MODULAÇÃO DE TBC1D4 NO EIXO RAB–GLUT4: TRIAGEM VIRTUAL DE UMA NOVA ESTRATÉGIA PARA RESISTÊNCIA À INSULINA

Maria Clara Panont dos Santos (PIC/UEM)[1], Aline Lisboa Coutes[1], Roberta Parise[1], João Marcelo de Castro e Sousa[2], Guilherme Barroso Langoni de Freitas[1] (Orientador). E-mail: gblfreitas@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: resistência à insulina; docking molecular; in silico.

RESUMO
A resistência à insulina compromete a translocação de GLUT4 e a captação periférica de glicose, processo regulado por Rabs e pela atividade Rab-GAP da TBC1D4/AS160, tornando essa proteína um alvo farmacológico ainda pouco explorado. Este estudo investigou uma estratégia de modulação não catalítica da TBC1D4 por triagem virtual de moléculas sintéticas do ZINC. O domínio Rab-GAP foi reconstruído por modelagem comparativa e analisado quanto a cavidades acessíveis. Das 347.048 estruturas únicas, 337.895 foram submetidas ao docking com EXH8 e 143.998 seguiram para refinamento em EXH32. A priorização integrou energia de docking, propriedades físico-químicas e recorrência estrutural, identificando 12.395 esqueletos de Murcko e permitindo selecionar 20 candidatos. Esses compostos foram submetidos a docking refinado no Molegro Virtual Docker e à predição farmacocinética/ADMET. A estratégia revelou quimiotipos estruturalmente diversos e sustenta a TBC1D4 como alvo emergente para modulação do eixo Rab–GLUT4, fornecendo candidatos para validação pré-clínica.

INTRODUÇÃO
O diabetes mellitus tipo 2 (DM2) é um importante problema de saúde global, com cerca de 589 milhões de adultos afetados em 2024 e projeção de crescimento nas próximas décadas (GENITSARIDI et al., 2026). A resistência à insulina constitui um de seus principais mecanismos fisiopatológicos e compromete a captação e o metabolismo da glicose em tecidos como músculo esquelético, tecido adiposo e fígado (ACCILI; DENG; LIU, 2025).
No músculo e no tecido adiposo, a insulina estimula a translocação de GLUT4 para a membrana plasmática. Esse processo depende da atividade de pequenas GTPases Rab, reguladas, entre outros fatores, pela TBC1D4/AS160, uma proteína Rab-GAP que conecta a sinalização insulínica ao tráfego de vesículas contendo GLUT4. Alterações nesse eixo podem contribuir para a redução da captação periférica de glicose, tornando a TBC1D4 um alvo molecular relevante e ainda pouco explorado farmacologicamente.
O domínio Rab-GAP da TBC1D4 contém os resíduos catalíticos Arg973 e Gln1010, mas regiões não catalíticas envolvidas no reconhecimento de Rab também podem

constituir sítios acessíveis à modulação por pequenas moléculas (PARK et al., 2011). A exploração dessas cavidades representa uma estratégia mecanística inovadora para interferir no eixo TBC1D4–Rab–GLUT4 sem depender da ocupação direta do centro catalítico. Assim, este estudo teve como objetivo caracterizar estruturalmente a TBC1D4/AS160 e identificar, por triagem virtual de uma quimioteca sintética, moléculas com potencial de interação com uma cavidade não catalítica da proteína.

MATERIAIS E MÉTODOS

A estrutura cristalográfica do domínio Rab-GAP humano da TBC1D4 (PDB 3QYB) foi obtida do Protein Data Bank. A hélice C-terminal α16′ ausente, correspondente aos resíduos 1170–1184, foi reconstruída por modelagem comparativa no SWISS-MODEL utilizando a TBC1D1 (PDB 3QYE, cadeia A) como molde. O modelo foi preparado no Molegro Virtual Docker (MVD) e analisado quanto às cavidades próximas ao centro catalítico e às regiões de interação com Rab. Entre cinco cavidades identificadas, priorizou-se uma região não catalítica, interiorizada, com volume próximo a 150 Å³ e próxima à interface funcional com Rab. O *grid* de docking foi centrado em x=26,4683, y=5,0275 e z=30,6806, com dimensões de 22 × 22 × 22 Å.

