



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

XXVIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2024

ESTUDOS DA RELAÇÃO QUANTITATIVA ENTRE ESTRUTURA QUÍMICA E A ATIVIDADE BIOLÓGICA (QSAR) DE INIBIDORES DA ENZIMA ENOIL- ACP-REDUTASE (INH) DE *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb)

Jucelino Evaristo Carneiro Neto¹; Humberto Fonseca de Freitas²

1. Bolsista – PIBIC-Af/CNPq, Graduando em Farmácia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: jucellinoneto@gmail.com
2. Orientador, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: hffreitas@uefs.br

PALAVRAS-CHAVE: QSAR, *Mycobacterium tuberculosis*, inibidores, InhA.

INTRODUÇÃO

A tuberculose, doença causada pela bactéria *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), representa um desafio significativo para a saúde pública global (WHO, 2020). A farmacoterapia atual é considerada obsoleta e de difícil adesão, e o aumento da resistência aos tratamentos tem gerado a necessidade de novas abordagens terapêuticas. A Enoil-ACP-Redutase (InhA) é um alvo importante, pois desempenha um papel crucial na biossíntese de ácidos micólicos, componentes essenciais da parede celular da Mtb. Inibidores que atuam nessa enzima podem oferecer uma estratégia eficaz para interromper a replicação bacteriana (Rodrigues *et al.*, 2020).

Nesse cenário, a otimização de derivados de pirrolidina carboxamida e arilamidas, já conhecidos como inibidores da InhA, é fundamental. A aplicação de estudos de relação quantitativa entre estrutura química e atividade biológica (QSAR) permitirá identificar características estruturais que conferem maior potência aos compostos, contribuindo para a descoberta de novos inibidores (Ahmadi *et al.*, 2024). Assim, este trabalho buscou entender o padrão de atividade explicado através da geração de modelos de QSAR 2D e 3D.

METODOLOGIA

Um conjunto de 171 inibidores da enzima InhA com ampla variação de potência (0,04 µM a 100 µM) foi catalogado para o desenvolvimento de modelos de QSAR. As

estruturas químicas de todas as moléculas foram desenhadas em formato 2D no programa MarvinSketch e convertidas em formato 3D com adição de cargas parciais PM7 no servidor Chemdes (<http://www.scbdd.com/chemdes/>). Os inibidores foram divididos em grupo treino e grupo teste na proporção mínima de 3:1 e empregados na construção e avaliação dos modelos, respectivamente.

O módulo de holograma QSAR (HQSAR) disponível na plataforma Sybyl-X 2.1.1 foi empregado para desenvolver modelos de QSAR-2D baseados em fragmentos moleculares. Para o desenvolvimento de modelos de QSAR baseado em descritores, descritores topológicos (1D e 2D) foram calculados no programa Dragon 5.5, a partir da estrutura 3D das moléculas. Em seguida, modelos de QSAR, utilizando até 9 descritores, foram gerados por meio de Regressão Linear Múltipla (RLM) no programa QSARINS 2.2.4 (Gramatica, *et al*, 2013). Todos os modelos selecionados tiveram seus valores de ajuste (r^2), consistência interna (q^2) dos modelos calculados no programa QSARINS a partir das moléculas do grupo treino. O poder preditivo (r^2_{ext}) dos modelos foi calculado a partir das moléculas do grupo teste.

Para o desenvolvimento de modelos de QSAR 3D, foi preciso determinar a conformação dos inibidores na sua macromolécula alvo. Para a escolha da estrutura cristalográfica, foi realizado um ensaio de similaridade entre o ligante co-cristalizado em estruturas da InhA de Mtb disponíveis no servidor *Protein Data Bank* através do módulo Surflex-SIM, disponível na plataforma Sybyl-X 2.1.1. Uma vez determinada a estrutura da proteína alvo, ensaios de acoplamento molecular dos inibidores foram realizados no programa GOLD e a melhor conformação de cada inibidor dentro da enzima foi usada para a geração de modelos de QSAR 3D. Todos os parâmetros de cálculo e pré-seleção dos descritores, geração dos modelos de QSAR, avaliação e análise serão realizadas conforme delineado no estudo de QSAR 2D baseado em descritores.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a etapa de preparação dos ligantes, foi realizada uma análise prévia de modelos criados por RLM que demonstraram resultados estatísticos ruins ($r^2 = 0,31$ e $q^2 = 0,37$). Por esse motivo, uma Análise Hierárquica de Agrupamentos (HCA) foi realizada e evidenciou a presença de dois grupos estruturalmente distintos: grupo A (106 moléculas) e grupo B (65 moléculas). Cada grupo foi então subdividido em grupo treino contendo 81 compostos (grupo A) e 49 compostos (grupo B), e grupo teste com 25 compostos (grupo A) e 16 compostos (grupo B).

