



TRIAGEM VIRTUAL DE INIBIDORES DE DHODH EM *MYCOBACTERIUM LEPRAE*: DESCOBERTA DE NOVOS COMPOSTOS PARA O TRATAMENTO DA HANSENÍASE

OLIVEIRA, M. V. A.; SILVA, G. A.; OLIVIER, D. S.

RESUMO

As doenças tropicais negligenciadas (DTNs), como a hanseníase, continuam a ser um grave desafio de saúde pública, principalmente em regiões tropicais e subtropicais. A hanseníase é causada pela *Mycobacterium leprae* e, se não tratada, pode levar a sequelas permanentes devido ao comprometimento dos nervos periféricos. Embora o diagnóstico clínico e o tratamento com poliquimioterapia sejam relativamente acessíveis, a hanseníase persiste em países como o Brasil, onde o Tocantins se destaca por suas altas taxas de incidência. O tratamento atual, que combina rifampicina, dapsona e clofazimina, tem sido eficaz na interrupção da transmissão e na cura da doença. No entanto, a resistência aos medicamentos e a necessidade de novas terapias impulsionam a pesquisa por alternativas. Nesse contexto, a enzima diidroorotato desidrogenase (DHODH) emerge como um alvo terapêutico promissor. A DHODH é essencial para a síntese de novo de pirimidinas, um processo crítico para a sobrevivência do *Mycobacterium leprae*. Neste projeto, utilizamos ferramentas biofísica computacional como o *Virtual Screening* e Dinâmica Molecular para identificar e avaliar compostos que possam inibir seletivamente a DHODH, interrompendo a replicação bacteriana. Essas abordagens têm permitido a triagem de milhares de moléculas em potencial, seguidas pela análise da estabilidade e interação dos complexos proteína-ligante ao longo do tempo. Os resultados indicam inibidores promissores com potencial para serem desenvolvidos em novos tratamentos para a hanseníase, oferecendo uma nova esperança no combate à doença.

Palavras-chave: Hanseníase, DHODH, *Virtual Screening*, Descobrimto de drogas.

I. INTRODUÇÃO

As Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs), incluindo hanseníase, doença de Chagas e leishmaniose, afetam principalmente populações pobres em regiões tropicais. Causadas por patógenos como bactérias e parasitas, são transmitidas por vetores, água contaminada ou contato direto [1]. A hanseníase, uma das DTNs classificadas pela OMS, é uma doença crônica causada pelo *Mycobacterium leprae*, que afeta a pele e os nervos



periféricos. A transmissão ocorre via gotículas respiratórias em contato próximo e prolongado com indivíduos não tratados. Se não tratada, pode causar deformidades e exclusão social. Clinicamente, é dividida em quatro formas: Indeterminada, Tuberculóide (paucibacilares), Dimorfa e Virchowiana (multibacilares) [1, 2, 3].

O Brasil é o segundo país com maior número de casos de hanseníase, com mais de 155 mil novos diagnósticos entre 2016 e 2020. Em 2021, o Tocantins teve a segunda maior incidência no país, com destaque para Araguaína, que registrou 83 casos em 2022. Apesar da redução de 15%, o estado permanece hiperendêmico, exigindo medidas de controle e tratamento [4, 5]. No mesmo ano, o município de Araguaína registrou mais 98 diagnósticos e em 2022 esse número caiu para 83, demonstrando uma diminuição em mais de 15% dos casos. Mesmo com essa pequena diminuição, o Tocantins ainda se encontra como um estado hiperendêmico e medidas para a prevenção e tratamento, faz-se necessário para a diminuição nos números de pessoas acometidas [6, 7]

O tratamento da hanseníase utiliza poliquimioterapia (PQT), combinando rifampicina, dapsona e clofazimina. Casos paucibacilares requerem seis meses de tratamento, enquanto os multibacilares necessitam de 12 meses. Reações adversas, como inflamação nervosa (tipo 1) ou resposta imunológica (tipo 2), são tratadas com corticosteróides e talidomida [8].

Embora o diagnóstico e tratamento estejam disponíveis, a hanseníase ainda representa um desafio devido ao seu impacto incapacitante. A busca por novos tratamentos para hanseníase tem focado no desenvolvimento de inibidores seletivos da enzima DHODH (diidroorotato desidrogenase) do *Mycobacterium leprae*, um alvo promissor para combater a doença. A DHODH desempenha um papel essencial na biossíntese de pirimidinas, necessárias para a replicação do DNA e RNA do patógeno, tornando-a um alvo atrativo para o desenvolvimento de novos fármacos [9, 10].



