

XVI REUNIÃO CIENTÍFICA SÃO LUCAS

De 30 de outubro
à 1º de novembro

AUDITÓRIO UNIDADE II



PROSPECÇÃO DE INIBIDORES PARA TRIPANOTIONA REDUTASE DE *LEISHMANIA BRAZILIENSIS*: AVALIAÇÃO *IN SILICO* E *IN VITRO* DA GIROXINA DE *CROTALUS DURISSUS TERRIFICUS*

ALVES, Filipi Vinicius Santos Mendes^{1,2}; SOUZA, Mateus Farias^{1,2}; TABORDA, Jamile
Mariano Macedo^{1,5}; LIMA, Anderson Maciel^{1,2}; SANT'ANA, Letícia Soares^{1,3};
ALMEIDA, Rebeca Fernandes de^{1,3}; ARAÚJO, Erika Crhistina Santos^{1,2}; FRANCISCO,
Allef Francisco^{1,2}; KAYANO, Anderson Makoto^{1,4}; MARTINS, Marcos Antônio Cabral^{1,3};
RIBEIRO, João Victor Lopes^{1,2,3}, SOARES, Andreimar Martins^{1,2,3}.

¹Laboratório de Biotecnologia de Proteínas e Compostos Bioativos Aplicados à Saúde
– LABIOPROT – Fiocruz-RO ²Fundação Oswaldo Cruz – Fiocruz-RO ³Centro
Universitário São Lucas Afya – UniSL ⁴Centro de Pesquisa em Medicina Tropical –
CEPEM ⁵Instituto Federal de Rondônia– IFRO

A leishmaniose é uma doença tropical negligenciada, causada por parasitas do gênero *Leishmania*. De forma geral, essas doenças geram impactos sociais, econômicos e psicológicos severos. Um dos alvos terapêuticos promissores no tratamento da leishmaniose é a enzima tripanotiona redutase (TRLb), que desempenha um papel crucial na manutenção do equilíbrio redox nas células do parasita, sendo essencial para sua sobrevivência. A inibição dessa enzima pode comprometer a defesa antioxidante do parasita, tornando-o mais suscetível aos danos oxidativos. Diante disso, o objetivo deste projeto é purificar e caracterizar funcionalmente uma serinoprotease de *Crotalus durissus terrificus* e avaliar seu potencial inibitório sobre o alvo molecular TRLb de *Leishmania braziliensis*. O modelo estrutural teórico da TRLb de *L. braziliensis* (UniProt A4H480) foi gerado utilizando a ferramenta AlphaFold, e a estrutura da TR de *L. infantum* (PDB ID 4ADW) foi utilizada como referência para construir a TRLb em sua conformação nativa. A interação entre a TRLb e a giroxina (UniProt B0FXM2), cuja estrutura teórica também foi gerada pelo AlphaFold, foi investigada por meio de docagem molecular utilizando a ferramenta ClusPro 2.0, e simulações de dinâmica molecular foram realizadas com o GROMACS. O veneno de *Crotalus durissus terrificus* foi obtido do banco de venenos do LABIOPROT-FIOCRUZ-RO e fracionado por cromatografia de afinidade em uma coluna Tricorn 10/100 preenchida com resina de Benzamidina-Shepharose (GE Healthcare). A expressão da TRLb foi realizada utilizando o vetor pET28(a+), transformado em células *E. coli* BL21(DE3). Para a purificação da proteína expressa, foi empregada cromatografia de afinidade em resina de níquel Ni-NTA Agarose. Nos ensaios de inibição, o IC50 foi calculado utilizando o modelo de regressão não linear no programa GraphPad Prism. Os resultados *in silico* indicaram que a giroxina é capaz de interagir próximo ao sítio catalítico da enzima, abrindo novas possibilidades para futuras pesquisas na área. A TRLb foi purificada com alto grau de pureza, mantendo sua atividade catalítica preservada, com massa molecular e ponto isoelétrico compatíveis com os descritos na literatura. A purificação da giroxina de *C. d. terrificus* resultou em três frações, denominadas 1, 2 e giroxina. O

perfil eletroforético mostrou uma única banda proteica com massa molecular de aproximadamente 30 kDa. A giroxina foi testada em diferentes concentrações (5 μ M, 1 μ M e 0,2 μ M) para avaliar sua capacidade inibitória, resultando em uma redução da atividade catalítica da TRLb em 88%, 41,2% e 18%, respectivamente. A combinação de métodos computacionais e experimentais forneceu informações valiosas sobre a interação entre a TRLb e as toxinas, o que pode auxiliar no desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas. Este estudo destaca a importância de entender as interações entre alvos moleculares e toxinas, especialmente no contexto das doenças tropicais negligenciadas.

Palavras-chave: Leishmaniose; Tripanotiona redutase; *Crotalus durissus terrificus*

E-mail: falves@aluno.fiocruz.br, andreimarsoares@gmail.com