

INTRODUÇÃO

Qual é a relevância da exotoxina A?

A **exotoxina A** é uma arma letal liberada por um patógeno com resistência antimicrobiana, a bactéria *Pseudomonas aeruginosa*.

Esse patógeno causa **infecções nosocomiais (hospitalares)**, que colocam em risco a saúde de pacientes e aumentam o custo do tratamento em instituições de saúde em aproximadamente **800%**.

Para resolver essa problemática, tomou-se como base um **inibidor** conhecido da exotoxina A, o **PJ34**, testado em 2005 (YATES *et al.*).

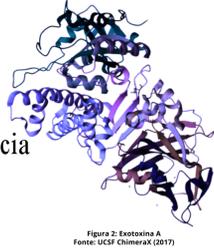


Figura 2: Exotoxina A. Fonte: UCSF ChimeraX (2017).

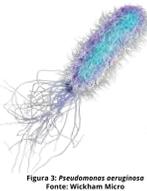


Figura 3: *Pseudomonas aeruginosa*. Fonte: Wickham Micro.

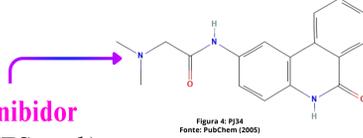


Figura 4: PJ34. Fonte: PubChem (2005).

Problema de pesquisa:

É possível sintetizar **inibidores mais potentes** e com perfis **ADMET** mais favoráveis do que o **PJ34**, para inibir a **exotoxina A** no contexto da farmacologia e, assim, combater as **infecções nosocomiais** da bactéria *Pseudomonas aeruginosa*?

Hipótese:

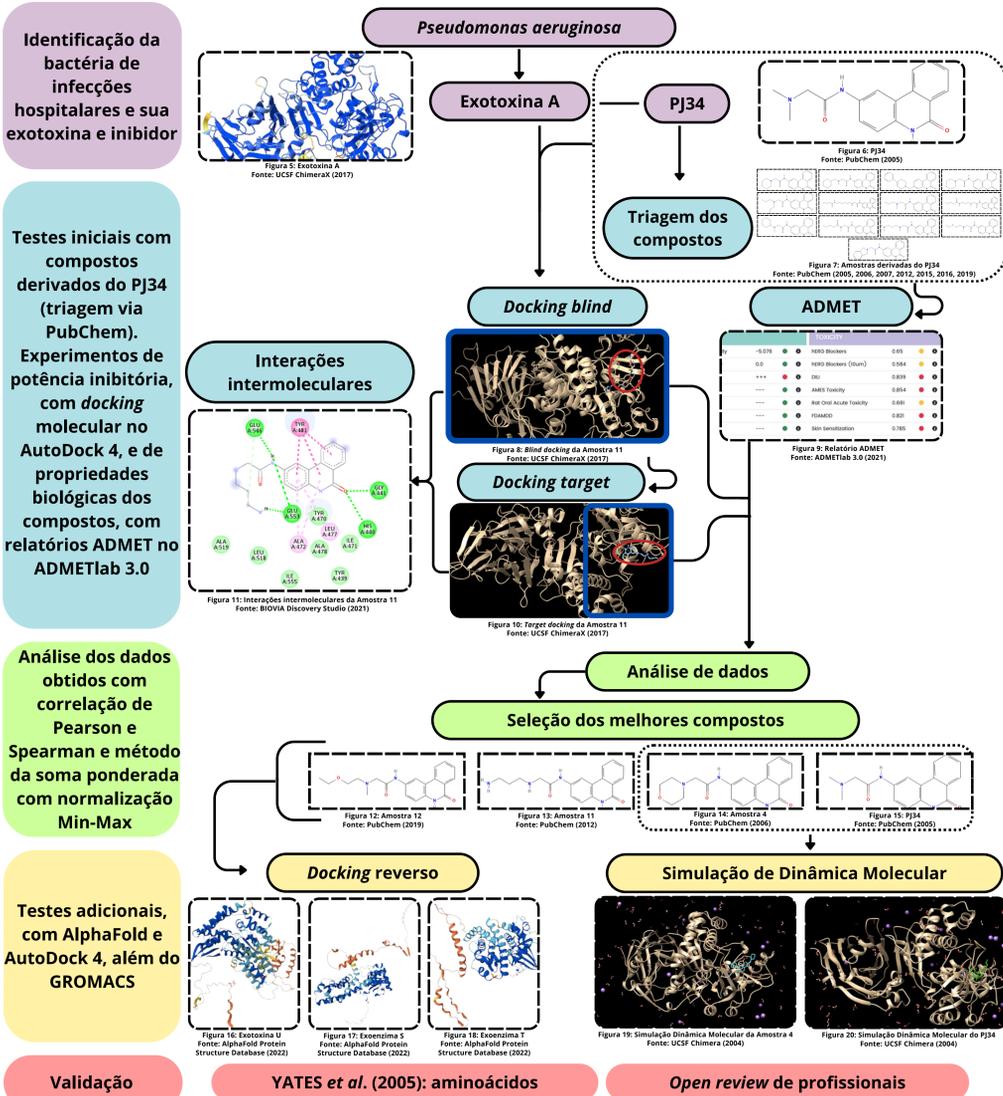
Ao estender o **radical (R)** do PJ34 (destacado acima), é possível sintetizar **inibidores mais potentes** da exotoxina A que sejam aplicáveis à farmacologia via **ADMET** (Absorção, Distribuição, Excreção, Metabolismo e Toxicidade).

