na nutrição funcional, peptídeos bioativos de alimentos promovem benefícios à saúde, como redução da

pressão arterial, modulação do metabolismo lipídico e prevenção de estresse oxidativo (Wang et al., 2022; Ichim et al., 2024).

Pesquisas recentes têm explorado a síntese química e recombinante de peptídeos, bem como modificações estruturais, para otimizar estabilidade, seletividade e atividade farmacológica, possibilitando o desenvolvimento de análogos seguros e eficazes para uso clínico. Além disso, avanços em biologia estrutural e modelagem molecular têm permitido compreender detalhadamente as interações entre peptídeos e seus alvos, incluindo membranas, receptores e enzimas, contribuindo para o desenho racional de peptídeos terapêuticos. Em síntese, os peptídeos constituem um grupo molecular multifuncional, desempenhando papéis essenciais na regulação biológica, defesa imunológica, sinalização celular e terapêutica, sendo considerados moléculas-chave para o desenvolvimento de novas estratégias em biomedicina, nutrição e biotecnologia devido à sua diversidade estrutural, funcional e ao potencial de modulação biológica altamente específico (Rossino et al., 2023; Zheng et al., 2025).

### **1.5 Peptídeos da peçonha de escorpiões**

Os peptídeos bioativos presentes na peçonha de escorpiões representam um componente molecular de extrema relevância científica e farmacológica, destacando-se pela alta diversidade química, estabilidade estrutural e seletividade funcional. A peçonha desses animais é formado por uma complexa mistura de moléculas, que inclui enzimas, aminos biogênicas, lipídeos, mucopolissacarídeos e uma vasta gama de peptídeos com diferentes tamanhos, estruturas e alvos biológicos (Xia et al., 2023; Nasr et al., 2023). A fração peptídica dos venenos de escorpião é geralmente classificada em duas grandes famílias com base na presença ou ausência de pontes dissulfeto: os peptídeos com ponte de dissulfeto (DBPs – disulfide-bridged peptides) e os peptídeos sem ponte de dissulfeto (NDBPs - non-disulfide-bridged peptides) (Zeng et al., 2005; Almaaytah & Albalas, 2014).

Os DBPs constituem a maioria das neurotoxinas da peçonha e são geralmente peptídeos de 30 a 70 aminoácidos, com três ou quatro pontes dissulfeto que conferem estabilidade térmica e resistência proteolítica. Essas moléculas possuem um dobramento conservado do tipo  $\alpha/\beta$  conhecido como CS $\alpha\beta$  (Cysteine-Stabilized alpha/beta motif), que garante alta especificidade e afinidade por canais iônicos (Xia et al., 2023; Xin et al., 2025). As principais subclasses de DBPs incluem toxinas que modulam canais de sódio (Nav toxins), potássio (Kv toxins), cálcio (CaTx), cloro (ClTx) e canais TRP (TRPTx), cada uma com mecanismos de ação específicos que envolvem modulação da ativação ou inativação dos canais, frequentemente resultando em alterações da excitabilidade neuronal ou liberação de neurotransmissores (Xia et al., 2023; Xin et al., 2025).

Em contraste, os NDBPs são peptídeos lineares de baixa massa molecular (geralmente <5 kDa), sem pontes dissulfeto e com estrutura predominantemente  $\alpha$ -helicoidal. Muitos apresentam alto teor de aminoácidos catiônicos (arginina, lisina), o que favorece sua atração eletrostática às membranas carregadas negativamente em bactérias e células tumorais (Zeng et al., 2005; Almaaytah & Albalas, 2014). Essa categoria é subdividida em peptídeos curtos (10 a 25 aminoácidos) e longos (até ~50 aminoácidos), com diversos mecanismos de ação, incluindo formação de poros (barrel-stave, carpet), despolarização de membranas, indução de estresse oxidativo e inibição de enzimas como ACE (Xia et al., 2024; Nasr et al., 2023; Zeng et al., 2024).

As metodologias de estudo desses peptídeos evoluiu significativamente com o emprego de eletroforese em gel, HPLC de base reversa, cromatografia de exclusão de tamanho e abordagens com base em “omics” (transcriptômica, proteômica e metabolômica), permitindo a caracterização sistemática de peptídeos mesmo em quantidades muito pequenas (Nasr et al., 2023).

A classificação estrutural DBP/NDBP, além de caracterizar propriedades físicas, auxilia na previsão funcional e nas aplicações biomédicas. Os DBPs, especialmente os que modulam canais como Nav1.7, Kv1.3 e outros, têm sido explorados como candidatos a analgésicos não opioides, tratamentos contra epilepsia, doenças autoimunes e arritmias cardíacas, enquanto os NDBPs destacam-se como potenciais antimicrobianos inovadores, imunomoduladores e cicatrizantes (Amen & Abd-Elatef, 2024; Xia et al., 2023).

## **1.6 Peptídeos com pontes dissulfeto (D.B.P)**

Os peptídeos com pontes dissulfeto constituem a maior e mais conhecida classe de toxinas de escorpiões. Eles são estruturalmente complexos, com múltiplas pontes dissulfeto (geralmente 3 ou 4) que conferem uma alta estabilidade térmica e proteolítica. No contexto estrutural, os peptídeos podem ser classificados em diferentes categorias, incluindo os semicíclicos, que se caracterizam pela presença de ligações dissulfeto intra ou intercadeias. Essas pontes, formadas entre resíduos de cisteína, desempenham papel fundamental na estabilização da conformação tridimensional, conferindo maior resistência estrutural e, em muitos casos, atividade biológica específica (Machado et al., 2004). Esta estabilidade é essencial para manter a conformação tridimensional necessária para a interação específica com canais iônicos dependentes de voltagem, como os de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Cl}^-$  (Possani et al., 1999; Cestèle & Catterall, 2000).

### 1.6.1 Peptídeos moduladores dos canais de sódio (Na<sup>+</sup>)

Os canais de sódio voltagem-dependentes (NaV) constituem proteínas integrais de membrana fundamentais para a excitabilidade celular. Esses canais têm a função de conduzir íons Na<sup>+</sup> de forma seletiva através da membrana plasmática e são fundamentais na criação e transmissão do potencial de ação em células excitáveis, como neurônios, fibras musculares esqueléticas e cardiomiócitos (Cestèle; Catterall, 2000; Oliveira et al., 2018).

Quando em repouso, a membrana celular exibe um potencial negativo em comparação com o meio extracelular, o que mantém os canais NaV fechados. A ativação acontece quando um estímulo despolarizante diminui essa diferença de potencial, atingindo um limiar que provoca uma alteração conformacional no sensor de voltagem do canal. Essa mudança estrutural facilita a abertura do poro seletivo, o que permite que os íons Na<sup>+</sup> entrem rapidamente na célula. Esse processo leva à fase ascendente do potencial de ação, que é marcada pela inversão temporária da polaridade da membrana (Hille, 2001). Poucos milissegundos após a abertura, os canais entram em um estado conhecido como inativação, em que um bloqueio no poro impede a passagem contínua de sódio, mesmo com a despolarização ainda ocorrendo. Essa inativação rápida é fundamental para garantir a natureza pulsátil do potencial de ação e prevenir descargas repetitivas descontroladas. Com a repolarização da membrana, os canais voltam ao estado de repouso, ficando novamente prontos para uma nova ativação (Silva et al., 2016; Zamudio et al., 2022).

A importância fisiológica dos NaV é evidenciada por sua participação em processos como transmissão sináptica, contração muscular e condução elétrica cardíaca. Além disso, mutações nos genes que codificam diferentes subtipos desses canais (SCN1A–SCN11A) estão associadas a diversas canalopatias humanas, incluindo epilepsias (SCN1A, SCN2A), síndromes dolorosas (SCN9A/NaV1.7), miotonias e arritmias cardíacas, destacando sua relevância biomédica (Ferreira et al., 2020). Eles são formados por uma subunidade principal  $\alpha$ , composta por quatro domínios homólogos (DI–DIV), cada um com seis segmentos transmembrana (S1–S6), e por subunidades auxiliares  $\beta$  que modulam a cinética e a expressão do canal (De Lera Ruiz; Kraus, 2015).

Cada isoforma de canal de sódio é codificada por um gene específico da família *SCN* e apresenta distribuição tecidual e propriedades biofísicas distintas, permitindo uma regulação precisa da excitabilidade elétrica de diferentes tipos celulares (Wang et al., 2017). Atualmente, são reconhecidas nove isoformas principais em humanos, denominadas NaV1.1 a NaV1.9, além de variantes adicionais geradas por splicing alternativo.

**Tabela 1** – Isoformas de canais de sódio dependentes de voltagem (NaV) e suas características

| Isoforma | Gene   | Tecido principal                                          | Função fisiológica                                 | Observações clínicas                                             |
|----------|--------|-----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|
| NaV1.1   | SCN1A  | Neurônios inibitórios do SNC                              | Condução de impulsos em interneurônios GABAérgicos | Associada à síndrome de Dravet e epilepsias (LIANG et al., 2021) |
| NaV1.2   | SCN2A  | Neurônios excitatórios do SNC                             | Propagação de potenciais de ação                   | Relacionada a epilepsia infantil e autismo                       |
| NaV1.3   | SCN3A  | SNC (principalment e durante o desenvolvimento)           | Plasticidade e regeneração neuronal                | Reexpressa após lesões nervosas                                  |
| NaV1.4   | SCN4A  | Músculo esquelético                                       | Geração do potencial de ação muscular              | Associada a miotonia e paralisias periódicas                     |
| NaV1.5   | SCN5A  | Músculo cardíaco                                          | Fase 0 do potencial de ação cardíaco               | Associada a arritmias e síndrome de Brugada                      |
| NaV1.6   | SCN8A  | SNC e SNP (nós de Ranvier)                                | Condução rápida de impulsos                        | Alvo frequente de toxinas neuroativas                            |
| NaV1.7   | SCN9A  | Neurônios sensoriais (gânglios da raiz dorsal e trigêmeo) | Transmissão da dor (nocicepção)                    | Associada a insensibilidade congênita à dor                      |
| NaV1.8   | SCN10A | Fibras C nociceptivas periféricas                         | Potenciais de ação em dor inflamatória             | Canal resistente à tetrodotoxina (TTX-R)                         |
| NaV1.9   | SCN11A | Neurônios viscerais e periféricos                         | Excitabilidade em dor crônica                      | Canal TTX-R, papel modulador em nocicepção                       |

Fonte: Adaptado de De Lera Ruiz e Kraus (2015); Liang et al. (2021); Wang et al. (2017).

Os canais de sódio dependentes de voltagem (NaV) são alvos de uma grande variedade de moléculas moduladoras, que podem alterar de forma significativa suas

propriedades biofísicas e fisiológicas. Esses moduladores incluem toxinas animais, compostos naturais e fármacos sintéticos, sendo amplamente utilizados tanto como ferramentas experimentais para o estudo da excitabilidade celular quanto como agentes terapêuticos (De Lera Ruiz; Kraus, 2015).

De modo geral, os moduladores de NaV atuam interferindo em diferentes aspectos do funcionamento do canal, como o bloqueio do poro, o deslocamento do limiar de ativação, a modificação da cinética de inativação ou a estabilização de estados conformacionais específicos. Essas alterações influenciam diretamente a excitabilidade celular, podendo gerar efeitos estimulantes ou inibitórios sobre a condução de impulsos elétricos (Li et al., 2019).

Entre os moduladores naturais mais conhecidos estão as toxinas de origem animal, especialmente as derivadas de escorpiões, aranhas, peixes e anfíbios. As toxinas  $\alpha$  e  $\beta$  provenientes de escorpiões, por exemplo, são amplamente estudadas devido à sua alta afinidade por canais de sódio neuronais. As  $\alpha$ -toxinas, como a Aah II do escorpião *Androctonus australis hector*, ligam-se a regiões do domínio sensor de voltagem, retardando o processo de inativação e prolongando o potencial de ação. Já as  $\beta$ -toxinas, como a Ts1 (TsTX) do escorpião *Tityus serrulatus*, deslocam a curva de ativação para potenciais mais negativos, tornando os canais mais propensos à abertura e aumentando a excitabilidade neuronal (Zakon, 2012; De Lera Ruiz; Kraus, 2015).

Outros moduladores naturais incluem alcaloides de origem marinha e vegetal. A tetrodotoxina (TTX), isolada de peixes da família *Tetraodontidae*, e a saxitoxina, produzida por dinoflagelados e cianobactérias, são potentes bloqueadores do poro do canal de sódio. Ambas se ligam ao sítio extracelular do canal e impedem a passagem de íons  $\text{Na}^+$ , bloqueando a geração do potencial de ação (Liang et al., 2021). Em contraste, alcaloides como a batrachotoxina, derivada de rãs do gênero *Phyllobates*, e a veratridina, presente em plantas do gênero *Veratrum*, mantêm o canal em estado aberto, prolongando a despolarização e gerando hiperexcitabilidade (Zakon, 2012).

No contexto farmacológico, diversos fármacos de uso clínico atuam como moduladores dos canais NaV. Os anestésicos locais, como lidocaína e bupivacaína, estabilizam o estado inativado do canal, reduzindo a excitabilidade neuronal e bloqueando a condução de impulsos dolorosos. De forma semelhante, fármacos antiepiléticos como fenitoína, carbamazepina e lamotrigina atuam preferencialmente sobre canais de sódio abertos ou inativados, diminuindo a frequência de disparos neuronais excessivos (Li et al., 2019). Já os antiarrítmicos de classe I, como ranolazina e quinidina, modulam principalmente a isoforma cardíaca NaV1.5, inibindo a corrente de sódio tardia (*late I<sub>Na</sub>*) e reduzindo a ocorrência de arritmias (Jiang et al., 2022).

