

ARTIGO ORIGINAL

Priorização *in silico* de moléculas com ação sobre *M. tuberculosis* pantotenato sintetase

In silico prioritization of molecules with action in *M. tuberculosis* pantothenate synthetase

KÉSSIA SOUZA SANTOS¹ | YLANNA BONFIM DOS SANTOS¹ | MANOELITO COELHO DOS SANTOS JUNIOR^{3*}

¹Departamento de Saúde, Laboratório de Modelagem Molecular (LMM), Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia, Brasil.

^{2,3}Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Laboratório de Modelagem Molecular (LMM), Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia, Brasil.

Histórico:

Recebido em 14/11/2023

Revisado em 22/12/2023

Aceito em: 24/12/2023

Publicado em 08/01/2024

Palavras-chave

Tuberculose
Triagem Virtual;
Produtos Naturais

Keywords

Tuberculosis;
Virtual Screening;
Natural Products

Resumo. Tuberculose é uma doença infecciosa causada pelo *Mycobacterium tuberculosis* que continua sendo uma das principais causas de morte por doença infecciosa. Este estudo teve como objetivo a identificação de potenciais inibidores da pantotenato sintetase, enzima essencial para a bactéria, através de triagem virtual hierárquica. Modelos baseados na forma e volume moleculares foram construídos e validados para filtrar um banco de dados com estruturas químicas produtos naturais. As moléculas selecionadas foram acopladas na estrutura do alvo molecular, obtido junto ao Protein Data Bank sob o código 3IUB com o programa FRED. O composto ZINC000012489800 foi a mais bem ranqueada. As interações intermoleculares mostraram interações hidrofóbicas, ligações de hidrogênio (aceptoras e doadoras) e iônicas, entre o composto identificado e aminoácidos importantes para o reconhecimento molecular já descritas na literatura. A molécula possui parâmetros farmacocinéticos razoáveis e bom índice de segurança toxicológico. Este estudo demonstra a eficácia dos métodos *in silico* na identificação de um composto promissor para o tratamento da tuberculose multirresistente, representando um passo importante na busca por novas terapias.

Summary. Tuberculosis is an infectious disease caused by *Mycobacterium tuberculosis* that remains one of the leading causes of death from infectious disease. This study aimed to identify potential inhibitors of pantothenate synthetase, an essential enzyme for bacteria, through hierarchical virtual screening. Models based on molecular shape and volume were built and validated to filter a database with chemical structures of natural products. The selected molecules were docked into the structure of the molecular target, obtained from the Protein Data Bank under the code 3IUB with the FRED program. The compound ZINC000012489800 was the best ranked. The intermolecular interactions showed hydrophobic interactions, hydrogen bonds (acceptor and donor) and ionic, between the identified compound and important amino acids for molecular recognition already described in the literature. The molecule has reasonable pharmacokinetic parameters and a good toxicological safety index. This study demonstrates the effectiveness of *in silico* methods in identifying a promising compound for the treatment of multidrug-resistant tuberculosis, representing an important step in the search for new therapies.

Introdução

A tuberculose (TB) é uma doença bacteriana infecciosa causada pelo *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) onde a transmissão ocorre entre humanos pela via respiratória e afeta comumente os pulmões e outros tecidos¹. As manifestações clínicas comuns para a TB incluem tosse prolongada, fadiga, sudorese noturna, febre, perda de peso todos esses de forma leve por meses¹. A suscetibilidade à doença é influenciada por fatores biológicos (desnutrição e infecção por HIV) e fatores sociais². A Organização Mundial de Saúde considera a TB como uma doença curável e evitável³, mas a cada ano, dez milhões de pessoas são diagnosticadas e 1,5 milhões morrem³ evidenciando ser um desafio a saúde pública mundial de modo que a maioria dos diagnósticos são encontrados em países de baixa e média renda⁴.

No Brasil, o Ministério da Saúde indicou que em 2022 houve cerca de 74.385 novos casos quanto ao coeficiente de mortalidade que vinha reduzindo há aproximadamente duas décadas, em 2021 houve um aumento registrando cerca de 5.072 óbitos⁵. Ademais, é imprescindível ressaltar que cerca de 55% dos novos casos são advindos de cepas multirresistentes do Mtb⁶, responsáveis por produzir formas mais severas da patologia provocando sequelas e com altos índices de morbidade e mortalidade⁷. A terapia atual para as cepas multirresistentes disponíveis no Brasil⁸ se resume a utilização de Estreptomicina, Etambutol, Levofloxacina, Pirazinamida e Terizidona, entretanto, apresenta desafios no que tange a adesão e a tolerabilidade devido aos efeitos adversos e o esquema de utilização⁷.

Um estudo proposto por Borisov et al.⁹ conduzido em 45 centros distribuídos por 26 países/regiões, revelou a incidência de efeitos adversos em pacientes submetidos ao tratamento com bedaquilina, delamanida, clofazimina e linezolida, levando à interrupção do tratamento. Embora existam pesquisas científicas em busca de novas combinações, os resultados apresentados são insuficientes¹⁰ motivando a busca de novos fármacos com maior eficácia, tolerabilidade e redução da duração da farmacoterapia a fim de melhorar a adesão ao tratamento¹¹.

A descoberta de fármacos trata-se de um processo longo e dispendioso. Com os avanços tecnológicos, as estratégias computacionais como a Triagem Virtual Baseada no Ligante (TVBL) e a Triagem Virtual Baseada no Receptor (TVBR) surgem como uma excelente ferramenta de identificação de novas entidades químicas reduzindo consideravelmente o custo e o tempo gasto¹² de forma que a TVBL é uma técnica rápida, entretanto menos acurada quando comparada com a TVBR que é mais lenta e com mais acurácia. O emprego dessa metodologia *in silico* é capaz de avaliar como uma molécula pode ser identificada por um alvo molecular¹².

