



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

TRIAGEM VIRTUAL HIERÁQUICA PARA IDENTIFICAÇÃO DE POTENCIAIS INIBIDORES DA BETA-ACETOACIL-ACP SINTASE I DA *Mycobacterium tuberculosis*

Larissa Oliveira Dourado¹; Manoelito Coelho dos Santos Junior²

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

larissaodourado@gmail.com

2. Orientador, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: manoelito@uefs.br

PALAVRAS-CHAVE: Inibidores; KAS I; Triagem Virtual.

INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é uma das doenças mais infecciosas do mundo, mesmo com a redução de 47% da taxa de mortalidade global entre os anos de 1990 e 2015, ainda há lacunas importantes na cobertura e deficiências graves quando se trata do seu diagnóstico e tratamento (MSF, 2020).

Mycobacterium tuberculosis é dependente de ácidos micólicos, componentes essenciais da sua parede celular, que conferem patogenicidade e resistência a antibióticos. A beta-cetoacil-ACP sintase I (KAS I) é uma enzima crucial para a síntese desses ácidos graxos de cadeia longa e, por isso, é considerada um alvo promissor para o desenvolvimento de novos fármacos contra a tuberculose. Inibidores naturais de KAS I, como tiolactomicina, platensimicina e cerulenina, destacam a importância dessa enzima como alvo de antibacterianos (Schiebel *et al*, 2013).

Técnicas computacionais permitem a rápida seleção de moléculas, pois permitem o emprego de características moleculares, físico-químicas e eletrônicas envolvidas no processo de reconhecimento molecular. Desta forma, com o objetivo de identificar moléculas promissoras com a ação sobre a KAS I do *Mycobacterium tuberculosis* (MtbKASI) foram utilizadas técnicas *in silico*, de forma hierárquica, que simulam o comportamento molecular entre o alvo biológico MtbKASI e possíveis ligantes, visando contribuir para o desenvolvimento de novos fármacos contra a tuberculose.

METODOLOGIA

A construção do banco de inibidores (IN) com atividade conhecida frente a KAS I da *Mycobacterium tuberculosis* foi feita através do banco de dados ChEMBL (Gaulton *et al.*, 2017). Foram somente incluídas moléculas com dados de atividade biológica equivalente a Concentração Inibitória Mínima – CIM $\leq 335 \mu\text{M}$. O banco foi dividido em grupo treino (GTR, 60%) e grupo teste (GTE, 40%). As moléculas triadas foram obtidas

no banco de dados virtual ZINC20 (Irwin *et al*, 2020), selecionando-se o sub-banco *in-stock* (BI).

O programa vROCS da *OpenEye Scientific* (Hawkins; Skillman; Nicholls, 2007) foi empregado para construção de modelo baseado na semelhança de forma e suas distribuições de cor ou características químicas. O modelo foi construído utilizando número máximo 5 moléculas do grupo GTR e o TanimotoCombo foi utilizado para a avaliação da sobreposição das moléculas no modelo construído pelo vROCS. A avaliação do modelo do vROCS foi realizada através da análise ROC (*Receiver Operator Characteristic*), empregando-se para isso o banco GTE, o critério avaliado foi AUC (*Area Under curve*) da curva ROC, considerando-se o modelo satisfatório quando a AUC for superior a 0,7 (Polo, Miot, 2020). Toda análise ROC foi calculada na própria interface gráfica do vROCS. O banco BI foi submetido ao alinhamento com o modelo construído pelo vROCS. Somente foram consideradas moléculas com TanimotoCombo superior à média dos valores obtidos pelos inibidores do grupo GTR. Posteriormente, os compostos filtrados foram submetidos a triagem baseada no alvo molecular.

O acoplamento molecular foi realizado no programa FRED 4.2.1. Inicialmente o alvo molecular foi preparado utilizando o utilitário gráfico Make Receptor 4.1.1.0 da *OpenEye Scientific* (EON, 2007). Durante a preparação, foram removidos os artefatos de cristalografia e as moléculas de água. A caixa de acoplamento molecular foi definida com base no posicionamento espacial do ligante cristalográfico, aplicando-se as seguintes dimensões: 11,67 Å x 12,00 Å x 14,00 Å, com um volume de caixa de 1960 Å³ e forma de contorno externo de 663 Å³. Para o ranqueamento das moléculas, foi utilizada a função de pontuação Chemgauss4. O programa Omega 4.2.1.2 da *OpenEye Scientific* (Oeomega, 2007) foi utilizado para produzir as conformações tridimensionais das moléculas submetidas ao acoplamento no FRED.

