



## ESTUDO *IN SILICO* DAS BASES MOLECULARES DE INTERAÇÃO DA FRUTALINA COMO BIOFÁRMACO

Antonio Eufrásio Vieira Neto<sup>1</sup>, Joao Ronielly Campelo Araújo<sup>1</sup>, Marina de Barros Mamede Vidal Damasceno<sup>2</sup>, Adriana Rolim Campos<sup>2</sup>, Ana Cristina de Oliveira Monteiro Moreira<sup>2</sup>, Renato de Azevedo Moreira<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Federal do Ceará; <sup>2</sup>Universidade de Fortaleza  
antonionetoeng@alu.ufc.br

---

### Resumo

A Frutalina (FTL) é uma lectina  $\alpha$ -D-galactose ligante, das sementes de *Artocarpus incisa* L., que tem apresentado várias atividades biomédicas e com base nisto, técnicas de bioinformática vêm buscando elucidar as bases moleculares de interação com os receptores biológicos. O objetivo do trabalho é associar o docking molecular às estratégias tradicionais de prospecção de biofármacos. No primeiro trabalho, a FTL foi submetida ao docking contra a superfície do ligante TRPV1, no qual demonstrou ter afinidade no modelo de dor orofacial aguda e neuropática. No segundo trabalho, a FTL interagiu com o canal iônico NMDA, agindo no mecanismo de efeito antidepressivo-símile. Os resultados *in vivo* mostraram que a FTL possui efeito antidepressivo-símile mediado por receptores NMDA e via L-Arginina/NO/cGMP, e é eficiente na promoção de efeito antinociceptivo em dor orofacial aguda e neuropática. O docking molecular demonstrou que a FTL interage com a enzima NOS e com o receptor NMDA, realizando ligações de até 1.9 angstroms. Em relação ao canal TRPV1, houveram ligações de hidrogênio de até 1.8 angstroms, com alta reprodutibilidade. Pode-se concluir que a associação das prospecções de biofármacos *in vitro* e *in silico* podem potencializar a eficiência da bioquímica e da farmacologia como aliadas na produção de novas soluções biomédicas.

**Palavras-chave:** Frutalina. *Artocarpus incisa*. Docking molecular. Bioinformática.



---

## **Introdução**

A Frutalina (FTL) é uma lectina vegetal obtida das sementes de *Artocarpus incisa* L., popularmente conhecida como fruta-pão, e por ter a capacidade de se ligar, de forma reversível à glicanos específicos (resíduos de D-Galactose e de D-Manose), foi isolada por meio de cromatografia de afinidade em coluna de galactomanana reticulada de *Adenantha pavonina* (Moreira et al., 1998). É uma glicoproteína  $\alpha$ -D-galactose ligante (podendo reconhecer também  $\alpha$ -D-Manose) e a sua estrutura tridimensional foi estabelecida por métodos cristalográficos (MONTEIRO-MOREIRA et al., 2016). O sítio de ligação da FTL consiste em uma cavidade próxima ao N-terminal da cadeia  $\alpha$ , formada por quatro resíduos-chave: Gly25, Tyr146, Trp147 e Asp149.

Nas ciências médicas, a Frutalina tem demonstrado muitas atividades biológicas: sendo capaz de induzir migração de neutrófilos humanos in vivo e in vitro através da interação açúcar-proteína entre a lectina solúvel e a galactose presente na superfície do neutrófilo, efeitos citotóxicos, como indução de apoptose e inibição da proliferação celular, sobre as células HeLa, linhagem de câncer cervical (OLIVEIRA et al., 2011), marcador tumoral para reconhecimento de neoplasias de mama (FERREIRA, 2001), tireóide (MILHOME, 2003) e leucemia linfoblástica aguda (CAVALCANTE et al., 2016) e também é um potente ativador mitogênico de linfócitos humanos e é capaz de se ligar a IgA (BRANDO-LIMA et al., 2005). A FTL também apresentou atividade gastroprotetora em modelo experimental de lesão gástrica aguda induzida por etanol (ABDON et al., 2012) e apresentou efeito antinociceptivo observado na dor orofacial aguda e neuropática, podendo ser mediada por receptores TRPA1 e TRPV1 (DAMASCENO et al., 2016).

