



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

RAYRA MIRELLA RODRIGUES GONÇALVES

Busca farmacofórica baseada em grupos químicos identifica moléculas que sugerem atividade
contra proteínas de *Mycobacterium tuberculosis*

JOÃO PESSOA
2026

RAYRA MIRELLA RODRIGUES GONÇALVES

Busca farmacofórica baseada em grupos químicos identifica moléculas que sugerem atividade
contra proteínas de *Mycobacterium tuberculosis*

Trabalho apresentado à banca examinadora do
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia
da Universidade Federal da Paraíba, como
requisito para obtenção do título de mestre, sob
orientação do Prof. Dr Edson Luiz Folador.

JOÃO PESSOA

2026

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

G635b Gonçalves, Rayra Mirella Rodrigues.

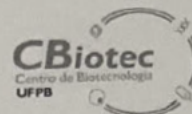
Busca farmacofórica baseada em grupos químicos
identifica moléculas que sugerem atividade contra
proteínas de Mycobacterium tuberculosis / Rayra Mirella
Rodrigues Gonçalves. - João Pessoa, 2026.
136 f. : il.

Orientação: Edson Luiz Folador.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CBiotec.

1. ADMET. 2. Docking molecular. 3. Triagem virtual.
4. Tuberculose. I. Folador, Edson Luiz. II. Título.

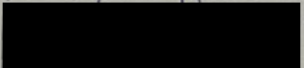
UFPB/BC

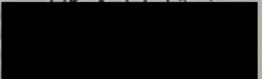
CDU 616-002.5(043)

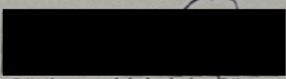


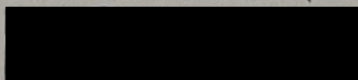
Ata da 52ª (quinquagésima segunda) Dissertação de Mestrado da aluna do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia **RAYRA MIRELLA RODRIGUES GONÇALVES** candidata ao Título de "Mestre" em Biotecnologia, na área de concentração Biotecnologia Aplicada à Saúde.

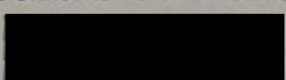
Às nove horas (09h00) do dia 25 de março do ano de dois mil e vinte e seis (25/03/2026), no Auditório do IPeFarm, reuniram-se em caráter de Solenidade Pública os membros da Comissão designada para examinar a aluna **Rayra Mirella Rodrigues Gonçalves** candidata ao Título de "MESTRE" em Biotecnologia. Foram componentes da Banca Examinadora os professores Edson Luiz Folador (Orientador) (Universidade Federal da Paraíba); Sildivane Valcácia Silva (Examinador interno) (Universidade Federal da Paraíba); Christina Pacheco Santos Martin (Examinador externo) (Universidade Federal da Paraíba); Neila Lidiany Ribeiro (Examinador externo) (Universidade Federal da Paraíba). Dando início aos trabalhos, o Presidente da Banca professor Edson Luiz Folador, após declarar os objetivos da reunião, apresentou a candidata **Rayra Mirella Rodrigues Gonçalves**, a quem concedeu a palavra para que dissertasse oral e sucintamente sobre o tema apresentado e intitulado "**Busca farmacofórica baseada em grupos químicos identifica moléculas que sugerem atividade contra proteínas de *Mycobacterium tuberculosis***". Após discorrer sobre o referido tema, a candidata foi arguida pelos examinadores na forma Regimental. Em seguida, passou a Comissão em caráter secreto, a proceder à avaliação e julgamento do trabalho, concluindo por atribuir-lhe o conceito APROVADO. Em face da aprovação, declarou o presidente achar-se a examinada **Rayra Mirella Rodrigues Gonçalves**, legalmente habilitada a receber o Título de "MESTRE" em Biotecnologia, na área de concentração Biotecnologia Aplicada à Saúde, cabendo a Universidade Federal da Paraíba, providências, como de direito à expedição do Diploma que a mesma faz jus. Nada mais havendo a tratar, eu, Tânia Maria Alves de Araújo, na qualidade de secretária, lavrei a presente Ata que submeto a aprovação da Comissão Examinadora.


Tânia Maria Alves de Araújo (Secretária)


Prof. Dr. Edson Luiz Folador (Orientador)


Profa. Dra. Sildivane Valcácia Silva (Examinador interno)


Profa. Dra. Christina Pacheco Santos Martin (Examinador externo)


Profa. Dra. Neila Lidiany Ribeiro (Examinador externo)

Aos meus pais,
pelos inúmeros sacrifícios que tornaram possível essa realização.
Com vocês aprendi que “é justo que muito custe o que muito vale”.

AGRADECIMENTOS

Ao bom Deus, pelas infinitas manifestações de seu cuidado e providência;

Ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba;

Ao LAMBDA, Laboratório Multiusuário de Bioinformática e Análise de Dados;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), ao Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, ao Fundo Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e à Universidade Federal da Paraíba, por meio da PROPESQ/PRPG, pelo apoio financeiro concedido através de editais de fomento à pesquisa (2016, 2020, 2021 e 2024), que contribuíram para o desenvolvimento das atividades científicas relacionadas a este trabalho.

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado da Paraíba, pelo apoio financeiro;

Ao meu orientador, Dr. Edson Luiz Folador, por toda sua colaboração neste trabalho;

Aos meus pais, pelo apoio incondicional, pelo amor e força sempre que me deram;

À minha avó, Maria do Socorro, pela intercessão constante;

À minha pequena e doce Laís, por ser meu combustível todos os dias;

À minha irmã, Andrine, por lutar essa e outras batalhas ao meu lado;

À Isabelle, minha dupla do primeiro ao último dia, pela parceria e amizade;

A todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para que a realização desse trabalho fosse possível.

RESUMO

Busca farmacofórica baseada em grupos químicos identifica moléculas que sugerem atividade contra proteínas de *Mycobacterium tuberculosis*

A tuberculose permanece como uma das principais causas de morte por doença infecciosa no mundo, sendo agravada pelo surgimento de cepas multirresistentes de *Mycobacterium tuberculosis* e pelas limitações terapêuticas dos fármacos atualmente disponíveis. Diante desse cenário, este estudo teve como objetivo realizar uma busca farmacofórica para identificar moléculas com potencial atividade contra proteínas de *M. tuberculosis*, por meio de uma abordagem computacional integrada combinando triagem virtual baseada em ligante (LBVS) e baseada em estrutura (SBVS), *docking* molecular, análise das interações proteína–ligante e avaliação farmacocinética *in silico*. Inicialmente, foram identificados 228 análogos aos fármacos de primeira linha no banco de dados PubChem. Paralelamente, 3.246 estruturas proteicas foram obtidas do *Protein Data Bank*, sendo refinadas após exclusão por similaridade estrutural. A análise de cavidades pelo *fpocket* resultou em 4.081 *pockets* com *druggability* score $\geq 0,5$, que foram submetidos a *docking* molecular com os análogos selecionados, totalizando 63.219 complexos avaliados. A caracterização das interações pelo PLIP permitiu a identificação de grupos químicos relevantes, utilizados na construção de modelos farmacofóricos aplicados na plataforma PHARMIT, resultando na prospecção de 117.198 moléculas. A avaliação ADMET demonstrou que parte significativa dos compostos apresentou perfil farmacocinético preditivamente superior ao de fármacos de referência. Entre os melhores complexos destacaram-se proteínas envolvidas em vias metabólicas essenciais, como timidilato quinase, enoil-ACP redutase e antranilato fosforribosiltransferase. Além destas, outras interações não previamente descritas na literatura sugere que os ligantes prospectados exploram regiões alternativas dos sítios ativos, ampliando as possibilidades para o desenho racional de inibidores inovadores. A incorporação de critérios de drogabilidade, regras de Lipinski e análise ADMET permitiu refinar a seleção de compostos com maior potencial de progressão no pipeline de desenvolvimento. Os resultados indicam que a estratégia integrada empregada é eficaz na identificação de candidatos promissores, fornecendo uma base racional para futuras validações experimentais e contribuindo para o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas contra a tuberculose.

Palavras-chave: ADMET; *Docking* molecular; Triagem virtual; Tuberculose.

ABSTRACT

Pharmacophore search based on chemical groups identifies molecules suggesting activity against *Mycobacterium tuberculosis* proteins

Tuberculosis remains one of the leading causes of death from infectious diseases worldwide, further aggravated by the emergence of multidrug-resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis* and by the therapeutic limitations of currently available drugs. In this context, the present study aimed to perform a pharmacophore-based search to identify molecules with potential activity against *M. tuberculosis* proteins through an integrated computational approach combining ligand-based virtual screening (LBVS), structure-based virtual screening (SBVS), molecular docking, protein–ligand interaction analysis, and in silico pharmacokinetic evaluation. Initially, 228 analogs of first-line anti-tuberculosis drugs were identified in the PubChem database. In parallel, 3,246 protein structures were retrieved from the Protein Data Bank and subsequently refined after exclusion based on structural similarity. Cavity analysis using fpocket resulted in 4,081 pockets with a druggability score ≥ 0.5 , which were subjected to molecular docking with the selected analogs, totaling 63,219 evaluated complexes. Interaction characterization using PLIP enabled the identification of relevant chemical groups, which were employed to construct pharmacophore models applied in the PHARMIT platform, leading to the screening of 117,198 molecules. ADMET evaluation demonstrated that a significant portion of the compounds exhibited pharmacokinetic profiles predictively superior to those of reference drugs. Among the best-ranked complexes were proteins involved in essential metabolic pathways, such as thymidylate kinase, enoyl-ACP reductase, and anthranilate phosphoribosyltransferase. In addition, interactions not previously described in the literature suggest that the screened ligands may explore alternative regions of active sites, expanding the possibilities for the rational design of innovative inhibitors. The incorporation of druggability criteria, Lipinski's rules, and ADMET analysis allowed refinement of compounds with greater potential for progression within the drug development pipeline. The results indicate that the integrated strategy employed is effective in identifying promising candidates, providing a rational basis for future experimental validation and contributing to the development of new therapeutic alternatives against tuberculosis.

Keywords: ADMET. Molecular docking; Tuberculosis; Virtual screening.

Índice de figuras

Figura 1: Parede celular de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	22
Figura 2: Estrutura química da isoniazida.....	30
Figura 3: Estrutura química da rifampicina.....	31
Figura 4: Estrutura química da pirazinamida.....	32
Figura 5: Estrutura química do etambutol.....	33
Figura 6: Combinação com todos os grupos químicos possíveis (1GTV).....	58
Figura 7: Grupos químicos que trouxeram o melhor resultado (1GTV).....	58
Figura 8: (A1) Z6046295676.....	60
Figura 9: (A2) MCULE-2164199276.....	61
Figura 10: (A3) Z5000146514.....	61
Figura 11: Interações entre Z6046295676 e 1GTV.....	63
Figura 12: Interações entre MCULE-2164199276 e 1GTV.....	63
Figura 13: Interações entre Z5000146514 e 1GTV.....	64
Figura 14: Combinação com todos os grupos químicos possíveis (5MTP).....	66
Figura 15: Grupos químicos que trouxeram o melhor resultado (5MTP).....	66
Figura 16: (A4) ChEMBL2311921.....	68
Figura 17: (A5) MCULE-3231780937.....	69
Figura 18: (A6) MCULE-3433993367.....	70
Figura 19: Interações entre ChEMBL2311921 e 5MTP.....	72
Figura 20: Interações entre MCULE-3231780937 e 5MTP.....	72
Figura 21: Interações entre MCULE-3433993367 e 5MTP.....	72
Figura 22: Combinação com todos os grupos químicos possíveis (4GKM).....	75
Figura 23: Grupos químicos que trouxeram o melhor resultado (4GKM).....	75
Figura 24: (A7) PubChem-90236450.....	77
Figura 25: (A8) PubChem-126756182.....	78
Figura 26: (A9) PubChem-145693370.....	79
Figura 27: Interações entre PubChem-90236450 e 4GKM.....	82
Figura 28: Interações entre PubChem-12675618 e 4GKM.....	82
Figura 29: Interações entre PubChem-145693370 4GKM.....	82
Figura 30: Combinação com todos os grupos químicos possíveis (8GKF).....	85
Figura 31: Grupos químicos que trouxeram o melhor resultado (8GKF).....	85
Figura 32: (A10) MCULE-9063237217.....	87

Figura 33: (A11) Z8658411556.....	88
Figura 34: (A12) PubChem-140149712.....	88
Figura 35: Interações entre MCULE-9063237217 e 8GKF.....	90
Figura 36: Interações entre Z8658411556 e 8GKF.....	91
Figura 37: Interações entre PubChem-140149712 e 8GKF.....	91
Figura 38: Combinação com todos os grupos químicos possíveis (3H3U).....	95
Figura 39: Grupos químicos que trouxeram o melhor resultado (3H3U).....	95
Figura 40: (A13) PubChem-22347096.....	97
Figura 41: (A14) PubChem-159293849.....	98
Figura 42: (A15) PubChem-22347325.....	99
Figura 43: Interações entre PubChem-22347096 e 3H3U.....	101
Figura 44: Interações entre PubChem-159293849 e 3H3U.....	102
Figura 45: Interações entre PubChem-22347325 e 3H3U.....	102
Figura 46: Combinação com todos os grupos químicos possíveis (6EDW).....	103
Figura 47: Grupos químicos que trouxeram o melhor resultado (6EDW).....	103
Figura 48: (A16) MCULE-8961837134.....	105
Figura 49: (A17) PubChem-110122808.....	106
Figura 50: (A18) PubChem-118266241.....	107
Figura 51: Interações entre MCULE-8961837134 e 6EDW.....	108
Figura 52: Interações entre PubChem-110122808 e 6EDW.....	109
Figura 53: Interações entre PubChem-118266241 e 6EDW.....	109
Figura 54: Combinação com todos os grupos químicos possíveis (5I7R).....	110
Figura 55: Grupos químicos que trouxeram o melhor resultado (5I7R).....	110
Figura 56: (A19) MCULE-8468042629.....	112
Figura 57: (A20) MCULE-3073526243.....	113
Figura 58: Interações entre MCULE-8468042629 e 5I7R.....	114
Figura 59: Interações entre MCULE-3073526243 e 5I7R.....	115

Índice de fluxogramas

Fluxograma 1: Taxonomia de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	21
Fluxograma 2: Metodologia híbrida LBVS e SBVS.....	51
Fluxograma 3: Prospecção de moléculas baseada nos grupos químicos.....	53
Fluxograma 4: Avaliação farmacocinética <i>in silico</i>	54
Fluxograma 5: Resultados quantitativos.....	56

Índice de tabelas

Tabela 1: Melhores sítios de ligação.....	57
Tabela 2: Classificação ADMET das moléculas do sítio 1GTV – <i>pocket</i> 1.....	59
Tabela 3: Validação das interações no sítio 1GTV – <i>pocket</i> 1.....	64
Tabela 4: Classificação ADMET das moléculas do sítio 5MTP – <i>pocket</i> 1.....	67
Tabela 5: Validação de interações no sítio 5MTP – <i>pocket</i> 1.....	73
Tabela 6: Classificação ADMET das moléculas do sítio 4GKM – <i>pocket</i> 1.....	76
Tabela 7: Validação de interações no sítio 4GKM – <i>pocket</i> 1.....	83
Tabela 8: Classificação ADMET das moléculas do sítio 8GKF – <i>pocket</i> 3.....	86
Tabela 9: Validação de interações no complexo 8GKF – <i>pocket</i> 3.....	92
Tabela 10: Classificação ADMET das moléculas do sítio 3H3U – <i>pocket</i> 17.....	96
Tabela 11: Classificação ADMET das moléculas do sítio 6EDW – <i>pocket</i> 3.....	104
Tabela 12: Classificação ADMET das moléculas do sítio 5I7R – <i>pocket</i> 1.....	111

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACP Proteína Carreadora de Acila

ADMET Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade

AMPc Adenosina Monofosfato Cíclico

ATP Adenosina Trifosfato

BAAR Bacilo álcool-ácido resistentes

CADD Design de Fármacos Auxiliado por Computador

CSV *Comma-Separated Values*

DFC Dose Fixa Combinada

DNA Ácido Desoxirribonucleico

dNTPs Trifosfatos de Desoxirribonucleosídeos

dTDP Difosfato de Timidina

dTMP Monofosfato de Timidina

dTTP Trifosfato de Timidina

E Etambutol

EMB Etambutol

FAS-II *Fatty Acid Synthase II*

FNR Regulador Global da Redução de Fumarato e Nitrato

H Isoniazida

ICL Isocitrato Liase

IFN Interferon

INH Isoniazida

InhA Enoil-ACP redutase

KatG Catalase-Peroxidase

LBVS *Ligand-Based Virtual Screening*

MTB *Mycobacterium tuberculosis*

OAS O-acetilserina

OMS Organização Mundial da Saúde

PCP Proteína Carreadora de Peptidila

PCR Reação em Cadeia da Polimerase

PDB *Protein Data Bank*

PPD Prova tuberculínica

PLIP *Protein–Ligand Interaction Profiler*

PNCT Programa Nacional de Controle da Tuberculose

PPTase Fosfopanteteinil Transferase

R Rifampicina

RIF Rifampicina

RMSD *Root Mean Square Deviation*

RNA Ácido Ribonucleico

RNS Espécies Reativas de Nitrogênio

ROS Espécies Reativas de Oxigênio

SBVS *Structure-Based Virtual Screening*

SDF *Structure Data File*

SMILES *Simplified Molecular Input Line Entry System*

TPKM Timidilato Quinase

TRP Triptofano

TB Tuberculose

VS *Virtual Screening*

WHO *World Health Organization*

Z Pirazinamida

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	18
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	21
2.1 Mycobacterium tuberculosis.....	21
2.1.1 Taxonomia e filogenia.....	21
2.1.2 Estrutura bacteriana.....	22
2.2 Tuberculose.....	23
2.2.1 Transmissão.....	23
2.2.2 Fisiopatologia e sintomatologia.....	24
2.2.3 Epidemiologia.....	25
2.3 Diagnóstico.....	26
2.3.1 Baciloscopia.....	26
2.3.2 Cultura.....	26
2.3.3 Testes moleculares.....	27
2.3.4 Exames de imagem.....	27
2.3.5 Histopatológico.....	27
2.3.6 Teste de Liberação de Interferon-Gama (IGRA).....	28
2.3.7 Prova tuberculínica (PPD).....	28
2.4 Fármacos utilizados como primeira linha de tratamento	29
2.4.1 Isoniazida.....	30
2.4.2 Rifampicina.....	31
2.4.3 Pirazinamida.....	32
2.4.4 Etambutol.....	33
2.5 Alvos moleculares.....	34
2.5.1 Proteína receptora de AMPc.....	34
2.5.2 RNA polimerase.....	35
2.5.3 Enoil-ACP-redutase.....	36
2.5.4 Isocitrato liase.....	37
2.5.5 Fosfopanteteinil transferase.....	38
2.5.6 Cisteína sintase.....	38
2.5.7 Timidilato quinase.....	39
2.5.8 Antranilato fosforribosiltransferase.....	40
2.6 Computer-Aided Drug Design (CADD).....	41
2.6.1 SBVS.....	42
2.6.2 LBVS.....	45
2.6.3 PHARMIT.....	46
2.6.4 Avaliação ADMET.....	47
3 PROBLEMATIZAÇÃO.....	49
4 OBJETIVOS.....	50
4.1 Objetivo geral.....	50
4.2 Objetivos específicos.....	50
5 METODOLOGIA.....	51
5.1 Identificação dos grupos químicos.....	51
5.3 Avaliação farmacocinética.....	54
5.4 Caracterização das interações dos melhores complexos.....	55
5.5 Ferramentas computacionais para auxílio de escrita e revisão textual.....	55
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
6.1 Sítio de ligação 1GTV - <i>pocket</i> 1.....	58
6.1.1 Melhores moléculas do sítio de ligação 1GTV – <i>pocket</i> 1.....	59

6.1.2 Validação das interações no sítio de ligação 1GTV – <i>pocket</i> 1.....	63
6.2 Sítio de ligação 5MTP – <i>pocket</i> 1.....	66
6.2.1 Melhores moléculas do sítio de ligação 5MTP – <i>pocket</i> 1.....	67
6.2.2 Validação das interações no sítio de ligação 5MTP – <i>pocket</i> 1.....	71
6.3 Sítio de ligação 4GKM - <i>pocket</i> 1.....	75
6.3.1 Melhores moléculas do sítio de ligação 4GKM - <i>pocket</i> 1.....	76
6.3.2 Validação das interações no sítio de ligação 4GKM - <i>pocket</i> 1.....	81
6.1.4 Sítio de ligação 8GKF – <i>pocket</i> 3.....	85
6.4.1 Melhores moléculas do sítio de ligação 8GKF – <i>pocket</i> 3.....	86
6.4.2 Validação das interações no sítio de ligação 8GKF – <i>pocket</i> 3.....	90
6.1.5 Sítio de ligação 3H3U – <i>pocket</i> 17.....	95
6.5.1 Melhores moléculas do sítio de ligação 3H3U – <i>pocket</i> 17.....	97
6.5.2 Validação das interações no sítio de ligação 3H3U – <i>pocket</i> 17.....	101
6.1.6 Sítio de ligação 6EDW – <i>pocket</i> 3.....	103
6.6.1 Melhores moléculas do sítio de ligação 6EDW – <i>pocket</i> 3.....	104
6.6.2 Validação das interações no sítio de ligação 6EDW – <i>pocket</i> 3.....	108
6.1.7 Sítio de ligação 5I7R – <i>pocket</i> 1.....	110
6.7.1 Melhores moléculas do sítio de ligação 5I7R – <i>pocket</i> 1.....	111
6.7.2 Validação das interações no sítio de ligação 5I7R – <i>pocket</i> 1.....	114
7 CONCLUSÃO.....	117
8 REFERÊNCIAS.....	118
APÊNDICES.....	132

1 INTRODUÇÃO

Mycobacterium tuberculosis, também denominado como bacilo de *Koch*, é a bactéria causadora da tuberculose, doença transmissível por via inalatória, cujo principal sintoma é a tosse na forma seca ou produtiva, caracterizando-se como uma das principais causas de enfermidade e morte desde a antiguidade, permanecendo um problema de saúde pública global. Em 2024 foram confirmados mais de 80 mil novos casos de TB no Brasil, sendo o país com o maior número de casos notificados nas Américas (Da Silva, 2018; Brasil, 2025).

Eliminar a TB como problema de saúde pública exige integração de esforços em diferentes frentes, como resposta às desigualdades socioeconômicas e de gênero, a insegurança alimentar, a melhoria das condições habitacionais e a perda de emprego e renda. Ao abordar os determinantes sociais e econômicos da tuberculose, fortalecendo os sistemas de saúde e promovendo a equidade e a justiça social, é possível avançar não apenas na eliminação da doença, mas também na promoção de bem-estar e desenvolvimento sustentável para todos (Brasil, 2025).

A incidência da doença diminuiu nos países desenvolvidos, no entanto, permanece sendo uma ameaça aos países em desenvolvimento, especialmente com o surgimento de espécies multirresistentes. Associado a isso, a doença é caracterizada pela diferenciação de subpopulações de bactérias que apresentam resistência à ação dos antibióticos, fugindo e modulando o sistema imune do hospedeiro (WHO, 2020).

Mesmo existindo estratégias terapêuticas padronizadas, o tratamento da tuberculose permanece desafiante, considerando o contexto da saúde individual e coletiva, sendo necessário que os fármacos utilizados tenham a capacidade de reduzir rapidamente a população bacilar, prevenindo a seleção de cepas resistentes e minimizando recidivas da doença (Katiyar; Katiyar, 2019).

Os medicamentos antituberculosos são distribuídos gratuitamente pelo PNCT (Programa Nacional de Controle da Tuberculose), não estando disponíveis comercialmente (Brasil, 2024). Em meados dos anos 70 foi desenvolvida a quimioterapia anti TB de curta duração, composta por rifampicina (R), isoniazida (H) e pirazinamida (Z), com extensão de 6 meses (esquema RHZ). O Brasil foi o primeiro país do mundo a padronizar o esquema de 6 meses na rede pública, sendo todas as drogas administradas via oral e distribuídas de forma gratuita. Nos anos 80, as cápsulas com a combinação RH foram implementadas com objetivo de evitar a resistência bacteriana adquirida. Em 2009, o Brasil introduziu o uso de

comprimidos com dose fixa combinada (DFC) e adicionou o etambutol (E) ao esquema RHZ (Zuim; Menezes; Trajman, 2014).

De maneira geral, o esquema terapêutico para o tratamento da tuberculose consiste na associação dos fármacos de primeira linha com a finalidade de evitar o surgimento de linhagens de MTB resistentes. O regime terapêutico é dividido em fase intensiva e fase de manutenção (Brasil, 2024). A fase intensiva é a primeira do tratamento e é responsável por reduzir o número de bacilos o mais rápido possível a fim de diminuir os sintomas, interromper a transmissão da doença e erradicar populações de bacilos dos quais possa surgir a resistência medicamentosa. A segunda fase visa eliminar os bacilos da lesão e impedir a recidiva após o tratamento, uma vez que MTB apresenta a característica de permanecer em estado de latência (Katiyar; Katiyar, 2019).

Com base nessa estratégia terapêutica, a rifampicina atua com potencial bactericida, cujo mecanismo de ação está relacionado à inibição da RNA-polimerase DNA-dependente de micobactérias. Tal inibição ocorre através da formação de um complexo fármaco-enzima que acarreta a supressão da formação da cadeia de RNA (Sudzinová *et al.*, 2023). Outra aliada nessa estratégia é a pirazinamida, um derivado sintético da nicotinamida, cuja forma ativa, o ácido pirazinóico, é obtido pela ação da enzima nicotinamidase/pirazinamidase de MTB, de modo que, altas concentrações de ácido pirazinóico no citoplasma bacteriano diminuem o pH intracelular causando inativação de enzimas vitais, resultando na morte do bacilo (Zhang; Bai, 2018).

Além destes fármacos, ainda emprega-se a isoniazida, por ser considerada um pró-fármaco, com função bactericida e tuberculostática. A isoniazida é inativa, requerendo a ativação do gene KatG, pela enzima catalase peroxidase que gera radicais livres para combater os bacilos (Hedge *et al.*, 2021). A farmacodinâmica da isoniazida envolve inicialmente o metabolismo do medicamento pela enzima KatG para que se ligue covalentemente ao cofator NADH, passando assim, do estado de pró-fármaco para fármaco, permitindo inibir a enoil-ACP redutase (InhA) NADH dependente codificada pelo gene inhA, ocasionando a apoptose celular do alvo (Dartois; Rubin, 2022).

O último representante do esquema RHZE é o etambutol, cujo mecanismo de ação consiste na inibição das enzimas arabinosil transferases, envolvidas na biossíntese de arabinogalactano e lipoarabinomanano, componentes da parede celular de *M. tuberculosis*.

Essa enzima é a chave para aumentar a permeabilidade na parede celular de MTB e impedir seu crescimento (Zhu *et al.*, 2018).

Apesar dos esforços para padronização e implementação de uma estratégia terapêutica eficaz, os casos de resistência bacteriana se tornam um desafio e reforçam a urgente demanda por moléculas com atividade tuberculicida. Nesse sentido, a bioinformática se apresenta como uma abordagem rápida e de baixo custo para identificar potenciais moléculas com atividade contra *Mycobacterium tuberculosis*. Neste trabalho, os fármacos de primeira linha serão utilizados para gerar modelos farmacofóricos para a busca de moléculas anti TB, possibilitando assim, embasar fases de pesquisa *in vitro* e *in vivo*, podendo, em algum momento, vir a tornar-se fármaco.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

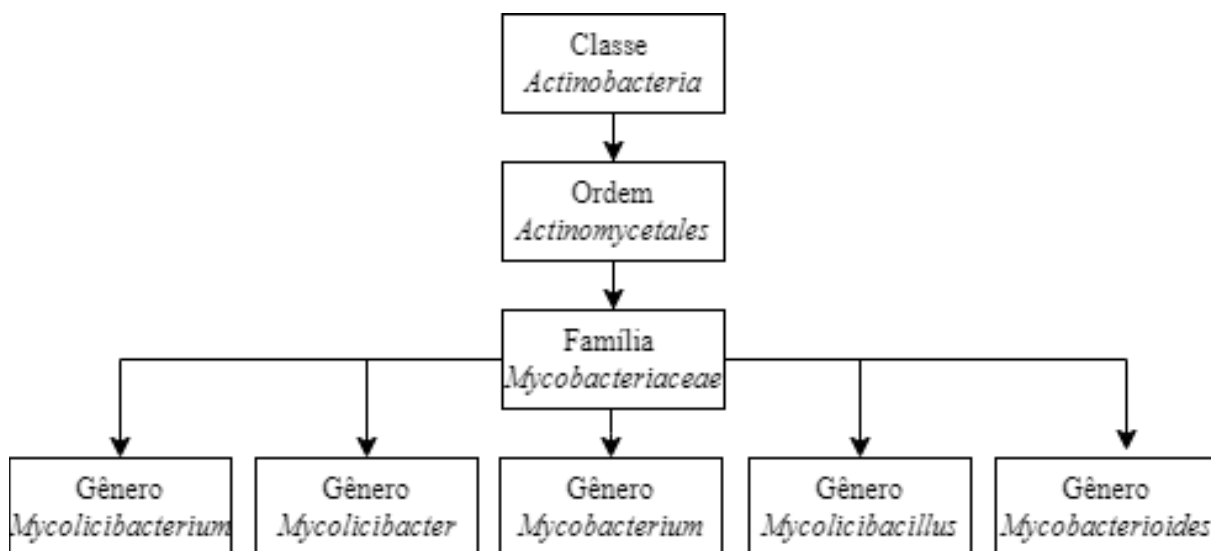
2.1 *Mycobacterium tuberculosis*

2.1.1 Taxonomia e filogenia

A família das micobactérias é composta por bactérias aeróbias estritas em forma de bastonete que não formam esporos e se diferenciam das demais por apresentarem uma parede celular rica em lipídios, como o ácido micólico, glicolipídeos, policetídeos e polissacarídeos, o que lhes confere a propriedade de serem álcool-ácido resistentes (BAAR). Apresentam ainda um crescimento muito lento, podendo levar semanas para que a formação de colônias em meio sintético seja observada. Não possuem cápsula e se demonstram pouco coradas como gram-positivas. São microrganismos intracelulares com capacidade de infecção e proliferação no interior de macrófagos (Orgeur *et al.*, 2024).

O gênero *Mycobacterium* pertence à classe *Actinobacteria*, ordem *Actinomycetales*, família *Mycobacteriaceae*, a qual recentemente recebeu uma nova classificação se subdividindo em cinco gêneros: *Mycobacterium* (*Tuberculosis-Simiae*), *Mycolicibacterium* (*Fortuitum-Vaccae*), *Mycolicibacter* (*Terrae*), *Mycolicibacillus* (*Triviale*) e *Mycobacterioides* (*Abscessus-Cheloneae*) (Fluxograma 1) (Gupta; Lo; Son, 2018).

Fluxograma 1: Taxonomia de *Mycobacterium tuberculosis*



Fonte: Crick *et al.*, 2001

As espécies que mais frequentemente causam doença em humanos são *Mycobacterium tuberculosis* e *Mycobacterium leprae*, destacando-se MTB, que apresenta

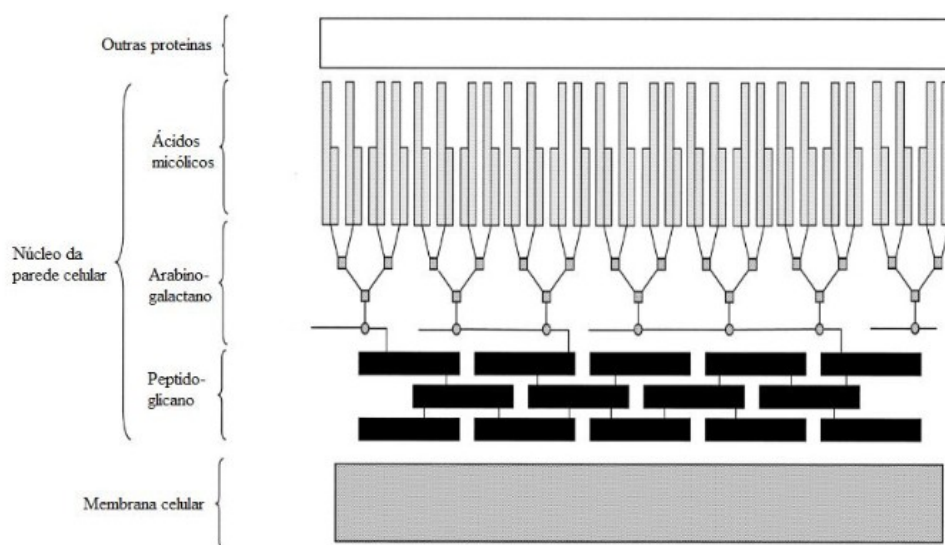
uma parede celular constituída principalmente por peptidoglicanos, que contêm ácido N-glicolil-murâmico, polissacarídeos e ácido micólico (Da Silva, 2018).

Os componentes da parede celular conferem-na um caráter hidrofóbico e portanto uma baixa permeabilidade da membrana, aspecto que dificulta a absorção de nutrientes e limitando o crescimento do bacilo, resultando em uma resistência natural a vários antimicrobianos, principalmente os hidrofílicos (Porto, 2007).

2.1.2 Estrutura bacteriana

MTB é um bacilo reto ou ligeiramente curvo, imóvel, não esporulado, não encapsulado, que mede de 1 a 10 μm de comprimento por 0,2 a 0,6 μm de largura, sendo a propriedade morfotintorial da álcool-ácido resistência a mais importante. Sua parede é constituída principalmente por ácidos micólicos, formando uma barreira hidrofóbica que confere resistência à dessecação, à descoloração por álcool e ácido e a diversos agentes químicos e antibióticos (Figura 1) (Moreira; Carvalho; Frota, 2015).

Figura 1: Parede celular de *Mycobacterium tuberculosis*



Fonte: Crick et al., 2001

De modo geral, as micobactérias raramente são coradas pelo método de gram, no entanto, classificam-se como gram positivas pelas características da sua parede celular. Também recebem a classificação como micobactérias não pigmentadas de crescimento lento. Além disso, uma particularidade importante é o agrupamento dos bacilos em forma de ramos alongados e tortuosos, conhecidos como cordas. A observação de cordas à bacilosopia é uma

indicação de que se trata de bactéria do complexo *M. tuberculosis*. O bacilo ainda apresenta um alto conteúdo lipídico em sua parede celular, característica importante em seus efeitos biológicos, como a indução da formação de granuloma, por exemplo (Queiroz *et al.*, 2021).

No exterior da membrana celular encontra-se peptidoglicano, que estabelece ligações covalentes com o arabinogalactano, que por sua vez está ligado a ácidos micólicos, também por ligações covalentes. A parede celular também contém outras proteínas intercaladas, como por exemplo, o manosídeo de fosfatidilinositol e os lípidos de tiocerol, lipomanano e lipoarabinomanana. Essa arquitetura singular confere ao bacilo elevada resistência ambiental e capacidade de resistência no hospedeiro, características que contribuem diretamente para sua eficiência de transmissão, predominantemente por via aérea, a partir de indivíduos com a doença em sua forma ativa (Noeske; Nana Yakam; Abena Foe, 2016).

2.2 Tuberculose

2.2.1 Transmissão

A TB é, na maioria dos casos, transmitida pelo ar, através do contato de um indivíduo infectado, com TB ativa, que ao tossir, espirrar, falar ou expirar, libera aerossóis com bacilos capazes de infectar outro indivíduo suscetível. Em casos raros, mulheres grávidas também podem transmitir, através da artéria umbilical ou durante o trabalho de parto quando o líquido amniótico é ingerido pelo recém-nascido (Turner; Bothamley, 2015).

Estudos prévios demonstraram que a utilização de máscaras cirúrgicas por pacientes positivos para tuberculose reduz a transmissão em 56%, sugerindo que bloqueiam parcialmente a aerossolização das gotículas respiratórias contaminadas (Dharmadhikari *et al.*, 2012).

As características da gotícula inalada, como por exemplo o tamanho, podem prever os resultados clínicos, com experiências iniciais mostrando que a dose infecciosa prediz o risco de infecção e progressão para a doença. Após exposição ao microrganismo, cerca de 90% das pessoas consegue eliminar o bacilo através das defesas do sistema imunológico ou permanece com infecção latente, que pode ser reativada tardiamente em condições favoráveis (Fennelly; Jones-Lopez, 2015). A parcela restante, entre 5 e 10% dos indivíduos imunologicamente normais desenvolvem a TB em algum momento da vida, mas 54% dos casos ativos se desenvolvem ainda durante o primeiro ano de infecção, e 78% desenvolvem doença ativa nos primeiros dois anos (Gordin; Masur, 2012).

2.2.2 Fisiopatologia e sintomatologia

As manifestações clínicas ocorrem como resposta da atividade imunológica do hospedeiro à infecção por MTB e aos seus antígenos. Inicialmente ocorre a infecção primária com ativação dos neutrófilos, sendo atraídos e substituídos por macrófagos, que fagocitam e tentam eliminar os microrganismos, os quais podem permanecer ilesos devido ao seu revestimento seroso. Através da liberação das linfocinas, os linfócitos T atraem e mantêm os macrófagos em torno do foco de infecção (Orgeur *et al.*, 2024).

Uma resposta de hipersensibilidade do tipo tardia, mediada por células, é desencadeada. Nesse momento, a relação entre a infecção e a resposta imunológica pode ser avaliada através da combinação de proteínas de baixo peso molecular produzida por MTB, conhecido como tuberculina e, quando purificada, recebe a designação de PPD (*purified protein derivative*) (Greene; Harris, 2012).

Apesar de ser uma infecção predominantemente pulmonar, a TB é uma doença multissistêmica com manifestação multifacetada, pois a capacidade do corpo de limitar ou eliminar efetivamente o agente infeccioso é determinada pelo estado imunológico do indivíduo, fatores genéticos e/ou outras infecções associadas. Além disso, *M. Tuberculosis* possui vários fatores de virulência que dificultam o sistema imunológico na eliminação do organismo de um indivíduo infectado (Delogu; Fadda, 2013).

O primeiro contato do microrganismo com um hospedeiro leva a manifestações conhecidas como tuberculose primária, que geralmente está localizada na porção média dos pulmões. Este estado é conhecido como tuberculose latente, e o principal sintoma dessa fase é a tosse na forma seca ou produtiva, podendo ainda cursar com febre, emagrecimento, fraqueza, cansaço e fadiga. A TB latente é capaz de ser reativada após imunossupressão no hospedeiro, e esses casos são chamados de tuberculose progressiva primária, observada em crianças, pessoas desnutridas ou imunossuprimidas (Bussato *et al.*, 2015; Gagneux, 2018).

A maior parte dos pacientes com tuberculose desenvolve a doença após um longo período de latência, ou seja, vários anos depois da infecção primária inicial, desencadeando a tuberculose secundária. Nesses casos as lesões da TB estão nos ápices pulmonares, e são semelhantes para reativação ou reinfeção quanto à localização (Nogueira *et al.*, 2012).

Os casos da doença extrapulmonar ocorrem em mais de 20% dos pacientes, sendo o sistema nervoso central o local mais grave, onde a infecção pode resultar em meningite,

podendo ser fatal na maioria dos casos. Outra forma grave é a infecção da corrente sanguínea por micobactérias, sendo chamada de tuberculose disseminada ou miliar. A forma extrapulmonar mais comum é a tuberculose linfática, mas outras localizações possíveis incluem ossos, articulações, pleura e sistema geniturinário, reforçando a necessidade da doença ser detectada com urgência, objetivando tratamento adequado e cura do paciente (Torres Filho, 2012).

2.2.3 Epidemiologia

O enfrentamento à tuberculose permanece sendo um desafio para a saúde pública, especialmente no Brasil. A crise sanitária e social agravada pela pandemia de covid-19 se mantém exercendo um impacto negativo no acesso ao diagnóstico e ao tratamento da doença. Estima-se que apenas no primeiro ano da pandemia, em todo o mundo, aproximadamente 10,1 milhões de pessoas desenvolveram TB, mas apenas 5,8 milhões (57,4%) foram diagnosticadas e notificadas, isso representa uma diminuição de 18% quando comparado ao ano anterior (2019), em que foram notificados 7,1 milhões de casos dos 10 milhões (71%) estimados. Já em 2021, 10,6 milhões de pessoas desenvolveram a doença, das quais 6,4 milhões (60,4%) foram notificadas, o que representa uma recuperação parcial na subnotificação de pessoas com TB no mundo (WHO, 2020; WHO, 2021).

Como resultado das reduções no número de notificações de pessoas diagnosticadas com TB entre os anos de 2020 e 2021 em decorrência da pandemia de covid-19, o número de pessoas com TB não diagnosticadas e não tratadas aumentou, conseqüentemente, é esperado que ocorra mais transmissão comunitária da infecção e um aumento no número de pessoas desenvolvendo TB nos próximos anos, bem como um impacto nos óbitos pela doença (WHO, 2022).

O boletim epidemiológico da tuberculose, gerado pelo Sistema de Informação de Agravos de Notificação, identificou 84.308 novos casos da doença no Brasil apenas no ano de 2024, o que representa um aumento de 21% no número de casos novos da doença no período pós-pandemia de covid-19. Destes, 68,2% estão relatados em indivíduos do sexo masculino. Com relação aos óbitos, observou-se um aumento de 3% em comparação aos anos anteriores (Brasil, 2025).

Diante desse cenário, torna-se evidente que o recrudescimento da tuberculose no período pós-pandemia não se limita ao aumento do número de casos e óbitos, mas reflete, sobretudo, fragilidades persistentes nos processos de detecção precoce e acesso oportuno ao

cuidado. A expressiva subnotificação observada nos anos recentes indica que uma parcela significativa da transmissão ocorre de forma silenciosa, sustentada por diagnósticos tardios ou ausentes, o que compromete tanto o controle individual da doença quanto as estratégias coletivas de saúde pública. Nesse contexto, o fortalecimento e a modernização das abordagens diagnósticas assumem papel central para a interrupção da cadeia de transmissão, a redução da morbimortalidade e o alcance das metas de controle da tuberculose.

2.3 Diagnóstico

O diagnóstico precoce e adequado da TB é um dos pilares mais importantes no controle da doença, nesse sentido, os profissionais de saúde devem estar atentos às manifestações clínicas do paciente, ouvindo suas queixas e direcionando-o ao diagnóstico adequado, que pode ser dado a partir de diferentes metodologias (Brasil, 2024).

2.3.1 Baciloscopia

A baciloscopia do escarro é um importante método para diagnosticar a TB pulmonar, pois permite a visualização dos bacilos ao microscópio após coloração de Ziehl-Neelsen. Essa é uma técnica rápida e de baixo custo, mas apesar de sua sensibilidade em escarro espontâneo chegar a 80% na presença de lesões cavitadas e extensas, em média, apresenta sensibilidade variável entre 40 e 60%, e é positiva apenas em 20% dos pacientes com lesão mínima. É necessária a coleta de duas a três amostras de escarro, com pelo menos, uma coletada no início da manhã para a otimização dos resultados. Recomenda-se ainda um volume de amostra maior que 3 mL, sendo o ideal entre 5 e 10mL. Em casos suspeitos de TB extrapulmonar, ainda é uma técnica indicada, apesar de apresentar menor sensibilidade (Lewinsohn *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2021).

2.3.2 Cultura

Já a cultura para MTB a partir de material respiratório apresenta sensibilidade em aproximadamente 80%. Nos casos de tuberculose pulmonar, onde o resultado da baciloscopia foi negativo, a cultura da amostra aumenta a detecção da doença entre 20 e 40% (Méndez-Samperio, 2017).

Para essa técnica, são utilizados meios de cultura sólidos, como o Löwenstein-Jensen e o Ogawa-Kudoh, sendo estes os mais comuns e também os que possuem menor custo e um baixo índice de contaminação, no entanto, demandam de duas até oito semanas para a

detecção do crescimento micobacteriano. A partir do crescimento em meio de cultura, é possível identificar a espécie bacteriana por meio de provas bioquímicas e fenotípicas, no intuito de distinguir as micobactérias do complexo *Mycobacterium tuberculosis* das micobactérias não tuberculosas, além do teste de sensibilidade a antimicrobianos (Brasil, 2024; Silva *et al.*, 2021).

A OMS considera a cultura o método padrão ouro para o diagnóstico da tuberculose, sendo indicada também na suspeita de tuberculose extrapulmonar (WHO, 2019).

