TBC1D1 COMO ALVO FARMACOLÓGICO EMERGENTE NA RESISTÊNCIA À INSULINA: PROSPECÇÃO IN SILICO DE MOLÉCULAS SINTÉTICAS PARA MODULAÇÃO DO EIXO RAB–GLUT4

Guilherme Augusto Arenso Barbosa[1] (PIC/CNPq/FA/UEM), João Marcelo de Castro e Sousa[2], Guilherme Barroso Langoni de Freitas[1] (Orientador). E-mail: ra134972@uem.br.

[1]Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, Paraná, Brasil.
[2]Universidade Federal do Piauí (UFPI, Teresina, Piauí, Brasil.

Grande Área do CNPq: Ciências da Saúde.
Área: Farmácia. Subárea: Química Farmacêutica Medicinal.
Palavras-chave: Tráfego Vesicular; Desenvolvimento de Fármacos, Screening Virtual.

RESUMO

A TBC1D1 é uma proteína Rab-GAP que regula a disponibilidade de Rabs ativas envolvidas no tráfego de GLUT4, constituindo um alvo ainda pouco explorado para intervenção farmacológica na resistência à insulina. Este estudo investigou moléculas sintéticas do ZINC com potencial para modular TBC1D1 e, consequentemente, interferir no eixo Rab–GLUT4. Após preparação do receptor TBC1D1 (PDB 3QYE), aproximadamente 338 mil moléculas foram submetidas a triagem virtual hierárquica no AutoDock Vina, com screening inicial em EXH8 e refinamento em EXH32. O conjunto refinado reuniu 11.221 ligantes válidos, com energias entre −6,263 e −5,091 kcal/mol. A seleção subsequente integrou desempenho energético, agrupamento por esqueletos de Murcko, análise estrutura–energia, diversidade de substituintes, *drug-likeness* e alertas estruturais, permitindo priorizar quimiotipos recorrentes e candidatos para inspeção de poses e etapas posteriores. Os resultados sustentam a modulação de TBC1D1 como estratégia mecanística inovadora para alterar a regulação de Rab e favorecer a dinâmica do tráfego de GLUT4, estabelecendo uma base racional para o desenvolvimento de uma potencial nova abordagem farmacológica para resistência à insulina.

INTRODUÇÃO

O diabetes mellitus tipo 2 constitui um dos principais problemas metabólicos da atualidade, com elevada prevalência e impacto crescente sobre a morbimortalidade. Embora o arsenal terapêutico para controle glicêmico tenha avançado, permanecem limitadas as estratégias capazes de atuar diretamente sobre os mecanismos celulares da resistência à insulina, reforçando a busca por novos alvos moleculares

(INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2025). Nesse contexto, a redução da resposta à insulina em tecidos metabolicamente responsivos compromete a captação de glicose, especialmente no músculo esquelético, principal responsável pela utilização periférica desse substrato.

A translocação de GLUT4 para a membrana plasmática depende de pequenas GTPases Rab e de proteínas Rab-GAP, entre elas TBC1D1 e TBC1D4. A TBC1D1 é particularmente relevante no músculo esquelético, onde integra sinais da insulina, contração muscular e AMPK, regulando a disponibilidade de Rabs ativas e o tráfego de vesículas contendo GLUT4 (CARTEE, 2015). Seu domínio RabGAP apresenta elementos estruturais críticos para essa regulação, sustentando sua investigação como alvo molecular (PARK et al., 2011). Assim, modular TBC1D1 representa uma estratégia mecanística ainda pouco explorada para interferir no eixo Rab–GLUT4 e potencialmente favorecer a captação periférica de glicose. Este trabalho teve como objetivo identificar, por triagem virtual e análises quimioinformáticas, moléculas sintéticas do ZINC com potencial de interação com uma cavidade estrutural da TBC1D1, priorizando candidatos para validação computacional e experimental posterior.

MATERIAIS E MÉTODOS

A estrutura do domínio RabGAP humano da TBC1D1 (PDB 3QYE, cadeia A) foi utilizada como receptor. As cavidades foram mapeadas pelo pyKVFinder (GUERRA et al., 2021), sendo selecionada a cavidade #1.1.9 (≈121,82 Å³), delimitada principalmente por Leu922, Gln925, Gln936, Phe970, Met973, Thr995, Ile998 e Phe999. Regiões próximas a Met930 e Leu1019 também foram consideradas (PARK et al., 2011). O grid foi centrado em x=26,4683, y=5,0275 e z=30,6806.

