



PROSPECÇÃO BIOQUIMIOINFORMÁTICA DE ANÁLOGOS DE TETRACICLINA COMO POTENCIAIS INIBIDORES DA TIMIDILATO QUINASE COM ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Luciane B. Silva^{1,2}; Joaquín M. Campos³; Cleydson B. R. dos Santos^{1,2}.

¹ Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Biodiversidade-Rede BIONORTE, UNIFAP, 68903-419, Macapá – Amapá, Brasil.

² Laboratório de Modelagem e Química Computacional, Universidade Federal do Amapá, Rod. JK, KM 02, Macapá – Amapá, Brasil.

³ Departamento de Química Orgânica Farmacêutica, Faculdade de Farmácia, Campus da Cartuja, Universidade de Granada, 18071 Granada, Espanha.

Luciaanebarros@hotmail.com

Palavras-Chave: ADME/Tox, docking molecular, *Staphylococcus aureus*.

Introdução

A resistência antimicrobiana constitui uma das principais ameaças à saúde pública mundial, sendo o *Staphylococcus aureus* resistente à vancomicina (VRSA) um patógeno de elevada relevância clínica devido às limitadas opções terapêuticas disponíveis e ao crescente surgimento de cepas multirresistentes (Arantes *et al.*, 2023; Touaitia *et al.*, 2025). Essa problemática reforça a necessidade de investigar novos alvos moleculares essenciais à sobrevivência bacteriana, como a timidilato quinase (TMK), enzima envolvida na síntese de DNA bacteriano, cuja inibição pode comprometer a proliferação bacteriana (Asadpour; Ghazanfari, 2019; Musini; Kolliputi; Yata, 2026).

No processo de descoberta de fármacos, a triagem virtual em bases de dados químicas constitui uma estratégia eficiente para a identificação inicial de moléculas com potencial atividade biológica (Sanches *et al.*, 2024). Essa abordagem permite selecionar compostos promissores, de origem natural, semissintética ou sintética, favorecendo a bioprospecção de candidatos com possível ação antimicrobiana e menor toxicidade frente a bactérias multirresistentes (Dias *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2023).

Nesse contexto, este estudo utiliza uma abordagem bioquimioinformática hierárquica para identificar novos candidatos a antibióticos com potencial de ação contra *Staphylococcus aureus* resistente à vancomicina (VRSA), tendo como alvo a timidilato quinase (TMK). Para isso, utilizou-se a tetraciclina como molécula de referência na busca de análogos estruturais em base de dados comercial. Os compostos selecionados foram avaliados quanto ao potencial

farmacocinético, perfil toxicológico e capacidade de interação com a TMK, a partir de sua estrutura cristalográfica complexada com inibidor, disponível no Protein Data Bank (PDB ID: 4GSY).

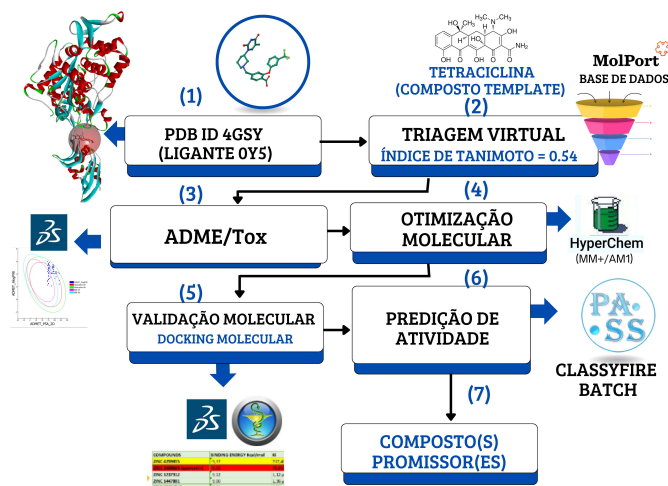
Material e Métodos

Neste estudo, a tetraciclina (MIC de 0,125 $\mu\text{g/mL}$ frente ao VRSA) foi utilizada como molécula de referência (Molécula Template) para triagem virtual. A busca por similaridade estrutural foi realizada na base MOLPORT utilizando índice de Tanimoto de 0,54 (54%), resultando em 10.000 compostos, todos obtidos no formato .sdf.