2.3.3 Testes moleculares

Outra metodologia importante é o teste molecular Xpert MTB/RIF, que se baseia na amplificação de ácidos nucleicos para a detecção de material genético de MTB e na triagem de cepas resistentes à rifampicina através da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real, com resultados em aproximadamente 2 h, demandando uma única amostra de escarro. A sensibilidade do teste em amostras de escarro de adultos é em torno de 90%. Em relação à resistência à rifampicina, a sensibilidade é de 95% (Brasil, 2024).

Nesse teste os resultados são descritos de forma detalhada, citando *M. tuberculosis* não detectado (negativo), *M. tuberculosis* detectado (positivo) e *M. tuberculosis* traços detectados (Silva *et al.*, 2021).

O *line probe assay*, foi outro teste molecular aprovado pela OMS para diagnóstico da TB em material respiratório. Além de identificar o complexo *M. tuberculosis*, permite identificar resistência à rifampicina e à isoniazida, além disso, em teste separado pode avaliar resistência à fluoroquinolonas e drogas injetáveis (Biswas *et al.*, 2022).

2.3.4 Exames de imagem

A abordagem inicial dos pacientes com doenças respiratórias inclui os métodos de imagem, incluindo, principalmente, radiografia e tomografia computadorizada de tórax, de modo que ambos conseguem fornecer informações relevantes quanto à forma de apresentação da doença, à sua extensão e à evolução no decorrer do tratamento. Apesar disso, possuem baixa especificidade, e não são capazes de elucidar o diagnóstico isoladamente (Gautam *et al.*, 2018).

2.3.5 Histopatológico

O exame histopatológico é um importante método para o diagnóstico da tuberculose pulmonar e extrapulmonar a partir de fragmentos dos tecidos acometidos pelo *M.*

tuberculosis. A lesão usual na tuberculose pulmonar é o granuloma com necrose caseosa, caracterizado por histiócitos epitelioides em torno de um centro necrótico, geralmente acompanhado de um número variável de células gigantes multinucleadas e linfócitos. De modo geral, o achado mais frequente é o granuloma, com ou sem necrose caseosa, e a apresentação da baciloscopia, da cultura dos métodos moleculares é variável. Devido às dificuldades dos procedimentos, muitas vezes o diagnóstico é baseado em achados epidemiológicos, clínicos e radiológicos (Silva *et al.*, 2021).

2.3.6 Teste de Liberação de Interferon-Gama (IGRA)

O IGRA permite quantificar a resposta imune celular dos linfócitos T, por meio de amostras de sangue periférico, mediante estímulo, *in vitro*, a antígenos específicos de *M. tuberculosis*. É possível medir essa resposta por meio da detecção da liberação de interferon-gama, que é produzida pelas células do sistema imune, e associa-se ao processo inflamatório relacionado à indução de resposta imunológica mediada por células. Esta técnica apresenta algumas limitações associadas à faixa de medição do ensaio e níveis excessivos de IFN- γ circulante (Borges *et al.*, 2022).

2.3.7 Prova tuberculínica (PPD)

A prova tuberculínica é um teste baseado em uma reação de hipersensibilidade cutânea após a aplicação da tuberculina por via intradérmica, seguida de leitura 48 a 72 horas após a aplicação, podendo ser estendido até 96 horas. Essa prova causa uma reação de hipersensibilidade ao organismo diante das proteínas do bacilo da tuberculose, após contato com o *M. tuberculosis*. Em casos positivos para TB, no local da aplicação ocorre um aumento da permeabilidade vascular, com exsudação de fluidos acarretando eritema e edema, com pico entre 48 a 72 horas após a administração do PPD (Brasil, 2024).

O emprego de metodologias diagnósticas sensíveis e específicas, capazes de detectar precocemente a infecção e identificar casos de TB ativa, é fundamental para orientar de forma adequada a conduta terapêutica. A confirmação laboratorial, independente do método utilizado, permite adotar o regime terapêutico indicado, além de detectar perfis de resistência, garantindo a seleção racional dos fármacos e aumentando a eficácia do tratamento. Dessa forma, o diagnóstico preciso e oportuno constitui um elo indispensável para o sucesso da terapêutica antituberculosa e para a redução da transmissão e da progressão da doença na população (Duarte *et al.*, 2010).

2.4 Fármacos utilizados como primeira linha de tratamento

Mesmo em casos onde há um diagnóstico assertivo, o tratamento da tuberculose permanece desafiante, levando em consideração o contexto da saúde individual e coletiva. Para isso, é necessário que os fármacos utilizados sejam capazes de reduzir rapidamente a população bacilar, prevenir a seleção de cepas resistentes e minimizar recidivas da doença (Sotgiu *et al.*, 2016). O fornecimento de medicamentos anti TB é gratuito, garantido pelo PNCT, sendo amplamente distribuído na rede pública e não estando disponível comercialmente (Brasil, 2024).

Embora a eficácia do esquema antituberculose seja de até 95%, a efetividade do tratamento, isto é, o percentual de pacientes que se curam ao final do tratamento em condições rotineiras, varia muito de acordo com o local, estando em torno de 70% na média nacional (Nahid *et al.*, 2016).

Entre as causas associadas à baixa efetividade estão a falta de adesão, o abandono do tratamento e o uso errado e/ou irregular dos medicamentos. Tais condutas resultam em uma série de problemas, responsáveis tanto pela falência terapêutica quanto pela seleção de cepas resistentes e recidiva da doença (WHO, 2021).

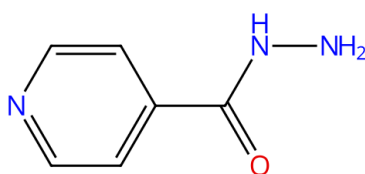
Em meados dos anos 70, foi desenvolvida a quimioterapia antituberculose de curta duração, composta por rifampicina(R), isoniazida(H) e pirazinamida(Z), com extensão de 6 meses (esquema RHZ). O Brasil foi o primeiro país do mundo a padronizar o esquema de 6 meses na rede pública de saúde, sendo todas as drogas administradas via oral e distribuídas de forma gratuita. Nos anos 80, as cápsulas com a combinação RH foram implementadas, já com o objetivo de evitar resistência bacteriana adquirida. Em 2009, o Brasil introduziu o uso de comprimidos com dose fixa combinada (DFC) e adicionou o etambutol (E) ao esquema RHZ (Brasil, 2024).

O esquema básico com comprimidos em doses fixas combinando os quatro fármacos (4 em 1) é indicado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e mundialmente utilizado, apresentando excelentes resultados quanto à efetividade, em particular pela maior adesão ao tratamento. Os comprimidos de doses fixas combinadas (DFC) apresentam as seguintes dosagens: Rifampicina (RIF) 150 mg, Isoniazida (INH) 75 mg, Pirazinamida (PYA) 400 mg e Etambutol (EMB) 275 mg (Lima *et al.*, 2015).

2.4.1 Isoniazida

A isoniazida (Figura 2) é um dos medicamentos antituberculose mais comuns. Ela é um pró-fármaco ativado a partir de uma reação de oxidação catalisada pela enzima catalase peroxidase (KatG), que converte a isoniazida em espécies reativas que se ligam à enoil-acil-proteína carreadora redutase (InhA), envolvida na biossíntese de ácidos graxos. O fármaco inibe a InhA de *M. tuberculosis*, formando um aduto covalente com o cofator NAD. O complexo isoniazida-NAD atua como um inibidor competitivo lento e de ligação estreita do InhA (Badawy *et al.*, 2023).

Figura 2: Estrutura química da isoniazida



Fonte: SciFinder

Uma vez ativada, a isoniazida impede a síntese de ácidos micólicos, um constituinte essencial da parede celular bacteriana. Em níveis terapêuticos, é bactericida contra organismos intracelulares e extracelulares em crescimento ativo (Vilchéze; Jacobs, 2019).

Também conhecida como hidrazida do ácido isonicotínico, a INH mata apenas bactérias que se replicam ativamente. Seu mecanismo de ação está associado com a ativação em um radical acila pela enzima catalase peroxidase. O radical consegue reagir com o dinucleotídeo de adenina nicotinamida para formar um aduto, que, por sua vez, inibe a enzima FAS II enoil-ACP redutase InhA, levando à morte celular (Rohde; Sorci, 2021).

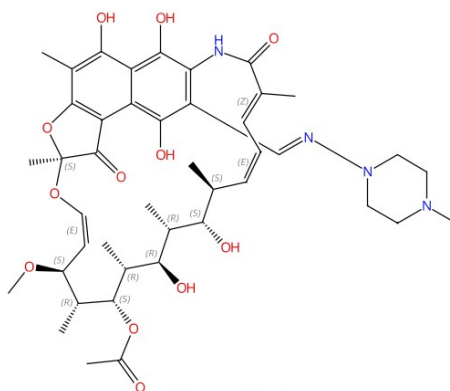
Duas vias moleculares primárias de resistência do *M. tuberculosis* à isoniazida estão ligadas a mutações genéticas nas enzimas KatG e InhA. A mutação genética mais comum na enzima KatG é a S315T (mutação da serina 315 para treonina), que afeta a ativação da isoniazida. A segunda ocorre na região promotora da enzima InhA, que induz a superexpressão da InhA ou, menos comumente, uma alteração no sítio ativo. Portanto, a afinidade da InhA pelo complexo isoniazida-NAD é reduzida (Hegde; Boshoff; Rusman *et al.*, 2021).

O uso de INH como monoterapia não é indicado em pacientes com TB ativa, pois seu uso extensivo no século passado levou ao surgimento de TB resistente, levando a necessidade de desenvolver novos medicamentos (Van Der Walt; Keddy, 2021).

2.4.2 Rifampicina

A RIF é um antibiótico bactericida de ampla atividade antibacteriana contra várias bactérias gram-positivas e gram-negativas, que foi descoberta em meados da década de 1960 e logo introduzida como estratégia terapêutica para tuberculose (Figura 3). Ela está na lista de medicamentos essenciais da OMS devido à sua importância crítica para a medicina humana (Sudzinová *et al.*, 2023).

Figura 3: Estrutura química da rifampicina



Fonte: SciFinder

O fármaco consegue entrar com facilidade no organismo após administração oral, sendo geralmente bem absorvido pelo trato gastrointestinal, de onde se distribui por todo o organismo, garantindo uma biodisponibilidade em torno de 90%. Adentra na bactéria por meio da difusão passiva, tendo como alvo a RNA polimerase dependente de DNA para inibir a síntese de RNA. Quatro grupos hidroxila da ponte ansa da rifampicina e do anel naftol criam ligações de hidrogênio com aminoácidos na RNA polimerase. Essa ligação ocorre dentro do canal DNA/RNA da subunidade β da RNA polimerase (RpoB), e desse modo, a molécula de RIF se liga a uma distância do sítio ativo da RNA polimerase (Malenfant; Brewer, 2021).

A rifampicina atinge a urina, saliva, suor, lágrimas, escarro e fezes, onde confere uma coloração laranja/vermelha. Também é excretada na bile e pode ser recirculada, prolongando sua meia-vida. O bacilo de Koch pode persistir em algumas pessoas, mesmo em cepas suscetíveis à rifampicina. Essa ausência de resposta pode ser decorrente de fatores do hospedeiro que regulam o fármaco, como receptores nucleares sensíveis a xenobióticos, que por sua vez modulam o efluxo do medicamento (Bahraminia *et al.*, 2021).

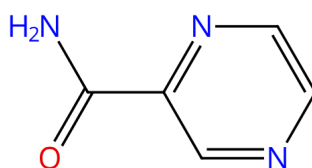
A resistência à rifampicina pode surgir por meio de três vias, que incluem a alteração da RNA polimerase da proteína alvo por meio de mutação de *rpoB* em vários locais ou no promotor para permitir a superprodução, a ribosilação de ADP da própria molécula de rifampicina e efluxo (Liu *et al.*, 2021).

As cepas de MTB resistentes à RIF são uma barreira importante para o tratamento e prevenção eficazes da TB. Embora essencial no tratamento da TB, o uso de RIF está associado a várias reações adversas e efeitos colaterais, incluindo distúrbios metabólicos, trombose e outras coagulopatias, e principalmente danos hepáticos (Alawad *et al.*, 2021).

2.4.3 Pirazinamida

A pirazinamida (Figura 4) é um derivado do ácido nicotínico, que apresenta estrutura molecular similar a isoniazida, sendo bem absorvida após a administração oral e distribuindo-se amplamente em todo o organismo (Zhang *et al.*, 2020).

Figura 4: Estrutura química da pirazinamida



Fonte: SciFinder

É bactericida e tem uma potente ação esterilizante, principalmente em meio ácido no interior dos macrófagos e em áreas de inflamação aguda. Em lesões pulmonares causadas por MTB, os bacilos fagocitados pelos macrófagos apresentam seu crescimento inibido pelo ambiente ácido do interior dos fagolisossomas. O crescimento também se encontra inibido nas zonas inflamatórias da parede cavitária pelo pH ácido. Esses bacilos, denominados persistentes e em fase de multiplicação esporádica, são os responsáveis pela recaída bacteriológica da tuberculose. Ela é o medicamento mais eficaz para eliminar essa população. (Quaresma *et al.*, 2021).

A atividade esterilizante da pirazinamida, permitiu a redução do esquema de tratamento RHZ para seis meses, uma vez que *M. tuberculosis* é o único microrganismo suscetível à pirazinamida. O medicamento é um pró-fármaco que necessita ser convertido por enzimas bacterianas (nicotinamidase/pirazinamidase) em sua forma ativa, o ácido pirazinoico (Purkan *et al.*, 2024).

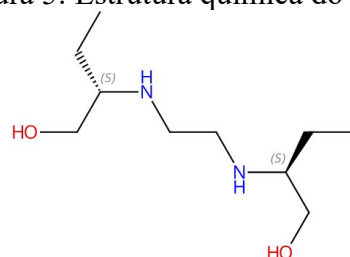
O mecanismo de ação da pirazinamida ainda é pouco conhecido, mas supõe-se que o fármaco penetra no bacilo de forma passiva e é convertido em ácido pirazinoico pela pirazinamidase, atingindo altas concentrações no citoplasma bacteriano em virtude de um ineficiente sistema de efluxo. O acúmulo de ácido pirazinoico diminui o pH intracelular a níveis que causam a inativação de enzimas, como a ácido graxo sintase I, fundamental para a síntese dos ácidos graxos e, em consequência, prejudicando a biossíntese do ácido micólico. A resistência à pirazinamida decorre de mutações no gene *pncA*, que codifica a enzima nicotinamidase/pirazinamidase e impede a conversão da pirazinamida para a forma ativa (Zhu *et al.*, 2018).

2.4.4 Etambutol

O etambutol (EMB) (Figura 5) é utilizado no tratamento da tuberculose pulmonar, mas não deve ser utilizado como regime único, e sim em conjunto com pelo menos, um fármaco antituberculoso, como a isoniazida. É eficaz contra cepas de *Mycobacterium tuberculosis*, mas menos eficaz contra vírus, fungos ou outras bactérias (Gonzalez-Torres *et al.*, 2021).

É considerado um medicamento bacteriostático, interferindo na biossíntese de arabinogalactano na parede celular, interrompendo a multiplicação dos bacilos. No entanto, os mecanismos moleculares subjacentes permanecem obscuros. Pesquisadores especulam que o etambutol possui efeitos sinérgicos com a INH contra MTB por meio de um repressor transcricional do gene *inhA*, um gene alvo da INH que codifica uma proteína redutase transportadora de enoil-acil, necessária para a integridade da parede celular bacteriana. Os resultados de um estudo indicam que o etambutol se liga a um regulador transcricional TetR que aumenta a sensibilidade do gene *inhA* à INH. Como resultado, o efeito bactericida da INH é aumentado (Mandal *et al.*, 2021).

Figura 5: Estrutura química do etambutol



Fonte: SciFinder

O EMB tem um papel importante no tratamento da tuberculose, como manter a eficácia dos regimes terapêuticos. Além disso, a incidência de toxicidade do EMB é menor do

que a de outros medicamentos anti-TB de primeira linha, especialmente em comparação com a INH. Acredita-se também que a toxicidade esteja relacionada a polimorfismos em certas enzimas metabolizadoras de fármacos (Horsburgh *et al.*, 2015).

2.5 Alvos moleculares

A capacidade de um fármaco alcançar e interagir com seu alvo molecular específico no organismo é um fator determinante para sua eficácia terapêutica e segurança clínica. Os alvos moleculares, que geralmente consistem em proteínas como enzimas, receptores, canais iônicos ou transportadores, são responsáveis por mediar os efeitos farmacológicos desejados. Dessa forma, a interação seletiva do composto com o alvo pretendido é essencial para a obtenção da resposta terapêutica adequada (Guo *et al.*, 2021).

A seletividade e especificidade da ligação do fármaco ao seu alvo reduzem significativamente a probabilidade de interações não específicas com outras biomoléculas, o que, por sua vez, diminui a ocorrência de efeitos adversos e tóxicos. Além disso, quando o fármaco atinge eficientemente seu alvo, é possível utilizar doses menores, otimizando a relação entre eficácia e segurança, além de reduzir custos e o risco de toxicidade sistêmica (Guo; O'Driscoll, 2021)

Elucidar os alvos moleculares envolvidos em determinadas patologias permite o desenvolvimento de terapias mais precisas e individualizadas, aumentando as taxas de sucesso terapêutico. Ainda, em doenças infecciosas, a ação específica sobre o alvo molecular pode retardar ou impedir o desenvolvimento de resistência, uma vez que a eficácia do tratamento compromete rapidamente a viabilidade celular do agente patogênico (Hu *et al.*, 2021).

Desse modo, garantir que o fármaco alcance de forma eficaz e seletiva seu alvo molecular constitui um princípio fundamental no desenvolvimento racional de medicamentos, sendo crucial para a obtenção de terapias mais seguras, eficazes e personalizadas (Jiang *et al.*, 2020).

2.5.1 Proteína receptora de AMPc

Proteínas alostéricas com múltiplas subunidades e sítios de ligação são centrais na regulação de sinais biológicos. A transdução de sinal é um processo essencial que permite às células lidar e responder a mudanças em seu ambiente. Muitas vias de sinalização dependem de pequenas moléculas para transduzir estímulos externos para uma ou mais proteínas efetoras dentro da célula. A AMPc (adenosina monofosfato cíclico) é uma pequena molécula que atua como um segundo mensageiro em muitas vias de transdução de sinal, incluindo a

regulação da expressão gênica em resposta a mudanças nas condições ambientais (Banks *et al.*, 2019).

A proteína receptora de AMPc, também conhecida como CRP, ou FNR (regulador global a redução de fumarato e nitrato), representa um alvo molecular emergente em *Mycobacterium tuberculosis* devido ao seu papel central na regulação da expressão gênica associada à virulência, adaptação intracelular e metabolismo da bactéria. Essa proteína atua como um fator de transcrição dependente de AMPc, um mensageiro secundário envolvido na resposta bacteriana a estímulos ambientais (Devaux *et al.*, 2018).

Em *M. tuberculosis*, a CRP se liga ao cAMP e sofre uma mudança conformacional que permite sua associação a sequências específicas do DNA, modulando a transcrição de genes que regulam processos críticos, como o metabolismo do carbono, a resistência ao estresse oxidativo, a dormência e a persistência bacteriana em ambientes hostis, como os fagossomos dos macrófagos (Carranza; Chavez-Galan, 2019).

A deleção ou inibição da proteína CRP em MTB resulta em atenuação significativa da virulência, sugerindo que essa proteína é essencial para a adaptação e sobrevivência do bacilo durante a infecção crônica. Além disso, o sistema CRP-cAMP regula genes associados à virulência, como aqueles envolvidos na biossíntese de lipídios da parede celular e no controle do metabolismo energético, fatores cruciais para a patogenicidade da micobactéria (Zhang *et al.*, 2018).

A exploração da proteína CRP como alvo molecular apresenta vantagens importantes, uma vez que a via de sinalização mediada por AMPc e seus reguladores transcricionais apresentam características estruturais e funcionais distintas das vias equivalentes em células humanas, favorecendo a seletividade dos compostos inibidores. Inibidores que interfiram na ligação do AMPc ou na interação da CRP com o DNA podem comprometer a capacidade adaptativa e infectante do patógeno, representando uma abordagem promissora para o desenvolvimento de novos agentes antimicobacterianos (Mehta *et al.*, 2022).

2.5.2 RNA polimerase

A RNA polimerase é considerada um alvo molecular essencial em *Mycobacterium tuberculosis* devido ao seu papel fundamental na transcrição gênica. Esta enzima catalisa a síntese de RNA a partir de um molde de DNA, sendo responsável por transcrever os genes necessários para a expressão de proteínas envolvidas no metabolismo, virulência e resposta ao estresse da bactéria (Jensen *et al.*, 2019).

Em *M. tuberculosis*, a RNA polimerase é composta por subunidades conservadas, destacando-se a subunidade β por ser o sítio de ligação de diversos inibidores, como a rifampicina, um dos principais fármacos de primeira linha no tratamento da tuberculose, atuando especificamente na inibição da atividade da RNA polimerase ao se ligar de forma estável à subunidade β , bloqueando a elongação da cadeia de RNA e, consequentemente, impedindo a síntese proteica bacteriana. Essa inibição leva à interrupção de funções celulares vitais, resultando na morte do bacilo (Vedithi *et al.*, 2020).

A escolha da RNA polimerase constitui um alvo molecular estratégico no combate à tuberculose, com implicações terapêuticas significativas e potencial para a identificação de novos inibidores com mecanismos de ação inovadores (Stefan *et al.*, 2018).

A compreensão dos mecanismos moleculares da resistência a medicamentos é vital, tendo em vista que *Mycobacterium tuberculosis* continua sendo uma ameaça substancial à saúde humana. Atualmente, mutações na região determinante de resistência à rifampicina da subunidade β da RNA polimerase compreendem 95% das mutações pontuais que conferem resistência à RIF (Zhang *et al.*, 2019).

2.5.3 Enoil-ACP-redutase

A enoil-ACP-redutase, também conhecida como InhA, é uma enzima essencial para a sobrevivência de *Mycobacterium tuberculosis*, sendo considerada um alvo molecular altamente relevante no desenvolvimento de fármacos antituberculosos. Essa enzima participa da fase de extensão na síntese de ácidos graxos de cadeia longa no sistema FAS-II (*Fatty Acid Synthase* II), catalisando a redução de proteína transportadora de enoil-acil (enoil-ACP) em acil-ACP. Essa etapa é fundamental para a biossíntese de ácidos micólicos, que conferem para a parede celular, características estruturais únicas, como elevada impermeabilidade, resistência a agentes químicos e proteção contra o sistema imune do hospedeiro, sendo, portanto, essenciais para a virulência e a sobrevivência intracelular do bacilo (Goudarzi *et al.*, 2019; Theuretzbacher *et al.*, 2020).

A InhA é o alvo direto ou indireto de importantes fármacos utilizados no tratamento da tuberculose, como a isoniazida, que é um pró-fármaco, necessitando ser ativado pela enzima KatG, produzindo um metabólito ativo que forma um aduto com NADH, o qual se liga e inibe diretamente a InhA. Essa inibição bloqueia a síntese de ácidos micólicos, desestabilizando a parede celular micobacteriana e levando à morte bacteriana. No entanto, mutações no gene que codifica a InhA ou na via de ativação da isoniazida (particularmente em KatG) são

mecanismos frequentes de resistência à isoniazida, o que evidencia ainda mais a importância terapêutica deste alvo (Davoodi *et al.*, 2023; Liang *et al.*, 2024).

Além de sua função essencial, a InhA apresenta estrutura distinta da enzima homóloga em células humanas, o que favorece a seletividade dos compostos inibidores e reduz o risco de toxicidade para o hospedeiro. Dessa forma, a enoil-ACP-redutase representa um alvo molecular estratégico em MTB, sendo amplamente explorada tanto nas terapias atualmente disponíveis quanto no desenvolvimento de novos agentes antimicobacterianos que possam atuar de forma mais eficaz, inclusive em cepas resistentes (Neha; Malik, 2022).

2.5.4 Isocitrato liase

A isocitrato liase (ICL) é uma enzima chave no ciclo do glioxilato, uma via metabólica alternativa ao ciclo do ácido tricarboxílico (ciclo de Krebs), e desempenha um papel essencial na adaptação e sobrevivência de *M. tuberculosis* em ambientes hostis, como o interior de macrófagos ativos. Diferentemente do ciclo de Krebs, o ciclo do glioxilato permite que a bactéria conserve carbono ao evitar as etapas descarboxilativas, o que é crucial durante a persistência em condições de estresse nutricional, como a limitação de glicose e a disponibilidade predominante de ácidos graxos como fontes de carbono (Cabrera, 2019).

Durante a infecção latente, o bacilo de Koch enfrenta um ambiente caracterizado por hipóxia, privação de nutrientes e pressão imunológica. Nessas condições, a ativação do ciclo do glioxilato, mediada pela isocitrato liase, permite à bactéria metabolizar lipídeos do hospedeiro como fonte energética, promovendo a manutenção de sua viabilidade por longos períodos em estado de dormência. A ICL catalisa a quebra do isocitrato em succinato e glioxilato, passando reações do ciclo de Krebs que liberariam CO₂, e viabilizando, assim, a conservação de esqueletos de carbono para biossíntese celular (Canuto *et al.*, 2018; Zuffo *et al.*, 2019).

Estudos de deleção do gene ICL demonstraram que cepas mutantes de *M. tuberculosis* deficientes nessa enzima são significativamente atenuadas em modelos de infecção murina, especialmente durante a fase crônica da doença. Isso confirma o papel da ICL na patogenicidade e persistência do bacilo. Além disso, como a via do glioxilato está ausente em humanos, a ICL representa um alvo molecular atrativo para o desenvolvimento de fármacos seletivos, com baixa probabilidade de efeitos adversos ao hospedeiro (Bhusal *et al.*, 2019; Méndez-López, 2019).

2.5.5 Fosfopanteteinil transferase

A fosfopanteteinil transferase (PPTase) é uma enzima essencial em *Mycobacterium tuberculosis*, responsável pela ativação funcional de várias proteínas envolvidas na biossíntese de metabólitos secundários, incluindo ácidos graxos, poliquetídeos e sideróforos. Essa enzima catalisa a transferência do grupo 4'-fosfopanteteína do coenzima A para resíduos de serina em domínios acil carreadores de proteínas (ACP) e proteína carreadora de peptídila (PCP) de enzimas multimodulares, como as sintases de ácidos graxos (FAS), poliquetídeo sintases (PKS) e não-ribossomal peptídeo sintases (NRPS). Esse processo de modificação pós-traducional é indispensável para converter essas proteínas de sua forma inativa para a forma ativa, possibilitando a elongação de cadeias lipídicas e peptídicas cruciais para a viabilidade e virulência bacteriana (Ottavi *et al.*, 2022).

No bacilo de *Koch*, a PPTase é particularmente relevante por sua participação na ativação de vias biossintéticas envolvidas na produção de ácidos micólicos e outros lipídios complexos da parede celular micobacteriana, estruturas essenciais que conferem resistência a agentes antimicrobianos e proteção contra o sistema imune do hospedeiro. Além disso, a PPTase também está envolvida na ativação de enzimas responsáveis pela biossíntese de sideróforos, como a micobactina, molécula fundamental para a aquisição de ferro durante a infecção, um nutriente vital cuja disponibilidade é limitada pelo hospedeiro como mecanismo de defesa (Mosior *et al.*, 2020; Singh *et al.*, 2024).

Do ponto de vista terapêutico, a PPTase representa um alvo molecular promissor por sua função central em múltiplas vias metabólicas essenciais e por apresentar diferenças estruturais significativas em relação às PPTases humanas, o que favorece o desenvolvimento de inibidores seletivos. A inibição dessa enzima compromete simultaneamente várias rotas biossintéticas críticas, resultando em efeitos bactericidas potentes. Além disso, sua inibição pode afetar diretamente a integridade da parede celular e a capacidade da bactéria de persistir no hospedeiro, sendo particularmente relevante no combate a cepas resistentes e à forma latente da tuberculose (Rohilla; Khare; Tyahi, 2018; Guduru; Gopiseti, 2020).

2.5.6 Cisteína sintase

A cisteína sintase é uma enzima envolvida na via de biossíntese da cisteína, um aminoácido sulfurado essencial para a homeostase redox e a biossíntese de biomoléculas em *Mycobacterium tuberculosis*. Essa enzima catalisa a conversão de O-acetilserina (OAS) em cisteína, utilizando sulfeto como doador de enxofre, sendo um dos principais componentes do

sistema de assimilação de enxofre da micobactéria. A cisteína desempenha papéis centrais na manutenção da função celular, não apenas como bloco construtor de proteínas, mas também como precursora de moléculas antioxidantes, como a micotiol — o análogo funcional da glutatona nas micobactérias (Burns; Mundhra, 2019; Hicks *et al.*, 2022).

Em *M. tuberculosis*, a cisteína sintase é parte de uma via biossintética alternativa não encontrada em humanos, o que aumenta seu valor como alvo terapêutico devido ao potencial de seletividade. A dependência da bactéria dessa via para a produção de cisteína é particularmente crítica durante a infecção, quando o patógeno é exposto ao estresse oxidativo gerado pelo sistema imune do hospedeiro. Nessas condições, a produção de micotiol e outros antioxidantes derivados da cisteína torna-se fundamental para neutralizar espécies reativas de oxigênio (ROS) e nitrogênio (RNS), protegendo a integridade celular e permitindo a persistência do bacilo em ambientes intracelulares hostis (Sao Emani *et al.*, 2022; Khan *et al.*, 2021).

Além disso, a inibição ou deleção de genes codificadores da cisteína sintase compromete significativamente a sobrevivência bacteriana, especialmente em fases de latência ou sob condições de estresse ambiental (Khan *et al.*, 2021).

A micobactéria possui isoformas da enzima, como CysK1 e CysK2, que podem ter funções distintas ou complementares na adaptação metabólica durante a infecção, ampliando as possibilidades de interferência terapêutica em diferentes contextos fisiológicos do bacilo (Egorova *et al.*, 2021).

2.5.7 Timidilato quinase

A timidilato quinase (TMPK) é uma enzima essencial no metabolismo de nucleotídeos. Ela catalisa a fosforilação do monofosfato de timidina (dTMP) a difosfato de timidina (dTDP), utilizando ATP como doador de fosfato. Essa reação é uma etapa indispensável na via de síntese do trifosfato de timidina (dTTP), um dos quatro desoxirribonucleotídeos necessários para a replicação e reparo do DNA (Jayanthi; Azam, 2023).

Na bactéria causadora da TB, a TMPK apresenta características bioquímicas e estruturais que a distinguem significativamente de sua contraparte em células humanas, o que proporciona uma janela terapêutica para o desenvolvimento de inibidores seletivos. Além disso, essa enzima está envolvida em um processo altamente regulado, já que o balanço adequado dos níveis de dNTPs é fundamental para a manutenção da integridade genômica e

da viabilidade celular. A inibição da TMPK resulta em deficiência de dTTP, causando interrupção da replicação do DNA, danos genômicos e, eventualmente, morte celular por colapso dos mecanismos de manutenção do genoma (Sukumar *et al.*, 2020).

Estudos de deleção gênica e inibição enzimática demonstram que a TMPK é indispensável em *M. tuberculosis*, tanto em condições de crescimento ativo quanto em modelos de infecção. Essa essencialidade, combinada à sua função altamente conservada e específica, torna a timidilato quinase um excelente alvo para agentes bactericidas, especialmente frente ao aumento global de cepas resistentes aos fármacos convencionais (Shahab *et al.*, 2024).

Adicionalmente, diversas abordagens estruturais utilizando cristalografia de raios X revelaram o sítio ativo da TMPK em MTB, possibilitando o desenho racional de inibidores baseados na ocupação do sítio de ligação do dTMP ou do ATP. Esses inibidores podem atuar como análogos de substrato ou como compostos que induzem alterações conformacionais incompatíveis com a atividade catalítica da enzima (Venugopala *et al.*, 2020).

A inibição dessa enzima compromete diretamente a replicação do DNA micobacteriano, tornando-a uma estratégia eficaz para o desenvolvimento de novos fármacos com potencial aplicação no combate à tuberculose, inclusive em suas formas resistentes e latentes (Chikhale *et al.*, 2024).

2.5.8 Antranilato fosforribosiltransferase

Mycobacterium tuberculosis é classificado como um organismo prototrófico, conseguindo reter a capacidade intrínseca de sintetizar componentes essenciais, incluindo os aminoácidos aromáticos (triptofano, tirosina e fenilalanina), através das vias do xiquimato e do corismato, contrastando fortemente com os hospedeiros mamíferos, que dependem inteiramente da ingestão alimentar (BARAL *et al.*, 2025). Essa capacidade é necessária para a sobrevivência do bacilo, especialmente quando habita ambientes com nutrientes limitados. Nos macrófagos, MTB tem acesso restrito ao triptofano, por esse motivo, a biossíntese de TRP é uma das vias metabólicas de aminoácidos mais investigadas e atraentes para o desenvolvimento de fármacos contra a tuberculose (Guida *et al.*, 2024)

A natureza essencial da biossíntese de triptofano para alguns patógenos gerou considerável interesse na exploração da inibição da antranilato fosforribosiltransferase (AnPRT). Em particular, foi demonstrado que os genes da via biossintética do triptofano estão

entre aqueles que permitem ao *M. tuberculosis* superar a defesa imune inata do hospedeiro (Castell *et al.*, 2013).

A antranilato fosforribosiltransferase (TrpD) é uma enzima central na via de síntese do triptofano em *M. tuberculosis*. Ela catalisa a transferência do grupo fosforribosil pirofosfato (PRPP) para o antranilato, formando N-(5'-fosforribosil)-antranilato, um intermediário-chave que direciona a via para a produção de triptofano. Essa reação constitui um dos primeiros passos comprometidos da rota biossintética, sendo portanto crítica para a viabilidade celular (Scully *et al.*, 2023).

A inibição de intermediários na via de síntese do triptofano em *Mycobacterium tuberculosis* compromete processos essenciais para a sobrevivência bacteriana, pois impede a produção endógena desse aminoácido indispensável à síntese proteica e à manutenção da homeostase celular. A redução dos níveis intracelulares de triptofano interrompe a elongação polipeptídica, levando ao acúmulo de proteínas incompletas e à ativação de respostas de estresse (Neves *et al.*, 2024). Como MTB depende fortemente dessa via, especialmente no interior dos macrófagos e durante a latência, sua inibição impede a manutenção de funções metabólicas necessárias à persistência, como reparo celular e expressão de fatores de virulência. Consequentemente, ocorre colapso metabólico progressivo, culminando em morte bacteriana, inicialmente por efeito bacteriostático e, posteriormente, bactericida (Libardo *et al.*, 2021).

Dessa forma, a inibição dessa via parece ser promissora, pois afeta processos essenciais, seletivos e não redundantes em *M. tuberculosis*, especialmente sob condições nas quais o bacilo apresenta maior dificuldade de controle terapêutico. Nesse sentido, a identificação de alvos metabólicos essenciais, oferece uma base sólida para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas contra a tuberculose. Entretanto, mesmo diante do potencial terapêutico associado a alvos bioquímicos essenciais, o avanço até a obtenção de um fármaco efetivo permanece um grande desafio.

2.6 Computer-Aided Drug Design (CADD)

O longo e trabalhoso processo de desenvolvimento de medicamentos costuma levar mais de 8 anos e milhões de dólares até ser concluído, antes que um produto farmacêutico esteja pronto para ser utilizado. Além disso, embora milhares de novos candidatos terapêuticos sejam encontrados em laboratórios a cada ano, apenas um número mínimo deles

consegue concluir o ensaio clínico e passar pelas rigorosas inspeções das agências reguladoras de medicamentos (Zhu, 2020).

Assim sendo, diversas variáveis limitantes da descoberta terapêutica vêm se tornando mais acessíveis por meio de avanços tecnológicos recentes, como o *design* de fármacos auxiliado por computador (CADD), a química computacional e as plataformas automatizadas. Grandes empresas farmacêuticas estão utilizando o CADD, que fornece um modelo *in silico* para métodos de química medicinal para analisar estruturas e prever as atividades biológicas de candidatos a fármacos, além dos benefícios de velocidade e acessibilidade (Neelam, 2025).

Nesse contexto, a triagem virtual (*Virtual Screening* – VS) constitui uma etapa estratégica e central do CADD, sendo amplamente empregada na seleção *in silico* de compostos bioativos a partir de grandes bibliotecas químicas. A VS tem como objetivo principal identificar moléculas com alta probabilidade de interagir com um alvo biológico específico, seja uma enzima, receptor, canal iônico ou qualquer outra macromolécula envolvida na fisiopatologia de uma determinada doença. Ela pode ser operacionalizada de duas formas principais, de acordo com o tipo de informação disponível: *Structure-Based Virtual Screening* (SBVS) e *Ligand-Based Virtual Screening* (LBVS) (Ejalonbuet *et al.*, 2021).

Ambas as abordagens são frequentemente integradas ao fluxo de trabalho do CADD, complementando-se e promovendo uma investigação significativa do espaço químico a ser explorado experimentalmente. Além disso, os compostos priorizados por triagem virtual podem ser submetidos, de forma subsequente, à análise de propriedades farmacocinéticas e toxicológicas preditivas (perfil ADMET) e outras otimizações estruturais (Oliveira *et al.*, 2023).

2.6.1 SBVS

A Triagem Virtual Baseada em Estrutura (SBVS) objetiva prever a melhor interação entre ligantes contra um determinado alvo molecular. Os métodos de SBVS precisam do conhecimento prévio da estrutura tridimensional da proteína alvo para prever, *in silico*, as interações entre o alvo e cada composto químico (Liu *et al.*, 2018). As informações relacionadas ao reconhecimento molecular do ligante na estrutura do receptor são avaliadas a partir do docking molecular e utilizadas como ponto de partida para o desenho e descoberta de novos compostos bioativos. Essas informações podem incluir a conformação do receptor, a afinidade de ligação ao ligante, as interações intermoleculares, a carga superficial molecular e a composição do resíduo do sítio de ligação (Maia *et al.*, 2020).

A partir do banco de dados *Protein Data Bank* (PDB), é possível obter as estruturas tridimensionais dos receptores. O *docking* molecular merece destaque devido ao seu baixo custo computacional e aos bons resultados alcançados. Ainda são vistas melhorias nas técnicas, um aumento na capacidade de processamento dos computadores e um acesso mais amplo aos dados estruturais das moléculas-alvo (Meng *et al.*, 2011; Burley *et al.*, 2021).

O desvio quadrático médio (*Root Mean Square Deviation*, RMSD) é uma métrica amplamente utilizada na bioinformática estrutural para avaliar a similaridade entre estruturas tridimensionais de biomoléculas, como proteínas e ácidos nucleicos. Ele corresponde à média das distâncias entre átomos equivalentes de duas estruturas após alinhamento espacial. Valores baixos de RMSD indicam alta similaridade estrutural, enquanto valores mais elevados refletem maiores diferenças conformacionais. O RMSD é amplamente aplicado na comparação entre estruturas experimentais e modelos computacionais, na avaliação de *docking* molecular, em simulações de dinâmica molecular e na validação de modelos preditivos (Tan; Kwoh; Mu, 2024).

A identificação e a caracterização de *pockets* em estruturas proteicas constituem etapas centrais na técnica de SBVS. Esses *pockets* correspondem a regiões formadas na proteína em função de sua conformação tridimensional, que podem atuar como sítios de ligação para pequenas moléculas. Nesse processo, é essencial empregar metodologias capazes de detectar e delimitar cavidades com potencial para interação ligante–proteína, além de caracterizar os *pockets* identificados. Como normalmente múltiplos *pockets* são detectados em uma mesma estrutura, a caracterização permite selecionar aqueles mais relevantes para a triagem virtual, direcionando a análise para regiões com maior probabilidade de desempenhar papel funcional ou apresentar afinidade significativa por ligantes (Rodriguez *et al.*, 2022).

Fpocket: O programa *fpocket* utiliza um método de pontuação denominado *druggability score*, empregado para estimar a probabilidade de um *pocket* atuar como sítio de ligação para moléculas com propriedades de fármacos. Esse escore varia de 0 a 1, refletindo o potencial do bolsão em interagir com um ligante: valores próximos de 0 indicam baixa probabilidade de ligação, enquanto valores próximos de 1 sugerem alta propensão a reconhecer e acomodar compostos bioativos (Le Guilloux; Schmidtke; Tuffery, 2009).

QuickVina2: A ferramenta QuickVina 2 é um *software* de *docking* molecular desenvolvido para acelerar processos de triagem virtual em estudos de descoberta de fármacos. Baseado no algoritmo do AutoDock Vina, o método foi projetado para manter a

confiabilidade das previsões de interação proteína–ligante enquanto reduz significativamente o tempo computacional necessário para as simulações. Para isso, o QuickVina 2 emprega estratégias heurísticas que evitam avaliações desnecessárias durante a busca conformacional do ligante no sítio de ligação da proteína, tornando o processo de otimização mais eficiente, mostrando-se uma ferramenta adequada para aplicações de triagem virtual em larga escala, sendo amplamente utilizada em estudos de planejamento de fármacos assistido por computador (Alhossary *et al.*, 2015). Isso possibilita a identificação de ligantes que apresentam maior probabilidade de mostrar alguma atividade farmacológica em relação ao alvo molecular. As funções de pontuação são empregadas com intuito de avaliar a probabilidade de um sítio de ligação demonstrar afinidade entre o ligante e o alvo. Nesse processo, uma função de pontuação confiável torna-se elemento crucial do processo de acoplamento (Leelananda; Lindert, 2016).

O QuickVina 2 classifica os resultados de docking com base na energia livre de ligação estimada (ΔG), expressa em kcal/mol, que representa a afinidade entre o ligante e o alvo biológico. Essa energia é calculada por uma função de pontuação que aproxima os termos energéticos envolvidos na interação, ordenando automaticamente as poses geradas do menor (mais favorável) para o maior valor de ΔG , sendo a melhor pose aquela com a energia mais negativa (Alhossary *et al.*, 2015).

A variação da energia livre de Gibbs (ΔG) representa a energia disponível para a realização de trabalho útil em condições de temperatura e pressão constantes. Valores de ΔG negativo indicam processos espontâneos e energeticamente favoráveis, enquanto valores positivos indicam reações não espontâneas. Quando ΔG é igual a zero, o sistema encontra-se em equilíbrio. No contexto da bioinformática, ΔG é amplamente utilizado para avaliar a estabilidade de interações biomoleculares, como em estudos de docking molecular, nos quais valores mais negativos estão associados a maior afinidade entre as moléculas (Pancotti *et al.*, 2022).

Protein–Ligand Interaction Profiler (PLIP): É uma ferramenta automática de extração de interações, que permite identificar e quantificar interações químicas, catalogar a frequência com que ocorrem e os grupos químicos que favorecem a estabilização do complexo. Isto favorece a prospecção, análise e avaliação *in silico* de moléculas candidatas, seguindo o pipeline da triagem virtual (Agu *et al.*, 2023).

2.6.2 LBVS

A Triagem Virtual Baseada em Ligantes (*Ligand-Based Virtual Screening – LBVS*) constitui uma abordagem computacional fundamental no *design* de fármacos auxiliado por computador (CADD), sobretudo em situações nas quais a estrutura tridimensional do alvo biológico não está disponível ou apresenta baixa resolução estrutural. (Hurtle *et al.*, 2024).

LBVS infere a probabilidade de novos compostos apresentarem atividade biológica semelhante através da análise de ligantes bioativos previamente caracterizados. O princípio fundamental da LBVS baseia-se na hipótese da similaridade molecular, segundo a qual moléculas com estruturas químicas ou propriedades físico-químicas semelhantes tendem a exibir perfis biológicos comparáveis (Ni *et al.*, 2024).

Partindo de um ou mais ligantes com atividade farmacológica comprovada, algoritmos computacionais são aplicados para identificar compostos análogos em vastas bibliotecas químicas que compartilhem características moleculares determinantes para a atividade. As principais ferramentas usadas na LBVS são abordagens de similaridade molecular 2D, pesquisas de similaridade 3D e modelagem QSAR. Essas informações são empregadas para identificar outros compostos que exibem similaridades de interesse em um banco de dados, seja por meio de diferentes tipos de medidas de similaridade ou pela busca de um farmacóforo ou subestrutura comum (Garcia-Hernandez *et al.*, 2019).