Moléculas *lead-like* do ZINC (TINGLE et al., 2023) foram filtradas, deduplicadas por SMILES e preparadas tridimensionalmente. Das 744.726 estruturas aprovadas, 347.048 permaneceram após deduplicação e 337.609 resultados válidos foram obtidos no AutoDock Vina com EXH8 (TROTT; OLSON, 2010).Em seguida, 19.000 ligantes foram reavaliados em EXH32: os 15.000 melhores do EXH8 e 4.000 controles estratificados em diferentes regiões do restante do ranking, permitindo testar possíveis mudanças relevantes de posição sob busca conformacional mais extensa. A curva energia–rank do EXH32 delimitou 11.221 moléculas para análise estrutura–energia e agrupamento por esqueletos de Bemis–Murcko.

A priorização seguiu curadoria *energy-first*, preservando a energia EXH32 como critério primário e utilizando recorrência familiar, coerência SAR, propriedades físico-químicas, alertas estruturais/toxicológicos e rastreabilidade como filtros de coerência e desempate. Dez candidatos foram submetidos a *redocking* no Molegro Virtual Docker, análise 2D no BIOVIA Discovery Studio Visualizer e predição farmacocinética/ADMET pelos servidores SwissADME e pkCSM.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise estrutural da TBC1D1 identificou uma cavidade interiorizada, mais profunda e volumosa que regiões superficiais próximas ao sítio catalítico e a Met930/Leu1019. Sua posição em relação a áreas funcionalmente relevantes da proteína favorece a acomodação de pequenas moléculas e sustenta sua investigação como potencial sítio modulador da atividade RabGAP (Figura 1).
O refinamento EXH32 delimitou 11.221 moléculas para análise estrutura–energia, com energias entre -6,263 e -5,091 kcal/mol. A estreita distribuição dos escores reforçou a necessidade de seleção multiparamétrica. No DataWarrior, a relação entre ranking e cLogP, doadores/aceptores de hidrogênio e ligações rotacionáveis permitiu caracterizar o espaço físico-químico dos ligantes prioritários (Figura 2).

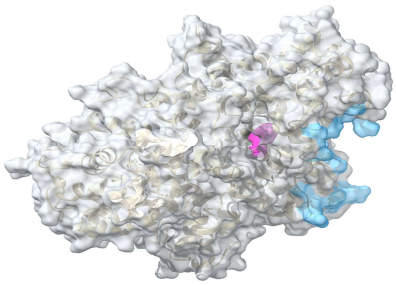


Figura 1. Domínio RabGAP da TBC1D1, com destaque para a cavidade selecionada para docking (rosa) e regiões funcionais associadas à interação com Rab (azul).

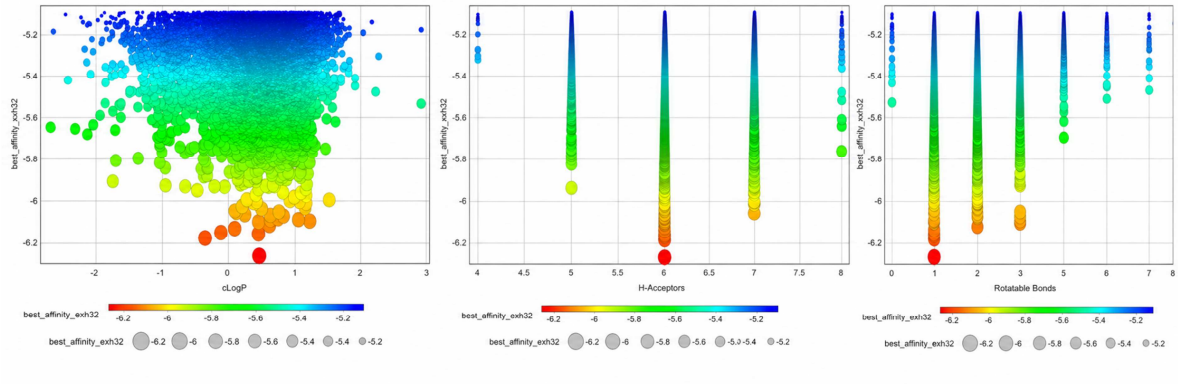


Figura 2. Relação entre propriedades físico-químicas e ranking EXH32 dos ligantes.