Com base no seu elevado potencial biomédico, foram realizadas validações in silico das interações biomoleculares entre a FTL e os receptores biológicos envolvidos, para otimização da bioprospecção de fármacos com recursos tecnológicos e simulações computacionais.

---

## **Materiais e Métodos**

Foi utilizado o software Hex 8.0.0, que realiza a procura por ordenações e encaixes de forma automática, monitorando a energia de cada situação simulada. Os encaixes foram realizados sem considerar as moléculas de água e explorando toda a superfície dos receptores.



Para isso foram determinados os seguintes parâmetros: Tipo de correlação – “Shape only”, Dispositivo de Cálculo - CPU, Número de Soluções - 10000, Modo FFT - 3D fast lite, Grid Dimension – 0.6, Faixa do receptor - 180, Faixa do Ligante -180, Faixa de Torção - 360, Faixa de Distância - 40.

Foram realizados 3 dockings moleculares:

- Docking A: estrutura da enzima NOS, especificamente o seu domínio oxygenase, (PDB ID: 1ZVI), e a estrutura do ligante, uma molécula de FTL (PDB ID: 4WOG);
- Docking B: estrutura do receptor NMDA como receptor e a estrutura da FTL como ligante (PDB ID: 4WOG);
- Docking C: estrutura do canal TRPV1 (PDB ID: 3J5P) e a estrutura tridimensional da Frutalina (PDB ID: 4WOG), ambas obtidas a partir do PDB.

Para análise dos complexos formados após o docking molecular, foi utilizado o software PyMol 1.4.7, que permite a manipulação tridimensional da molécula e do complexo formado.

## Resultados e Discussão

*Docking A:* pode-se observar que a o domínio oxygenase da enzima receptora NOS interage com o ligante fortemente, com ligações que variam de 1,3 a 3,0 angstroms, garantindo a ação biológica sugerida pelo experimento in vivo (Figura 1).