Para o uso de triagem *in silico* faz-se necessário

identificar o alvo molecular, cuja importância seja fundamental para a sobrevivência ou virulência do microrganismo. A pantotenato sintetase (PS) é uma enzima presente em uma etapa limitante para a biossíntese do ácido pantotênico, que é um componente fundamental para a biossíntese da coenzima A (CoA) e das proteínas transportadoras de acila (ACP). Tanto a CoA quanto a ACP desempenham papéis críticos em muitos processos celulares, como o metabolismo energético e o metabolismo de ácidos graxos, sendo essencial para o ciclo de vida da Mtb¹³. A ausência da PS em células humanas endossa a sua viabilização para tornar-se alvo de fármacos visto que ocorre a redução dos níveis de efeitos adversos e toxicidade¹¹.

Nesse contexto, ao determinar o alvo biológico, inicia-se a busca por moléculas por meio da triagem virtual. Para isso, é fundamental um banco de dados que possuam os mesmos requisitos físico-químicos e estereo-eletrônicos. Dessa forma, optou-se por explorar os compostos oriundos de fontes naturais devido à diversidade estrutural e funcional. Ademais, a descoberta de novos antimicrobianos oriundos de produtos naturais é um campo promissor, podendo contribuir significativamente para o desenvolvimento de novas terapias além da TB¹⁴.

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo identificar potenciais inibidores da PS Mtb através da triagem virtual hierárquica, no qual em um primeiro momento adotou-se a estratégia TVBL com o delineamento do modelo baseado em inibidores e posteriormente a estratégia TVBR através do acoplamento molecular e análise das interações intermoleculares além das propriedades farmacocinéticas e toxicológicas da molécula, com a melhor pontuação de eficiência de ligação¹⁵, frente ao homem.

Materiais e Métodos

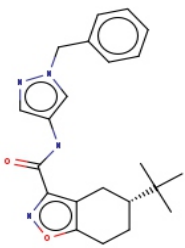
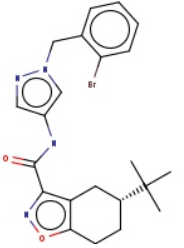
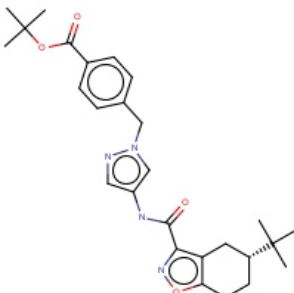
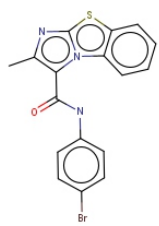
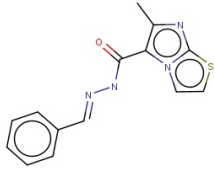
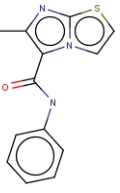
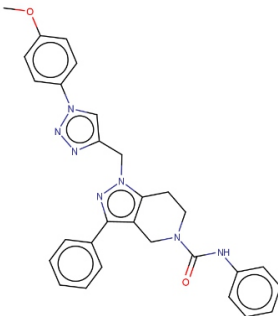
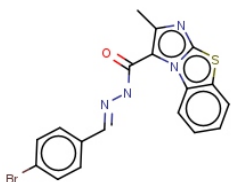
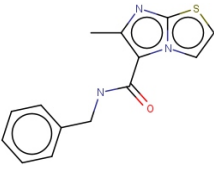
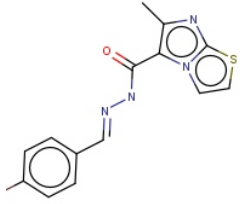
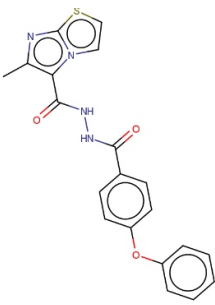
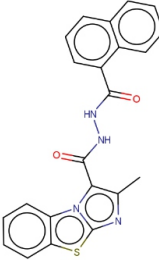
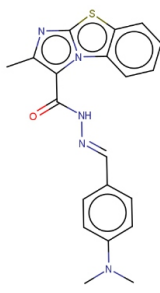
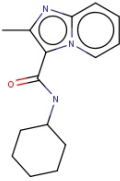
Triagem Virtual Baseada no Ligante (TVBL):

Vinte moléculas com atividade biológica (IC50 <2.000nM) frente a PS foram selecionadas (ChEMBL¹⁶) e divididas em dois grupos de forma aleatória: treinamento (n = 14) e teste (n = 6).

Modelos baseados na forma e volume a partir do grupo de treinamento (tabela 1) foram construídos no programa vROCS3.6.0.0¹⁷ variando o número de moléculas empregadas (3, 4, 5, 6 e 14), mesclando-se as cores dos átomos e gerando-se um modelo (configuração padrão). O alinhamento entre as moléculas e modelos foi realizado de forma flexível com otimização da cor ou características dos átomos e moléculas, os resultados foram avaliados pelo coeficiente de similaridade TanimotoCombo (TC)¹⁷.