Nos últimos anos, avanços na resolução estrutural dos canais NaV por criomicroscopia eletrônica possibilitaram o desenvolvimento de moduladores alostéricos, que atuam em

regiões distintas do poro e dos sensores de voltagem (Dvorak et al., 2021). Diferentemente dos bloqueadores clássicos, esses moduladores não impedem diretamente a passagem de íons, mas alteram o equilíbrio conformacional entre os estados ativo e inativo do canal. Essa abordagem tem grande potencial terapêutico, pois permite uma modulação mais seletiva e com menor risco de efeitos colaterais sistêmicos.

Do ponto de vista fisiológico e evolutivo, a modulação dos canais de sódio é essencial para a adaptação da excitabilidade elétrica em diferentes tipos celulares e organismos. Em espécies peçonhentas, a grande diversidade de peptídeos moduladores reflete pressões seletivas relacionadas à predação e defesa, enquanto em mamíferos o estudo desses moduladores tem permitido compreender doenças associadas à disfunção dos canais de sódio e desenvolver estratégias farmacológicas específicas.

### **1.6.2 Peptídeos moduladores dos canais de potássio ( $K^+$ )**

Os canais de potássio (Kv) constituem a família mais diversificada de canais iônicos em células excitáveis e não excitáveis. Eles são responsáveis por regular o efluxo de  $K^+$  através da membrana plasmática, desempenhando papel central na repolarização do potencial de ação, no controle da excitabilidade neuronal e na manutenção do potencial de repouso. Estruturalmente, os canais de  $K^+$  apresentam uma arquitetura formada por subunidades transmembranares que contêm o filtro de seletividade, cuja característica fundamental é permitir a passagem de íons  $K^+$  de maneira altamente seletiva em detrimento de íons menores, como o  $Na^+$ . Esse filtro de seletividade é formado por resíduos de aminoácidos que estabilizam a desidratação transitória do íon, garantindo condutância rápida e seletiva (Doyle et al., 1998; Hille, 2001).

Os canais de  $K^+$  podem ser classificados em diferentes subfamílias de acordo com seu mecanismo de ativação: dependentes de voltagem (Kv), ativados por cálcio (KCa), de retificação interna (Kir) e ativados por dois poros (K2P). Cada grupo apresenta funções fisiológicas específicas. Por exemplo, os Kv são fundamentais para a fase de repolarização dos potenciais de ação em neurônios e fibras musculares, enquanto os Kir participam da estabilização do potencial de repouso e os K2P regulam a excitabilidade em resposta a estímulos mecânicos, pH e temperatura (Gutman et al., 2005; Hibino et al., 2010).

O funcionamento desses canais pode ser resumido em três estados: fechado em repouso, aberto durante estímulos apropriados (como despolarização ou aumento da concentração intracelular de  $Ca^{2+}$ ) e inativado após períodos prolongados de ativação. Sua abertura permite a saída de íons  $K^+$  do meio intracelular, o que promove a repolarização ou

hiperpolarização da membrana. Esse mecanismo garante o término adequado dos potenciais de ação e previne descargas neuronais excessivas (Hille, 2001; Yu; Catterall, 2004).

Alterações na expressão ou mutações em genes que codificam canais de K<sup>+</sup> resultam em diversas canalopatias, incluindo epilepsias, arritmias cardíacas, ataxias e síndromes neuromusculares. Como exemplo, mutações no gene KCNQ1 (Kv7.1) estão associadas à síndrome do QT longo congênito, que predispõe a arritmias ventriculares fatais. Já variantes em canais Kir e K2P têm sido relacionadas a distúrbios de excitabilidade neuronal e ao desenvolvimento de epilepsia (Ashcroft, 2006; Barhanin et al., 1996).

Além da importância fisiológica, os canais de K<sup>+</sup> constituem alvos relevantes para fármacos e toxinas de origem animal. Diversos peptídeos contendo pontes dissulfeto, isolados de venenos de escorpiões e aranhas, modulam esses canais de maneira seletiva, bloqueando ou alterando sua cinética de ativação. Esse tipo de interação tem sido explorado como ferramenta para compreender a função de subtipos específicos e como inspiração para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas (Rodrigues et al., 2004; Ferreira et al., 2020).

Entre os DBPs mais estudados, destacam-se toxinas como a charybdotoxina, com 37 aminoácidos e três pontes dissulfeto, que se liga e bloqueia canais de potássio ativados por cálcio (KCa) com afinidade nanomolar, provocando hiperexcitabilidade neural (Pichierri, 2010); a spinoxina (SPX), isolada de *Heterometrus spinifer*, composta por 34 resíduos e quatro pontes dissulfeto, atua seletivamente sobre canais Kv1.2 e Kv1.3, tornando-se uma ferramenta útil para investigação de doenças autoimunes (Sharma et al., 2014) a maurotoxina, de *Scorpio maurus palmatus*, com quatro pontes dissulfeto e 34 aminoácidos, que bloqueia canais Kv1.1, Kv1.2 e Kv1.3, destacando-se por sua aplicação potencial como imunossupressor, já que Kv1.3 está envolvido na proliferação de linfócitos T (Maurotoxin); e a toxina CsII, de *Centruroides suffusus suffusus*, com 66 resíduos e quatro pontes dissulfeto, ativando ou bloqueando canais Nav e Kav. Outro exemplo clássico é o Tityustoxin peptide 2 (TsPep2), em bioengenharia e alvo identificado como canal de sódio, realçando a versatilidade estrutural dos peptídeos do gênero *Tityus* (Tityustoxin peptide 2).

Os peptídeos moduladores de canais Kv, também conhecidos como Kv toxins, são amplamente encontrados nas peçonhas de escorpiões, aranhas, anêmonas-do-mar e outros animais peçonhentos. Esses compostos evoluíram como mecanismos de defesa e predação, permitindo a imobilização rápida das presas por meio da interferência nos processos de sinalização elétrica (Rodríguez de la Vega e Possani, 2004).

A maioria dessas toxinas são peptídeos de baixo peso molecular, ricos em pontes dissulfeto, o que confere alta estabilidade estrutural e especificidade de ligação aos canais de potássio. Estruturalmente, muitas delas apresentam o motivo  $\beta\alpha\beta$  ( $\beta$ -sheet e  $\alpha$ -hélice)

característico da fold tipo “scorpion toxin”, crucial para a interação com o poro seletivo do canal Kv (Garcia et al., 1994).

O mecanismo de ação dessas toxinas geralmente envolve o bloqueio físico do poro de condução do canal. A extremidade de um resíduo de lisina ou tirosina do peptídeo se insere no filtro de seletividade do canal, impedindo a passagem de íons  $K^+$ . Esse tipo de bloqueio é conhecido como “plug blocking” ou “pore blocking”, e é observado em toxinas como charybdotoxin (ChTx) e iberiotoxin (IbTx), ambas isoladas da peçonha de *Leiurus quinquestriatus hebraeus* (Miller, 1995).

Outras toxinas atuam de forma moduladora, alterando o tempo de ativação ou inativação do canal sem bloqueá-lo completamente. Esse tipo de interação é visto em toxinas como ergtoxin, de aranhas do gênero *Eratigena*, que estabiliza o estado inativo do canal Kv11.1, afetando a repolarização cardíaca e podendo induzir prolongamento do intervalo QT (Gurrola et al., 1999).

Do ponto de vista biotecnológico e farmacológico, os peptídeos moduladores de canais Kv são de grande interesse como ferramentas moleculares para estudar a fisiologia dos canais iônicos e como candidatos terapêuticos para o tratamento de doenças autoimunes, cardiovasculares e neurológicas. Por exemplo, o peptídeo ShK, isolado da anêmona *Stichodactyla helianthus*, apresenta alta afinidade pelo canal Kv1.3, expresso em linfócitos T efetores de memória, e tem sido explorado como protótipo para o desenvolvimento de imunomoduladores seletivos (Chandy et al., 2004; Beeton et al., 2005).

Além disso, modificações sintéticas em peptídeos naturais têm permitido o aumento da seletividade e estabilidade farmacocinética, como no análogo ShK-186 (Dalazatide), atualmente avaliado em ensaios clínicos para esclerose múltipla e psoríase (Chi et al., 2012; Pennington et al., 2020). Esses avanços demonstram o potencial terapêutico das Kv toxins e reforçam o valor biomédico dos peptídeos derivados de peçonhas como modelos para o desenvolvimento de novos fármacos.

### 1.6.3 Peptídeos moduladores dos canais de cálcio ( $Ca^{2+}$ )

Os canais de cálcio voltagem-dependentes (CaV) são proteínas transmembranares essenciais para a entrada de íons  $Ca^{2+}$  nas células excitáveis e não excitáveis, desempenhando papel central em processos como contração muscular, liberação de neurotransmissores, regulação do ritmo cardíaco e ativação de cascatas de sinalização intracelular. Estruturalmente, cada canal é composto por uma subunidade  $\alpha 1$ , que forma o poro seletivo e contém os sensores de voltagem, e subunidades auxiliares ( $\beta$ ,  $\alpha 2\delta$  e  $\gamma$ ) que modulam a expressão, a cinética e a sensibilidade à voltagem do canal (Catterall, 2000; Zamudio et al., 2022).

A ativação dos canais de  $\text{Ca}^{2+}$  depende de alterações no potencial de membrana: quando a célula se despolariza, os sensores de voltagem provocam uma mudança conformacional que abre o poro, permitindo a entrada rápida de  $\text{Ca}^{2+}$ . Esse influxo gera sinais elétricos e químicos, desencadeando eventos celulares específicos, como contração do sarcômero em fibras musculares, liberação de neurotransmissores na fenda sináptica ou ativação de enzimas dependentes de  $\text{Ca}^{2+}$  (Hille, 2001; Zamudio et al., 2022).

Os canais  $\text{CaV}$  são classificados em subtipos de acordo com a cinética de ativação, sensibilidade à voltagem e expressão tecidual: L-type ( $\text{CaV1.x}$ ), predominantes em músculo cardíaco e esquelético; P/Q, N e R-type ( $\text{CaV2.x}$ ), comuns em neurônios; e T-type ( $\text{CaV3.x}$ ), que geram correntes de baixa voltagem em tecidos excitatórios e glandulares. Cada subtipo desempenha funções específicas, como o L-type na contração cardíaca e esquelética, e os  $\text{CaV2.x}$  na liberação sináptica de neurotransmissores (Catterall, 2000; Simms; Zamponi, 2014).

O funcionamento do canal envolve três estados principais: repouso, aberto durante despolarização e inativado após estímulo prolongado, garantindo que a entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  seja regulada e pulsátil. Essa regulação é crítica para a homeostase celular, evitando sobrecarga de cálcio e ativação de vias apoptóticas (Hille, 2001; Zamudio et al., 2022).

Alterações na função ou expressão dos canais de  $\text{Ca}^{2+}$  estão associadas a diversas patologias, incluindo arritmias cardíacas, hipertensão, epilepsias e distúrbios neurodegenerativos. Por exemplo, mutações no gene *CACNA1C*, que codifica  $\text{CaV1.2}$ , podem resultar em síndrome de Timothy, caracterizada por arritmias, disfunção cognitiva e malformações congênitas (Splawski et al., 2004). Além disso, peptídeos bioativos contendo pontes dissulfeto, derivados de peçonhas animais, têm demonstrado capacidade de modular esses canais, atuando como bloqueadores seletivos ou modificadores da cinética de ativação, o que os torna ferramentas valiosas para pesquisa e desenvolvimento de fármacos (Ferreira et al., 2020; Rodrigues et al., 2004). Dessa forma, os canais de  $\text{Ca}^{2+}$  voltagem-dependentes são elementos cruciais na fisiologia celular, integrando sinais elétricos e químicos e constituindo alvos terapêuticos promissores em diversas condições clínicas.

Em espécies como *Tityus serrulatus*, *Androctonus australis* e *Leiurus quinquestriatus*, foram identificadas toxinas capazes de modular a permeabilidade ao  $\text{Ca}^{2+}$ , alterando a excitabilidade neuronal e a liberação de neurotransmissores (Martin-Eauclaire; Couraud, 1995; Pucca et al., 2015). Em *T. serrulatus*, por exemplo, parte da atividade neurotóxica da peçonha está relacionada ao aumento da entrada de cálcio e à liberação exacerbada de acetilcolina e catecolaminas, o que resulta em manifestações clínicas como dor intensa, sudorese, espasmos musculares e taquicardia (Pucca et al., 2015).

Em *A. australis*, toxinas com ação sobre canais  $\text{CaV}$  alteram a cinética de ativação e inativação, prolongando o influxo de cálcio e intensificando a atividade sináptica, mecanismo

semelhante ao observado em *L. quinquestriatus* (Martin-Eauclaire; Couraud, 1995). Essa capacidade de interferir seletivamente na dinâmica dos canais CaV representa uma estratégia evolutiva altamente eficiente para paralisar presas e defender o organismo. Além disso, a elevada especificidade desses peptídeos desperta grande interesse farmacológico, sendo estudados como modelos para o desenvolvimento de compostos analgésicos e neuromoduladores de alta seletividade (Ferreira et al., 2020; Oliveira et al., 2013).

#### **1.6.4 Peptídeos moduladores dos canais de cloreto (Cl<sup>-</sup>)**

Os canais de cloreto (Cl<sup>-</sup>) constituem uma família de proteínas de membrana que permitem a passagem seletiva de íons Cl<sup>-</sup> entre o meio intra e extracelular, desempenhando papel essencial na regulação do potencial de membrana, volume celular, excitabilidade neuronal e secreção glandular. Estruturalmente, esses canais podem ser classificados em CIC, CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator) e Ca<sup>2+</sup>-ativados (ClCa), cada um com características moleculares e mecanismos de ativação distintos (Jentsch; Pusch, 2018; Staley et al., 1996).

