

TRIAGEM *IN SILICO* DE COMPOSTOS DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO COMO POTENCIAIS INIBIDORES DA SUBUNIDADE 50S RIBOSSOMAL BACTERIANA

Daniele Osório Meira Brito¹, Danyo Maia Lima², Gildomar Lima Valasques Júnior³

RESUMO

O ribossomo bacteriano é um alvo comum para o desenvolvimento de antibacterianos. Com isso, torna-se interessante a busca por novos medicamentos com potencial interação com a subunidade 50S ribossomal, tendo-se a triagem virtual como uma ferramenta viável para tal descoberta. Portanto, o objetivo desse estudo é identificar e avaliar compostos do semiárido brasileiro com potencial antibacteriano com ação sobre a subunidade 50s ribossomal por meio do acoplamento molecular. A seleção da subunidade 50S ribossomal foi realizada no banco de dados de estrutura 3D, Protein Data Bank- PDB. Foram utilizadas um total de 509 moléculas do semiárido disponíveis no banco de dados ZINC, pela Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS). O docking molecular foi realizado utilizando o Autodock Vina e as nuvens de interações foram analisadas pelo Discovery Studio Visualizer. O software BIOVIA Discovery Studio foi usado para pesquisar os tipos de ligação envolvidos nas interações. Dentre as estruturas correspondentes a subunidade 50s ribossomal presentes no banco de dados PDB - Protein Data Bank foi selecionada a codificada PDB 6 DDD com resolução de 3.10 Å. A energia de ligação resultante da interação entre a estrutura cristalizada da subunidade 50s e linezolina foi igual a -8,3 Kcal.mol⁻¹. Na triagem *in silico* realizada, avaliou-se 509 moléculas do semiárido baiano (banco ZINC-UEFS), e destas a molécula ZINC 69482135 apresentou interações mais favoráveis, com energia de ligação equivalente a -11,1 Kcal.mol⁻¹, assim como, mostrou semelhanças com a linezolina em relação a sua interação com resíduos de rRNA, apresentando uma maior prevalência de interações do tipo ligações de hidrogênio.

PALAVRAS-CHAVE: Antibacterianos, Ribossomos, Produtos Biológicos, Simulação por Computador.

-
1. Graduanda de Farmácia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Jequié, BA, Brasil.
 2. Professor Adjunto da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Jequié, BA, Brasil.
 3. Professor Titular da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Jequié, BA, Brasil.

IN SILICO SCREENING OF COMPOUNDS FROM THE BRAZILIAN SEMI-ARID AS POTENTIAL INHIBITORS OF BACTERIAL RIBOSSOMAL 50S SUBUNIT

ABSTRACT

The bacterial ribosome is a common target for antibacterial development. Therefore, the search for new drugs with potential interaction with the 50S ribosomal subunit becomes interesting, with virtual screening being a viable tool for such discovery. Therefore, the objective of this study is to identify and evaluate compounds from the Brazilian semiarid region with antibacterial potential and acting on the 50s ribosomal subunit through molecular coupling. The selection of the 50S ribosomal subunit was carried out in the 3D structure database, Protein Data Bank- PDB. A total of 509 semi-arid molecules available in the ZINC database, by the State University of Feira de Santana (UEFS), were used. Molecular docking was performed using Autodock Vina and interaction clouds were analyzed by Discovery Studio Visualizer. BIOVIA Discovery Studio software was used to research the types of bonds involved in the interactions. Among the structures corresponding to the 50s ribosomal subunit present in the PDB - Protein Data Bank database, the one encoded PDB 6 DDD with a resolution of 3.10 Å was selected. The binding energy resulting from the interaction between the crystallized structure of the 50s subunit and linezolin was equal to -8.3 Kcal.mol⁻¹. In the in silico screening carried out, 509 molecules from the semi-arid region of Bahia (ZINC-UEFS bank) were evaluated, and of these, the ZINC 69482135 molecule showed more favorable interactions, with a binding energy equivalent to -11.1 Kcal.mol⁻¹, as well as , showed similarities with linezolin in relation to its interaction with rRNA residues, showing a greater prevalence of hydrogen bond interactions.

