



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

**IDENTIFICAÇÃO DE NOVOS INIBIDORES DA *Mycobacterium tuberculosis*  
PANTOTENATO SINTETASE POR MÉTODOS *in silico***

**Késsia S. Santos<sup>1</sup>; Manoelito C. Santos Junior<sup>2</sup>**

1. Bolsista PIBIC/FAPESB, Graduando em Farmácia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail:

[20121390@discente.uefs.br](mailto:20121390@discente.uefs.br)

2. Orientador, Laboratório de Modelagem Molecular (LMM), Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [manoelito@uefs.br](mailto:manoelito@uefs.br)

**PALAVRAS-CHAVE:** *Mycobacterium tuberculosis*; *in silico*; pantotenato sintetase.

**INTRODUÇÃO**

A tuberculose (TB) é um desafio global, particularmente em países com condições socioeconômicas desfavoráveis. Causada pelo *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*), a forma pulmonar da doença é a principal responsável pela transmissão. Apesar da eficácia do tratamento recomendado pela OMS, a longa duração e os efeitos adversos frequentemente levam a baixa adesão e ao surgimento de cepas multirresistentes.

Há uma necessidade urgente de novas terapias, especialmente inibidores da biossíntese de pantotenato, essencial para a sobrevivência do *Mtb*. Métodos computacionais para triagem de compostos são promissores para acelerar o desenvolvimento de novos fármacos. A enzima pantotenato sintetase (PS) é um alvo terapêutico chave, e a inibição da PS pode comprometer a virulência do *Mtb*. Este estudo busca identificar moléculas que inibem a PS do *Mtb* por meio de triagens virtuais para desenvolver novos tratamentos contra a TB.

**MATERIAL E MÉTODOS**

**Triagem Virtual Baseada no Ligante (TVBL)**

Quatorze moléculas com atividade biológica foram selecionadas do banco CHEMBL (Mendez *et al.*, 2019), com IC50 < 2,0 μM, para formar um banco de inibidores. Elas foram divididas aleatoriamente em dois grupos: treinamento (n = 10) e teste (n = 4). A conversão para o formato 3D foi realizada com o software OMEGA (Hawkins *et al.*, 2010). Um modelo baseado em forma e volume foi desenvolvido com o vROCS 3.6.0.0 (Hawkins; Skillman; Nicholls, 2007), e o alinhamento das moléculas foi avaliado pelo coeficiente de similaridade TanimotoCombo (TC). Para validar o modelo, moléculas do grupo de teste foram usadas para gerar falsos positivos em uma proporção de 1:50, utilizando o servidor DUD-E. A validação foi feita com a curva ROC no SigmaPlot 12.0, selecionando o modelo com a maior AUC (Área Sob a Curva).

O modelo selecionado foi utilizado para a triagem de moléculas do banco MCULE (Kiss; Sandor; Szalai, 2012). Apenas os compostos com valores de TanimotoCombo

superiores a  $\bar{x} + 2\sigma$ , baseados no grupo teste, foram considerados. As moléculas com alinhamento satisfatório foram, então, escolhidas para a etapa de acoplamento molecular.

### Triagem Virtual Baseada no Receptor (TVBR)

A enzima utilizada neste estudo foi obtida do banco de dados *Protein Data Bank* (PDB) (Berman, 2000) sob o ID 3IUB (Wang; Eisenberg, 2003), sendo selecionada com base em critérios como alta resolução cristalográfica ( $<2 \text{ \AA}$ ) e a presença de um ligante em complexo com a proteína.

Para a triagem estrutural, as moléculas selecionadas foram submetidas ao acoplamento molecular no programa FRED 4.2.1.0 (McGann, 2012). O ligante cristalográfico foi utilizado como referência para delimitar o espaço de acoplamento, e uma caixa de grade com dimensões de  $20 \times 15 \times 20,67 \text{ \AA}$  (volume de  $6200 \text{ \AA}^3$ ) foi construída no Make Receptor 4.2.1.0.