As moléculas selecionadas foram submetidas a predições farmacocinéticas e toxicológicas (ADME/Tox) por meio do software Discovery Studio (DS), visando avaliar, de forma detalhada, propriedades relevantes para o desenvolvimento de fármacos. Esse processo permitiu estabelecer uma base sólida para a priorização de compostos promissores.

Para as simulações da técnica de *docking* molecular, empregou-se o software AutoDock 4.2® (versão 4.2.6, San Diego, CA, EUA) e o Discovery Studio (Silva *et al.*, 2023). O alvo biológico foi a timidilato quinase (TMK) de *S. aureus*, utilizando sua estrutura cristalográfica complexada com inibidor (Estrutura cristalina da timidilato quinase de *Staphylococcus aureus* complexada com inibidor, PDB ID: 4GSY), obtida no Protein Data Bank. Os compostos selecionados na triagem virtual também foram classificados pelo ClassyFire. Todos os procedimentos seguiram o protocolo descrito por Sanches e colaboradores (2024), conforme apresentado na Figura 1.

Figura 1. Fluxograma das etapas metodológicas

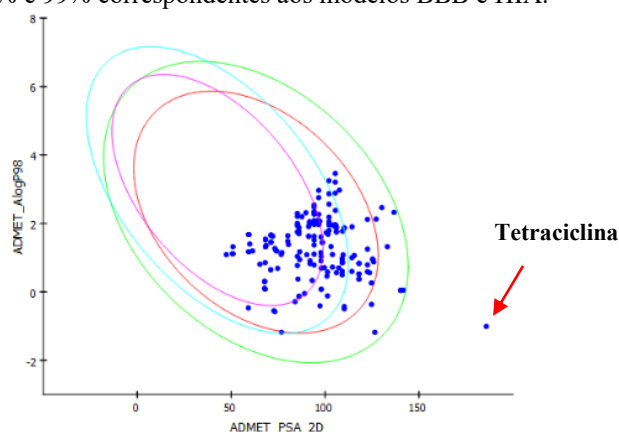


Resultados e Discussão

A triagem virtual realizada na base de dados MOLPORT (<https://www.molport.com/>) resultou na seleção inicial de 10.000 moléculas semelhantes à tetraciclina, obtidas por busca de similaridade estrutural.

Os resultados demonstraram que os compostos LMQC1-776 e LMQC2-581 apresentaram propriedades farmacocinéticas e toxicológicas favoráveis, incluindo boa solubilidade em água, elevada absorção intestinal, baixa penetração na barreira hematoencefálica e ausência de hepatotoxicidade (Figura 2) e não inibição da enzima CYP450 2D6. Este último dado é relevante, pois a inibição dessa enzima pode causar interações medicamentosas adversas, levando a aumento da toxicidade ou redução da eficácia de outros fármacos metabolizados por essa via (Hasan *et al.*, 2016).

Figura 2. Gráfico de DMET PSA vs. ALogP98 para os compostos identificados, demonstrando as elipses de limites de confiança de 95% e 99% correspondentes aos modelos BBB e HIA.



