

Geração de um Farmacóforo 3D Baseado na Estrutura da InhA de *Mycobacterium tuberculosis* para a Triagem em Larga Escala de Novos Inibidores

Ivani Pauli (PG)^{1,2}, Ricardo Nascimento dos Santos (PG)³, Luiz Augusto Basso (PQ)², Diogenes Santiago Santos (PQ)²
Osmar Norberto de Souza (PQ)^{1,2*}, Rafael V. C. Guido (PQ)³, Adriano D. Andricopulo (PQ)³
*osmar.norberto@pucrs.br

¹Laboratório de Bioinformática, Modelagem e Simulação de Biosistemas - LABIO, Faculdade de Informática, PUCRS; ²Centro de Pesquisas em Biologia Molecular e Funcional - CPBMF, Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Tuberculose – INCT-TB, PUCRS; ³Laboratório de Química Medicinal e Computacional - LQMC, Instituto de Física de São Carlos – IFSC-USP.

Palavras Chave: InhA, Tuberculose, modelo farmacofórico

Introdução

O surgimento de cepas resistentes aos fármacos disponíveis e a coinfeção com HIV/AIDS, vem agravando significativamente o problema mundial da tuberculose (TB). Diante disso, pesquisas para o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas para o tratamento da TB são de extrema relevância e urgência.¹ A enzima InhA (2-trans-enoil-ACP (CoA) Redutase, EC 1.3.1.9) é um alvo validado de *Mycobacterium tuberculosis*, encontrando-se entre os mais bem estabelecidos para o planejamento de novos agentes anti-TB. A InhA é o alvo molecular da isoniazida, um dos principais fármacos indicados para TB.² No presente trabalho foram utilizadas as informações estruturais de 36 complexos cristalinos InhA-inibidor, disponíveis no banco de dados de proteínas (PDB), para estudos de modelagem molecular e geração de um modelo farmacofórico tridimensional (3D). A identificação de farmacóforos, os quais definem as bases estruturais essenciais para o processo de reconhecimento molecular e atividade biológica, representa uma estratégia útil de química medicinal para a integração com métodos avançados baseados na estrutura do receptor, como o ensaio virtual em larga escala.³

Resultados e Discussão

A análise estrutural da InhA em complexo com diversos inibidores ligados ao sítio do substrato identificou resíduos de aminoácidos importantes para o reconhecimento molecular. As informações coletadas guiaram o desenvolvimento de um modelo farmacofórico 3D de quatro pontos baseado na estrutura do alvo e que incorporou: (i) duas regiões favoráveis para interações hidrofóbicas, sendo uma na região da alça de ligação ao substrato, essencial para a inibição e outra próxima às alças A e B; (ii) uma região favorável para interação com grupos doadores ou aceptores de ligação de hidrogênio (cadeia lateral da Tyr158); (iii) uma região favorável para interação com grupos doadores de ligação de hidrogênio próximo aos grupos fosfatos do cofator NADH (Figura 1). O modelo farmacofórico gerado foi avaliado utilizando ferramentas de busca 3D do programa UNITY (plataforma SYBYL 8.0) e um subconjunto de moléculas selecionadas da base de dados ZINC. A pré-seleção de moléculas resultou da aplicação de filtros moleculares 2D que identificaram compostos com características (e.g., $4 < \text{Log}P < 7$; ligações rotacionáveis < 6 ; aceptores de ligação de hidrogênio < 8 ; PSA < 40 ; e $250 < \text{massa molecular} < 400$) favoráveis para interações com o sítio ativo da InhA.

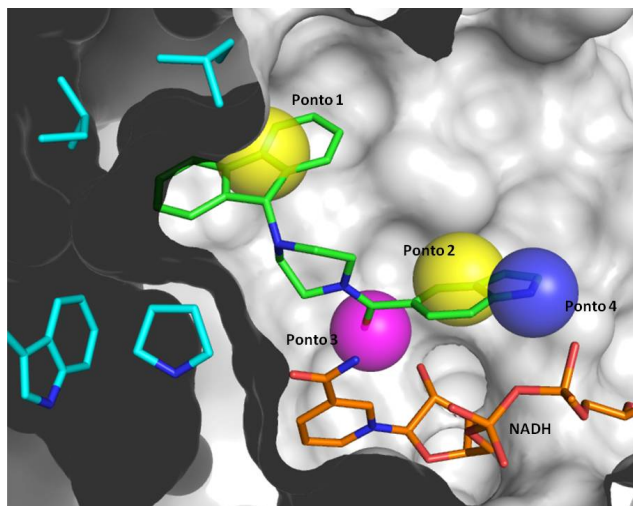


Figura 1. Modelo farmacofórico 3D baseado nas estruturas do receptor e das características de inibidores conhecidos. Amarelo= regiões favoráveis para grupos hidrofóbicos; Magenta = região favorável para grupos doadores ou aceptores de ligação de hidrogênio; Azul = região favorável para grupos doadores de ligação de hidrogênio.

Em etapa posterior, processos de minimizações de energia foram utilizados para validar as conformações que satisfiziam as restrições impostas pelo modelo farmacofórico. Os candidatos a inibidores selecionados (~100.000 das ~1.000.000 de moléculas da base de dados original) apresentaram as quatro características farmacofóricas do modelo.

Conclusões

O modelo farmacofórico gerado é um instrumento importante para uma melhor compreensão das interações intermoleculares predominantes nesse sistema de alta complexidade (complementaridade receptor-ligante), podendo ser útil na integração com técnicas de ensaio virtual e síntese planejada para identificação e obtenção de novos inibidores da InhA de *M. tuberculosis*.

Agradecimentos

CNPq, FAPESP, CAPES

¹ Jain A, Mondal R (2008) *FEMS Immunology and Medicinal Microbiology*, 53, 145-50.

² Agüero F.; Al-Lazikani B, Aslett M, Berriman M, Buckner FS, Campbell R K, Carmona S, Carruthers IM, Chan AWE, Chen F, Crowther GJ, Doyle MA, Hertz-Fowler C, Hopkins AL, McAllister G, Nwaka S, Overington JP, Pain A, Paolini GV, Pieper U, Ralph SA, Riechers A, Roos DS, Sali A, Shanmugam D, Suzuki T, Van Voorhis WC, Verlinde CLMJ (2008) *Nature Reviews in Drug Discovery*, 900-907.

³ Postigo, M. P.; Guido, R. V. C.; Castilho, M. S.; Pitta, I. R.; Albuquerque, J. F. C.; Oliva, G.; Andricopulo, A. D. (2010) *J. Chem. Inf. Model.*, 50, 1693-705.