Farmacóforo: É definido como o conjunto de características estruturais e físico-químicas essenciais de uma molécula, responsáveis por sua interação com um alvo biológico e pela geração de uma resposta farmacológica. Essas características podem incluir regiões doadoras ou aceptoras de ligação de hidrogênio, áreas hidrofóbicas, centros aromáticos e grupos carregados, organizados em uma disposição espacial específica. Dessa forma, o farmacóforo representa um modelo abstrato das interações necessárias para a atividade biológica, sendo amplamente utilizado no planejamento de fármacos assistido por computador (Maldonado; Nogueira; Oliveroverbel. 2012).

O conceito de similaridade molecular é amplamente utilizado no contexto do LBVS, considerada uma característica importante que determina o êxito ou não de um método de triagem virtual (Singh *et al.*, 2021).

Para operacionalizar essa abordagem, são empregados bancos de dados químicos de acesso público, com destaque para o PubChem, que reúne informações estruturais, propriedades químicas, bioatividades experimentais e dados farmacológicos de milhões de

compostos submetidos por diversas instituições acadêmicas e industriais (Vázquez *et al.*, 2024).

Na prática, a pesquisa por similaridade estrutural no PubChem é utilizada para explorar o espaço químico adjacente a um composto bioativo conhecido, identificando moléculas análogas que compartilham núcleos estruturais ou grupos funcionais críticos para a interação com o alvo biológico (Kim *et al.*, 2025).

2.6.3 PHARMIT

O Pharmit é uma plataforma *web* interativa para a exploração virtual do espaço químico, focada em triagem virtual de grandes bibliotecas de compostos. A ferramenta integra pesquisa por farmacóforo, formas moleculares e minimização de energia em uma interface de navegação que permite a definição, edição e refinamento de consultas de triagem em tempo real. As consultas são formuladas com base em farmacóforos e em moléculas tridimensionais, possibilitando filtragem e classificação dos resultados por critérios energéticos após a busca inicial. A plataforma aceita bibliotecas pré-integradas e bases personalizadas carregadas pelo usuário, ampliando a aplicabilidade para diferentes contextos de *virtual screening*. A ferramenta disponibiliza uma interface gráfica baseada em navegador e está licenciada como *open source*, promovendo acessibilidade e personalização em projetos de descoberta de fármacos. Os resultados da busca podem ser classificados e filtrados utilizando a minimização de energia (Sunseri; Koes, 2016).

Nesse contexto, a plataforma possibilita a aplicação de filtros relacionados à *drug-likeness*, incluindo parâmetros derivados das regras de Lipinski, com o objetivo de restringir a busca a moléculas com propriedades físico-químicas compatíveis com boa biodisponibilidade oral. As regras de Lipinski, também conhecidas como “regra dos cinco”, estabelecem limites empíricos para propriedades moleculares, como massa molecular inferior a 500 Da, logP menor que 5, até 5 doadores e até 10 aceptadores de ligações de hidrogênio, que estão associadas à absorção e permeabilidade adequadas em sistemas biológicos. No Pharmit, esses critérios podem ser incorporados como filtros durante o processo de triagem, permitindo a exclusão de compostos que não atendem a tais requisitos, o que contribui para a priorização de candidatos com maior potencial farmacocinético (Lima *et al.*, 2025).

As moléculas identificadas a partir da prospecção baseada em grupos químicos precisam passar por etapas mais aprofundadas de avaliação, especialmente relacionada ao perfil físico-químico e farmacocinético.

2.6.4 Avaliação farmacocinética *in silico*

Um perfil farmacocinético inadequado, especialmente elevada toxicidade dos compostos candidatos, são causas determinantes de falha no desenvolvimento de medicamentos. Dessa forma, é indispensável avaliar precocemente as propriedades ADMET dos compostos químicos, visando identificar e eliminar os candidatos potencialmente problemáticos no início do processo, reduzindo tempo e recursos.

Para isso, pode ser utilizado o servidor *web* ADMET-AI, um preditor de propriedades farmacocinéticas e toxicológicas baseada em inteligência artificial, empregando modelos de redes neurais gráficas para estimar 49 parâmetros relacionados à absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade de pequenas moléculas. A ferramenta permite avaliar de forma clara e simplificada o perfil ADMET de compostos candidatos, auxiliando na priorização e otimização de moléculas durante as etapas de triagem para novos candidatos a fármacos (Swanson *et al.*, 2024).

O ADMET-AI permite realizar previsões para até 1.000 moléculas simultaneamente por meio da inserção de SMILES, do carregamento de arquivos CSV ou do desenho interativo de estruturas posteriormente convertidas para SMILES. As previsões obtidas são comparadas a um conjunto de 2.579 fármacos aprovados do *DrugBank*, que pode ser filtrado por classes terapêuticas, permitindo referências mais específicas. Os resultados da predição são apresentadas em formato tabular e contemplam 8 propriedades físico-químicas e 41 propriedades ADMET. No caso de propriedades contínuas, o modelo fornece valores diretamente nas respectivas unidades; para propriedades classificatórias, apresenta a probabilidade de a molécula exibir determinado comportamento. Adicionalmente, o sistema informa o percentil de cada predição em relação ao conjunto de referência do *DrugBank*. Todas as previsões podem ser exportadas em formato CSV para análise posterior (ADMET-AI, 2025).

O grande volume de dados gerado pelas ferramentas de predição em larga escala culmina na dificuldade de organizar, interpretar e comparar múltiplas propriedades ADMET para milhares de moléculas, o que compromete a priorização de candidatos promissores. Nesse sentido, foi desenvolvido o RankAdmet, um software *in house* desenvolvido no

Laboratório Multiusuário de Bioinformática e Análise de Dados (LAMBDA) em Python, projetado para otimizar e padronizar a análise e o ranqueamento de propriedades farmacocinéticas e toxicológicas (ADMET) de compostos químicos. A ferramenta integra previsões provenientes da plataforma ADMET-AI, permitindo a avaliação sistemática de parâmetros relacionados às propriedades físico-químicas, absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade. O software processa arquivos nos formatos .csv e .sdf, incluindo conjuntos extensos de moléculas oriundas do Pharmit, aplicando uma abordagem de pontuação multifatorial baseada no cálculo da média de todos os parâmetros avaliados, permitindo a consolidação de todos os resultados em duas planilhas ranqueadas e codificadas por cores, uma delas com todas as moléculas avaliadas e outra com as 50 melhores. Essa sistematização otimiza o fluxo de análise, permitindo identificar compostos com maior potencial farmacológico (Xavier, 2025).

3 PROBLEMATIZAÇÃO

A tuberculose permanece entre as principais causas de morbimortalidade por doença infecciosa no mundo, apesar da disponibilidade de um esquema terapêutico padronizado com fármacos de primeira linha, como isoniazida, rifampicina, pirazinamida e etambutol. A emergência e disseminação de cepas resistentes de *Mycobacterium tuberculosis*, associadas a mutações em alvos moleculares e a mecanismos intrínsecos de tolerância, têm comprometido a eficácia do tratamento. Além disso, características estruturais e metabólicas do bacilo, como a parede celular rica em lipídios e a capacidade de adaptação a ambientes adversos, dificultam a ação de antimicrobianos e favorecem a persistência da infecção.

Diante desse cenário, a identificação de novos candidatos a fármacos torna-se prioritária. Considerando que o desenvolvimento tradicional de medicamentos é demorado e oneroso, abordagens baseadas em bioinformática e design de fármacos auxiliado por computador, especialmente a integração entre triagem virtual baseada em ligante e baseada em estrutura, configuram uma estratégia racional para a prospecção de compostos bioativos.

Assim, propõe-se uma abordagem computacional integrada envolvendo busca farmacofórica, *docking* molecular, análise de interações proteína–ligante e avaliação farmacocinética *in silico*, com o objetivo de identificar moléculas promissoras contra proteínas-alvo de *M. tuberculosis*, com interações favoráveis e perfil ADMET compatível com o desenvolvimento futuro de candidatos a fármacos.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Identificar moléculas com potencial atividade contra proteínas de *Mycobacterium tuberculosis*, sugerindo-as para estudos *in vitro* e *in vivo*.

4.2 Objetivos específicos

- Executar experimentos de *docking* molecular para identificação dos grupos químicos;
- Fazer prospecção de moléculas baseada nos grupos químicos;
- Comparar o perfil farmacocinético com os fármacos de primeira linha para tuberculose;
- Validar as interações nos complexos mais promissores a partir de estudos da literatura.

5 METODOLOGIA

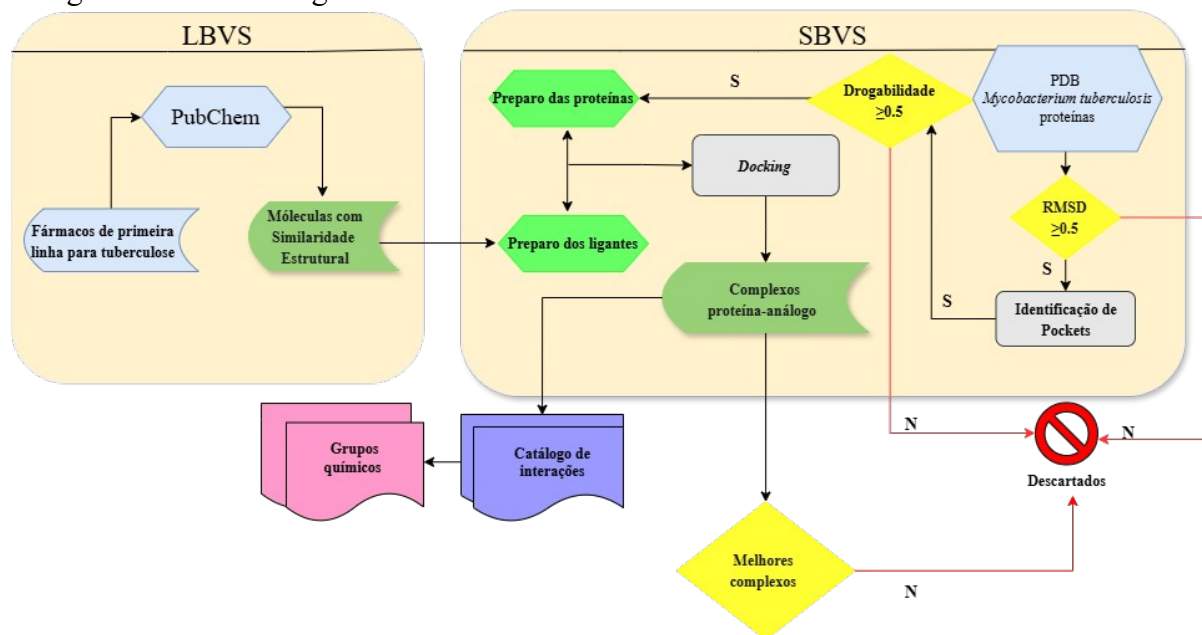
Este estudo propõe um fluxo de trabalho racional e integrado para identificação de novos compostos bioativos com atividade contra MTB, usando abordagem híbrida de triagem virtual baseada em ligante (LBVS), para identificar análogos em bases de dados, e baseada em estrutura (SBVS), para testar a afinidade desses análogos contra as estruturas das proteínas-alvo.

5.1 Identificação dos grupos químicos

Na etapa da LBVS (Fluxograma 2: LBVS), as moléculas estruturalmente análogas aos fármacos modelo de primeira linha para tuberculose foram baixados da base de dados PubChem adotando sua configuração padrão (KIM *et al.*, 2023) em formato SMILES, posteriormente convertidas para .pdb, visando recuperar a distribuição espacial de cada átomo, utilizando o programa *Open Babel* (O'BOYLE *et al.*, 2011).

Logo após, os ligantes foram convertidos para o formato .pdbqt utilizando o *script prepare_ligand4.py* do AutoDockTools, com parâmetros para a adição de hidrogênios e ligações de hidrogênio com posterior unificação dos hidrogênios não polares com o carbono ao qual estivessem ligados (Morris *et al.*, 2009; Irwin *et al.*, 2020). Os ligantes então preparados, serão ancorados nas proteínas alvo (*docking*)

Fluxograma 2: Metodologia híbrida LBVS e SBVS



O método é iniciado pelo SBVS (lado direito), através da seleção de estruturas tridimensionais de proteínas de MTB no PDB, seguido pelo cálculo do RMSD e comparação das estruturas, predição e filtragem de *pockets* a partir do score de drogabilidade. À esquerda, na LBVS, os fármacos de primeira linha para TB são usados para buscar moléculas estruturalmente semelhantes no PubChem. De volta a etapa SBVS, os ligantes e proteínas são preparados e submetidos ao docking, que gera os complexos, e a partir deles, cataloga interações pelo PLIP. São identificados os grupos químicos para nortear a busca farmacofórica. Fonte: Autor

A partir do banco de dados PDB (Fluxograma 2: SBVS), as estruturas tridimensionais dos receptores foram obtidas para a etapa de triagem virtual baseada em estrutura (em abril de 2024), no formato de arquivo pdb, usando o termo de busca “*Mycobacterium tuberculosis*”. Isto permitiu que diversas estruturas pertencentes a uma proteína fossem baixadas. Essa estratégia tende a simular “*ensemble docking*”, visto que diferentes conformações dos vários tipos de proteínas tenham sido baixadas (Burley *et al.*, 2021).

Após o download, os heteroátomos presentes nas estruturas foram removidos utilizando um *script in house*. O RMSD (*Root Mean Square Deviation*) das estruturas foi então calculado pelo programa *Mmalign*, em suas configurações padrão, visando descartar estruturas demasiadamente semelhantes, com RMSD menor que 0.5Å, as quais representem conformações iguais ou muito próximas da proteína, como uma forma de garantir que apenas conformações significativamente distintas fossem levadas para a etapa de *docking* (López-Camacho *et al.*, 2016).

O programa *fpocket* foi utilizado em sua configuração padrão para detectar cavidades com potencial para interagir com pequenas moléculas, desempenhando um papel central em abordagens de triagem virtual e design de fármacos baseados na estrutura do alvo. Dentre os diversos parâmetros calculados pelo *fpocket*, destaca-se o *druggability score*, que representa uma estimativa da capacidade de uma cavidade em se ligar a compostos com propriedades farmacológicas. Nesse estudo foram descartados aqueles *pockets* que apresentaram *druggability score* inferior a 0.5 (Le Guilloux; Schmidtke; Tuffery, 2009).

O script *prepare_receptor4.py*, incluído no programa AutoDockTools, foi empregado para fazer a preparação dos receptores, atendendo parâmetros para adição de ligações hidrogênicos (caso não haja nenhuma), unificação e remoção de hidrogênicos não polares, remoção de água e de resíduos de aminoácido não canônicos (Morris *et al.*, 2009).

As proteínas e os ligantes previamente preparados foram convertidos de .pdb para .pdbqt e submetidos ao *docking* molecular, executado com o programa Quick Vina 2 (Alhossary *et al.*, 2015), com valor de *exhaustiveness* 100 e *num_modes* para 10, no local da proteína identificada pelo *fpocket*. A partir dessa etapa foram gerados os complexos proteína-ligante, classificados em ordem crescente de afinidade kcal/mol, a fim de identificar os mais promissores (Burley *et al.*, 2021).

Através do PLIP (*Protein-Ligand Interaction Profiler*), utilizando sua configuração padrão, foi possível catalogar as interações em todos complexos, registrando informações

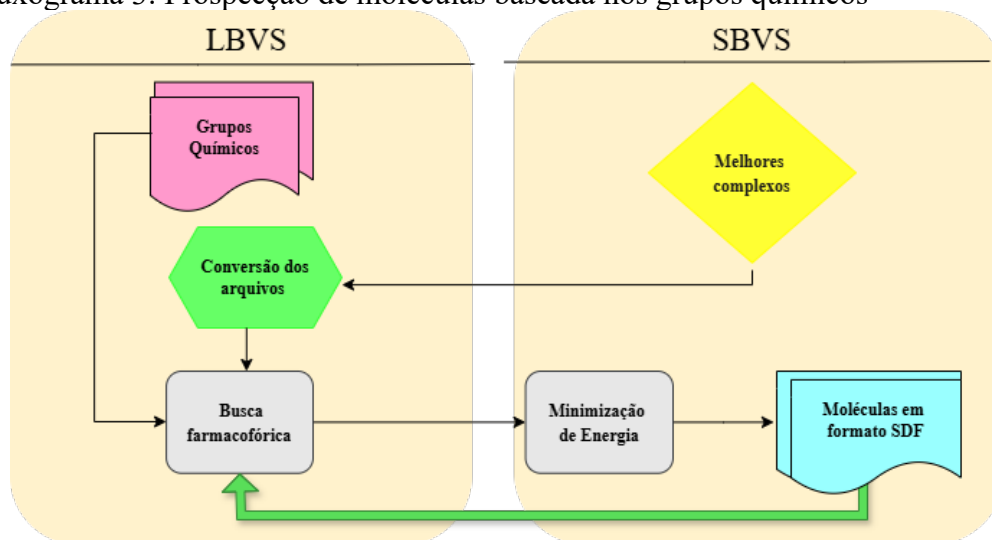
como cadeia proteica, identificação e numeração dos resíduos, átomos aceitadores e doadores de hidrogênio, distância entre as interações e coordenadas nos eixos X, Y e Z dos átomos da proteína e do ligante. A ferramenta também permitiu identificar diferentes tipos de interações, como ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas, pontes salinas, empilhamento π - π , interações cátion- π , ligações de halogênio, interações metálicas e pontes mediadas por moléculas de água (Schake *et al.*, 2025).

Com base nas interações catalogadas, os grupos químicos foram definidos a partir da presença de, no mínimo, cinco interações simultâneas em, pelo menos, duas moléculas (Salentin *et al.*, 2015). A partir dos resultados do *docking*, os complexos que apresentaram *scores* (ΔG) melhores que os fármacos modelo, foram selecionados para a fase seguinte da pesquisa, que compreendia a prospecção de moléculas baseada nos grupos químicos.

5.2 Prospecção de moléculas baseada nos grupos químicos

Os grupos químicos foram utilizados para nortear a busca farmacofórica através do Pharmit (PHARMIT, 2025), que reúne moléculas de 10 bancos de dados: ChEMBL, ChemDive, ChemSpace, Enamine, MCULE, MolPort, NCI, PubChem, LabNetwork e ZINC (Fluxograma 3).

Fluxograma 3: Prospecção de moléculas baseada nos grupos químicos



Seleção dos grupos químicos dos melhores complexos para busca farmacofórica no Pharmit. As moléculas localizadas passam por minimização de energia e são armazenadas em arquivos no formato .sdf para avaliação farmacocinética. Essa etapa é recursiva para cada grupo químico nos complexos. Fonte: Autor.

Para otimizar a busca, filtros específicos foram adotados como critérios para selecionar compostos entre uma faixa de peso molecular de 300-600, com o número de *logP* e

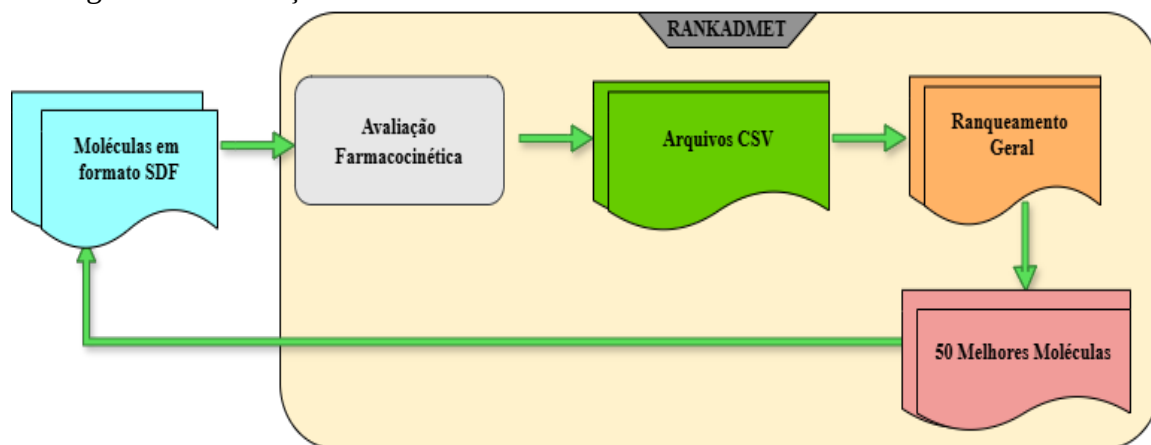
ligações rotacionáveis entre 3 e 6, aceptores de hidrogênios de 4 a 12 e doadores de 0 a 6. Esses filtros estão baseados na regra de 5 de Lipinski, que compreende um conjunto de critérios usados para prever se uma molécula pequena tem boa permeabilidade celular e potencial para ser um fármaco administrado por via oral.

A partir desse processo, as moléculas mais promissoras obtidas nas consultas do Pharmit foram submetidas à minimização de energia (Fluxograma 3: LBVS). A etapa é recursiva e foi realizada várias vezes, adotando diferentes combinações de grupos químicos. Aquelas moléculas que apresentaram valores de score mais negativos ou equivalentes aos dos fármacos modelo foram selecionadas, baixadas e armazenadas no formato .sdf, seguindo para a etapa de avaliação farmacocinética. Em contrapartida, as moléculas que não atenderam a esse critério foram descartadas.

5.3 Avaliação farmacocinética *in silico*

Para predição das propriedades farmacocinéticas dos candidatos a fármaco prospectados, foi usado o programa ADMET-AI, visando analisar as características físico-químicas dos compostos selecionados na etapa anterior e comparar com os fármacos modelo (Rifampicina, Isoniazida, Pirazinamida e Etambutol) (Fluxograma 4).

Fluxograma 4: Avaliação farmacocinética *in silico*



As moléculas em formato .sdf seguem para avaliação no ADMET-AI, e esses resultados são baixados em formato .csv, permitindo ranqueamento geral a partir do cálculo da média dos seus 49 parâmetros realizado pelo Rankadmet. Além desta, é gerada uma tabela com as 50 melhores moléculas. Fonte: Autor

As moléculas gravadas em formato .sdf, foram submetidas ao ADMET-AI para predição das propriedades físico-químicas e ADMET, com o intuito de prever aspectos relacionados à viabilidade e segurança desses compostos. As propriedades preditas no ADMET-AI foram baixadas em formato .csv e submetidas à ferramenta computacional *RankAdmet* (Xavier, 2025) para calcular o score dos grupos ADMET e o score geral da

predição. Essa etapa é recursiva, e pode ser executada muitas vezes, à medida que são baixadas novas moléculas em formato SDF. O *RankAdmet* classifica as moléculas em ordem decrescente de score e grava em uma planilha, retirando desta as 50 melhores moléculas para comparação das propriedades farmacocinéticas com os fármacos de primeira linha.

As moléculas listadas na planilha das 50 melhores, assim como os fármacos de primeira linha para tuberculose, foram submetidas ao *docking* molecular utilizando o software Quick Vina 2.0, com os mesmos parâmetros anteriormente descritos. Os complexos com melhor afinidade (menor valor de ΔG) foram selecionadas para caracterização das moléculas e do seu perfil de interação com a proteína-alvo.

5.4 Validação das interações dos melhores complexos

O PyMOL (Schrodinger, 2015) foi usado para a visualização e geração da imagem dos complexos, gravando a proteína e o ligante em único arquivo em formato .pdb.

O arquivo .pdb foi submetido ao *Discovery Studio* (Biovia, 2024), onde as interações entre os resíduos de aminoácidos e os ligantes foram caracterizadas utilizando os recursos de visualização 3D e geração de diagramas de interação 2D do software. O mapeamento incluiu a identificação de ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas, interações iônicas e pontes salinas, bem como a determinação das distâncias entre átomos participantes das interações. Os diagramas 2D gerados pelo software fornecem uma representação clara e padronizada, destacando os resíduos envolvidos e os tipos de interações estabelecidos, sendo úteis para documentação e análise comparativa com outros estudos.

5.5 Ferramentas computacionais para auxílio de escrita e revisão textual

No contexto da escrita acadêmica, sistemas de IA podem auxiliar na organização estrutural do texto e na adequação do registro linguístico. Além disso, essas ferramentas são empregadas na detecção de inconsistências sintáticas, ambiguidade semântica, redundâncias e desvios de norma culta, reduzindo erros recorrentes e otimizando o tempo dedicado à revisão manual. Nessa pesquisa, o Gemini Pro(Google, 2024) e ChatGPT(OpenAI, 2024) foram empregadas exclusivamente como meio para busca de artigos científicos, revisão linguística e organização textual, com o objetivo de aprimorar a coesão, a clareza, a fluidez e a padronização da escrita acadêmica, não permitindo interferências no conteúdo científico, na definição da metodologia, na análise dos dados ou na interpretação dos resultados.

Foram utilizados basicamente dois *prompts*, o primeiro deles para localização de artigos científicos (“localize artigos sobre o tema X entre os anos de 2015 e 2025”), e o

segundo, para refinamento e revisão textual (“revise o texto, retirando repetições e redundâncias, mantendo o rigor científico e o sentido das informações”).

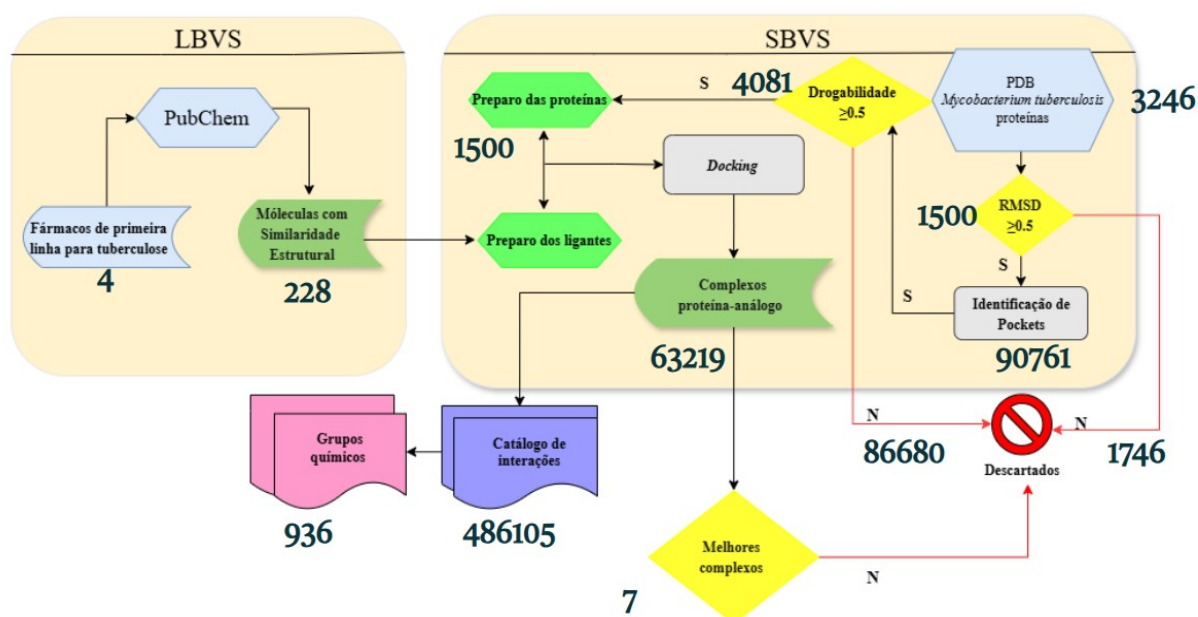
Apesar dos benefícios, o uso dessas ferramentas deve ser compreendido como complementar à atuação do pesquisador, não substituindo o julgamento crítico, o domínio conceitual do tema e a responsabilidade ética na produção científica.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na etapa de LBVS, foram identificados 228 análogos aos quatro fármacos de primeira linha para tuberculose a partir do banco de dados PubChem (Kim *et al.*, 2023). Na etapa de SBVS, foram localizadas 3.246 estruturas tridimensionais de proteínas de MTB no PDB (Burley *et al.*, 2021), que em seguida foram submetidas a uma comparação por RMSD utilizando o programa *MMalign* que eliminou 1.746 estruturas demasiadamente semelhantes com RMSD menor que 0.5 angstroms. As 1.500 estruturas que seguiram foram submetidas ao *fpocket* (Le Guilloux; Schmidtke; Tuffery, 2009), que identificou 90761 *pockets*, dos quais 4081 tiveram um *drugability score* superior ou igual a 0,5.

Com 228 análogos e 4.081 *pockets* obtidos, foram formados um total de 63.219 complexos proteína-ligante resultantes do *docking* molecular. Utilizando o PLIP, foi possível catalogar 486.105 interações e identificar 936 grupos químicos.

Fluxograma 5: Resultados quantitativos



Resultados numéricos obtidos a partir de cada etapa da metodologia. Fonte: Autor.

Os grupos químicos nortearam a busca farmacofórica no PHARMIT, permitindo prospectar 117.198 moléculas, que foram baixadas em formato .sdf e seguiram para avaliação farmacocinética e físico-química no ADMET-AI.

Os resultados foram processados por meio do RankAdmet, responsável pela classificação e ranqueamento das moléculas avaliadas. As análises foram organizadas em duas planilhas distintas: uma contendo a classificação geral de todos os compostos investigados e outra contemplando apenas as 50 moléculas com melhor desempenho nos parâmetros analisados.

As moléculas identificadas apresentarem perfis ADMET distintos, especialmente quando comparados aos fármacos modelo. De modo geral, 563 foram classificadas como melhores que a rifampicina, 113.974 que a isoniazida, 96.310 melhores que a pirazinamida e 29.565 que o etambutol, levando em consideração o score gerado pelo cálculo da predição ADMET pelo RankAdmet e o score de afinidade com o alvo. Os melhores complexos foram avaliados individualmente, e as informações relacionadas a cada um deles será apresentada nas sessões seguintes.

Foram selecionados os sete melhores sítios de ligação a partir da classificação em ordem crescente de afinidade kcal/mol (Tabela 1).

Tabela 1: Melhores sítios de ligação

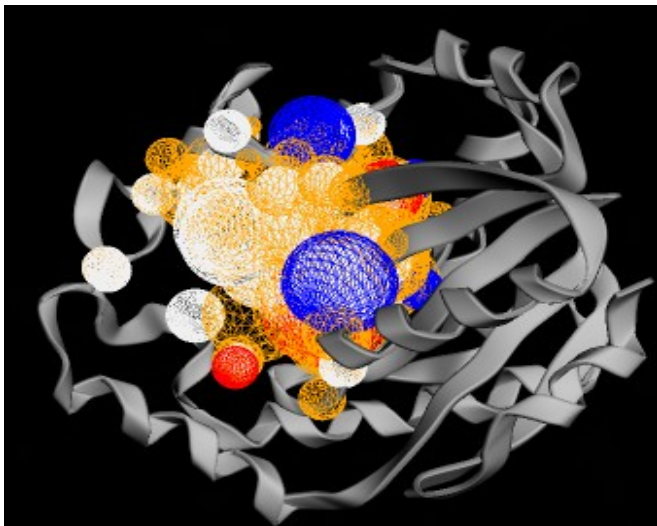
PDB	Proteína	Pocket	ΔG	Grupos químicos	Moléculas avaliadas
1GTV	Timidilato quinase	Pocket 1	-20.20	230	4.556
5MTP	Proteína transportadora de enoil-acil-redutase	Pocket 1	-13	95	9.900
4GKM	Antranilato fosforibosiltransferase	Pocket 1	-12.50	67	59.058
8GKF	Fosfopanteteinil transferase	Pocket 3	-12.50	91	3.236
3H3U	Proteína receptora de AMPc	Pocket 17	-12.30	104	1.198
6EDW	Isocitrato liase	Pocket 3	-12	186	5.639
5I7R	Cisteína sintase	Pocket 1	-11.80	163	33.611
TOTAL				936	117.198

Da esquerda para a direita, as colunas representam a estrutura PDB, a proteína alvo, o pocket, o ΔG , a quantidade de grupos químicos e a quantidade de moléculas avaliadas. Fonte: Autor.

6.1 Sítio de ligação 1GTV - *pocket 1*

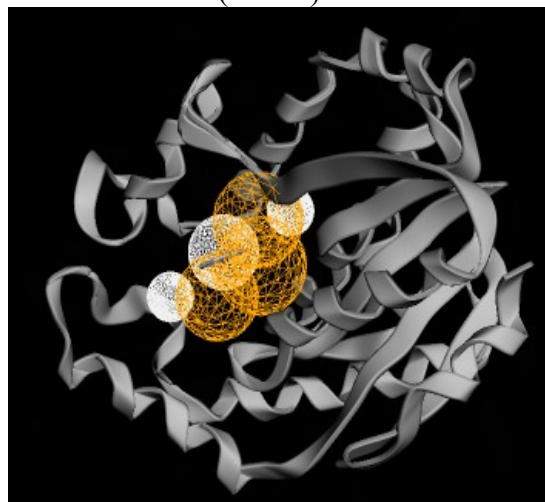
O primeiro sítio avaliado corresponde a timidilato quinase de *Mycobacterium TB tuberculosis* complexada com timidina-5-difosfato, onde, através do PLIP foram identificados 230 grupos químicos (Figura 6) que permitiu a prospecção de 4.556 moléculas, sendo a conformação que apresentou melhor resultado ilustrada na (Figura 7).

Figura 6: Combinação com todos os grupos químicos possíveis (1GTV)



Relação de todos os grupos químicos do complexo. As esferas amarelas indicam os aceptores de hidrogênio; as verdes indica a interação hidrofóbicas, as brancas são doadores de hidrogênio, as azuis são íons positivos e vermelhas íons negativos. O tamanho da esfera reflete o espaço químico da busca. Fonte: Autor usando Pharmit.

Figura 7: Grupos químicos que trouxeram o melhor resultado (1GTV)



Combinação de grupos químicos que trouxe as moléculas mais promissoras. O tamanho da esfera reflete o espaço químico da busca. Fonte: Autor usando Pharmit.

Esta etapa de busca localizou 4.556 moléculas contidas nos dez bancos de dados do PHARMIT, que foram submetidas à avaliação ADMET que classificou os compostos em ordem decrescente de score geral, predito pela média dos 49 parâmetros avaliados.

Em vermelho estão destacadas as três melhores moléculas do complexo, considerando tanto o score do RankAdmet quanto a afinidade com o alvo (Tabela 2).

Tabela 2: Classificação ADMET das moléculas do sítio 1GTV – *pocket 1*

ID	AFFINITY	RANK	PFQ	ABS	DIS	MET	EXC	TOX
MolPort-002-770-295	-9,00	0,09	0,38	0,56	0,83	0,38	0,33	0,19
PubChem-69843444	-8,15	0,18	0,19	0,44	0,50	0,06	0,17	0,17
Z6046295678	-15,04	0,23	0,13	0,44	0,50	0,13	0,17	0,08
ZINC000104091048	-11,17	0,25	0,25	0,63	0,50	0,19	0,00	0,14
MCULE-2164199726	-16,06	0,25	0,19	0,44	0,67	0,13	0,17	0,14
MCULE-6167769423	-13,73	0,25	0,19	0,50	0,33	0,31	0,33	0,11
Z5000146514	-10,78	0,25	0,13	0,56	0,50	0,06	0,00	0,06
ZINC000104090473	-11,02	0,27	0,19	0,56	0,67	0,19	0,17	0,17
PubChem-123460268	-12,54	0,27	0,25	0,44	0,33	0,13	0,00	0,14
PubChem-129026664	-13,55	0,27	0,38	0,38	0,33	0,00	0,00	0,08
RIFAMPICINA	119,20	0,28	0,28	0,27	0,88	0,68	0,68	0,06
ETAMBUTOL	-11,70	0,36	0,19	0,50	0,17	0,06	0,00	0,11
PIRAZINAMIDA	-10,60	0,53	0,25	0,44	0,67	0,06	0,33	0,08
ISONIAZIDA	-13,20	0,65	0,25	0,44	0,50	0,19	0,33	0,25

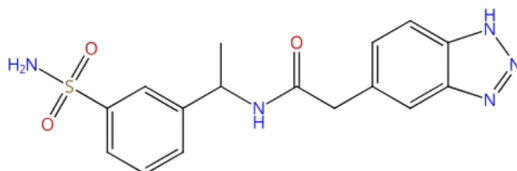
Classificação dos compostos pelo RankAdmet: compreende o ID (identificação da molécula), AFFINITY (afinidade em kcal·mol⁻¹), RANK (média dos 49 parâmetros avaliados), PFQ (propriedades físico-químicas), ABS (absorção), DIS (distribuição), MET (metabolismo), EXC (excreção) e TOX (toxicidade). Verde: identifica perfis favoráveis (0 – 3); Amarelo: intermediários (0,301 – 0,700); Vermelho: desfavoráveis (0,701, - 1). Cor púrpura: fármacos de primeira linha.

6.1.1 Melhores moléculas do sítio de ligação 1GTV – *pocket 1*

Dentre as moléculas identificadas, Z6046295676 (A1), MCULE-2164199276 (A2) e Z5000146514 (A3), marcadas em vermelho, são consideradas as mais promissoras neste complexo, no entanto, ainda existem outras moléculas que merecem atenção por se mostrarem promissoras mediante avaliação farmacocinética gerenciada pelo RankAdmet, onde 6 são melhores que a rifampicina, 4.550 que a isoniazida, 3.665 que a pirazinamida e 31 melhores que o etambutol.

A molécula que mais se destacou foi Z6046295676 (A1), com score de afinidade em -15,037, apresentando a maioria dos parâmetros favoráveis, tendo apenas dois intermediários: absorção e distribuição, com destaque para as regras de Lipinski, a alta afinidade com o alvo e baixa toxicidade.

Figura 8: (A1) Z6046295676



CAS: 2871461-44-6 Fonte: SciFinder

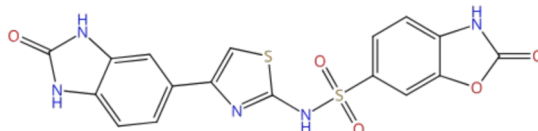
A molécula A1 (Figura 8) corresponde ao *1H-Benzotriazol-6-acetamida,N-[1-[3-(aminossulfonil)fenil]etil]*, um derivado complexo do benzotriazol, que inclui um grupo sulfonamida e um grupo etil-fenil substituído, sendo investigado para aplicações farmacêuticas, possivelmente como um inibidor enzimático ou um modulador de receptores, devido à natureza comum desses grupos em medicamentos. O principal alvo biológico desse composto é a família de enzimas anidrase carbônica, que catalisam a hidratação reversível do dióxido de carbono e da água em bicarbonato e prótons, sendo essencial para manter o equilíbrio ácido base, a respiração e vários processos secretórios (Alper *et al.*, 2017).

Considerando que o genoma de *Mycobacterium tuberculosis* codifica pelo menos três β -anidrases carbônicas diferentes das CAs humanas (classe α), esta característica favorece a seletividade natural. É visto ainda que a inibição da β -CA compromete a viabilidade bacteriana, especialmente em condições de estresse (Nishimoria *et al.*, 2010). Diante disso, esta molécula demonstra-se promissora no contexto de descoberta de novos mecanismos de ação frente à tuberculose, contudo, ainda demanda validação farmacológica mais robusta. Esta molécula já é sintetizada e comercializada por *Enamine HTS Collection*, com pureza entre 90-94%

A segunda molécula, MCULE-2164199276 (A2), apresenta score de afinidade de -16,06, e apenas as características de absorção e distribuição como intermediárias, por outro lado, possui alta afinidade com o alvo e baixa toxicidade, se destacando em comparação aos fármacos modelo. Ela corresponde a *6-Benzoxazolesulfonamide, N-[4-(2,3-dihydro-2-oxo-1H-benzimidazol-5-yl)-2-thiazolyl]-2,3-dihydro-2-oxo-* (ACI), definida principalmente por seu papel como um potente inibidor da morte celular induzida por Bax. Bax é um membro da família Bcl-2, existindo como um monômero citosólico em células saudáveis, que, ao receber sinais apoptóticos, sofre uma mudança conformacional que permite se inserir na membrana

externa mitocondrial, formando poros que liberam citocromo C e outros fatores pró-apoptóticos (American Chemical Society, SciFinder, 2025). O composto A2 passou por triagem preliminar de toxicidade e embora a estrutura seja geralmente bem tolerada em concentrações terapêuticas, altas doses podem levar a interações com outras vias celulares. A molécula já é sintetizada e comercializada pela *Aurora Fine Chemicals*, com pureza entre 95 e 98% (Figura 9).

Figura 9: (A2) MCULE-2164199276



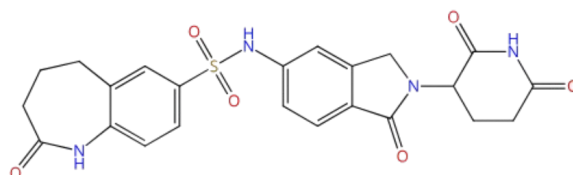
CAS:2339320-87-3 Fonte:SciFinder

Considerando que o tratamento padrão da tuberculose é caracterizado por esquemas prolongados, isto implica exposição sistêmica contínua ao fármaco, aumentando a probabilidade de efeitos adversos cumulativos, interações medicamentosas e toxicidade dependente de dose, sendo assim, a segurança do composto deve ser interpretada não apenas sob a perspectiva de toxicidade aguda, mas também considerando potenciais efeitos crônicos decorrentes da administração prolongada, característica intrínseca ao tratamento antituberculose.

A terceira molécula destacada corresponde a Z5000146514 (A3), que assim como as duas anteriores, apresenta apenas os critérios de absorção e distribuição como intermediários, baixa toxicidade e alta afinidade com o alvo, com score de -10,78. Ela pertence a classe dos moduladores da ligase E3 cereblon, com foco nos derivados de 1H-1-benzazepina-7-sulfonamida como colas moleculares capazes de induzir degradação proteica direcionada.

Essas moléculas atuam como entidades monoméricas que promovem a aproximação entre a ligase E3 CRL4-CRBN e um neosubstrato, principalmente o GSPT1, levando à sua ubiquitinação e degradação pelo proteassoma (Figura 10) (Sasso *et al.*, 2022).

Figura 10: (A3) Z5000146514



CAS: 2761405-91-6 Fonte: SciFinder

Embora moduladores de cereblon não sejam diretamente aplicáveis como estratégia terapêutica contra *M. tuberculosis*, o conceito de degradação proteica induzida por pequenas

moléculas permanece relevante. A exploração do sistema de proteínas semelhantes à ubiquitina em micobactérias representa uma alternativa promissora para o desenvolvimento de agentes antituberculose inovadores, sobretudo por se tratar de um mecanismo essencial à sobrevivência bacteriana sob estresse oxidativo e condições intracelulares. A molécula é comercializada por *Enamine Functional Collection* e *Aurora Screening Compounds 2* com pureza que varia entre 90 e 94%.

A avaliação integrada dos parâmetros de *docking* molecular e do perfil ADMET permitiu comparar o desempenho das moléculas selecionadas com os fármacos de primeira linha utilizados no tratamento da tuberculose, considerando tanto a afinidade de ligação, expressa em kcal/mol (AFFINITY), quanto o índice médio (RANK), calculado a partir da média dos 49 descritores farmacocinéticos e toxicológicos.

As moléculas destacadas (A1, A2 e A3), apresentaram valores de afinidade variando entre -10,78 e -16,06 kcal/mol, todos mais favoráveis que etambutol, pirazinamida e isoniazida, e substancialmente superiores ao valor obtido para a rifampicina. Esses resultados sugerem maior estabilidade do complexo proteína-ligante para os compostos selecionados, especialmente a molécula A2, que apresentou a melhor afinidade dentre todas (-16,06 kcal/mol), superando inclusive a isoniazida, que é um dos principais pilares terapêuticos no esquema padrão.

A análise dos parâmetros ADMET demonstrou que os compostos selecionados mantêm equilíbrio adequado entre absorção (ABS), distribuição (DIS) e excreção (EXC), sem elevação expressiva do parâmetro de toxicidade (TOX), sugerindo potencial viabilidade farmacocinética, ao menos em nível preditivo *in silico*.

Comparativamente, a rifampicina, embora seja altamente eficaz clinicamente, apresentou desempenho inferior na afinidade predita e valores desfavoráveis em parâmetros relacionados à distribuição e metabolismo, o que pode refletir sua conhecida complexidade farmacocinética e extensa metabolização hepática. Esses resultados reforçam que compostos com melhor desempenho *in silico* podem apresentar vantagens estruturais específicas frente ao alvo analisado, ainda que a eficácia clínica dependa de múltiplos fatores adicionais.