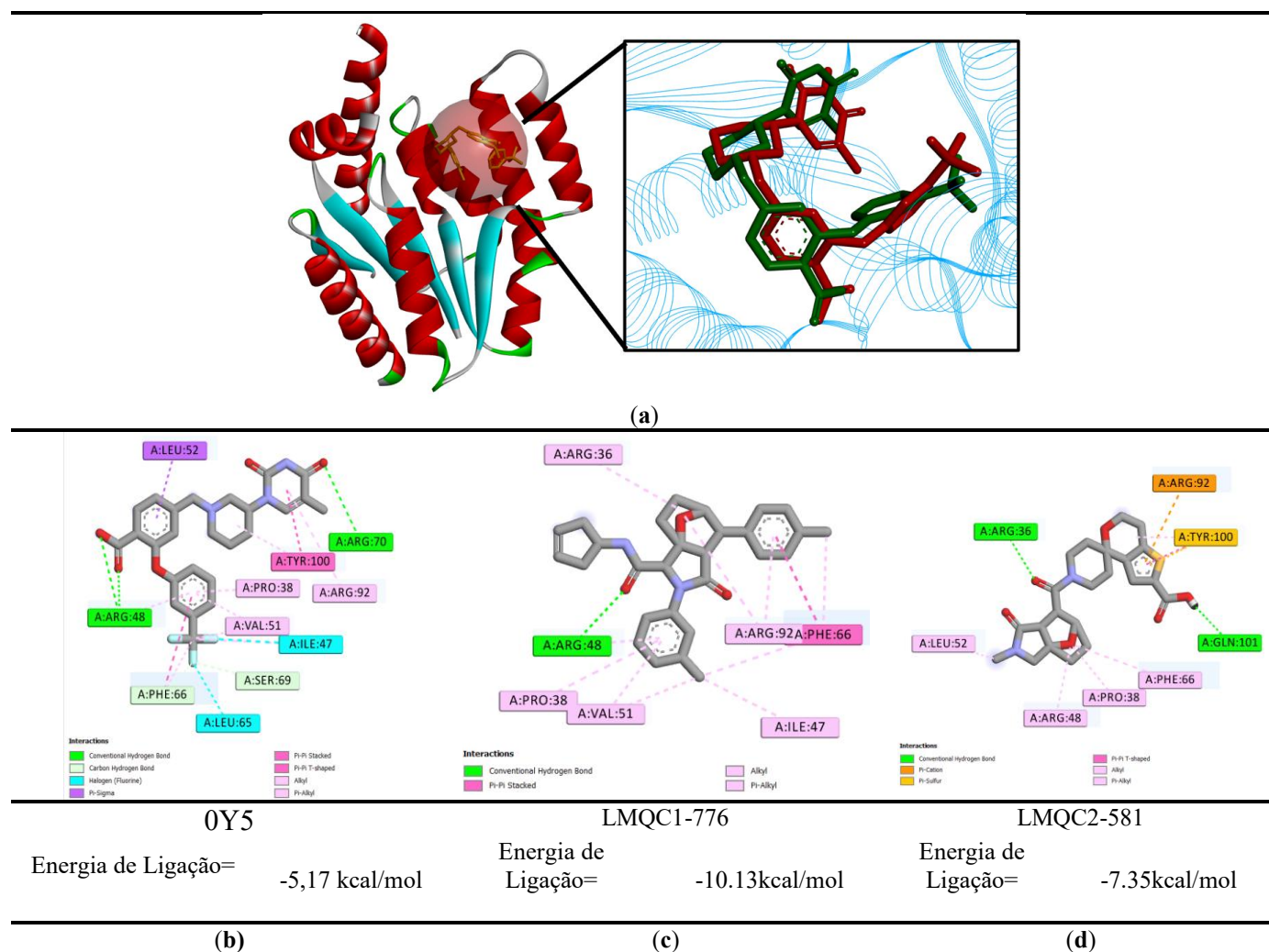
Fonte: Autoria Própria

Com base na posição do ligante cristalográfico 0Y5, foram identificados resíduos importantes no bolso ativo da timidilato quinase (TMK), incluindo Arg-36, Pro-38, Ile-47, Arg-48, Val-51, Leu-52, Leu-65, Phe-66, Ser-69, Arg-70, Arg-92, Tyr-100 e Gln-101. Esses resíduos foram utilizados como referência para analisar o padrão de interação dos compostos obtidos da triagem virtual. O ligante 0Y5 apresentou energia de ligação de -5,17 kcal/mol, enquanto os compostos LMQC1-776 e LMQC2-581 apresentaram energias de -10,13 kcal/mol e -7,35 kcal/mol, respectivamente.