Uma abordagem eficaz é o reposicionamento de drogas, que utiliza compostos já conhecidos para novas indicações, acelerando o desenvolvimento e reduzindo custos. Esse método é especialmente útil no caso de hanseníase, onde novos inibidores podem ser identificados entre medicamentos já aprovados para outras doenças. O *Virtual Screening* tem sido amplamente utilizado para identificar potenciais inibidores da DHODH. Essa técnica computacional permite a triagem de vastas bibliotecas de compostos, avaliando a afinidade e a energia de ligação das moléculas com a enzima. Moléculas promissoras, com alta afinidade pelo sítio ativo da DHODH, são então selecionadas para estudos mais aprofundados [11, 12].

Após a triagem inicial, a Dinâmica Molecular é aplicada para simular as interações entre a DHODH e os compostos candidatos ao longo do tempo [13]. Essa técnica avalia a estabilidade do complexo proteína-ligante, as mudanças conformacionais e a energia de interação, refinando os resultados do screening virtual e fornecendo uma visão detalhada das interações moleculares. Essas estratégias integradas estão sendo fundamentais na identificação de novos inibidores da DHODH, oferecendo alternativas terapêuticas promissoras para o tratamento da hanseníase [13, 14, 15].

II. BASE TEÓRICA

A enzima diidroorotato desidrogenase (DHODH) de *Mycobacterium leprae* desempenha um papel crucial na biossíntese de pirimidinas, essenciais para a replicação do DNA e RNA do patógeno, sendo um alvo promissor no desenvolvimento de novos tratamentos para hanseníase. O reposicionamento de drogas tem se mostrado uma estratégia eficiente, utilizando compostos conhecidos para novas indicações e acelerando o processo de desenvolvimento de fármacos.

O uso de *Virtual Screening* permite a triagem de grandes bibliotecas de compostos, avaliando a afinidade de cada molécula ao sítio ativo da enzima alvo, enquanto a Dinâmica Molecular auxilia no refinamento dos complexos proteína-ligante,



proporcionando uma análise detalhada das interações moleculares e das variações conformacionais que ocorrem ao longo do tempo. Essas ferramentas têm se tornado essenciais na identificação de novos inibidores seletivos para a DHODH, auxiliando no desenvolvimento de tratamentos eficazes para a hanseníase.

III. OBJETIVOS

Neste projeto, as ferramentas de biologia estrutural foram empregadas na busca por moléculas que tenham potencial de inibição da enzima diidroorotato desidrogenase (DHODH) - quinone de *Mycobacterium leprae*.

IV. METODOLOGIA

Modelo Estrutural:

A sequência primária da enzima DHODH foi obtida do banco de dados Uniprot - P46727. O modelo representativo foi construído com base na estrutura da DHODH *Mycobacterium tuberculosis* - PDB: 4XQ6.

Triagem Virtual (Virtual Screening):

Para selecionar moléculas com potencial de inibição da DHODH, foi aplicada a técnica de *Virtual Screening*. Utilizando o programa *AutoDock Vina 1.1.12* e o *AutoDockTools*, foram preparadas as proteínas, com adição de cargas parciais e hidrogênios polares. A área de busca foi definida no sítio catalítico da enzima, e o banco de compostos *DrugBank* foi utilizado para a triagem.

A triagem ocorreu em duas etapas: inicialmente, 100 moléculas foram selecionadas com base na afinidade receptor-ligante. Em sequência, essas moléculas passaram por uma fase de replicação das simulações para identificar aquelas com maior taxa de repetição dos ligantes no sítio ativo da DHODH.

V. RESULTADOS E DISCUSSÃO



Com o modelo estrutural representativo definido, foi possível realizar a triagem virtual da biblioteca de compostos, avaliando quais moléculas tinham maior afinidade com o sítio ativo da DHODH. Nessa etapa, as interações entre os compostos e a enzima foram analisadas utilizando algoritmos do *docking* molecular, que calcularam a energia de ligação e identificaram os compostos com maior potencial de inibição da enzima. A partir desses resultados, os compostos mais promissores foram selecionados para testes posteriores, conforme a Tabela 1.

Tabela 1: Moléculas encontradas dentre as 100 comparadas, com os melhores valores de energias.

ID drugbank	Grupo	Nº de átomos	Porcentagem (%)	Energia(kcal/mol)
DB16292	Investigativo	28	100	-8,1
DB07435	Experimental	23	82	-7,5
DB15644	Investigativo	23	96	-7,5
DB13246	Aprovado	23	84	-7,4
DB12477	Investigativo	30	85	-7,4

Como resultados, obteve-se as moléculas variando entre -8,1 à -7,4 kcal/mol, indicando uma boa afinidade de ligação. A taxa de sucesso reflete a capacidade dos compostos de alcançar a menor energia possível com a mesma conformação, em um conjunto de 100 simulações. A menor taxa observada foi de 85%, enquanto a maior alcançou 100%. As moléculas possuem de 23 a 30 átomos pesados, e estão classificadas em diferentes fases de desenvolvimento, segundo o repositório *Drugbank*, como investigativas, experimentais, e drogas aprovadas para o tratamento de outras doenças.

