



# IV JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

“Desafios e possibilidades de integração regional no ensino, pesquisa, extensão e inovação”

TEIA UFNT

PIBIC UFNT  
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE  
BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA



FAPT  
FUNDAÇÃO DE AMPARO À  
PESQUISA DO TOCANTINS

CNPq

## IDENTIFICAÇÃO DE INIBIDORES POTENCIAIS PARA A ENZIMA FOSFOGLICERATO QUINASE C (PGKC) DE *LEISHMANIA MAJOR* POR MEIO DE VIRTUAL SCREENING

SILVA, Graciélia Maria da Conceição<sup>1</sup>; OLIVIER, Danilo da Silva<sup>2</sup>

### RESUMO

A leishmaniose é uma doença que afeta amplamente o Tocantins. A busca por novos tratamentos é urgente e um dos caminhos é a inibição de enzimas alvo do patógeno. Este estudo teve como foco identificar moléculas com potencial atividade inibitória contra a fosfoglicerato quinase C (PGKC) de *Leishmania major* por meio de triagem virtual (*virtual screening*) e *docking molecular*. A pesquisa combinou revisão bibliográfica e abordagem computacional: modelagem por homologia para obtenção da estrutura 3D da PGKC, identificação de cavidade intra catenária plausível como sítio de acoplamento e varredura de uma biblioteca de compostos (*DrugBank*) para seleção dos melhores candidatos segundo energia de interação calculada. A modelagem revelou forte similaridade com PGKs de tripanossomatídeos, incluindo uma extensão C-terminal característica das isoenzimas glicosômicas que pode atuar na ancoragem e em potenciais sítios de interação. A triagem virtual produziu uma lista qualificada de dez compostos com energias de acoplamento entre  $-10,2$  e  $-9,4$  kcal·mol<sup>-1</sup>; dentre eles destacam-se DB12903 (DEBIO-1347), DB14773 (Lifirafenib), DB19277 (Omilancor) e DB11977 (Golvatinib). A análise das interações revelou um padrão recorrente de contatos: ligações de hidrogênio com resíduos como Asn A:26 e Glu A:380, interações  $\pi$ -cátion com Arg A:39 e empacotamentos hidrofóbicos envolvendo Val A:391 e Phe A:38, o que sugere sinais de ligação na cavidade selecionada. Embora os resultados indiquem compostos promissores, enfatiza-se que energias de *docking* são preditivas e exigem validação dinâmica (simulações de dinâmica molecular) e testes experimentais *in vitro/in vivo* para confirmar atividade inibitória e seletividade. A pesquisa contribui para o reposicionamento racional de fármacos como estratégia econômica na busca de novos agentes antileishmania e demonstra a aplicabilidade de ferramentas estruturais e computacionais no triângulo ensino-pesquisa-extensão.

**Palavras-chave:** *Leishmania major*. Fosfoglicerato quinase C (PGKC). *Docking molecular*. Reposicionamento de fármacos.

<sup>1</sup> Aluna voluntária do Programa de Iniciação Científica.. Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Faculdade de Ciências da Saúde. [gracielia.silva@ufnt.edu.br](mailto:gracielia.silva@ufnt.edu.br)

<sup>2</sup> Professor Doutor dos Cursos de Física e Engenharia Biomédica, Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), coordenador do projeto de iniciação científica. [daniilo.olivier@ufnt.edu.br](mailto:daniilo.olivier@ufnt.edu.br)



## INTRODUÇÃO

A Leishmaniose Tegumentar Americana é uma doença endêmica que causa lesões cutâneas e mucosas, com impacto epidemiológico relevante em várias regiões do Brasil e do mundo, exigindo estratégias de diagnóstico e tratamento que considerem a diversidade de espécies do gênero *Leishmania* (Vasconcelos et al., 2018; Brasil, 2017). No contexto das abordagens terapêuticas, a identificação de alvos enzimáticos essenciais ao metabolismo dos parasitas é uma estratégia consolidada na descoberta de fármacos; entre esses alvos, a fosfoglicerato quinase (PGK) destaca-se por seu papel central na via glicolítica e por suas versões glicosômicas específicas em tripanossomatídeos, o que a torna candidata atraente para intervenção farmacológica (Basano & Camargo, 2004; McKoy et al., 1997). O presente trabalho desenvolveu uma sequência metodológica computacional, modelagem por homologia, identificação de cavidade e triagem virtual de compostos, com o objetivo de apontar moléculas potencialmente capazes de se ligar e inibir a PGKC de *L. major*, contribuindo para estratégias de reposicionamento farmacológico e redução de custos iniciais em P&D farmacêutico (Rojas-Pirela et al., 2020). O relatório final do projeto descreve a construção do modelo estrutural da PGKC, o alinhamento com sequências template e a seleção dos dez melhores candidatos a inibidores conforme energia de docking, fundamentando a justificativa da pesquisa e sua relevância para a busca por novas intervenções terapêuticas frente à *L. major*.