Além disso, o LMQC1-776 estabeleceu interações com resíduos relevantes do sítio ativo, como Arg-48, Arg-92, Phe-66, Pro-38, Val-51 e Ile-47, indicando um padrão favorável

de *docking* molecular. Em contrapartida, o LMQC2-581 apresentou energia de ligação menos favorável (-7,35 kcal/mol), embora tenha mantido interações com resíduos importantes, incluindo Arg-36, Arg-48, Arg-92, Tyr-100, Gln-101, Phe-66, Pro-38 e Leu-52. Dessa forma, o LMQC1-776 destacou-se por apresentar o melhor perfil de interação com a TMK, evidenciado pelo estabelecimento de interações com resíduos-chave do sítio ativo, reforçando seu potencial como candidato ao desenvolvimento de novos agentes antibacterianos contra *Staphylococcus aureus* resistente à vancomicina.

Figura 3. (a) Sítio ativo da TMK de acordo com a posição do ligante cristalográfico 0Y5 e sobreposição entre a pose do ligante cristalográfico (verde) e a pose obtida por redocking (vermelho) na estrutura PDB ID: 4GSY (RMSD = 1,39 Å); representações das interações moleculares em 2D obtidas no estudo de *docking* molecular para (b) 0Y5, (c) LMQC1-776 e (d) LMQC2-581 (PDB ID: 4GSY).



Fonte: Autoria Própria



A predição das atividades biológicas foi realizada utilizando a plataforma PASS Online (*Prediction of Activity Spectra for Substances*) (Poroikov *et al.*, 2003), que fornece as probabilidades Pa (*Probability to be Active*) e Pi (*Probability to be Inactive*), correspondentes à probabilidade de uma substância apresentar ou não uma determinada atividade biológica.

Conforme apresentado na Tabela 1, a molécula de referência tetraciclina apresentou a maior probabilidade predita de atividade antibacteriana (Pa = 0,641). Entre os compostos triados, o LMQC1-776 destacou-se com o melhor desempenho para essa atividade (Pa = 0,329). Para a LMQC2-581, o PASS Online não apresentou predição específica para atividade antibacteriana entre os resultados gerados, indicando que, com base na estrutura química analisada e nos critérios preditivos da plataforma, a atividade antibacteriana não foi estimada com probabilidade suficiente para ser reportada, não significando necessariamente ausência de atividade biológica em ensaios experimentais.

Embora os valores preditos para os compostos selecionados sejam inferiores ao observado para a tetraciclina, os resultados indicam potencial para otimização estrutural, especialmente no caso do LMQC1-776. Além disso, o perfil farmacocinético e toxicológico favorável observado para os compostos reforça sua viabilidade como candidatos promissores para estudos futuros voltados ao desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos.

Tabela 1- Predição da atividade antibacteriana dos compostos resultantes da triagem virtual

COMPOSTO	Antibacteriano	
	Pa	Pi
TETRACICLINA	0,641	0,007
LMQC1-776	0,329	0,050
LMQC2-581	-	-

Fonte: Autoria Própria

Após as etapas metodológicas, os dois compostos mais promissores identificados por triagem virtual, LMQC1-776 e LMQC2-581, conforme apresentado na Figura 3, foram submetidos a uma busca no SciFinder®, plataforma vinculada ao Chemical Abstracts Service (CAS) (<https://scifinder.cas.org/>). Não foram encontrados estudos prévios relacionados à atividade biológica investigada neste trabalho, indicando possível ineditismo quanto à aplicação desses compostos como candidatos antibacterianos frente à TMK.