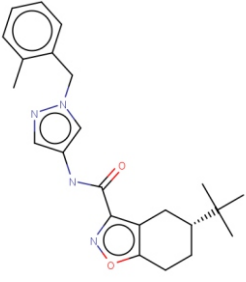
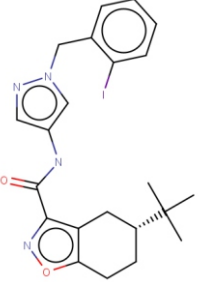
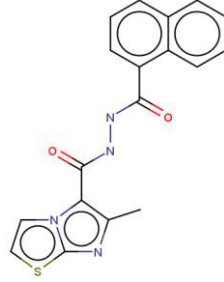
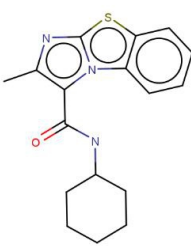
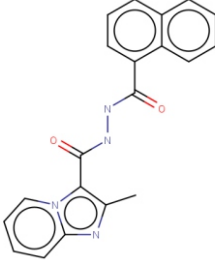
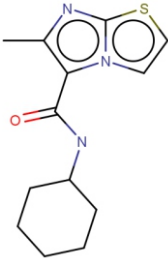
Através do servidor DUD-E²⁰ as moléculas do grupo teste (tabela 2) foram utilizadas para a construção dos decoys (1:50) que, posteriormente, foram empregadas para a validação do modelo pelo método da curva ROC através do SigmaPlot15.0²¹, selecionando-se o modelo com maior AUC (Área Sob a Curva).

Tabela 1. Moléculas do grupamento treino. Imagens geradas no MarvinSketchv23.12³⁷.

			
CHEMBL408197 IC50 = 97nM	CHEMBL409940 IC50 = 140nM	CHEMBL410040 IC50 = 250nM	CHEMBL3765483 IC50 = 520nM
			
CHEMBL3763241 IC50 = 580nM	CHEMBL3765736 IC50 = 740nM	CHEMBL4206335 IC50 = 1010nM	CHEMBL3763769 IC50 = 1020nM
			
CHEMBL3765386 IC50 = 1060nM	CHEMBL3764292 IC50 = 1200nM	CHEMBL3763438 IC50 = 1230nM	CHEMBL3763254 IC50 = 1390nM
			
CHEMBL3764019 IC50 = 1460nM	CHEMBL1487172 IC50 = 1990nM		

Fonte: Samala G, et al.¹⁸ e Yang Y, et al.¹⁹.

Tabela 2. Moléculas do grupamento teste. Imagens geradas no MarvinSketch v23.12³⁷.

		
CHEMBL412059 IC50 = 120nM	CHEMBL260779 IC50 = 160nM	CHEMBL3765314 IC50 = 640nM
		
CHEMBL3763165 IC50 = 1020nM	CHEMBL3309662 IC50 = 1900nM	CHEMBL3763965 IC50 = 2000nM

Fonte: Samala G, et al.¹⁸ e Yang Y, et al¹⁹.

O modelo selecionado foi empregado para a triagem de moléculas obtidas no banco Biogenic (BB) do servidor ZINC20²². Com o objetivo de selecionar moléculas com maior complementariedade com o modelo, somente foram considerados compostos com valor de TanimotoCombo $\geq x + 2.\sigma$ dos valores obtidos no grupo teste.

Triagem Virtual Baseada no Receptor (TVBR):

As coordenadas atômicas da enzima utilizada nesse estudo foram obtidas banco de dados de proteínas Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>)²³ sob código PDB ID 3IUB que foi selecionada com valor de resolução $< 2\text{Å}$ e a presença do inibidor (5-metoxi-N-[(5-metilpiridina-2-il)sulfonil]-1H-indol-2-carboxamida) co-cristalizado à proteína (ligante cristalográfico). O acoplamento molecular foi realizado nos programas DOCK6.10²⁴ e FRED4.2.1.0²⁵.

Para o DOCK6.10²² a proteína foi preparada no UCSF Chimera1.17.3²⁶ com a adição das cargas parciais Gasteiger-Huckel (campo de força ff14SB), juntamente com os hidrogênios polares. Após o preparo da proteína, a superfície molecular de acesso ao solvente do receptor foi calculada no software DMS²⁷. Em seguida, construiu-se a imagem negativa da superfície molecular do sítio ortostérico pelos programas SPHGEN²⁴ e SPHERE SELECTOR²⁴. A delimitação do espaço de acoplamento molecular fora realizada por meio do software SHOWBOX²⁴ utilizando como referência as coordenadas do ligante cristalográfico. O ranqueamento foi realizado com afunção de pontuação padrão GridScore.

Previamente ao acoplamento pelo programa

FRED²⁵, o preparo do alvo molecular foi realizado no programa Make Receptor4.2.1.0²⁸. Inicialmente os hidrogênios polares e cargas foram adicionadas. Damesma forma, as coordenadas do ligante cristalográfico foram utilizadas para delimitação do espaço de acoplamento molecular. A caixa de grade foi construída com as dimensões $20,00 \times 15,00 \times 20,67\text{Å}$, volume balanceado de 6200Å^3 e contorno externo de $1,331\text{Å}$.

As performances de acoplamento molecular foram avaliadas através do reacoplamento e da análise ROC empregando ao mesmo conjunto de moléculas do grupo teste e decoys utilizadas na TVBL. O reacoplamento molecular foi realizado através da distância da pose cristalográfica em relação a calculada, medida pela raiz quadrada do desvio quadrático médio (RMSD)²⁹. Por fim, avaliação da curva ROC considerou o método com maior AUC. O programa com melhor desempenho foi empregado para a TVBR. As interações intermoleculares foram avaliadas no servidor PLIP³⁰.

Análise das propriedades farmacocinéticas e toxicológicas:

A molécula melhor ranqueada foi submetida ao servidor pkCSM – *pharmacokinetics*³¹ para obtenção das propriedades farmacocinéticas e toxicológicas.

