



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

XXIV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2020

CONSTRUÇÃO DE MODELO FARMACOFÓRICO PARA SELEÇÃO DE POTENCIAIS INIBIDORES DUAIS FRENTE A PTERIDINA REDUTASE 1 E DIIDROFOLATO REDUTASE-TIMIDILATO SINTASE DE *Leishmania major*

**Quézia Lorraine dos Santos Sampaio¹; Géssica Oliveira Mendes²; Franco
Henrique Andrade Leite³**

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

PALAVRAS-CHAVE: Modelo farmacofórico; Pteridina Redutase 1; Diidrofolato Redutase-Timidilato Sintase.

INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma zoonose causada pelo protozoário do gênero *Leishmania*. De acordo com a Organização Mundial da Saúde estima-se que 700.000 a 1 milhão de novos casos e cerca de 26.000 a 65.000 mortes ocorrem anualmente. Apesar dos dados epidemiológicos, sua terapia farmacológica é limitada e eficácia espécie dependente, além de contar com fármacos *off-label* (desenvolvidos para outras finalidades). Por esse motivo, a busca por novas alternativas para o tratamento de pacientes com leishmaniose é emergencial. Uma das estratégias para alcançar esse objetivo é a identificação de requisitos estereo-eletrônicos essenciais para inibição de mais de um alvo biológico exclusivo e/ou essencial ao parasito, como como Pteridina redutase 1 (PTR1) e Diidrofolato redutase-timidilato sintase (DHFR-TS), através da aplicação de modelos farmacofóricos. O modelo farmacofórico dual foi utilizado para filtrar as moléculas presentes no catálogo da Sigma (n= 214.446 moléculas) disponível na plataforma ZINC15. Adicionalmente, filtros físico-químicos/toxicológicos e disponibilidade comercial foram aplicados as moléculas remanescentes. A aplicação desses filtros resultou na priorização de cinco moléculas com requisitos essenciais para inibição dual, potencial biodisponibilidade por via oral e disponível para testes biológicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Um conjunto de 19 inibidores duais frente PTR1 e DHFR-TS ($IC_{50} \leq 50 \mu M$) foram coletados da literatura (Hardy et al., 1997; Cavazzuti et al., 2008) e divididos nos conjuntos de treinamento (n=5) e teste (n=14) para a geração e validação, respectivamente. As estruturas 2D foram obtidas no programa Marvin® Sketch 20.16 (Chemaxon, 2020) e convertidas para o formato 3D na plataforma SYBYL®-X 2.0 (Tripos, 2010). Cargas parciais de Gaisteiger-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.

A seguir, 10 modelos farmacofóricos foram gerados através do Algoritmo Genético conforme parâmetros padrão, com o auxílio do módulo GALAHAD implementado no programa SYBYL-X 2.0.

Modelos farmacofóricos sem penalidades estereas e estatisticamente semelhantes (ENERGY < 100,00 Kcal/mol e PARETO = 0,0), 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*). Por fim, o somatório dos parâmetros estatísticos internos obtidos por GALAHAD (STERICS, H_bond e MOL_qry) dos modelos farmacofóricos remanescentes foram calculados para a seleção do melhor modelo farmacofórico.

O melhor modelo farmacofórico dual foi utilizado para filtrar as moléculas presentes no catálogo da Sigma-Aldrich disponíveis na plataforma ZINC15. A qualidade do alinhamento das moléculas foi expressa pelo valor de QFIT (0 a 100).

Por fim, as moléculas remanescente da filtragem foram avaliadas quanto ao potencial de absorção por via oral através dos descritores constantes na regra de Lipinski e Veber (Lipinski, 1997; Veber et al., 2002): 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), além do parâmetro mutagênico (teste de AMES) e disponibilidade comercial.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A busca por fármacos para tratar pacientes com leishmaniose é emergencial para o controle da doença visto que os fármacos existentes são altamente tóxicos e eficácia variável. A aplicação de métodos computacionais baseada em ligantes conhecidos tem possibilitado uma taxa de enriquecimento superior aos métodos randômicos para identificar moléculas com atividade antiparasitária (Leite, 2019).

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

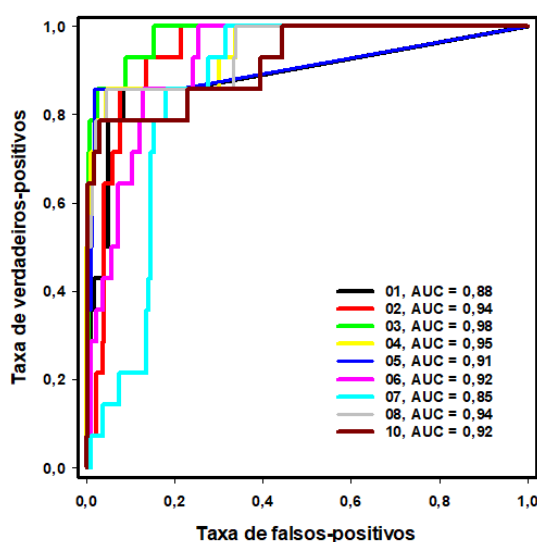
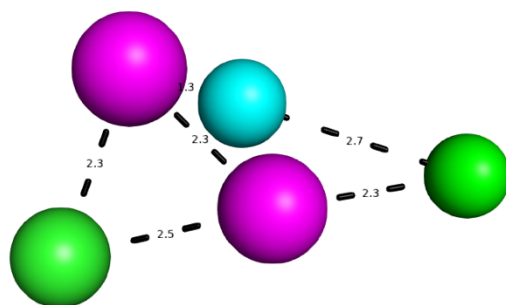