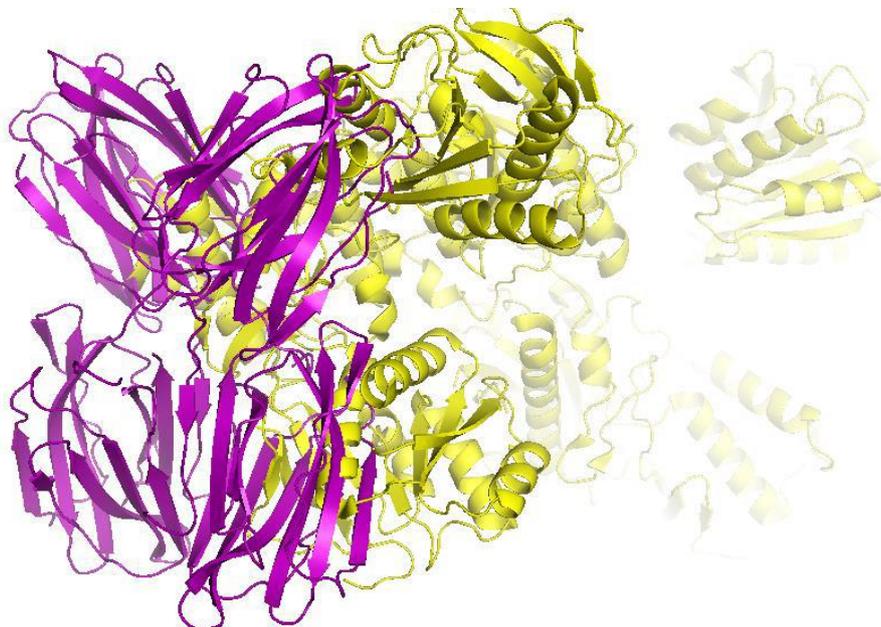


**Figura 1:** FTL (ciano) x Domínio Oxygenase da enzima NOS (verde).



A visualização da interação, juntamente à medição da distância das ligações e às altas energias observadas (Tabela 1), comprova o mecanismo de ligação entre resíduos de aminoácidos da enzima NOS (domínio Oxygenase) e os resíduos de aminoácidos da FTL: Val24, Gly25, Ser100, Tyr102, Lys141, Tyr146 e Tyr150. Com base nestes resíduos, pode-se sugerir também a possível glicosilação de alguns aminoácidos da enzima NOS, já que os resíduos Gly25, Tyr146 e Tyr150 estão diretamente relacionados com a atividade lectínica da Frutalina, o que sugere que este sítio de reconhecimento tenha grande afinidade a glicanos.

*Docking B:* Observou-se alta energia de interação entre as moléculas, com ligações que variam de 2.1 a 3.2 angstroms. Os resíduos de aminoácidos do receptor NMDA envolvidos são: Gln40, Phe342, Lys343, Val345, Gln371, Ile111, Leu112, Phe114, que possibilitam interações químicas com muitos resíduos da FTL, inclusive os resíduos associados à atividade lectínica: Gly25, Tyr146, Trp147 e Asp149. Esta forte interação observada no docking molecular pode sugerir o mecanismo de ligação entre FTL e o receptor NMDA (Figura 2).

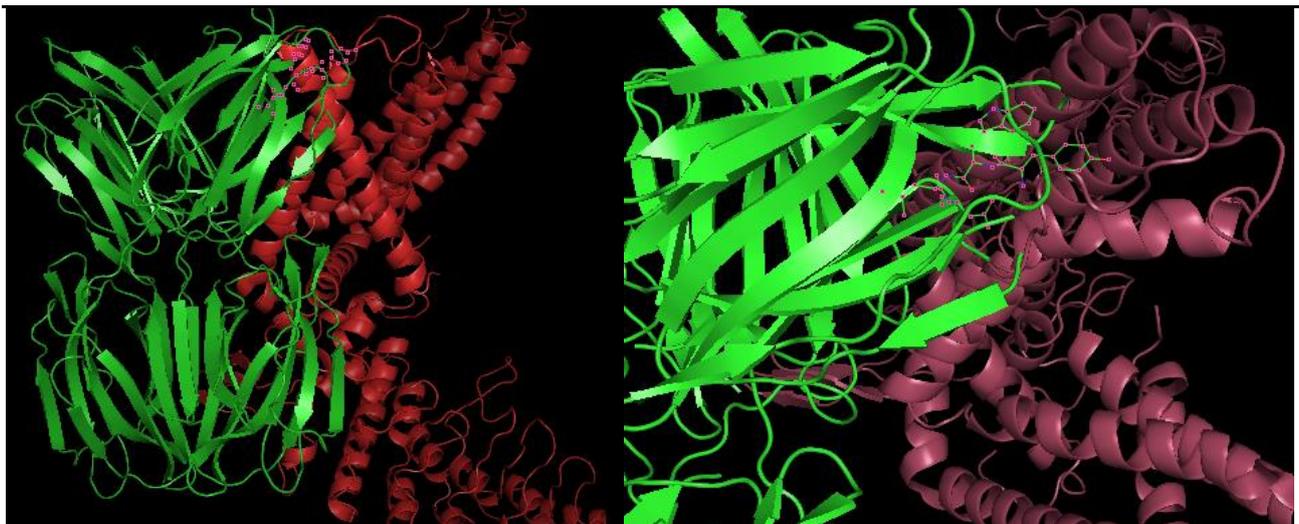


**Figura 2:** FTL (púrpura) x receptores NMDA (amarelo)

*Docking C:* Foi possível observar ação direta dos aminoácidos Asp149, Tyr146, Trp147 e Gly25, que fazem interações fortes com aminoácidos do TRPV1, evidenciando ligações de até 1,9



angstroms. A visualização da interação, juntamente à medição da distância das ligações e às altas energias observadas, comprova o mecanismo de ligação entre 4 aminoácidos do SRC da Frutalina, com aminoácidos glicosilados do TRPV1 (Figura 3)



**Figura 3:** Frutalina (verde) interagindo fortemente com o receptor TRPV1 (vermelho). À esquerda, os aminoácidos envolvidos na interação (sticks).