Os canais Cl<sup>-</sup> atuam principalmente em três funções fisiológicas: manutenção do potencial de repouso e estabilização da excitabilidade celular, controle do volume celular em resposta a variações osmóticas, e regulação da secreção epitelial de fluidos e íons. No sistema nervoso, por exemplo, canais Cl<sup>-</sup> ativados por neurotransmissores como GABA e glicina promovem correntes inibitórias, hiperpolarizando o neurônio e modulando a transmissão sináptica (Hille, 2001; Jentsch; Pusch, 2018).

O funcionamento desses canais envolve diferentes modos de ativação: alguns respondem a variações de voltagem, outros a sinais químicos, como Ca<sup>2+</sup> intracelular, e ainda há canais regulados por ATP ou pH intracelular. Independentemente do mecanismo, a abertura do canal permite o fluxo de Cl<sup>-</sup>, geralmente promovendo hiperpolarização da membrana, o que contribui para a inibição de potenciais de ação e para a homeostase iônica e osmótica (Staley et al., 1996; Hille, 2001).

Alterações genéticas ou funcionais nos canais de Cl<sup>-</sup> estão associadas a diversas patologias humanas. Mutações no CFTR, por exemplo, resultam na fibrose cística, caracterizada por secreção de muco espesso em pulmões e pâncreas. Já mutações em genes da família CIC podem causar distúrbios musculares, neuropatias e problemas renais, evidenciando a importância desses canais na saúde humana (Jentsch; Pusch, 2018; Stauber et al., 2012).

Além disso, peptídeos bioativos contendo pontes dissulfeto presentes em venenos animais também têm sido estudados como moduladores de canais Cl<sup>-</sup>, podendo alterar sua condutância ou cinética de ativação, o que demonstra seu potencial como ferramentas

experimentais e protótipos terapêuticos (Rodrigues et al., 2004; Ferreira et al., 2020). Portanto, os canais de cloreto são fundamentais para a regulação elétrica e osmótica das células, atuando na excitabilidade neuronal, secreção epitelial e homeostase celular, além de constituírem alvos promissores para estudos farmacológicos e desenvolvimento de terapias

Entre os peptídeos da peçonha de escorpiões, destaca-se a clorotoxina (CITx), isolada do escorpião *Leiurus quinquestriatus hebraeus*, conhecida por sua ação moduladora sobre canais de cloreto dependentes de voltagem (CIC). Esse peptídeo de 36 aminoácidos, estabilizado por quatro pontes dissulfeto, bloqueia seletivamente o fluxo de íons  $\text{Cl}^-$ , interferindo na repolarização e na regulação do volume celular, o que contribui para a despolarização prolongada e os efeitos neurotóxicos característicos do envenenamento (DeBin; Strichartz, 1991; Oliveira et al., 2013). Além disso, a CITx apresenta afinidade por proteínas de membrana expressas em células gliais e tumorais, o que levou ao desenvolvimento de derivados com potencial diagnóstico e terapêutico para gliomas (Deshane et al., 2003; Ferreira et al., 2020).

Assim, os peptídeos escorpiônicos que modulam canais de cloreto representam componentes-chave da toxicidade da peçonha e potenciais modelos para o desenvolvimento de novas aplicações farmacológicas (Feng et al., 2015).

### **1.7 Peptídeos sem pontes dissulfeto (non-disulfide-bridged peptides – NDBPs)**

Os peptídeos sem pontes dissulfeto (NDBPs) constituem uma classe de moléculas bioativas encontradas em peçonhas animais, notadamente de escorpiões, aranhas e anêmonas marinhas. Diferentemente dos peptídeos com pontes dissulfeto, os NDBPs não possuem ligações covalentes entre cisteínas, o que lhes confere maior flexibilidade estrutural, permitindo a interação com múltiplos alvos celulares, incluindo membranas celulares, canais iônicos e receptores de superfície (Cordeiro; de Lima, 2001; Tytgat et al., 2013).

Estruturalmente, os NDBPs apresentam geralmente cadeias peptídicas curtas, ricas em aminoácidos básicos (como arginina e lisina), o que confere caráter catiônico e capacidade de se ligar a membranas carregadas negativamente. Essa característica permite que muitos NDBPs exerçam atividade antimicrobiana, citotóxica ou moduladora de canais iônicos, contribuindo para a defesa ou imobilização de presas pelo animal produtor (Rodrigues et al., 2004; Corona et al., 2019).

Do ponto de vista funcional, os NDBPs interagem com membranas e canais iônicos, podendo inserir-se na bicamada lipídica, formar poros transientes ou modular a condutância de canais como  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Ca}^{2+}$ . Sua ação geralmente é menos seletiva do que a dos peptídeos com pontes dissulfeto, porém mais ampla, permitindo efeitos antimicrobianos, hemolíticos ou neurotóxicos. Por exemplo, NDBPs de escorpiões demonstram atividade

antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, fungos e leveduras, além de apresentar efeitos moduladores em canais de sódio e potássio, embora com menor afinidade e seletividade em comparação às toxinas com pontes dissulfeto (Cordeiro; de Lima, 2001; Corona et al., 2019).

Os NDBPs têm despertado interesse farmacológico significativo, não apenas como ferramentas experimentais para estudar membranas e canais iônicos, mas também como protótipos de novos fármacos. Pesquisas indicam que esses peptídeos podem servir de base para o desenvolvimento de antimicrobianos, anticancerígenos e moduladores de inflamação, devido à sua capacidade de interagir com membranas celulares e modificar processos fisiológicos essenciais (Tytgat et al., 2013; Corona et al., 2019).

Estudos recentes relatam que no veneno de *Buthus martensii* foram identificados por LC-MS/MS mais de 150 sequências derivadas de peptídeos com 2 a 12 aminoácidos, com modificações pós-translacionais inéditas como benzoylizações no N-terminal (Zeng et al., 2024). Revisões amplas destacam que esses short scorpion venom antimicrobial peptides (ssAMPs), com cerca de 13–25 resíduos e carga positiva, exibem potente atividade contra *Staphylococcus aureus* e *Acinetobacter baumannii*, e que propriedades como momento hidrofóbico, flexibilidade intrínseca e carga líquida são cruciais para sua eficácia (Fong-Coronado et al., 2024). Ainda, esses peptídeos têm se mostrado capazes de induzir resposta baixa oxidativa e sideroforogênese em *E. coli*, evidenciando múltiplos modos de ação e propensão ao desenvolvimento de resistência (Giugliano et al., 2025; Nasr et al., 2023).

Dessa forma, os peptídeos sem pontes dissulfeto representam uma classe de moléculas versátil, com múltiplos alvos celulares e potencial terapêutico, complementando os efeitos mais seletivos e potentes dos peptídeos com pontes dissulfeto, e contribuindo para a diversidade funcional dos venenos animais.

## **1.8 Aplicação dos peptídeos da peçonha de escorpiões na saúde**

Os peptídeos bioativos derivados do veneno de escorpiões constituem um grupo de moléculas com grande relevância biomédica, apresentando propriedades farmacológicas que podem ser exploradas em diferentes áreas da medicina. O interesse crescente por esses peptídeos deve-se à sua especificidade e seletividade, características que permitem atingir alvos moleculares específicos sem afetar células saudáveis, reduzindo os efeitos adversos comuns em fármacos convencionais.

No campo oncológico, os peptídeos bioativos de escorpiões demonstraram potencial significativo, principalmente por meio da modulação de canais iônicos super expressos em células tumorais. A clorotoxina (CITx), derivada do *Leiurus quinquestriatus*, exemplifica esse

potencial, pois se liga preferencialmente a canais de cloro em gliomas e outros tipos de câncer, inibindo a migração e invasão celular e induzindo apoptose. Essa seletividade permite que a CITx seja utilizada não apenas como agente terapêutico direto, mas também como veículo para a entrega de drogas ou marcadores de imagem em cirurgias oncológicas, promovendo maior precisão e segurança na remoção de tumores (Sanders et al., 2018). Além disso, peptídeos como o AGAP (*Androctonus gibbosus* analgesic peptide) apresentam efeitos antiproliferativos sobre células de câncer de mama e de próstata, atuando na regulação de canais de sódio tipo Na-v e interferindo em processos de sinalização intracelular que controlam a proliferação celular.

A atividade antimicrobiana constitui outra área promissora. Peptídeos NDBPs, como mucroporin (*Lychnis mucronatus*) e opisthoporin (*Opisthophthalmus carinatus*), apresentam ação bactericida e fungicida contra patógenos humanos, incluindo cepas resistentes a antibióticos como *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. O mecanismo de ação geralmente envolve a interação eletrostática com membranas microbianas, levando à formação de poros, perda de integridade celular e morte do microrganismo. Essa propriedade confere aos peptídeos bioativos um papel estratégico no desenvolvimento de novos antibióticos e antifúngicos, particularmente frente ao aumento da resistência microbiana global (Zeng et al., 2014).

No contexto de doenças autoimunes e inflamatórias, peptídeos bloqueadores de canais de potássio, como charybdotoxin e margatoxin, mostram-se úteis na modulação da resposta imunológica. Esses peptídeos atuam principalmente sobre canais K-v1.3 de linfócitos T ativados, reduzindo a proliferação celular e a produção de citocinas inflamatórias. Estudos pré-clínicos sugerem que essa ação pode ser utilizada em terapias para esclerose múltipla, artrite reumatoide e outras doenças autoimunes, oferecendo uma abordagem específica e menos tóxica em comparação com os imunossupressores tradicionais (Chung et al., 2012).

Peptídeos bioativos também apresentam grande potencial na área neurológica, atuando como moduladores da excitabilidade neuronal e agentes analgésicos. Peptídeos como BmK AS (*Buthus martensii* Karsch analgesic peptide) demonstraram reduzir sinais de dor neuropática em modelos animais, modulando canais de sódio do tipo Na-v e diminuindo a atividade de neurônios sensitivos. Outros peptídeos bloqueadores de canais de cálcio tipo L têm sido estudados quanto à sua capacidade de prevenir convulsões e proteger contra neurodegeneração, oferecendo possibilidades terapêuticas para epilepsia, esclerose lateral amiotrófica e outras condições neurológicas (Rodrigues et al., 2018). A capacidade de alguns desses peptídeos atravessarem a barreira hematoencefálica com mínima toxicidade sistêmica amplia ainda mais seu potencial clínico.

Além de aplicações terapêuticas, os peptídeos bioativos têm sido explorados na área diagnóstica. A clorotoxina, conjugada com fluoróforos ou nanopartículas, permite a visualização precisa de tumores cerebrais durante procedimentos cirúrgicos, aumentando a exatidão da ressecção tumoral e reduzindo danos a tecidos saudáveis adjacentes (Sanders et al., 2018). Essa aplicação representa um exemplo claro da integração entre biologia molecular e medicina de precisão, demonstrando como toxinas naturais podem ser convertidas em ferramentas diagnósticas sofisticadas.

No campo cardiovascular, peptídeos moduladores de canais iônicos, incluindo aqueles que bloqueiam canais de potássio ou sódio específicos, têm mostrado potencial para prevenir arritmias e regular o ritmo cardíaco. A modulação seletiva do potencial de ação em cardiomiócitos permite a correção de disparos elétricos anormais sem induzir efeitos sistêmicos prejudiciais, destacando o potencial desses peptídeos como alternativas a antiarrítmicos convencionais, cujas doses terapêuticas frequentemente se aproximam de níveis tóxicos (Pérez-rivera et al., 2019).

Além das aplicações terapêuticas já estabelecidas, pesquisas recentes apontam para novas fronteiras, como o uso de peptídeos bioativos em nanomedicina, engenharia de tecidos e terapias combinadas. A conjugação de peptídeos com nanopartículas ou lipossomas possibilita a entrega direcionada e controlada de drogas, aumentando a eficácia terapêutica e minimizando efeitos adversos. Alguns estudos indicam que peptídeos da peçonha de escorpião podem ser modificados quimicamente para melhorar estabilidade, meia-vida plasmática e penetração em tecidos específicos, abrindo caminho para a transformação dessas moléculas naturais em fármacos comerciais viáveis (Sanders et al., 2018; Rodriguues et al., 2018).

Em síntese, os peptídeos bioativos derivados da peçonha de escorpiões apresentam um potencial terapêutico multidimensional, com aplicações que abrangem oncologia, infecções bacterianas e fúngicas, doenças autoimunes, dor neuropática, neurodegeneração, diagnóstico oncológico e terapia cardiovascular. A riqueza funcional desses peptídeos está intimamente relacionada à sua capacidade de interagir, de forma seletiva, com canais iônicos e membranas celulares, tornando-os candidatos ideais para o desenvolvimento de novas drogas e tecnologias biomédicas. Com o avanço das técnicas de biologia molecular, engenharia de proteínas e farmacologia de precisão, é possível que, nas próximas décadas, os peptídeos de escorpião se consolidem como um grupo promissor de agentes terapêuticos e diagnósticos, combinando eficiência, seletividade e inovação biomédica.

## **2. Objetivo**

Avaliar o potencial de interação de cinco peptídeos bioativos, provenientes de diferentes gêneros de escorpiões, com o canal Nav1.7 — um alvo molecular de destaque em condições relacionadas à dor neuropática.