Resultados e Discussão

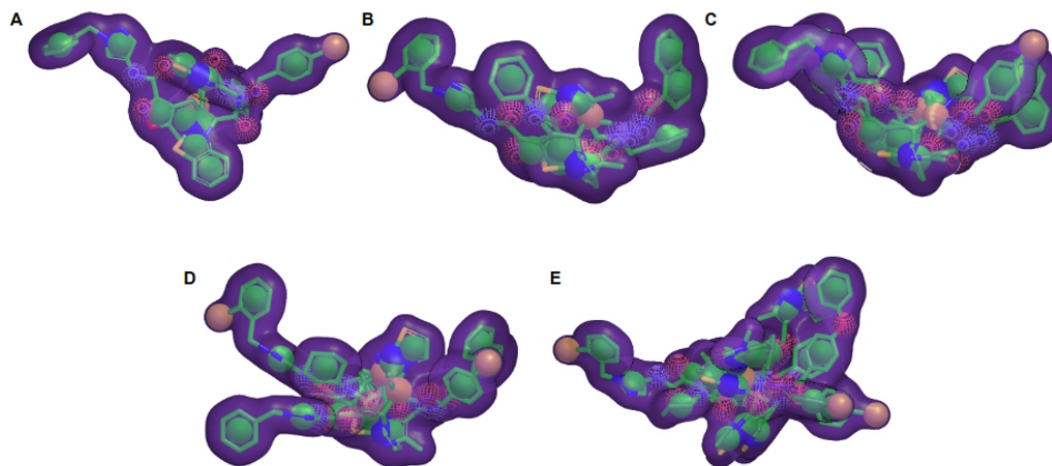
Triagem Virtual Baseada no Ligante (TVBL):

A triagem virtual baseada no ligante seguiu para o delineamento dos modelos farmacofóricos e de morfologia. Esses modelos representam as

características comuns presentes em um grupo de moléculas ativas para se ligar ao seu alvo³². Dessa forma, a determinação dessas características auxilia na priorização de moléculas mais seletivas que atendam aos principais requisitos estereo-eletrônicos³³.

O vROCS3.6.0.0¹⁷ utiliza informações estereais e eletrônicas baseadas no volume, forma e cor ou características químicas dos átomos para localizar regiões farmacofóricas com base no alinhamento entre as estruturas inseridas no grupo de treinamento¹⁷. Os resultados encontram-se dispostos na Figura 1.

Figura 1. Modelos baseados na forma e volume: a) 3 moléculas; b) 4 moléculas; c) 5 moléculas; d) 6 moléculas; e) 14 moléculas.

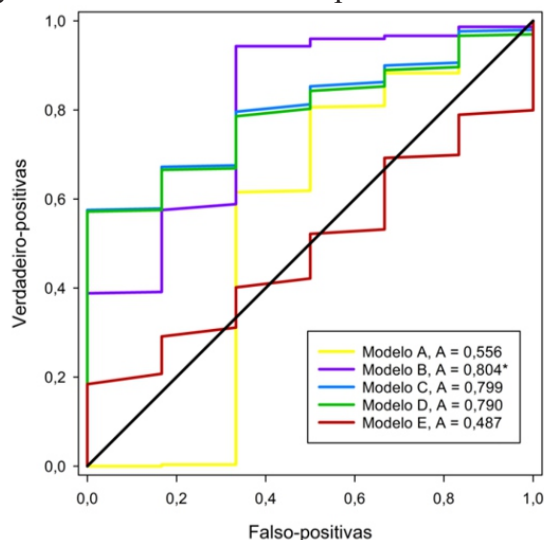


NOTA: as esferas representam as características do farmacóforo: centros hidrofóbicos amarelos, aceptores de hidrogênio em azul semipreenchido, doadores de hidrogênio em vermelho semipreenchido, centros catiônicos em azul preenchido e a presença de anéis está representada em verde.

Fonte: os autores

Após etapa de avaliação, o modelo B (figura 1) foi o que apresentou melhor valor de AUC (0,80)³⁴ e melhor fator de enriquecimento em 2% (7,3) comprovando a capacidade razoável do modelo em diferenciar as moléculas verdadeiro-positivas das falso-positivas (figura 2). O modelo B apresentou 31 propriedades: cinco centros doadores, sete centros aceptores de hidrogênios, três centros catiônicos, presença de catorze anéis e dois pontos hidrofóbicos.

Figura 2 – Curva ROC²¹ dos modelos obtida a partir de moléculas verdadeiras e falsas-positivas para Mycobacterium tuberculosis pantotenato sintetase.



Nota: *simboliza o modelo escolhido.

Fonte: os autores

O alinhamento do BB resultou em 500 compostos alinhados ao modelo B, de um total de 84.613. Essas moléculas possuem requisitos estereo-eletrônicos e morfológicos semelhantes à de inibidores ativos (TC > 0,4).