O ClassyFire classificou a tetraciclina, o LMQC1-776 e o LMQC2-581 como compostos orgânicos, porém pertencentes a classes químicas distintas. A tetraciclina foi associada à classe das tetraciclinas, caracterizada por um núcleo químico próprio, enquanto os compostos LMQC apresentaram esqueletos moleculares diferentes, contendo sistemas heterocíclicos e grupos funcionais específicos. Essas diferenças químico-estruturais podem



influenciar o reconhecimento molecular no sítio ativo da TMK, refletindo nas variações de energia de ligação, afinidade molecular e potencial antibacteriano predito (Djoumbou Feunang *et al.*, 2016).

Conclusões

Este estudo *in silico* permitiu identificar compostos análogos da tetraciclina com potencial de interação com a timidilato quinase (TMK) de *Staphylococcus aureus* resistente à vancomicina (VRSA). Entre os compostos avaliados, LMQC1-776 e LMQC2-581 apresentaram perfis ADME/Tox favoráveis, incluindo boa absorção intestinal, baixa penetração na barreira hematoencefálica, ausência de hepatotoxicidade e não inibição da CYP2D6. Nas análises da técnica de *docking* molecular, o LMQC1-776 destacou-se pela menor energia de ligação e por interagir com resíduos importantes do sítio ativo da TMK, indicando maior estabilidade teórica do complexo. Os resultados indicam que LMQC1-776 e LMQC2-581 apresentam potencial para atuar como candidatos a inibidores da TMK de *Staphylococcus aureus*, destacando-se o LMQC1-776 por apresentar os parâmetros mais favoráveis de energia de ligação, interação com resíduos-chave do sítio ativo, perfil ADME/Tox adequado e predição de atividade antibacteriana. Dessa forma, ambos os compostos representam estruturas promissoras para estudos posteriores de otimização e validação experimental *in vitro* e *in vivo*.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Referências

- ARANTES, L. O. *et al.* Prevenção de infecções por microrganismos multirresistentes em serviços de saúde: uma revisão de literatura. **Brazilian Journal of Development**, v. 9, n. 7, p. 21227-21243, 2023.
- ASADPOUR, L.; GHAZANFARI, N. Detection of vancomycin nonsusceptible strains in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* in northern Iran. **International Microbiology**, v. 22, p. 411-417, 2019.
- DIAS, K. S. T. *et al.* Aplicações recentes da abordagem de fármacos multialvo para o tratamento da doença de Alzheimer. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 2, p. 609-648, 2015.
- DJOUMBOU FEUNANG, Y. *et al.* ClassyFire: automated chemical classification with a comprehensive, computable taxonomy. **Journal of Cheminformatics**, v. 8, n. 1, p. 61, 2016/11/042016.
- HASAN, M. A. *et al.* Identification of putative drug targets in Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) using computer aided protein data analysis. **Gene**, v. 575, n. 1, p. 132-143, Jan2016.



MUSINI, A.; KOLLIPUTI, N.; YATA, V. K. **Staphylococcus aureus: Pathogenesis, Drug Resistance, and Therapeutics**. CRC Press, 2026.

OLIVEIRA, L. P. S. *et al.* **Hierarchical Virtual Screening of Potential New Antibiotics from Polyoxygenated Dibenzofurans against Staphylococcus aureus Strains**. *Pharmaceuticals*. 16 2023.

POROIKOV, V. V. *et al.* PASS biological activity spectrum predictions in the enhanced open NCI database browser. **Journal of chemical information and computer sciences**, v. 43, n. 1, p. 228-236, 2003.

SANCHES, V. H. D. S. *et al.* **Rational Approach to New Chemical Entities with Antiproliferative Activity on Ab1 Tyrosine Kinase Encoded by the BCR-ABL Gene: An Hierarchical Biochemoinformatics Analysis**. *Pharmaceuticals*. 17 2024.

SILVA, L. B. *et al.* Galantamine Based Novel Acetylcholinesterase Enzyme Inhibitors: A Molecular Modeling Design Approach. **Molecules**, v. 28, n. 3, p. 1035, 2023.

TOUAITIA, R. *et al.* Staphylococcus aureus: A review of the pathogenesis and virulence mechanisms. **Antibiotics**, v. 14, n. 5, p. 470, 2025.