Com a referida divisão, modelos de HQSAR foram gerados para ambos os grupos treino e apresentaram valores estatísticos insuficientes para a descrição da relação estrutura-atividade ($r^2 < 0,6$ e $q^2 < 0,53$). Isso sugere que descritores baseados unicamente em fragmentos parecem ser insuficientes para a descrição da atividade deste conjunto de inibidores. Dessa forma, descritores físico-químicos e estruturais 1D e 2D foram calculados no program Dragon v. 5.5 e modelos mais complexos de RLM foram gerados no programa QSARins. Estes modelos foram estatisticamente excelentes e apresentam capacidade preditiva acima da média (Figuras 1 e 2).

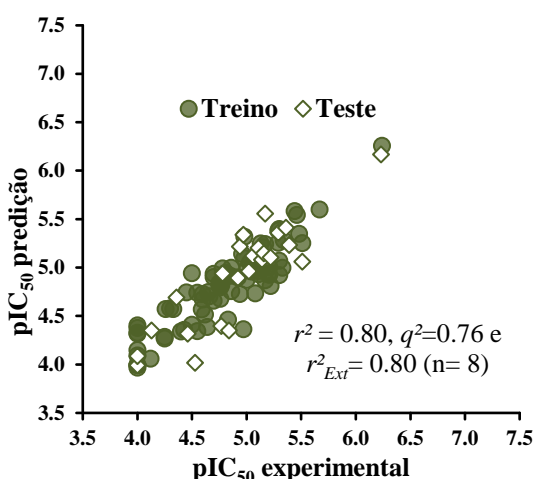


Figura 1 pIC₅₀ experimental vs pIC₅₀ predito de acordo com o melhor modelo de QSAR 2D (grupo A).

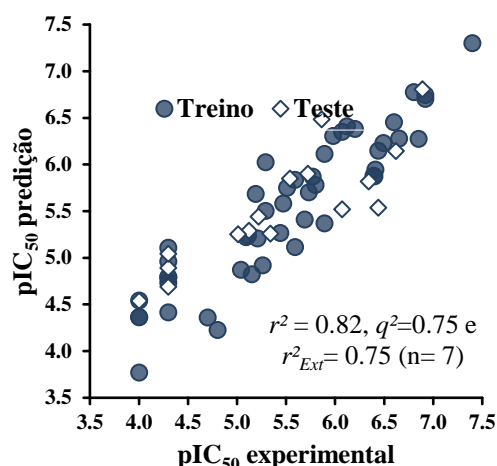


Figura 2 pIC₅₀ experimental vs pIC₅₀ predito de acordo com o melhor modelo de QSAR 2D (grupo B).

Do melhor modelo de cada grupo foram avaliados os descritores mais importantes para interpretação. Para o grupo A (Figura 3), destaca-se a variável nRCONR2 (presença de amidas terciárias alifáticas) que tem de impacto negativo sobre a atividade, por exemplo gama-lactama. Para o grupo B (Figura 4), destaca-se a influência positiva para a atividade da presença de carbonos terciários em anéis aromáticos, representado pelo descritor C-025.

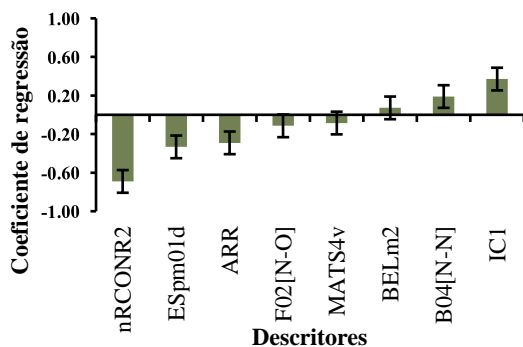


Figura 3 Importância das variáveis para o melhor modelo de QSAR 2D (grupo A).

