



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

XXIX SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS **SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2025**

Atividade *in silico* e *in vitro* de alcaloides frente ao carrapato *Rhipicephalus microplus*

Amanda Carolina do Carmo Jesus¹; Mariana Borges Botura²

1. Amanda Carolina do Carmo Jesus, PROBIC/UEFS, FARMÁCIA, e-mail: amandacarol.st@gmail.com

2. Mariana Borges Botura, DEPARTAMENTO DE SAÚDE, e-mail: mbbotura@uefs.br

PALAVRAS-CHAVE: colinesterase; metabólitos secundários; carrapato

INTRODUÇÃO

A bovinocultura brasileira sofre grandes prejuízos com o carrapato *Rhipicephalus microplus* (Barros *et al.*, 2024). O controle tradicional com antiparasitários sintéticos enfrenta resistência e riscos ambientais, impulsionando a busca por alternativas (Quadros *et al.*, 2020). Plantas, como o gênero *Ocotea*, são promissoras fontes de substâncias bioativas (Almeida *et al.*, 2021; Conceição *et al.*, 2020). A acetilcolinesterase do carrapato (RmAChE) é um alvo validado para novos fármacos (Kim; Lee, 2018). A combinação de ferramentas *in silico* com ensaios *in vitro* otimiza essa pesquisa (Begum *et al.*, 2021).

MATERIAL E MÉTODOS OU METODOLOGIA (ou equivalente)

O estudo integrou uma abordagem *in silico* e *in vitro* para identificar carrapaticidas naturais contra *Rhipicephalus microplus*, tendo a enzima acetilcolinesterase (AChE) como alvo molecular. Inicialmente, um modelo farmacofórico foi construído e validado com base em inibidores conhecidos da AChE para o *R. microplus* e atividade carrapaticida em *R. sanguineus*. Este modelo foi utilizado para filtrar alcaloides do Banco de Produtos Naturais do Semiárido Baiano (NatProDB), e as moléculas com maior similaridade foram submetidas ao acoplamento molecular (*molecular docking*) em um modelo 3D da enzima para prever a afinidade de ligação. Na etapa *in vitro*, os compostos mais promissores foram avaliados contra larvas de *R. microplus* (10-15 dias) obtidas de teleóginas coletadas de bovinos sem tratamento acaricida prévio. A eficácia foi determinada pelo Teste de Imersão Larval (TIL), quantificando a mortalidade após 24 horas de exposição. O ensaio incluiu um controle negativo (solvente) e um controle positivo (cipermetrina) para validação dos resultados.

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

Para a construção do modelo computacional, foi estabelecido um banco de dados composto por 33 inibidores da RmAChE. Este banco incluiu 26 moléculas com atividade biológica previamente reportada contra *Rhipicephalus microplus* e *R. sanguineus* (Prado-Ochoa *et al.*, 2014; Ali *et al.*, 2008), além de sete carrapaticidas sintéticos comerciais de ação anticolinesterásica (Diclorvós, Clorfenvinfós, Propoxur, Carbaril, Coumafós, Fenthion e Triclorfon). Este conjunto de inibidores foi dividido aleatoriamente em um grupo treinamento com 11 moléculas e um grupo teste com 22 moléculas. A partir do grupo treinamento, foram gerados cinco modelos farmacofóricos no *software* vROCS. A validação destes modelos, realizada com o grupo teste e um conjunto de 1.100 moléculas falsas-positivas (*decoys*), resultou em valores de Área Sob a Curva (AUC) e o modelo que demonstrou o melhor desempenho preditivo foi o baseado na estrutura do Triclorfon (Figura 1), com AUC de 0,896.

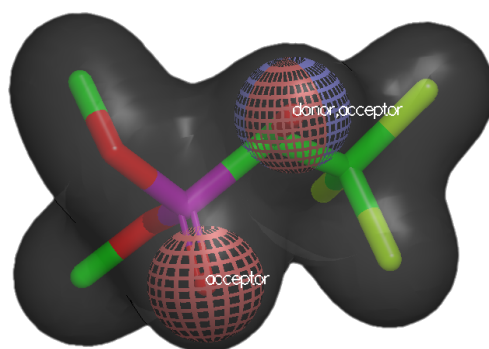


Figura 1: Modelo baseado em forma e volume de Triclorfon. As esferas representam as características do farmacóforo: aceitadores de hidrogênio em vermelho preenchido e semipreenchido e doadores de hidrogênio em azul semipreenchido.