Objetivos:

- Averiguar, por meio da **bioinformática**, se compostos químicos **derivados** do PJ34 com um grupo R mais extenso são **inibidores mais potentes** do que o próprio PJ34
- Triagem** de compostos para testes *in vitro* de forma **mais econômica, rápida e sustentável**.

MÉTODOS E TÉCNICAS

Na presente pesquisa, foi utilizado como abordagem o **método hipotético-dedutivo**, além da técnica de **observação direta extensiva** (LAKATOS; MARCONI, 2003). Pesquisa Bioinformática Nível II (LIU, 2021): integração de dados.

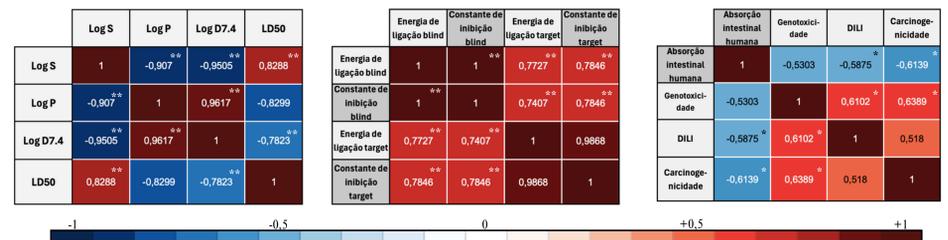


RESULTADOS

1. Identificação de aminoácidos essenciais para as interações intermoleculares entre a exotoxina A e os inibidores



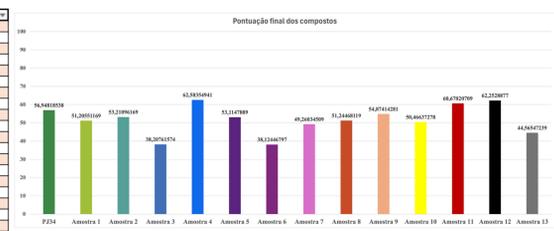
2. Correlação de Pearson e Spearman entre indicadores analisados



* p < 0,05 / ** p < 0,01 / □ Distribuição normal / □ Distribuição anormal. Fonte: Autoras.

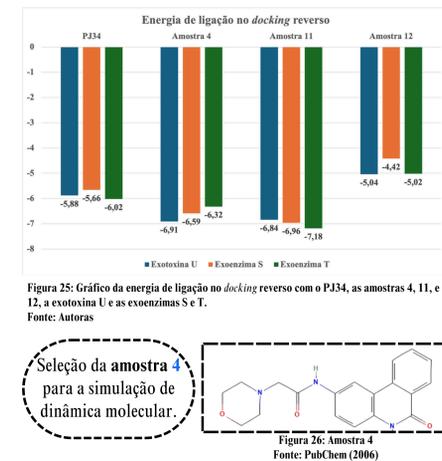
3. Tabela com dados do ADMET e do docking blind e target após normalização Min-Max e método da soma ponderada