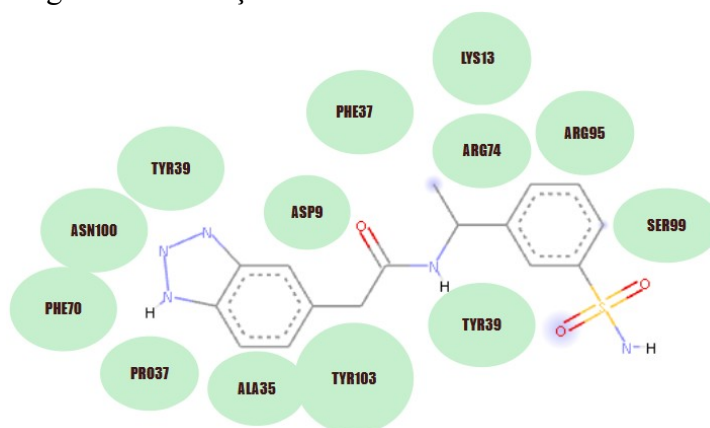
De maneira geral, a integração entre afinidade de ligação e perfil ADMET sugere que as moléculas destacadas possuem potencial para prosseguimento em etapas posteriores de validação, visto que predições computacionais representam etapa inicial do processo de

descoberta de fármacos, sendo indispensável a confirmação experimental para validação do potencial terapêutico observado.

6.1.2 Validação das interações no sítio de ligação 1GTV – *pocket* 1

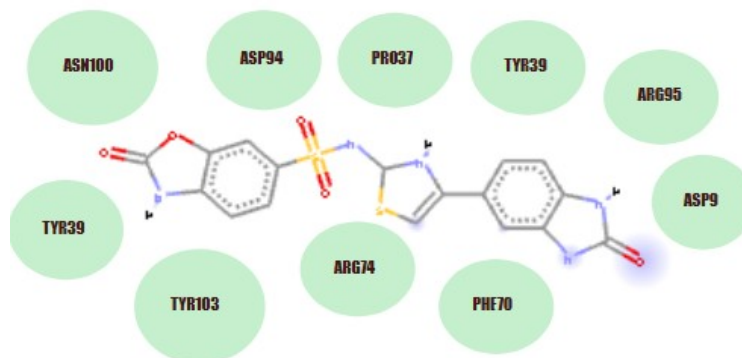
As três moléculas deste estudo foram encaminhadas para avaliação e caracterização das interações. As estruturas dos complexos proteína–ligante foram salvas em formato *.pdb* e posteriormente analisadas no software *Discovery Studio Visualizer*. Para esse complexo específico, o software não permitiu a geração do diagrama bidimensional (2D). Dessa forma, o catálogo de interações gerado pelo PLIP foi utilizado para identificar os resíduos e as interações, representadas nas figuras 11,12 e 13 em localização hipotética.

Figura 11: Interações entre Z6046295676 e 1GTV



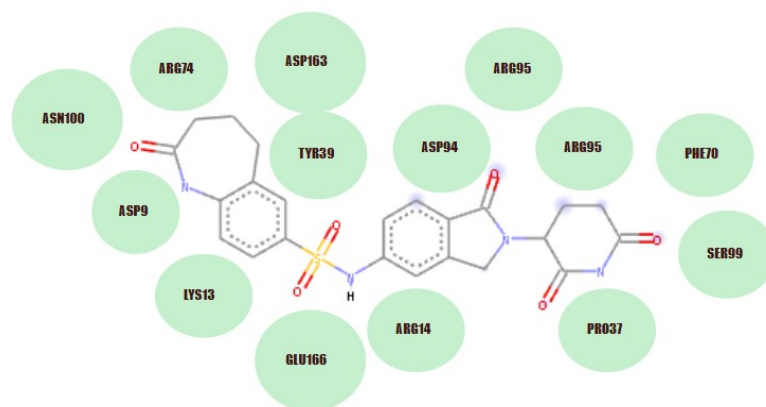
Fonte: PLIP / Discovery Studio

Figura 12: Interações entre MCULE-2164199276 e 1GTV



Fonte: PLIP / Discovery Studio

Figura 13: Interações entre Z5000146514 e 1GTV



Fonte: PLIP / Discovery Studio

Com base nesses diagramas, os resíduos foram utilizados para buscar, via Google, outras moléculas já descritas na literatura interagindo com o mesmo alvo, sendo encontrado THY, TK-666, 17C e 20C. Além dos resíduos citados abaixo, as moléculas realizam outras interações diferentes. (Tabela 3).

Tabela 3: Validação das interações no sítio 1GTV – pocket 1

Resíduos	A1	A2	A3	THY	TK-666	17C	20C
ALA35	X				X		
ARG74	X			X			X
ARG94		X					
ARG95	X	X	X		X		
ASN100	X	X	X	X			
ASP9	X	X			X		
GLU166			X	X	X		
LYS13	X						
PHE36	X			X	X		
PHE70	X	X	X	X	X	X	X
PRO37	X	X	X		X		
SER99	X		X	X			
TYR39	X	X	X		X	X	X
TYR103	X	X	X	X		X	X

Melhores moléculas do complexo indicadas em rosa; E em azul e amarelo as moléculas localizadas a partir da busca pelos resíduos de aminoácidos na literatura. Fonte: Autor.

O estudo de Khamjan *et al.*, 2023 avaliou a atividade anti TB do composto isolado de *Nigella sativa* *in silico* e *in vitro*, o timol (THY), comparado com a substância antibiótica

TK-666 (Tabela 3: Azul) e a isoniazida (INH). O THY apresentou uma série de interações semelhantes as que foram identificadas nas moléculas encontradas, assim como o TK-666.

A análise mostrou que THY, em comparação com os fármacos padrão (TK-666 e INH), tanto em análises *in vitro* quanto de acoplamento molecular com os alvos do *Mycobacterium tuberculosis*, apresentam um potencial inibitório favorável. Além disso, a abordagem dos autores, considerando a regra de Lipinski, o *score* de similaridade a fármacos e o acoplamento molecular, sugeriram que THY pode desempenhar um papel farmacológico útil em comparação com os fármacos padrão contra a tuberculose, mostrando boa solubilidade aquosa, baixa penetração na barreira hematoencefálica e não se ligou ao citocromo P450. Com base nos dados computacionais, os autores concluíram que o timol não é tóxico nem mutagênico, assim como as moléculas identificadas neste estudo, que demonstram baixo potencial em repetir esse perfil. Esses resultados são muito importantes para a organização dos procedimentos envolvidos no desenvolvimento de medicamentos, bem como para o estabelecimento de faixas de dosagem seguras para experimentos com animais.

A pesquisa de Vedula e Namala, 2022, projetou e sintetizou 21 compostos derivados de di-hidropirimidinona com o objetivo de obter agentes antituberculosos potencialmente eficazes contra alvos potenciais da timidilato quinase de MTB. A timidilato quinase parece ser inibida por 17c e 20c (Tabela 3:Amarelo), de acordo com o estudo. De modo que, 17c manifesta interações no sítio ativo com ARG74, PHE70, TYR39 e TYR103, enquanto 20c interage com ARG74, PHE70, TYR39 e TYR103.

O estudo sugere que a interação com PHE70 e TYR39 no sítio ativo pode ser essencial para a inibição da timidilato quinase, característica observada também nas moléculas com melhor perfil ADMET nessa pesquisa (A1, A2 e A3). Os compostos 17c e 20c não apresentaram hepatotoxicidade, citotoxicidade, mutagenicidade ou carcinogenicidade. A enzima foi melhor inibida pelo composto 17c. Como resultado, espera-se que ele possua potentes propriedades antituberculosas. De acordo com a análise do *docking*, todos os ligantes se encaixam perfeitamente no sítio de ligação da enzima.

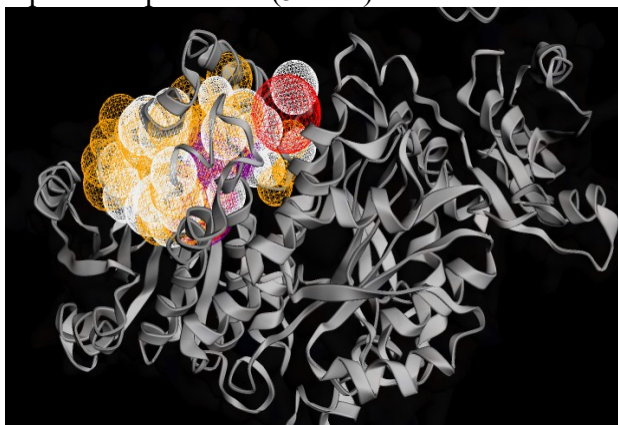
As moléculas identificadas nesse estudo apresentam certo grau de sobreposição com esses resíduos, que quando comparadas às interações descritas na literatura, verifica-se convergência em resíduos estratégicos, sugerindo que os compostos obtidos não apenas se acomodam no *pocket*, mas potencialmente reproduzem o modo de ligação associado à atividade inibitória já validada.

É importante destacar que algumas diferenças também foram observadas. Certos resíduos reportados na literatura não aparecem de forma consistente em todas as moléculas identificadas neste trabalho, o que pode indicar variações no modo de ligação ou na orientação conformacional dentro do *pocket*. De maneira integrada, os resultados sugerem que as moléculas selecionadas apresentam padrão de interação compatível com o observado para ligantes descritos como ativos, preservando contatos com resíduos do sítio ativo e demonstrando coerência estrutural com o mecanismo de reconhecimento molecular previamente estabelecido. Essa convergência fortalece a validade do protocolo de triagem virtual empregado e sustenta a priorização desses compostos para etapas subsequentes de validação experimental, uma vez que reproduzem, em nível molecular, interações consideradas determinantes para a atividade biológica.

6.2 Sítio de ligação 5MTP – *pocket 1*

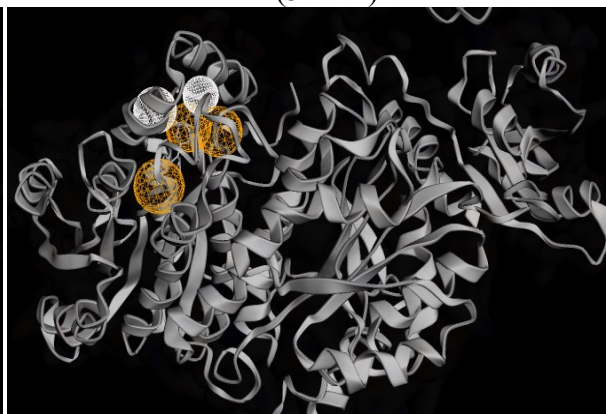
O segundo complexo avaliado corresponde a proteína enoil-ACP-redutase de MTB. Através do PLIP foram identificados 95 grupos químicos (Figura 14), que permitiu prospectar 9.900 moléculas por meio dos dez bancos de dados contidos no PHARMIT. A combinação que apresentou melhor resultado pode ser visualizado na Figura 15.

Figura 14: Combinação com todos os grupos químicos possíveis (5MTP)



Relação de todos os grupos químicos do complexo. As esferas amarelas indicam os aceptores de hidrogênio; as verdes indica a interação hidrofóbicas, as brancas são doadores de hidrogênio, as azuis são íons positivos e vermelhas íons negativos. O tamanho da esfera reflete o espaço químico da busca. Fonte: Autor usando Pharmit.

Figura 15: Grupos químicos que trouxeram o melhor resultado (5MTP)



Combinação de grupos químicos que trouxe as moléculas mais promissoras. O tamanho da esfera reflete o espaço químico da busca. Fonte: Autor usando Pharmit.

Todas as 9.900 moléculas seguiram para avaliação ADMET, favorecendo assim, a classificação das moléculas a partir do seu perfil farmacocinético, de modo que, as mais promissoras estão indicadas em vermelho (Tabela 4).

Tabela 4: Classificação ADMET das moléculas do sítio 5MTP – *pocket 1*

ID	AFFINITY	RANK	PFQ	ABS	DIS	MET	EXC	TOX
CHEMBL2311921	-8,29	0,11	0,25	0,50	0,50	0,13	0,17	0,14
MCULE-3231780937	-9,14	0,27	0,13	0,38	0,50	0,06	0,33	0,06
MCULE-3433993367	-8,43	0,27	0,13	0,44	0,33	0,25	0,33	0,08
RIFAMPICINA	28,50	0,28	0,28	0,27	0,88	0,68	0,68	0,06
MCULE-2597087219	-10,24	0,28	0,13	0,44	0,33	0,25	0,33	0,11
MCULE-7403341318	-11,08	0,28	0,25	0,50	0,50	0,31	0,17	0,14
MCULE-2463262851	-9,00	0,30	0,13	0,38	0,50	0,06	0,33	0,06
MCULE-4969427705	-8,38	0,30	0,13	0,50	0,50	0,31	0,33	0,11
Z45657046	-8,60	0,30	0,06	0,50	0,50	0,13	0,33	0,08
MCULE-8932738560	-8,13	0,31	0,13	0,44	0,33	0,13	0,33	0,08
MCULE-4839785581	-8,45	0,32	0,06	0,50	0,50	0,13	0,17	0,08
ETAMBUTOL	-11,70	0,36	0,19	0,50	0,17	0,06	0,00	0,11
PIRAZINAMIDA	-10,60	0,53	0,25	0,44	0,67	0,06	0,33	0,08
ISONIAZIDA	-13,20	0,65	0,25	0,44	0,50	0,19	0,33	0,25

Classificação dos compostos pelo RankAdmet: compreende o ID (identificação da molécula), AFFINITY (afinidade em kcal·mol⁻¹), RANK (média dos 49 parâmetros avaliados), PFQ (propriedades físico-químicas), ABS (absorção), DIS (distribuição), MET (metabolismo), EXC (excreção) e TOX (toxicidade). Verde: identifica perfis favoráveis (0 – 3); Amarelo: intermediários (0,301 – 0,700); Vermelho: desfavoráveis (0,701, - 1). Cor púrpura: fármacos de primeira linha.

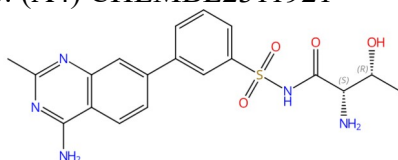
6.2.1 Melhores moléculas do sítio de ligação 5MTP – *pocket 1*

Nesse sítio, as moléculas CHEMBL2311921 (A4), MCULE-3231780937 (A5) e MCULE-3433993367 (A6) marcadas em vermelho, são classificadas como mais promissoras, considerando a média da predição ADMET e o score de afinidade com o alvo.

Apesar de somente três moléculas serem destacadas, ainda existem várias outras que merecem atenção por se mostrarem promissoras mediante avaliação farmacocinética, onde 3 são melhores que a rifampicina, 9.897 que a isoniazida, 9.413 que a pirazinamida e 24 melhores que o etambutol.

A molécula CHEMBL2311921 (A4), que exibe um score de afinidade de -8,29 é *Butanamide, 2-amino-N- [[3-(4-amino-2-methyl -7quinazolinyl)phenyl] sulfonyl]-3-hydroxy*, cujo código CAS é 1422970-38-4 (Figura 16), e está sendo estudada como representante da classe de inibidores de tirosina quinase. A principal atividade biológica deste composto é a inibição da família ErbB, que corresponde a um grupo de receptores tirosina quinase trans membranares, também conhecidos como receptores do fator de crescimento epidérmico, envolvidos na regulação de processos celulares fundamentais, como proliferação, diferenciação, sobrevivência e migração celular.

Figura 16: (A4) CHEMBL2311921



CAS: 1422970-38-4 Fonte: SciFinder

A família ErbB possui grande relevância biomédica, uma vez que alterações na expressão, amplificação gênica ou ativação constitutiva desses receptores estão fortemente associadas ao desenvolvimento e à progressão de diversos tipos de câncer, incluindo mama, pulmão, colorretal e glioblastoma (American Chemical Society, SciFinder, 2025).

Por esse motivo, os receptores ErbB constituem alvos moleculares clássicos para terapias direcionadas, incluindo anticorpos monoclonais e inibidores de tirosina quinase de pequenas moléculas. A molécula é comercializada por *Aurora Building Blocks 6* com pureza entre 95-98%.

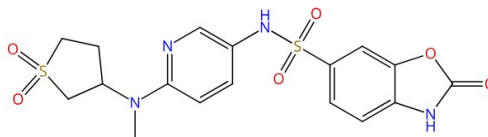
Os receptores tirosina-quinase trans membranares são componentes centrais da sinalização celular em organismos eucarióticos e não estão presentes no genoma de *Mycobacterium tuberculosis*, portanto, não constituem alvos bacterianos diretos. Apesar disso, a investigação de moléculas capazes de modular essas vias sinalizadoras pode ampliar o espectro terapêutico contra a tuberculose.

A integração entre abordagens clássicas de inibição bacteriana e estratégias direcionadas ao hospedeiro pode ser particularmente relevante frente a tuberculose,

reforçando a importância da exploração de alvos não convencionais na prospecção de compostos promissores.

A segunda molécula, MCULE-3231780937 (A5) (Figura 17), exibe três características consideradas intermediárias (absorção, distribuição e excreção), e um score de afinidade de -9,14, destacando-se quando comparada aos fármacos modelo para tuberculose.

Figura 17: (A5) MCULE-3231780937



CAS: 2315139-96-7 Fonte: SciFinder

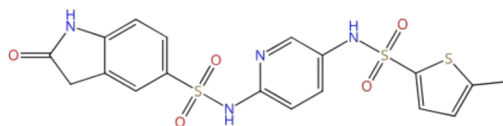
Esta molécula, *6-Benzoxazolesulfonamide, 2,3-dihydro-N-[6-[methyl(tetrahydro-1,1-dioxido-3-thienyl)amino]-3-pyridinyl]-2-oxo*, é produto de um planejamento modular de fármacos, incorporando um núcleo de 2-benzoxazolona, um ligante sulfonamida, uma ponte de piridina e uma amina terciária substituída por sulfolanil (Sehadin; Suada; Phabiola, 2025). Cada um desses componentes é estrategicamente selecionado para equilibrar propriedades eletrônicas e características físico-químicas, visando, em última análise, uma alta afinidade de ligação a alvos biológicos, mantendo, ao mesmo tempo, um perfil farmacocinético viável.

O composto apresenta perfil dentro da faixa favorável definida pela regra dos cinco de Lipinski para biodisponibilidade oral, por outro lado, o alto teor de oxigênio e nitrogênio contribui para uma área de superfície polar topológica significativa, sendo este um parâmetro crítico para prever a permeabilidade da membrana e a penetração na barreira hematoencefálica. O sucesso de um fármaco candidato depende tanto do seu perfil ADMET quanto da sua potência, e este composto apresenta diversas características concebidas para otimizar esses parâmetros, embora possam estar associadas a reações de hipersensibilidade em uma pequena porcentagem da população (Sehadin; Suada; Phabiola, 2025).

Assim, a combinação racional desses fragmentos estruturais posiciona o composto como um candidato plausível para investigação frente a alvos moleculares de *M. tuberculosis*, especialmente no contexto de triagem virtual e avaliação *in silico*, integrando potência biológica e propriedades farmacocinéticas adequadas ao tratamento de infecções crônicas. Para fins de novas pesquisas, é possível adquirir essa molécula através da *Aurora Building Blocks 4* com pureza entre 95-98%.

A terceira melhor molécula deste complexo, compreende MCULE-3433993367 (A6), o composto *1H-Indole-5-sulfonamide, 2,3-dihydro-N-[[5-[(5-methyl-2-thienyl)sulfonyl]amino]-2-pyridinyl]-2-oxo- (ACI)*.

Figura 18: (A6) MCULE-3433993367



CAS: 2314963-50-1 Fonte: SciFinder

Na avaliação das propriedades farmacocinéticas, o composto mantém peso molecular entre 450 e 600, posicionando-os no limite superior da regra dos cinco de Lipinski (Figura 18). A lipofilicidade desses compostos, frequentemente superior a 3,0, é estrategicamente equilibrada pelos múltiplos átomos de nitrogênio e enxofre, garantindo que as moléculas permaneçam suficientemente solúveis para formulação, ao mesmo tempo que retêm o caráter hidrofóbico necessário para deslocar a água (Zhou *et al.*, 2019).

A transposição bem-sucedida desses potentes inibidores para a prática clínica é frequentemente dificultada por seus perfis físico-químicos complexos. Muitos derivados de indol-sulfonamida, incluindo o este, são praticamente insolúveis em água e requerem sistemas de administração especializados. O perfil farmacocinético desses compostos é geralmente caracterizado por distribuição e excreção moderadas. Essa estabilidade é fundamental para tratamentos de longo prazo para doenças crônicas como a doença de Alzheimer ou distúrbios inflamatórios crônicos do sistema nervoso central (Abdelgawad *et al.*, 2022).

Nesta molécula, o grupo funcional sulfonamida se destaca, sendo reconhecido como um farmacóforo privilegiado devido à sua versatilidade química, estabilidade hidrolítica e capacidade de mimetizar estados de transição em ligações peptídicas. A investigação contemporânea não se limita mais apenas à inibição clássica da biossíntese de folatos, mas expande-se para o desenvolvimento de híbridos moleculares complexos, inibidores de anidrases carbônicas específicas e fármacos que contêm um metal como parte de sua estrutura, que coordenados, visam desestabilizar o metabolismo micobacteriano.

A análise dos resultados de *docking* molecular e das previsões ADMET permitiu classificar três compostos promissores que apresentaram desempenho favorável quando comparados aos fármacos de primeira linha utilizados no tratamento da tuberculose.

Em relação à afinidade de ligação, os compostos destacados apresentaram valores variando entre $-8,29$ e $-9,14$ kcal/mol, mais negativos que os observados para isoniazida ($-13,20$ kcal/mol), etambutol ($-11,70$ kcal/mol) e pirazinamida ($-10,60$ kcal/mol). Destaca-se que a rifampicina apresentou valor positivo de afinidade na simulação realizada ($28,50$ kcal/mol), sugerindo baixa afinidade nas condições empregadas, o que pode estar relacionado ao seu elevado peso molecular ou maior flexibilidade estrutural.

No que se refere à avaliação farmacocinética observa-se que A4 apresentou o menor valor médio, indicando perfil ADMET mais favorável entre todos os compostos avaliados, inclusive quando comparado aos fármacos de referência. A5 e A6 também apresentaram valores reduzidos, inferiores aos observados para etambutol, pirazinamida e isoniazida. Esses resultados sugerem melhor equilíbrio entre propriedades farmacocinéticas e menor risco toxicológico.

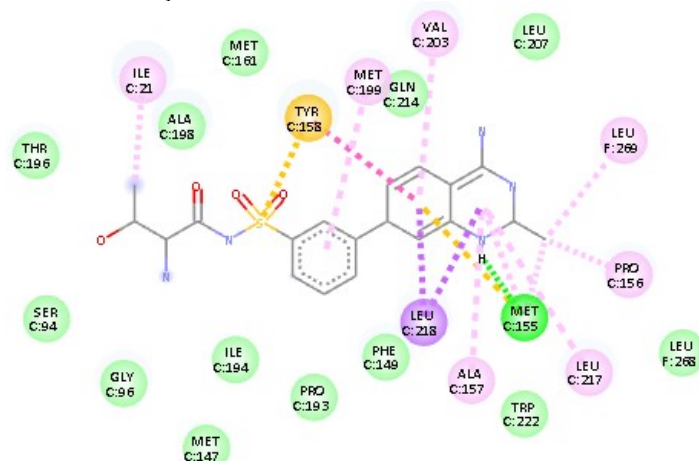
Os compostos destacados apresentaram valores moderados de absorção, distribuição controlada e baixos índices de toxicidade. Além disso, os parâmetros relacionados ao metabolismo mantiveram-se em faixas intermediárias, o que pode sugerir equilíbrio entre estabilidade metabólica e eliminação adequada.

Embora os fármacos de primeira linha apresentem maior afinidade de ligação em alguns casos, é importante considerar que esses compostos já possuem eficácia clínica validada, mas também apresentam limitações conhecidas, como resistência bacteriana, interações medicamentosas e efeitos adversos. Nesse contexto, a identificação de moléculas com perfil ADMET mais equilibrado pode representar uma vantagem estratégica no desenvolvimento de novos candidatos, especialmente se combinada a otimizações estruturais futuras para aumento da afinidade. Entretanto, ressalta-se que predições *in silico* apresentam limitações inerentes aos modelos computacionais utilizados, sendo imprescindível a validação experimental para confirmação da atividade biológica e do perfil de segurança dos compostos identificados.

6.2.2 Validação das interações no sítio de ligação 5MTP – *pocket 1*

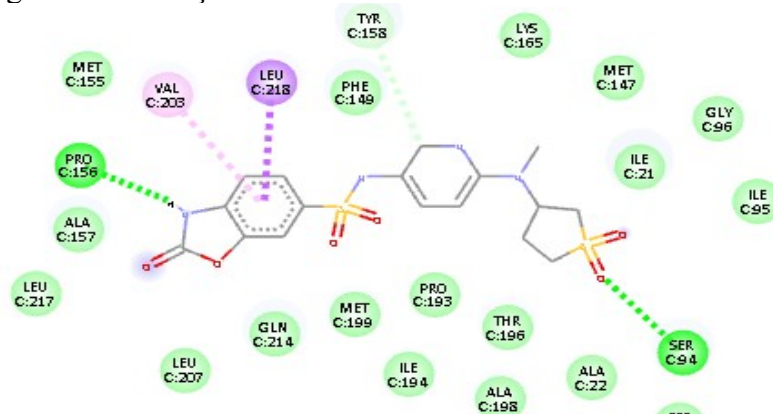
As três moléculas selecionadas foram encaminhadas para avaliação e caracterização, das interações. As estruturas dos complexos proteína–ligante foram analisadas no software *Discovery Studio Visualizer*, que através de diagramas 2D (Figuras 19, 20 e 21), permite a identificação dos resíduos envolvidos e das interações intermoleculares.

Figura 19: Interações entre CHEMBL2311921 e 5MTP



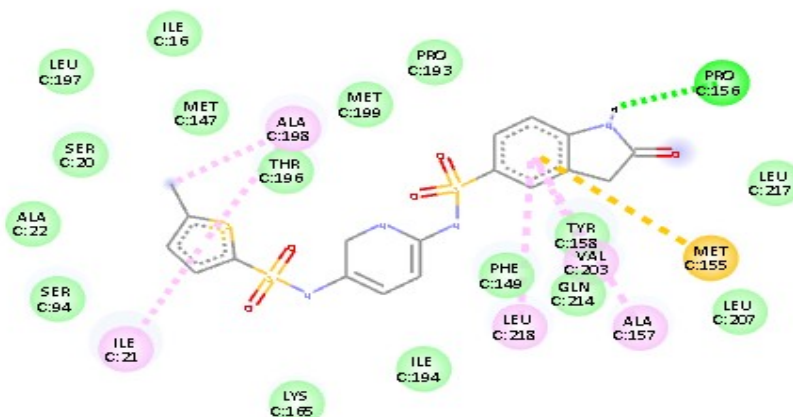
Fonte: Gerado pelo autor com Discovery Studio. Verde claro corresponde a ligações de van der Waals, verde escuro: ligações de hidrogênio convencionais, roxo: Pi-Sigma, laranja: Pi-Sulfur, rosa pink: Pi-Pi Stacked e rosa claro: Alkyl e Pi-Alkyl

Figura 20: Interações entre MCULE-3231780937 e 5MTP



Fonte: Gerado pelo autor com Discovery Studio. Verde claro corresponde a ligações de van der Waals, verde escuro: ligações de hidrogênio convencionais, roxo: Pi-Sigma, laranja: Pi-Sulfur, rosa pink: Pi-Pi Stacked e rosa claro: Alkyl e Pi-Alkyl.

Figura 21: Interações entre MCULE-3433993367 e 5MTP



Fonte: Gerado pelo autor com Discovery Studio. Verde claro corresponde a ligações de van der Waals, verde escuro: ligações de hidrogênio convencionais, laranja: Pi-Sulfur, rosa pink: Pi-Pi Stacked e rosa claro: Alkyl e Pi-Alkyl

A partir desses diagramas, os resíduos foram utilizados para pesquisar, via Google, a existência de outras moléculas já descritas na literatura interagindo no mesmo alvo. Além dos resíduos citados abaixo, as moléculas realizam outras interações diferentes (Tabela 5).

Tabela 5: Validação de interações no sítio 5MTP – pocket 1

Resíduos	A4	A5	A6	ATV05	ATV06	17	18	19	29
ALA157			X			X	X	X	X
ALA198			X	X					
ILE21	X		X						
LEU218	X	X	X			X	X	X	X
MET155	X		X	X	X	X	X	X	X
MET199	X			X		X	X	X	X
PRO156	X	X	X			X	X	X	X
TYR158	X	X		X	X	X	X	X	X
VAL203	X	X	X		X		X	X	

Melhores moléculas do complexo indicadas em rosa; Em azul e amarelo as moléculas localizadas a partir da busca pelos resíduos de aminoácidos na literatura. Fonte: Autor.

A pesquisa de Kamsri *et al.*, 2014 investigou 52 derivados de éter difenil como potenciais inibidores da enoil-ACP redutase de *Mycobacterium tuberculosis*, onde foi desenvolvido um modelo 3D-QSAR do tipo CoMSIA, baseado em dados experimentais de atividade biológica, que permitiu identificar descritores estereoquímicos, hidrofóbicos e eletrostáticos associados à inibição da InhA. Em seguida, simulações de dinâmica molecular foram realizadas para avaliar a estabilidade dos complexos proteína–ligante e as interações intermoleculares ao longo do tempo. Dos 52 derivados, 4 deles se destacaram (Tabela 5:Amarelo) por indicarem grupos amplos para o substituto R1 no anel fenil A dos inibidores, permitindo que um bolso hidrofóbico seja formado pelos resíduos PHE149, MET155, PRO156, ALA157, TYR158, PRO193, MET199, VAL203, LEU207, ILE215 e LEU218, de modo que, alguns desses resíduos também são identificados nas moléculas com melhor perfil ADMET desse estudo, destacando-se PRO156 e VAL203, comum entre todas as moléculas.

Em sua tese de doutorado, Lima, 2015, investigou por meio de técnicas de modelagem molecular os determinantes estruturais e dinâmicos envolvidos na inibição da InhA de MTB, integrando docking molecular, simulações de dinâmica molecular em meio aquoso e modelos de QSAR-3D, evidenciando que a flexibilidade do sítio ativo da InhA é fortemente influenciada por resíduos localizados em regiões-chave, chamadas portão e tampa (Tabela 5: Azul).

No composto ATV05, os estudos de dinâmica molecular mostraram que sua ligação com o inibidor promove um rearranjo estrutural do sítio ativo em relação à holoenzima livre, reduzindo a mobilidade e regiões catalíticas, manutenção da organização das estruturas secundárias, e estabilização do sítio por meio de interações hidrofóbicas profundas, sugerindo, assim, um efeito estabilizante sobre a conformação funcional da enzima.

O ATV06 induziu um fechamento mais pronunciado do sítio ativo, com redução significativa da distância entre as regiões de portão e tampa, favorecendo a conformação cataliticamente inativa da InhA. Resíduos aromáticos como PHE149 e TYR158 mostraram papel central na modulação conformacional do sítio catalítico. O resíduo TYR158 se mostra presente em todas as moléculas identificadas na tabela 5, com exceção de A6, sugerindo, assim, que as moléculas encontradas neste estudo, possam ter atividade biológica similar neste alvo.

Adicionalmente, foram realizadas análises de perfil ADMET (ATV05 e ATV06), onde ambos apresentaram altos riscos de toxicidade associada à mutagênese, tumorigênese, sistema reprodutor e irritação de tecidos, característica completamente oposta às moléculas identificadas neste trabalho como mais promissoras no complexo, cuja toxicidade se mostra inferior. Os dois compostos são representantes da classe das chalconas, e demonstram que diferenças sutis no modo de ligação e na capacidade de modular a dinâmica conformacional do sítio ativo resultam em perfis distintos de atividade biológica.

Os achados de Kamsri *et al.*, 2014 e Lima, 2015 convergem ao evidenciar que a inibição da InhA está fortemente associada à ocupação eficiente do bolsão hidrofóbico e à modulação conformacional do sítio ativo por resíduos. Essa complementaridade reforça que a eficácia inibitória na InhA depende não apenas da ocupação estrutural do bolsão, mas também da capacidade do ligante em induzir e estabilizar estados conformacionais.

A análise comparativa dos resíduos envolvidos nas interações proteína–ligante demonstra que as moléculas identificadas neste trabalho reproduzem, de forma consistente, o padrão de reconhecimento molecular descrito para ligantes previamente reportados na literatura.

As moléculas A4 e A6 demonstraram elevado grau de convergência com os resíduos descritos para os ligantes da literatura. Essa sobreposição sugere que os compostos selecionados ocupam o mesmo *pocket* no sítio ativo e apresentam orientação espacial semelhante à de inibidores previamente caracterizados. Embora existam variações pontuais, essas diferenças podem refletir ajustes conformacionais ou exploração de microambientes

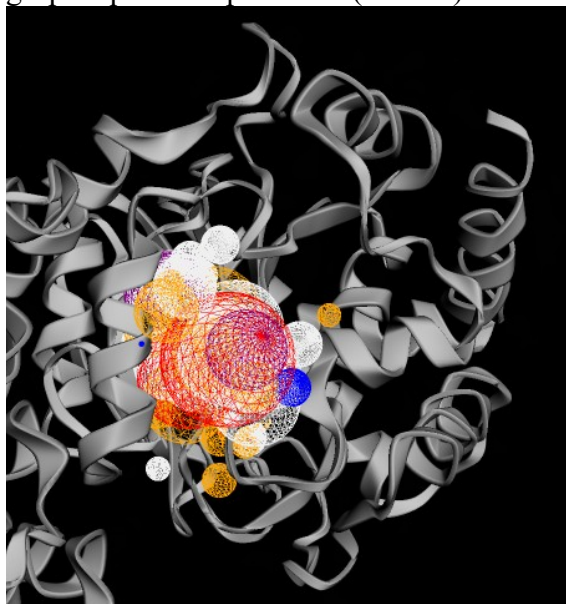
alternativos dentro do *pocket*, sem necessariamente comprometer a estabilidade do complexo. Pelo contrário, pequenas variações podem contribuir para otimização da afinidade, seletividade ou perfil farmacocinético.

De forma integrada, os resultados indicam que as moléculas A4, A5 e A6 apresentam padrão de interação altamente consistente com o descrito na literatura, preservando contatos com vários resíduos do sítio ativo e mantendo coerência com o modelo estrutural de reconhecimento molecular previamente estabelecido. Essa convergência fortalece a robustez do protocolo de triagem virtual empregado e sustenta a priorização desses compostos como candidatos promissores para validação experimental subsequente.

6.3 Sítio de ligação 4GKM - *pocket* 1

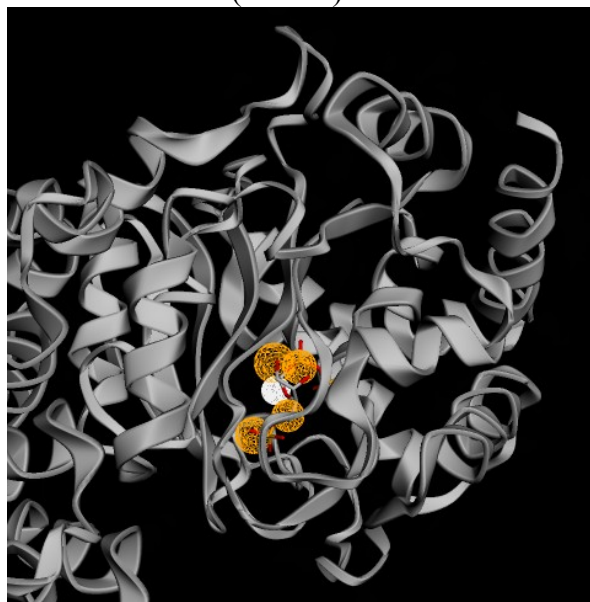
O terceiro complexo compreende biantranilalto ligado a antranilato fosforribosiltransferase de MTB, onde por meio do PLIP foram identificados 67 grupos químicos (Figura 22), que permitiam prospectar 59.058 moléculas a partir do PHARMIT por meio de diversas combinações de grupos químicos, de modo que a melhor conformação está representada abaixo na Figura 23.

Figura 22: Combinação com todos os grupos químicos possíveis (4GKM)



Relação de todos os grupos químicos do complexo. As esferas amarelas indicam os aceptores de hidrogênio; as verdes indica a interação hidrofóbicas, as brancas são doadores de hidrogênio, as azuis são íons positivos e vermelhas íons negativos. O tamanho da esfera reflete o espaço químico da busca. Fonte: Autor usando Pharmit.

Figura 23: Grupos químicos que trouxeram o melhor resultado (4GKM)



Combinação de grupos químicos que trouxe as moléculas mais promissoras. O tamanho da esfera reflete o espaço químico da busca. Fonte: Autor usando Pharmit.

Todas as 59.058 moléculas seguiram para avaliação ADMET, favorecendo assim, a classificação das moléculas a partir do seu perfil farmacocinético (Tabela 6).

Tabela 6: Classificação ADMET das moléculas do sítio 4GKM – *pocket 1*

ID	AFFINITY	RANK	PFQ	ABS	DIS	MET	EXC	TOX
PubChem-144752646	-10,12	0,03	0,50	0,75	0,83	0,19	0,50	0,33
PubChem-90236450	-9,44	0,03	0,31	0,56	0,83	0,31	0,33	0,22
PubChem-138672628	-8,10	0,04	0,25	0,75	0,50	0,44	0,33	0,31
PubChem-126756182	-10,53	0,04	0,25	0,75	0,50	0,38	0,33	0,31
PubChem-59375824	-9,10	0,04	0,38	0,63	0,83	0,31	0,17	0,28
PubChem-145693370	-10,68	0,04	0,25	0,75	0,50	0,31	0,33	0,31
MCULE-5048336155	-7,10	0,04	0,31	0,75	0,83	0,44	0,33	0,31
MolPort-046-702-067	-7,10	0,04	0,31	0,75	0,83	0,44	0,33	0,31
PubChem-123147169	-9,23	0,04	0,25	0,63	0,50	0,44	0,33	0,22
MCULE-8473301929	-7,51	0,04	0,19	0,63	0,83	0,25	0,33	0,25
RIFAMPICINA	4,60	0,28	0,28	0,27	0,88	0,68	0,68	0,06
ETAMBUTOL	-11,70	0,36	0,19	0,50	0,17	0,06	0,00	0,11
PIRAZINAMIDA	-10,60	0,53	0,25	0,44	0,67	0,06	0,33	0,08
ISONIAZIDA	-13,20	0,65	0,25	0,44	0,50	0,19	0,33	0,25

Classificação dos compostos pelo RankAdmet: compreende o ID (identificação da molécula), AFFINITY (afinidade em kcal·mol⁻¹), RANK (média dos 49 parâmetros avaliados), PFQ (propriedades físico-químicas), ABS (absorção), DIS (distribuição), MET (metabolismo), EXC (excreção) e TOX (toxicidade). Verde: identifica perfis favoráveis (0 – 3); Amarelo: intermediários (0,301 – 0,700); Vermelho: desfavoráveis (0,701, - 1). Cor púrpura: fármacos de primeira linha.

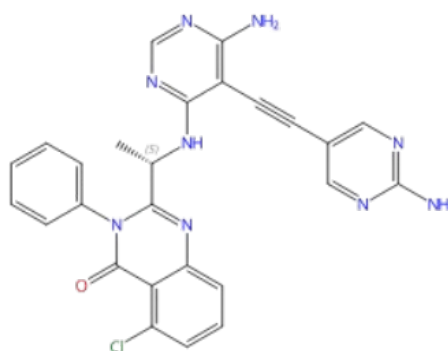
6.3.1 Melhores moléculas do sítio de ligação 4GKM - *pocket 1*

Entre as moléculas identificadas, PubChem-90236450 (A7), PubChem-126756182 (A8) e PubChem-145693370 (A9), marcadas em vermelho, são consideradas as mais promissoras. Ademais, existem outras moléculas que merecem atenção por se mostrarem promissoras mediante avaliação farmacocinética, visto que 436 são melhores que a rifampicina, 56.877 que a isoniazida, 49.700 que a pirazinamida e 29.350 melhores que o etambutol.

A molécula PubChem-90236450 (A7) identificada como mais promissora neste complexo, apresenta um score de -9,44 e a maior parte de suas características como intermediárias, no entanto, a toxicidade se mostra baixa, e esta característica é determinante para direcionar esta molécula às novas etapas de pesquisa. Com relação à biodisponibilidade oral, julgada a partir das regras de Lipinski, a molécula é tida como intermediária, o que pode tornar inviável sua administração em soluções por via oral, apesar disso, outras vias podem ser consideradas.

Este composto é *4(3H)-Quinazolinone, 2-[(1S)-1-[[6-amino-5-[2-(2-amino-5-pyrimidinyl)ethynyl]-4-pyrimidinyl]amino]ethyl]-5-chloro-3-phenyl-* (ACI), e representa uma interação avançada no design de inibidores de quinase, especificamente a fosfatatídsilinositol 4,5-bissfosfato 3-quinase subunidade alfa, reforçando a alta seletividade dos derivados de 4(3H)-quinazolinona para PI3K elucidada por meio de acoplamento molecular e simulações de dinâmica. Esses derivados representam um marco significativo no tratamento de neoplasias de células B, por alcançarem respostas profundas e duradouras em pacientes com histórico de tratamento extensivo, muitas vezes em situações onde não haviam outras opções (Figura 24) (Hosseinzadeh *et al.*, 2017).

Figura 24: (A7) PubChem-90236450

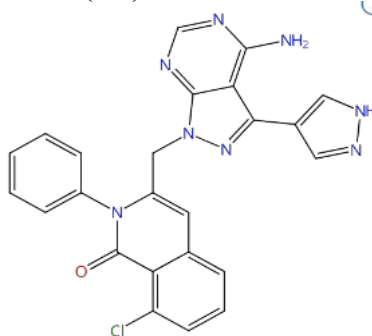


CAS: 1615681-76-9 Fonte: SciFinder

Embora *Mycobacterium tuberculosis* não possua homólogos diretos de PI3K, a via PI3K/Akt desempenha papel central na resposta imune celular, particularmente na regulação da autofagia, sobrevivência de macrófagos e maturação fagossomal durante a infecção micobacteriana. Nesse contexto, moléculas originalmente desenvolvidas como inibidores de PI3K podem apresentar relevância indireta no cenário da tuberculose ao integrarem estratégias de terapia direcionada ao hospedeiro nas quais a modulação farmacológica de vias do hospedeiro visa restaurar mecanismos antimicrobianos ou reduzir inflamação exacerbada. Além disso, a molécula ainda é investigada em modelos de câncer de pâncreas e ovários, melanoma, doenças autoimunes, doenças alérgicas e do sistema cardiovascular e pode ser comercializada por *Aurora Building Blocks 6* com pureza entre 95-98%.

A segunda molécula, PubChem-126756182 (A8), possui score de -10,53 e demonstra perfil farmacocinético intermediário, com exceção da absorção, que precisa de atenção por ser considerada desfavorável (Figura 25).

Figura 25: (A8) PubChem-126756182



CAS: 1261590-65-1 Fonte: SciFinder

Embora essa característica represente uma limitação, a biodisponibilidade oral avaliada pelas regras de Lipinski classifica-a como promissora para administração por esta via. O composto em questão é *1(2H)-Isoquinolinone, 3-[[4-amino-3-(1H-pyrazol-4-yl)-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl]methyl]-8-chloro-2-phenyl-* (ACI), pertencente a uma família de quinases lipídicas que catalisam a fosforilação do grupo 3'-hidroxila do anel de inositol nos fosfoinosítídeos, gerando assim mensageiros secundários essenciais que regulam uma vasta gama de processos celulares, incluindo crescimento, sobrevivência, proliferação e tráfego intracelular (Yue *et al.*, 2019).

Ele reflete uma evolução deliberada em relação aos inibidores de PI3K de primeira geração. Apesar disso, vê-se um fracasso clínico em muitos dos primeiros inibidores de quinases devido às suas propriedades ADMET deficientes. A posição do sistema

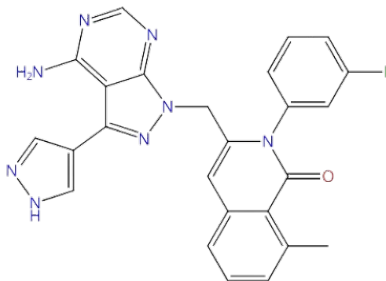
isoquinolina/isoquinolina é um sítio frequente de hidroxilação pela CYP3A4. Ao bloquear essa posição com um átomo de cloro, os pesquisadores podem reduzir a taxa de metabolismo oxidativo, aumentando assim a meia-vida e a biodisponibilidade oral do composto. O perfil farmacocinético otimizado do composto permite a administração em dose única diária, o que é crucial para a adesão do paciente em tratamentos crônicos como a leucemia linfóide crônica (Vanhaesebroeck *et al.*, 2021).