KEYWORDS: Antibacterials, Ribosomes, Biological Products, Computer Simulation.

INTRODUÇÃO

A resistência bacteriana aos antimicrobianos configura-se como um problema multifatorial com implicações tanto microbiológicas e terapêuticas quanto epidemiológicas e de saúde pública (SCHERER; BOTONI, COSTA-VAL, 2016). Essa problemática advém do fato de que o tratamento das infecções bacterianas com antibióticos tem sido fortemente comprometido devido à evolução de fenótipos resistentes aos antimicrobianos (GIULIERI et al., 2018), formando-se assim as bactérias multirresistentes (BMR), atrelado à escassez de novos antimicrobianos em investigação (BOUCHER et al., 2009; ZHANEL et al., 2008).

Entretanto, baixos índices de resistência foram encontrados estando associados a mutações no RNA ribossomal (QUEIROZ et al., 2012). Com isso, o ribossomo bacteriano é considerado um alvo comum para o desenvolvimento de antimicrobianos (POEHLGAARD; DOUTHWAITE, 2005), sendo um desses alvos terapêuticos a subunidade 50S ribossomal (GOLAN, et al., 2014).

Um dos meios comumente utilizado para a descoberta de novos fármacos, é através do emprego de métodos computacionais para o reconhecimento a nível molecular da interação proteína-ligante, dado que estas ferramentas permitem analisar moléculas capazes de se ligar a determinados sítios receptores, proporcionando assim, diminuição de tempo e custo, variáveis importantes que estão relacionados no processo de desenvolvimento de novos medicamentos (MORGON; COUTINHO, 2007).

Assim sendo, torna-se interessante a busca por novos medicamentos com potencial interação com a subunidade 50S ribossomal, tendo-se a triagem virtual como uma ferramenta viável para tal descoberta. Portanto, o objetivo desse estudo é identificar e avaliar compostos do semiárido brasileiro com potencial antibacteriano com ação sobre a subunidade 50s ribossomal por meio do acoplamento molecular.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foi selecionado o alvo terapêutico, a subunidade 50S ribossomal. Após, foi realizada por meio de pesquisa no banco de dados de estrutura 3D, Protein Data Bank – PDB, a sua estrutura. Para tanto, considerou-se a presença de um ligante inibidor desse alvo, a linezolina.

A preparação do alvo terapêutico foi realizada utilizando-se o programa AutodockTools 4.2. Por intermédio dele foi possível preparar uma estrutura tridimensional da subunidade 50S ribossomal, a qual foi convertida de PDB 2W9G em formato PDBQT. Ademais, esse programa também foi utilizado para determinar como coordenar o espaço de busca da localização ativa do receptor. Através da caixa de grade, as coordenadas do espaço de pesquisa foram aplicadas no espaço de 1 Å.

Para seleção das moléculas do semiárido, utilizou-se 509 moléculas do banco de dados de produtos naturais ZINC fornecido pela Universidade Estadual de Feira de Santana. Como essas moléculas estavam no formato .mol2, foram convertidas para o formato pdbqt usando o programa Autodock versão 4.2.

Para a identificação das interações entre a subunidade 50S ribossomal realizou-se o acoplamento molecular utilizando-se o Autodock Vina. Os resultados foram observados no prompt de comando do computador. Juntamente com as nuvens de interações pelo programa Discovery Studio Visualizer.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre as estruturas correspondentes a subunidade 50s ribossomal presentes no banco de dados PDB - Protein Data Bank foi selecionada a codificada PDB 6 DDD com resolução de 3.10 Å. A caixa de âncora para selecionar uma posição espacial do local de conexão tem 211.117, 197.207 e 208.998 coordenadas X, Y e Z, respectivamente, e dimensões de 12 x 14 x 14 Å.

