



-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

XXIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA - 2019

IDENTIFICAÇÃO DE POTENCIAIS INIBIDORES TRIPLOS FRENTE A ACETILCOLINESTERASE, BUTIRILCOLINESTERASE E BETA- SECRETASE 1 POR MODELO FARMACOFÓRICO

**Géssica Oliveira Mendes¹; Moysés Fagundes de Araujo Neto²; Franco Henrique
Andrade Leite³.**

1. Bolsista PIBIC/FAPESB, Graduanda em Farmácia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: gomendes05@gmail.com
2. Mestrando em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: moysesfagundes@gmail.com
3. Orientador, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: fhpharm@gmail.com

PALAVRAS-CHAVE: BACE-1; Colinesterases; Modelos farmacofóricos

INTRODUÇÃO

Doença de Alzheimer (DA) é uma doença neurodegenerativa, responsável por 60 a 70% dos casos de demência no mundo (OMS, 2017). O tratamento disponível para DA é limitado (galantamina, tacrina, rivastigmina e donepezila), ineficaz e sintomatológico, ou seja, não conseguem inibir o processo de neurodegeneração. Por esse motivo, a busca por novas alternativas terapêuticas é emergencial. Uma das formas de alcançar esse objetivo é através da identificação de requisitos estéreo-eletrônicos essenciais para inibir mais de um alvo biológico simultaneamente como acetilcolinesterase (AChE), butirilcolinesterase (BChE) e beta secretase-1 (BACE-1), através da aplicação de modelos farmacofóricos. Dessa forma, o modelo farmacofórico para BACE-1 e o modelo farmacofórico dual (FAPESB Nº BOL 1709/2017) foram utilizados para filtrar as moléculas presentes no catálogo da Sigma, resultando na priorização de quatro moléculas com requisitos essenciais para inibição tripla.

MATERIAL E MÉTODOS

Seleção dos inibidores: 56 inibidores para BACE-1 ($IC_{50} \leq 1000$ nM) foram coletados da literatura (Palakurti; Vadrevu, 2017) e divididos nos conjuntos de geração (n=14) e avaliação (n=42) dos modelos farmacofóricos. As estruturas 2D foram obtidas no programa Marvin® Sketch 15.4.20 (Chemaxon, 2015) e convertidas para o formato 3D na plataforma SYBYL®-X 2.0 (Tripos, 2010). Cargas parciais de Gasteiger-Huckel foram adicionadas e as estruturas minimizadas por gradiente conjugado (critério de convergência = 0,001 Kcal/mol) com campo de força Tripos na plataforma SYBYL®-X 2.0.

Geração dos modelos farmacofóricos: 10 modelos farmacofóricos através de Algoritmo Genético implementado no módulo GALAHAD.

Avaliação dos modelos farmacofóricos: Modelos farmacofóricos sem penalidades estéricas e estatisticamente semelhantes ($ENERGY < 100,00$ Kcal/mol e $PARETO \neq 00$), foram avaliados quanto a habilidade de diferenciar ativos de falsos positivos (*decoys*), com a construção da curva ROC (do inglês, *Receiver Operating Characteristic*) e cálculo da AUC (do inglês, *area under the curve*). O modelo com $AUC > 0,70$ foi selecionado para a etapa de triagem virtual.

Triagem virtual por modelo farmacofórico: O melhor modelo farmacofórico para BACE-1 foi utilizado juntamente com o modelo farmacofórico dual para inibidores de AChE e BChE (FAPESB N° BOL 1709/2017) de forma hierárquica para filtrar as moléculas presentes no catálogo da Sigma disponíveis na plataforma ZINC¹⁵. Essa etapa foi implementada por meio da opção “alinhamento flexível 3D”, disponível no módulo UNITY 3D, a qualidade do alinhamento das moléculas será expressa pelo valor de QFIT que pode variar de 0 a 100.

Aplicação dos filtros físico-químicos e toxicológicos: os quais predizem sobre a absorção e permeabilidade de moléculas por via oral através do número de aceptores de ligação de hidrogênio (≤ 10) e grupos doadores de ligação de hidrogênio (≤ 5), massa molecular (≤ 500 g/mol), coeficiente de partição octanol-água ($clogP$) (≤ 5) e da área de superfície polar (PSA) (≤ 140 angstroms).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A busca por fármacos para DA é crucial para o controle da doença haja vista que não existe tratamento efetivo. Por esse motivo, a aplicação de métodos computacionais baseada em ligantes conhecidos (ex.: modelos farmacofóricos) tem possibilitado uma taxa de enriquecimento superior aos métodos randômicos.

Dez modelos farmacofóricos para BACE-1 foram gerados e após a avaliação dos parâmetros estatísticos internos ($ENERGY < 100,00$ Kcal/mol) apenas seis modelos foram testados quando a taxa de acerto para a identificação de inibidores verdadeiros (Figura 1).