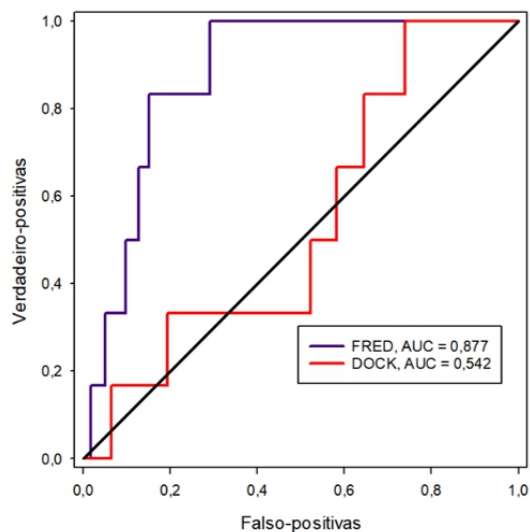
Triagem Virtual Baseada no Receptor (TVBR):

O RMSD para o DOCK6.10²⁴ resultou em 0.8 Å demonstrando uma boa capacidade em reproduzir a pose obtida pelo ligante experimental. Quanto ao FRED4.2.1.0²⁵ o resultado obtido foi de 1,46 Å, uma capacidade razoável. Segundo Batista et al.²⁹ o RMSD entre duas estruturas é considerado satisfatório quando < 2,0 Å. Sendo assim, percebe-se que ambos os softwares demonstraram valores dentro do valor de referência. Como o RMSD não foi suficiente, optou-se por utilizar, também, a avaliação através da curva ROC. Para a curva ROC o programa DOCK6.10²⁴ apresentou AUC = 0,542, desempenho pouco satisfatório³⁴ visto que, conforme demonstrado na figura 3, em diversos momentos a curva encontra-se abaixo da linha da aleatoriedade. Outrossim, para o FRED4.2.1.0²⁵ obteve-se uma AUC = 0,877 considerada como bom³⁴ desempenho, o que possibilitou a sua seleção para a triagem.

O programa FRED4.2.1.0²⁵ acopla moléculas multiconformeradas em um único receptor empregando uma busca exaustiva e sistemática que pesquisa rotações e translações de cada conformero do ligante dentro do sítio de ligação³⁵. A função de pontuação Chemgauss4 utiliza potenciais gaussianos para medir a

complementariedade das posições do ligante dentro do sítio de ligação considerando as formas, ligações de hidrogênio entre o ligante a proteína, ligações de hidrogênio com o solvente implícito e interações metalquelante³⁶.

Figura 3: Curva ROC²¹ baseada nas funções do acoplamento molecular.



Fonte: os autores

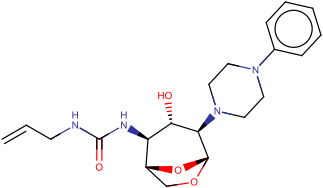
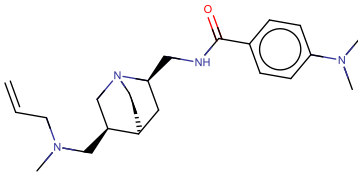
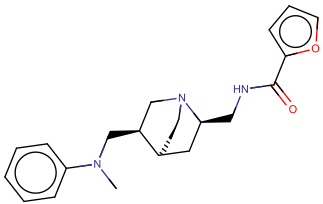
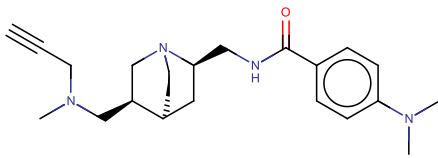
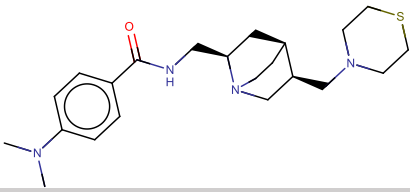
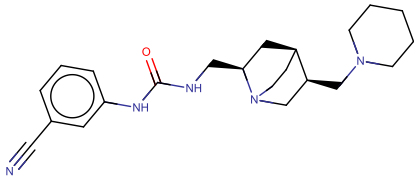
Além da função de pontuação padrão utilizou-se a eficiência de ligação (EL)¹⁵ visando relacionar o

score com a quantidade de átomos pesados. Segundo Hopkins, Groom & Alex¹⁵ a EL é um valor que expressa a energia da ligação de acordo com o tamanho do composto sendo uma propriedade importante na avaliação da qualidade dos acertos da triagem, visto que os compostos maiores tendem a apresentar maior energia de ligação, entretanto, podem não ser necessariamente mais eficientes. Ademais, utilizou-se o coeficiente de similaridade TanimotoCombo das mesmas obtidas na TVBL para realizar o ranqueamento final (tabela 3). Por preencher todos os requisitos, o composto ZINC000012489800 foi o selecionado.

Análise das interações intermoleculares

O perfil de possíveis interações intermoleculares está disposto na figura 4. O anel aromático presente na estrutura da ZINC000012489800 foi capaz de estabelecer interações hidrofóbicas com PRO38, VAL143 e PHE157, o grupamento alquila promoveu uma ligação de hidrogênio aceitadora com ASP161, ligação de hidrogênio doadora com TYR82, SER197 e ARG198, ademais, observou-se ligações iônicas com ASP191 realizada pela amina terciária do ligante. O estudo realizado por Amaroju et al.³⁸ e Hung et al.³⁹ para a identificação e desenvolvimento de inibidores para PS Mtb indicou que seu acoplamento molecular demonstrou as mesmas interações

Tabela 3: 06 melhores moléculas ranqueadas conforme a EL, Chemgauss4 e TC na forma e volume. Imagens geradas no MarvinSketchv23.12³⁷.