## **3. Material e métodos**

### **3.1 Seleção dos peptídeos**

Para a seleção das sequências de peptídeos, utilizou-se o banco de dados UniProt (Universal Protein Resource), disponível em <https://www.uniprot.org/>. A escolha por sequências depositadas em bancos de dados é justificada pelo aumento dos depósitos de sequências biologicamente ativas, o que permite o acesso a informações confiáveis e atualizadas, possibilitando análises comparativas, estudos estruturais e inferências funcionais com base em dados previamente validados. Assim, a metodologia computacional se apresenta como uma opção prática e de baixo custo, viabilizando a análise de peptídeos quanto às suas propriedades estruturais, físico-químicas e funcionais, sem a exigência de experimentos em bancada. Essa estratégia não só simplifica o acesso aos dados, mas também beneficia pesquisas futuras ao permitir a previsão de características estruturais e funcionais, bem como a escolha de candidatos mais promissores para análises experimentais. Dessa forma, os recursos são otimizados e os esforços são concentrados em moléculas com maior potencial bioativo.

A seleção das sequências foi realizada com as palavras-chave scorpion toxin sodium channel, com o objetivo de localizar peptídeos previamente descritos em estudos sobre toxinas de escorpiões que atuam sobre canais de sódio.

O tamanho das sequências foi considerado o principal critério para a triagem inicial, priorizando peptídeos com até 100 resíduos de aminoácidos para evitar moléculas excessivamente grandes que poderiam limitar a viabilidade de análises estruturais e funcionais subsequentes.

Além desse critério, considerou-se também a representatividade taxonômica e geográfica das amostras, com o objetivo de abranger uma maior diversidade biológica e filogenética no grupo. Dessa forma, buscou-se selecionar peptídeos provenientes de diferentes gêneros de escorpiões e distribuídos em regiões geográficas distintas, de modo a ampliar o espectro comparativo e possibilitar inferências mais robustas acerca das variações estruturais e funcionais entre espécies de escorpiões.

Aplicando esses critérios, selecionaram-se 5 peptídeos de escorpiões, que compuseram o conjunto inicial de moléculas a serem analisadas nas etapas subsequentes do projeto.

O alinhamento múltiplo das sequências foi realizado no MAFFT v7, na plataforma online. O algoritmo utilizado foi o L-INS-i, por apresentar maior precisão em sequências curtas, e o arquivo resultante, no formato CLUSTAL, foi exportado para análises posteriores das similaridades e diferenças entre os peptídeos.

### **3.2. Modelagem molecular dos peptídeos selecionados**

A determinação da estrutura tridimensional (3D) de um peptídeo é essencial para elucidar seu papel biológico. A modelagem estrutural não apenas revela a conformação estável e a posição dos resíduos-chave, mas também detalha a capacidade de se ligar a moléculas-alvo, como receptores, canais iônicos e enzimas. A modelagem estrutural oferece uma perspectiva aprofundada dessas áreas funcionais e possibilita prever alterações que possam aumentar a estabilidade, a especificidade ou a atividade biológica dos peptídeos. Além disso, para análises computacionais avançadas, como acoplamento molecular (docking), é necessário ter modelos tridimensionais confiáveis.

A predição estrutural dos peptídeos foi conduzida com a plataforma AlphaFold, acessada por meio do servidor online (<https://alphafoldserver.com/>). Essa ferramenta utiliza inteligência artificial, permitindo estimar a conformação tridimensional de proteínas e peptídeos a partir de suas sequências primárias, oferecendo resultados com elevado nível de confiabilidade e precisão. O uso do AlphaFold tem se destacado por fornecer modelos estruturais comparáveis aos obtidos por métodos experimentais, otimizando o tempo e reduzindo custos nas análises estruturais (UZOETO et al., 2024). As estruturas resultantes foram exportadas no formato .pdb, permitindo a posterior visualização e interpretação em softwares de bioinformática estrutural.

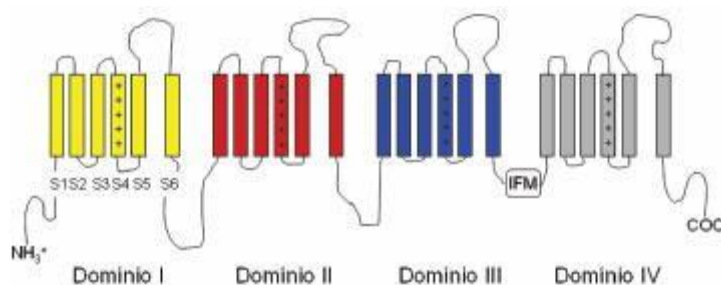
A avaliação da qualidade estereoquímica dos modelos proteicos foi realizada no servidor PROCHECK (<https://servicesn.mbi.ucla.edu/PROCHECK/>). A qualidade do modelo foi verificada por meio do gráfico de Ramachandran, que analisa a distribuição dos ângulos  $\phi$  (phi) e  $\psi$  (psi) por meio da concentração significativa desses ângulos em regiões conformationalmente permitidas (Hollingsworth et al., 2010).

### **3.3. Docking molecular com o alvo Nav**

Após a modelagem e validação estrutural dos peptídeos selecionados, realizou-se a etapa de docking molecular. O objetivo dessa etapa foi prever e descrever as possíveis interações entre os peptídeos candidatos e o canal de sódio Nav, com foco nas regiões S3 e

S4 (Fig. 2), por se tratar de segmentos que compõem o sensor de voltagem do canal, ricos em resíduos carregados positivamente e diretamente envolvidos nos processos de ativação e inativação da proteína. Essa escolha se justifica pelo fato de diversas toxinas de escorpiões exercerem sua ação moduladora nesses locais, interferindo na dinâmica conformacional do canal e, conseqüentemente, na propagação do potencial de ação. Essa abordagem permite estimar o potencial de ligação dos peptídeos, identificar os resíduos críticos envolvidos na interação e compreender como esses ligantes podem modular a função do canal, servindo de base para estudos experimentais futuros.

**Figura 2.** Representação esquemática da subunidade  $\alpha$  do canal de sódio dependente de voltagem em mamíferos. A estrutura é composta por quatro domínios homólogos (I–IV), dispostos ao redor de um poro central. Cada domínio contém seis hélices transmembranares (S1-S6). As hélices S1-S4 formam o domínio sensor de voltagem e as hélices S5-S6, juntamente com a laça de conexão entre elas, formam o poro de condução. Adaptado de Araujo (2008).



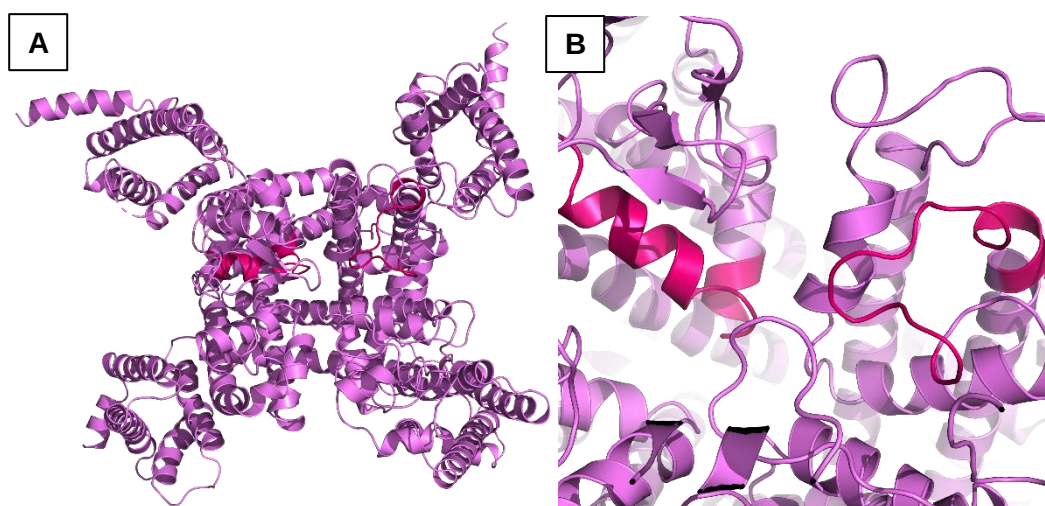
O acoplamento molecular foi conduzido na plataforma HADDOCK (High Ambiguity Driven protein-protein DOCKing), utilizando sua interface web, disponível publicamente em: <https://rascar.science.uu.nl/haddock2.4/>. Esta ferramenta se destaca por empregar uma abordagem híbrida que combina informações experimentais e simulações computacionais para guiar o docking de forma eficiente, permitindo a modelagem precisa de complexos biomoleculares (van Zundert et al., 2016).

### 3.3.1 Alvo molecular utilizado: Nav1.7

O canal de sódio Nav1.7, registrado no RCSB PDB sob o código 6J8J, foi usado como alvo nos testes de interação com peptídeos bioativos. Essa estrutura foi obtida por criomicroscopia eletrônica, com resolução de 3,2 Å, e representa o canal em conformação aberta, associado à subunidade  $\beta 1$ . A escolha de uma estrutura experimental depositada no PDB garante maior confiabilidade e reprodutibilidade nas análises de interações moleculares, uma vez que seus parâmetros estruturais foram determinados e validados

experimentalmente. Os canais de sódio Nav são proteínas transmembranares fundamentais para a transmissão do potencial de ação em células excitáveis, controlando o fluxo de íons de sódio e, consequentemente, a excitabilidade de neurônios e músculos. O Nav1.7 é considerado um alvo terapêutico promissor devido à sua relevância fisiológica e ao envolvimento em várias condições patológicas, como a dor neuropática e as doenças cardíacas. Para a análise de docking, foram escolhidos como resíduos ativos aqueles localizados nas hélices S3 e S4, responsáveis pela regulação da abertura do canal e pela seletividade iônica: S3 (1401–1418) e S4 (1693–1709). Além destes, foram considerados resíduos adjacentes nessas regiões, a fim de mapear possíveis interações críticas entre o peptídeo e a proteína (Fig. 3).

**Figura 3.** Estrutura do canal de sódio Nav 1.7. Os resíduos selecionados para a interação no docking molecular estão em rosa.



Cada sistema envolvendo um peptídeo e seu alvo proteico teve suas estruturas individuais, preparadas anteriormente, carregadas na interface HADDOCK como arquivos .pdb. O protocolo de acoplamento seguiu as diretrizes padrão do software para interações proteína-peptídeo. A avaliação dos resultados foi fundamentada no critério energético principal, utilizando o escore HADDOCK (HADDOCK score) para hierarquizar e identificar os complexos mais estáveis.

A pós-análise dos resultados de docking envolveu a caracterização estrutural dos complexos. A avaliação da conformação espacial e do encaixe molecular foi realizada por meio de análise visual no software PyMOL (<https://pymol.org/>). Paralelamente, um mapeamento sistemático dos modos de interação foi obtido por meio da ferramenta LigPlot+, incluindo ligações de hidrogênio. A execução desta etapa mostrou-se crucial para discriminar

candidatos que apresentavam uma interface de ligação mais favorável energeticamente e maior complementaridade de superfície com o alvo molecular.

## 4. Resultados e discussão

### 4.1 Seleção dos peptídeos

Foram selecionados cinco peptídeos bioativos provenientes de espécies da família *Buthidae*, conhecida por produzir toxinas ricas em cisteínas que atuam principalmente sobre canais iônicos de sódio, potássio e cálcio (Possani et al., 1999; Rodríguez de la Vega & Possani, 2005). Os peptídeos escolhidos pertencem aos gêneros *Androctonus*, *Mesobuthus*, *Centruroides*, *Buthus* e *Hottentotta*, abrangendo regiões geográficas distintas e representando diferentes linhagens evolutivas no grupo.

As sequências foram obtidas diretamente do UniProt, garantindo curadoria e padronização (UniProt Consortium, 2023). O tamanho dos peptídeos varia entre 64 e 87 aminoácidos. Todos os peptídeos apresentam 6 a 8 resíduos de cisteína, que se organizam formando 3 ou 4 ligações dissulfeto, uma estrutura altamente conservada e essencial para a estabilidade tridimensional e a afinidade pelo alvo molecular (Zhu et al., 2020).

A seguir, a Tabela 2 apresenta a sequência primária de cada peptídeo, seu tamanho, o número estimado de ligações dissulfeto e características relacionadas ao local de ocorrência natural das espécies.