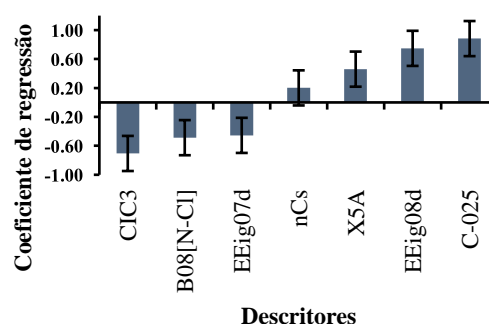


Figura 4 Importância das variáveis para o melhor modelo de QSAR 2D (grupo B).

Em seguida, modelos de QSAR 3D foram então desenvolvidos para investigar o efeito da conformação dos inibidores dentro do sítio. Para essa análise, o complexo cristalográfico

(PDB = 4U0J) foi utilizado por seu ligante co-cristalográfico ter maior similaridade com os inibidores. Na sequência, visando escolher a melhor conformação de cada inibidor, modelos de acoplamento foram realizados no programa Gold. Após as definições prévias, as melhores poses foram então submetidas ao cálculo de descritores 3D e desenvolvimento dos modelos de QSAR 3D por RLM. Os resultados dos dois melhores modelos de cada grupo foram aceitáveis: grupo A, com 8 variáveis obteve $r^2 = 0,74$, $q^2 = 0,68$ e $r^2Ext = 0,65$, ao passo que o grupo B, com 9 variáveis, obteve $r^2 = 0,73$, $q^2 = 0,61$ e $r^2Ext = 0,76$. Estes resultados, apesar de confiáveis, são discretos e abaixo dos resultados do QSAR 2D, sugerindo que o aumento da complexidade não beneficiou a geração de modelos mais robustos ou que o modo de ligação considerado não condiz com a realidade levando a uma interpretação limitada.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os inibidores selecionados mostraram eficácia frente à metodologia proposta. A divisão em dois grupos, via HCA, aprimorou os modelos de RLM. O QSAR 2D apresentou ótimo resultado na relação estrutura-atividade e na previsão de moléculas externas, destacando a influência negativa das amidas terciárias alifáticas no grupo A. Este fato propicia o entendimento de que restrições conformacionais são prejudiciais para a atividade das moléculas do grupo A. Para o grupo B, o descritor “C-025” ressaltou a importância de carbonos terciários em anéis aromáticos. Considera-se, então, que a maior presença de anéis aromáticos favoreça a atividade por propiciar interações pi-pi com o sítio ativo da enzima. Embora os modelos 3D sejam estatisticamente aceitáveis, os modelos 2D oferecem uma relação estrutura-atividade mais robusta e interpretativa.

REFERÊNCIAS

- WHO (2020). Global tuberculosis report 2020. Geneva, World Health Organization.
- RODRIGUEZ, F. *et al.* First triclosan-based macrocyclic inhibitors of InhA enzyme. **Bioorganic Chemistry**, [s. l.], v. 95, p. 103498, 2020.
- AHMADI, S. *et al.* Multicellular target QSAR models for predicting of novel inhibitors against pancreatic cancer by Monte Carlo approach. **Results in Chemistry**, [s. l.], v. 10, p. 101734, 2024.
- DAVIES, M. *et al.* ChEMBL web services: streamlining access to drug discovery data and utilities. **Nucleic Acids Research**, [s. l.], v. 43, n. W1, p. W612–W620, 2015.
- GRAMATICA, P. Principles of QSAR models validation: internal and external. **QSAR & Combinatorial Science**, [s. l.], v. 26, n. 5, p. 694–701, 2007.
- HE, X. *et al.* Pyrrolidine Carboxamides as a Novel Class of Inhibitors of Enoyl Acyl Carrier Protein Reductase from Mycobacterium tuberculosis. **Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 49, n. 21, p. 6308–6323, 2006.