Este modelo validado foi então utilizado para a triagem virtual de um banco de 20 alcaloides provenientes do NatProDB, e os compostos filtrados foram submetidos a ensaios de acoplamento molecular para prever sua afinidade de ligação com o sítio ativo da RmAChE. As moléculas foram ranqueadas pela função de pontuação *ChemGauss4* do *software* FRED. As moléculas com as melhores pontuações foram ioimbina (-17,45) e magnoflorina (-16,25). A hordenina (-10,26) ficou em 18ª e também foi selecionada para testes *in vitro*. Na análise das interações intermoleculares, a ioimbina (Figura 2A) apresentou interações hidrofóbicas e π -cátion com o resíduo Trp316, interações hidrofóbicas com Phe317 e Tyr320, e uma ligação de hidrogênio com Ser70.

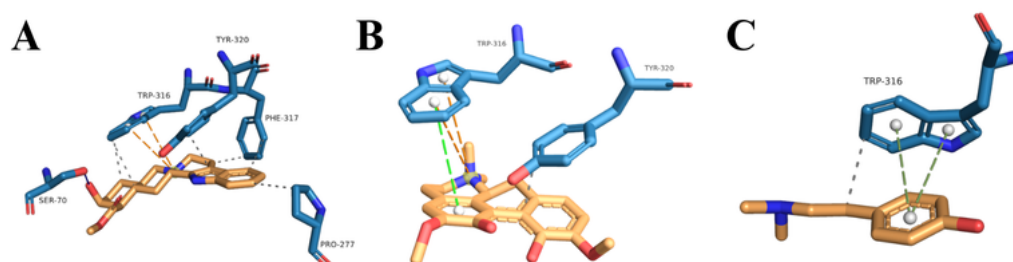


Figura 2: Mapa de interação 3D dos complexos alcaloides-RmAChE. A: complexo ioimbina-RmAChE; B: complexo magnoflorina-RmAChE; C: complexo hordenina-RmAChE.

A magnoflorina (Figura 2B) apresentou uma ligação π -stacking com Trp316, interações π -cátion entre sua amina quaternária e o mesmo resíduo, e uma interação hidrofóbica com Tyr320. Para a hordenina (Figura 2C), foram observadas interações hidrofóbicas e π -stacking do tipo perpendicular com o resíduo Trp316. Hordenina e ioimbina foram avaliadas para atividade larvicida. A hordenina foi eficaz, com mortalidade larval de 35% a 90% (0,125-2 mg/mL), sendo estatisticamente superior ao controle negativo e similar ao controle positivo nas maiores concentrações. A ioimbina mostrou baixa atividade, com mortalidade máxima de 20% (2 mg/mL) e sem diferença estatística do controle negativo.

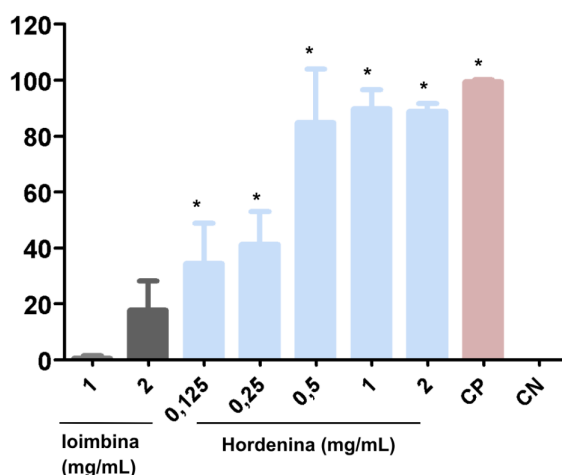


Figura 6: Percentual de mortalidade (média $\pm$ desvio padrão) das larvas de *R. microplus* expostas aos alcaloides (ioimbina e hordenina) no teste de imersão larval. CP (controle positivo, tratado com cipermetrina) e CN (Controle Negativo: etanol a 75%). * = Diferença significativa para valor de $p > 0,05$, em comparação com o controle negativo (ANOVA/Tukey).

Os controles funcionaram: etanol a 75% (0% mortalidade) e cipermetrina (99,6% mortalidade). A hordenina mostrou alta atividade larvicida, atingindo 90% de mortalidade, similar à cipermetrina. Achados *in silico* e *in vivo* (Agrawal *et al.*, 2024) suportam sua ação anticolinesterásica via interações com Trp316, Phe317 e Tyr320, consistente com inibidores de RmAChE conhecidos (Cerqueira *et al.*, 2022).