Os parâmetros de acoplamento molecular foram avaliados usando o cálculo do reacoplamento e a curva ROC. Após o ajuste do método, as moléculas triadas foram submetidas ao acoplamento molecular. Os resultados foram classificados e os compostos de melhor pontuação tiveram suas interações intermoleculares analisadas no servidor PLIP.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A pesquisa na literatura identificou 26 potenciais inibidores, divididos em grupos de treino (16 moléculas) e teste (10 moléculas). Essa divisão considerou a diversidade estrutural e a potência dos compostos.

O programa vROCS gerou o modelo baseado na forma e volume (Ramasamy, Selvam, 2015). A análise ROC permitiu concluir que o modelo baseado na forma e volume possui bom critério de seleção, pois apresentou AUC = 0,71. O modelo apresenta as seguintes características: 12 centros aceptores de ligação de hidrogênio, 2 centros doadores de ligação de hidrogênio, 2 centros aniônicos, 2 centros hidrofóbicos e 5 centros de anéis. Estudos envolvendo inibidores da KAS I descrevem o padrão de interações intermoleculares ocorrendo pela formação de interações de hidrogênio e interações de natureza hidrofóbica devido à grande região hidrofóbica que compõe seu sítio.

Com a definição do modelo baseado na forma e volume, as moléculas do banco BI foram submetidas ao alinhamento com o modelo baseado na forma e volume selecionado.

Somente moléculas com TanimotoCombo ≥ 467 foram submetidas ao acoplamento molecular (Figura 1). A molécula com melhor alinhamento apresentou TC = 588, sendo superior ao encontrado pelas moléculas do grupo teste.

Utilizando o modelo baseado na forma e volume possibilitou reduzir o número de moléculas a serem submetidas ao acoplamento molecular. A análise por acoplamento molecular indicou a molécula 2061452_367 (Chemgauss4 = -14,18) como a melhor ranqueada.

O perfil de interações moleculares entre as moléculas e a KAS I foram majoritariamente de natureza hidrofóbica, um resultado esperado uma vez que seu sítio possui essa característica. Dessa forma, a molécula 206145_367 interagiu com os resíduos Pro206B, Ile202B, Phe239B, Ile347B, Glu199B, Leu116B, Ala119B e Glu120B por meio de interações hidrofóbicas (Figura 3a). A molécula 2497220_51 interagiu através de interações hidrofóbicas com os resíduos Leu116B, Val142A, Ile145A, Pro206B, Phe210B e Phe239B e através de uma ligação de hidrogênio com o Glu120B (Figura 3b). A molécula 20600228_38 apresentou interações hidrofóbicas com os resíduos Leu116B, Val142A e Phe210B (Figura 3c). Por fim, a molécula 2061453_304 apresentou, de forma concomitante, interações hidrofóbicas com os resíduos Leu116B, Val142A, Ile145A, Pro206B, Phe239B e Ile347B (Figura 3d).