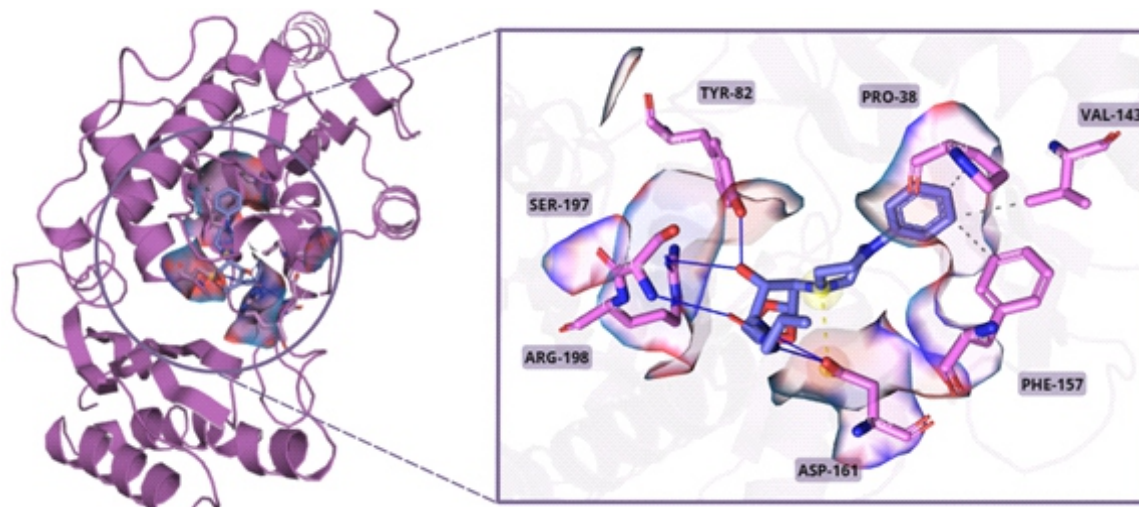
 <p>ZINC000012489800 Chemgauss4: -14,43 EL: -0,52 TanimotoCombo: 0,516</p>	 <p>ZINC000067870666 Chemgauss4: -13,97 EL: -0,52 TanimotoCombo: 0,488</p>
 <p>ZINC000008635697 Chemgauss4: -13,08 EL: -0,50 TanimotoCombo: 0,386</p>	 <p>ZINC000020503930 Chemgauss4: -13,39 EL: -0,50 TanimotoCombo: 0,396</p>
 <p>ZINC000020503863 Chemgauss4: -13,49 EL: -0,48 TanimotoCombo: 0,432</p>	 <p>ZINC000067870763 Chemgauss4: -13,07 EL: -0,47 TanimotoCombo: 0,370</p>

Fonte: os autores

demonstradas na figura 4 e que as interações hidrofóbicas estabelecidas são favoráveis para o reconhecimento molecular. Amaroju et al.³⁸ que realizou seu estudo com a mesma proteína, ainda

reforça os mesmos achados experimentais para as ligações de hidrogênio e com a ligação iônica demonstrada na figura 4.

Figura 4. Interações intermoleculares entre os resíduos do sítio de ligação da pantotenato sintetase do *Mycobacterium tuberculosis* e a molécula ZINC000012489800.



Nota: A linha azul sólida representa a ligação de hidrogênio, a linha amarela tracejada demonstra as interações iônicas e a linha cinza tracejada representa as ligações hidrofóbicas. PLIP server³⁰.

Fonte: os autores

Análise das propriedades farmacocinéticas e toxicológicas

A predição do ADMET in silico encontra-se disposta na tabela 4. O parâmetro HIA (do inglês human intestinal absorption) relacionada com a dissolução, dissociação dos compostos além da permeabilidade intestinal⁴⁰ demonstrou que a molécula possui 60,4% de absorção⁴⁰. As propriedades relacionadas a glicoproteína P (P-gp) por ser um descritor seletivo quanto a entrada de xenobióticos nos tecidos⁴¹ e observou-se que a molécula é um substrato da glicoproteína P, entretanto, não se caracteriza como um inibidor da mesma e isto pode influenciar na diminuição da biodisponibilidade visto que a P-gp está relacionada com a excreção de substâncias. O volume de distribuição em estado estacionário (V_{de}) foi

considerado razoável por estar abaixo de 0,4531, a fração livre demonstrou que 52% das moléculas estariam livres indicando, também uma razoabilidade. A permeabilidade a BHE e ao SNC demonstraram que a molécula não possui capacidade³¹ de atravessar estas barreiras protetoras. A ZINC000012489800 não é substrato e nem inibidor de nenhuma das isoformas da CYP450, importante enzima para o metabolismo presente no fígado. O clearance total indica a depuração do fármaco e se trata da somatória da depuração hepática e renal, o resultado obtido foi de 0.709 ml/min/kg como demonstrado, ainda na tabela 4. Outrossim, avaliou-se, também, o parâmetro toxicológico teste de AMES que avalia o potencial mutagênico e se pode atuar como cancerígeno⁴¹ o resultado foi negativo.

Tabela 4. Resultados obtidos do pkCSM³¹ para a molécula com melhor resultado triagem virtual.

Absorção	Absorção intestinal humana	60,4%
	Substrato da glicoproteína P	Não
	Inibidor da glicoproteína PI e II	Não
Distribuição	V _{Dee}	0,16 L/kg
	Fração livre	52%
	Permeabilidade BHE	-0,552 (log)
	Permeabilidade SNC	-3,252 (log)
Metabolismo	Substrato do citocromo CYP450	Não
	Inibidor do citocromo CYP450	Não
Excreção	Clearance total	0,709 ml/min/kg
Toxicidade	Teste de AMES	Não

Fonte: os autores.

Conclusão

Pode-se concluir que a abordagem hierárquica de triagem virtual foi capaz de identificar um composto promissor, a ZINC000012489800, que demonstrou afinidade e capacidade de interação com a proteína alvo associada à cepa multirresistente da tuberculose. A avaliação das propriedades farmacocinéticas e toxicológicas indicou que a molécula possui boas características e segurança. Contudo, estudos adicionais, incluindo ensaios *in vitro* e *in vivo*, são necessários para validar a eficácia e a segurança desse composto candidato. Em última análise, esses resultados representam um passo inicial promissor na busca por novas opções terapêuticas para a tuberculose multirresistente.