**Tabela 2.** Sequência dos peptídeos selecionados e características relacionadas ao seu local de ocorrência.

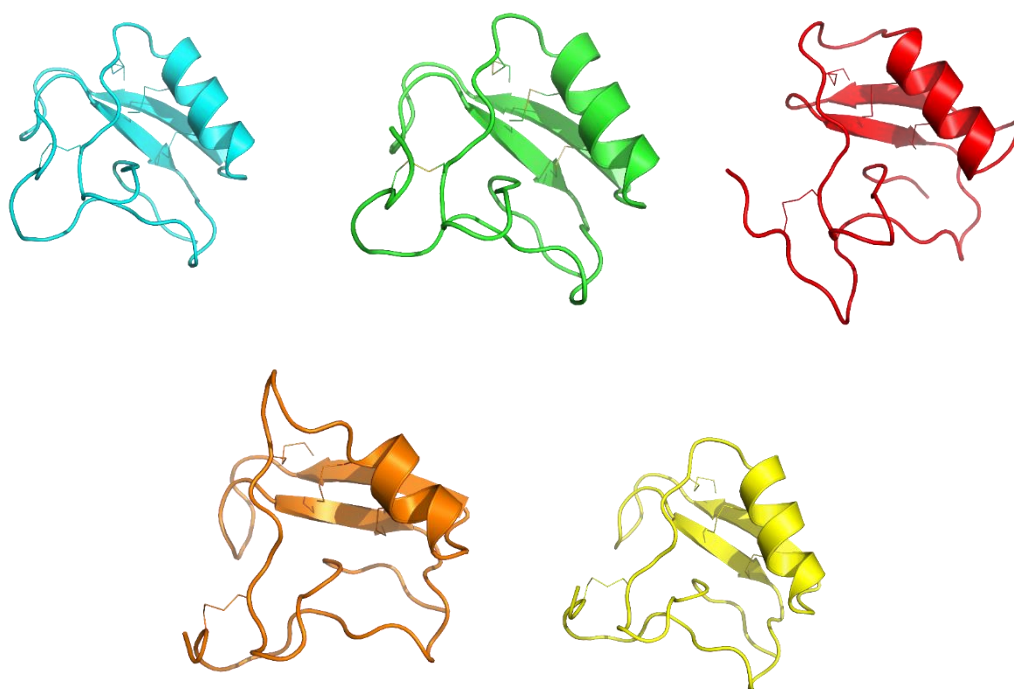
| Espécie             | Peptídeo       | Sequência                                                                                                 | Características                                                                                                                                                |
|---------------------|----------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>A. australis</i> | AaH II         | MNYLVMISLALLFVTGV<br>ESVKDGYIVDDVNCTY<br>FCGRNAYCNEECKLK<br>GESGYCQWASPYGNA<br>CYCYKLDPDHVRTKGPG<br>RCHGR | 85 aa; 4 pontes dissulfeto; espécie do Norte da África (principalmente no Saara: Argélia, Tunísia, Líbia); toxina do tipo $\alpha$ , moduladora de canais Nav. |
| <i>M. eupeus</i>    | MeuNaTxalpha-1 | MNSLVMISLALLVMTG<br>VESVRDGYIADDKNCA<br>YFCGRNAYCDEECKKK<br>GAESGYCQWAGQYGN                               | 85 aa; 4 pontes dissulfeto; ocorre na Ásia Central e no Oriente Médio (Irã, Turquia, Afeganistão);                                                             |

|                     |                 |                                                                                                             |                                                                                                                                                                        |
|---------------------|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                     |                 | ACWCYKLPDKVPIKVS<br>GKCNGR                                                                                  | toxina $\alpha$ retardadora da<br>inativação dos canais Nav.                                                                                                           |
| <i>C. noxius</i>    | Beta-toxin Cn4  | MNSLLMITACLALVGTV<br>WAKEGYLVNSYTGCK<br>YECFKLGDNDYCLREC<br>KQQYGKGAGGYCYAF<br>GCWCTHLYEQAVVWP<br>LKNKTCNGK | 87 aa; 4 pontes dissulfeto;<br>espécie do México<br>(América Central); toxina<br>Cn2, moduladora de<br>Nav1.2 e Nav1.6.                                                |
| <i>B. occitanus</i> | Bom IV          | GRDAYIAQPENCVYEC<br>AKNSYCNDLCTKNGAK<br>SGYCQWLKGKYNACW<br>CEDLPDNPPIRIPGKCH<br>F                           | 65 aa; 4 pontes dissulfeto;<br>ocorre no Norte da África,<br>Europa e Oriente Médio;<br>toxina do tipo $\alpha$ / $\beta$ com<br>ação sobre canais Nav.                |
| <i>H. judaicus</i>  | Delta-butx-hj2a | GRDAYIADDKNCVYTC<br>AKNSYCNECTKNGAE<br>SGYCQWLKGKYNACW<br>WCKNLDPKVPIRIPGP<br>CR                            | 64 aa; 4 pontes dissulfeto;<br>espécie do Oriente Médio<br>(Israel, Síria, Líbano);<br>toxina $\delta$ (Delta-BUTX-<br>Hj2a), moduladora da<br>ativação de canais Nav. |

#### 4.2. Modelagem molecular dos peptídeos moduladores de canal de sódio selecionados

A Figura 4 mostra as estruturas tridimensionais dos cinco peptídeos moduladores de canais de sódio escolhidos neste estudo, modeladas usando AlphaFold. Essas estruturas apresentam motivos estruturais típicos de toxinas de escorpiões, como a dobra  $\beta$  associada a um segmento helicoidal, indicando a conformação estável e compacta desses peptídeos. A variação conformacional entre os modelos destaca diferenças nas regiões de loop e na organização espacial, fatores que podem afetar seus perfis de interação com o canal Nav1.7, analisados nas próximas seções.

**Figura 4.** Estrutura dos peptídeos modelados. AaH II (azul), MeuNaTx $\alpha$ -1 (verde),  $\beta$ -toxin Cn4 (vermelho), Bom IV (laranja) e  $\delta$ -Butx-HJ2A (amarelo).



A Figura 5 apresenta a matriz de identidade das sequências dos cinco peptídeos analisados, facilitando a visualização do nível de similaridade entre eles. Percebe-se que AaH II e MeuNaTx $\alpha$ -1 apresentam similaridade moderada, enquanto Beta-toxin Cn4 apresenta menor similaridade em relação aos demais peptídeos. Já Bom IV e  $\delta$ -Butx-HJ2A apresentam valores mais elevados de identidade, indicando maior conservação estrutural e, potencialmente, funcional. Abaixo da matriz, estão alinhadas as sequências primárias dos peptídeos, destacando as regiões conservadas e variáveis que explicam os padrões na matriz de similaridade. Esses resultados contribuem para compreender as relações evolutivas e estruturais entre as toxinas analisadas, fornecendo subsídios para interpretar suas diferenças no reconhecimento do canal Nav1.7.

**Figura 5.** Op de identidade e sequências alinhadas

|                 | AaH II | MeuNaTxalpha-1 | Beta-toxin Cn4 | Bom IV | Delta-butx-hj2a |
|-----------------|--------|----------------|----------------|--------|-----------------|
| AaH II          | 100.0  | 71.21          | 28.57          | 51.52  | 56.06           |
| MeuNaTxalpha-1  | 71.21  | 100.0          | 24.64          | 59.09  | 66.67           |
| Beta-toxin Cn4  | 28.57  | 24.64          | 100.0          | 28.57  | 21.74           |
| Bom IV          | 51.52  | 59.09          | 28.57          | 100.0  | 78.46           |
| Delta-butx-hj2a | 56.06  | 66.67          | 21.74          | 78.46  | 100.0           |

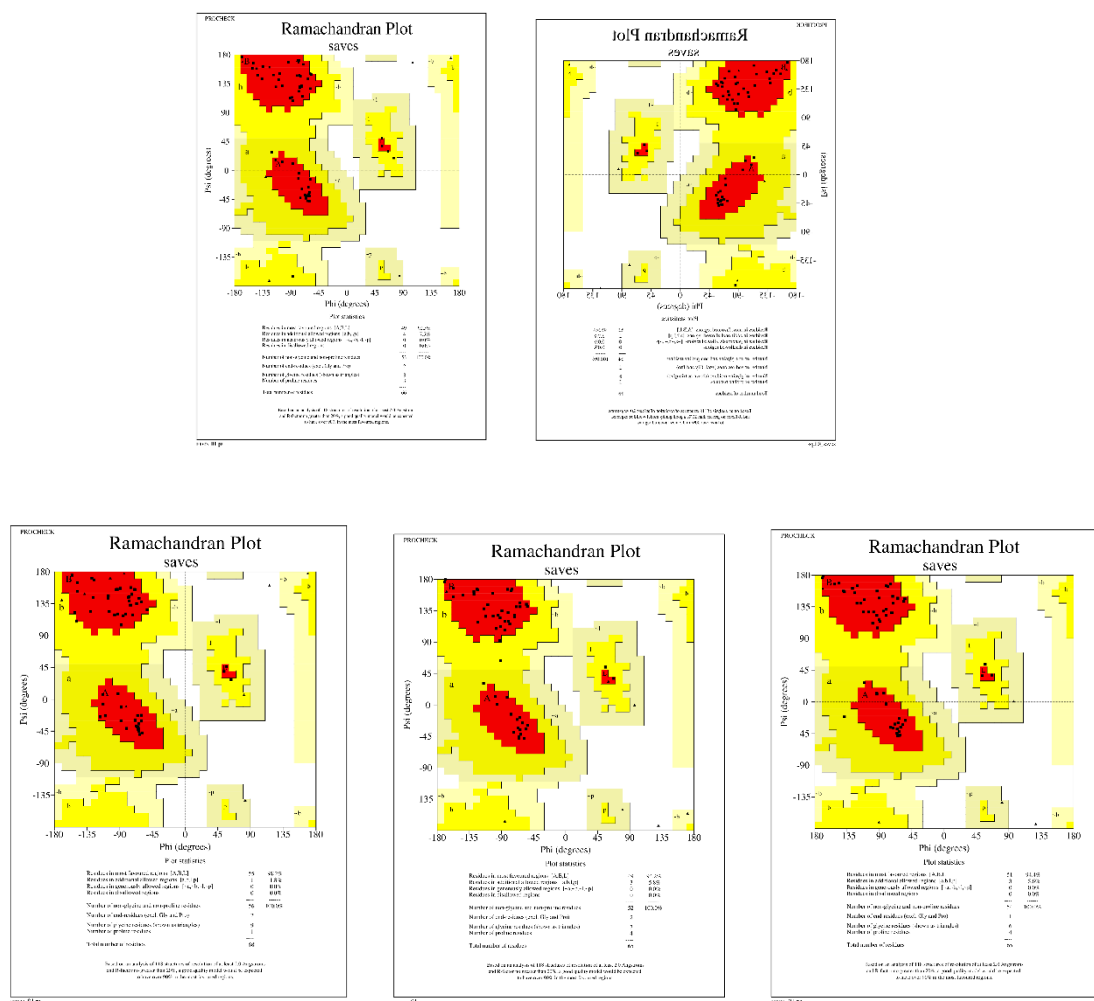
VKDG YIVDD . VNCT YFC . . . GRNAYCNEECTKLKGE . . SGYCQWASPYGNACYCYKLPDHV . . . RTKGPGRCHGR  
VRDGYIADD . KNCAYFC . . . GRNAYCDEECKKKGAE . . SGYCQWAGQYGNACWCYKLPDKV . . . PIKVS GKCNGR  
GRDAYIAQP . ENCVYEC . . . AKNSYCNDLCTKNGAK . . SGYCQWL GKYGNACWCEDLPDNV . . . PIRIPGKCH . F  
GRDAYIADD . KNCVYTC . . . AKNSYCNEECTKNGAE . . SGYCQWL GKYGNACWCCKNLPDKV . . . PIRIPGPCR . .  
. KEGYLVNSYTGCKYECFKLGDN DYCLRECKQY GKGAGGYC . . . . YAFGCWCTHLYEQAVVWPLK . NKT CNGK

A Tabela 3 apresenta os resultados da modelagem estrutural dos peptídeos, realizada na plataforma AlphaFold. De acordo com o ranking interno do próprio software, foram escolhidos os modelos com maior confiabilidade preditiva. A seguir, a qualidade estrutural dos modelos foi avaliada com a ferramenta PROCHECK, utilizando o diagrama de Ramachandran para analisar a distribuição conformacional dos resíduos.

**Tabela 3.** Peptídeos e pontuação obtida no diagrama de Ramachandram.

| Peptídeo        | Ramachandram % |
|-----------------|----------------|
| AaH II          | 92,5           |
| MeuNaTxalpha-1  | 96,3           |
| Beta-toxin Cn4  | 98,2           |
| Bom IV          | 94,2           |
| Delta-butx-hj2a | 94,4           |

No gráfico de Ramachandran (Fig. 6), todas as modelagens apresentaram valores satisfatórios, com a maioria dos modelos apresentando mais de 90% dos resíduos em regiões favoráveis, indicando que as predições têm boa qualidade estrutural. Embora nenhum dos peptídeos tenha atingido 100% de resíduos nas regiões favoráveis, todos se mantiveram dentro do intervalo considerado adequado para os modelos gerados por predição computacional (SOBOLEV et al., 2020).

**Figura 6.** Diagramas de Ramachandran dos peptídeos selecionados

### 4.3 Docking Molecular

Buscando ampliar a confiabilidade dos resultados obtidos pela triagem computacional e compreender de forma mais detalhada o potencial de interação dos peptídeos, realizou-se a etapa de docking molecular no canal de sódio dependente de voltagem. Essa análise teve como propósito investigar o comportamento dos complexos formados, fornecendo evidências estruturais sobre a afinidade e a estabilidade das ligações previstas.

O procedimento de docking foi essencial para comparar o desempenho relativo entre os peptídeos, permitindo distinguir aqueles com interações mais fortes e específicas dos que apresentam baixa compatibilidade estrutural.

Os valores obtidos de HADDOCK score, RMSD (desvio médio quadrático) e número total de interações, apresentados na Tabela 4, refletem a qualidade e a estabilidade dos

complexos simulados. Pontuações mais negativas do HADDOCK score indicam maior afinidade entre o peptídeo e o canal, enquanto o número de interações fornece indícios sobre a robustez do encaixe e o potencial de ligação em regiões funcionalmente relevantes da proteína.