**Tabela 01:** Energia da região de interações da Frutalina contra receptores biológicos envolvidos em ações farmacológicas ( $E_{total}$  – kcal/mol):

	TRPV1	NMDA	NOS
Cluster 01:	-1981,16	-16353,91	-887,48
Cluster 02:	-1771,28	-15894,88	-814,57
Cluster 03:	-1701,92	-15682,25	-811,66
Cluster 04:	-1651,51	-15040,66	-810,14
Cluster 05:	-1637,00	-14799,38	-784,78
Cluster 06:	-1430,30	-14764,13	-776,22
Cluster 07:	-1429,21	-14543,02	-751,05
Cluster 08:	-1405,82	-14527,10	-723,57
Cluster 09:	-1393,14	-14476,09	-719,11
Cluster 10:	-1333,90	-14462,69	-716,42



## Conclusão

Com base nos dados obtidos e nas referências bibliográficas, pode-se concluir que a associação das prospecções de biofármacos *in vitro* e *in silico* potencializam a eficiência da bioquímica e da farmacologia como aliadas na produção de novas soluções para os problemas de saúde, e o docking molecular, apesar de ser uma tecnologia de simulação computacional, mostrou-se eficiente por observar nuances biomoleculares que sustentam as bases de interação do biofármaco: compatibilidade espacial, afinidade química, ligações químicas, impedimentos estéricos, polaridade, reprodutibilidade e investigações energéticas. Pode-se sugerir que outras ferramentas de bioinformática sejam também associadas nas ciências biomédicas, como: modelagem molecular, dinâmica e alinhamentos. Desta forma, os recursos tecnológicos poderiam potencializar a bioprospecção de novos fármacos.

---

## Agradecimentos

Este trabalho se fez possível graças à infraestrutura da Universidade de Fortaleza, à supervisão dos pesquisadores colaboradores, e às agências de fomento: CAPES, CNPq e FUNCAP.

---

## Referências

- DELANO, W. The PyMOL molecular graphics system, San Carlos, CA, USA: DeLano Scientific, 2002.
- MACINDOE, L. MAVRIDIS, V. VENKATRAMAN, M.-D. DEVIGNES, D.W. RITCHIE - HexServer: an FFT-based protein-docking server powered by graphics processors. *Nucleic Acids Research*, 38, W445-W449, 2010.
- MONTEIRO-MOREIRA, A.C.O., PEREIRA, H.M., VIEIRA-NETO, A.E., MENDES, F.B.M.B, LOBO, M.D.P., SOUSA, F.D., MOREIRA, R. A., Crystallization and preliminary X-ray diffraction studies of frutalin, an  $\alpha$  - D -galactose- specific lectin from *Artocarpus incisa* seeds. *Acta Crystallogr. Sect. F Struct. Biol. Commun.* 71, 1282 - 1285, 2015.
- MOREIRA, R.A., CASTELO-BRANCO, C.C., MONTEIRO, A.C.O., TAVARES, R.O., BELTRAMINI, L.M. Isolation and partial characterization of a lectin from *Artocarpus incisa* L. seeds. *Phytochemistry* 47, 1183 - 1188, 1998.
- VIEIRA-NETO, A.E. Caracterização Estrutural da Frutalina, uma lectina  $\alpha$ -D-galactose ligante de sementes de *Artocarpus incisa* e análise das suas bases moleculares de ligação a D-galactose, Dissertação; 91f, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.