A biblioteca sintética do ZINC foi filtrada por massa molecular ≤500 Da, cLogP 0,5–3,7, TPSA ≤90 Å², até cinco doadores, dez aceptores de hidrogênio e dez ligações rotacionáveis. Após deduplicação e preparação tridimensional, os ligantes foram convertidos para PDBQT e submetidos ao AutoDock Vina/PyRx, inicialmente com EXH8 e, para o conjunto priorizado, com EXH32.

Os compostos refinados foram avaliados no DataWarrior quanto às propriedades físico-químicas, relação estrutura–energia e diversidade química, com agrupamento por esqueletos de Murcko. A seleção utilizou score integrado, combinando energia de docking, coerência SAR, recorrência e representatividade das famílias estruturais e perfil físico-químico. Vinte candidatos foram selecionados para redocking independente no MVD, seguido da inspeção das poses e interações proteína–ligante no BIOVIA Discovery Studio Visualizer. Por fim, os 20 ligantes foram avaliados quanto ao perfil farmacocinético e ADMET pelas plataformas SwissADME e ADMETlab 3.0, complementando a priorização para estudos pré-clínicos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A modelagem comparativa reconstruiu a região ausente da TBC1D4 com base na TBC1D1, considerando a conservação dos domínios Rab-GAP e a maior resolução de 3QYE (2,2 Å) frente à 3QYB (3,5 Å) (PARK et al., 2011). Entre cinco cavidades, foi selecionada uma região não catalítica próxima à interface com Rab, com 147,97 Å³ e 524,8 Å², como potencial sítio de modulação.

Após filtragem e deduplicação, foram obtidas 347.048 moléculas únicas; 337.880 apresentaram resultados válidos em EXH8, com apenas 15 falhas. A análise energia–rank definiu 143.998 ligantes para EXH32, concluído sem falhas. O refinamento concentrou-se, portanto, em 42,6% do conjunto, evitando EXH32 em

193.882 moléculas (57,4%) e reduzindo o custo computacional (TROTT; OLSON, 2010).

Após controle de qualidade, 143.986 moléculas foram submetidas à análise de relação estrutura–energia no DataWarrior, relacionando o desempenho em EXH32 a descritores como cLogP, doadores e aceptores de hidrogênio e ligações rotacionáveis (Figura 1). O agrupamento estrutural identificou 12.395 esqueletos de Murcko, evidenciando ampla diversidade química. A integração entre energia, recorrência estrutural, SAR e propriedades físico-químicas delimitou 81 candidatos prioritários; os 20 primeiros apresentaram scores integrados entre 93,36 e 80,70 e energias de –8,363 a –7,593 kcal/mol, demonstrando que a seleção final não dependeu exclusivamente do ranking energético.

