



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

XXVII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2023

ESTUDO IN SILICO DA INTERAÇÃO DE ALCALOIDES COM A ACETILCOLINESTERASE DE *Rhipicephalus microplus*

**Matheus da Cunha Santos; Mariana Borges Botura²; Manoelito Coelho dos Santos
Júnior³**

1. Bolsista PIBIC/CNPq, Graduando em Farmácia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: mcsmatheuscunha@gmail.com
2. Orientadora, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: mbootura@uefs.br
3. Docente e Participante do Projeto de Pesquisa, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: mc2500@gmail.com

PALAVRAS-CHAVE: *Rhipicephalus Microplus*; Acetilcolinesterase; Análogos Químicos.

INTRODUÇÃO

O controle de doenças parasitárias em ruminantes é um importante fator para o incremento da produtividade da agropecuária no Brasil. As infestações pelo carrapato *Rhipicephalus microplus* são responsáveis por elevados prejuízos econômicos (JUNIOR, et al., 2019). A ocorrência de cepas resistentes à maioria dos acaricidas comerciais evidencia a necessidade do desenvolvimento de novos produtos antiparasitários mais efetivos e seletivos com diferentes mecanismos de ação (KUMAR et al., 2020).

As ferramentas *in silico* são amplamente utilizadas para a pesquisa de novos produtos, auxiliando na seleção dos alvos moleculares e triagens de compostos com potencial efeito biológico (MALAK et al., 2022). Este estudo teve como objetivo avaliar *in silico* a afinidade de novas entidades químicas derivadas da hordenina e teobromina frente a enzima acetilcolinesterase de *R. microplus*.

MATERIAL E MÉTODOS

Design de novas moléculas baseadas nos alcaloides

Foi utilizado o software vBROOD 3.2.0.2 da plataforma OpenEye Scientific Software para gerar moléculas análogas aos compostos originais a partir das estruturas tridimensionais destes compostos.

Triagem virtual baseada no alvo molecular

Para os estudos de acoplamento dos análogos, obtidos a partir dos alcaloides, foi utilizado o programa DOCK 6.9 e acessórios, que aplica o método sistêmico, com função de pontuação baseados no campo de força de mecânica molecular (SARI et al., 2022; ALLEN et al., 2017). Foi utilizado o modelo tridimensional da enzima acetilcolinesterase de *R. microplus* elaborado por Cerqueira (2022).

Avaliação quimiométrica e Análise das interações intermoleculares

Foi realizado a avaliação quimiométrica dos compostos com melhores resultados de GridScore através do mapeamento obtido com utilização da ferramenta ChemGPS-NP (FERREIRA, 2023).

Após a seleção do melhor análogo, foi realizada a análise das interações intermoleculares, no programa PLIP, com objetivo de identificar e analisar qualitativamente as interações intramoleculares entre as moléculas e o sítio ativo da proteína em comparação à molécula referência (ADASME et al., 2021).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O design das estruturas gerou uma quantidade significativa de análogos (n= 2724) agrupados em clusters (n=66). A partir do resultado do acoplamento dos análogos foi realizado uma pré filtragem de acordo com os valores de GridScore obtidos, a fim de estimar a afinidade de ligação destes compostos.

O análogo – Cluster 3, 136 de 198 – que apresentou melhor valor energético ranqueado (-51,34 kcal/mol) pertence ao composto hordenina, o incremento na afinidade deste análogo foi obtido a partir da introdução de grupamento metileno com amina terminal na molécula protótipo.

A Distância Euclidiana (DE) foi mensurada em comparação com o alcaloide eserina, que apresentou boa atividade acaricida relatado por Cerqueira. Outros estudos também relataram eserina como um inibidor reversível da acetilcolinesterase.

Pode-se observar que os análogos se posicionam em unanimidade na porção negativa do eixo X, representando moléculas pequenas; a maioria dos compostos se agruparam na porção negativa do eixo Z, representando a prevalência de análogos mais polares; as maiores variações estão no eixo Y, representando uma grande variedade na lipofilicidade dos compostos.

Após obtenção dos valores das variáveis energéticas e físico-químicas, foi criado um novo parâmetro de pontuação com elaboração de uma nova função de pontuação para Re-ranqueamento (Rr) dos resultados como demonstrado na tabela a seguir. Foram então

somadas as pontuações de GridScore e DE para obter o valor do novo ranqueamento e assim eleger o melhor análogo com potencial atividade inibitória da enzima.

Tabela 1. Ranqueamento dos análogos a partir dos valores de *GridScore* (kcal/mol) e Distância Euclidiana

	ID	GridScore	DE	Rr
Hordenina	1	-51,33	1,56	-49,77
	2	-49,69	1,56	-48,13
	5	-47,63	1,92	-45,71
	3	-48,00	2,62	-45,38
	4	-47,68	2,62	-45,06
Teobromina	6	-47,97	2,99	-44,98
	7	-47,86	2,99	-44,87
	8	-47,08	2,99	-44,09
	9	-46,79	2,99	-43,80
	10	-44,77	2,92	-41,85

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023

Para estudo comparativo de interações intermoleculares do complexo proteína-ligante no software PLIP foi utilizado como controle positivo a molécula de eserina – composto com atividade conhecida frente a RmAChE1 -, a qual apresentou interações hidrofóbicas com o resíduo Trp222 e de empilhamento π com o AA Trp316.