O ligante inibidor da subunidade 50S ribossomal, linezolina, foi usado como um protótipo para relacionar os resultados. A escolha desse inibidor, baseou-se no fato do mesmo ser amplamente utilizado para o tratamento de infecções causadas por resistência bacteriana a antibióticos (PATRICK, 2005; BOZGOGAN; APPELBAUM, 2004). A energia de ligação resultante da interação entre a estrutura cristalizada da subunidade 50s e linezolina foi igual a -8,3 Kcal.mol⁻¹, uma energia considerada de baixa ligação indicando, dessa forma, que o receptor está ancorado com seu ligante de forma estável e favorável (FARHADI, et al., 2020).

A interação entre uma proteína e um determinado ligante são dados por interações intermoleculares (GURYANOV, FIORUCCI, TENNIKOVA, 2016). Com relação as interações envolvidas entre o ribossomo 50S PDB 6DDD com a linezolina, observou-se a maior predominância de interações do tipo ligações de hidrogênio (Figura 1).

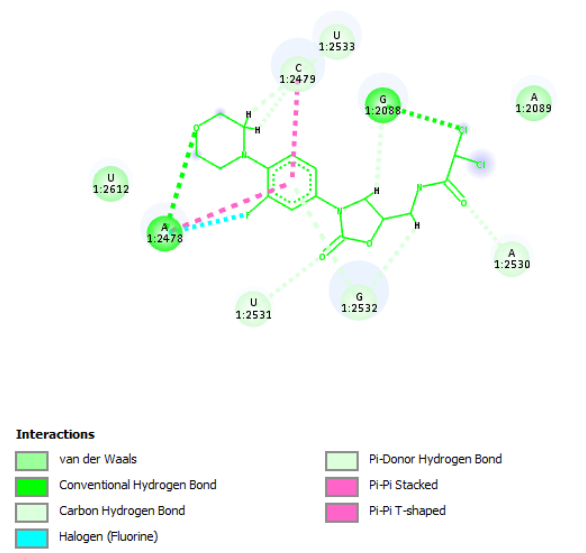


Figura 1. Interações envolvidas entre o ribossomo 50S PDB 6DDD com a linezolina

Na triagem *in silico* realizada, avaliou-se 509 moléculas do semiárido baiano (banco ZINC-UEFS), e destas a molécula ZINC 69482135 apresentou interações mais favoráveis, com energia de ligação equivalente a -11,1 Kcal.mol⁻¹, com o ribossomo 50S PDB 6DDD, assim como, mostrou semelhanças com a linezolina em relação a sua

interação com o rRNA (Figura 2), apresentando uma maior prevalência de interações do tipo ligações de hidrogênio. Dessa forma, essa interação favorável pode ser explicada devido a grande estabilização proveniente de ligação hidrogênio intramolecular existe entre a proteína e o ligante estudado (GUIMARÃES, 2012).