O baixo potencial de interações medicamentosas (devido à mínima inibição do CYP) também o torna um candidato atraente para regimes de combinação, que estão sendo avaliadas em modelos de psoríase, asma, hemangioma, estenose coronária, lúpus eritematoso, artrite, diabetes mellitus, enfisema pulmonar, glioma de alto grau, pancreatite e bronquite (Xie *et al.*, 2021).

Considerando que o tratamento da tuberculose é prolongado e frequentemente realizado em regime combinado, compostos com meia-vida adequada, baixa propensão a interações medicamentosas e perfil farmacocinético estável representam vantagens substanciais. Assim, ainda que o alvo primário do composto seja uma quinase humana, sua estrutura e perfil ADMET justificam sua análise no contexto da prospecção de moléculas promissoras contra a tuberculose, seja por modulação de vias do hospedeiro, seja como ponto de partida estrutural para otimização frente a alvos essenciais de *M. tuberculosis*.

A terceira molécula destacada é PubChem-145693370 (A9), que assim como a anterior demonstra perfil farmacocinético intermediário, com exceção da absorção, que precisa de atenção por ser considerada desfavorável, apesar disso, a biodisponibilidade oral avaliada pelas regras de Lipinski classifica-a como promissora para administração por esta via (Figura 26).

Figura 26: (A9) PubChem-145693370



CAS: 1172119-39-9 Fonte: SciFinder

O composto em questão é *1(2H)-Isoquinolinone, 3-[[4-amino-3-(1H-pyrazol-4-yl)-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl]methyl]-2-(3-fluorophenyl)-8-methyl-* (ACI), definido

por um arranjo complexo de farmacóforos projetado para maximizar a afinidade de ligação dentro do sítio de ligação do ATP. A eficácia terapêutica desses inibidores à base de isoquinolina reside na sua capacidade de interromper o processo de dissociação do DNA (Wang *et al.*, 2024).

Ao contrário de inibidores de PI3K anteriores, que são eliminados principalmente pela via hepatobiliar, este composto é excretado significativamente pelos rins, de modo que, aproximadamente 58,1% da dose administrada é recuperada na urina, e 34,0% nas fezes. Isso sugere que a eliminação renal desempenha um papel dominante em sua disposição, o que pode reduzir o risco de hepatotoxicidade grave observada com outros membros da classe dos inibidores de PI3K. O uso terapêutico destes inibidores está associado a um conjunto distinto de toxicidades, muitas das quais estão ligadas ao papel essencial da PI3K no sistema imunológico e no desenvolvimento mieloide. A neutropenia é o evento adverso mais relatado associado ao uso desse composto. Além dela, o risco de colite imunomediada, elevação das transaminases e pneumonite também foi relatada. A molécula está sendo estudada em modelos de câncer de células B, doenças dos sistemas respiratório e imunológico (Wang *et al.*, 2024).

Do ponto de vista farmacocinético, a eliminação renal predominante e o menor risco potencial de hepatotoxicidade constituem características vantajosas para o tratamento da tuberculose, que exige regimes prolongados e frequentemente combinados. Assim, embora o alvo primário do composto seja uma quinase humana, sua arquitetura estrutural, perfil ADMET e mecanismo competitivo no sítio de ATP justificam sua análise como modelo estrutural promissor na busca por moléculas candidatas ao combate da tuberculose, seja por reposicionamento estratégico ou por otimização direcionada a alvos essenciais de *M. tuberculosis*.

De forma integrada, as três moléculas selecionadas (A7, A8 e A9) compartilham um perfil de interesse farmacológico caracterizado por elevada afinidade de ligação ao alvo. Estruturalmente, todas pertencem a classes químicas consagradas no desenho racional de inibidores de quinases, notadamente derivados de quinazolinona e isoquinolinona, reconhecidos pela alta seletividade frente a PI3K e pela capacidade de modular processos celulares essenciais, como crescimento, sobrevivência e proliferação celular.

Além disso, esses compostos refletem estratégias de otimização típicas de inibidores de PI3K de gerações mais recentes, buscando contornar limitações observadas em candidatos iniciais, especialmente relacionadas ao perfil ADMET. O perfil de baixa ou manejável

toxicidade, aliado a mecanismos de ação bem estabelecidos reforça a relevância dessas moléculas para etapas avançadas de investigação e otimização farmacológica.

De modo geral, essas moléculas apresentaram valores de afinidade variando entre $-8,10$ e $-10,68$ kcal/mol, indicando interações energeticamente favoráveis com o alvo molecular. Quando analisado o índice RANK, que reflete a média entre as propriedades farmacocinéticas e toxicológicas preditas, os compostos selecionados apresentaram valores significativamente inferiores aos observados para os fármacos de referência, indicando um perfil geral mais favorável para os compostos identificados, sugerindo melhor equilíbrio entre parâmetros associados à biodisponibilidade e segurança.

No que se refere às propriedades individuais, observa-se que os compostos priorizados apresentam valores moderados a favoráveis de absorção, superiores aos observados para a rifampicina e comparáveis ou ligeiramente superiores aos da pirazinamida e da isoniazida. Em relação à distribuição, embora alguns compostos apresentem valores relativamente elevados, esse comportamento também é observado em fármacos clinicamente utilizados, como a própria rifampicina, indicando que esse parâmetro isoladamente não compromete o potencial farmacológico.

Outro aspecto relevante é o perfil metabólico e de excreção, onde os compostos selecionados apresentam valores intermediários, sugerindo potencial equilíbrio entre estabilidade metabólica e eliminação sistêmica. Em termos de toxicidade predita, todos os candidatos exibem valores moderados, próximos ou inferiores aos observados para alguns dos fármacos de referência.

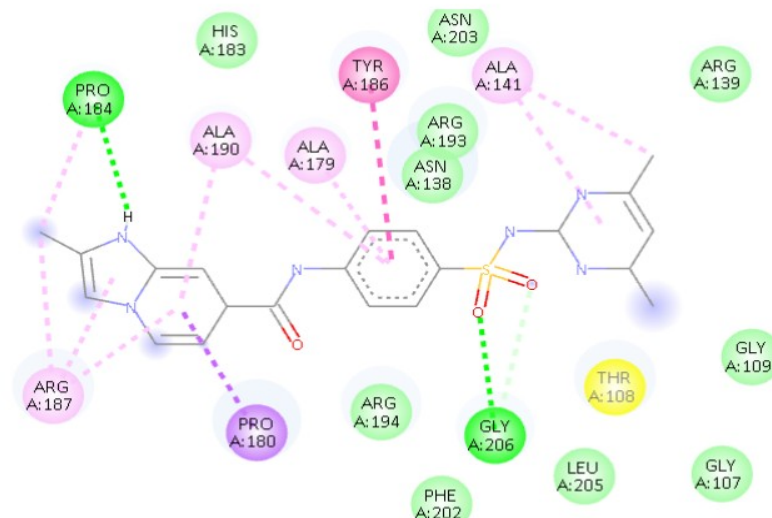
Em contraste, os fármacos de primeira linha demonstram maior heterogeneidade nos parâmetros ADMET. Assim, a integração entre os resultados de *docking* molecular e a avaliação ADMET sugere que os compostos destacados apresentam combinação mais equilibrada entre afinidade molecular e propriedades farmacocinéticas preditas. Essa convergência reforça o potencial desses candidatos como estruturas promissoras para o desenvolvimento de novos agentes antituberculose, justificando sua priorização em etapas posteriores de validação experimental e otimização estrutural.

6.3.2 Validação das interações no sítio de ligação 4GKM - *pocket* 1

As três moléculas selecionadas foram submetidas à etapa de avaliação e caracterização das interações. As estruturas dos complexos proteína–ligante foram exportadas no formato .pdb e posteriormente analisadas no software *Discovery Studio Visualizer*, o qual

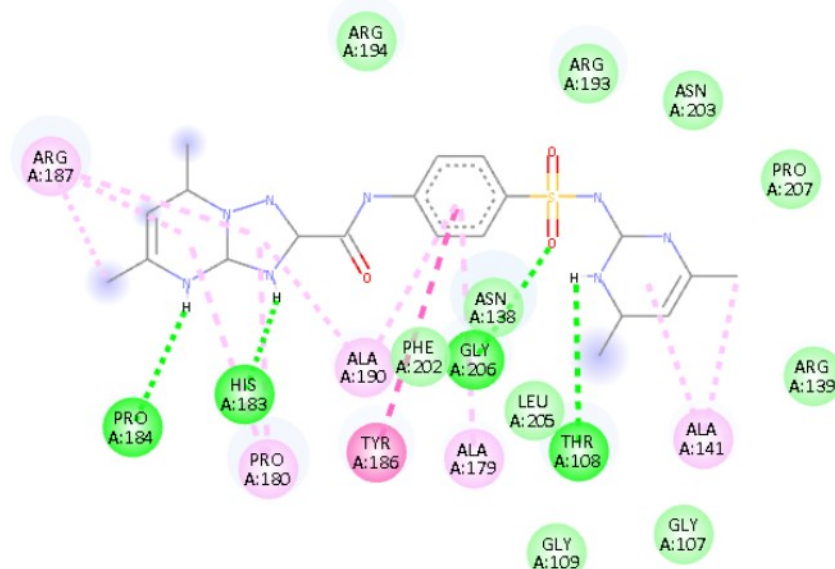
possibilita, por meio de diagramas 2D (Figuras 27, 28 e 29), a identificação dos resíduos de aminoácidos e das interações intermoleculares estabelecidas.

Figura 27: Interações entre PubChem-90236450 e 4GKM



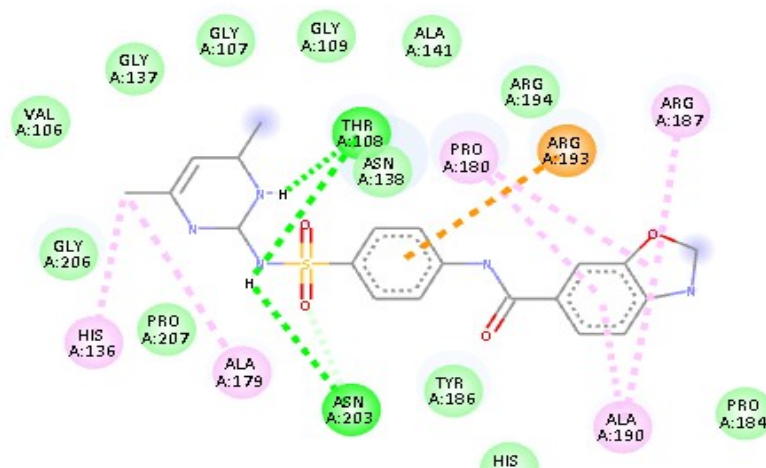
Gerado pelo autor com Discovery Studio. Verde claro corresponde a ligações de van der Waals, verde escuro: ligações de hidrogênio convencionais, roxo: Pi-Sigma, rosa pink: Pi-Pi T-shaped e rosa claro: Alkyl e Pi-Alkyl

Figura 28: Interações entre PubChem-12675618 e 4GKM



Gerado pelo autor com Discovery Studio. Verde claro corresponde a ligações de van der Waals, verde escuro: ligações de hidrogênio convencionais, rosa pink: Pi-Pi T-shaped e rosa claro: Alkyl e Pi-Alkyl.

Figura 29: Interações entre PubChem-145693370 4GKM



Gerado pelo autor com Discovery Studio. Verde claro corresponde a ligações de van der Waals, verde escuro: ligações de hidrogênio convencionais, laranja: Pi-cation, rosa : Alkyl e Pi-Alkyl

A partir desses diagramas, os resíduos foram utilizados para buscar, via Google, outras moléculas já descritas na literatura interagindo no mesmo alvo. As moléculas também interagem com outros resíduos de aminoácido além dos que estão contidos na Tabela 7.

Tabela 7: Validação de interações no sítio 4GKM – *pocket* 1

Resíduos	A7	A8	A9	ACS-172	Fisanolida A	Fisagulina C	Fisagulina H
ALA141	X	X					
ALA190	X	X	X				
ARG187	X	X	X	X			
ARG193			X	X		X	X
ASN138		X		X		X	X
GLY206	X	X					
PRO180	X	X	X	X	X		
PRO184	X	X					
THR108		X	X				
TYR186	X	X		X		X	

Melhores moléculas do complexo indicadas em rosa; Em azul e amarelo as moléculas localizadas a partir da busca pelos resíduos de aminoácidos na literatura. Fonte: Autor.

Castell *et al.*, 2013 estudaram a enzima Antranilato fosforribosiltransferase(AnPRT) de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb-AnPRT), um catalisador essencial na biossíntese do aminoácido triptofano em micobactérias. Essa via é crítica para o ciclo de vida do patógeno e não existe em humanos, tornando os seus componente alvos valiosos para desenvolvimento de fármacos antituberculosos. Na região mais interna da cavidade, responsável pela ligação do

PRPP(5'-fosforribosil 1'-pirofosfato), observa-se uma rede densa de interações envolvendo resíduos conservados, predominantemente polares e carregados, que estabilizam os grupos fosfato do substrato por meio de ligações de hidrogênio e interações eletrostáticas, frequentemente mediadas por um íon Mg^{2+} .

Estudos prévios demonstraram que o PRPP se acomoda na base de uma fenda profunda da Mtb-AnPRT e indicaram a existência de dois sítios potenciais de ligação ao antranilato ao longo do túnel que conduz ao sítio de ligação do PRPP. Os melhores compostos inibitórios encontrados têm anéis aromáticos com um grupo carboxil, e a inibição mais forte foi observada para o ácido benzóico, composto ACS172 ([2-(2-carboxinofinio)benzoico) (Tabela 7:Azul). De forma inesperada, os inibidores descritos neste trabalho mostraram afinidade quase exclusiva pela região de entrada desse túnel, correspondente ao sítio presumido de ligação ao antranilato de caráter não catalítico, anteriormente proposto como envolvido no processo de captura do substrato. As interações hidrofóbicas com PRO180 e TYR186 em ambos os lados do plano aromático eram universais, e essa característica parece ser determinante na ligação ao local externo.

A comparação entre as interações observadas para as moléculas A7, A8 e A9 e aquelas descritas para o inibidor ACS172 evidencia forte convergência no padrão de reconhecimento molecular dentro do *pocket* da enzima antranilato fosforribosiltransferase de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb-AnPRT), sugerindo que a participação desses resíduos presentes nos compostos analisados contribui para a estabilização do complexo proteína-ligante.

A pesquisa de Hasan *et al.*, 2025 apresentou antranilato fosforribosiltransferase como alvo terapêutico promissor contra *M. tuberculosis*, uma vez que os compostos naturais de *Physalis angulata* avaliados exibiram afinidades de ligação expressivas no *docking* molecular. Os metabólitos foram selecionados com base em predições de estrutura química e atividade biológica utilizando plataformas *in silico*. O estudo identificou três compostos com melhores afinidades de ligação ao sítio alvo da proteína: Finasolida A, Fisagulina C e Fisagulina H (Tabela 7: Amarelo).

Os três compostos apresentaram alta probabilidade de absorção gastrointestinal, o que é desejável para compostos orais. Eles também não foram previstos como inibidores das principais enzimas do metabolismo de fármacos, o que reduz o risco de interações medicamentosas. No entanto, quando avaliados pelos critérios de Lipinski, os perfis físico-químicos não atenderam completamente aos parâmetros ideais para formulação oral clássica,

sugerindo que modificações estruturais futuras seriam necessárias para otimizar essas propriedades e melhorar a drogabilidade. Quanto à toxicidade, as predições revelaram que Fisagulina H apresentou um perfil potencialmente tolerável, enquanto Fisagulina C e Finasolida A mostraram risco preditivo de carcinogenicidade, o que indica a necessidade de avaliação toxicológica experimental mais aprofundada.

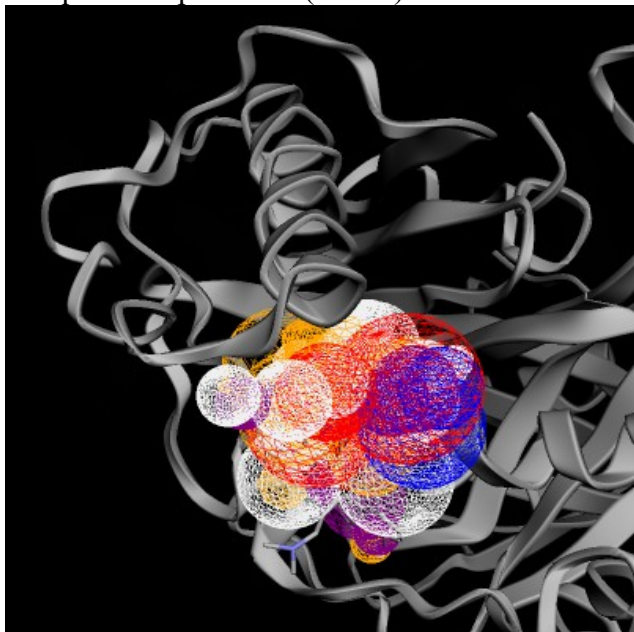
O padrão de interações observado para as moléculas A7, A8 e A9 demonstra considerável sobreposição com os resíduos envolvidos na ligação dos metabólitos naturais descritos por Hasan *et al.*, 2025, sugerindo que os compostos identificados neste trabalho ocupam regiões semelhantes da cavidade da AnPRT e podem apresentar modo de ligação comparável ao dos inibidores previamente descritos.

Alguns resíduos identificados nas interações dos complexos proteína–ligante obtidos neste estudo coincidem com descritos na literatura. A análise das interações observadas para as moléculas A7, A8 e A9 reforça a consistência estrutural dos complexos obtidos no *docking* e sugere que os compostos identificados ocupam o mesmo *pocket*. Embora haja variações pontuais, essas diferenças podem refletir adaptações no posicionamento do ligante dentro do sítio ativo. De forma integrada, o padrão de interações observado para A7, A8 e A9 demonstra elevada coerência com os dados estruturais disponíveis na literatura, evidenciando que os compostos identificados não apenas ocupam o sítio ativo, mas também preservam contatos considerados estratégicos para a atividade biológica. Essa convergência fortalece a confiabilidade do protocolo de triagem virtual empregado e sustenta a priorização desses candidatos para validação experimental subsequente.

6.1.4 Sítio de ligação 8GKF – *pocket* 3

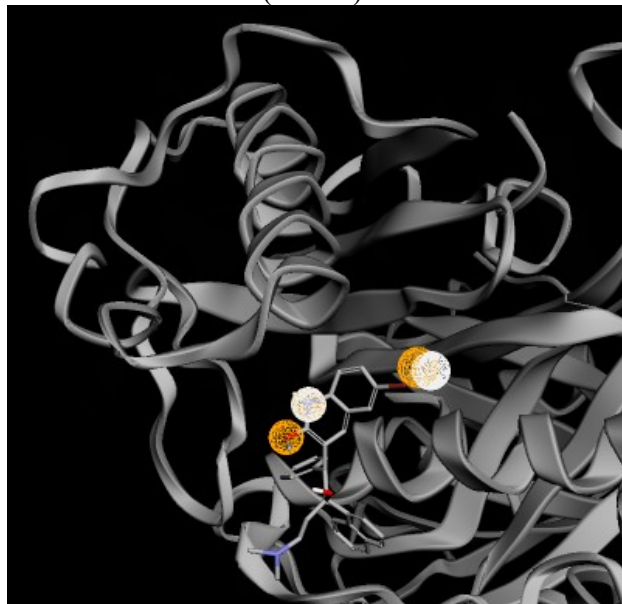
Outro complexo avaliado nesse estudo corresponde a fosfopanteteiniltransferase de *Mycobacterium tuberculosis* complexado com Raltitrexed. Por meio do PLIP 91 grupos químicos foram localizados (Figura 30), e posteriormente 3.236 moléculas foram prospectadas a partir do PHARMIT por meio de diversas combinações de grupos químicos, de modo que a melhor conformação está representada na Figura 31.

Figura 30: Combinação com todos os grupos químicos possíveis (8GKF)



Relação de todos os grupos químicos do complexo. As esferas amarelas indicam os aceptores de hidrogênio; as verdes indica a interação hidrofóbicas, as brancas são doadores de hidrogênio, as azuis são íons positivos e vermelhas íons negativos. O tamanho da esfera reflete o espaço químico da busca. Fonte: Autor usando Pharmit.

Figura 31: Grupos químicos que trouxeram o melhor resultado (8GKF)



Combinação de grupos químicos que trouxe as moléculas mais promissoras. O tamanho da esfera reflete o espaço químico da busca. Fonte: Autor usando Pharmit.

Todas as 3.236 moléculas localizadas seguiram para avaliação ADMET, de modo que em vermelho estão destacadas as três melhores moléculas do complexo, considerando tanto o score do RankAdmet quanto a afinidade com o alvo (Tabela 8).

Tabela 8: Classificação ADMET das moléculas do sítio 8GKF – *pocket 3*

ID	AFFINITY	RANK	PFQ	ABS	DIS	MET	EXC	TOX
MCULE-9063237217	-9,83	0,068	0,23	0,88	0,38	0,19	0,17	0,50
Z8658411556	-9,80	0,069	0,05	1,00	0,63	0,38	0,67	0,58
LN00829875	-10,11	0,086	0,18	0,63	0,50	0,13	0,33	0,50
MolPort-008-353-499	-10,12	0,086	0,18	0,63	0,50	0,13	0,33	0,50
Z8658304402	-10,34	0,101	0,09	0,88	0,50	0,13	0,00	0,33
PubChem-140149712	-9,33	0,103	0,09	0,88	0,38	0,19	0,67	0,33
CSSS01985746565	-9,27	0,105	0,09	0,88	0,50	0,25	0,67	0,33
Z3686170024	-9,27	0,105	0,09	0,88	0,50	0,25	0,67	0,33
2037883882	-9,37	0,109	0,27	0,75	0,38	0,31	0,33	0,25
MolPort-051-464-393	-9,71	0,113	0,05	1,00	0,50	0,25	0,33	0,25
RIFAMPICINA	-8,10	0,28	0,28	0,27	0,88	0,68	0,68	0,06
ETAMBUTOL	-11,70	0,36	0,19	0,50	0,17	0,06	0,00	0,11
PIRAZINAMIDA	-10,60	0,53	0,25	0,44	0,67	0,06	0,33	0,08
ISONIAZIDA	-13,20	0,65	0,25	0,44	0,50	0,19	0,33	0,25

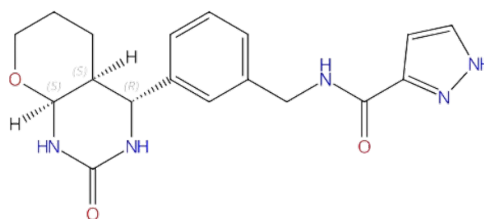
Classificação dos compostos pelo RankAdmet: compreende o ID (identificação da molécula), AFFINITY (afinidade em kcal·mol⁻¹), RANK (média dos 49 parâmetros avaliados), PFQ (propriedades físico-químicas), ABS (absorção), DIS (distribuição), MET (metabolismo), EXC (excreção) e TOX (toxicidade). Verde: identifica perfis favoráveis (0 – 3); Amarelo: intermediários (0,301 – 0,700); Vermelho: desfavoráveis (0,701, - 1). Cor púrpura: fármacos de primeira linha.

6.4.1 Melhores moléculas do sítio de ligação 8GKF – *pocket 3*

Entre as 3.236 moléculas localizadas, MCULE-9063237217 (A10), Z8658411556 (A11) e PubChem-140149712 (A12), destacadas em vermelho (Tabela 8), são consideradas as mais promissoras. Apesar de apenas três moléculas terem sido destacadas, ainda existem outras neste complexo que merecem ser avaliadas com mais detalhes, visto que, pelas suas características ADMET, podem demonstrar bom perfil para candidatos a novos medicamentos levando em consideração a avaliação farmacocinética, onde 34 compostos são melhores que a rifampicina, 3.226 que a isoniazida, 2.718 que a pirazinamida e 45 melhores que o etambutol.

A primeira destacada, MCULE-9063237217 (A10), compreende *1H-pirazol-3-carboxamida, N-pirimidin-4-il[fenil]metil]-, rel- (ACI)* (Figura 32), cuja combinação específica de um pirazol-3-carboxamida e um apêndice pirano-pirimidina sugere fortemente que a molécula foi projetada para inibir proteínas quinases, que são reguladoras essenciais da sinalização celular, do crescimento e da sobrevivência.

Figura 32: (A10) MCULE-9063237217



CAS: 2060999-08-6 Fonte: SciFinder

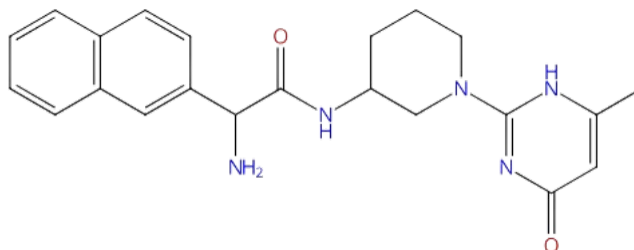
O composto tem um peso molecular de aproximadamente 369.42g/mol, dentro da faixa preferencial para medicamentos orais. O LogP é estimado entre 1,5 e 2,5, e essa lipofilicidade moderada é ideal para equilibrar a solubilidade aquosa com a permeabilidade da membrana. Muitos compostos dessa classe estão sendo desenvolvidos para leucemia mieloide aguda ou formas raras de leucemia (American Chemical Society, SciFinder, 2025). Apesar disso, sua arquitetura molecular e perfil físico-químico justificam a investigação em abordagens de reposicionamento ou triagem virtual frente a quinases bacterianas essenciais. Assim, a análise desse composto reforça a estratégia de explorar moléculas validadas na oncologia como pontos de partida estruturais para a identificação de candidatos promissores no combate à tuberculose.

A segunda molécula, Z8658411556 (A11), corresponde a *2-Naftalenoacetamida, α -amino-N-[1-(1,6-di-hidro-4-metil-6-oxo-2-pirimidinil)-3-piperidinil]- (ACI)*, cujo principal alvo terapêutico é a BACE-1, a enzima responsável pela etapa inicial, limitante da velocidade, na produção de beta amiloide, cujo acúmulo em oligômeros neurotóxicos e, eventualmente, em placas, é uma característica marcante da doença de alzheimer. Para compostos ativos no sistema nervoso central, como os inibidores da BACE, os parâmetros ADMET são ainda mais rigorosos devido à necessidade de penetração na barreira hematoencefálica (BHE).

A presença do anel de naftaleno influencia significativamente a lipofilicidade, enquanto os grupos pirimidinona e acetamida contribuem para a aumento da área de superfície polar (PSA). Esse equilíbrio é precário, visto que a lipofilicidade excessiva pode levar a uma alta ligação às proteínas plasmáticas e à rápida eliminação metabólica pelo

figado, enquanto a polaridade excessiva impedirá que a molécula atravesse a barreira hematoencefálica (Figura 33) (American Chemical Society, SciFinder, 2025).

Figura 33: (A11) Z8658411556

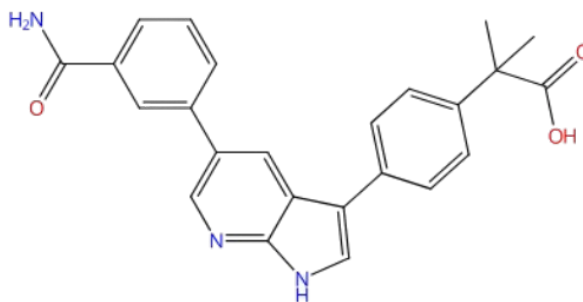


CAS: 3071259-03-2 Fonte: SciFinder

Embora este composto tenha sido desenvolvido como inibidor da Beta-secretase 1, seu arcabouço estrutural apresenta características relevantes para a prospecção de compostos contra *M. tuberculosis*, como o equilíbrio entre hidrofobicidade e polaridade, originalmente otimizado para penetração na barreira hematoencefálica, estratégico no desenvolvimento de fármacos antituberculose, nos quais permeabilidade, estabilidade metabólica e perfil ADMET adequado são determinantes para eficácia em tratamentos prolongados.

Ainda neste complexo, a terceira molécula, PubChem-140149712 (A12), o *ácido benzeno acético, 4-[3-(aminocarbonil)fenil]-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-il]- α*, que se destaca como inibidor de pequenas moléculas direcionados à quinase 1 regulada por soro e glicocorticoides (SGK-1)(Figura 34).

Figura 34: (A12) PubChem-140149712



CAS: 890842-55-4 Fonte: SciFinder

Este composto representa uma versão sofisticada do design de inibidores de quinase, projetados para aumentar a potência bioquímica, a seletividade do alvo e a estabilidade metabólica no ambiente fisiológico humano. As classificações gerais para 1H-pirrolo[2,3-b]piridinas e derivados do ácido benzeno acético frequentemente incluem advertências para irritação cutânea, irritação ocular grave e irritação respiratória. Esses riscos são típicos de ácidos orgânicos concentrados e heterociclos nitrogenados (Drewry *et al.*, 2022).

A molécula A12 apresenta características estruturais compatíveis com a exploração de alvos em *M. tuberculosis*, especialmente proteínas quinases bacterianas dependentes de ATP, que são essenciais para crescimento e divisão celular. Entretanto, os alertas toxicológicos associados a essa classe reforçam a necessidade de avaliação cuidadosa do perfil de segurança durante a triagem de candidatos antituberculose, garantindo equilíbrio entre potência e viabilidade farmacológica.

Na etapa de priorização baseada em propriedades farmacocinéticas e toxicológicas preditas, as moléculas A10, A11 e A12 apresentaram um perfil mais equilibrado quando comparadas aos fármacos de primeira linha. Do ponto de vista da afinidade predita por *docking*, os candidatos selecionados exibiram valores de energia de ligação variando de -9,33 a -9,83 kcal/mol, indicando interações estáveis com o sítio ativo da proteína-alvo. Embora esses valores não superem a afinidade da isoniazida (-13,20), são superiores aos observados para a rifampicina e situam-se em faixa semelhante à da pirazinamida (-10,60).

Em relação ao perfil ADMET, as três moléculas destacadas apresentaram valores médios substancialmente inferiores aos dos fármacos de referência, sugerindo desempenho mais favorável nos critérios farmacocinéticos e toxicológicos considerados. Esse resultado decorre, sobretudo, de um perfil mais equilibrado entre absorção, distribuição e toxicidade predita.

A10 demonstrou baixa probabilidade de excreção problemática, com toxicidade predita intermediária. A11 destacou-se por apresentar absorção máxima predita, embora com valores mais reduzidos de distribuição e excreção, o que sugere necessidade de avaliação adicional quanto à biodisponibilidade sistêmica efetiva. Já A12 apresentou perfil intermediário, com boa distribuição e toxicidade reduzida, configurando um balanço farmacocinético promissor.

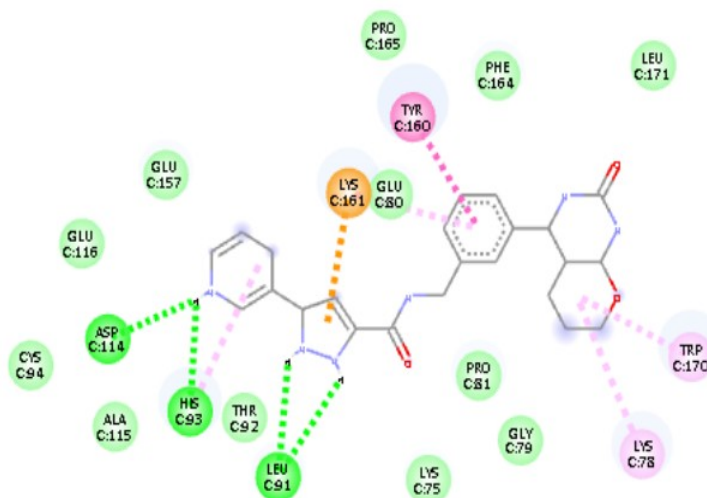
Em contraste, os fármacos de primeira linha exibiram maior variabilidade nos parâmetros ADMET. A rifampicina, apesar de consolidada clinicamente, apresentou distribuição elevada e valores relativamente altos para metabolismo e excreção, refletindo seu conhecido perfil de intensa metabolização hepática e potencial para interações medicamentosas. A isoniazida demonstrou a melhor afinidade de *docking*, porém, demonstra limitações no equilíbrio geral dos parâmetros preditos. A pirazinamida e o etambutol apresentaram valores intermediários, mas sem o mesmo nível de consistência observado nas moléculas priorizadas.

De forma integrada, os compostos destacados apresentam uma combinação mais homogênea entre afinidade molecular e propriedades ADMET *in silico*, sugerindo maior probabilidade de sucesso nas etapas subsequentes de validação experimental. Embora não superem todos os fármacos de referência em parâmetros isolados, demonstram desempenho geral superior quando considerada a média dos descritores farmacocinéticos, o que reforça sua priorização como candidatos promissores para o desenvolvimento de novos agentes contra *M. tuberculosis*.

6.4.2 Validação das interações no sítio de ligação 8GKF – *pocket 3*

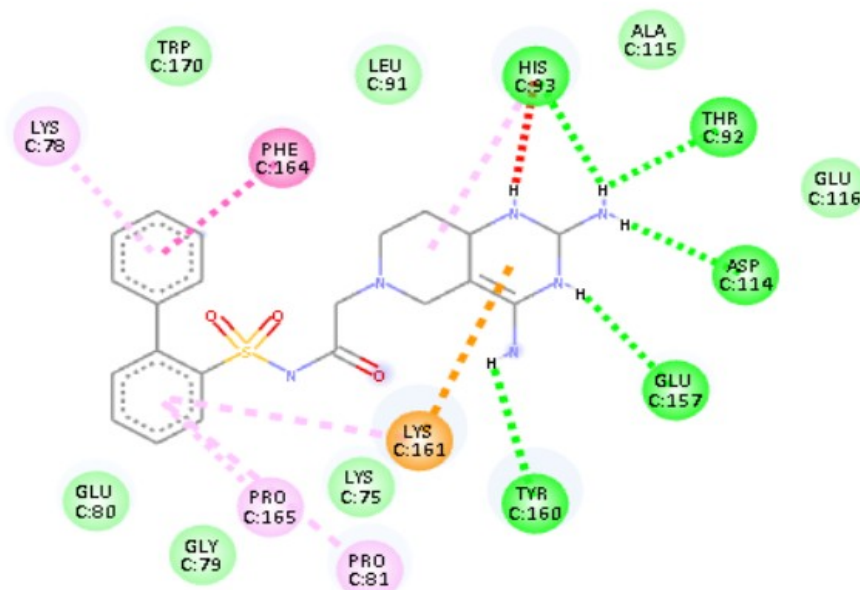
As três moléculas selecionadas seguiram para a etapa de avaliação e caracterização das interações. As estruturas dos complexos foram exportadas em .pdb e analisadas no *Discovery Studio Visualizer*, que por meio de diagramas bidimensionais 2D (Figuras 35,36 e 37), permitiu a identificação dos resíduos aminoácidos envolvidos e das interações intermoleculares estabelecidas.

Figura 35: Interações entre MCULE-9063237217 e 8GKF



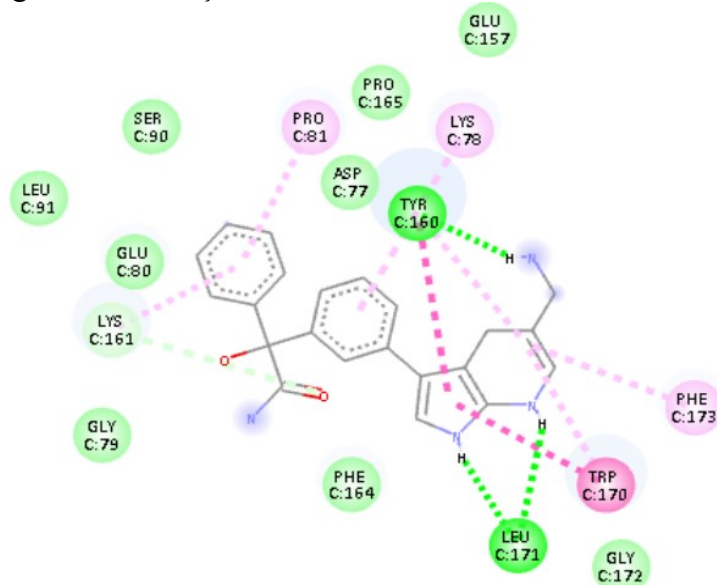
Fonte: Gerado pelo autor com Discovery Studio. Verde claro corresponde a ligações de van der Waals, verde escuro: ligações de hidrogênio convencionais, laranja: Pi-Cation, rosa pêssego: Pi-Pi T-Stacked e rosa claro: Alkyl e Pi-Alkyl

Figura 36: Interações entre Z8658411556 e 8GKF



Fonte: Gerado pelo autor com Discovery Studio. Verde claro corresponde a ligações de van der Waals, verde escuro: ligações de hidrogênio convencionais, laranja: Pi-Cation, rosa pink: Pi-Pi shaped e rosa claro: Alkyl e Pi-Alkyl

Figura 37: Interações entre PubChem-140149712 e 8GKF



Fonte: Gerado pelo autor com Discovery Studio. Verde claro corresponde a ligações de van der Waals, verde escuro: ligações de hidrogênio convencionais, rosa pink: Pi-Pi T-Stacked e rosa claro: Alkyl e Pi-Alkyl.

A partir desses diagramas, os resíduos foram utilizados para buscar, via Google, outras moléculas já descritas na literatura que demonstrassem interação no mesmo alvo. Através disso, foram localizadas RALT-1 e AU8918. As moléculas também interagem com outros resíduos de aminoácido além dos que estão contidos na Tabela 9.

Tabela 9: Validação de interações no complexo 8GKF – *pocket 3*

Resíduos	A10	A11	A12	RALT-1	AU8918
ASP114	X		X		
HIS93	X		X	X	
LEU91		X	X	X	
LEU171	X	X		X	X
LYS75	X	X		X	
LYS78			X	X	
LYS161	X	X	X	X	
TRP170	X	X		X	X
TYR160	X	X	X	X	X
PRO81	X	X			
SER90			X	X	

Melhores moléculas do complexo indicadas em rosa; Em azul e amarelo as moléculas localizadas a partir da busca pelos resíduos de aminoácidos na literatura. Fonte: Autor.

O estudo de SINGH *et al.*, 2024 (Tabela 9:azul) aborda o reposicionamento do antineoplásico raltitrexed como um inibidor da 4'-fosfopanteteinil transferase (PptT) de MTB, enzima essencial para a proteína carreadora de acil e outros domínios que requerem modificação por fosfopanteteína durante a biossíntese de lipídios e peptídeos não ribossomais. A pesquisa iniciou com uma triagem de alta capacidade de mais de 400 mil compostos usando um ensaio otimizado de atividade de PptT, identificando raltitrexed como o inibidor mais potente dessa enzima descrito até o momento (SINGH *et al.*, 2024). O complemento estrutural da análise foi obtido por cristalografia de raios X de um complexo PptT–raltitrexed revelou mudanças conformacionais substanciais no sítio ativo da enzima induzidas pela ligação do ligante, alterando o contorno da cavidade de ligação em relação à estrutura com o ligante natural CoA.

No complexo cristalográfico, a quinazolinona de raltitrexed é empilhada entre resíduos aromáticos no sítio ativo, especificamente TYR160 e TRP170, indicando que interações π – π entre o anel quinazolinona e os anéis aromáticos do TYR160 e TRP170 estabilizam fortemente o ligante na cavidade. Esse empilhamento aromático produz uma reorganização do

sítio ativo em comparação com a conformação ligada a conezima A, deslocando o TYR160 para acomodar o núcleo do raltitrexed. Além disso, foram observadas ligações de hidrogênio específicas importantes: o grupo carbonila amida do raltitrexed forma uma ligação com a cadeia lateral de HIS93, aproximando essa histidina ao centro da cavidade e sugerindo um papel estabilizador crucial na interação.

Outras ligações relevantes envolvem a interação de carboxilatos do ligante com a cadeia lateral de LYS161, criando um ponto de ancoragem polar adicional que complementa as interações hidrofóbicas e aromáticas. Um grupo funcional adjacente do ligante também faz contato com os grupos polares LYS75, contribuindo para a rede eletrostática que mantém o ligante no sítio ativo.

A carboxilato do anel quinazolinona adicional do raltitrexed estabelece ainda uma ligação mediada por água com a Ser90 e com a amida da cadeia principal de LEU91, destacando a importância das interações mediadas por água e da geometria do sítio para a estabilidade do complexo. A reorganização conformacional observada, que envolve deslocamentos de TYR160 e outras mudanças no contorno do sítio ativo, ilustra como a ligação de raltitrexed pode remodelar a topografia da cavidade de PptT de maneira que não é previsível a partir de estruturas sem ligante ou de complexos com outros inibidores.

Apesar dessa alta afinidade *in vitro*, esforços extensivos de modificação estrutural de mais de 800 análogos visando aumentar a atividade contra Mtb e reduzir a toxicidade em células humanas demonstraram que pequenas alterações na estrutura do raltitrexed podem deslocar seu alvo dentro da célula bacteriana de PptT para dihidrofolato redutase (DHFR), outro alvo clássico da via do folato, evidenciando uma sensibilidade extrema das interações de resíduos de aminoácidos no sítio ativo à química sutil do ligante. Além disso, nenhum dos análogos testados conseguiu simultaneamente combinar alta inibição de PptT com atividade bactericida eficaz em ensaios de cultura celular, devido a limitações de permeabilidade, metabolismo intra bacteriano e efluxo.

As interações identificadas nesse estudo demonstram alto grau de semelhança com aqueles relatados por SINGH *et al.*, 2024, sugerindo assim, que essas moléculas (A10, A11 e A12) podem representar atividade similar.

Ottavi *et al.*, 2022 (Tabela 9: amarelo) exploraram a relação estrutura-atividade de uma classe de inibidores baseada em amidinoureas, com foco principal na molécula AU8918, combinando dados bioquímicos, estudos de atividade celular e análises de análogos

substituídos para determinar quais modificações químicas proporcionam maior eficácia e seletividade no bloqueio enzimático.

Os resultados indicam que a estrutura central da amidinoureia em AU8918 está próxima do ótimo em termos de potência de inibição da PptT, e que análogos contendo um anel benzeno com um ou mais átomos ligados podem melhorar tanto a afinidade enzimática quanto as propriedades farmacológicas em ensaios celulares, incluindo maior atividade contra a bactéria e redução de efeitos indesejáveis como a cardiotoxicidade observada em alguns compostos relacionados.

A sensibilidade de *M. tuberculosis* à AU8918 aumenta em cepas com redução de expressão de PptT, reforçando que a inibição de PptT é o mecanismo on-target responsável pela atividade bactericida observada. Os dados estruturais existentes sobre PptT (citados no artigo) mostram que o sítio ativo da enzima possui um microambiente rico em resíduos de aminoácidos polarizados e aromáticos que interagem com ligantes, e que é possível otimizar interações com esses resíduos para melhorar afinidade e especificidade de inibidores.

Os resultados apresentados por Singh *et al.* (2024) e Ottavi *et al.* (2022) reforçam de forma complementar que a PptT de *M. tuberculosis* é um alvo enzimático altamente validado, porém extremamente exigente do ponto de vista estrutural. Os estudos demonstram que a eficácia dos inibidores depende de um reconhecimento molecular preciso de resíduos chave do sítio ativo, envolvendo interações aromáticas, polares e redes de ligações de hidrogênio capazes de estabilizar o complexo proteína-ligante e, em alguns casos, induzir rearranjos conformacionais relevantes. Ao mesmo tempo, evidenciam que pequenas variações químicas nos ligantes podem alterar de maneira substancial o padrão de interações com esses resíduos, impactando não apenas a afinidade enzimática, mas também a seletividade do alvo e a atividade celular.