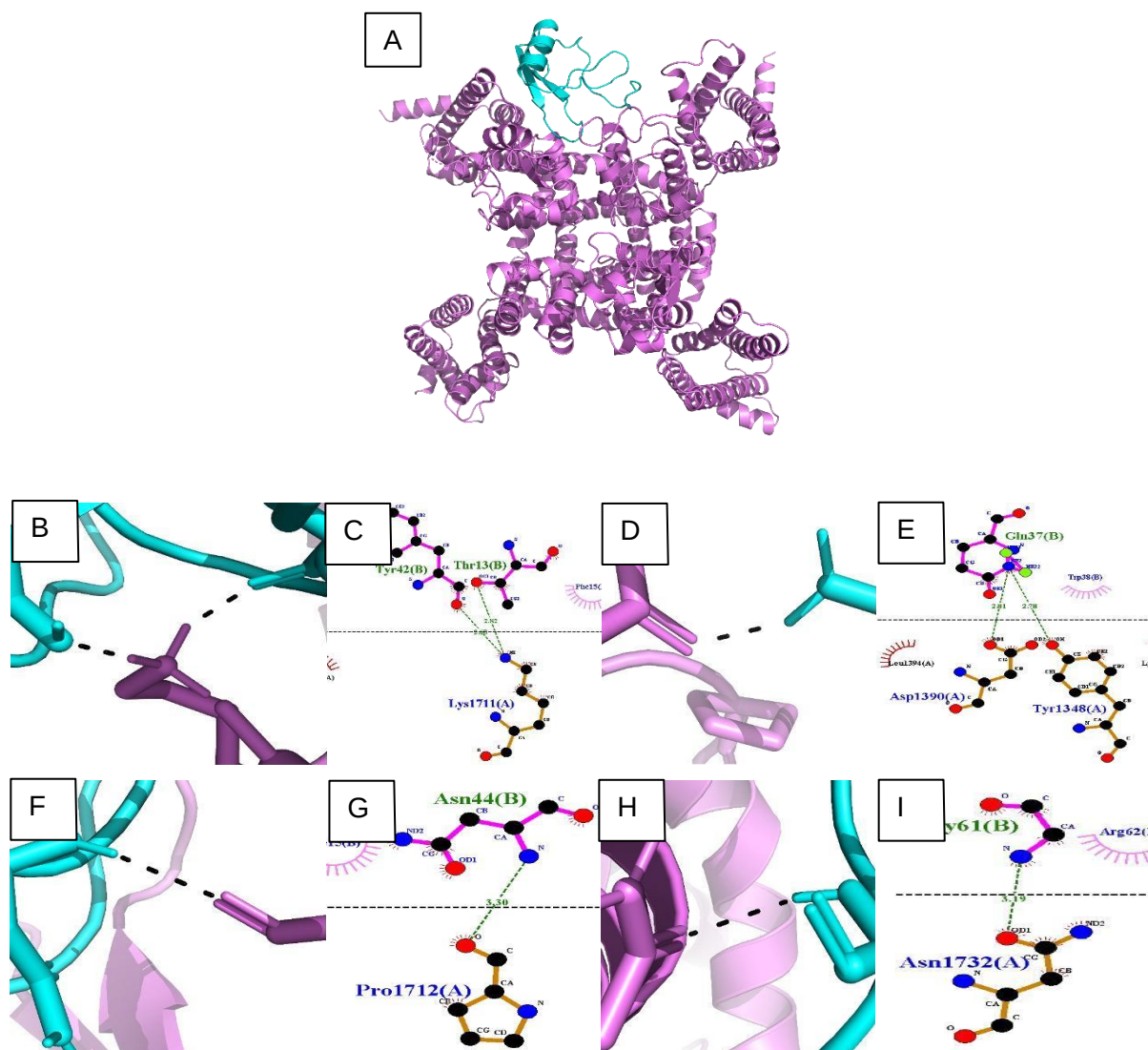
**Tabela 4.** Haddock score, RMSD e principais ligações do resultado de Docking do alvo molecular Nav 1.7.

| Peptídeo        | HADDOCK score   | RMSD        | Ligações |
|-----------------|-----------------|-------------|----------|
| AaH II          | -132.1 +/- 7.7  | 0.4 +/- 0.3 | 04       |
| MeuNaTxalpha-1  | -140,3 +/- 10,7 | 0,5 +/- 0,3 | 03       |
| Beta-toxin Cn4  | -142.8 +/- 6.9  | 0.3 +/- 0.2 | 02       |
| Bom IV          | -132.2 +/- 1.3  | 8.0 +/- 0.1 | 01       |
| Delta-butx-hj2a | -116.2 +/- 12.7 | 9.9 +/- 0.0 | 03       |

A Figura 7 mostra as interações moleculares do peptídeo AaH II (em azul) com o canal de sódio voltagem-dependente Nav1.7 (em lilás), obtidas através de docking molecular. Em (A), há uma visão geral do complexo, destacando a posição do peptídeo na superfície extracelular do canal. Os painéis (B–I) apresentam detalhes das principais interações na interface, evidenciando contatos específicos entre resíduos críticos do peptídeo e regiões estruturais do Nav 1.7, como ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e aproximações eletrostáticas. Destacam-se resíduos como Tyr, Asp, Asn e Pro, que participam de interações estabilizadoras, conforme mostrado nos subpainéis rotulados. Essa imagem demonstra a complementaridade estrutural entre AaH II e o canal Nav 1.7, ressaltando a base molecular de sua afinidade e sugerindo regiões potencialmente importantes para sua atividade moduladora.

**Figura 7.** Docking molecular entre o peptídeo AaH II e o canal de sódio Nav 1.7 em lilás e o peptídeo AaH II em azul. Interação do peptídeo AaH II (azul) com o canal NaV (lilás). (A) Visão geral. (B–C) Interações do resíduo 1711 do receptor com os resíduos 42 e 13 do peptídeo. (D–E-F-G) Interações dos resíduos 1390, 1348 e 1712 do receptor com os resíduos 37 e 44, além da interação entre o resíduo (H-I) 1732 e o resíduo 61. Ligações de hidrogênio

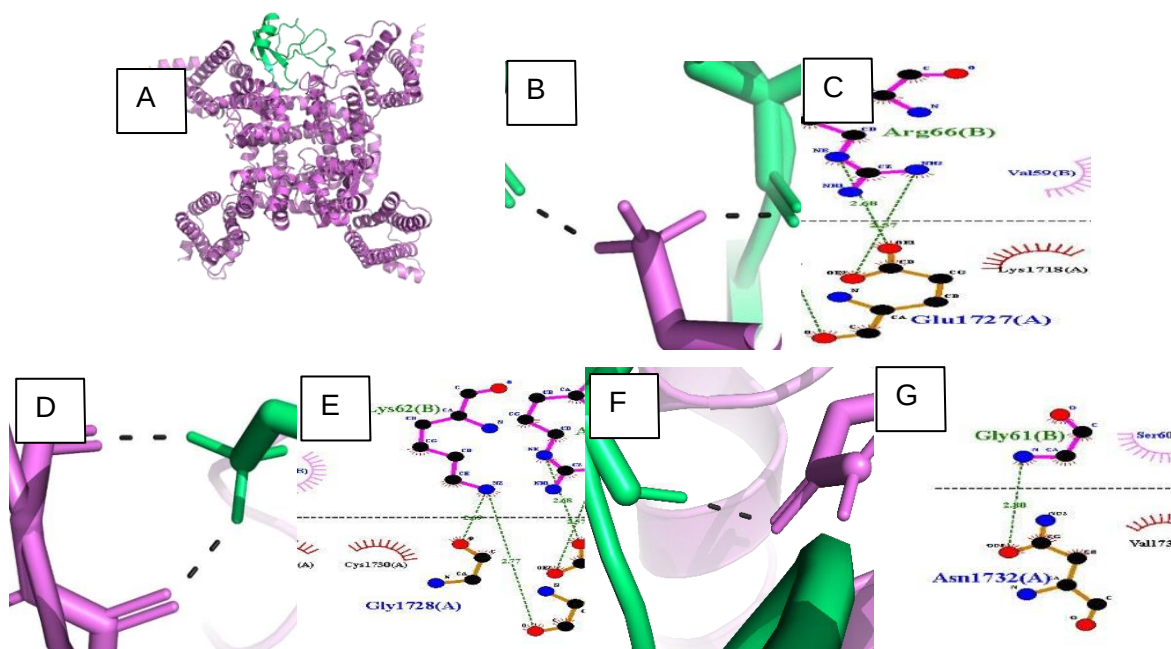
em verde e interações hidrofóbicas indicadas por semicírculos (rosa para o peptídeo e vermelho para o receptor).



A Figura 8 mostra as interações moleculares entre o peptídeo MeuNaTx $\alpha$ -1 (em verde) e o canal de sódio Nav1.7 (em lilás), obtidas a partir do modelo de docking. No painel (A), apresentamos uma visão geral do complexo, destacando o posicionamento do peptídeo na região extracelular do canal. Os painéis (B) e (C) revelam as interações específicas entre o resíduo 1727 do receptor e o resíduo 66 do peptídeo, incluindo ligações de hidrogênio e contatos próximos. Os painéis (D), (E), (F) e (G) ilustram interações adicionais envolvendo os resíduos 1728 e 1732 do Nav1.7 e os resíduos 62 e 61 do MeuNaTx $\alpha$ -1, com destaque para ligações de hidrogênio (em verde) e interações hidrofóbicas (mostradas por semicírculos em rosa para o peptídeo e em vermelho para o receptor). No conjunto, os resultados mostram

uma interface bem definida e complementar entre o peptídeo e o canal, o que apoiaria sua capacidade potencial de modular o Nav1.7.

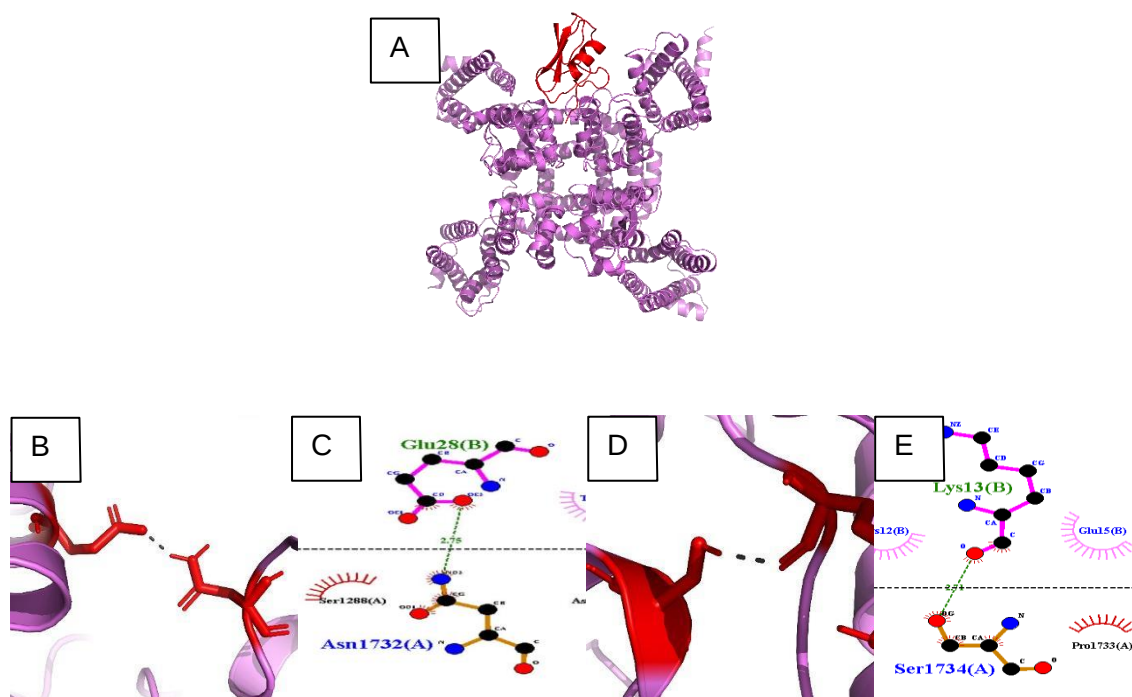
**Figura 8.** Docking molecular entre o peptídeo MeuNaTxalpha-1 e canal de sódio Nav 1.7 em lilás e peptídeo MeuNaTxalpha-1 em verde. Interação do peptídeo MeuNaTxalpha-1 (em verde) com o canal NaV (em lilás). (A) Visão geral. (B–C) Interações entre o resíduo 1727 do receptor e o resíduo 66 do peptídeo. (D–E-F-G) Interações dos resíduos 1728, 1732 do receptor com os resíduos 62 e 61. Ligações de hidrogênio em verde e interações hidrofóbicas indicadas por semicírculos (rosa para o peptídeo e vermelho para o receptor).



A Figura 9 exibe as interações moleculares entre o peptídeo Beta-toxin Cn4, em vermelho, e o canal de sódio Nav 1.7, em lilás, obtidas por simulações de docking. O painel (A) apresenta uma visão geral do complexo, destacando a posição do peptídeo sobre a região extracelular da proteína. Os painéis (B) e (C) mostram as interações do resíduo 1732 do receptor com o resíduo 28 da toxina, evidenciando contatos próximos e ligações de hidrogênio que contribuem para a estabilidade do complexo. Os painéis (D) e (E) ilustram interações adicionais entre resíduos adjacentes, incluindo contatos hidrofóbicos marcados por semicírculos rosa (peptídeo) e vermelho (receptor). Esses dados indicam que, embora o Beta-toxin Cn4 se ligue ao canal, suas interações são mais pontuais e menos extensas em

comparação a outros peptídeos analisados, sugerindo um potencial modulador mais limitado em relação aos demais ligantes estudados.