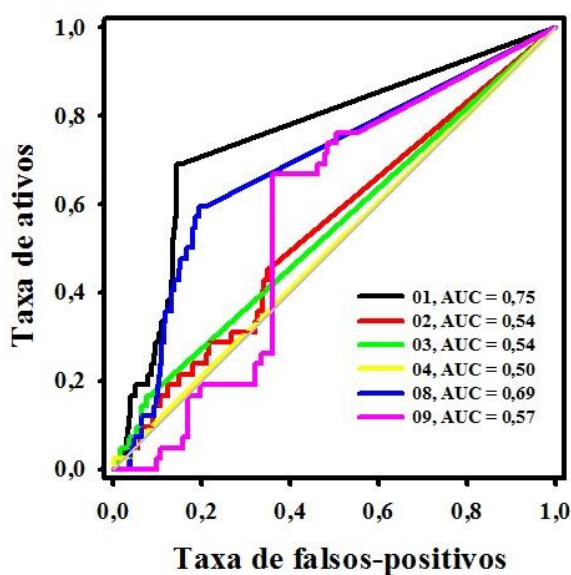


Figura 1: Curva ROC dos modelos farmacofóricos remanescentes alinhados com um banco de moléculas contendo 42 ativos e 2100 decoys (numa proporção de 1:50).

Apenas o modelo 01 foi moderadamente preditivo ($AUC > 0,7$), e, portanto, selecionado para a triagem virtual. Afim de caracterizar o modelo 1, foi feita uma sobreposição do inibidor potente (Figura 2A) e pouco potente (Figura 2B) para a BACE-1 foi realizada.

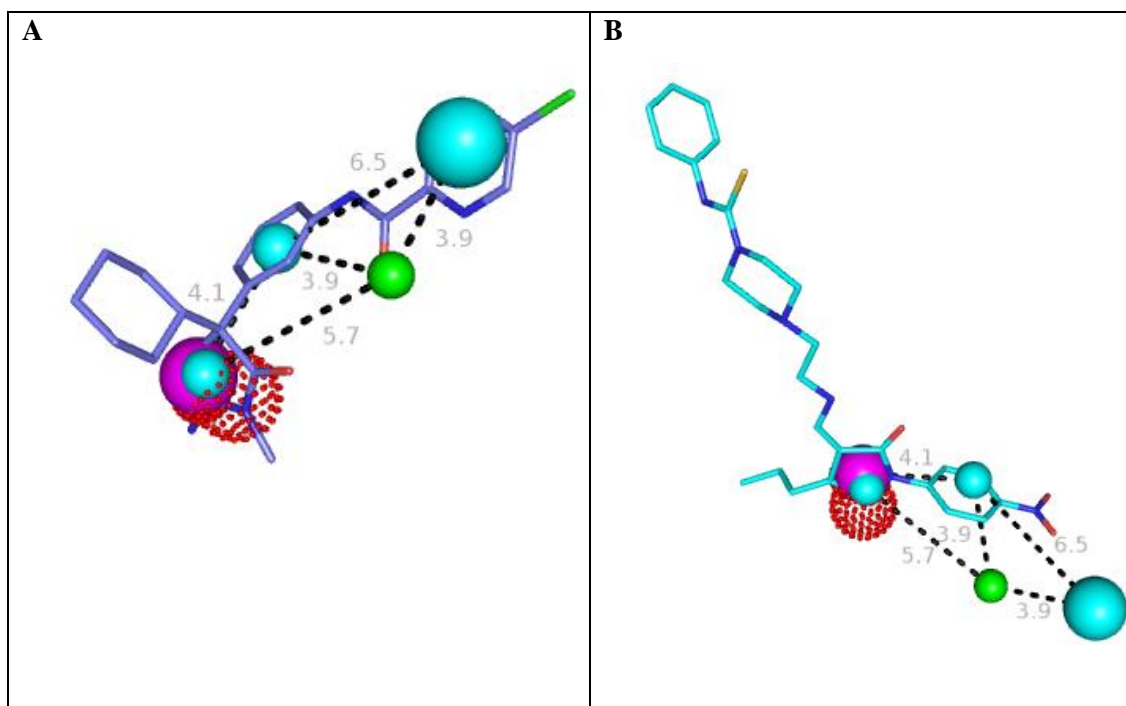


Figura 2: Sobreposição de um inibidor potente (A, $IC_{50} = 7,2$ nM) e um inibidor pouco potente (B, $IC_{50} = 130$ nM) no modelo 01. Esferas em ciano representam centros hidrofóbicos (HY), esferas em vermelho representam centros positivos, esferas em verde os aceptores de hidrogênio (HBA) e esferas magenta representam os doadores de hidrogênio (HBD).