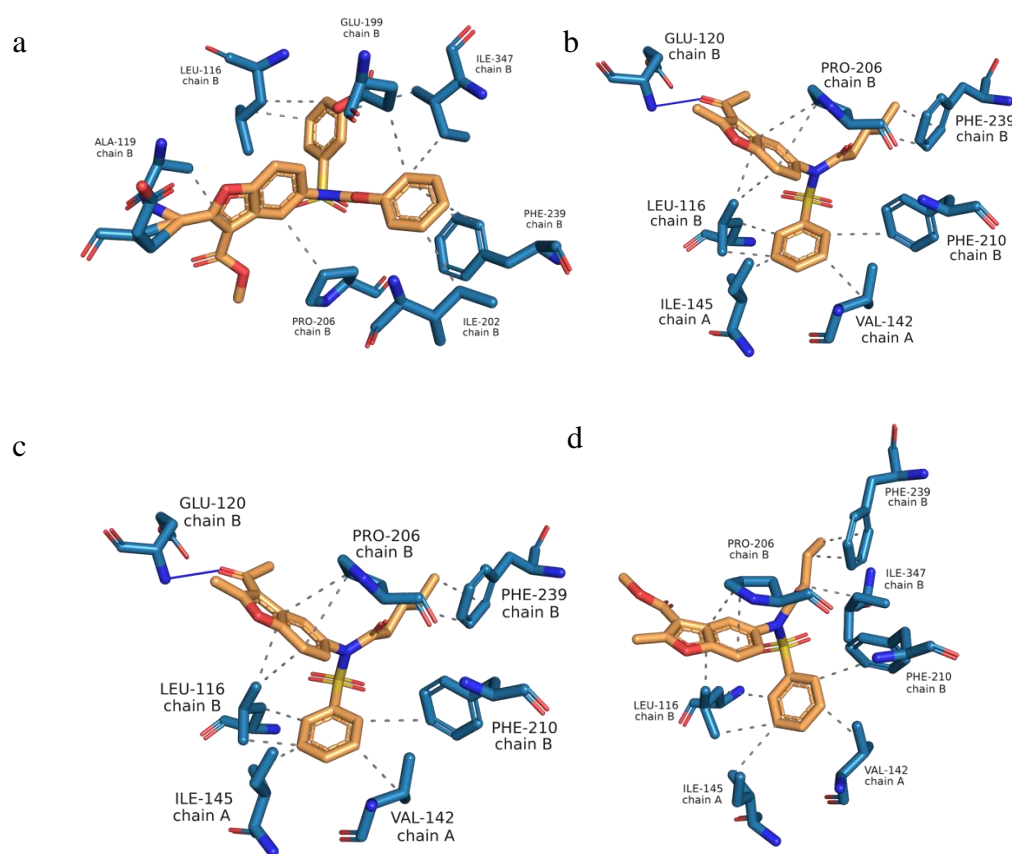


Figura 1: Representação das interações intermoleculares entre os resíduos de aminoácidos da KAS I e moléculas 206145_367 (a), 2497220_51 (b), 20600228_38 (c) e 2061453_304 (d). As moléculas estão representadas em laranja e os resíduos de aminoácidos em azul. Traços cinzas correspondem às interações hidrofóbicas e linhas azuis correspondem a ligações de hidrogênio.

Com base no resultado das interações intermoleculares das 4 melhores substâncias foram analisados os principais aminoácidos envolvidos no reconhecimento molecular com a KAS I (Figura 4). Os resíduos Glu120B, Glu199B, Gly200B, Leu116B, Phe201B e Pro206B foram os mais envolvidos em interações hidrofóbicas com a KAS I. A presença de tais resíduos demonstra o caráter hidrofóbico do sítio ortostérico da KAS I.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A abordagem hierárquica de triagem virtual demonstrou ser eficaz na identificação de um composto promissor, o 206145_367, que apresentou afinidade e capacidade de interação com a KAS I, alvo associado à cepa multirresistente da tuberculose. No entanto, é fundamental que estudos adicionais, bem como ensaios *in vitro* e *in vivo*, para validação da eficácia e segurança da molécula candidata. Por fim, esses resultados indicam um progresso encorajador na busca para novas abordagens terapêuticas para a tuberculose multirresistente.

REFERÊNCIAS

- GAULTON, A. et al. The ChEMBL database in 2017. *Nucleic Acids Research*, v. 45, n. D1, p. D945-D954, 2017.
- IRWIN, et al. *Journal of Chemical Information and Modelling*, 2020. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jcim.0c00675>.
- Hawkins, P.C.; Skillman, A.G.; Nicholls, A. Comparison of Shape-Matching and Docking as Virtual Screening Tools. *J. Med. Chem.* 2007, 50 (1), 74–82. DOI: 10.1021/jm0603365.
- Polo T. C. F., Miot HA. Use of ROC curves in clinical and experimental studies. *J Vasc Bras.* 2020 Dec 11;19:e20200186. doi: 10.1590/1677-5449.200186. PMID: 34211533; PMCID: PMC8218006.
- EON 3.0.0.0. OpenEye, Cadence Molecular Sciences, Santa Fe, NM. Disponível em: <http://www.eyesopen.com>.
- OMEGA 4.2.2.0: OpenEye, Cadence Molecular Sciences, Santa Fe, NM. Disponível em: <http://www.eyesopen.com>.
- RAMASAMY, Thilagavathi; SELVAM, Chelliah. Performance evaluation of structure based and ligand based virtual screening methods on ten selected anti-cancer targets. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, v. 25, n. 20, p. 4632-4636, 2015.
- ABO-ASHOUR, Mahmoud F. et al. Novel indole-thiazolidinone conjugates: Design, synthesis and whole-cell phenotypic evaluation as a novel class of antimicrobial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 160, p. 49-60, 2018.
- SCHIEBEL, Johannes et al. Structural basis for the recognition of mycolic acid precursors by KasA, a condensing enzyme and drug target from *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Biological Chemistry*, v. 288, n. 47, p. 34190-34204, 2013.