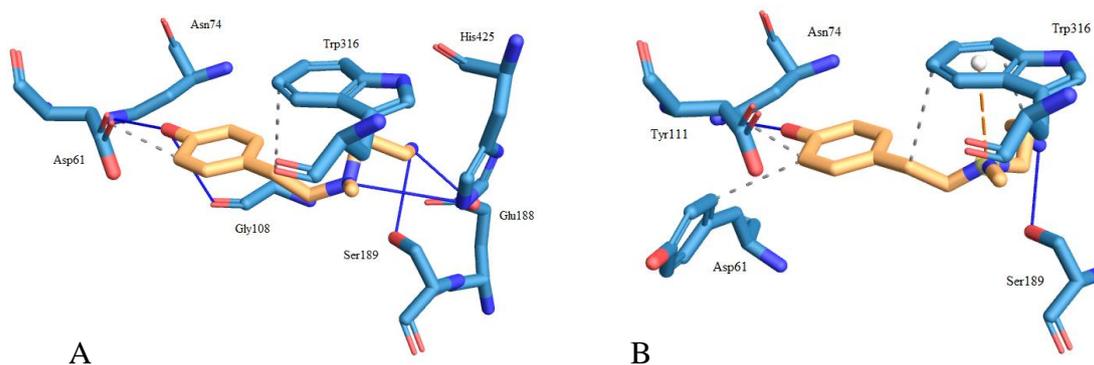


Figura 1. Interações intermoleculares dos complexos proteína-análogo 1 (A) e análogo 2 (B).

Ao analisar o complexo proteína-análogo 1 da hordenina, ligante que obteve melhores valores de Re-ranqueamento, foram observadas interações hidrofóbicas com os resíduos Asp61 e Trp316, e ligações de hidrogênio com resíduos Asn74, Gly108, Glu188, Ser189 e His425 (Figura 1A). Este resultado indica que além da boa afinidade energética e físico-química, o análogo 1 interage bem com o sítio ortostérico da enzima.

O complexo proteína-análogo 2 da hordenina foi analisado no *software* por ter valores de Re-ranqueamento próximos ao análogo 1. Este complexo apresentou um maior número de interações intermoleculares: interações hidrofóbicas com os resíduos Asp61, Tyr111, Trp316 (2x), ligações de hidrogênio com os aminoácidos Asn74, Ser189 (2x) e interação de empilhamento π -cátion com o resíduo Trp316 (Figura 1B).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo das estruturas análogas dos alcaloides utilizados permitiu a identificação de dois análogos da hordenina (1 e 2), IUPAC (3-azaniumilpropil-[2-(4-hidroxifenil)etil]-metilazânio), como compostos mais promissores para interagir com a enzima acetilcolinesterase de *R. microplus* (RmAChE1), com valores ótimos das propriedades físico-químicas e energéticas. No entanto, faz-se necessário realizar testes *in vitro*, para comprovação da bioatividade.

REFERÊNCIAS

- JUNIOR, P.B. et al. 2019. Economic performance evaluation of Brangus and Nellore cattle breed naturally infested with *Rhipicephalus microplus* in an extensive production system in Central-West Brazil. *Exp. Appl. Acarol.* 78: 565-577.
- KUMAR, R. SHARMA, A.K.; GHOSH, S. 2020. Menace of acaricide resistance in cattle tick, *Rhipicephalus microplus* in India: Status and possible mitigation strategies. *Vet. Parasitol.* 278: 108993.
- MALAK, N. et al. 2022. In silico approaches to develop herbal acaricides against *R.(Boophilus) Microplus* and In vitro Anti-Tick activities of selected medicinal plants. *Saudi J. Biol. Sci.* 29(6): 103302.
- SARI, D.R.T.; KRISNAMURTI, G.C.; BARE, Y. 2022. Pemetaan Bioaktivitas Senyawa Metabolit Sekunder Pada Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Secara In Silico. *J. Pharm. Sci.* 7(1): 8.
- ALLEN, W.J. et al. 2017. Customizable de novo design strategies for DOCK: Application to HIVgp41 and other therapeutic targets. *J. Comput. Chem.* 38(30): 2641-2663.
- CERQUEIRA, A.P.M. et al. 2022. Homology modeling, docking, molecular dynamics and in vitro studies to identify *Rhipicephalus microplus* acetylcholinesterase inhibitors. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 40(15): 6787-6797.
- FERREIRA, M.M.C. 2023. Quimiometria III-Revisitando a análise exploratória dos dados multivariados. *Química Nova* 45: 1251-1264.
- ADASME, M.F. et al. 2021 PLIP 2021: Expanding the scope of the protein–ligand interaction profiler to DNA and RNA. *Nucleic Acids Res.* 49(W1): W530-W534.