Este modelo possui sete características, sendo elas, um centro doador de hidrogênio (HBD), um centro aceitador de ligação de hidrogênio (HBA), dois centros positivos (NP) e três centros hidrofóbicos (HY). Dessa forma, as características de centros hidrofóbicos e positivo, doador de átomos são requisitos essenciais para a inibição da BACE-1 (PRATI, 2017), enquanto a característica do centro aceitador está relacionada a inibidores potentes, o que é mostrado na imagem. Enquanto que na sobreposição do inibidor fraco é observado um alinhamento parcial da estrutura com o modelo.

214.446 moléculas do banco da Sigma-Aldrich foram alinhadas ao modelo selecionado da BACE-1, das quais 14.273 moléculas possuíam requisitos parciais ($QFIT > 0$) frente a este modelo. Em seguida as moléculas remanescentes foram alinhadas pelo modelo farmacofórico dual para inibidores de AChE e BChE previamente construídos (FAPESB N° BOL 1709/2017), onde foi aplicada uma métrica, a média dos valores de QFIT somada mais duas vezes o seu desvio padrão ($M + 2x DESVPAD$), das quais 78 moléculas foram selecionadas por possuírem $QFIT > 75,09$ frente ao modelo dual. Com base no melhor valor de sobreposição dos *decoys* da BACE-1 ($QFIT > 42,07553$), 4 moléculas foram selecionadas por possuir requisitos para reconhecimento pelos modelos BACE-1 ($QFIT > 42,07553$) e DUAL ($QFIT > 75,09$).

No entanto, a presença de requisitos para a inibição não garante que as moléculas possuirão propriedades físico-químicas para alcançar o alvo e/ou

biodisponibilidade pela via oral e também avaliação da capacidade de predição de toxicidade. Portanto, foram calculados os principais descritores físico-químicos e toxicológico (para avaliar o potencial mutagênico).

Tabela 01: Filtragem físico-químicos e toxicológicos

Molécula	PM	DLH	ALH	Log P	ASP	Lig Rot	DLH + ALH	AMES
ZINC71776126	481,77	0	5	6,712	198,796	2	5	NÃO
ZINC71776125	481,77	0	5	6,712	198,796	2	5	NÃO
ZINC71776124	481,77	0	5	6,712	198,796	2	5	NÃO
ZINC71776123	481,77	0	5	6,712	198,796	2	5	NÃO

Legenda: PM = peso molecular; DLH = doador de ligação de hidrogênio; ALH = aceitador de ligação de hidrogênio; Log P = coeficiente de partição octanol-água; ASP = Área de superfície polar; AMES = Potencial mutagênico

Nesta perspectiva, as estruturas ZINC71776126, ZINC71776125, ZINC71776124, ZINC71776123, apesar de sofrerem penalidades com $\text{Log P} > 5$, não foram descartadas, dados na literatura mostram que 6% dos fármacos mesmo não obedecendo à regra são biodisponíveis. Foram selecionadas no estudo, por possuírem os requisitos estereo eletrônicos frente aos modelos da BACE-1 e da AChE e BChE, portanto, devem ser priorizadas em ensaios subsequentes do desenvolvimento racional de fármacos como os estudos baseado no receptor (ex.: acoplamento molecular).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização do alinhamento molecular flexível pelo módulo GALAHAD foi capaz de identificar os requisitos farmacofóricos como relacionados ao reconhecimento pelo alvo, e também as características que predizem a potência do inibidor, que são fundamentais para o reconhecimento de moléculas potentes frente a BACE-1. Dessa forma, a triagem virtual permitiu a filtragem de quatro moléculas com os requisitos essenciais de atividade biológica e potência frente ao alvo molecular e também a AChE e BChE. O emprego do ensaio por similaridade química despertou a perspectiva de identificação novos quimiotipos bioativos frente aos três alvos moleculares, contribuindo para a descoberta de moléculas com atividades para a DA.

REFERÊNCIAS

- CHEMAXON. **Marvin Sketch** version 15.4.20: ChemAxon, 2015.
- MYSINGER, M. M. et al. DUD Enhanced – better ligands and decoys for better benchmarking. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 55, p. 6582–6594, 2012.
- OMS – Organização Mundial da Saúde. **Demencia**. [S. l.] OMS, 2017. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs362/es/>>. Acesso em: 23 mar 2018.
- PALAKURTI, R.; VADREVU, R. Pharmacophore based 3D-QSAR modeling, virtual screening and docking for identification of potential inhibitors of B-secretase. **Computational Biology and Chemistry**. v. 68, p. 107-117, 2017.
- PRATI, F., et al. BACE-1 Inhibitors: From Recent Single-Target Molecules to Multitarget Compounds for Alzheimer's Disease. **Journal of Medicinal Chemistry**. v. 61, p. 619-637, 2017
- TRIPOS. **SYBYL-X 2.0**, St Louis, MO, USA, p. 190, 2010.