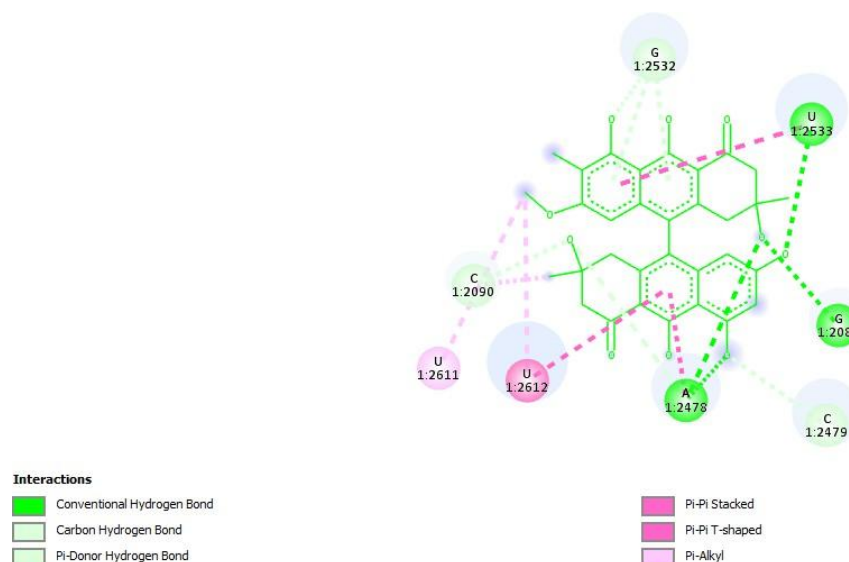


Figura 2. Interações envolvidas entre o ribossomo 50S PDB 6DDD com a a molécula ZINC 69482135

CONCLUSÕES/CONSIDERAÇÕES

A molécula ZINC 69482135 pode ser considerada uma valiosa candidata com um potencial inibidor da subunidade 5S ribossomal. Análises das interações envolvidas no complexo ligante-receptor demonstrou que interações tipo ligações de hidrogênio, seguidos de ligações de hidrogênio convencionais, são importantes para o acoplamento da molécula no sitio ativo da subunidade 5S ribossomal. Contudo, testes *in vitro* são necessários para determinar a toxicidade e segurança do potencial medicamento.

AGRADECIMENTOS



PPG
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Gerência de Pesquisa e Inovação - GPI



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOUCHER, H.W *et al.* **Bad bugs, no drugs: no ESKAPE!** An update from the Infectious Diseases Society of America. 48. ed. Inglaterra: Clin Infect Dis, 2009.

BOZDOGAN, B.; APPELBAUM, P. C. **Oxazolidinones:** activity, mode of action, and mechanism of resistance. 23. ed. Austrália: Int. J. Antimicrob. Ag, 2004.

FARHADI, Z *et al.* **Virtual screening for potential inhibitors of β (1, 3)-D-glucan synthase as drug candidates against fungal cell wall.** 1. ed. Londres: Journal of drug assessment, 2020.

GIULIERI, S.G *et al.* **Genomic exploration of sequential clinical isolates reveals a distinctive molecular signature of persistent *Staphylococcus aureus* bacteraemia.** 10. ed. Londres: Genome Med, 2018.

GOLAN, D. E. *et al.* **Princípios de Farmacologia.** A base fisiopatológica da farmacologia. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.

GUIMARÃES, C. R. W. **As Múltiplas Contribuições para a Complexação Proteína-Ligante:** Consequências em Drug Design. 4. ed. Rio de Janeiro: Rev. Virtual Quim, 2012.

GURYANOV, I; FIORUCCI, S; TENNIKOVA, T. **Receptor-ligand interactions:** Advanced biomedical applications. 68. ed. Amesterdã: Materials Science and Engineering C, 2016.

MORGON, N. H.; COUTINHO, K. **Métodos de Química Teórica e Modelagem Molecular.** São Paulo: Livraria da Física, 2007.

PATRICK, G. L. **An Introduction to Medicinal Chemistry.** cap. 14. Oxford University Press: New York, 2005. Patrick, G. L. An Introduction to Medicinal Chemistry. Cap 10. Oxford University Press: New York, 1995.

POEHLGAARD, J.; DOUTHWAITE. S. **The bacterial ribosome as a target for antibiotics**. 3 ed. Dinamarca: Nat. Rev. Microbiol, 2005.

QUEIROZ, G.M *et al.* **Microbial multiresistance and available therapeutic options**. 2. ed. Rio de Janeiro: Rev Bras Clin Med, 2012.

SCHERER, C.B, BOTONI, S.L, COSTA-VAL, A.P. **Mecanismos de ação de antimicrobianos e resistência bacteriana**. 13. ed. Curitiba: Medvep Dermato, 2016.

ZHANEL, G.G *et al.* **Antimicrobial-Resistant Pathogens in Intensive Care Units in Canada: Results of the Canadian National Intensive Care Unit (CAN-ICU) Study, 2005-2006**. 52. ed. Inglaterra: Antimicrob Agents Chemother, 2008.