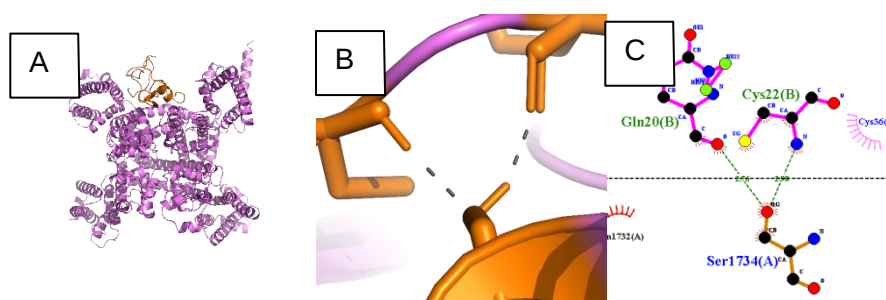
**Figura 9.** Docking molecular entre o peptídeo Beta-toxin Cn4 e canal de sódio Nav 1.7 em lilás e peptídeo Beta-toxin Cn4 em vermelho. Interação do peptídeo Beta-toxin Cn4 (em vermelho) com o canal NaV (em lilás). (A) Visão geral. (B–C) Interações entre o resíduo 1732 do receptor e o resíduo 28 do peptídeo. (D–E) Interações do resíduo 1734 do receptor com o resíduo 13. Ligações de hidrogênio em verde e interações hidrofóbicas indicadas por semicírculos (rosa para o peptídeo e vermelho para o receptor).



A Figura 10 mostra a conformação mais favorável obtida no estudo de acoplamento molecular (docking) entre o peptídeo Bom IV e o canal de sódio Nav 1.7. O painel (A) apresenta a visão geral do complexo, onde o peptídeo, em laranja, se insere no sítio de ligação do canal, destacado em lilás. Os painéis (B-C) detalham as principais interações intermoleculares que garantem a estabilidade do complexo. Essas interações ocorrem principalmente entre o resíduo 1734 do receptor e os resíduos 20 e 22 do peptídeo Bom IV. A estabilidade do complexo é sustentada por ligações de hidrogênio (em verde) e interações hidrofóbicas (com semicírculos rosa para o peptídeo e vermelhos para o receptor). Essas

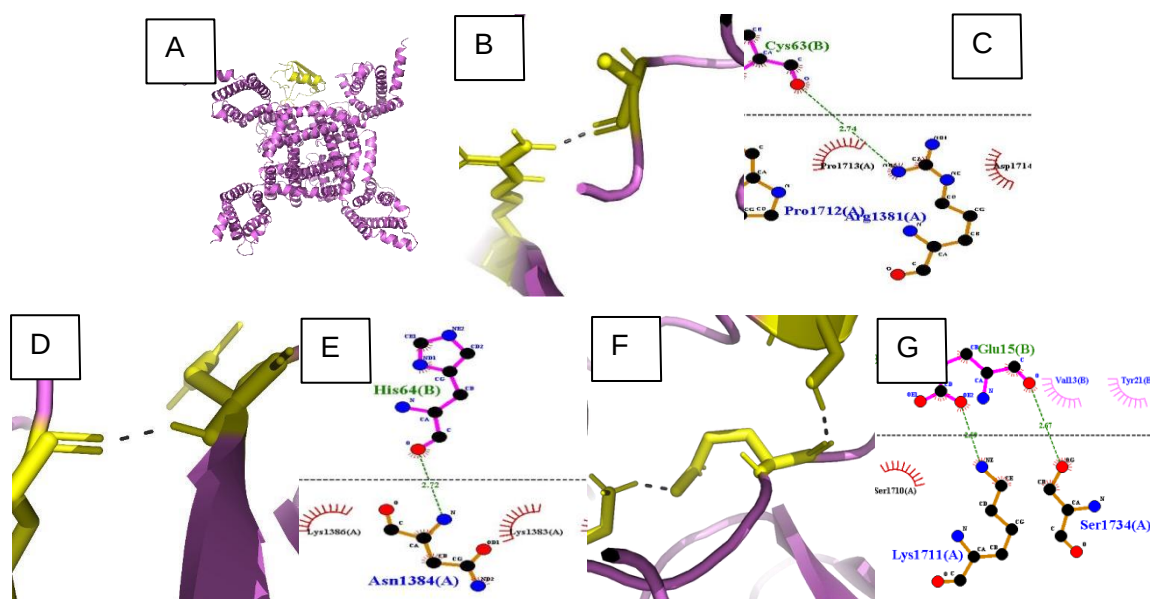
informações fornecem uma base estrutural importante para entender como o peptídeo bloqueia o canal iônico Nav 1.7, o que tem relevância farmacológica.

**Figura 10.** Docking molecular entre o peptídeo Bom IV e o canal de sódio Nav 1.7 em lilás e o peptídeo Bom IV em laranja. Interação do peptídeo Bom IV (laranja) com o canal Nav (lilás). (A) Visão geral. (B–C) Interações do resíduo 1734 do receptor com os resíduos 20 e 22 do peptídeo. Ligações de hidrogênio em verde e interações hidrofóbicas indicadas por semicírculos (rosa para o peptídeo e vermelho para o receptor).



A Figura 11 apresenta os resultados detalhados do estudo de acoplamento molecular (docking) entre o peptídeo Delta-Butx-hj2a e o canal de sódio voltagem-dependente Nav 1.7. O peptídeo é destacado em amarelo e interage com o receptor lilás. O painel (A) apresenta a visão geral do sítio de ligação, enquanto os painéis (B) a (G) mostram as interações específicas em nível de resíduos. Notam-se resíduos-chave do receptor 1381, 1384, 1711 e 1734, que interagem com resíduos do peptídeo (15 e 63). A estrutura tridimensional do peptídeo Delta-Butx-hj2a é essencial para seu mecanismo de ação, pois sua conformação e disposição espacial dos aminoácidos possibilitam a formação de ligações de hidrogênio (em verde) e interações hidrofóbicas (semicírculos rosa e vermelho), promovendo alta afinidade e estabilidade na ligação. Essa modelagem é fundamental para entender como as características estruturais do peptídeo influenciam sua especificidade e capacidade de bloquear o canal Nav 1.7.

**Figura 11.** Docking molecular entre o peptídeo Delta-butx-hj2a e o canal de sódio Nav 1.7 em lilás, e o peptídeo Delta-butx-hj2a em amarelo. Interação do peptídeo Delta-butx-hj2a (amarelo) com o canal NaV (lilás). (A) Visão geral. (B–C) Interações do resíduo 1381 do receptor com o resíduo 63 do peptídeo. (D–E) Interação do resíduo 1384 com o resíduo. (F–G) Interação dos resíduos 1711 e 1734 com o resíduo 15. Ligações de hidrogênio em verde e interações hidrofóbicas indicadas por semicírculos (rosa para o peptídeo e vermelho para o receptor).



## 5. Discussão

Os resultados obtidos a partir do alinhamento das sequências e da modelagem estrutural evidenciam que os peptídeos selecionados apresentam características típicas de toxinas moduladoras de canais de sódio de escorpiões, como a presença de quatro ligações dissulfeto e tamanhos variando entre 64 e 87 aminoácidos. Essas propriedades estruturais são conhecidas por conferir alta estabilidade conformacional e por permitir forte acoplamento eletrostático com regiões extracelulares do canal de sódio (Rodríguez de la Vega & Possani, 2005; Zhu et al., 2022). A manutenção desse arcabouço estrutural também se refletiu nos elevados percentuais obtidos nos diagramas de Ramachandran, com todos os modelos apresentando mais de 90% dos resíduos em regiões favoráveis — valores característicos de modelos de boa qualidade gerados por ferramentas de predição por IA, como o AlphaFold (Jumper et al., 2021).

Ao analisar os resultados de docking com o canal Nav 1.7, diversas tendências importantes emergem. Em primeiro lugar, todos os peptídeos demonstraram capacidade de interação com o canal, com HADDOCK scores variando entre  $-116,2$  e  $-142,8$ . As menores pontuações — como as registradas para MeuNaTx $\alpha$ -1 e  $\beta$ -toxin Cn4 — indicam maior afinidade potencial, o que está de acordo com a literatura, que reconhece a alta especificidade de toxinas  $\alpha$  e  $\beta$  por subtipos neuronais, como o Nav1.7 (Catterall, 2017; Clare et al., 2023). Por outro lado, valores de RMSD mais elevados observados para Bom IV e Delta-Butx-Hj2a sugerem maior mobilidade conformacional ou menor estabilidade do complexo formado, o que pode refletir menor complementaridade estrutural com o sítio de interação (Dominguez et al., 2021).

Um achado particularmente relevante diz respeito à predominância de interações envolvendo a região S4 de diferentes domínios do canal Nav1.7. Embora nem todas as interações tenham ocorrido exatamente dentro dos limites tradicionais descritos para o hélice S4, observa-se que vários resíduos próximos a esta região participaram da formação de pontes de hidrogênio e contatos hidrofóbicos. Essa observação é coerente com o papel funcional crítico de S4, conhecida como o principal sensor de voltagem dos canais Nav (Yu & Catterall, 2004; Ahern et al., 2016). Os movimentos do segmento S4 são responsáveis pela transdução da variação do potencial de membrana em alterações conformacionais que permitem a abertura ou o fechamento do canal. Assim, toxinas que interagem com essa região são capazes de alterar a dinâmica do gating, retardando a inativação (toxinas  $\alpha$ ), estabilizando estados intermediários ou deslocando o limiar de ativação (toxinas  $\beta$ ), conforme bem descrito nas interações entre toxinas escorpiônicas e os domínios DII–DIV do canal (Bosmans & Swartz, 2010).

A predominância dessas interações com S4, encontrada neste trabalho, reforça a ideia de que os peptídeos selecionados atuam como moduladores clássicos do canal Nav, sustentando que a predição computacional refletiu de forma consistente os mecanismos moleculares já conhecidos para toxinas dessas famílias. Ademais, a presença de resíduos-chave conservados, como tirosina, lisina e triptofano — frequentemente associados a interações eletrostáticas fortes com as alças extracelulares dos canais — provavelmente contribuiu para a formação das ligações hidrofóbicas e de hidrogênio detectadas (Clare et al., 2023; Possani et al., 2020).

A análise comparativa indica também que, embora  $\beta$ -toxin Cn4 apresente apenas duas ligações principais identificadas, seu score mais negativo pode estar relacionado à maior complementaridade eletrostática global do complexo, enquanto toxinas como AaH II, com número maior de interações, exibem forte acoplamento local, particularmente com resíduos 1711, 1348 e 1390 do canal — regiões próximas às alças dos domínios DIII e DIV, conforme descrito por Shen et al. (2019) em análises de Nav1.7 com toxinas do tipo  $\alpha$ .

Por fim, o conjunto de resultados sugere que a aproximação entre os peptídeos e as regiões sensoriais externas do canal é consistente com interações biologicamente plausíveis. A convergência de dados estruturais, topológicos e de docking fortalece a confiabilidade dos modelos obtidos e apoia a hipótese de que esses peptídeos apresentam potencial modulador relevante para o canal Nav1.7, amplamente estudado como alvo terapêutico para dor neuropática e inflamatória (King & Vetter, 2014).

## 6. Conclusão

Este estudo integrou análises de sequências, modelagem por AlphaFold e simulações de docking para examinar o potencial de cinco peptídeos de escorpiões como moduladores do canal de sódio Nav1.7. Todos os peptídeos mostraram conformações estáveis, com mais de 90% em regiões favoráveis do diagrama de Ramachandran, e interagiram com regiões funcionais do canal, especialmente próximas ao segmento S4, responsável pelo sensoriamento de voltagem. As análises de docking identificaram diferentes níveis de afinidade, destacando  $\beta$ -toxin Cn4 e MeuNaTx $\alpha$ -1 como os melhores na ligação. Essas interações, aliadas à literatura, reforçam o potencial desses peptídeos como moduladores seletivos do Nav1.7, sugerindo futuras investigações em estudos funcionais e farmacológicos, contribuindo para o desenvolvimento de novos moduladores terapêuticos a partir de peptídeos de peçonhas.

## 7. Referências

- ACUNHA, T. et al. Lipidomic profiling of the Brazilian yellow scorpion venom (*Tityus serrulatus*). *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2023. DOI: 10.1080/15287394.2023.2188896.
- AHEARN, C. A. et al. The voltage sensor of voltage-gated ion channels. *Journal of General Physiology*, v. 148, n. 6, p. 395–405, 2016.
- ALMAAYTAH, A.; ALBALAS, Q. Scorpion venom peptides with no disulfide bridges: a review. *Peptides*, v. 51, p. 35–45, 2014.
- ALVARENGA, V. F. et al. Ionic regulation and neuromuscular effects of scorpion venom peptides. *Frontiers in Pharmacology*, v. 12, p. 710680, 2021.
- AMEN, R. A.; ABD-ELLATEF, G. E. F. Scorpion venom and its different peptides... *Trends in Pharmacy*, v. 1, art. 11, 2024.
- ASHCROFT, F. M. From molecule to malady. *Nature*, v. 440, p. 440–447, 2006.
- BALLESTERAS, D. et al. Comparative analysis of mitochondrial genomes... *Journal of Molecular Evolution*, 2023.
- BARBIERI, R. et al. Voltage-Gated Sodium Channel Dysfunctions in Neurological and Neurodegenerative Diseases. *Life*, v. 13, p. 1191, 2023.
- BARHANIN, J. et al. K(V)LQT1 and Isk (mink) proteins associate... *Nature*, v. 384, p. 78–80, 1996.
- BEETON, C. et al. Selective blockade of T lymphocyte K<sup>+</sup> channels... *PNAS*, v. 102, n. 31, p. 11094–11099, 2005.
- BIDRAM, M. et al. Bioactive peptides from food science to pharmaceutical applications. *Food Science & Nutrition*, 2024.
- BOSMANS, F.; SWARTZ, K. J. Targeting voltage sensors in sodium channels with spider toxins. *Trends in Pharmacological Sciences*, v. 31, p. 175–182, 2010.
- BRAZIL, Tania Kobler; PORTO, Tiago Jordão. *Os escorpiões*. Salvador: EDUFBA, 2010.
- BRASIL. Ministério da Saúde. *Boletim Epidemiológico – Acidentes por Animais Peçonhentos*. Brasília: Ministério da Saúde, 2025.
- BRUSCA, Richard C. *Invertebrados*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.
- CALIS, I. et al. Scorpion venom peptides: structural diversity... *Frontiers in Pharmacology*, v. 14, p. 1170842, 2023.
- CANDIDO, D. M. Escorpiões. In: BRANDÃO, C. R. F.; CANCELLO, E. M. *Biodiversidade do Estado de São Paulo*. São Paulo: Sarvier; Fapesp, 1999.