Conflitos de interesse: Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Contribuições dos autores: KÉSSIA SOUZA SANTOS foi responsável pela construção dos bancos de dados e construção dos modelos; YLANNA BONFIM DOS SANTOS foi responsável pelos estudos de acoplamento molecular e análise das interações intermoleculares; MANOELITO COELHO DOS SANTOS JUNIOR foi responsável pela análise dos dados gerado.

Agradecimentos: Agradecemos a ChemAxon e a Openeye Scientific por gentilmente cederem seus softwares para a realização da pesquisa.

Referências

1. Bloom B, et al. Tuberculosis. *Major Infect Dis.* 2017;6(3):233-313. DOI: 10.1596/978-1-4648-0524-0_ch11.

2. Moreira AD, Kritsk AL, Carvalho AC. Social determinants of health and catastrophic costs associated with the diagnosis and treatment of tuberculosis. *J. Bras. de Pneumol.* 23 fev 2020; 46(5): e20200015. DOI: 10.36416/1806-3756/e20200015.

3. World Health Organization. Tuberculosis [Internet]; [citado 19 out 2023]. Available from: https://www.who.int/health-topics/tuberculosis#tab=tab_1.

4. World Health Organization. Global Tuberculosis Report [Internet]. Geneva: WHO [citado 19 out 2023]. 68 p. 2022. Available from: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/363752/9789240061729-eng.pdf?sequence=1>.

5. Ministério da Saúde (BR). Tuberculose [Internet]. Brasília: [editor desconhecido]; mar 2023 [citado 11 out 2023]. 64p. Boletim epidemiológico 2023. Available

from: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/especiais/2023/boletim-epidemiologico-de-tuberculose-numero-especial-mar.2023>.

6. World Health Organization. TB BR profile [Internet]. [citado 19 out 2023]. Available from: https://worldhealthorg.shinyapps.io/tb_profiles/?input_entity_type='country'&input_iso2='BR'.

7. Lee M, et al. Delamanid, linezolid, levofloxacin, and pyrazinamide for the treatment of patients with fluoroquinolone-sensitive multidrug-resistant tuberculosis (Treatment Shortening of MDR-TB Using Existing and New Drugs, MDR-END): study protocol for a phase II/III, multicenter, randomized, open-label clinical trial. *Trials.* 2019;20(1). DOI: 10.1186/s13063-018-3053-1.

8. Brasil. Ministério da Saúde. Nota técnica sobre as mudanças no tratamento da tuberculose no Brasil para adultos e adolescentes – Versão 2 [internet]. [citado 15 dez 2023] Available from: <http://www1.saude.rs.gov.br/dados/1293729099101nota%20t%e9cnica%20-%202%aa%20vers%e3o%20%28corrigida%20em%2022-10%29.pdf>.

9. Borisov, S et al. “Surveillance of adverse events in the treatment of drug-resistant tuberculosis: first global report.” *The Europ. Respirat. Jour.* vol. 54,6 1901522. 19 Dec. 2019 [citado 15 dez 2023]. DOI:10.1183/13993003.01522-2019.

10. Tiberi S, et al. Drug resistant TB – latest developments in epidemiology, diagnostics and management. *Int J Infect Dis.* Mar 2022 [citado 19 out 2023]. DOI: 10.1016/j.ijid.2022.03.026.

11. Dias FSS, Lima CCM. Interruption of the treatment of pulmonary tuberculosis: Risks for the individual and for public health. *Braz. J. Develop.* 2020 Sep. 21 [citado 11 out 2023.];6(9):70186-95. DOI: [10.34117/bjdv6n9-463](https://doi.org/10.34117/bjdv6n9-463).

12. Silva GM. Planejamento computacional e avaliação biológica de inibidores alostéricos de glicogênio sintase cinase 3- β com interesse na doença de Alzheimer [Dissertação de doutorado]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo; 2023 [citado 26 out 2023]. 143p.

13. Wang S, Eisenberg D. Crystal structures of a pantothenate synthetase from *M. tuberculosis* and its complexes with substrates and a reaction intermediate. *Protein Sci.* Maio 2003 [citado 15 out 2023];12(5):1097-108. DOI: 10.1110/ps.0241803.