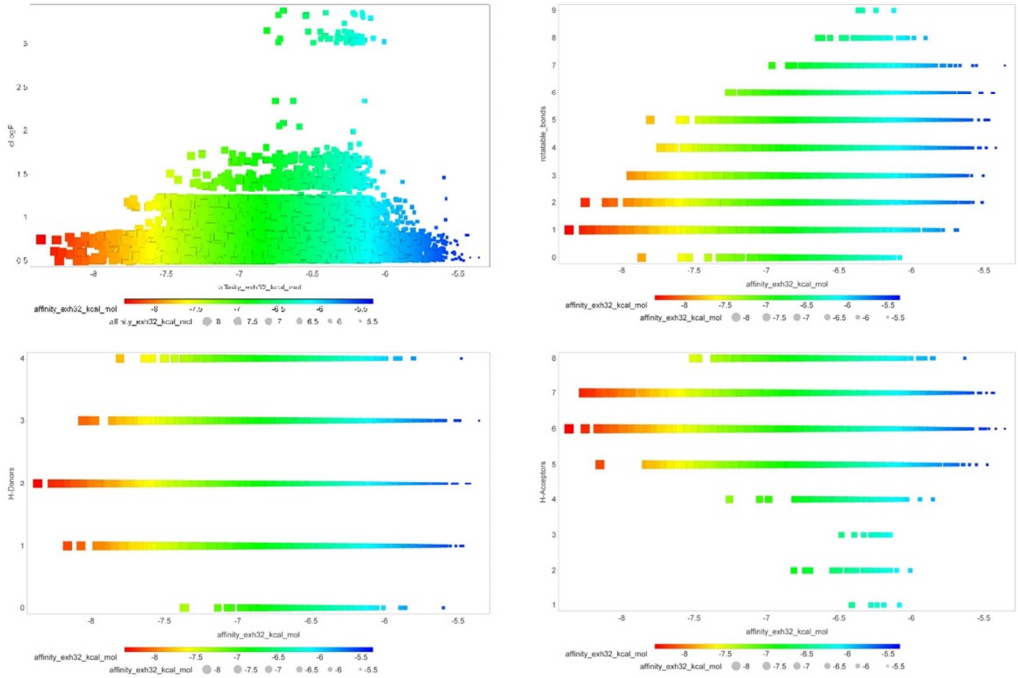


Figura 1 - Relação propriedade–energia dos ligantes de TBC1D4 quanto as características de LogP, número de ligações rotáveis, doadores de ligação de H e aceptores de H.

No redocking pelo Molegro Virtual Docker, ZINCl900000N2Skr apresentou o MolDock Score mais favorável (–118,517), apesar de ocupar a 19ª posição no score integrado e o rank 208 no EXH32. Essa divergência entre funções de pontuação reforça a robustez da seleção por critérios independentes. As poses e interações proteína–ligante foram analisadas para os candidatos prioritários (Figura 2).

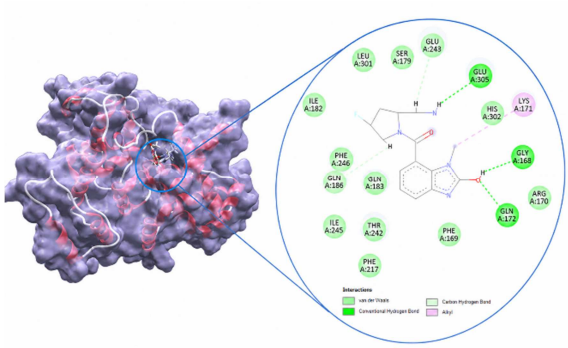


Figura 2 – Pose de docking e principais interações do ligante prioritário com a cavidade selecionada da TBC1D4.

CONCLUSÕES

O screening identificou moléculas sintéticas inéditas para TBC1D4, com perfis energéticos, estruturais e farmacocinéticos favoráveis. Os achados reforçam a TBC1D4 como alvo emergente no eixo Rab–GLUT4 e sustentam uma estratégia mecanística inovadora, com potencial para originar novos moduladores da captação periférica de glicose. A integração entre triagem de larga escala, SAR, famílias estruturais, redocking e ADMET forneceu candidatos prioritários para dinâmica molecular e validação pré-clínica, aproximando o estudo de uma possível aplicação farmacológica na resistência à insulina e no DM2.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Maringá (UEM), pelo apoio institucional; ao meu orientador, pelo acompanhamento e orientação durante o desenvolvimento deste projeto; e aos colegas do laboratório, pela colaboração, apoio e troca de conhecimentos ao longo da pesquisa. Ao INCT de Oncologia e Terapias Gênicas pelo financiamento do equipamento utilizado.

REFERÊNCIAS

ACCILI, D.; DENG, Z.; LIU, Q. Insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 21, p. 413–426, 2025. DOI: 10.1038/s41574-025-01114-y.

BEMIS, G. W.; MURCKO, M. A. The properties of known drugs. 1. Molecular frameworks. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 39, n. 15, p. 2887–2893, 1996. DOI: 10.1021/jm9602928.

GENITSARIDI, I. et al. 11th edition of the IDF Diabetes Atlas: global, regional, and national diabetes prevalence estimates for 2024 and projections for 2050. **The Lancet Diabetes & Endocrinology**, v. 14, n. 2, p. 149–156, 2026. DOI: 10.1016/S2213-8587(25)00299-2.

IRWIN, J. J. et al. ZINC20 – A free ultra large-scale chemical database for ligand discovery. *Journal of Chemical Information and Modeling*, v. 60, n. 12, p. 6065–6073, 2020. DOI: 10.1021/acs.jcim.0c00675.

PARK, S.-Y.; JIN, W.; WOO, J. R.; SHOELSON, S. E. Crystal structures of human TBC1D1 and TBC1D4 (AS160) RabGTPase-activating protein (RabGAP) 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.

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.