Indicadores	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Amostra 5	Amostra 6	Amostra 7	Amostra 8	Amostra 9	Amostra 10	Amostra 11	Amostra 12	Amostra 13	PJ34
Log S	4,06287063	2,96811966	3,40880409	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Log P	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Log D7.4	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
LD50	4	3,91111111	3,20660606	1,41414141	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Síntaxis	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Classe 2 Permeabilidade	3,20721008	4	2,07901903	0	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
MDCK Permeabilidade	3,33943298	3,36213841	2,96590592	0	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Absorção intestinal humana	2,96980768	2,81810044	2,76514035	1,56867861	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Depuração (clearance) do plasma	1,74919267	0,48729059	1,12975068	0,57033444	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Meia-vida (t1/2)	0,30438422	0,17239465	0,17239465	0,17239465	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Ligação a Proteínas Plasmáticas	0,44491729	0,40242817	0,43920379	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Volume de distribuição	2,53412829	2,22919398	2,71214617	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Probabilidade de ser um inibidor CYP2D2	0,77538403	0,66877731	0,80441176	3,84377731	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Estabilidade Microsomal Hepática Humana	3,8927706	3,99593034	3,76951616	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Neurotoxicidade	1,13139681	1,67883217	2,36620438	0,76423358	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Genotoxicidade	0,09956644	1,47677589	3,87623319	2,22198113	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
DILI	0,74479485	0	0,04159844	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Carcinogenicidade	3,9223339	0,22420647	0	3,81358922	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Neurotoxicidade	3,33333333	0,143304762	2,07428271	1,18926281	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
ASA1 Carcinogenicidade	3,9771969	5	4,89132287	4,45827369	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Toxina respiratória	2,66666667	5	3,48145481	1,07407407	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
FDAMC0	1,01245749	2,89978545	3,85425192	0,499297126	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Energia de ligação	1,76289092	1,17830478	0,49962081	1,48230992	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Eficiência de ligação	1,7	1,6	0,8	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Constante de ligação	1,80264037	1,97920293	1,32944402	1,98984395	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Energia de ligação target	1,96517729	1,63762637	1,44124048	1,42391343	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Eficiência de ligação target	1,52090254	1,14287143	1,04781904	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Constante de inibição target	3,10683709	3,47676291	3,69713147	3,98768279	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LD50	1,32921681	1,22921762	1,22921762	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
POINTELAÇÃO FINAL	46,9448348	42,4444444	42,2528877	46,4702909	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

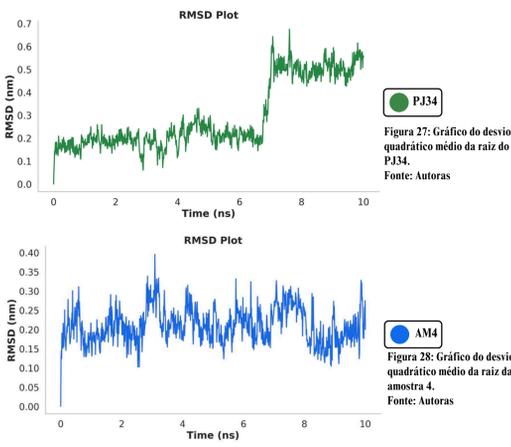


Seleção das amostras 4, 12 e 11 e do PJ34 para testes adicionais com docking reverso.

4. Amostras 11 e 4 se destacam no docking reverso



5. Amostra 4 é mais estável que o PJ34 no RMSD da simulação de dinâmica molecular



CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A investigação **corroborou a hipótese** inicial mediante avaliação holística:
- Energia de ligação:** Doze amostras superaram o PJ34 no *docking target* em até **~ 28%**;
 - ADMET:** Doze amostras tiveram uma redução de genotoxicidade (máximo de **~ 85%**) em relação ao PJ34;
 - Triagem:** As amostras 4, 12 e 11 possuem um potencial terapêutico maior do que o PJ34 em até **~ 10%**;
 - Multifármaco:** As amostras 11 e 4 superaram o PJ34 em energia de ligação na exotoxina U (cerca de **17,5%**), na exoenzima S (cerca de **~ 23%**) e na exoenzima T (cerca de **~ 19%**);
 - Estabilidade:** A amostra 4 é **mais estável** que o PJ34 em ambiente aquoso ionizado, favorecendo aplicações terapêuticas;
 - Validação:** Pareceres técnicos (*open review*) e os mesmos **aminoácidos** da exotoxina A descritos em Yates *et al.* (2005) interagiram com o PJ34 no *docking*.

Próximos passos:

- Aumentar consideravelmente a quantidade de amostras.
- Repetir os procedimentos de *docking molecular* em outros *softwares*.
- Aumentar a duração da simulação de dinâmica molecular para 100ns.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

MORRIS, G. M. *et al.* AutoDock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility. *J. Computational Chemistry*, v. 30, n. 16, p. 2785-2791, 2009. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2766638/>. Acesso em: 11 ago. 2024.

XIONG, G. *et al.* ADMETLab 2.0: an integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties. *Nucleic acids research*, v. 49, n. W1, p. WS-W14, 2021. Disponível em: <https://academic.oup.com/nar/article/49/W1/WS-W14/6249611?log=false>. Acesso em: 18 set. 2024.

YATES, S. P. *et al.* Structure-function analysis of water-soluble inhibitors of the catalytic domain of exotoxin A from *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochemical Journal*, v. 385, n. 3, p. 667-675, 2005. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1134741/>. Acesso em: 6 ago. 2024.