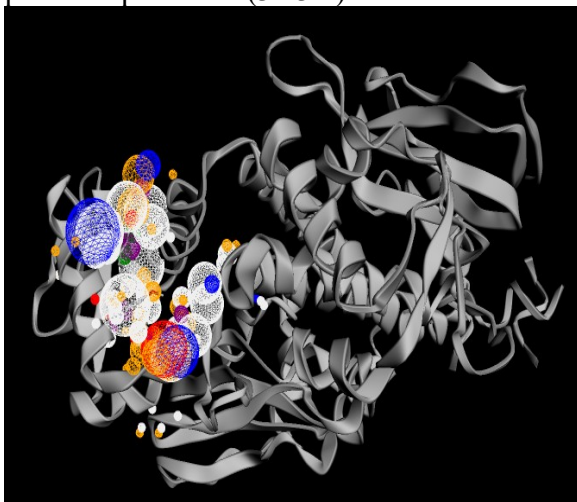
A análise comparativa dos resíduos envolvidos nas interações proteína–ligante demonstra que as moléculas A10, A11 e A12 apresentam um padrão de reconhecimento molecular consistente com aqueles descritos na literatura para inibidores da mesma classe. Embora sejam observadas variações pontuais, o conjunto de interações estabelecidas principalmente por A10 e A11 evidenciam elevada sobreposição com os perfis relatados para ligantes previamente caracterizados. Tais diferenças podem estar associadas a ajustes conformacionais do complexo ou à exploração diferenciada de outras regiões do *pocket*, não implicando, necessariamente, na estabilidade do complexo formado.

Em conjunto, esses achados indicam que as moléculas identificadas exibem um modo de ligação estruturalmente coerente com o de ligantes já descritos, preservando interações com resíduos para o reconhecimento molecular. Essa convergência de evidências reforça a consistência do protocolo de triagem virtual empregado e fundamenta a priorização desses compostos como candidatos promissores para validação experimental, uma vez que reproduzem, em nível estrutural, padrões de interação associados à atividade biológica reportada na literatura.

6.1.5 Sítio de ligação 3H3U – *pocket 17*

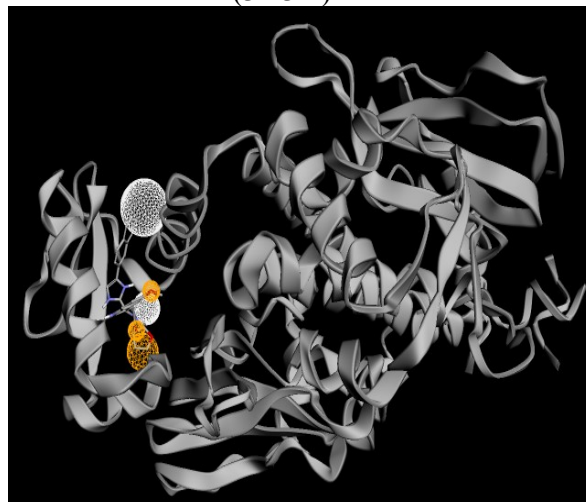
O quinto complexo avaliado nesse estudo corresponde a proteína receptora do AMP cíclico em *Mycobacterium tuberculosis*. O PLIP localizou 104 grupos químicos, que permitiu prospectar 1198 moléculas por meio de diversas combinações de grupos químicos (Figura 38), de modo que a melhor combinação está representada na Figura 39.

Figura 38: Combinação com todos os grupos químicos possíveis (3H3U)



Relação de todos os grupos químicos do complexo. As esferas amarelas indicam os aceptores de hidrogênio; as verdes indica a interação hidrofóbicas, as brancas são doadores de hidrogênio, as azuis são íons positivos e vermelhas íons negativos. O tamanho da esfera reflete o espaço químico da busca. Fonte: Autor usando Pharmit.

Figura 39: Grupos químicos que trouxeram o melhor resultado (3H3U)



Combinação de grupos químicos que trouxe as moléculas mais promissoras. O tamanho da esfera reflete o espaço químico da busca. Fonte: Autor usando Pharmit.

Todas as 1.198 moléculas localizadas seguiram para avaliação ADMET, favorecendo assim, a classificação das moléculas a partir do seu perfil farmacocinético, cujos resultados estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10: Classificação ADMET das moléculas do sítio 3H3U – *pocket 17*

ID	AFFINITY	RANK	PFQ	ABS	DIS	MET	EXC	TOX
PubChem-122550738	-0,93	0,039	0,25	0,56	0,83	0,38	0,33	0,25
PubChem-22347096	-8,12	0,039	0,25	0,56	0,50	0,25	0,17	0,278
PubChem-159293849	-8,64	0,046	0,25	0,56	0,50	0,19	0,00	0,22
PubChem-121290190	0,571	0,047	0,44	0,50	0,50	0,06	0,17	0,19
PubChem-22347017	-9,93	0,049	0,25	0,56	0,50	0,13	0,00	0,19
PubChem-22346797	-8,30	0,050	0,19	0,56	0,50	0,13	0,17	0,19
PubChem-22347325	-10,00	0,051	0,25	0,63	0,50	0,13	0,17	0,22
PubChem-118980416	-8,71	0,052	0,13	0,63	0,67	0,19	0,50	0,25
PubChem-134166198	-0,075	0,053	0,38	0,69	0,83	0,38	0,50	0,17
PubChem-159950132	-8,736	0,057	0,19	0,63	0,50	0,19	0,17	0,19
PubChem-122550847	2,641	0,058	0,50	0,81	0,83	0,44	0,67	0,33
RIFAMPICINA	-6,70	0,28	0,28	0,27	0,88	0,68	0,68	0,06
ETAMBUTOL	-5,70	0,36	0,19	0,50	0,17	0,06	0,00	0,11
PIRAZINAMIDA	-5,80	0,53	0,25	0,44	0,67	0,06	0,33	0,08
ISONIAZIDA	-5,50	0,65	0,25	0,44	0,50	0,19	0,33	0,25

Classificação dos compostos pelo RankAdmet: compreende o ID (identificação da molécula), AFFINITY (afinidade em kcal·mol⁻¹), RANK (média dos 49 parâmetros avaliados), PFQ (propriedades físico-químicas), ABS (absorção), DIS (distribuição), MET (metabolismo), EXC (excreção) e TOX (toxicidade). Verde: identifica perfis favoráveis (0 – 3); Amarelo: intermediários (0,301 – 0,700); Vermelho: desfavoráveis (0,701 - 1). Cor púrpura: fármacos de primeira linha.

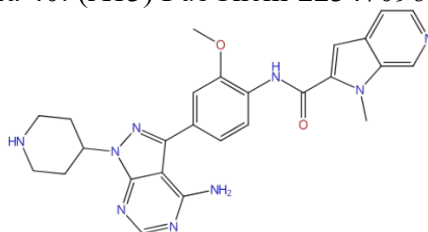
Embora 1.198 moléculas tenham sido identificadas, três delas, marcadas em vermelho, PubChem-22347096 (A13), PubChem-159293849 (A14) e PubChem-22347325 (A15) merecem destaque por apresentarem perfil farmacocinético majoritariamente favorável. Apesar de apenas três moléculas serem destacadas, este complexo ainda exibe uma gama de moléculas que guardam um bom perfil ADMET e podem ser consideradas para estudos mais aprofundados em busca de novos candidatos a fármacos, considerando a avaliação

farmacocinética, onde 33 são melhores que a rifampicina, 357 que a isoniazida, 75 que a pirazinamida e 40 melhores que o etambutol.

6.5.1 Melhores moléculas do sítio de ligação 3H3U – *pocket* 17

A molécula considerada mais promissora, PubChem-22347096 (A13), exibe um score de afinidade com o alvo de -8,12, e apenas absorção e distribuição classificam-se como intermediárias. A mesma corresponde ao composto *1H-Pyrrolo[2,3-*c*]pyridine-2-carboxamide, N-[4-[4-amino-1-(4-piperidinyl)-1H-pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin-3-yl]-2-methoxyphenyl]-1-methyl* (Figura 40).

Figura 40: (A13) PubChem-22347096



CAS: 1101111-61-8 Fonte: SciFinder

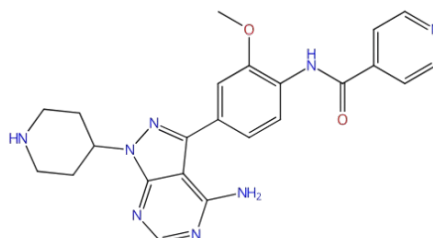
Ela representa uma hibridização estratégica de dois núcleos farmacológicos distintos: o sistema pirrolo[2,3-*c*]piridina, frequentemente associado à modulação de proteínas com alta seletividade e o esqueleto pirazolo[3,4-*d*]pirimidina, que serve como uma estrutura privilegiada para a inibição da tirosina quinase.

A integração dessas porções por meio de um ligante 2-metoxifenil sugere um design avançado destinado a alcançar uma ligação altamente específica nos bolsões de ligação de ATP das quinases. Com relação ao perfil farmacológico, ela é considerada um potente inibidor do canal de potássio hERG, vital para a repolarização do potencial de ação cardíaco. Sua inibição é uma grande preocupação, pois pode levar ao prolongamento do intervalo QT, taquicardia ventricular e até morte súbita, caracterizando um obstáculo significativo de segurança (To *et al.*, 2023).

Considerando que o tratamento da tuberculose é prolongado e frequentemente realizado em regime combinado, compostos com potencial de toxicidade cardíaca constituem um obstáculo relevante. Dessa forma, embora o desenho molecular seja promissor do ponto de vista de interação com alvos dependentes de ATP, a viabilidade como candidato antituberculose dependerá de otimizações estruturais que reduzam a afinidade pelo hERG sem comprometer a atividade frente a proteínas essenciais da micobactéria.

A segunda molécula, (A14) (Figura 41), assim como a anterior, possui apenas absorção e distribuição classificadas como intermediárias, mas de modo geral, demonstram ter um perfil farmacocinético majoritariamente favorável.

Figura 41: (A14) PubChem-159293849



CAS: 461700-17-4 Fonte: SciFinder

O composto em questão é *4-piridinacarboxamida, N-[4-amino-1-(4-piperidinil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-3-il]-2-metoxifenil*, representante dos inibidores de tirosina quinase, projetado para ser ativo por via oral, com lipofilicidade suficiente para difusão passiva através do epitélio intestinal. Os inibidores de quinase são normalmente metabolizados no fígado por enzimas do citocromo P450, principalmente CYP3A4. O grupo metoxifenil pode sofrer desmetilação, e o anel piridina é um sítio potencial para N-oxidação. A ligação amida é geralmente estável no plasma, embora algum grau de hidrólise por amidases possa ocorrer ao longo de períodos mais longos. Os potenciais efeitos colaterais incluem diarreia, erupção cutânea e mielossupressão transitória, frequentemente devido à inibição não específica de outras quinases (Chai *et al.*, 2024).

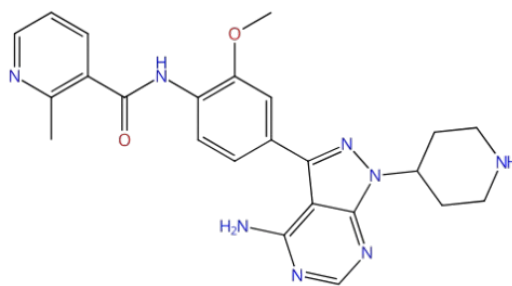
A integração do núcleo pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina com uma extensão de isonicotinamida reflete uma abordagem refinada para inibir cinases envolvidas na sinalização imunológica e na oncogênese. Do ponto de vista terapêutico, essa molécula e seus análogos próximos oferecem um meio potente de modular as respostas das células T no contexto do transplante de órgãos e de doenças autoimunes, além de fornecer uma estratégia para contornar a resistência em leucemias mieloides. A versatilidade de sua estrutura também permite que ela sirva como plataforma para modalidades de próxima geração, como a degradação direcionada de proteínas (Dincer *et al.*, 2013).

Do ponto de vista farmacocinético, a lipofilicidade moderada favorece a biodisponibilidade oral e a manutenção de concentrações sistêmicas, aspectos críticos para o tratamento prolongado da tuberculose. Além disso, o conhecimento prévio sobre metabolismo via CYP3A4 e possíveis sítios de biotransformação fornece subsídios para antecipar possíveis

interações medicamentosas em esquemas combinados. Por outro lado, eventos adversos como mielossupressão e efeitos imunomoduladores exigem cautela, uma vez que a resposta imune é determinante no controle da infecção tuberculosa. Sendo assim, sua viabilidade como candidato antituberculose dependerá do refinamento da seletividade e da otimização do perfil de segurança.

A terceira molécula destacada neste complexo é PubChem-22347325 (A15), que apresenta um perfil ADMET extremamente semelhante as anteriores. Ela corresponde a 3-Pyridinecarboxamida, N -[4--[4-amino-1-(4-piperidinail)-1 H -pirazol[3,4- dd]pirimidina-3-il]-2-methoxyphenyl]-2-methyl- (9CI, ACl), sendo um inibidor altamente seletivo, reversível e não covalente da tirosina quinase de Bruton (BTK) (Figura 42).

Figura 42: (A15) PubChem-22347325



CAS: 461700-12-9 Fonte: SciFinder

O composto em questão foi projetado para superar as limitações dos inibidores covalentes de gerações anteriores, ao mesmo tempo que aborda um amplo espectro de patologias autoimunes e inflamatórias, principalmente a esclerose múltipla. A tirosina quinase de Bruton (BTK) é uma tirosina quinase não receptora essencial para a sinalização através do receptor de antígeno de células B (BCR) e do receptor Fcγ (FcγR). Ela é expressa em várias linhagens hematopoiéticas, incluindo células B, mastócitos, monócitos e macrófagos, mas está notavelmente ausente em células T e células natural killer. Esse padrão de expressão permite que os inibidores de BTK modulem as respostas imunes mediadas por células B e por células mieloides sem a ampla imunossupressão associada à inibição de células T (Herman *et al.*, 2018).

A molécula consegue penetrar no sistema nervoso central (SNC), uma característica fundamental para sua eficácia na esclerose múltipla, onde precisa atingir as células B e a microglia além da barreira hematoencefálica. É metabolizada principalmente pelo fígado, sendo o citocromo P450 3A4 (CYP3A4) a principal enzima metabólica. Apesar disso, uma preocupação significativa em relação à segurança da classe de inibidores de BTK é o

potencial de lesão hepática induzida por medicamentos (DILI) (Crawford *et al.*, 2018).

Embora o alvo primário seja distinto de proteínas micobacterianas, moléculas com atividade imunomoduladora podem ser exploradas como estratégias adjuvantes visando otimizar a resposta do hospedeiro. Entretanto, a metabolização predominante via CYP3A4 e o risco potencial de lesão hepática induzida por fármacos representam limitações relevantes, especialmente considerando que o tratamento antituberculose é prolongado e já está associado a hepatotoxicidade significativa, ainda assim com propriedades farmacocinéticas melhores que os fármacos modelo.

As três moléculas destacadas compartilham um arcabouço estrutural comum baseado no núcleo pirazolo[3,4-d]pirimidina, reconhecido como uma estrutura privilegiada para a inibição de tirosina quinases, associado a extensões aromáticas e heterocíclicas que modulam seletividade e propriedades farmacocinéticas.

A integração entre os resultados de *docking* molecular e a predição dos parâmetros ADMET permitiu identificar um conjunto de moléculas com desempenho global superior aos fármacos de primeira linha utilizados no tratamento da tuberculose. As moléculas destacadas apresentaram perfil farmacocinético e toxicológico preditivo mais equilibrado quando considerada a média integrada dos descritores ADMET.

A análise individual das propriedades revela que as moléculas selecionadas mantiveram valores moderados de absorção, distribuição controlada, metabolismo reduzido ou intermediário e níveis de toxicidade razoáveis.

A rifampicina, apesar de apresentar baixa toxicidade predita, exibiu valores elevados para metabolismo e excreção, o que pode estar relacionado à sua conhecida complexidade farmacocinética e potencial para interações medicamentosas. Além disso, sua afinidade de ligação mostrou-se menos favorável no protocolo de *docking* adotado em comparação com os compostos selecionados.

Em relação à afinidade de ligação, os compostos selecionados apresentaram valores majoritariamente negativos, variando aproximadamente entre -8,12 e -10,00 kcal/mol, cujas energias de ligação foram mais favoráveis do que aquelas observadas para todos os fármacos de referência avaliados (variando entre -5,50 e -6,70 kcal/mol). Esses resultados sugerem maior estabilidade dos complexos proteína-ligante formados pelos compostos selecionados, sugerindo potencial interação mais eficiente com o alvo molecular investigado.

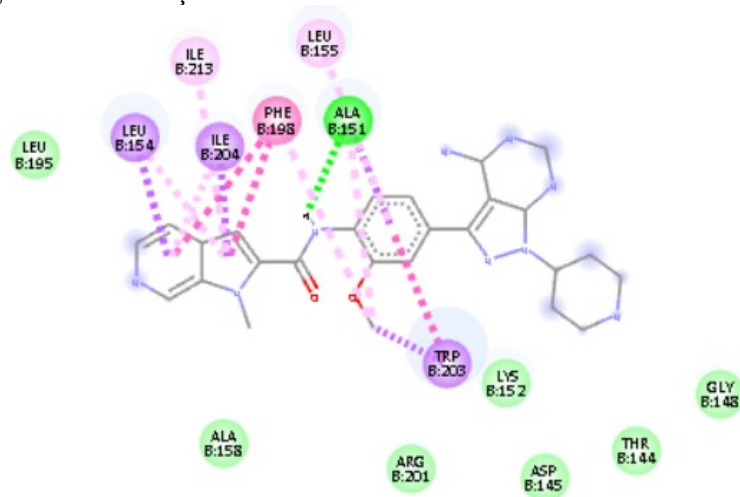
Embora algumas moléculas tenham apresentado afinidade menos favorável ou até positiva, o critério de seleção baseado no RankADMET, que classifica pelo score (RANK), permitiu priorizar aquelas que apresentaram equilíbrio entre afinidade e propriedades farmacocinéticas. Essa abordagem integrada é particularmente relevante, uma vez que elevada afinidade isoladamente não garante viabilidade farmacológica, sendo necessário considerar simultaneamente parâmetros relacionados à biodisponibilidade e segurança.

De modo geral, os resultados indicam que as moléculas destacadas apresentam não apenas afinidade de ligação superior à dos fármacos de primeira linha avaliados, mas também perfil ADMET preditivo mais equilibrado. Esse conjunto de características sugere potencial promissor para avanço em etapas subsequentes do pipeline de descoberta de fármacos, incluindo refinamento estrutural, simulações de dinâmica molecular e validação experimental *in vitro*.

6.5.2 Validação das interações no sítio de ligação 3H3U – *pocket 17*

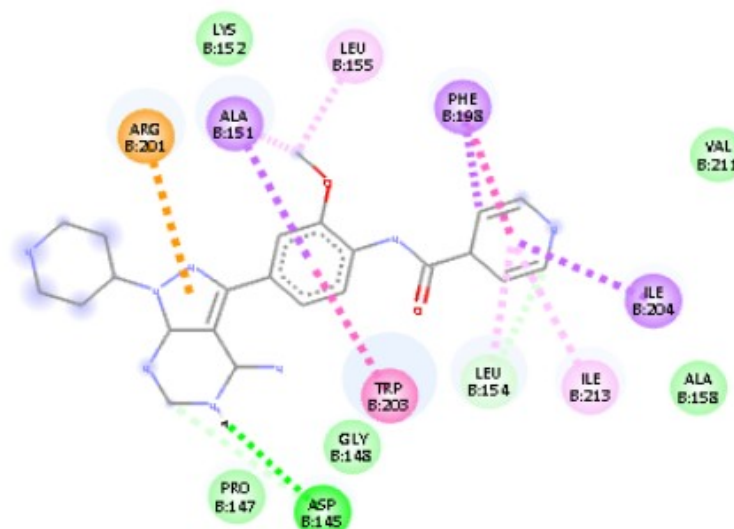
As moléculas destacadas partiram para uma etapa de avaliação e caracterização das interações (Figuras 43,44 e 45). As estruturas dos complexos proteína-ligante foram analisadas no software *Discovery Studio Visualizer*, o qual possibilita, identificar os resíduos de aminoácidos envolvidos e das interações intermoleculares estabelecidas.

Figura 43: Interações entre PubChem-22347096 e 3H3U



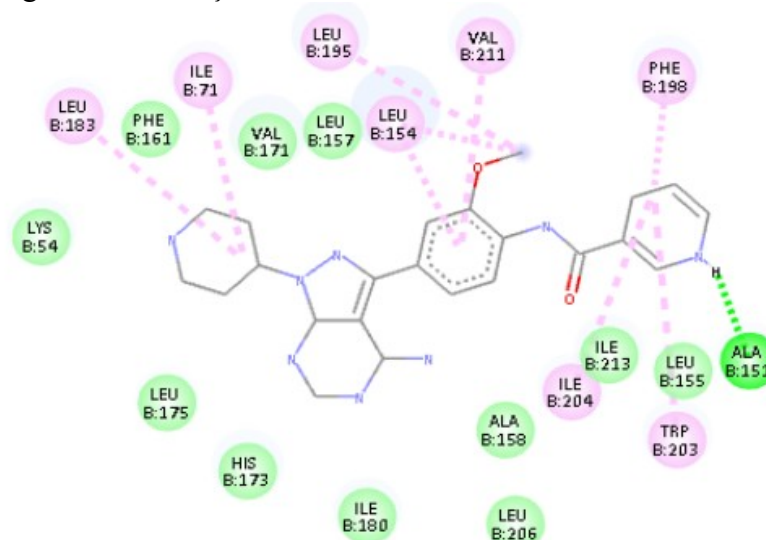
Gerado pelo autor com Discovery Studio. Verde claro corresponde a ligações de van der Waals, verde escuro: ligações de hidrogênio convencionais, roxo: Pi-Sigma, rosa pink: Pi-Pi T-Stacked e rosa claro: Alkyl e Pi-Alkyl.

Figura 44: Interações entre PubChem-159293849 e 3H3U



Gerado pelo autor com Discovery Studio. Verde claro corresponde a ligações de van der Waals, verde escuro: ligações de hidrogênio convencionais, roxo: Pi-Sigma, laranja: Pi-Cation, rosa pink: Pi-Pi T-Stacked e rosa claro: Alkyl e Pi-Alkyl

Figura 45: Interações entre PubChem-22347325 e 3H3U



Gerado pelo autor com Discovery Studio. Verde claro corresponde a ligações de van der Waals, verde escuro: ligações de hidrogênio convencionais, e rosa claro: Alkyl e Pi-Alkyl

Baseado nesses diagramas, os resíduos foram selecionados para busca na literatura, no entanto, não foram localizados estudos que relatassem outras moléculas interagindo no mesmo *pocket* do alvo. A ausência de sobreposição entre os resíduos de aminoácidos identificados neste estudo e aqueles previamente descritos na literatura, para o mesmo alvo, sugere que os ligantes encontrados podem explorar a proteína como alvo promissor.

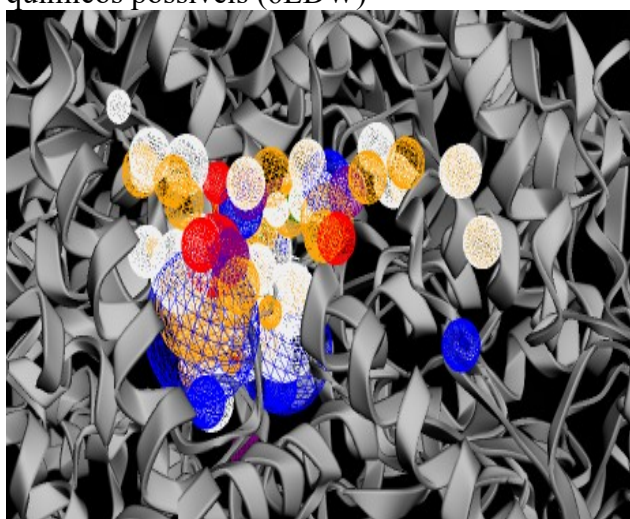
Esse comportamento pode estar associado à alterações na conformação da proteína, típica de alvos de *Mycobacterium tuberculosis*, bem como às diferenças na natureza química dos compostos avaliados, que favorecem modos de ligação distintos dos inibidores clássicos já reportados.

Adicionalmente, variações nos modelos estruturais e nos protocolos computacionais empregados em futuros estudos podem contribuir para o reconhecimento de resíduos diferentes que favoreçam a interação proteína–ligante, fornecendo subsídios importantes para o desenho racional de novos inibidores.

6.1.6 Sítio de ligação 6EDW – *pocket 3*

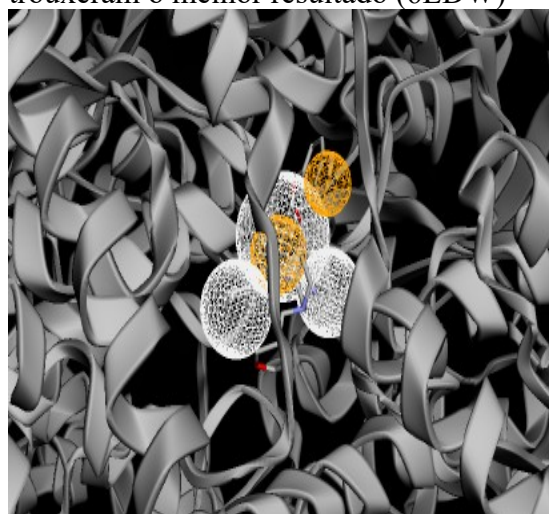
O sexto complexo avaliado corresponde a proteína isocitrato liase de *Mycobacterium tuberculosis*, onde, por meio do PLIP, 186 grupos químicos foram identificados, e a partir deles, 5.639 moléculas prospectadas através do PHARMIT considerando diversas combinações de grupos químicos (Figura 46), de modo que a melhor conformação está representada na Figura 47.

Figura 46: Combinação com todos os grupos químicos possíveis (6EDW)



Relação de todos os grupos químicos do complexo. As esferas amarelas indicam os aceptores de hidrogênio; as verdes indica a interação hidrofóbicas, as brancas são doadores de hidrogênio, as azuis são íons positivos e vermelhas íons negativos. O tamanho da esfera reflete o espaço químico da busca. Fonte: Autor usando Pharmit.

Figura 47: Grupos químicos que trouxeram o melhor resultado (6EDW)



Combinação de grupos químicos que trouxe as moléculas mais promissoras. O tamanho da esfera reflete o espaço químico da busca. Fonte: Autor usando Pharmit.

O conjunto das 5.639 moléculas localizadas seguiram para avaliação ADMET favorecendo assim, a classificação das moléculas a partir do seu perfil farmacocinético, cujos resultados estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11: Classificação ADMET das moléculas do sítio 6EDW – *pocket 3*

ID	AFFINITY	RANK	PFQ	ABS	DIS	MET	EXC	TOX
MCULE-8961837134	-8,29	0,053	0,19	0,44	0,83	0,31	0,33	0,17
PubChem-110122808	-8,88	0,068	0,19	0,56	0,50	0,19	0,17	0,17
643560991	-9,89	0,090	0,31	0,63	0,33	0,38	0,33	0,17
PubChem-110062795	-9,89	0,090	0,31	0,63	0,33	0,38	0,33	0,17
MCULE-2458323881	-8,06	0,115	0,13	0,50	0,83	0,19	0,50	0,14
PubChem-118266241	-8,67	0,130	0,19	0,44	0,50	0,06	0,50	0,08
Z1408120679	-10,52	0,156	0,13	0,56	1,00	0,19	0,33	0,14
MolPort-045-917-835	-10,61	0,160	0,38	0,50	0,50	0,13	0,17	0,06
PubChem-137373725	-8,532	0,185	0,19	0,38	0,50	0,06	0,00	0,09
Z3134458641	-9,112	0,188	0,06	0,56	0,67	0,25	0,00	0,08
PubChem-44270826	-8,805	0,235	0,50	0,44	0,33	0,06	0,50	0,08
RIFAMPICINA	-10,80	0,28	0,28	0,27	0,88	0,68	0,68	0,06
ETAMBUTOL	-5,70	0,36	0,19	0,50	0,17	0,06	0,00	0,11
PIRAZINAMIDA	-5,80	0,53	0,25	0,44	0,67	0,06	0,33	0,08
ISONIAZIDA	-5,50	0,65	0,25	0,44	0,50	0,19	0,33	0,25

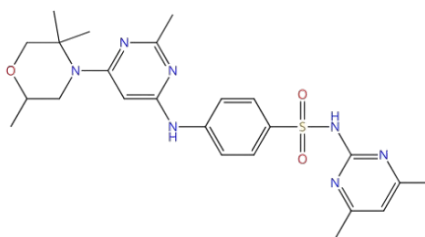
Classificação dos compostos pelo RankAdmet: compreende o ID (identificação da molécula), AFFINITY (afinidade em kcal·mol⁻¹), RANK (média dos 49 parâmetros avaliados), PFQ (propriedades físico-químicas), ABS (absorção), DIS (distribuição), MET (metabolismo), EXC (excreção) e TOX (toxicidade). Verde: identifica perfis favoráveis (0 – 3); Amarelo: intermediários (0,301 – 0,700); Vermelho: desfavoráveis (0,701 – 1). Cor púrpura: fármacos de primeira linha.

6.6.1 Melhores moléculas do sítio de ligação 6EDW – *pocket 3*

Nesta etapa da pesquisa, três moléculas foram destacadas como mais promissoras, MCULE-8961837134 (A16), PubChem-110122808 (A17) e PubChem-118266241 (A18). Além destas, existem várias outras que exibem um perfil ADMET interessante para estudos mais aprofundados considerando a avaliação farmacocinética, onde 21 são melhores que a rifampicina, 5.487 que a isoniazida, 49 que a pirazinamida e 37 melhores que o etambutol.

A primeira molécula destacada, A16, identificada como *benzenosulfonamida,N-(4,6-dimetil-2-pirimidinil)-4-[[2-metil-6-(2,5,5-trimetil-4-morfolinil-pirimidinil]amino]*. Ela representa um conjunto heterocíclico altamente projetado que integra farmacóforos sulfonamídicos clássicos com porções modernas de pirimidina e morfolina substituídas, com peso molecular ligeiramente acima do limite tradicional de Lipinski para biodisponibilidade oral, porém está em consonância com os perfis de inibidores de quinase modernos e potentes, bem como de fungicidas sistêmicos avançados. A molécula alvo foi projetada para interagir com, pelo menos, um, e potencialmente múltiplos, alvos biológicos. Seus elementos estruturais sugerem uma função primária como agente antimicrobiano, mas o ligante pirimidina substituído abre caminho para outras aplicações terapêuticas (Figura 48) (Bakri *et al.*, 2022).

Figura 48: (A16) MCULE-8961837134



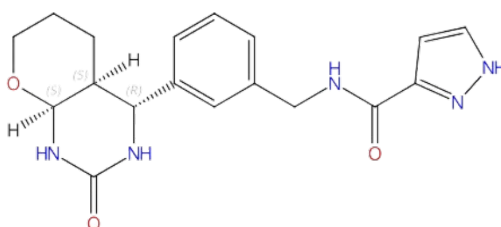
CAS: 2827706-26-1 Fonte: SciFinder

O LogP indica que o composto é suficientemente lipofílico para atravessar membranas biológicas por difusão passiva. No entanto, o peso molecular sugere que o composto pode apresentar solubilidade menor do que sulfonamidas mais simples, o que exige o uso de técnicas de formulação especializadas. A segurança do composto para organismos não-alvo é um fator crítico para sua aprovação regulatória. As sulfonamidas são geralmente conhecidas por apresentarem baixa toxicidade aguda para mamíferos e aves. No entanto, seu impacto em ambientes aquáticos pode ser mais pronunciado, pois podem afetar o crescimento de algas e certas plantas aquáticas. O alto peso molecular pode impactar solubilidade e biodisponibilidade, exigindo estratégias de formulação adequadas para garantir concentrações terapêuticas eficazes em tratamentos prolongados. Além disso, embora sulfonamidas apresentem baixa toxicidade aguda em mamíferos, a avaliação do perfil de segurança sistêmico permanece fundamental, sobretudo considerando o uso extensivo e a duração típica da terapia antituberculose.

A segunda molécula, PubChem-110122808 (A17), que compreende o composto *1 H -Pyrazole-3-carboxamida, N -[[3-(4 RR,4a S, 8a S)-octahidro-2-oxo-2 H -pirano[2,3-d]pirimidina-4-il]]fenilti],* projetado para inibir seletivamente os canais do potencial receptor transitório canônico (TRPC), com afinidade particular pelos subtipos TRPC4 e TRPC5.

O composto possui um perfil favorável e previsível, caracterizado por alta absorção oral e meia-vida de eliminação terminal excepcionalmente longa. Isto sugere um padrão de eliminação multifásico e potencial para acúmulo nos tecidos, o que pode ser benéfico para manter a inibição do canal em estado estacionário com a administração de uma dose única diária (Figura 49).

Figura 49: (A17) PubChem-110122808



CAS: 2060999-08-6 Fonte: SciFinder

Ele demonstrou baixo potencial para interações medicamentosas, não inibe nem induz significativamente a atividade do CYP3A4 e nem é substrato para importantes transportadores de efluxo. As propriedades farmacocinéticas favoráveis, incluindo uma longa meia-vida e baixo potencial para interações medicamentosas, sugerem que essa classe de inibidores é adequada para administração crônica (Porav *et al.*, 2025).

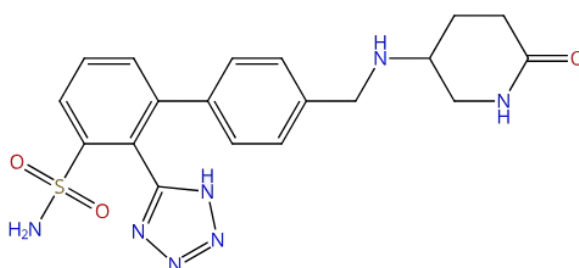
A alta absorção oral, a meia-vida prolongada e o baixo potencial de interação com CYP3A4 indicam um perfil compatível com administração crônica, característica essencial no tratamento da tuberculose, que exige esquemas prolongados e combinados. A ausência de indução ou inibição significativa de enzimas metabolizadoras reduz o risco de interações com fármacos de primeira linha, frequentemente associados a hepatotoxicidade e interações metabólicas. Assim, embora o alvo primário não seja micobacteriano, o arcabouço químico e o perfil ADMET favorável tornam essa molécula um ponto de partida promissor para reposicionamento ou otimização frente a alvos essenciais de MTB.

A terceira molécula em destaque nesse complexo, é PubChem-118266241 (A18), que corresponde a *[1,1--Bifenil]-3-sulfonamida,4o-[[[(6-oxo-3-piperidinil)amino]metil]-2-(2 H -tetrazol-5-il)]* integrando três elementos farmacofóricos distintos para atingir diversos alvos

terapêuticos, desde resistência antimicrobiana até desregulação metabólica. Seus alvos primários são as enzimas metalo-beta-lactamase (MBL) encontradas em bactérias multirresistentes (MDR) e o receptor 120 acoplado à proteína G (GPR120), envolvido na homeostase da glicose (Nichols *et al.*, 2014).

O potencial clínico do composto é determinado pelo seu perfil ADMET, e a presença de múltiplos grupos polares influencia significativamente seu comportamento *in vivo*. Ele exibe alto grau de ionização, o que lhe confere excelente solubilidade em água, mas pode representar desafios para a absorção intestinal passiva (Figura 50).

Figura 50: (A18) PubChem-118266241



CAS: 1802365-74-7 Fonte: SciFinder

Ainda é visto a ausência de interações medicamentosas adversas no nível da depuração renal ou do metabolismo hepático, característica importante para o desenvolvimento de combinações de dose fixa destinadas ao tratamento de infecções por microrganismos multirresistentes. O perfil ADMET descrito é particularmente vantajoso para esquemas de dose fixa utilizados no tratamento da tuberculose, que demandam administração prolongada e associação de múltiplos fármacos. Entretanto, a possível limitação na absorção intestinal deve ser considerada, uma vez que a eficácia clínica em tuberculose depende de adequada biodisponibilidade sistêmica. Assim, compostos com esse perfil podem ser promissores como parte de estratégias combinatórias contra cepas resistentes, desde que apresentem atividade específica contra alvos micobacterianos e permeabilidade compatível com a complexa parede celular da micobactéria.

A análise combinada da afinidade de ligação e do perfil ADMET permitiu classificar três moléculas promissoras, que apresentaram se mostraram substancialmente superior aos observados para os fármacos de primeira linha, indicando melhor equilíbrio entre propriedades farmacocinéticas e toxicológicas preditas.

Em relação à afinidade, os compostos destacados apresentaram energias de ligação variando entre $-8,29$ e $-8,88$ kcal/mol. Embora esses valores não superem a rifampicina, são mais favoráveis do que aqueles observados para etambutol, pirazinamida e isoniazida, sugerindo interação estável com o alvo molecular.

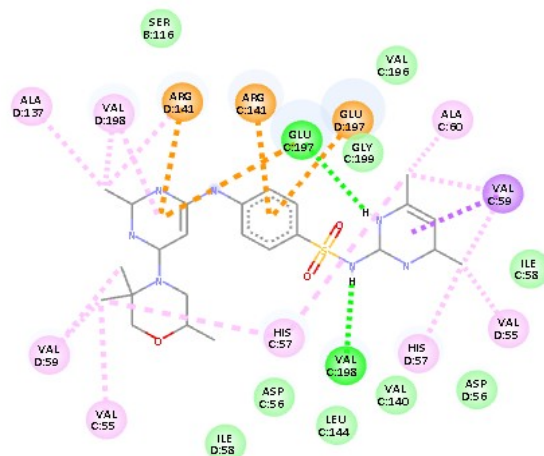
O diferencial mais relevante das moléculas selecionadas está no perfil ADMET. Os compostos apresentaram valores moderados de absorção e distribuição, metabolismo controlado e baixos índices de toxicidade. Em contraste, os fármacos de referência apresentaram maior impacto de parâmetros como distribuição, metabolismo e toxicidade, o que pode refletir limitações farmacocinéticas já descritas na literatura.

De forma geral, os resultados indicam que as moléculas destacadas apresentam afinidade adequada associada a perfil ADMET mais equilibrado do que os fármacos de primeira linha analisados, configurando-se como candidatas promissoras para etapas subsequentes de validação experimental. Contudo, por se tratarem de dados provenientes de predições *in silico*, a confirmação da atividade biológica e da segurança depende de estudos complementares *in vitro* e *in vivo*.

6.6.2 Validação das interações no sítio de ligação 6EDW – *pocket 3*

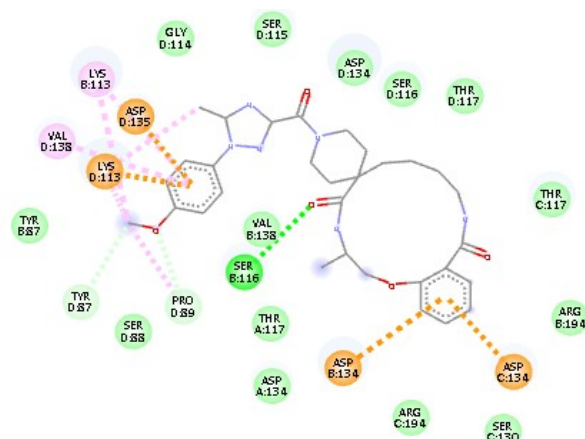
Essas moléculas ainda foram submetidas à etapa de caracterização das interações (Figuras 51, 52 e 53), no software *Discovery Studio Visualizer*, o qual possibilita, por meio de diagramas bidimensionais (2D), a identificação dos resíduos aminoácidos envolvidos e das interações intermoleculares estabelecidas.

Figura 51: Interações entre MCULE-8961837134 e 6EDW



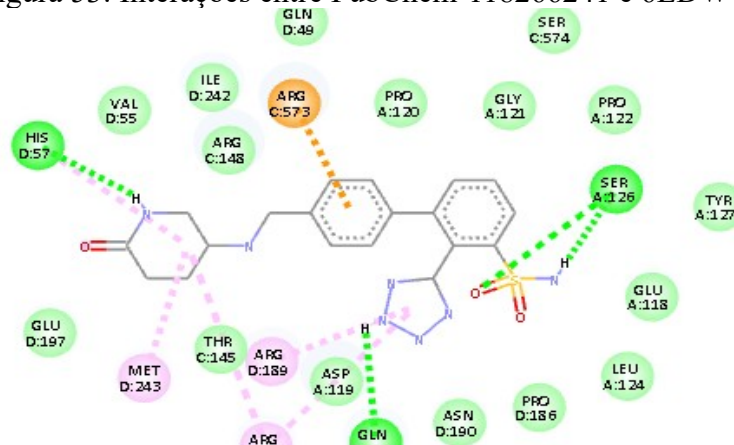
Fonte: Gerado pelo autor com *Discovery Studio*. Verde claro corresponde a ligações de van der Waals, verde escuro: ligações de hidrogênio convencionais, roxo: Pi-Sigma, laranja: Pi-Cation, e Pi-Anion e rosa claro: Alkyl e Pi-Alkyl.

Figura 52: Interações entre PubChem-110122808 e 6EDW



Fonte: Gerado pelo autor com Discovery Studio. Verde claro corresponde a ligações de van der Waals, verde escuro: ligações de hidrogênio convencionais, laranja: Pi-Cation e Pi-Anion e rosa claro: Alkyl e Pi-Alkyl.

Figura 53: Interações entre PubChem-118266241 e 6EDW



Fonte: Gerada pelo autor com Discovery Studio. Verde claro corresponde a ligações de van der Waals, verde escuro: ligações de hidrogênio convencionais, laranja: Pi-Cation e rosa claro: Alkyl e Pi-Alkyl.

Com base nos diagramas de interação obtidos, os resíduos de aminoácidos foram selecionados para análise comparativa com aqueles previamente reportados na literatura para o mesmo alvo molecular. Entretanto, não foram identificados estudos que descrevessem interações equivalentes às observadas nesta investigação. A inexistência de correspondência entre os resíduos mapeados neste trabalho e os previamente descritos sugere que os ligantes avaliados podem estar acessando regiões alternativas do sítio de ligação, incluindo bolsões secundários ou áreas periféricas estruturalmente relevantes que não são exploradas por inibidores clássicos.

Esse padrão de interação pode estar relacionado à flexibilidade conformacional intrínseca da proteína, característica comum a alvos de *M. tuberculosis*, bem como às particularidades químicas dos compostos selecionados, que favorecem modos de ancoragem distintos daqueles tradicionalmente reportados. Além disso, diferenças nos modelos estruturais utilizados e nos protocolos computacionais adotados em estudos anteriores podem influenciar diretamente o conjunto de resíduos recrutados durante a formação do complexo proteína–ligante.

Tais achados ampliam a compreensão das regiões exploráveis do alvo molecular e fornecem subsídios relevantes para estratégias futuras de desenho racional de inibidores, especialmente no desenvolvimento de compostos capazes de contornar limitações associadas a sítios de ligação já amplamente explorados.

6.1.7 Sítio de ligação 5I7R – *pocket 1*

Outro complexo destacado neste estudo compreende a cisteína sintase complexada com o inibidor da ureia. Utilizando o PLIP, 163 grupos químicos foram identificados, e a partir deles, 33.611 moléculas prospectadas por meio do PHARMIT através de diversas combinações de grupos químicos (Figura 54), de modo que a melhor conformação está representada na Figura 55.

Figura 54: Combinação com todos os grupos químicos possíveis (5I7R)



Relação de todos os grupos químicos do complexo. As esferas amarelas indicam os aceptores de hidrogênio; as verdes indica a interação hidrofóbicas, as brancas são doadores de hidrogênio, as azuis são íons positivos e vermelhas íons negativos. O tamanho da esfera reflete o espaço químico da busca. Fonte: Autor usando Pharmit.

Figura 55: Grupos químicos que trouxeram o melhor resultado (5I7R)



Combinação de grupos químicos que trouxe as moléculas mais promissoras. O tamanho da esfera reflete o espaço químico da busca. Fonte: Autor usando Pharmit.