Entre os candidatos, 11.185 foram PAINS-free e 10.783 apresentaram plausibilidade de aquisição. O agrupamento por Bemis–Murcko revelou 3.063 famílias químicas; 178 continham ≥10 membros e 43 foram priorizadas. A integração entre energia, recorrência familiar, coerência SAR, propriedades físico-químicas, alertas estruturais e rastreabilidade levou à seleção de dez candidatos. ZINCl900000E05vy destacou-se

pelo desempenho integrado, com EXH32 de -6,098 kcal/mol, rank 8 e escore familiar de 76,039. Os dez compostos foram submetidos a redocking no Molegro Virtual Docker, inspeção das poses e análise 2D das interações no BIOVIA Discovery Studio Visualizer. A predição farmacocinética/ADMET complementou a priorização, incluindo parâmetros de absorção, distribuição, metabolismo, interação com CYPs e possível distribuição ao SNC. Em conjunto, os resultados identificam quimiotipos sintéticos capazes de ocupar uma cavidade estratégica da TBC1D1 e sustentam uma proposta mecanística inovadora de modulação da atividade RabGAP, com potencial para alterar a disponibilidade de Rab ativa e o tráfego de GLUT4 na resistência à insulina.

CONCLUSÕES

A abordagem *in silico* permitiu explorar, em larga escala, um alvo ainda pouco investigado na resistência à insulina, identificando uma cavidade estruturalmente acessível na TBC1D1 e reduzindo uma biblioteca de centenas de milhares de moléculas a dez quimiotipos sintéticos prioritários. A convergência entre docking hierárquico, análise SAR, famílias estruturais, propriedades físico-químicas, alertas preditivos, redocking independente e perfil farmacocinético reforçou a consistência dos candidatos selecionados. Esses resultados sustentam a modulação de TBC1D1 como estratégia mecanística inovadora para interferir no eixo Rab–GLUT4, com potencial para originar uma nova abordagem farmacológica voltada à melhora da captação periférica de glicose. O conjunto priorizado apresenta base racional suficiente para avançar às etapas de dinâmica molecular e validação experimental, nas quais poderão ser confirmados os efeitos sobre a atividade RabGAP, o tráfego de GLUT4 e o potencial terapêutico dos candidatos.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao INCT de Oncologia e Terapias Gênicas pelo financiamento do equipamento utilizado e parceria científica e à Universidade Estadual de Maringá pela disponibilização do espaço físico.

REFERÊNCIAS

CARTEE, G. D. **Roles of TBC1D1 and TBC1D4 in insulin- and exercise-stimulated glucose transport of skeletal muscle**. Diabetologia, v. 58, n. 1, p. 19-30, 2015. DOI: 10.1007/s00125-014-3395-5.

GUERRA, J. V. S. et al. **pyKVFinder: an efficient and integrable Python package for biomolecular cavity detection and characterization in data science**. BMC Bioinformatics, v. 22, art. 607, 2021. DOI: 10.1186/s12859-021-04519-4.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **IDF Diabetes Atlas**. 11. ed. Brussels: International Diabetes Federation, 2025.

PARK, S. Y. et al. **Crystal structures of human TBC1D1 and TBC1D4 (AS160) RabGTPase-activating protein domains reveal critical elements for GLUT4 translocation**. Journal of Biological Chemistry, v. 286, n. 20, p. 18130-18138, 2011. DOI: 10.1074/jbc.M110.217323.

TINGLE, B. I. et al. **ZINC-22: a free multi-billion-scale database of tangible compounds for ligand discovery. Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 63, n. 4, p. 1166-1176, 2023. DOI: 10.1021/acs.jcim.2c01253.

TROTT, O.; OLSON, A. J. **AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading**. Journal of Computational Chemistry, v. 31, n. 2, p. 455-461, 2010. DOI: 10.1002/jcc.21334.