A avaliação dos métodos de acoplamento foi realizada pela análise da curva ROC no SigmaPlot 12.0, utilizando o mesmo conjunto de moléculas de teste e falsos-positivos da triagem baseada em ligantes. A análise considerou a curva ROC e o RMSD das poses cristalográficas. O complexo com a melhor pontuação, considerando os scores Chemgauss4 (CG4) e TanimotoCombo (TC), foi submetido à avaliação no servidor PoseView - Proteins Plus (Schöning-Stierand *et al.*, 2022), a fim de analisar as interações intermoleculares entre os grupos farmacofóricos e os resíduos do sítio de ligação.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

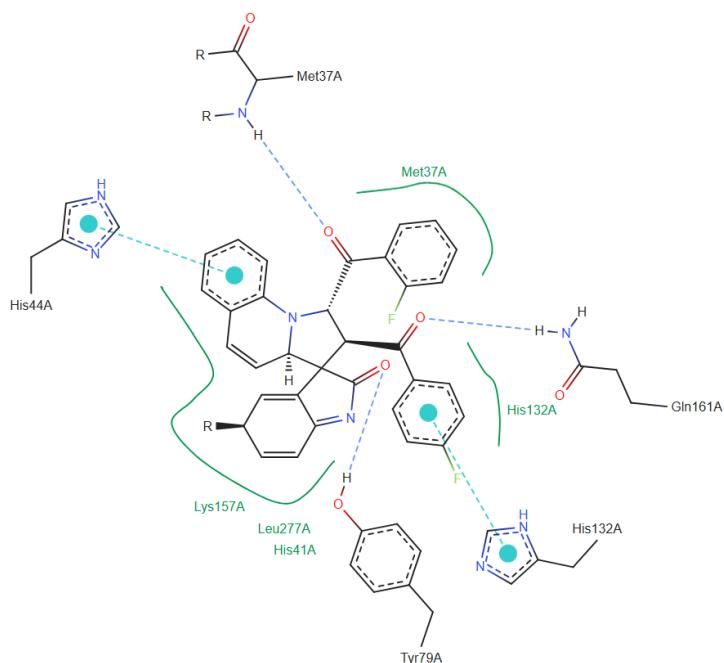
A triagem virtual baseada em ligantes envolveu a criação de modelos farmacofóricos e morfológicos para identificar características comuns em moléculas ativas que se ligam ao alvo biológico (Kothandan *et al.*, 2013). O software vROCS 3.6.0.0 utiliza dados sobre volume, forma, cor e características químicas dos átomos para identificar regiões farmacofóricas, baseando-se no alinhamento das estruturas do grupo de treinamento (Hawkins; Skillman; Nicholls, 2007).

O modelo desenvolvido demonstrou excelente capacidade de discriminação, com uma AUC de 0,97 e um fator de enriquecimento de 0,36 em 2%, evidenciando sua eficácia em distinguir entre moléculas verdadeiramente ativas e falsas (Martinez *et al.*, 2003). O modelo identificou 29 propriedades, incluindo centros doadores e aceptores de hidrogênio, centros catiônicos e anéis. A triagem das moléculas do banco MCULE resultou no alinhamento de 183 compostos entre os 5.899.468 avaliados, com características estéreo-eletrônicas e morfológicas compatíveis com inibidores ativos, apresentando valores de TanimotoCombo (TC) superiores a 0,64.

O RMSD obtido com o FRED 4.2.1.0 foi de  $1,46 \text{ \AA}$ , indicando uma precisão razoável no acoplamento molecular (Batista *et al.*, 2021). Para uma avaliação adicional, foi realizada a análise da curva ROC, na qual o FRED 4.2.1.0 obteve uma AUC = 0,8, indicando um bom desempenho, conforme Martinez *et al.* (2003).

O FRED 4.2.1.0 realiza o acoplamento de moléculas multiconformacionais em um único receptor através. O função de consenso (CG4-TC) foi utilizado para o ranqueamento final. O composto MCULE-7084597246 foi selecionado com um score geral de -9,63.

A análise das interações intermoleculares com MCULE-7084597246 (Figura 1) revelou ligações hidrofóbicas com os resíduos LYS157, LEU277, HIS41, MET37 e HIS132. Dois anéis aromáticos do composto formaram interações  $\pi$ - $\pi$  com os resíduos HIS44 e HIS132, e foram identificadas ligações de hidrogênio do tipo doadora com os resíduos TYR79, GLN161 e MET37. A interação com o HIS44 é particularmente importante, pois este aminoácido é essencial para a ligação de substratos e para a formação e estabilização do pantoil adenilato, intermediário chave na liberação do pantotenato (Amaroju *et al.*, 2020).