- CATTERALL, W. A. Forty years of sodium channels: Structure, function, pharmacology, and epilepsy. *Neurochemical Research*, v. 42, p. 2495–2504, 2017.
- CATTERALL, W. A. From ionic currents to molecular mechanisms... *Neuron*, v. 26, p. 13–25, 2000.
- CESTÈLE, S.; CATTERALL, W. A. Molecular mechanisms of neurotoxin action... *BBA-Biomembranes*, v. 1461, p. 1–24, 2000.
- CHANDY, K. G.; WULFF, H.; BEETON, C. Potassium channels as targets for autoimmune diseases. *Current Opinion in Pharmacology*, v. 4, p. 466–472, 2004.
- CHI, V. et al. Development of a sea anemone toxin as an immunomodulator... *Current Medicinal Chemistry*, v. 19, p. 2503–2513, 2012.
- CHUNG, S. H. et al. Scorpion toxins targeting potassium channels... *Trends in Pharmacological Sciences*, v. 33, n. 12, p. 639–648, 2012.
- CLARE, J. J. et al. Toxins targeting voltage-gated sodium channels... *Pharmacology & Therapeutics*, v. 250, p. 108–123, 2023.
- CORDEIRO, F. C.; DE LIMA, M. E. Peptides from scorpion venom: an overview. *Toxicon*, v. 39, p. 1461–1470, 2001.
- CORONA, M. et al. Non-disulfide-bridged peptides from animal venoms... *Toxins*, v. 11, p. 356, 2019.
- DEBIN, J. A.; STRICHARTZ, G. R. Chlorotoxin... *American Journal of Physiology*, v. 261, p. C361–C369, 1991.
- DE LERA RUIZ, M.; KRAUS, R. L. Voltage-Gated Sodium Channels... *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 58, p. 7093–7118, 2015.
- DESHANE, J. et al. Chlorotoxin... *Toxicon*, v. 42, p. 675–686, 2003.
- DOMINGUEZ, J. E. et al. Molecular docking and binding affinity prediction... *Computational Biology and Chemistry*, v. 94, p. 107554, 2021.
- DOYLE, D. A. et al. The structure of the potassium channel... *Science*, v. 280, p. 69–77, 1998.
- DVORAK, M. et al. Development of Allosteric Modulators of Voltage-Gated Na<sup>+</sup> Channels. *Bentham Science*, 2021.
- FENG, J. et al. Ion channel-targeting toxins from scorpion venom... *Toxins*, v. 7, p. 4856–4872, 2015.
- FERREIRA, B. L. et al. Animal toxins as natural tools... *Journal of Venomous Animals and Toxins*, v. 26, 2020.
- FERREIRA, B. L. et al. Animal toxins as a source for the development of pain therapeutics. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 53, e9096, 2020.
- FIOCRUZ – FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. *Guia de Animais Peçonhentos do Brasil*. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2024.
- FOLHA DE S. PAULO. Acidentes com escorpiões cresceram 15% em 2023. *Folha de S.Paulo*, 27 set. 2024.
- FONG-CORONADO, P. A. et al. A critical review of short antimicrobial peptides... *Journal of Membrane Biology*, v. 257, p. 165–205, 2024.
- GARCÍA, M. L. et al. Structure and function of scorpion toxins that block K<sup>+</sup> channels. *Annual Review of Biophysics*, v. 23, p. 433–467, 1994.
- GIUGLIANO, R. et al. The inhibitory potential of three scorpion venom peptides. *Frontiers in Microbiology*, 2025.
- GOIÁS. HCN alerta sobre aumento de acidentes... *Goiás.gov.br*, 2025.
- GONÇALVES, L. A.; PEREIRA, V. M.; LOURA, L. M. Structural role of glycoproteins... *ChemRxiv*, 2024.
- GONZALEZ, J. A. et al. Small molecules and metabolites from scorpion venom. *Toxicon*, v. 165, p. 90–100, 2019.
- GOYFFON, M.; TOURNIER, J. N. Scorpions: a presentation. *Toxins*, v. 6, p. 2137–2148, 2014.
- GURROLA, G. B. et al. Structure and function of ergotoxin... *FEBS Letters*, v. 459, p. 69–74, 1999.
- GUTMAN, G. A. et al. International Union of Pharmacology LIII... *Pharmacological Reviews*, v. 57, p. 473–508, 2005.
- HARRISON, R. L.; BARCELLOS, F. M.; NUNES, D. Proteases in scorpion venom... *Journal of Venomous Animals and Toxins*, v. 30, 2024.
- HIBINO, H. et al. Inwardly rectifying potassium channels... *Physiological Reviews*, v. 90, p. 291–366, 2010.
- HILLE, B. *Ion channels of excitable membranes*. Sinauer, 2001.

- HOLLINGSWORTH, S. A.; KARPLUS, P. A. A fresh look at the Ramachandran plot... *Biomolecular Concepts*, 2010.
- ICHIM, N.; MARÍN, F.; ORENES-PIÑERO, E. Bioactive peptides from foods... *Mol. Nutr. Food Res.*, 2024.
- JENTSCH, T. J.; PUSCH, M. Chloride channels and transporters... *Comprehensive Physiology*, 2018.
- JIANG, D. et al. Structural Advances in Voltage-Gated Sodium Channels. *Frontiers in Pharmacology*, v. 13, p. 908867, 2022.
- JORNAL DE ALAGOAS / CADAMINUTO. Acidentes... 9 jan. 2025.
- JUMPER, J. et al. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*, v. 596, p. 583–589, 2021.
- KING, G. F.; VETTER, I. Nav1.7 as a pain target. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2014.
- LACERDA, A. B. et al. Detection of areas vulnerable to scorpionism. *Toxicon*, 2022.
- LI, Z.; CHEN, L.-X.; LI, H. Voltage-gated Sodium Channels and Blockers. *Current Medical Science*, 2019.
- LIANG, J. et al. Developmental Dynamics of Voltage-Gated Sodium Channel Isoforms. *Genome Medicine*, 2021.
- LOURENÇO, J. et al. The enzymatic core of scorpion venoms. *Toxins*, v. 14, p. 327, 2022.
- LOURENÇO, W. R. Evolução e distribuição de espécies nocivas... *Journal of Venomous Animals and Toxins*, v. 24, p. 1, 2018.
- MABUNDA, I. G. et al. Distribuição geográfica de escorpiões... *Toxicological Research*, 2024.
- MARTIN-EAUCLAIRE, M. F.; COURAUD, F. Scorpion neurotoxins... In: TU, A. T. (Ed.). *Handbook of Natural Toxins*. Dekker, 1995.
- MILLER, C. The charybdotoxin family... *Neuron*, v. 15, p. 5–10, 1995.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). Acidentes com escorpiões... 2024.
- NADERI, R.; PASHMFOROOSH, N.; BARADARAN, M. Pharmacological & medical applications... *Iranian Journal of Medical Sciences*, 2023.
- NASR, S. et al. Scorpion venom as a source of antimicrobial peptides. *NCBI/PMC Review*, 2023.
- OLIVEIRA, A. C. G. et al. Peptídeos neuroativos de peçonhas animais... *Rev. Bras. Ciênc. Farmac.*, 2013.
- OLIVEIRA, I. S. et al. Sodium channel-selective toxins as therapeutic alternatives... *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 2018.
- PASHMFOROOSH, N.; BARADARAN, M. Peptides with diverse functions... *Iranian Biomedical Journal*, v. 27, p. 84–99, 2022.
- PENNINGTON, M. W. et al. Potassium channels as a therapeutic target... *Frontiers in Pharmacology*, v. 11, p. 531–546, 2020.
- PÉREZ-RIVERA, L. et al. Scorpion venom peptides as modulators of cardiac ion channels. *Current Medicinal Chemistry*, 2019.
- POLIS, G. A. (ed.). *The biology of scorpions*. Stanford University Press, 1990.
- POSSANI, L. D. et al. Scorpion toxins specific for Na<sup>+</sup>-channels. *Biochimie*, v. 177, p. 106–125, 2020.
- PUCCA, M. B. et al. Tityus serrulatus venom: from envenoming... *Toxicon*, v. 99, p. 68–76, 2015.
- PUCCA, M. B. et al. The silent and escalating public health crisis in Brazil. *Frontiers in Public Health*, v. 13, p. 1573767, 2025.
- RODRÍGUEZ DE LA VEGA, R. C.; POSSANI, L. D. Scorpion venom peptides: Structure, function and evolution. *Toxicon*, v. 186, p. 69–84, 2020.
- RODRÍGUEZ DE LA VEGA, R. C.; POSSANI, L. D. Overview of scorpion toxins specific for Na<sup>+</sup> channels. *Toxicon*, v. 46, p. 831–844, 2005.
- RODRÍGUES, R. M. et al. Neuroactive peptides... *Frontiers in Pharmacology*, v. 9, p. 1370, 2018.
- RODRIGUES, V. M. et al. Structural characterization of spider venom peptides. *Toxicon*, v. 44, p. 581–588, 2004.
- ROSSINO, G. et al. Peptides as Therapeutic Agents... *Molecules*, v. 28, n. 20, 2023.
- SANDERS, K. et al. Scorpion venom peptides as promising agents for cancer therapy. *Toxins*, v. 10, n. 4, p. 123, 2018.
- SANTIBÁÑEZ-LÓPEZ, C. E.; CID-URIBE, J. I.; POSSANI, L. D. Scorpion venom research... *Toxins*, v. 14, p. 715, 2022.

- SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE DE MATO GROSSO DO SUL (SES-MS). *Escorpiões são responsáveis por 3 em cada 4 acidentes...* 2025a.
- SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE DE MATO GROSSO DO SUL (SES-MS). *Com período de maior atividade...* 2025b.
- SECRETARIA DE SAÚDE DO DISTRITO FEDERAL. Acidentes com animais peçonhentos... 2025.
- SHARMA, P. P. et al. Phylogenomic resolution of scorpions... *Proc. R. Soc. B*, v. 281, 2014.
- SHEN, H. et al. Structures of human Nav1.7 channel complexes... *Science*, v. 363, p. 1303–1308, 2019.
- SILVA, S. R. C. et al. Disulfide-rich peptide toxins as modulators... *Rev. Bras. Ciênc. Farmac.*, 2016.
- SIMMS, B. A.; ZAMPONI, G. W. Neuronal voltage-gated calcium channels. *Neuron*, v. 82, p. 24–45, 2014.
- SPLAWSKI, I. et al. Ca(V)1.2 calcium channel dysfunction... *Cell*, v. 119, p. 19–31, 2004.
- STALEY, K. J.; SMITH, R.; PROCTOR, W. R. Properties of neuronal chloride channels. *Annual Review of Physiology*, v. 58, p. 725–758, 1996.
- STAUBER, T. et al. CIC chloride channels... *Physiology*, v. 27, p. 342–350, 2012.
- THE GUARDIAN. Scorpions ‘taking over’ Brazilian cities... 8 maio 2025.
- TYTGAT, J. et al. Venom peptides as pharmacological tools... *British Journal of Pharmacology*, v. 170, p. 1231–1245, 2013.
- UZOETO, H. O. et al. AlphaFold-latest... *Beni-Suef Univ. J. Basic Appl. Sci.*, v. 13, p. 46, 2024.
- VAN ZUNDERT, G. C. P. et al. HADDOCK2.2 Web Server... *Journal of Molecular Biology*, 2016.
- VAUCEL, J.-A. et al. French scorpionism... *Toxins*, v. 14, p. 719, 2022.
- WANG, J. et al. Distribution and Function of Voltage-Gated Sodium Channels... *Frontiers in Cellular Neuroscience*, v. 11, p. 553, 2017.
- WANG, L. et al. Therapeutic peptides: current applications... *Signal Transduction and Targeted Therapy*, v. 7, art. 48, 2022.
- XIA, Z. et al. Antimicrobial potential of scorpion-venom-derived peptides. *Molecules*, v. 29, n. 21, 2024.
- XIN, K. et al. Short peptides from Asian scorpions... *Toxins*, 2025.
- XU, Z. et al. Antimicrobial peptides from scorpion venom. *TBD* (completar).
- YU, F. H.; CATTERALL, W. A. The VGL-chanome... *Science's STKE*, 2004.
- YU, F. H.; CATTERALL, W. A. The molecular biology of voltage-gated sodium channels. *Physiological Reviews*, 2004.
- ZAKON, H. H. Adaptive Evolution of Voltage-Gated Sodium Channels. *PNAS*, v. 109, p. E1183–E1191, 2012.
- ZAMUDIO, F. Z. et al. Toxins acting on sodium channels... *Frontiers in Pharmacology*, v. 13, 2022.
- ZENG, L. et al. Unveiling the diversity and modifications... *Toxins*, 2024.
- ZHANG, L.; GONG, B.; WANG, M. Antimicrobial peptides... *Military Medical Research*, 2021.
- ZHENG, B. et al. Therapeutic Peptides... *Translational Medicine Research Center*, 2025.
- ZHU, S. et al. Structural insights into scorpion toxin and sodium channel interactions. *Nature Communications*, v. 13, 2022.