



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 (InhA) 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 Surfflex-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 programa 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).

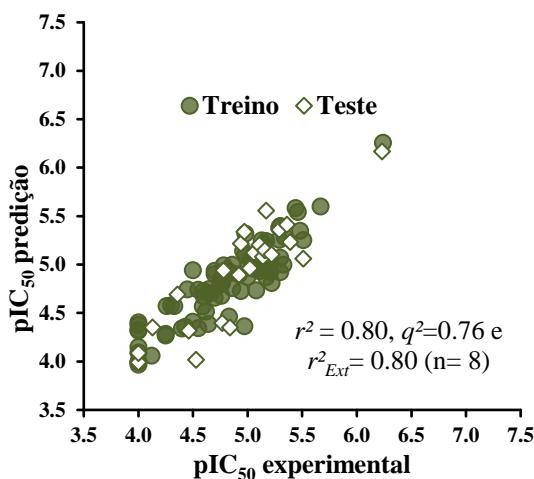


Figura 1 pIC_{50} experimental vs pIC_{50} predito de acordo com o melhor modelo de QSAR 2D (grupo A).

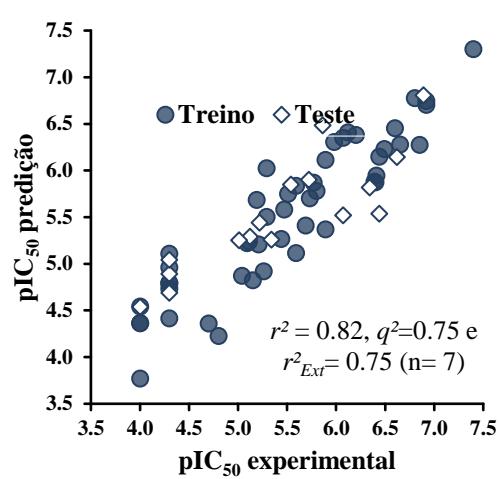


Figura 2 pIC_{50} experimental vs pIC_{50} predito de acordo com o melhor modelo de QSAR 2D (grupo B).

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.

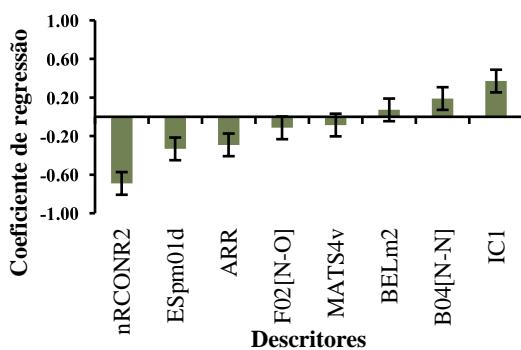


Figura 3 Importância das variáveis para o melhor modelo de QSAR 2D (grupo A).

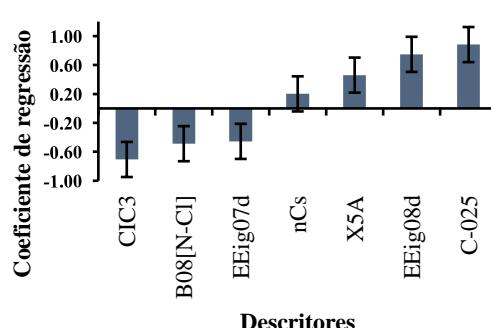


Figura 4 Importância das variáveis para o melhor modelo de QSAR 2D (grupo B).

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.