Todas as 33.611 moléculas localizadas a partir dessa etapa de busca seguiram para avaliação ADMET, gerenciada pelo RankAdmet, favorecendo assim, a classificação das moléculas a partir do seu perfil farmacocinético, cujos resultados estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 12: Classificação ADMET das moléculas do sítio 5I7R – *pocket* 1

ID	AFFINITY	RANK	PFQ	ABS	DIS	MET	EXC	TOX
MCULE-8214292035	-8,97	0,050	0,13	0,50	0,83	0,19	0,33	0,11
MCULE-5774344176	-9,12	0,073	0,13	0,50	0,50	0,19	0,33	0,14
MCULE-1986994983	-8,70	0,086	0,06	0,50	0,50	0,19	0,33	0,11
MCULE-8468042629	-10,126	0,089	0,19	0,56	0,50	0,13	0,17	0,11
MCULE-3315530818	-9,76	0,106	0,25	0,50	0,50	0,25	0,33	0,14
MCULE-3073526243	-10,00	0,133	0,19	0,56	0,50	0,25	0,33	0,14
MCULE-6442902038	-9,91	0,136	0,19	0,50	0,50	0,31	0,33	0,14
MCULE-6169009389	-8,43	0,151	0,13	0,50	0,50	0,13	0,17	0,14
CSC026742907	-8,814	0,157	0,25	0,63	0,50	0,13	0,33	0,14
LN01394785	-8,814	0,157	0,25	0,63	0,50	0,13	0,33	0,14
NSC338548	-8,821	0,160	0,00	0,50	0,50	0,25	0,17	0,14
RIFAMPICINA	25,00	0,28	0,28	0,27	0,88	0,68	0,68	0,06
ETAMBUTOL	-5,70	0,36	0,19	0,50	0,17	0,06	0,00	0,11
PIRAZINAMIDA	-5,80	0,53	0,25	0,44	0,67	0,06	0,33	0,08
ISONIAZIDA	-6,00	0,65	0,25	0,44	0,50	0,19	0,33	0,25

Classificação dos compostos pelo RankAdmet: compreende o ID (identificação da molécula), AFFINITY (afinidade em kcal·mol, RANK (média dos 49 parâmetros avaliados), PFQ (propriedades físico-químicas), ABS (absorção), DIS (distribuição), MET (metabolismo), EXC (excreção) e TOX (toxicidade). Verde: identifica perfis favoráveis (0 – 3); Amarelo: intermediários (0,301 – 0,700); Vermelho: desfavoráveis (0,701 – 1). Cor púrpura: fármacos de primeira linha.

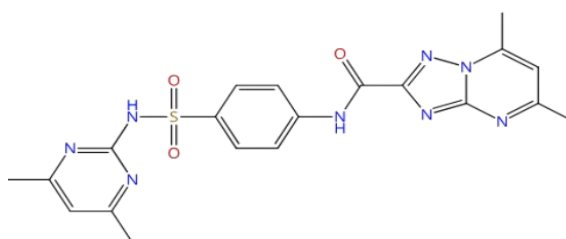
6.7.1 Melhores moléculas do sítio de ligação 5I7R – *pocket* 1

MCULE-8468042629 (A19) e MCULE-3073526243 (A20), destacadas em vermelho, são consideradas as mais promissoras deste complexo, por além do perfil ADMET bom, ainda

demonstrarem boa afinidade com o alvo. Além destas, 20 moléculas são classificadas como melhores que a rifampicina, 33.580 que a isoniazida, 30.687 que a pirazinamida e 38 melhores que o etambutol.

A primeira delas, MCULE-8468042629(A19), corresponde a *[1,2,4]Triazolo[1,5-a]pirimidina-2-carboxamida, N* -[4—[(4,6-dimetil-2-piridinil)amino]sulfonyl]fenil]-5,7-dimetil (Figura 56), identificada como potente inibidor de diversos alvos virais. Compostos baseados nessa estrutura foram desenvolvidos para atingir a interface PA-PB1 da polimerase do vírus influenza A, interrompendo efetivamente a replicação viral.

Figura 56: (A19) MCULE-8468042629



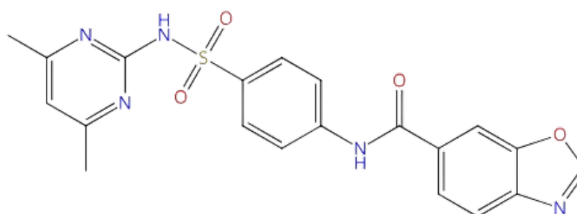
CAS: 2937795-52-1 Fonte: SciFinder

Além disso, demonstraram potencial como inibidores da atividade da ribonuclease H (RNase H) associada à transcriptase reversa do HIV-1, levando à identificação de derivados de catecol que inibem a RNase H em concentrações micromolares baixas. Ademais, outras atividades foram identificadas como agonistas do subtipo 2 do receptor de somatostatina. Esses compostos não peptídicos de baixo peso molecular costumam ser biodisponíveis por via oral e apresentam potencial para o tratamento de doenças relacionadas à somatostatina, como acromegalia ou obstruções gastrointestinais (Bonomini *et al.*, 2025). O composto em questão é comercializado por *Aurora Building Blocks* 12 com pureza entre 95-98%.

Embora inicialmente desenvolvida como inibidor de alvos virais, essa classe estrutural apresenta características que podem ser exploradas frente a *Mycobacterium tuberculosis*. A inibição enzimática direcionada, especialmente de proteínas envolvidas em replicação e processamento de ácidos nucleicos, é conceitualmente aplicável à MTB, que depende de enzimas essenciais para replicação e manutenção do genoma. Dessa forma, apesar do foco antiviral original, a arquitetura molecular pode servir como ponto de partida para o desenvolvimento ou reposicionamento de candidatos com atividade antimicobacteriana, desde que exista afinidade por alvos da bactéria e mantenha-se o perfil ADMET compatível com uso crônico.

A segunda molécula, MCULE-3073526243 (A20), relacionada ao composto *benzoxazolcarboxamida, N-[[[(4,6-dimetil-2-pirimidinil)amino]sulfonyl]fenil]*, que representa um arcabouço estrutural crítico no desenvolvimento inicial de compostos ativadores de sirtuínas (Figura 57).

Figura 57: (A20) MCULE-3073526243



CAS: 2331118-67-1 Fonte: SciFinder

A transição da série sirtuína 1 de candidatos a fármacos para diferentes tipos de doenças, incluindo metabólicas e virais, destaca a versatilidade inerente das estruturas de pequenas moléculas e a importância do reposicionamento contínuo na pesquisa farmacêutica. A pesquisa sobre ativadores de sirtuínas no contexto da tuberculose foca principalmente na estratégia de terapia direcionada ao hospedeiro para aumentar a capacidade dos macrófagos de combater a infecção, em vez de atacar a bactéria diretamente (Dai *et al.*, 2010). Nesse contexto, o reposicionamento de pequenas moléculas originalmente investigadas para doenças metabólicas ou virais amplia o espectro terapêutico potencial e reforça a importância de integrar abordagens antimicrobianas diretas e moduladoras da resposta do hospedeiro na identificação de candidatos promissores contra a tuberculose.

A análise das moléculas A19 e A20 evidencia a recorrência de motivos estruturais sulfonilados associados a núcleos heterocíclicos nitrogenados, ressaltando a versatilidade farmacológica desse arcabouço químico. Apesar das diferenças nos alvos biológicos primários, ambos os compostos compartilham características estruturais compatíveis com pequenas moléculas de baixo peso molecular, associadas à biodisponibilidade oral e à capacidade de modular processos biológicos distintos, sustentando a hipótese de que essas estruturas representam plataformas promissoras para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos, inclusive em cenários infecciosos complexos como o da tuberculose.

Quanto a afinidade de ligação e perfil ADMET, foi possível identificar como mais promissoras as moléculas A19 e A20 por demonstrarem equilíbrio global entre propriedades farmacocinéticas e toxicológicas previstas.

No que se refere à afinidade de ligação, as moléculas selecionadas apresentaram energias muito mais favoráveis que o observado para os fármacos de primeira linha, sugerindo interação estável e energeticamente favorável com o alvo molecular.

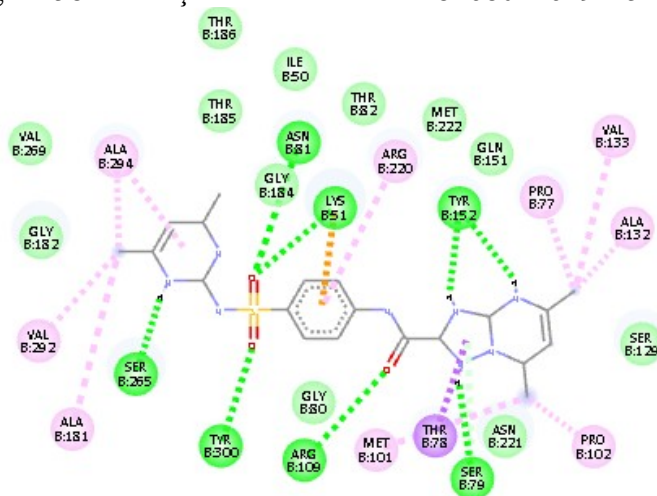
A avaliação individual dos parâmetros ADMET demonstra que os compostos destacados apresentam absorção e distribuição moderadas, metabolismo controlado e baixos índices de toxicidade. Em contraste, os fármacos de referência apresentaram maior impacto de parâmetros como distribuição e metabolismo (Rifampicina) ou maior média global associada à toxicidade e outros descritores (Isoniazida e Pirazinamida).

De modo geral, os resultados indicam que as moléculas selecionadas combinam afinidade de ligação adequada com perfil ADMET mais equilibrado do que os fármacos de primeira linha analisados, configurando-se como candidatas promissoras para continuidade no pipeline de descoberta de fármacos. Contudo, por se tratarem de predições *in silico*, a validação experimental é necessária para confirmar a atividade biológica e o perfil de segurança observados.

6.7.2 Validação das interações no sítio de ligação 5I7R – *pocket 1*

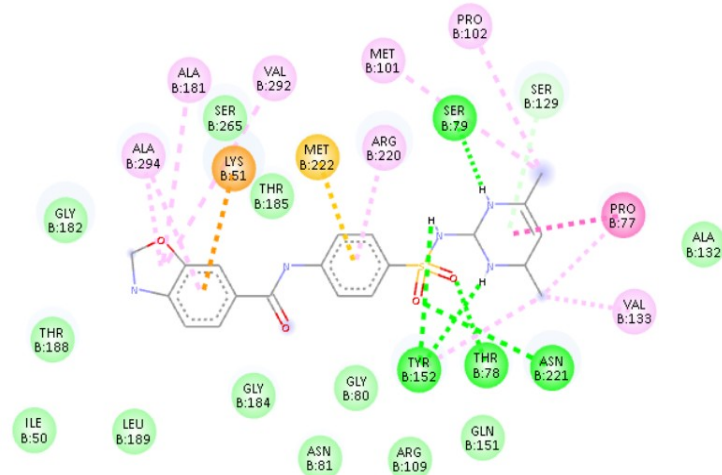
Essas moléculas seguiram para a caracterização das interações (Figuras 58 e 59) no software *Discovery Studio Visualizer*, o qual possibilita, por meio de diagramas bidimensionais (2D), a identificação dos resíduos aminoácidos envolvidos e das interações intermoleculares estabelecidas.

Figura 58: Interações entre MCULE-8468042629 e 5I7R



Fonte: Gerado pelo autor com Discovery Studio. Verde claro corresponde a ligações de van der Waals, verde escuro: ligações de hidrogênio convencionais, roxo: Pi-Sigma e rosa claro: Alkyl e Pi-Alkyl.

Figura 59: Interações entre MCULE-3073526243 e 5I7R



Fonte: Gerado pelo autor com Discovery Studio. Verde claro corresponde a ligações de van der Waals, verde escuro: ligações de hidrogênio convencionais, laranja: Pi-Cation, rosa pink: Amida Pi-Stacked e rosa claro: Alkyl e Pi-Alkyl

Os resíduos selecionados a partir dos mapas de interação foram usados para nortear a busca na literatura, porém não foram encontrados precedentes que descrevessem contatos moleculares equivalentes. Este cenário indica que os novos ligantes acessam áreas distintas do sítio ativo, incluindo regiões acessórias estruturalmente relevantes. Este comportamento pode ser fruto da flexibilidade estrutural do alvo proteico e das características moleculares dos compostos analisados, que possibilitam um acoplamento diferenciado. Outro fator a se considerar é a influência das metodologias computacionais e dos modelos de proteína utilizados em pesquisas anteriores. A identificação dessas novas regiões de contato é estratégica para o design de inibidores inovadores, oferecendo alternativas para o desenvolvimento de fármacos mais eficazes contra alvos já conhecidos.

Com base nos resultados obtidos, este estudo demonstra de forma consistente que a integração entre triagem virtual baseada em ligante e em estrutura, aliada à análise detalhada das interações proteína–ligante e à avaliação farmacocinética precoce, constitui uma estratégia robusta para a identificação de candidatos promissores contra *M. tuberculosis*. A recorrência de interações com resíduos aminoácidos conservados em alvos clássicos, como timidilato quinase, enoil-ACP redutase, antranilato fosforribosiltransferase e fosfopanteteinil transferase, reforça a validade dos modelos computacionais empregados e a relevância biológica dos complexos selecionados. Paralelamente, a identificação de padrões de ligação distintos e de resíduos não descritos previamente na literatura para determinados alvos não convencionais

evidencia a capacidade das moléculas prospectadas em explorar regiões alternativas dos sítios de ligação, refletindo a plasticidade conformacional característica de proteínas de MTB e ampliando o espectro de possibilidades para o desenho racional de novos inibidores.

Adicionalmente, a incorporação de critérios de drogabilidade, regras de Lipinski e análises ADMET permitiu refinar a seleção de compostos com perfis farmacocinéticos e toxicológicos mais favoráveis, mitigando limitações frequentemente associadas a candidatos iniciais no desenvolvimento de fármacos antituberculosos. Em conjunto, os achados sustentam que pequenas variações estruturais nos ligantes podem impactar significativamente o padrão de interações intermoleculares, a afinidade de ligação e a seletividade do alvo, com reflexos diretos na atividade biológica prevista.

Dessa forma, os resultados apresentados fornecem uma base sólida para estudos experimentais subsequentes e contribuem para o avanço de abordagens integradas no desenvolvimento racional de novas alternativas terapêuticas diante da tuberculose, especialmente em um contexto de crescente resistência aos fármacos atualmente disponíveis. Adicionalmente, destaca-se que a abordagem empregada, baseada em métodos *in silico*, contribui para a redução do uso de modelos animais em etapas iniciais da pesquisa, alinhando-se aos princípios éticos contemporâneos de experimentação científica. Ademais, o presente estudo encontra-se em consonância com as diretrizes do Plano Nacional pelo Fim da Tuberculose, ao fortalecer a produção de conhecimento científico e tecnológico, aspecto fundamental para o enfrentamento da doença e para o desenvolvimento de estratégias mais eficazes de controle e tratamento.

7 CONCLUSÃO

O presente estudo realizou uma abordagem híbrida de triagem virtual, combinando LBVS e SBVS, possibilitando catalogar 486.105 interações em 63.219 complexos gerados a partir do *docking* molecular, viabilizando identificar 936 grupos químicos, permitindo explorar os resíduos da proteína expostos à interações, que nortearam a busca farmacofórica e prospecção de 117.918 moléculas. Esta abordagem identificou três alvos não convencionais, sem estudos publicados, evidenciando o perfil da metodologia, tanto em prospectar moléculas candidatas a fármacos quanto novos alvos terapêuticos, independente da existência de um fármaco para guiar a busca.

A recorrência de interações com resíduos conservados em alvos clássicos, como timidilato quinase, enoil-ACP redutase, antranilato fosforribosiltransferase e fosfopanteteinil transferase, reforça a relevância biológica dos complexos selecionados. Além disso, a identificação de interações não previamente descritas na literatura sugere que os ligantes prospectados exploram regiões alternativas dos sítios ativos, ampliando as possibilidades para o desenho racional de inibidores inovadores. A incorporação de critérios de drogabilidade, regras de Lipinski e análise ADMET permitiu refinar a seleção de compostos com maior potencial de progressão no pipeline de desenvolvimento.

Embora o estudo esteja delimitado ao campo *in silico*, os resultados obtidos confirmam que a aplicação integrada de modelagem farmacofórica, triagem virtual e avaliação farmacocinética preditiva é capaz de identificar candidatos promissores contra *Mycobacterium tuberculosis*, atendendo ao problema de pesquisa proposto. Dessa forma, a investigação fornece uma base metodológica sólida para etapas experimentais subsequentes, como validações *in vitro* e *in vivo*, contribuindo para o avanço do desenvolvimento racional de novas alternativas terapêuticas no contexto da tuberculose e da crescente resistência aos fármacos atualmente disponíveis.

8 REFERÊNCIAS

ABDELGAWAD, M.A. *et al.* Design, molecular docking, synthesis, anticancer and anti-hyperglycemic assessments of thiazolidine-2, 4-diones bearing sulfonylthiourea moieties as potent VEGFR-2 inhibitors and PPAR γ agonists. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 2, 2022.

ADMET-AI. ADMET-AI: predição de propriedades ADMET de moléculas químicas. ADMET-AI, [S.l.], c2025. Disponível em: <https://admet.ai.greenstonebio.com>. Acesso em: 08 dez. 2025.

AGU, P.C. *et al.* Molecular docking as a tool for the discovery of molecular targets of nutraceuticals in diseases management. **Scientific reports**, v. 13, n. 1, 2023.

ALAWAD, M. J.*et al.* Rifampicin-Induced Pulmonary Embolism: A Rare Side Effect. **Cureus**, 13, n. 10,2021.

ALHOSSARY, A. *et al.* Fast, accurate, and reliable molecular dockingwith QuickVina 2. **Bioinformatics**, v. 31, n. 13, 2015.

ALPER TÜRKOĞLU, E. *et al.* Carbonic anhydrase inhibitory properties of some uracil derivatives. **Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry**, v. 32, n. 1, 2017.

AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. SciFinder[®]1422970-38-4. SciFinder[®], s.d. Disponível em: <https://scifinder-n.cas.org/searchDetail/substance/6976cd690853f16222b5cb0b/substanceDetails>. Acesso em 12/01/2026.

AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. SciFinder[®]2060999-08-6. SciFinder[®], s.d. Disponível em: <https://scifinder-n.cas.org/searchDetail/substance/6976cd690853f16222b5cb0b/substanceDetails>. Acesso em 12/01/2026.

AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. SciFinder[®]2339320-87-3. SciFinder[®], s.d. Disponível em: <https://scifinder-n.cas.org/searchDetail/substance/6976cd690853f16222b5cb0b/substanceDetails>. Acesso em 10/01/2026.

AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. SciFinder[®]3071259-03-2. SciFinder[®], s.d. Disponível em: <https://scifinder-n.cas.org/searchDetail/substance/6976cd690853f16222b5cb0b/substanceDetails>. Acesso em 10/01/2026.

BADAWY, E.T. *et al.* Isoniazid, mechanism of action, biological activity, resistance and biotransformation. **Journal of Advanced Medical and Pharmaceutical Research**, v. 4, n. 2, 2023.

BAHRAMINIA, F. *et al.* Rifampicin-resistant tuberculosis in Iran: A systematic review and meta-analysis. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, 24, n. 6,2021.

BAKRI, M.M. *et al.* Mycostimulator of chitinolytic activity: Thermodynamic studies and its activity against human and food-borne microbial pathogens. **BioResources**, v. 17, n. 3, 2022.

BANKS, D.A. *et al.* *Mycobacterium tuberculosis* inhibits autocrine type I IFN signaling to increase intracellular survival. **The Journal of Immunology**, v. 202, n. 8, 2019.

BARAL, T. *et al.* Potential role of indole-3-propionic acid in tuberculosis: current perspectives and future prospects. **Expert Opinion on Therapeutic Targets**, v. 29, n. 3, 2025.

BHUSAL, R.P. *et al.* Acetyl-CoA-mediated activation of *Mycobacterium tuberculosis* isocitrate lyase 2. **Nature Communications**, v. 10, n. 1, 2019.

BIOVIA D. S.; BIOVIA Discovery Studio Visualizer; San Diego, 2024.

BISWAS, S. *et al.* Xpert MTB/RIF Ultra assay for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* in people with negative conventional Xpert MTB/RIF but chest imaging suggestive of tuberculosis in Dhaka. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 114, 2022.

BONOMINI, A.; MERCORELLI, B.; LOREGIAN, A. Antiviral strategies against influenza virus: An update on approved and innovative therapeutic approaches. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 82, n. 1, 2025.

BORGES, M.A.S.B *et al.* Clinical-epidemiological characteristics and outcomes of latent tuberculosis treatment at a tertiary center in central-West Brazil from 2017 to 2019. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 7, n. 12, 2022.

BRASIL. Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil. **Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica**, 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. **Boletim Epidemiológico – Tuberculose 2025**. 2025.

BRITO, A.C *et al.* Tuberculose cutânea: atualização epidemiológica, clínica, diagnóstica e terapêutica. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 97, n. 2, 2022.

BURLEY, S. K. *et al.* RCSB Protein Data Bank: powerful new tools for exploring 3D structures of biological macromolecules for basic and applied research and education in fundamental biology, biomedicine, biotechnology, bioengineering and energy sciences. **Nucleic acids research**, v. 49, n.1, 2021.

BURNS-HUANG, K.; MUNDHRA, S. *Mycobacterium tuberculosis* cysteine biosynthesis genes *mec*⁺-*cysO*-*cysM* confer resistance to clofazimine. **Tuberculosis**, v. 115, 2019.

CABRERA, M.N. Caracterización biofísicoquímica de proteínas quinasas de *Mycobacterium tuberculosis*. Tese de Doutorado. Universidad de Buenos Aires. **Facultad de Ciencias Exactas y Naturales**. 2019.

CANUTO, G.A.B. *et al.* Metabolômica: definições, estado-da-arte e aplicações representativas. **Química Nova**, v. 41, n. 1, 2018.

CARRANZA, C.; CHAVEZ-GALAN, L. Several routes to the same destination: inhibition of phagosome-lysosome fusion by *Mycobacterium tuberculosis*. **The American journal of the medical sciences**, v. 357, n. 3, 2019.

CASTELL, A. *et al.* The substrate capture mechanism of *Mycobacterium tuberculosis* anthranilate phosphoribosyltransferase provides a mode for inhibition. **Biochemistry**, v. 52, n. 10, 2013.

CHAI, J. *et al.* Discovery of orally available 1H-pyrazolo [3, 4-d] pyrimidin-4-amine derivative as a novel BTK inhibitor. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 17, n. 9, 2024.

CHIKHALE, R. V. *et al.* Identification of mycobacterial Thymidylate kinase inhibitors: a comprehensive pharmacophore, machine learning, molecular docking, and molecular dynamics simulation studies. **Molecular Diversity**, v. 28, n. 4, 2024.

CRAWFORD, J.J. *et al.* Discovery of GDC-0853: a potent, selective, and noncovalent Bruton's tyrosine kinase inhibitor in early clinical development. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 61, 2018.

CRICK, D., MAHAPRATA, S., BRENNAN, P. Biosynthesis of the arabinogalactan-peptidoglycan complex of *Mycobacterium tuberculosis*. **Glycobiology**, v. 11, 2001.

DA COSTA NUNES, I.K. A Importância do Estudo do Metabolismo nos Estágios Iniciais de Desenvolvimento de Fármacos. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 2, 2015.

DA SILVA, M.E.N. Aspectos gerais da tuberculose: uma atualização sobre o agente etiológico e o tratamento. **RBAC**, v. 50, n. 3, 2018.

DAI, H. *et al.* SIRT1 activation by small molecules: kinetic and biophysical evidence for direct interaction of enzyme and activator. **Journal of Biological Chemistry**, v. 285, n. 43, 2010.

DARTOIS, V.A.; RUBIN, E.J. Anti-tuberculosis treatment strategies and drug development: challenges and priorities. **Nature Reviews Microbiology**, v. 20, n. 11, 2022.

DAVOODI, S. *et al.* Evaluating the Impact of the Tyr158 p K a on the Mechanism and Inhibition of InhA, the Enoyl-ACP Reductase from *Mycobacterium Tuberculosis*. **Biochemistry**, v. 62, n. 12, 2023.

DE OLIVEIRA, D.M. *Mycobacterium tuberculosis* e a resistência do bacilo de Koch. Tese de Doutorado. Universidade Fernando Pessoa. 2013.

DELOGU, G.; SALI, M.; FADDA, G. The biology of *Mycobacterium tuberculosis* infection. **Mediterranean journal of hematology and infectious diseases**, v. 5, n. 1, 2013.

DEVAUX, L. *et al.* Cyclic di-AMP in host–pathogen interactions. **Current opinion in microbiology**, v. 41, 2018.

DHARMADHIKARI, A. S. *et al.* Surgical face masks worn by patients with multidrug-resistant tuberculosis: impact on infectivity of air on a hospital ward. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 185, n. 10, 2012.

DINCER, S. *et al.* Synthesis, biological evaluation and docking studies of new pyrrolo [2, 3-d] pyrimidine derivatives as Src family-selective tyrosine kinase inhibitors. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 28, n. 5, 2013.

DJAHARUDDIN, I. *et al.* Intestinal tuberculosis: case series of three patients. **Respiratory Medicine Case Reports**, v. 29, 2020.

DREWRY, D.H. *et al.* Identification and utilization of a chemical probe to interrogate the roles of PIKfyve in the lifecycle of β -coronaviruses. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 65, n. 19, 2022.

DUARTE, R. *et al.*, Abordagem terapêutica da tuberculose e resolução de alguns problemas associados à medicação. **Revista Portuguesa de Pneumologia**, v. 16, n. 4, 2010.

EGOROVA, A. *et al.* Targeting non-replicating *Mycobacterium tuberculosis* and latent infection: Alternatives and perspectives (Mini-review). **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 24, 2021.

EJALONIBU, M.A. *et al.* Drug discovery for *Mycobacterium tuberculosis* using structure-based computer-aided drug design approach. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 24, 2021.

FENNELLY, K.P.; JONES-LOPEZ, E.C. Quantity and quality of inhaled dose predicts immunopathology in tuberculosis. **Frontiers in immunology**, v. 6, 2015.

GAGNEUX, S. Ecology and evolution of *Mycobacterium tuberculosis*. **Nature Reviews Microbiology**, v. 16, n. 4, 2018.

GAO, T.C. *et al.* Rifampicin impairs adipogenesis by suppressing NRF2 - ARE activity in mice fed a high - fat diet. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.413, 2021.

GARCIA-HERNANDEZ, C.; FERNANDEZ, A.; SERRATOSA, F. Ligand-based virtual screening using graph edit distance as molecular similarity measure. **Journal of chemical information and modeling**, v. 59, n. 4, 2019.

GAUTAM, H. *et al.* Cervical tuberculous lymphadenitis: Clinical profile and diagnostic modalities. **The International Journal of Mycobacteriology**, v. 7, n. 3, 2018.

GONZALEZ-TORRES, M. *et al.* Radiation- induced PEGylated Ethambutol Has Low Antimycobacterial Activity *in vitro*. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, v.11, n.2, 2021.

GOOGLE. *Gemini Pro: modelo de linguagem baseado em inteligência artificial*. Disponível em: <https://ai.google/>. Acesso em: 21 dez. 2025.

GORDIN, F. M.; MASUR, H. Tuberculosis in the United States in 2012: **Current approaches**, v. 308, n. 3, 2012.

GOUDARZI, M. *et al.* Overview perspective of bacterial strategies of resistance to biocides and antibiotics. **Arch Clin Infect Dis**, v. 14, n. 2, 2019.

GREENE, R.; HARRIS, N. Patologia e terapêutica para farmacêuticos: bases para a prática da farmácia clínica. **Patologia e terapêutica para farmacêuticos: bases para a prática da farmácia clínica**. 2012.

GUDURU, A.; GOPISETTI, G. In sílico Studies on Phosphopantetheinyl Transferase (PptT) Structural Model from *Mycobacterium tuberculosis*. **Journal of Clinical and Anatomy Pathology**, v. 5, n. 1, 2020.

GUIDA, M. *et al.* Amino acid biosynthesis inhibitors in tuberculosis drug discovery. **Pharmaceutics**, Basel, v. 16, n. 6, 2024.

GUO, X. *et al.* Nanoparticle delivery of RNAi therapeutics for cancer therapy. **Molecular Cancer Therapeutics**, v. 20, n. 9, 2021.

GUO, X.; O'DRISCOLL, C. M. Therapeutic targeting in the silence: advances in non-viral siRNA delivery. **Molecular Therapy**, v. 29, n. 3, 2021.

GUPTA, R. S.; LO, B.; SON, J. Phylogenomics and comparative genomic studies robustly support division of the genus *Mycobacterium* into an emended genus *Mycobacterium* and four novel genera. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 2018.

HASAN, R.; KHOLIDAH, N.D; CHOIRUNNIZA, A.N. Molecular docking Study of Chemical Content of Ciplukan (*Physalis angulata*) As Antituberculosis and Prediction of Pharmacokinetic and Toxicity Parameters. **Jurnal Farmasi Tinctura**, v. 6, n. 2, 2025.

HEDGE P.; BOSHOF H.; RUSMAN Y. *et al.* Reinvestigation of the structure-activity relationships of isoniazid. **Tuberculosis (Edinb)**. 2021

HERMAN, A.E. *et al.* Safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics in healthy volunteers treated with GDC-0853, a selective reversible Bruton's tyrosine kinase inhibitor. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 103, n. 6, 2018.

HICKS, J.L. *et al.* Combatting antimicrobial resistance via the cysteine biosynthesis pathway in bacterial pathogens. **Bioscience reports**, v. 42, n. 10, 2022.

HORSBURGH, C. R. J., BARRY, C. E., LANGE, C. Treatment of tuberculosis. **The New England Journal of Medicine**. 2015

HORVATH, D. A virtual screening approach applied to the search for trypanothione **Infectious Diseases**, 8, n. 2, 2021.

HOSSEINZADEH, L. *et al.* Synthesis and cytotoxic evaluation of some new 3-(2-(2-phenylthiazol-4-yl) ethyl)-quinazolin-4 (3H) one derivatives with potential anticancer effects. **Research in pharmaceutical sciences**, v. 12, n. 4, 2017.

HU, B. *et al.* Clinical advances of siRNA therapeutics. *Journal of Gene Medicine*, v. 23, n. 9, 2021.

HURTLE, B.T. *et al.* Ligand-based virtual screening as a path to new chemotypes for candidate PET radioligands for imaging tauopathies. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 67, n. 16, 2024.

IRWIN, J.J. *et al.* ZINC20—a free ultralarge-scale chemical database for ligand discovery. **Journal of chemical information and modeling**, v. 60, n. 12, 2020.

JAYANTHI, K.; AZAM, M. A. Thymidylate kinase inhibitors as antibacterial agents: A review. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 59, n. 3, 2023.

JENSEN, D. *et al.* CarD e RbpA modificam a cinética da transcrição inicial e o escape lento do promotor da RNA polimerase do *Mycobacterium tuberculosis*. **Nucleic acids research** , v. 47, n. 13, 2019.

JIANG, Y. *et al.* Controlling interfacial properties, functionality, and reactivity of nanoparticles by surface chemistry. **Accounts of Chemical Research**, v. 53, n. 7, 2020.

KAMSRI, P. *et al.* Elucidating the structural basis of diphenyl ether derivatives as highly potent enoyl-ACP reductase inhibitors through molecular dynamics simulations and 3D-QSAR study. **Journal of molecular modeling**, v. 20, n. 7, 2014.

KATIYAR, S. K.; KATIYAR, Sandeep. Protocol for the management of newly diagnosed cases of tuberculosis. **Indian Journal of Tuberculosis**, v. 66, n. 4, 2019.

KHAMJAN, N. A. *et al.* In sílico and in vitro study of the anti-tuberculous activity of *Nigella sativa* L. **Bioactive Compounds**. 2023.

KHAN, M.Z. *et al.* Redox homeostasis in *Mycobacterium tuberculosis* is modulated by a novel actinomycete-specific transcription factor. **The EMBO Journal**, v. 40, n. 14, 2021.

KIM, S.*et al.* PubChem 2023 update. **Nucleic acids research**, v. 51, n. 1, 2023.

LE GUILLOUX, V.; SCHMIDTKE, P.; TUFFERY, P.. Fpocket: an open sourceplatform for ligand pocket detection. **BMC bioinformatics**, v. 10,2009.

LEELANANDA, S.P.; LINDERT, S. Computational methods in drug discovery. **Beilstein journal of organic chemistry**, v. 12, n. 1, 2016.

LEWINSOHN, D.M. *et al.* Official American Thoracic Society/Infectious Diseases Society of America/Centers for Disease Control and Prevention clinical practice guidelines: diagnosis of tuberculosis in adults and children. **Clinical Infectious Diseases**, v. 64, n. 2, 2017.

LIANG, L. *et al.* Design and synthesis of Thieno [3, 2-b] pyridinone derivatives exhibiting potent activities against *Mycobacterium tuberculosis in vivo* by targeting Enoyl-ACP reductase. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 279, 2024.

LIBARDO, M. *et al.* Resistance of *Mycobacterium tuberculosis* to indole 4-carboxamides occurs through alterations in drug metabolism and tryptophan biosynthesis. **Cell Chemical Biology**, v. 28, n. 8, 2021.

LIMA, C.H.S. Dinâmica molecular de sistemas aquosos da enzima enoilACP redutase de *Mycobacterium tuberculosis*. 2023. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2015.

LIMA, C.H.S.; BISPO, M.LF; DE SOUZA, M.V.N. Pirazinamida: Um fármaco essencial no tratamento da tuberculose. **Revista Virtual de Química**, v. 3, n. 3, 2011.

LIMA, D.A.M *et al.* Identificação de potenciais candidatos a fármacos com afinidade frente a Aldose Redutase humana. **Revista Científica Eletrônica do Conselho Regional de Farmácia da Bahia**, 2025.

LIMA, P.C. *et al.* Determinação simultânea de Rifampicina, Isoniazida, Pirazinamida e Etambutol em comprimidos com doses fixas combinadas. **Revista Institucional Adolfo Lutz**. 2015.

LIU, S. *et al.* Practical model selection for prospective virtual screening. **Journal of chemical information and modeling**, v. 59, n. 1, 2018.

LIU, X.R *et al.* The association between cytochrome P450 polymorphisms and anti-tuberculosis drug- induced liver injury: a systematic review and meta-analysis. **Annals of Palliative Medicine**, 10, n. 6, 2021.

LÓPEZ-CAMACHO, E. *et al.* A new multi-objective approach for molecular docking based on RMSD and binding energy. In: **International Conference on Algorithms for Computational Biology**. Cham: Springer International Publishing, 2016.

MAIA, E.H.B *et al.* Structure-based virtual screening: from classical to artificial intelligence. **Frontiers in chemistry**, v. 8, 2020.

MALDONADO ROJAS, W.; NOGUERA OVIEDO, K.; OLIVEROVERBEL, J. Acoplamiento inverso y mapeo de farmacóforo como herramientas para encontrar nuevos blancos farmacológicos de compuestos naturales. **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales**, v. 36, n. 140, 2012.

MALENFANT, J.H.; BREWER, T.F. Rifampicin mono-resistant tuberculosis—a review of an uncommon but growing challenge for global tuberculosis control. In: **Open forum infectious diseases**. 2021

MANDAL, S. *et al.* Prospective study to evaluate incidence and indicators for early detection of ethambutol toxicity. **British Journal of Ophthalmology**, v. 105, n. 7, 2021.

MEHTA, Kanchan *et al.* Role of antimicrobial peptides in treatment and prevention of *Mycobacterium tuberculosis*: a review. **International Journal of Peptide Research and Therapeutics**, v. 28, n. 5, 2022.

MÉNDEZ-LÓPEZ, M.V.. Reguladores de la expresión de genes de *Mycobacterium tuberculosis*: implicaciones en la virulencia y persistencia en la tuberculosis latente. **Vaccimonitor**, v. 28, n. 3, 2019.

MÉNDEZ-SAMPERIO, P. Diagnosis of tuberculosis in HIV co-infected individuals: current status, challenges and opportunities for the future. **Scandinavian journal of immunology**, v. 86, n. 2. 2017.

MENG, X.Y *et al.* Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. **Current computer-aided drug design**, v. 7, n. 2, 2011.

MENSA, S. *et al.* Quantum machine learning framework for virtual screening in drug discovery: a prospective quantum advantage. **Machine Learning: Science and Technology**, v. 4, n. 1, 2023.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Técnicas de aplicação e leitura da prova tuberculínica. Secretaria de vigilância em saúde. **Departamento de vigilância das doenças transmissíveis**. Brasil.2014.

MOREIRA, J.L.B; CARVALHO, C.B.M; FROTA, C.C. Visualização bacteriana e colorações. 2015.

MORRIS, G.M. *et al.* AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. **Journal of computational chemistry**, v. 30, n. 16, 2009.

MOSIOR, J. *et al.* Structural insights into phosphopantetheinyl hydrolase PptH from *Mycobacterium tuberculosis*. **Protein Science**, v. 29, n. 3, 2020.

NAHID, P. *et al.* Executive Summary: Official American Thoracic Society/ Centers for Disease Control and Prevention/Infectious Diseases Society of America Clinical Practice Guidelines: Treatment of DrugSusceptible Tuberculosis. **Clin Infect Dis**. 2016.

NEELAM, A.K.N. Advancing drug discovery: the role of computer-aided design and development in modern pharmaceuticals. **Discover Pharmaceutical Sciences**, v. 1, n. 1, 2025.

- NEHA, K.; MALIK, Jitender K. Molecular docking Interaction of *Mycobacterium Tuberculosis* Enoyl-Acp-Reductase Enzyme with Delamaind. **South Asian Res Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 5, 2022.
- NEVES, C.E. *et al.* 5-Fluoroindole reduces the bacterial burden in a murine model of *Mycobacterium tuberculosis* infection. **ACS omega**, v. 9, n. 30, 2024.
- NI, B. *et al.* AutoDock-SS: autodock for multiconformational ligand-based virtual screening. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 64, n. 9, 2024.
- NICHOLS, D.A.; RENSLO, A.R.; CHEN, Y. Fragment-based inhibitor discovery against β -lactamase. **Future medicinal chemistry**, v. 6, n. 4, 2014.
- NISHIMORIA, I. *et al.* The β -carbonic anhydrases from *Mycobacterium tuberculosis* as drug targets. **Current Pharmaceutical Design**, v. 16, n. 29, 2010.
- NOESKE, J.; NANA Y.A.; ABENA FOE, J. L. Epidemiology of tuberculosis in Cameroon as mirrored in notification data, 2006–2014. **The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**, v. 20, n. 11, 2016.
- NOGUEIRA, A.F *et al.* Tuberculose: uma abordagem geral dos principais aspectos. **Revista Brasileira de Farmácia**. v. 93, n. 1, 2012.
- O'BOYLE, N.M. *et al.* Open Babel: An open chemical toolbox. **Journal of cheminformatics**, v. 3, n. 1, 2011.
- OLIVEIRA, T.A. *et al.* Virtual screening algorithms in drug discovery: a review focused on machine and deep learning methods. **Drugs and Drug Candidates**, v. 2, n. 2, 2023.
- OPENAI. *ChatGPT: modelo de linguagem baseado em inteligência artificial*. Disponível em: <https://chat.openai.com/>. Acesso em: 21 dez. 2025.
- ORGEUR, M. *et al.* Evolution and emergence of *Mycobacterium tuberculosis*. **FEMS microbiology reviews**, v. 48, n. 2, 2024.
- OTTAVI, S. *et al.* In vitro and in vivo inhibition of the *Mycobacterium tuberculosis* Phosphopantetheinyl transferase PptT by amidinouras. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 65, n. 3, 2022.
- PANCOTTI, C. *et al.* Predicting protein stability changes upon single-point mutation: a thorough comparison of the available tools on a new dataset. **Briefings in Bioinformatics**, v. 23, n. 2, 2022.
- PHARMIT. Interactive Virtual Screening. University of Pittsburgh, 2025. Disponível em: <https://pharmit.csb.pitt.edu/>. Acesso em: 06 dez. 2025.
- PORAV, S.A. *et al.* Englerin A binds a conserved lipid site of TRPC5 and exposes a Met-aromatic motif in channel activation. **bioRxiv**, 2025.

PORTO, C. C. Vade mecum de clínica médica. In: **Vademecum de clínica médica**. 2007.

PURKAN, P. *et al.* Exploring of pyrazinamidase recombinant activity from PZA-sensitive and resistant *Mycobacterium tuberculosis* expressed in *Escherichia coli* BL21 (DE3). **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, 2024.

QUARESMA, S.; ALVES, P. C.; RIJO, P.; DUARTE, M. T. *et al.* Antimicrobial Activity of Pyrazinamide Coordination Frameworks Synthesized by Mechanochemistry. **Molecules**, v.26, n. 7, 2021.

QUEIROZ, A. *et al.* Persistência da tuberculose pode estar relacionada aos lipídios da parede celular do bacilo. **Instituto Gonçalo Muniz**, Fiocruz Bahia, 2021.

RODRÍGUEZ, S. *et al.* Structure-based binding pocket detection and druggability assessment. In: **Drug Target Selection and Validation**. Cham: Springer International Publishing, 2022.

ROHDE, K.H.; SORCI, L. The Prospective Synergy of Antitubercular Drugs With NAD Biosynthesis Inhibitors. **Frontiers in Microbiology**, v.11, 2021.

ROHILLA, A.; KHARE, G.; TYAGI, A. A combination of docking and cheminformatics approaches for the identification of inhibitors against 4' phosphopantetheinyl transferase of *Mycobacterium tuberculosis*. **RSC Advances**, v. 8, n. 1, 2018.

SALENTIN, S. *et al.* PLIP: fully automated protein–ligand interaction profiler. **Nucleic acids research**, v. 43, n. 1, 2015.

SAO EMANI, C. *et al.* The Δ CysK2 mutant of *Mycobacterium tuberculosis* is sensitive to vancomycin associated with changes in cell wall phospholipid profile. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 624, 2022.

SASSO, J.M. *et al.* Molecular glues: the adhesive connecting targeted protein degradation to the clinic. **Biochemistry**, v. 62, n. 3, 2022.

SCHAKE, P. *et al.* PLIP 2025: introducing protein–protein interactions to the protein–ligand interaction profiler. **Nucleic Acids Research**, 2025.

SCHRÖDINGER, L.L.C. PyMOL Molecular Graphics System. Version 2.0. New York: Schrödinger, 2015. Software.

SCULLY, T.W. *et al.* Structure, mechanism and inhibition of anthranilate phosphoribosyltransferase. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 378, 2023.

SEHADIN, F.K. *et al.* Antagonistic Test of Several Bacterial Isolates Against *Fusarium* sp. Causing *Fusarium* Wilt in Purple Eggplant (*Solanum melongena* L.). **International Journal of Multidisciplinary Research and Analysis**, 2025.

SHAHAB, M. *et al.* Machine learning-based drug design for identification of thymidylate kinase inhibitors as a potential anti-*Mycobacterium tuberculosis*. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 42, n. 8, 2024.

SHEN, Y. *et al.* Diagnostic accuracy of the Xpert MTB/RIF assay for bone and joint tuberculosis: A meta-analysis. **PLoS One**, v. 14, n. 8, 2019.

SILVA, D.R. *et al.* Consenso sobre o diagnóstico da tuberculose da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 47, 2021.

SILVA, D.R. *et al.* Diagnosis of tuberculosis: a consensus statement from the Brazilian Thoracic Association. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 47, 2021.

SINGH, A. *et al.* Redirecting raltitrexed from cancer cell thymidylate synthase to *Mycobacterium tuberculosis* phosphopantetheinyl transferase. **Science Advances**, v. 10, n. 11, 2024.

SINGH, N.; CHAPUT, L.; VILLOUTREIX, B.O. Virtual screening web servers: designing chemical probes and drug candidates in the cyberspace. **Briefings in bioinformatics**, v. 22, n. 2, 2021.

SOTGIU, G. *et al.* The ERS-endorsed official ATS/CDC/IDSA clinical practice guidelines on treatment of drug-susceptible tuberculosis. **European Respiratory Journal**, v. 48, n. 4, 2016.

STEFAN, M. A. *et al.* Fonte do defeito de aptidão na RNA polimerase de *Mycobacterium tuberculosis* resistente à rifamicina e o mecanismo de compensação por mutações na subunidade β' . **Agentes antimicrobianos e quimioterapia**, v. 62, n. 6, 2018.

STURKENBOOM, M.G.G. *et al.* Amikacin dosing for MDR tuberculosis: a systematic review to establish or revise the current recommended dose for tuberculosis treatment. **Clinical Infectious Diseases**, v. 67, 2018.

SUDZINOVÁ, P. *et al.* What the Hel: recent advances in understanding rifampicin resistance in bacteria. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 47, n. 6, 2023.

SUKUMAR, S. *et al.* Protein kinases as antituberculosis targets: the case of thymidylate kinases. **Frontiers in Bioscience-Landmark**, v. 25, n. 9, 2020.

SUNSERI, J.; KOES, D.R. Pharmit: interactive exploration of chemical space. **Nucleic acids research**, v. 44, n. W1, 2016.

SWANSON, K. *et al.* ADMET-AI: a machine learning ADMET platform for evaluation of large-scale chemical libraries. **Bioinformatics**, v. 40, n. 7, 2024.