VI. CONCLUSÃO

A estratégia de desenvolver inibidores seletivos da DHODH para tratar a hanseníase baseia-se em bloquear a produção de pirimidinas, essenciais para a replicação do DNA bacteriano. Ao interromper esse processo, a bactéria não pode crescer



adequadamente, enfraquecendo o patógeno e facilitando o combate pelo sistema imunológico do hospedeiro. Com isso, faz-se necessário uma varredura completa no sistema virtual screening e a realização do docking molecular a fim de buscar encontrar moléculas que tenham capacidade de inibir o DHODH - quinona.

VII. REFERÊNCIAS

- [1] LUNA, Expedito José de Albuquerque et al. O desenvolvimento de vacinas contra as doenças tropicais negligenciadas. *Cadernos de saúde pública*, v. 36, p. e00215720, 2020.
- [2] OMS (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE). *Estratégia Global para a Hanseníase 2021-2030: Rumo a zero hanseníase*. Nova Deli: OMS, 2021.
- [3] VELÔSO, Dilbert Silva et al. Perfil clínico epidemiológico da hanseníase: uma revisão integrativa. 2018.
- [4] Hanseníase/Lepra: Gestão das reações e prevenção das incapacidades. *Orientações técnicas*. Nova Delhi: Organização Mundial da Saúde, Escritório Regional para o Sudeste Asiático; 2020.
- [5] BANDEIRA, Thaís Fonseca. Hanseníase: Determinantes clínicos e epidemiológicos para ocorrência de lesão nervosa, reação e incapacidade física em pacientes diagnosticados no Norte do Tocantins. 2022.
- [6] MONTEIRO, Lorena Dias et al. Incapacidades físicas em pessoas acometidas pela hanseníase no período pós-alta da poliquimioterapia em um município no Norte do Brasil. *Cadernos de saúde pública*, v. 29, p. 909-920, 2013.
- [7] Santos Andrade, D., & Alves Propércio Junior, E. (2023). Análise do Perfil Epidemiológico dos pacientes acometidos por Hanseníase em Araguaína-TO no período de 2015 a 2022 . *REVISTA CEREUS*, 15(1), 270-284. Recuperado de <http://www.ojs.unirg.edu.br/index.php/1/article/view/4100>.
- [8] KUNIN, C. M. Resistance to antimicrobial drugs—a worldwide calamity. *Annals of Internal Medicine*, v. 121, n. 8, p. 602-610, 1994.
- [9] Swinney, D. C. & Pollastri, M. P. Drug discovery strategies for neglected tropical diseases: Repurposing knowledge, mechanisms and therapeutics to increase discovery efficiency. *Neglected Trop. Dis. Drug Discov. Dev.* 1–13 (2019) doi:10.1002/9783527808656.ch1.
- [10] Winkler, D. A. Use of Artificial Intelligence and Machine Learning for Discovery of Drugs for Neglected Tropical Diseases. *Front. Chem.* 9, 1–15 (2021).
- [11] EVANS, D. R.; FIELD, M. S. The UMP synthase complex: a key enzyme in pyrimidine metabolism. *Biochemical Journal*, v. 477, n. 15, p. 2957-2973, 2020.
- [12] OLIVEIRA, C. M. et al. Advances in the design and development of dihydroorotate dehydrogenase (DHODH) inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 199, p. 112377, 2020.
- [13] CHENG, Y. et al. Discovery of potent and selective Mycobacterium tuberculosis dihydroorotate dehydrogenase inhibitors with antimycobacterial activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 63, n. 1, p. 542-553, 2020.



[14] KIM, M. et al. New developments in targeting Mycobacterium tuberculosis dihydroorotate dehydrogenase for the treatment of tuberculosis. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 29, n. 10, p. 1256-1260, 2019.

[15] Kim, Y., Makowska-Grzyska, M., Gu, M., Gorla, S.K., et. al. Centro de Genômica Estrutural de Doenças Infecciosas (CSGID). Estrutura cristalina da Inosina 5'-monofosfato Desidrogenase com uma exclusão interna do domínio CBS de Bacillus anthracis str. Ames complexados com o inibidor C91. worldwide protein data bank, 27 de setembro de 2013. Disponível em: <https://www.rcsb.org/pdb?id=pdb_00004my9>. Acesso em: 04 mar. 2024.

VIII. AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq – Brasil. O desenvolvimento desta pesquisa contou com Apoio à Pesquisa e a Pós-Graduação da PROPESQ/UFNT.