**Figura 1.** Perfil de interações intermoleculares da proteína PDB ID 3IUB com o composto MCULE-7084597246. A linha sólida verde representa interações hidrofóbicas, as linhas tracejadas em azul ciano mostram interações entre anéis, e as linhas tracejadas em azul indicam interações de hidrogênio.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A triagem virtual hierárquica identificou o composto MCULE-7084597246 como um candidato promissor devido à sua forte afinidade e capacidade de interação com a pantotenato sintetase. Esses resultados são um avanço significativo na busca por novas terapias para a tuberculose multirresistente.

## REFERÊNCIAS

AMAROJU, S. *et al.* Identification and development of pyrazolo[4,3-c]pyridine carbox-amides as *Mycobacterium tuberculosis* pantothenate synthetase inhibitors. **New Journal of Chemistry**, [s. l.], v. 41, n. 1, p. 347–357, 2017.

BATISTA, V. *et al.* CONSTRUÇÃO, OTIMIZAÇÃO E ANCORAGEM MOLECULAR DE SUBSTÂNCIAS BIOATIVAS EM BIOMACROMOLÉCULAS: UM TUTORIAL PRÁTICO. **Química Nova**, [s. l.], 2021. Disponível em: [http://quimica-nova.sqb.org.br/audiencia\\_pdf.asp?aid2=9375&nomeArquivo=NT2021-0169.pdf](http://quimica-nova.sqb.org.br/audiencia_pdf.asp?aid2=9375&nomeArquivo=NT2021-0169.pdf). Acesso em: 30 ago. 2024.

BERMAN, H. M. The Protein Data Bank. **Nucleic Acids Research**, [s. l.], v. 28, n. 1, p. 235–242, 2000.

MOREIRA, A.; LINEU KRITSKI, A.; CALÇADA CARVALHO, A. C. Social determinants of health and catastrophic costs associated with the diagnosis and treatment of tuberculosis. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, [s. l.], v. 46, n. 5, p. e20200015–e20200015, 2020.

DIAS, F. S. S.; MELO E LIMA, C. Interruption Of The Treatment Of Pulmonary Tuberculosis: Risks For The Individual And For Public Health. **Brazilian Journal of Development**, [s. l.], v. 6, n. 9, p. 70186–70195, 2020.

HAWKINS, P. C. D. *et al.* Conformer Generation with OMEGA: Algorithm and Validation Using High Quality Structures from the Protein Databank and Cambridge Structural Database. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [s. l.], v. 50, n. 4, p. 572–584, 2010.

HAWKINS, P. C. D.; SKILLMAN, A. G.; NICHOLLS, A. Comparison of Shape-Matching and Docking as Virtual Screening Tools. **Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 50, n. 1, p. 74–82, 2007.

KISS, R.; SANDOR, M.; SZALAI, F. A. <http://Mcule.com>: a public web service for drug discovery. **Journal of Cheminformatics**, [s. l.], v. 4, n. S1, p. P17, 1758-2946-4-S1-P17, 2012a.

KOTHANDAN, G. *et al.* A combined 3D QSAR and pharmacophore-based virtual screening for the identification of potent p38 MAP kinase inhibitors: an in silico approach. **Medicinal Chemistry Research**, [s. l.], v. 22, n. 4, p. 1773–1787, 2013.

Marvin Was Used For Drawing, Displaying And Characterizing Chemical Structures, Substructures And Reactions, Marvin 23.12, 2023, Chemaxon (<Http://Www.Chemaxon.Com>). [S. L.: S. N.], [S. D.].

MCGANN, M. FRED Pose Prediction and Virtual Screening Accuracy. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [s. l.], v. 51, n. 3, p. 578–596, 2011.

MENDEZ, D. *et al.* ChEMBL: towards direct deposition of bioassay data. **Nucleic Acids Research**, [s. l.], v. 47, n. D1, p. D930–D940, 2019.

PETTERSEN, E. F. *et al.* UCSF Chimera—A visualization system for exploratory research and analysis. **Journal of Computational Chemistry**, [s. l.], v. 25, n. 13, p. 1605–1612, 2004.

SCHÖNING-STIERAND, K. *et al.* Proteins Plus : a comprehensive collection of web-based molecular modeling tools. **Nucleic Acids Research**, [s. l.], v. 50, n. W1, p. W611–W615, 2022.

WANG, S.; EISENBERG, D. Crystal structures of a pantothenate synthetase from *M. tuberculosis* and its complexes with substrates and a reaction intermediate. **Protein Science**, [s. l.], v. 12, n. 5, p. 1097–1108, 2003.