A fundamentação teórica do estudo assenta em trabalhos que caracterizam a estrutura, função e diferenciação das PGKs em tripanossomatídeos e em literatura sobre técnicas de modelagem estrutural e docking. Estudos clássicos descrevem a presença de isoenzimas citosólicas e glicosômicas em *Trypanosoma* e *Leishmania*, suas adaptações metabólicas e a importância da PGK na geração/regeneração de ATP, bem como na interface glicólise/gliconeogênese (McKoy et al., 1997; Adjé et al., 1997).

Revisões recentes aprofundam aspectos estruturais e funcionais das PGKs de kinetoplastídeos, destacando extensões C-terminais em isoenzimas glicosômicas que modulam interação protéica e localização subcelular (Rojas-Pirela et al., 2020). Na esfera metodológica, o *Swiss-Model* e bancos de dados como *UniProt* e PDB são referenciais para modelagem por homologia e anotação de sequências; protocolos de *docking* e análise de interações (identificação de ligações de hidrogênio, interações  $\pi$ , contatos hidrofóbicos) sustentaram a avaliação dos compostos selecionados. Toda a fonte teórica e as fontes primárias consultadas foram empregadas para construir a metodologia e interpretar resultados no relatório final.

## OBJETIVOS

Identificar, por meio de triagem virtual e *docking* molecular, compostos com potencial atividade inibitória contra a fosfoglicerato quinase C (PGKC) de *Leishmania major*, priorizando moléculas candidatas a testes experimentais subsequentes. Objetivos específicos; Construir e validar um modelo tridimensional da PGKC de *L. major* por modelagem por homologia; Identificar cavidades plausíveis para acoplamento de ligantes e definir protocolo de *docking*; Realizar triagem virtual de biblioteca (*DrugBank*) e selecionar os dez compostos com menores energias de interação; Caracterizar



interações receptor–ligante (ligações de hidrogênio, interações  $\pi$ , contatos hidrofóbicos) e mapear resíduos críticos de ligação.

## METODOLOGIA

A pesquisa combinou revisão bibliográfica descritiva e métodos computacionais. O levantamento bibliográfico foi conduzido em bases como BVS, PubMed e Google Acadêmico, com critérios de exclusão para duplicatas e trabalhos fora do escopo. Para modelagem estrutural utilizou-se o *Swiss-Model* com templates selecionados no PDB; o modelo foi visualizado e analisado em *PyMOL* para inspeção de domínios, superfícies e possíveis cavidades (*Swiss-Model*; *UniProt*; *PyMOL*). Diante da ausência de um sítio catalítico claramente identificado por anotação, a região de maior cavidade acessível foi selecionada para as simulações de *docking*. A biblioteca de compostos provém do *DrugBank*; o protocolo de triagem virtual avaliou energias de interação e modo de acoplamento, resultando na seleção das dez primeiras moléculas por menor energia de *docking*. As análises de interação receptor–ligante incluíram identificação de ligações de hidrogênio, interações  $\pi$ –cátion/ $\pi$ – $\pi$ , interações hidrofóbicas e contatos desfavoráveis, com registro dos resíduos envolvidos para cada composto.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O alinhamento entre a sequência da PGKC de *L. major* e o template de *T. brucei* apresentou identidade de aproximadamente 75,4%, permitindo modelagem por homologia confiável e obtenção de um modelo 3D utilizável para *docking*. O gene PGKC codifica proteína de 480 aminoácidos (~51,5 kDa) e apresenta uma extensão C-terminal de 63 resíduos, com padrão alternado hidrofóbico/positivamente carregado que facilita associação glicosomal e possivelmente atua como sítio modulador de interação (resíduos descritos no relatório). Essas características estruturais são



relevantes: a extensão pode afetar a conformação da cavidade de ligação e atuar como polo de interação para ligantes pequenos.

