



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76  
Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

## XXIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA - 2019

### IDENTIFICAÇÃO DE POTENCIAIS INIBIDORES PARA TRIOSE FOSFATO ISOMERASE DE *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

**Byanka Silva Sena<sup>1</sup>; Manoelito Coelho dos Santos Júnior<sup>2</sup>; Janay Stefany  
Carneiro Araújo<sup>3</sup>; Mariana Borges Botura<sup>4</sup>**

1. Bolsista PIBIC/FAPESB, Graduando em Farmácia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [byankasena8@gmail.com](mailto:byankasena8@gmail.com)
2. Orientador, Departamento DSAU, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [mc2500@gmail.com](mailto:mc2500@gmail.com)
3. Pós-graduação em Biotecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [janay@hotmail.com.br](mailto:janay@hotmail.com.br)
4. Orientador, Departamento DSAU, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [mdbotura@hotmail.com](mailto:mdbotura@hotmail.com)

**PALAVRAS-CHAVE:** Acoplamento molecular. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.  
Triose fosfato isomerase.

### INTRODUÇÃO

A bovinocultura é um dos principais destaques do agronegócio brasileiro, representando uma parte robusta do PIB e contribuindo para o equilíbrio da balança comercial no país (Brasil, 2013). Um dos fatores, no entanto, que ameaça a produtividade do setor são as ectoparasitoses, as quais influenciam na perda de peso dos rebanhos, na redução da eficiência reprodutiva, no aumento da mortalidade, perda da qualidade do couro, além da transmissão de agentes patogênicos (Grisi et al., 2014). A principal espécie de carrapato que compromete a pecuária bovina nacional é o *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, que também pode infestar outras espécies animais, como ovinos e equinos (Leal et al., 2003), e que é causa prejuízo econômico nos setores produtivos de carne, couro e leite (Reck Junior et al., 2009). A principal medida de controle deste carrapato é a utilização de acaricidas sintéticos nos animais infestados, porém a seleção de cepas de carrapatos resistentes aos diferentes grupos químicos disponíveis no mercado, associado ao risco à saúde pública causado pela presença de resíduos de carrapaticidas em alimentos e no meio ambiente têm estimulado a procura por novos agentes antiparasitários (Wanzala, 2017).

Dentre os alvos biológicos conhecidos pela ação carrapaticida frente a *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* podem ser elencados a triose fosfato isomerase, enzima que cumpre função importante na glicólise, catalisa a conversão entre o gliceraldeído 3-fosfato e o fosfato de diidroxiacetona (Saramago et al., 2012), e proteínas das classes glutationa-s-transferase, citocromo P450, esterases e colinesterases, envolvidas no metabolismo de xenobióticos (Wu e Hoy, 2016). Estas enzimas hidrolisam e secretam diferentes tipos de inseticidas e estão diretamente relacionadas ao surgimento de variantes resistentes. Tendo em vista o aumento dos múltiplos casos de resistência frente aos alvos biológicos utilizados atualmente (Rosario-Cruz et al., 2009), é urgente a busca por novos agentes antiparasitários.

A triose fosfato isomerase é uma importante enzima da via glicolítica e da gliconeogênese, que catalisa a isomerização reversível de diidroxiacetona fosfato

(DHAP) em gliceraldeído 3-fosfato (G3-P). As TIMs são consideradas catalisadores perfeitos com taxa de catalise 109 vezes mais rápida que na reação sem catalise (Knowles & Albery, 1977). Assim, a inibição deste alvo pode ser considerado promissor para o desenvolvimento de novos carrapaticidas, por interferir diretamente na cadeia energética do carrapato.

O uso das ferramentas da quimioinformática amplia consideravelmente a capacidade de busca por moléculas de interesse, além de permitir que o pesquisador teste a eficácia, atividade, toxicidade e bioavaliabilidade, do composto antes de ser submetido aos ensaios *in vitro* e *in vivo*. Neste sentido, moléculas capazes de inibir essa enzima parecem ser promissoras para o desenvolvimento de novos carrapaticidas. Assim, o objetivo deste estudo consistiu em identificar potenciais inibidores da triose fosfato isomerase a partir do catálogo da Sigma- Aldrich® por acoplamento molecular e avaliar as principais interações intermoleculares estabelecidas com a molécula melhor pontuada.

## **MATERIAL E MÉTODOS OU METODOLOGIA (ou equivalente)**

### **Preparo do receptor**

A estrutura 3D do alvo obtida foi obtida na plataforma PDB, de acordo com o valor de resolução (até 2 Å) e preparada com auxílio do Chimera 1.10.1 (Pettersen et al., 2004). Moléculas de água foram removidas e átomos de hidrogênio adicionados de forma a otimizar suas ligações de hidrogênio. O pKa dos resíduos ácidos e básicos presentes no sítio de interação foi avaliado através do servidor PropKa 3.0 (<http://propka.org/>) (Olsson et al, 2011; Sondergaard et al., 2011). Finalmente, as cargas atômicas parciais Gasteiger-Huckel foram atribuídas aos resíduos da proteína pelo Chimera 1.10.1(Ucsf Chimera, 2004).