TAN, L.H.; KWONG, C.K.; MU, Y.. RmsdXNA: RMSD prediction of nucleic acid-ligand docking poses using machine-learning method. **Briefings in bioinformatics**, v. 25, n. 3, 2024.

TB CARE I. International Standards for Tuberculosis Care Edition 3. The Hague: **TB CARE I**; 2014.

TENG, M. *et al.* Identification of bacteria-selective threonyl-tRNA synthetase substrate inhibitors by structure-based design. **Journal of medicinal chemistry**, v. 56, n. 4, 2013.

THEURETZBACHER, U. *et al.* Critical analysis of antibacterial agents in clinical development. **Nature Reviews Microbiology**, v. 18, n. 5, 2020.

TO, K.W *et al.* BET bromodomain inhibitors: novel design strategies and therapeutic applications. **Molecules**, v. 28, n. 7, 2023.

TORRES FILHO, H.M. Tuberculose. **Jornal brasileiro de medicina**. 2012.

TURNER, R.D.; BOTHAMLEY, G.H. Cough and the transmission of tuberculosis. **The Journal of infectious diseases**, v. 211, n. 9, 2015.

VAN DER WALT, M.; KEDDY, K.H. The tuberculosis-depression syndemic and evolution of pharmaceutical therapeutics: from ancient times to the future. **Frontiers in Psychiatry**, v. 12, 2021.

VANHAESEBROECK, B. *et al.* PI3K inhibitors are finally coming of age. **Nature reviews Drug discovery**, v. 20, n. 10, 2021.

VEDITHI, S.C. *et al.* Mutagênese de saturação computacional para prever consequências estruturais de mutações sistemáticas na subunidade beta da RNA polimerase em *Mycobacterium leprae*. **Revista Computational and Structural Biotechnology** , v. 18, 2020.

VEDULA, G.S; NEMALA, S.K. *In silico* molecular docking studies of di hydro pyrimidinones as MTB thymidylate kinase inhibitors. **International journal of health sciences**, 2022

VEIGA, M.A.G. Estudo da eficiência de degradação da isoniazida pelo processo H₂O₂ (UV) e identificação dos intermediários. **COPPE/RJ**, 2011.

VENUGOPALA, K. N. *et al.* In silico design and synthesis of tetrahydropyrimidinones and tetrahydropyrimidinethiones as potential thymidylate kinase inhibitors exerting anti-TB activity against *Mycobacterium tuberculosis*. **Drug Design, Development and Therapy**, 2020.

VILCHEZE C, JACOBS WR. The Isoniazid Paradigm of Killing, Resistance, and Persistence in *Mycobacterium tuberculosis*. **Journal Molecular Biology**. 2019;

WANG, Fang *et al.* Small-molecule agents for cancer immunotherapy. **Acta Pharmaceutica Sinica** , v. 14, n. 3, 2024.

WANG, Z. *et al.* Combined strategies in structure-based virtual screening. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 22, n. 6, 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Global tuberculosis report 2019. Geneva: WHO, 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Global tuberculosis report 2020. Geneva: WHO, 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Global tuberculosis report 2021. Geneva: WHO, 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Global tuberculosis report 2022. Geneva: WHO, 2022.

XAVIER, J.C.A. RankAdmet: uma ferramenta para classificação e interpretação de predições farmacocinéticas e toxicológicas. 2025. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biotecnologia) – **Centro de Biotecnologia, Universidade Federal da Paraíba**, João Pessoa, 2025.

XIE, Z. *et al.* Small-molecule kinase inhibitors for the treatment of nononcologic diseases. **Journal of medicinal chemistry**, v. 64, n. 3, 2021.

YATES, T.A. *et al.* The transmission of *Mycobacterium tuberculosis* in high burden settings. **The Lancet infectious diseases**, v. 16, n. 2, 2016.

YUE, E.W. *et al.* INCB050465 (Parsaclisib), a novel next-generation inhibitor of phosphoinositide 3-kinase delta (PI3K δ). **ACS medicinal chemistry letters**, v. 10, n. 11, 2019.

ZDRAZIL, B. *et al.* The ChEMBL Database in 2023: a drug discovery platform spanning multiple bioactivity data types and time periods. **Nucleic acids research**, v. 52, n. 1, 2024.

ZHANG, L.; ZHAO, Y.; GAO, Y.; WU, L. J. *et al.* Structures of cell wall arabinosyltransferases with the anti-tuberculosis drug ethambutol. **Science**, v. 368, n. 6496, 2020.

ZHANG, Q. *et al.* Descobrindo o mecanismo de resistência do *Mycobacterium tuberculosis* à rifampicina devido a mutações na RNA polimerase H451D/Y/R sob uma perspectiva computacional. **Frontiers in Chemistry**, v. 7, 2019.

ZHANG, Y.; YANG, J.; BAI, G.. Cyclic di-AMP-mediated interaction between *Mycobacterium tuberculosis* Δ cnpB and macrophages implicates a novel strategy for improving BCG vaccination. **Pathogens and Disease**, v. 76, n. 2, 2018.

ZHOU, T. *et al.* Identification of a novel class of RIP1/RIP3 dual inhibitors that impede cell death and inflammation in mouse abdominal aortic aneurysm models. **Cell death & disease**, v. 10, n. 3, 2019.

ZHU C.; LIU Y.; HU L., YANG M.; HE Z.G. Mecanismo molecular da atividade sinérgica do etambutol e da isoniazida contra o *Mycobacterium tuberculosis*. **Journal Biological Chemistry**. 2018.

ZHU, H.. Big data and artificial intelligence modeling for drug discovery. **Annual review of pharmacology and toxicology**, v. 60, 2020.

ZUFFO, A.M. *et al.* Harvest times with chemical desiccation and the effects on the enzymatic expression and physiological quality of soybean seeds. **Revista Caatinga**, v. 33, n. 2, 2020.

ZUIM, R.; MENEZES, A.; TRAJMAN, A. A experiência brasileira com a implementação do 4: 1 dose fixa combinada para o tratamento da tuberculose. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 23, n. 3, 2014.

APÊNDICES

Apêndice 1: 20 MELHORES MOLÉCULAS DO SÍTIO DE LIGAÇÃO 1GTV

ID	AFFINIT	RANK	PFQ	ABS	DIS	MET	EXC	TOX	LIP	HBA	TPSA	logP	HBD	MW	QED	SC	HIA
ZINC000018191315	-9,003	0,087	0,375	0,563	0,833	0,375	0,333	0,194	3,000	10,000	131,340	3,882	3,000	510,630	0,295	0,000	0,970
PubChem-69843444	-8,148	0,180	0,188	0,438	0,500	0,063	0,167	0,167	4,000	6,000	138,750	0,500	4,000	360,395	0,356	0,000	0,958
Z6046295678	-15,037	0,234	0,125	0,438	0,500	0,125	0,167	0,083	4,000	5,000	130,830	1,025	3,000	359,411	0,626	1,000	0,962
ZINC000104091048	-11,169	0,245	0,250	0,625	0,500	0,188	0,000	0,139	4,000	9,000	161,600	2,869	3,000	398,452	0,556	0,000	0,992
MCULE-2164199726	-16,061	0,246	0,188	0,438	0,667	0,125	0,167	0,139	4,000	7,000	153,710	2,215	4,000	429,439	0,343	0,000	0,694
MCULE-6167769423	-13,726	0,250	0,188	0,500	0,333	0,313	0,333	0,111	4,000	7,000	147,300	2,434	4,000	413,459	0,371	0,000	0,973
Z5000146514	-10,780	0,252	0,125	0,563	0,500	0,063	0,000	0,056	4,000	6,000	141,750	1,523	3,000	482,518	0,564	1,000	0,764
CHEMBL210693	-9,534	0,273	0,313	0,625	0,500	0,500	0,000	0,139	3,000	9,000	170,990	1,049	5,000	518,577	0,324	0,000	0,997
ZINC000104090473	-11,015	0,274	0,188	0,563	0,667	0,188	0,167	0,167	4,000	9,000	161,600	2,561	3,000	384,425	0,569	0,000	0,991
PubChem-123460268	-12,544	0,274	0,250	0,438	0,333	0,125	0,000	0,139	4,000	6,000	162,060	1,227	5,000	440,503	0,469	0,000	0,861
PubChem-129026664	-13,550	0,274	0,375	0,375	0,333	0,000	0,000	0,083	3,000	7,000	170,260	2,031	7,000	410,426	0,303	0,000	0,556
RIFAMPICINA	119,20	0,28	0,28	0,27	0,88	0,68	0,68	0,06	1,000	15,000	220,150	4,335	6,000	822,953	0,109	9,000	0,006
MolPort-007-820-305	-16,189	0,277	0,063	0,375	0,333	0,125	0,333	0,083	4,000	6,000	135,430	1,958	3,000	427,529	0,682	1,000	0,888
PubChem-139896100	-13,142	0,278	0,375	0,313	0,500	0,000	0,167	0,083	4,000	7,000	173,480	-0,409	5,000	397,438	0,426	1,000	0,661
CHEMBL379613	-10,081	0,279	0,313	0,563	0,500	0,250	0,000	0,111	3,000	9,000	184,980	0,789	5,000	504,550	0,340	0,000	0,991
PubChem-59850301	-13,466	0,284	0,188	0,563	0,333	0,125	0,000	0,111	4,000	6,000	158,900	0,396	4,000	440,503	0,526	0,000	0,875
ChemDiv-G008-3277	-18,960	0,296	0,063	0,375	0,333	0,125	0,333	0,083	4,000	6,000	135,430	1,815	3,000	427,529	0,681	1,000	0,934
ZINC000104090418	-11,384	0,299	0,375	0,500	0,667	0,125	0,000	0,111	3,000	11,000	194,720	1,970	4,000	415,439	0,450	0,000	0,973
ZINC000104090404	-11,419	0,307	0,250	0,625	0,667	0,063	0,167	0,083	4,000	10,000	181,830	1,958	4,000	386,397	0,480	0,000	0,958
CSC028233788	-11,685	0,315	0,063	0,375	0,333	0,063	0,167	0,111	4,000	5,000	135,430	1,283	3,000	401,853	0,709	0,000	0,931
ZINC000032094825	-11,685	0,315	0,063	0,375	0,333	0,063	0,167	0,111	4,000	5,000	135,430	1,283	3,000	401,853	0,709	0,000	0,931
ETAMBUTOL	-11,70	0,36	0,19	0,50	0,17	0,06	0,00	0,11	4,000	4,000	4,000	-0,293	4,000	204,314	0,390	2,000	0,836
PIRAZINAMIDA	-10,60	0,53	0,25	0,44	0,67	0,06	0,33	0,08	4,000	3,000	68,870	-0,425	1,000	123,115	0,551	0,000	1,000
ISONIAZIDA	-13,20	0,65	0,25	0,44	0,50	0,19	0,33	0,25	4,000	3,000	68,010	-0,315	2,000	137,142	0,317	0,000	1,000

Classificação dos compostos pelo RankAdmet: compreende o ID (identificação da molécula), AFFINITY (afinidade em kcal·mol,RANK (média dos 49 parâmetros avaliados), PFQ (propriedades físico-químicas), ABS (absorção), DIS (distribuição), MET (metabolismo), EXC (excreção),TOX (toxicidade), LIP (regras de Lipinski), HBA(aceitadores de ligações de hidrogênio), TPSA(área de superfície polar topológica),HBD (doadores de ligações de hidrogênio, MW (peso molecular), QED (estimativa quantitativa de semelhança com fármacos), SC (estereocentros atômicos) e HIA(absorção intestinal humana). Em vermelho estão destacadas as moléculas consideradas mais promissoras nesse complexo.

Apêndice 2: 20 MELHORES MOLÉCULAS DO SÍTIO DE LIGAÇÃO 5MTP

ID	AFFINIT	RANK	PFQ	ABS	DIS	MET	EXC	TOX	LIP	HBA	TPSA	logP	HBD	MW	QED	SC	HIA
CHEMBL2311921	-8,295	0,110	0,250	0,500	0,500	0,125	0,167	0,139	4,000	8,000	161,290	0,700	4,000	415,475	0,473	2,000	0,990
MCULE-3231780937	-9,137	0,272	0,125	0,375	0,500	0,063	0,333	0,056	4,000	8,000	142,440	0,940	2,000	438,487	0,599	1,000	0,921
MCULE-3433993367	-8,428	0,275	0,125	0,438	0,333	0,250	0,333	0,083	4,000	7,000	134,330	2,548	3,000	464,550	0,513	0,000	0,868
RIFAMPICINA	28,50	0,28	0,28	0,27	0,88	0,68	0,68	0,06	1,000	15,000	220,150	4,335	6,000	822,953	0,109	9,000	0,006
MCULE-2597087219	-10,241	0,280	0,125	0,438	0,333	0,250	0,333	0,111	4,000	7,000	134,330	2,548	3,000	464,550	0,513	0,000	0,895
MCULE-7403341318	-11,076	0,284	0,250	0,500	0,500	0,313	0,167	0,139	4,000	6,000	134,330	3,057	3,000	498,586	0,478	0,000	0,912
MCULE-2463262851	-9,004	0,296	0,125	0,375	0,500	0,063	0,333	0,056	4,000	8,000	142,610	1,135	2,000	464,525	0,606	1,000	0,566
MCULE-4969427705	-8,383	0,303	0,125	0,500	0,500	0,313	0,333	0,111	4,000	7,000	125,540	2,572	2,000	478,577	0,561	0,000	0,953
Z45657046	-8,600	0,304	0,063	0,500	0,500	0,125	0,333	0,083	4,000	6,000	135,870	0,607	2,000	425,488	0,696	0,000	0,896
MCULE-8932738560	-8,132	0,312	0,125	0,438	0,333	0,125	0,333	0,083	4,000	7,000	134,330	2,239	3,000	450,523	0,527	0,000	0,786
MCULE-4839785581	-8,449	0,319	0,063	0,500	0,500	0,125	0,167	0,083	4,000	6,000	125,540	1,163	2,000	410,477	0,736	0,000	0,941
MCULE-6962342859	-9,601	0,321	0,125	0,438	0,333	0,125	0,333	0,083	4,000	7,000	134,330	2,239	3,000	450,523	0,527	0,000	0,817
MCULE-1317987800	-8,522	0,321	0,063	0,500	0,333	0,125	0,167	0,083	4,000	6,000	125,540	1,163	2,000	410,477	0,736	0,000	0,933
MCULE-7241912497	-8,810	0,329	0,125	0,438	0,500	0,313	0,333	0,056	4,000	7,000	131,740	2,234	1,000	406,420	0,575	0,000	0,999
MCULE-2027457285	-8,179	0,342	0,250	0,500	0,667	0,500	0,333	0,111	4,000	7,000	151,230	3,043	3,000	488,547	0,377	0,000	0,984
MCULE-8586270201	-8,554	0,345	0,188	0,438	0,333	0,188	0,167	0,111	4,000	6,000	134,330	2,795	3,000	472,548	0,505	0,000	0,886
MCULE-3137024635	-8,636	0,347	0,125	0,563	0,500	0,188	0,500	0,083	4,000	8,000	148,760	1,880	2,000	482,565	0,545	0,000	0,987
MCULE-9299092479	-8,693	0,349	0,125	0,438	0,333	0,188	0,167	0,083	4,000	6,000	134,330	2,486	3,000	458,521	0,520	0,000	0,846
MCULE-5906586657	-8,683	0,349	0,063	0,563	0,500	0,063	0,167	0,083	4,000	6,000	125,540	1,381	2,000	410,477	0,741	0,000	0,901
MCULE-5818301007	-10,345	0,349	0,125	0,438	0,333	0,188	0,333	0,083	4,000	6,000	134,330	2,486	3,000	458,521	0,520	0,000	0,931
MCULE-1886308257	-8,812	0,349	0,125	0,438	0,333	0,188	0,333	0,083	4,000	6,000	134,330	2,486	3,000	458,521	0,520	0,000	0,891
ETAMBUTOL	-5,50	0,36	0,19	0,50	0,17	0,06	0,00	0,11	4,000	4,000	4,000	-0,293	4,000	204,314	0,390	2,000	0,836
PIRAZINAMIDA	-5,10	0,53	0,25	0,44	0,67	0,06	0,33	0,08	4,000	3,000	68,870	-0,425	1,000	123,115	0,551	0,000	1,000
ISONIAZIDA	-5,40	0,65	0,25	0,44	0,50	0,19	0,33	0,25	4,000	3,000	68,010	-0,315	2,000	137,142	0,317	0,000	1,000

Classificação dos compostos pelo RankAdmet: compreende o ID (identificação da molécula), AFFINITY (afinidade em kcal·mol), RANK (média dos 49 parâmetros avaliados), PFQ (propriedades físico-químicas), ABS (absorção), DIS (distribuição), MET (metabolismo), EXC (excreção), TOX (toxicidade), LIP (regras de Lipinski), HBA (aceitadores de ligações de hidrogênio), TPSA (área de superfície polar topológica), HBD (doadores de ligações de hidrogênio), MW (peso molecular), QED (estimativa quantitativa de semelhança com fármacos), SC (estereocentros atômicos) e HIA (absorção intestinal humana). Em vermelho estão destacadas as moléculas consideradas mais promissoras nesse complexo.

Apêndice 3: 20 MELHORES MOLÉCULAS DO SÍTIO DE LIGAÇÃO 4GKM

ID	AFFINIT	RANK	PFQ	ABS	DIS	MET	EXC	TOX	LIP	HBA	TPSA	logP	HBD	MW	QED	SC	HIA
PubChem-144752646	-10,116	0,035	0,500	0,750	0,833	0,188	0,500	0,333	3,000	10,000	161,480	4,533	4,000	541,619	0,224	0,000	0,962
PubChem-90236450	-9,442	0,035	0,313	0,563	0,833	0,313	0,333	0,222	3,000	10,000	150,520	2,838	3,000	509,961	0,304	0,000	0,955
PubChem-138672628	-8,097	0,037	0,250	0,750	0,500	0,438	0,333	0,306	4,000	7,000	117,170	3,713	3,000	428,500	0,393	1,000	0,998
PubChem-126756182	-10,534	0,038	0,250	0,750	0,500	0,375	0,333	0,306	4,000	9,000	141,490	3,363	3,000	470,924	0,336	0,000	0,997
PubChem-59375824	-9,097	0,038	0,375	0,625	0,833	0,313	0,167	0,278	3,000	9,000	103,880	3,650	3,000	552,079	0,450	0,000	0,929
PubChem-145693370	-10,685	0,038	0,250	0,750	0,500	0,313	0,333	0,306	4,000	9,000	141,490	3,158	3,000	468,496	0,338	0,000	0,997
MCULE-5048336155	-7,103	0,039	0,313	0,750	0,833	0,438	0,333	0,306	4,000	8,000	127,400	3,424	3,000	426,484	0,402	1,000	0,998
MolPort-046-702-067	-7,103	0,039	0,313	0,750	0,833	0,438	0,333	0,306	4,000	8,000	127,400	3,424	3,000	426,484	0,402	1,000	0,998
PubChem-121259256	-9,884	0,039	0,188	0,750	0,500	0,438	0,333	0,306	4,000	8,000	116,020	2,998	2,000	462,517	0,397	1,000	0,995
PubChem-121259622	-9,264	0,039	0,188	0,750	0,500	0,438	0,333	0,306	4,000	8,000	116,020	2,998	2,000	462,517	0,397	1,000	0,995
PubChem-68383097	-8,193	0,039	0,250	0,563	0,500	0,438	0,333	0,333	4,000	7,000	137,350	2,911	4,000	435,919	0,355	0,000	0,998
PubChem-90236738	-9,196	0,039	0,375	0,500	0,833	0,250	0,333	0,222	3,000	10,000	150,520	3,116	3,000	545,941	0,283	0,000	0,956
MCULE-3677311181	-9,294	0,040	0,313	0,750	0,833	0,250	0,333	0,333	4,000	9,000	146,550	3,392	4,000	456,489	0,317	0,000	0,995
PubChem-123147169	-9,232	0,040	0,250	0,625	0,500	0,438	0,333	0,222	4,000	9,000	129,150	2,950	3,000	492,587	0,322	1,000	0,994
MCULE-8473301929	-7,508	0,040	0,188	0,625	0,833	0,250	0,333	0,250	4,000	7,000	121,350	3,048	3,000	431,431	0,393	1,000	0,988
CHEMBL3891821	-9,306	0,040	0,375	0,750	0,833	0,438	0,167	0,278	3,000	9,000	137,630	3,838	3,000	523,000	0,296	1,000	0,995
CHEMBL3967525	-9,622	0,040	0,125	0,688	0,500	0,375	0,333	0,222	4,000	8,000	120,720	2,429	2,000	439,479	0,444	0,000	0,997
PubChem-67452658	-10,396	0,040	0,313	0,563	0,500	0,125	0,167	0,278	3,000	9,000	150,180	2,820	4,000	503,538	0,314	0,000	0,993
CHEMBL3769981	-9,942	0,041	0,313	0,688	0,833	0,250	0,333	0,250	3,000	8,000	114,690	3,835	2,000	503,994	0,411	1,000	0,998
RIFAMPICINA	-4,60	0,28	0,28	0,27	0,88	0,68	0,68	0,06	1,000	15,000	220,150	4,335	6,000	822,953	0,109	9,000	0,006
ETAMBUTOL	-5,20	0,36	0,19	0,50	0,17	0,06	0,00	0,11	4,000	4,000	4,000	-0,293	4,000	204,314	0,390	2,000	0,836
PIRAZINAMIDA	-4,80	0,53	0,25	0,44	0,67	0,06	0,33	0,08	4,000	3,000	68,870	-0,425	1,000	123,115	0,551	0,000	1,000
ISONIAZIDA	-5,50	0,65	0,25	0,44	0,50	0,19	0,33	0,25	4,000	3,000	68,010	-0,315	2,000	137,142	0,317	0,000	1,000

Classificação dos compostos pelo RankAdmet: compreende o ID (identificação da molécula), AFFINITY (afinidade em kcal·mol), RANK (média dos 49 parâmetros avaliados), PFQ (propriedades físico-químicas), ABS (absorção), DIS (distribuição), MET (metabolismo), EXC (excreção), TOX (toxicidade), LIP (regras de Lipinski), HBA (aceitadores de ligações de hidrogênio), TPSA (área de superfície polar topológica), HBD (doadores de ligações de hidrogênio), MW (peso molecular), QED (estimativa quantitativa de semelhança com fármacos), SC (estereocentros atômicos) e HIA (absorção intestinal humana). Em vermelho estão destacadas as moléculas consideradas mais promissoras nesse complexo.

Apêndice 4:20 MELHORES MOLÉCULAS DO SÍTIO DE LIGAÇÃO 8GKF

ID	AFFINIT	RANK	PFQ	ABS	DIS	MET	EXC	TOX	LIP	HBA	TPSA	logP	HBD	MW	QED	SC	HIA
MCULE-9063237217	-9,833	0,068	0,227	0,875	0,375	0,188	0,167	0,500	4,000	5,000	121,030	2,508	4,000	432,484	0,494	3,000	0,993
Z8658411556	-9,805	0,069	0,045	1,000	0,625	0,375	0,667	0,583	4,000	5,000	104,110	2,017	3,000	391,475	0,631	2,000	1,000
LN00829875	-10,115	0,086	0,182	0,625	0,500	0,125	0,333	0,500	4,000	5,000	105,120	3,031	3,000	389,415	0,638	1,000	0,968
MolPort-008-353-499	-10,115	0,086	0,182	0,625	0,500	0,125	0,333	0,500	4,000	5,000	105,120	3,031	3,000	389,415	0,638	1,000	0,968
Z8658304402	-10,335	0,101	0,091	0,875	0,500	0,125	0,333	0,333	4,000	8,000	144,300	1,171	3,000	438,513	0,538	0,000	0,979
PubChem-140149712	-9,326	0,103	0,091	0,875	0,375	0,188	0,000	0,333	4,000	4,000	118,020	2,410	4,000	372,428	0,430	1,000	0,995
CSSS01985746565	-9,267	0,105	0,091	0,875	0,500	0,250	0,667	0,333	4,000	6,000	67,900	2,622	2,000	377,492	0,693	3,000	1,000
Z3686170024	-9,267	0,105	0,091	0,875	0,500	0,250	0,667	0,333	4,000	6,000	67,900	2,622	2,000	377,492	0,693	3,000	1,000
2037883882	-9,372	0,109	0,273	0,750	0,375	0,313	0,667	0,250	3,000	6,000	133,990	2,678	4,000	536,673	0,477	1,000	0,972
MolPort-051-464-393	-9,707	0,113	0,045	1,000	0,500	0,250	0,333	0,250	4,000	5,000	83,560	3,042	2,000	450,583	0,751	1,000	0,999
MolPort-051-449-268	-9,102	0,115	0,045	1,000	0,500	0,375	0,333	0,167	4,000	5,000	79,900	2,808	2,000	437,540	0,772	1,000	0,995
Z1551062712	-9,807	0,124	0,136	0,625	0,500	0,250	0,333	0,333	4,000	4,000	69,640	2,917	2,000	364,445	0,801	3,000	0,996
PubChem-11212986	-9,145	0,165	0,045	1,000	0,375	0,250	0,667	0,333	4,000	5,000	98,740	1,978	3,000	445,585	0,671	2,000	0,977
Z1614250722	-9,011	0,168	0,136	0,875	0,875	0,188	0,333	0,333	4,000	5,000	120,080	2,546	3,000	444,495	0,534	2,000	0,999
MolPort-047-732-126	-9,200	0,168	0,136	1,000	0,500	0,375	0,667	0,250	4,000	6,000	86,190	2,882	2,000	392,503	0,674	3,000	1,000
72321736	-10,241	0,171	0,182	0,750	0,500	0,188	0,500	0,333	4,000	5,000	95,590	2,658	3,000	378,428	0,649	4,000	0,994
MCULE-2745016528	-9,500	0,177	0,182	1,000	0,500	0,188	0,500	0,250	4,000	5,000	85,690	2,818	3,000	437,584	0,627	3,000	0,998
ZINC000257285323	-9,500	0,177	0,182	1,000	0,500	0,188	0,500	0,250	4,000	5,000	85,690	2,818	3,000	437,584	0,627	3,000	0,998
ZINC000218095568	-9,190	0,184	0,136	0,750	0,500	0,625	0,333	0,167	4,000	5,000	89,620	1,572	2,000	347,436	0,828	3,000	1,000
1122224718	-9,529	0,185	0,136	0,750	0,500	0,250	0,000	0,250	4,000	4,000	62,390	2,636	3,000	377,488	0,753	2,000	0,966
RIFAMPICINA	-8,10	0,28	0,28	0,27	0,88	0,68	0,68	0,06	1,000	15,000	220,150	4,335	6,000	822,953	0,109	9,000	0,006
ETAMBUTOL	-11,70	0,36	0,19	0,50	0,17	0,06	0,00	0,11	4,000	4,000	4,000	-0,293	4,000	204,314	0,390	2,000	0,836
PIRAZINAMIDA	-10,60	0,53	0,25	0,44	0,67	0,06	0,33	0,08	4,000	3,000	68,870	-0,425	1,000	123,115	0,551	0,000	1,000
ISONIAZIDA	-13,60	0,65	0,25	0,44	0,50	0,19	0,33	0,25	4,000	3,000	68,010	-0,315	2,000	137,142	0,317	0,000	1,000

Classificação dos compostos pelo RankAdmet: compreende o ID (identificação da molécula), AFFINITY (afinidade em kcal·mol,RANK (média dos 49 parâmetros avaliados), PFQ (propriedades físico-químicas), ABS (absorção), DIS (distribuição), MET (metabolismo), EXC (excreção),TOX (toxicidade), LIP (regras de Lipinski), HBA(aceitadores de ligações de hidrogênio), TPSA(área de auperfície polar topológica),HBD (doadores de ligações de hidrogênio, MW (peso molecular), QED (estimativa quantitativa de semelhança com fármacos), SC (estereocentros atômicos) e HIA(absorção intestinal humana).Em vermelho estão destacadas as moléculas consideradas mais promissoras nesse complexo.

Apêndice 5: 20 MELHORES MOLÉCULAS DO SÍTIO DE LIGAÇÃO 3H3U

ID	AFFINIT	RANK	PFQ	ABS	DIS	MET	EXC	TOX	LIP	HBA	TPSA	logP	HBD	MW	QED	SC	HIA
PubChem-122550738	-0,927	0,039	0,250	0,563	0,833	0,375	0,333	0,250	4,000	7,000	91,410	4,206	3,000	484,604	0,470	1,000	0,989
PubChem-22347096	-8,120	0,039	0,250	0,563	0,500	0,250	0,167	0,278	4,000	10,000	137,800	3,148	3,000	497,563	0,337	0,000	0,998
PubChem-159293849	-8,641	0,046	0,250	0,563	0,500	0,188	0,000	0,222	4,000	9,000	132,870	2,656	3,000	444,499	0,428	0,000	0,998
PubChem-121290190	0,571	0,047	0,438	0,500	0,500	0,063	0,167	0,194	3,000	10,000	158,950	2,650	4,000	590,681	0,333	0,000	0,951
PubChem-22347017	-9,933	0,049	0,250	0,563	0,500	0,125	0,000	0,194	4,000	9,000	132,870	2,656	3,000	444,499	0,428	0,000	0,997
PubChem-22346797	-8,297	0,050	0,188	0,563	0,500	0,125	0,167	0,194	4,000	10,000	145,760	2,051	3,000	445,487	0,420	0,000	0,997
PubChem-22347325	-9,999	0,051	0,250	0,625	0,500	0,125	0,167	0,222	4,000	9,000	132,870	2,964	3,000	458,526	0,416	0,000	0,997
PubChem-118980416	-8,712	0,052	0,125	0,625	0,667	0,188	0,500	0,250	4,000	9,000	113,570	2,824	2,000	430,394	0,614	2,000	0,999
PubChem-134166198	-0,075	0,053	0,375	0,688	0,833	0,375	0,500	0,167	3,000	7,000	99,690	4,468	2,000	550,663	0,359	1,000	0,993
PubChem-159950132	-8,736	0,057	0,188	0,625	0,500	0,188	0,167	0,194	4,000	10,000	137,800	2,303	3,000	461,530	0,412	0,000	0,996
PubChem-122550847	2,641	0,058	0,500	0,813	0,833	0,438	0,667	0,333	2,000	8,000	127,360	5,514	3,000	548,603	0,225	0,000	0,988
CHEMBL1926869	-8,679	0,059	0,188	0,688	0,500	0,250	0,333	0,333	4,000	8,000	129,390	2,675	3,000	459,506	0,531	0,000	0,999
PubChem-118979552	-8,081	0,060	0,125	0,563	0,500	0,188	0,500	0,333	4,000	9,000	108,640	3,306	2,000	425,493	0,641	2,000	0,999
PubChem-142767153	-8,649	0,062	0,188	0,563	0,500	0,188	0,000	0,250	4,000	6,000	132,280	3,287	3,000	465,531	0,506	0,000	0,929
PubChem-134375954	-8,880	0,067	0,188	0,750	0,500	0,438	0,167	0,333	4,000	5,000	98,220	3,625	2,000	476,602	0,599	1,000	0,995
PubChem-122550788	-8,453	0,067	0,250	0,563	1,000	0,313	0,500	0,222	4,000	8,000	86,370	3,633	4,000	485,636	0,417	0,000	0,981
PubChem-122550761	-4,204	0,076	0,375	0,750	0,833	0,438	0,667	0,250	3,000	8,000	91,850	4,875	2,000	554,695	0,341	0,000	0,979
PubChem-137110856	-8,431	0,083	0,375	0,563	0,500	0,563	0,333	0,306	3,000	6,000	128,450	3,733	4,000	517,590	0,272	0,000	0,996
PubChem-136944473	-8,593	0,090	0,375	0,563	0,500	0,438	0,833	0,306	3,000	7,000	157,990	3,142	4,000	503,523	0,272	0,000	0,998
PubChem-162528855	-8,275	0,091	0,250	0,563	0,667	0,188	0,167	0,306	4,000	5,000	102,460	4,558	2,000	498,414	0,465	0,000	0,957
RIFAMPICINA	-8,10	0,28	0,28	0,27	0,88	0,68	0,68	0,06	1,000	15,000	220,150	4,335	6,000	822,953	0,109	9,000	0,006
ETAMBUTOL	-11,70	0,36	0,19	0,50	0,17	0,06	0,00	0,11	4,000	4,000	4,000	-0,293	4,000	204,314	0,390	2,000	0,836
PIRAZINAMIDA	-10,60	0,53	0,25	0,44	0,67	0,06	0,33	0,08	4,000	3,000	68,870	-0,425	1,000	123,115	0,551	0,000	1,000
ISONIAZIDA	-13,60	0,65	0,25	0,44	0,50	0,19	0,33	0,25	4,000	3,000	68,010	-0,315	2,000	137,142	0,317	0,000	1,000

Classificação dos compostos pelo RankAdmet: compreende o ID (identificação da molécula), AFFINITY (afinidade em kcal·mol), RANK (média dos 49 parâmetros avaliados), PFQ (propriedades físico-químicas), ABS (absorção), DIS (distribuição), MET (metabolismo), EXC (excreção), TOX (toxicidade), LIP (regras de Lipinski), HBA(aceitadores de ligações de hidrogênio), TPSA(área de superfície polar topológica), HBD (doadores de ligações de hidrogênio, MW (peso molecular), QED (estimativa quantitativa de semelhança com fármacos), SC (estereocentros atômicos) e HIA(absorção intestinal humana). Em vermelho estão destacadas as moléculas consideradas mais promissoras nesse complexo.

Apêndice 6: 20 MELHORES MOLÉCULAS DO SÍTIO DE LIGAÇÃO 6EDW

ID	AFFINIT	RANK	PFQ	ABS	DIS	MET	EXC	TOX	LIP	HBA	TPSA	logP	HBD	MW	QED	SC	HIA
MCULE-8961837134	-8,285	0,053	0,188	0,438	0,833	0,313	0,333	0,167	4,000	9,000	122,230	3,740	2,000	497,625	0,524	1,000	0,987
PubChem-110122808	-8,880	0,068	0,188	0,563	0,500	0,188	0,167	0,167	4,000	5,000	121,030	2,508	4,000	432,484	0,494	3,000	0,990
643560991	-9,891	0,090	0,313	0,625	0,333	0,375	0,333	0,167	3,000	8,000	127,680	3,304	2,000	574,682	0,491	1,000	0,991
PubChem-110062795	-9,890	0,090	0,313	0,625	0,333	0,375	0,333	0,167	3,000	8,000	127,680	3,304	2,000	574,682	0,491	1,000	0,991
MCULE-2458323881	-8,064	0,115	0,125	0,500	0,833	0,188	0,500	0,139	4,000	9,000	122,230	2,735	2,000	455,544	0,577	0,000	0,971
PubChem-118266241	-8,673	0,130	0,188	0,438	0,500	0,063	0,500	0,083	4,000	7,000	155,750	0,549	4,000	427,490	0,447	1,000	0,940
Z1408120679	-10,515	0,156	0,125	0,563	1,000	0,188	0,333	0,139	4,000	4,000	108,560	2,987	4,000	434,496	0,555	2,000	0,998
MolPort-045-917-835	-10,606	0,160	0,375	0,500	0,500	0,125	0,167	0,056	3,000	7,000	133,750	3,288	3,000	571,678	0,435	1,000	0,731
PubChem-137373725	-8,532	0,185	0,188	0,375	0,500	0,063	0,000	0,083	4,000	6,000	124,760	1,818	3,000	432,502	0,679	3,000	0,962
Z3134458641	-9,112	0,188	0,063	0,563	0,667	0,250	0,000	0,083	4,000	4,000	62,390	2,636	3,000	377,488	0,753	2,000	0,972
PubChem-44270826	-8,805	0,235	0,500	0,438	0,333	0,063	0,500	0,083	2,000	6,000	170,850	1,347	6,000	502,612	0,353	3,000	0,459
CHEMBL16888	-8,805	0,235	0,500	0,438	0,333	0,063	0,500	0,083	2,000	6,000	170,850	1,347	6,000	502,612	0,353	3,000	0,459
PubChem-101055503	-9,227	0,241	0,500	0,438	0,333	0,063	0,500	0,083	2,000	6,000	170,850	1,347	6,000	502,612	0,353	3,000	0,485
ZINC000253497474	-8,907	0,266	0,313	0,688	0,500	0,063	0,167	0,028	4,000	4,000	97,990	3,449	4,000	408,579	0,571	11,000	0,939
Z1385384509	-9,003	0,272	0,125	0,625	0,833	0,438	0,333	0,139	4,000	4,000	103,950	2,780	3,000	396,472	0,631	0,000	0,997
PubChem-126761573	-8,683	0,273	0,313	0,625	0,500	0,063	0,333	0,028	4,000	4,000	97,990	4,085	4,000	436,633	0,520	12,000	0,919
PubChem-58483200	-8,770	0,273	0,313	0,625	0,500	0,063	0,333	0,028	4,000	4,000	97,990	4,085	4,000	436,633	0,520	12,000	0,919
PubChem-162700770	-8,040	0,273	0,313	0,625	0,500	0,063	0,333	0,028	4,000	4,000	97,990	4,085	4,000	436,633	0,520	12,000	0,919
PubChem-123603419	-8,358	0,273	0,250	0,375	0,333	0,125	0,000	0,139	4,000	6,000	162,060	1,172	5,000	440,503	0,453	0,000	0,794
PubChem-147552984	-8,684	0,274	0,250	0,500	0,333	0,063	0,167	0,056	4,000	4,000	97,990	3,059	4,000	394,552	0,587	11,000	0,864
RIFAMPICINA	-8,10	0,28	0,28	0,27	0,88	0,68	0,68	0,06	1,000	15,000	220,150	4,335	6,000	822,953	0,109	9,000	0,006
ETAMBUTOL	-11,70	0,36	0,19	0,50	0,17	0,06	0,00	0,11	4,000	4,000	4,000	-0,293	4,000	204,314	0,390	2,000	0,836
PIRAZINAMIDA	-10,60	0,53	0,25	0,44	0,67	0,06	0,33	0,08	4,000	3,000	68,870	-0,425	1,000	123,115	0,551	0,000	1,000
ISONIAZIDA	-13,60	0,65	0,25	0,44	0,50	0,19	0,33	0,25	4,000	3,000	68,010	-0,315	2,000	137,142	0,317	0,000	1,000

Classificação dos compostos pelo RankAdmet: compreende o ID (identificação da molécula), AFFINITY (afinidade em kcal·mol), RANK (média dos 49 parâmetros avaliados), PFQ (propriedades físico-químicas), ABS (absorção), DIS (distribuição), MET (metabolismo), EXC (excreção), TOX (toxicidade), LIP (regras de Lipinski), HBA (aceitadores de ligações de hidrogênio), TPSA (área de superfície polar topológica), HBD (doadores de ligações de hidrogênio), MW (peso molecular), QED (estimativa quantitativa de semelhança com fármacos), SC (estereocentros atômicos) e HIA (absorção intestinal humana). Em vermelho estão destacadas as moléculas consideradas mais promissoras nesse complexo.

Apêndice 7: 20 MELHORES MOLÉCULAS DO SÍTIO DE LIGAÇÃO 5I7R

ID	AFFINIT	RANK	PFQ	ABS	DIS	MET	EXC	TOX	LIP	HBA	TPSA	logP	HBD	MW	QED	SC	HIA
MCULE-8214292035	-8,967	0,050	0,125	0,500	0,833	0,188	0,333	0,111	4,000	9,000	122,230	2,961	2,000	469,571	0,561	1,000	0,988
MCULE-5774344176	-9,117	0,073	0,125	0,500	0,500	0,188	0,333	0,139	4,000	7,000	118,350	3,103	2,000	436,497	0,496	0,000	0,939
MCULE-1986994983	-8,698	0,086	0,063	0,500	0,500	0,188	0,333	0,111	4,000	9,000	122,230	2,573	2,000	455,544	0,577	0,000	0,986
MCULE-8468042629	-10,126	0,089	0,188	0,563	0,500	0,125	0,167	0,111	4,000	9,000	144,130	2,201	2,000	452,500	0,469	0,000	0,959
MCULE-3315530818	-9,756	0,106	0,250	0,500	0,500	0,250	0,333	0,111	4,000	6,000	129,730	3,023	3,000	422,470	0,453	0,000	0,946
MCULE-3073526243	-10,003	0,133	0,188	0,563	0,500	0,250	0,333	0,139	4,000	7,000	127,080	3,288	2,000	423,454	0,504	0,000	0,977
MCULE-6442902038	-9,910	0,136	0,188	0,500	0,500	0,313	0,333	0,139	4,000	7,000	127,080	3,288	2,000	423,454	0,504	0,000	0,977
MCULE-6169009389	-8,429	0,151	0,125	0,500	0,500	0,125	0,167	0,139	4,000	7,000	139,960	2,124	3,000	398,448	0,598	0,000	0,927
CSC026742907	-8,814	0,157	0,250	0,625	0,500	0,125	0,333	0,139	4,000	10,000	178,920	1,918	3,000	416,423	0,397	0,000	0,946
LN01394785	-8,814	0,157	0,250	0,625	0,500	0,125	0,333	0,139	4,000	10,000	178,920	1,918	3,000	416,423	0,397	0,000	0,946
NSC338548	-8,821	0,160	0,000	0,500	0,500	0,250	0,167	0,083	4,000	6,000	113,940	2,542	2,000	383,433	0,700	0,000	0,988
675434	-8,821	0,160	0,000	0,500	0,500	0,250	0,167	0,083	4,000	6,000	113,940	2,542	2,000	383,433	0,700	0,000	0,988
LN01986889	-9,163	0,171	0,250	0,563	0,833	0,563	0,333	0,167	4,000	8,000	109,760	4,156	2,000	438,538	0,465	0,000	0,997
MCULE-1343079038	-8,541	0,199	0,250	0,500	0,833	0,313	0,333	0,139	4,000	7,000	113,940	4,065	2,000	453,549	0,471	0,000	0,958
MCULE-3403998174	-9,805	0,212	0,188	0,500	0,500	0,125	0,167	0,111	4,000	6,000	130,150	2,641	3,000	437,481	0,563	0,000	0,810
MCULE-1837959266	-9,374	0,243	0,125	0,500	0,667	0,125	0,167	0,083	4,000	7,000	134,170	2,247	3,000	399,432	0,599	0,000	0,938
MCULE-1035318093	-8,990	0,249	0,188	0,500	0,333	0,188	0,167	0,111	4,000	7,000	147,300	2,434	4,000	413,459	0,371	0,000	0,953
ChemDiv-D319-0012	-9,662	0,250	0,063	0,500	0,500	0,125	0,167	0,083	4,000	8,000	126,830	1,998	2,000	390,450	0,682	0,000	0,976
LN01983013	-9,138	0,250	0,063	0,500	0,500	0,125	0,167	0,083	4,000	8,000	126,830	1,998	2,000	390,450	0,682	0,000	0,976
RIFAMPICINA	25,00	0,28	0,28	0,27	0,88	0,68	0,68	0,06	1,000	15,000	220,150	4,335	6,000	822,953	0,109	9,000	0,006
ZINC000104090384	-7,375	0,282	0,375	0,625	0,333	0,000	0,167	0,111	3,000	11,000	200,510	1,538	4,000	400,428	0,458	0,000	0,961
ETAMBUTOL	-5,70	0,36	0,19	0,50	0,17	0,06	0,00	0,11	4,000	4,000	4,000	-0,293	4,000	204,314	0,390	2,000	0,836
PIRAZINAMIDA	-5,70	0,53	0,25	0,44	0,67	0,06	0,33	0,08	4,000	3,000	68,870	-0,425	1,000	123,115	0,551	0,000	1,000
ISONIAZIDA	-6,00	0,65	0,25	0,44	0,50	0,19	0,33	0,25	4,000	3,000	68,010	-0,315	2,000	137,142	0,317	0,000	1,000

Classificação dos compostos pelo RankAdmet: compreende o ID (identificação da molécula), AFFINITY (afinidade em kcal·mol, RANK (média dos 49 parâmetros avaliados), PFQ (propriedades físico-químicas), ABS (absorção), DIS (distribuição), MET (metabolismo), EXC (excreção), TOX (toxicidade), LIP (regras de Lipinski), HBA (aceitadores de ligações de hidrogênio), TPSA (área de superfície polar topológica), HBD (doadores de ligações de hidrogênio), MW (peso molecular), QED (estimativa quantitativa de semelhança com fármacos), SC (estereocentros atômicos) e HIA (absorção intestinal humana). Em vermelho estão destacadas as moléculas consideradas mais promissoras nesse complexo.