A triagem virtual selecionou dez compostos com energias entre  $-10,2$  e  $-9,4$  kcal·mol<sup>-1</sup>, destacando-se DB12903 (DEBIO-1347;  $-10,2$  kcal·mol<sup>-1</sup>), DB14773 (Lifirafenib;  $-10,0$  kcal·mol<sup>-1</sup>) e DB19277 (Omilancor;  $-9,8$  kcal·mol<sup>-1</sup>) como os melhores colocados. As estruturas selecionadas variaram em número de átomos pesados (27–47) e composição química (anéis aromáticos, heteroátomos, halogênios), o que sugere diferentes perfis físico-químicos e possibilidades de otimização.

A análise das representações 2D/3D das interações revelou um padrão recorrente de resíduos que participam do acoplamento: Arg A:39 aparece frequentemente formando interações  $\pi$ -cátion; Glu A:380 e Asn A:26 participam de ligações de hidrogênio; Val A:391, Ala A:376 e Phe A:38 são comumente envolvidos em contatos hidrofóbicos ou  $\pi$ - $\sigma$ / $\pi$ -alquil. Esses resíduos configuram uma atividade funcional na cavidade analisada e podem ser alvos para otimização de afinidade e seletividade em ensaios futuros. Exemplos específicos: DEBIO-1347 (DB12903) forma ligações de hidrogênio com Asn A:26 e Glu A:380 e interações  $\pi$ -cátion com Arg A:39; Lifirafenib (DB14773) estabelece múltiplos contatos de *van der Waals* e interações  $\pi$ , incluindo com Phe A:38 e Arg A:39; Omilancor (DB19277) também apresenta ligações de hidrogênio e interações  $\pi$  significativas que sustentam sua posição na tabela de melhores interações.

A presença de ligações de hidrogênio com resíduos polares e de interações  $\pi$ -cátion com Arg A:39 sugere que compostos capazes de ocupar a cavidade podem estabilizar conformações que impedem o acesso de substratos ou alteram a dinâmica catalítica local. Como a PGK catalisa uma etapa essencial na produção de ATP,



inibidores eficazes podem comprometer o metabolismo energético do parasita. Entretanto, é importante frisar que o docking fornece somente uma estimativa estática da afinidade; a estabilidade do complexo no tempo, efeitos solventes e a possibilidade de reorganização conformacional exigem simulações de dinâmica molecular e validação bioquímica.

## CONCLUSÃO

A pesquisa culminou na identificação de dez compostos com afinidade preditiva relevante para a cavidade selecionada da PGKC de *L. major*, com energias de *docking* variando de  $-10,2$  a  $-9,4$  kcal·mol<sup>-1</sup>. A modelagem por homologia e a análise estrutural indicaram características específicas da PGKC, notadamente a extensão C-terminal e um conjunto recorrente de resíduos que atuam como ligação que orientam hipóteses sobre mecanismos potenciais de inibição. Embora os resultados apontem candidatos promissores, reforça-se que a triagem virtual é etapa inicial: confirmações por dinâmica molecular e validação experimental são imprescindíveis antes de qualquer conclusão sobre atividade inibitória efetiva ou potencial terapêutico. Em termos de formação e pesquisa, o projeto cumpriu seu objetivo de capacitar o bolsista em técnicas de biofísica computacional e produzir insumos relevantes para futuras investigações de reposicionamento farmacológico contra *L. major*, contribuindo para estratégias de mitigação de doenças tropicais negligenciadas.



## REFERÊNCIAS

ADJÉ, C. A. et al. Organization, sequence and stage-specific expression of the phosphoglycerate kinase genes of *Leishmania mexicana mexicana*. Elsevier, 1997.

BASANO, Sergio de Almeida; CAMARGO, L. M. A. Leishmaniose tegumentar americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controle. Rev. Bras. Epidemiol., vol. 7, n. 3, 2004.

BRASIL. Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar. 2017, Brasília-DF, 1ª ed.

MCKOY, G. et al. Characterisation of phosphoglycerate kinase genes in *Leishmania major* and evidence for the absence of a third closely related gene or isoenzyme. PubMed, 1997.

ROJAS-PIRELA, Maura et al. Phosphoglycerate kinase: structural aspects and functions, with special emphasis on the enzyme from Kinetoplastea. Royal Society (online), Nov. 2020.

VASCONCELOS, J. M. et al. Leishmaniose tegumentar americana: perfil epidemiológico, diagnóstico e tratamento. RBAC. (Online); 50 (3): 221-227, 16 dez. 2018.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Instituto Nacional de Eletrônica Orgânica (INEO) pelo apoio técnico e científico, ao LABMADE pela disponibilização das instalações laboratoriais e assistência nas análises experimentais, e à Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT) pelo suporte institucional e infraestrutura disponibilizada para a realização deste trabalho.