### **Preparo do banco**

Foi utilizado o banco de moléculas do catálogo da Sigma-Adrich® disponíveis na plataforma ZINC<sup>15</sup> (<https://zinc15.docking.org>) (Irwin et al., 2012). Essas moléculas foram convertidas em pdbqt.

### **Acoplamento molecular**

A etapa de acoplamento molecular será realizada com o programa AutoDock Vina 1.1.2 (Trott; Olson, 2010), sendo necessário a conversão da estrutura para o formato PDBQT com auxílio do programa MGL Tools 1.5.6 (Morris et al., 2009). A delimitação do espaço de busca será definida com o auxílio do programa AutoDock Tools 1.5.6 (Frishman; Argos, 1995), no qual um cubo geométrico será utilizado para englobar todos os resíduos que compõem o sítio ativo.

### **Análise das interações intermoleculares**

A molécula de melhor valor de energia foi selecionada para avaliação das interações intermoleculares. Essa análise foi realizada com o auxílio do servidor PLIP (<https://projects.biotec.tu-dresden.de/plip-web/plip/index>; Salentin et al., 2015) e PyMOL v 1.3 (Schrödinger, 2009).

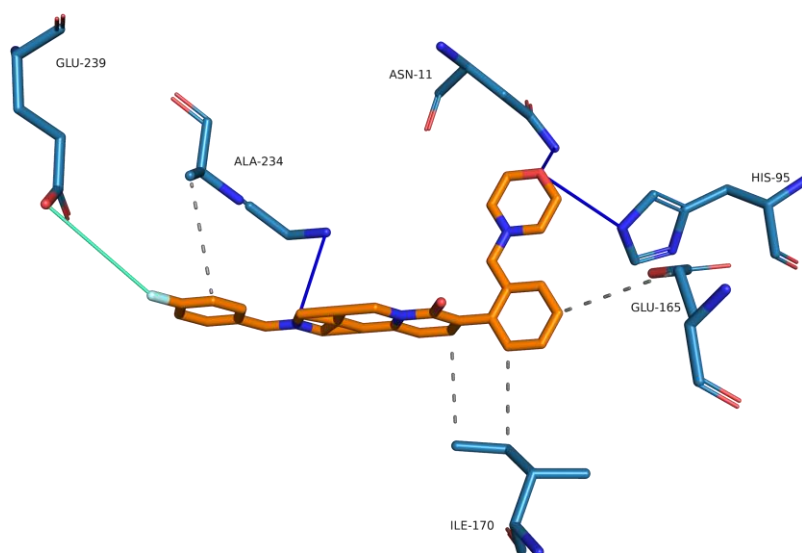
### **Análise de toxicidade das moléculas promissoras por meio da plataforma *online chemicaldatabase (ochem)***

A plataforma *online Chemical Database (Ochem)* foi utilizada com o intuito de identificar possíveis grupos toxicofóricos da molécula melhor pontuada no acoplamento molecular, conferindo a presença de grupos que podem ser responsáveis por levar a efeitos indesejados.

## **RESULTADOS E/OU DISCUSSÃO (ou Análise e discussão dos resultados)**

A delimitação do espaço de busca definida com o auxílio do programa AutoDock Tools 1.5.6 (Frishman; Argos, 1995), gerou um cubo com 3 dimensões utilizado para englobar

todos os resíduos que compõem esse sítio, com grid spacing de 1.0, e coordenadas x, y e z de -18,74, 7,67, e -6,551 respectivamente. As etapas de busca conformacional e avaliação das poses realizadas no programa AutoDockVina 1.1.2 (Trott; Olson, 2010) demonstraram que a molécula melhor pontuada foi a ZINC20503634, (GridScore=-9,9Kcal/mol), assim esta foi submetida ao servidor *online* PLIP para avaliação do perfil de interações intermoleculares (Figura1).



**Figura 1:** Mapa das interações intermoleculares entre o ligante ZINC20503634 e a triose fosfato isomerase de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

Pode se observar a presença de Interações hidrofóbicas com os resíduos GLU-165, ILE-170 e ALA-234 da proteína, além de ligações de hidrogênio com os resíduos ASN-11, HIS-95 e GLY-233, e ainda ligações de halogênio com o resíduo GLU239. Essas interações ocorreram na interface da enzima, o que está em consonância com dados da literatura que descreve que essa região está envolvida no processo catalítico (Moraes et al., 2011).