Figura 1: Curva ROC dos modelos farmacofóricos remanescentes

Todos os modelos possuem valores moderadamente preditivo ($AUC > 0,7$), portanto, utilizou-se a somatória dos parâmetros estatísticos internos obtidos pelo GALAHAD (STERICS, H_bond e MOL_qry) dos modelos farmacofóricos remanescentes. O modelo farmacofórico dual 03 foi selecionado pois obteve um valor elevado na somatória desses parâmetros, além de atender os critérios anteriores ($E < 100,0$ kcal/mol; PARETO=0 e $AUC=0,98$) (Figura 2).

Figura 2: Modelo farmacofórico 03. Esferas magenta representam os aceitadores de hidrogênio (HBA), esferas verdes representam os doadores de hidrogênio (HBD) e a esfera em ciano representa centro hidrofóbico.



Este modelo possui cinco características: dois grupos aceitadores de ligação de hidrogênio (HBA), dois grupos doadores de ligação de hidrogênio (HBD) e um centro hidrofóbico (HY). Estas características já foram identificadas em moléculas presentes em diferentes pesquisas frente aos alvos (Kapil et al., 2019; Cavazzuti et al., 2008;), o que corrobora os dados encontrados para a atividade de inibição frente a PTR1 e DHFR-TS.

As moléculas do banco Sigma-Aldrich (214.446 moléculas) foram alinhadas ao modelo dual selecionado, das quais 10.645 moléculas possuíam requisitos parciais ($QFIT > 0$). Em seguida aplicou-se então uma métrica, a média dos valores de $QFIT$ somada mais duas vezes desvio padrão ($M + 2x DESVPAD$) para definir um ponto de corte, resultando em 705 moléculas com $QFIT > 48,63$. Contudo, 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).

Com base nos alinhamentos realizados e a aplicação dos filtros físico-químicos e toxicológicos, cinco moléculas foram selecionadas (Tabela 1).

Tabela 1: Filtros físico-químicos e toxicológicos. MM = massa 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; LR = Ligações rotacionáveis; AMES = Potencial mutagênico.

Molécula	MM (g/mol)	DLH	ALH	Log P	ASP(Å ²)	LR	DLH + ALH	AMES
ZINC00089331	255,20	2	5	2,22	76,00	2	7	Negativo
ZINC00121605	303,67	2	5	2,73	76,00	3	7	Negativo
ZINC00394205	139,16	1	5	-0,48	67,00	1	6	Negativo
ZINC01691429	322,36	2	6	1,12	102,00	5	8	Negativo
ZINC02043937	322,36	2	6	1,12	102,00	5	8	Negativo

Nesta perspectiva, ZINC00089331, ZINC00121605, ZINC00394205, ZINC01691429 e ZINC02043937 foram selecionadas no estudo, por possuírem os requisitos estereo eletrônicos frente a PTR-1 e DHFR-TS, sendo assim, devem ser priorizadas em ensaios subsequentes do desenvolvimento racional de fármacos como os estudos baseado no receptor, como por exemplo, estudos de acoplamento molecular.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a utilização do alinhamento molecular flexível pelo módulo GALAHAD, foi possível identificar os requisitos farmacofóricos para inibidores duais frente a Pteridina Redutase 1 (PTR1) e Dihidrofolato redutase-timidilato sintase (DHFR-TS) de *Leishmania major*. Adicionalmente, a triagem virtual possibilitou a filtragem de cinco moléculas com os requisitos essenciais de atividade biológica e potência frente aos dois alvos.

REFERÊNCIAS

- CAVAZZUTI, A. Discovery of potent pteridine reductase inhibitors to guide antiparasite drug development. PNAS, San Francisco, CA, v. 105, n. 5, p.1448-1453, 5 fev. 2008.
- CHEMAXON. Marvin Sketch version 20.16: ChemAxon, 2020.
- HARDY, L. W., et al. Biochemical and genetic tests for inhibitors of *Leishmania* pteridine pathways. Experimental parasitology. v. 87. p. 157-169, 1997.
- KAPIL, S., et al. Structure based designing of benzimidazole/benzoxazole derivatives as anti-leishmanial agents. SAR and QSAR in Environmental Research. v. 30. p. 919-933, 2019.
- LEITE, F. H. A. Planejamento e avaliação de novos inibidores de Pteridina Redutase 1 em *Leishmania major*. 2019. 17 f. Projeto de Pesquisa - Curso de Farmácia, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2019.
- LIPINSKI, C. A., et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. Adv. Drug Deliv. Rev. v. 23. p. 3-26, 1997.
- TRIPOS. SYBYL-X 2.0, St Louis, MO, USA, p. 190,2010.
- VEBER et al. Molecular Properties That Influence the oral bioavailability of Drug Candidates. J. Med. Chem. v. 45. 2002.
- OMS - Organização Mundial da Saúde. Leishmaniase. 2018. Disponível em: <<https://www.who.int/newsroom/fact-sheets/detail/leishmaniasis>>. Acesso em: 08 ago. 2020.