14. Cusinato M. Estudos químicos e atividade antimicrobiana de bactérias associadas à abelha sem ferrão *Scaptotrigona depilis* [Dissertação de mestrado]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo; 2020 [citado 20 out 2023]. 23p.
15. Hopkins AL, Groom CR, Alex A. Ligand efficiency: a useful metric for lead selection. *Drug Disc. Today*. 2004 May 1 [cited 2023 Dec 15];9(10):430–1. DOI: 10.1016/S1359-6446(04)03069-7.
16. Mendez D, et al. ChEMBL: towards direct deposition of bioassay data. *Nucleic Acids Res*. 2019; 47(D1): D930-D940. DOI:10.1093/nar/gky1075.
17. vROCS 3.6.0.1. OpenEye, Cadence Molecular Sciences, Santa Fe, NM. <http://www.eyesopen.com>.
18. Samala G, et al. Identification and development of 2-methylimidazo[1,2-a] pyridine-3-carboxamides as *Mycobacterium tuberculosis* pantothenate synthetase inhibitors. *Bioorg. & Med. Chem*. 2014 Aug. 22(15):4223–32. DOI:10.1016/j.bmc.2014.05.038.
19. Yang Y, et al. A discovery of novel *Mycobacterium tuberculosis* pantothenate synthetase inhibitors based on the molecular mechanism of actinomycin D inhibition. *Bioorg. & Med. Chem. Lett*. 2011 Jul; 21(13):3943–6. DOI: 10.1016/j.bmcl.2011.05.021.
20. Mysinger MM, Carchia M, Irwin JJ, Shoichet BK. Directory of Useful Decoys, Enhanced (DUD-E): Better Ligands and Decoys for Better Benchmarking. *J Med Chem*. 5 jul 2012 [citado 10 out 2023];55(14):6582-94. DOI: 10.1021/jm300687e.
21. SigmaPlot Trial Version 15.0 (2023) Systat Software, Inc., San Jose, California.
22. Irwin JJ, et al. ZINC20—A Free Ultralarge-Scale Chemical Database for Ligand Discovery. *J. of Chem. Info. and Model*. 2020 Oct [citado 19 out 2023];60(12):6065–73. DOI: 10.1021/acs.jcim.0c00675.
23. RCSB PDB. 3IUB: Crystal structure of pantothenate synthetase from *Mycobacterium tuberculosis* in complex with 5-Methoxy-N-(5-methylpyridin-2-ylsulfonyl) -1H-indole-2-carboxamide; [citado 5 out 2023]. Disponível em: <https://www.rcsb.org/structure/3IUB>.
24. Allen WJ, et al. DOCK 6: impact of new features and current docking performance. *J Comput Chem*. 27 abr 2015 [citado 19 out 2023];36(15):1132-56. DOI: 10.1002/jcc.23905.
25. FRED 4.2.1.0: OpenEye, Cadence Molecular Sciences, Santa Fe, NM. <http://www.eyesopen.com>.
26. Pettersen EF, et al. UCSF Chimera: A visualization system for exploratory research and analysis. *J Comput Chem*. 2004 [citado 19 out 2023];25(13):1605-12. DOI: 10.1002/jcc.20084.
27. Richards, F.M. Areas, volumes, packing and protein structure. *Ann. Rev. Biophys. Bioeng*. 6, [cited 2023 Dec 15]; 151-176 (1977). DOI: 10.1146/annurev.bb.06.060177.001055
28. OEDOCKING 4.2.1.1. OpenEye, Cadence Molecular Sciences, Inc., Santa Fe, NM. <http://www.eyesopen.com>.
29. Batista VS, et al. Construção, Otimização E Ancoragem Molecular De Substâncias Bioativas Em Biomacromoléculas: Um Tutorial Prático. *Quím Nov*. 2021 Jan 1; DOI: 10.21577/0100-4042.20170821.
30. Adasme MF, et al. PLIP 2021: expanding the scope of the protein–ligand interaction profiler to DNA and RNA. *Nucleic Acids Res*. 5 maio 2021 [citado 19 out 2023]; 49 (W 1) : W 5 3 0 — W 5 3 4 . D O I : 10.1093/nar/gkab294.
31. Pires DE, Blundell TL, Ascher DB. PkCSM: predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. *J Med Chem*. 22 abr 2015 [citado 1 nov 2023];58(9):4066-72. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.5b00104.
32. Langer T, Hoffmann RD. Pharmacophores and Pharmacophore Searches. John Wiley & Sons; [cited 2023 Dec 15]p.395,2006.
33. Kothandan, G, et al. A combined 3D QSAR and pharmacophore-based virtual screening for the identification of potent p38 MAP kinase inhibitors: an in silico approach. *Med Chem Res* 22, [cited 2023 Dec 15] 1773–1787 (2013). DOI:10.1007/s00044-012-0179-7.
34. Martinez EZ, Louzada Neto F, Pereira B de B. A curva ROC para testes diagnósticos. *Cadernos de Saúde Coletiva*. 2003; [cited 2023 dez. 15]11(1): 7-31.
35. Kelley, BP., et al. POSIT: Flexible Shape-Guided Docking For Pose Prediction. *J. Chem. Inf. Model.*, 2015, 55, [cited 2023 dez. 15] 1771-1780. DOI: 10.1021/acs.jcim.5b00142.
36. McGann, M. FRED and HYBRID docking performance on standardized datasets. *J. Comput. Aided Mol. Des.*, 2012, 26, [cited 2023 dez. 15] 897-906. DOI: 10.1007/s10822-012-9584-8
37. Marvin was used for drawing, displaying and characterizing chemical structures, substructures and

reactions, Marvin v23.12. 2023 ChemAxon (<http://www.chemaxon.com>).

38. Amaroju S, et al. Identification and development of pyrazolo[4,3-c] pyridine carboxamides as Mycobacterium tuberculosis pantothenate synthetase inhibitors. *New J Chem*. 2017 [citado 1 nov 2023];41(1):347-57. DOI: 10.1039/c6nj02671k.

39. Hung AW, et al. Optimization of Inhibitors of Mycobacterium tuberculosis Pantothenate Synthetase Based on Group Efficiency Analysis. *ChemMedChem*. 2015 Oct 21 [cited 2023 Nov 1];11(1):38–42. DOI: 10.1002/cmdc.201500414.

40. Salgado MDJC, et al. Análise Farmacocinética e Toxicológica in silico para Derivados de Flavonas. *Open Sci. RSC X*. 2023 Mar 1 [cited 2023 Jun 15];10(1):175–91. DOI: 10.37885/230211898.

41. Kauffmann K, et al. Alternative Type of Ames Test Allows for Dynamic Mutagenicity Detection by Online Monitoring of Respiration Activity. *Sci of The Total Environ*. 2020 Jul 1; 726:137862–2. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.137862.