### **CONSIDERAÇÕES FINAIS (ou Conclusão)**

A molécula ZINC20503634 é um potencial inibidor da Triose fosfato isomerase de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. e pode ser avaliada em ensaios biológicos e por simulações de dinâmica molecular para avaliação da estabilidade do sistema.

### **REFERÊNCIAS**

- BRASIL. Ministério da Agricultura. Bovinos e bubalinos. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/portal/page/portal/Internet-APA/paginainicial/animal/especies>. Acesso em 05/11/2017.
- FRISHMAN, D.; ARGOS, P. Knowledge-based secondary structure assignment. **Proteins: structure, function and genetics**, v. 23, p. 566-579, 1995.
- GRISI, Laerte et al. Reavaliação do potencial impacto econômico de parasitos de bovinos no Brasil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, vol.23, n.2, p.150-156, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612014042>>. Acesso em: 05/11/2017
- KNOWLES, J.R. Perfection in Enzyme Catalysis - Energetics of Triosephosphate Isomerase. **Accounts of Chemical Research**, v. 10, p. 105-111, 1977.

LEAL, A.T.; FREITAS, D.R.J.; JUNIOR VAZ, I.S. Perspectivas para o controle do carrapato bovino. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 31, n. 1, p. 1-11, 2003.

MORAES, J. et al. Biochemical Characterization of a Recombinant Triosephosphate Isomerase From *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Insect Biochem. Mol. Biol.**, v.41, p.400–409, 2011.

MORRIS, G.M.; HUEY, R.; LINDSTROM, W.; SANNER, M.F.; BELEW, R.K.; GOODSELL, D.S.; OLSON, A.J. Autodock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility. **J. Computational Chemistry**, v. 16, p. 2785-2791, 2009.

OLSSON, M. H. M. et al. PROPKA3: consistent treatment of internal and surface residues in empirical pKa predictions. **Journal of Chemical Theory and Computation**, [S.l.], v. 7, n. 2, p. 525-537, 2011.

RECK JUNIOR, J.M.; BERGER, R.M.S.; TERRA, F.S.; MARKS, I.; SILVA VAZ JR., J.A.; GUIMARÃES, C.T. Systemic alterations of bovine hemostasis due to *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* infestation. **Veterinary Science**, v. 86, p. 56–62, 2009.

ROSARIO-CRUZ, R. ET al. Genetic basis and impact of tick acaricide resistance. **Frontiers in Biosciences**, v. 14, p. 2657–2665, 2009.

SALENTIN, S.; SCHREIBER, S.; HAUPT, V. J.; ADASME, M. F.; SCHROEDER, M. PLIP: fully automated protein-ligand interaction profiler. **Nucleic Acids Res.**, v. 43, p. 443-447, 2015.

SARAMAGO, L. et al. J. Inhibition of Enzyme Activity of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Triosephosphate Isomerase and BME26 Cell Growth by Monoclonal Antibodies. **Int J Mol Sci**, v.13, n.10, p.13118–13133, 2012. doi: 10.3390/ijms131013118.

SCHRÖDINGER. **The PyMOL Molecular Graphics System, Version 1.3**, 2009.

SONDERGAARD, C. R. et al. Improved Treatment of Ligands and Coupling Effects in Empirical Calculation and Rationalization of pKa Values. **Journal of Chemical Theory and Computation**, [S.l.], v. 7, n. 7, p. 2284-2295, 2011.

SUSHKO, I. et al. Online chemical modeling environment (OCHEM): web platform for data storage, model development and publishing of chemical information. **J. Comput. Aided. Mol. Des.** : v. 25, n.6,p.533-54, 2011.

SYBYL-X 2.0. Discovery Software for Computational Chemistry and Molecular Modelling, St. Louis: TriposInc, 2012.

TOMASO, D. et al. T-Coffee: a web server for the multiple sequence alignment of protein and RNA sequences using structural information and homology extension, **Nucleic Acids Res.** Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3125728/>>. Acesso em: 13 ago. 2017.

TROTT, O.; OLSON, A. J. Software news and update AutoDockVina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization , and multithreading. **Journal of computational chemistry**, [S.l.], v.31, n.2, p.455-461, 2010.

UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis. Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, Ferrin TE. *J Comput Chem.* 2004 Oct;25(13):1605-12.

WANZALA, W. et al. Potential of Traditional Knowledge of Plants in the Management of Arthropods in Livestock Industry with Focus on (Acari) Ticks. **Evid Based Complement Alternat Med**, v. 2017, 2017. doi: 10.1155/2017/8647919.

WU, K.; HOY, M. A. The Glutathione-S-Transferase, Cytochrome P450 and Carboxyl/Cholinesterase Gene Superfamilies in Predatory Mite *Metaseiulus occidentalis*. **PLoS ONE**, v.11, n.7, 2016. Disponível: <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160009>>.