CONSIDERAÇÕES FINAIS (ou Conclusão)

Este estudo demonstrou a eficácia da abordagem integrada *in silico* e *in vitro* ao identificar a hordenina como um potente agente larvicida contra *Rhipicephalus microplus*. Pesquisas futuras devem focar na otimização da hordenina, incluindo a avaliação de sua eficácia contra cepas de carrapatos resistentes e o desenvolvimento de formulações para uso prático, consolidando o potencial desta molécula para a inovação na saúde animal.

REFERÊNCIAS

ALI, A.; T.M. ALTAMORE; M. BLIESE; P. FISARA; A.J. LIEPA; A.G. MEYER; O. NGUYEN; R.M. SARGENT; D.G. SAWUTZ; D.A. WINKLER; K.N. WINZENBERG; A. ZIEBELL. 2008. Parasitocidal 2-alkoxy- and 2-aryloxyiminoalkyl trifluoromethanesulfonanilides. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 18(1): 252-255.

PRADO-OCHOA, M.G.; P. RAMÍREZ-NOGUERA; R. DÍAZ-TORRES; G.I. GARRIDO-FARIÑA; V.H. VÁZQUEZ-VALADEZ; A.M. VELÁZQUEZ-SÁNCHEZ; M.A. MUÑOZ-GUZMÁN; E. ANGELES; F. ALBA-HURTADO. 2014. The action of two ethyl carbamates on acetylcholinesterase and reproductive organs of *Rhipicephalus microplus*. *Vet. Parasitol.* 199(3-4): 215-224.

KIM, J.H.; S.H. LEE. 2018. Molecular properties of acetylcholinesterase from the tick *Haemaphysalis longicornis*. *Parasites Vectors* 11(1): 1-10.

CONCEIÇÃO, A.O.; J.S. MENDONÇA; L.A. SANTOS; A.C.S. REIS; L.C.S. OLIVEIRA; R.P.L. DAMASCENO; T.M.S. SILVA; J.G.S. MAIA; M.B. BOTURA; A. BRANCO. 2020. Acaricidal activity of essential oils from two *Ocotea* species against *Rhipicephalus microplus*. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 29(4): e013420.

QUADROS, D.G.; M.S. BITTENCOURT; C.A. CARVALHO; L.O.S. ROSA; R.C. LEITE; F. BORGES. 2020. Acaricide resistance in *Rhipicephalus microplus* in the state of Santa Catarina, Brazil. *Pesqui. Vet. Bras.* 40(6): 443-450.

BEGUM, A.; M.S. HASSAN; F. AL-JENOABI; A.A. AL-MOHIZEA; A.K. AL-SUFIAN. 2021. An in-silico and in-vitro approach to identify potential drug candidates against SARS-CoV-2. *Saudi Pharm. J.* 29(1): 86-95.

ALMEIDA, J.R.G.S.; A.R.T. LIMA; F.A.A. SOUZA; A.A. RIBEIRO. 2021. Anticholinesterase activity of alkaloids from *Ocotea* species: A review. *S. Afr. J. Bot.* 140: 10-18.

CERQUEIRA, A.P.M.; I.B. SANTANA; J.S.C. ARAÚJO; H.G. LIMA; M.J.M. BATATINHA; A. BRANCO; M.C.D. SANTOS JUNIOR; M.B. BOTURA. 2022. Homology modeling, docking, molecular dynamics and in vitro studies to identify *Rhipicephalus microplus* acetylcholinesterase inhibitors. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 40(15): 6787-6797.

AGRAWAL, M.; M. SINGHAL; C. SEMWAL; S. ARORA; B. SINGH; V. SIKARWAR; P. SETHI; H. CHAUDHARY; W. AKRAM; S. BHARGVA; B. KUMAR; S. SAHA; S. KUMAR. 2024. Neuroprotective action of hordenine against the Aluminium Chloride (AlCl₃) induced Alzheimer's diseases & associated memory impairment in experimental rats. *Pharmacol. Res. Mod. Chin. Med.* 12: 100492.

BARROS, A.T.M.; R.Z. ANDREOTTI; F.A. RIBEIRO; C.M. DE SENA; J. RECK; G.H. BECHARA; F.S. FERRAZ; I.S. VAZ. 2024. An update on the economic impact of cattle ticks and tick-borne diseases in Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 33(1): e012323.