



PROSPECÇÃO DE AGENTES INIBIDORES PARA A ENZIMA DIHIDROFOLATO REDUTASE (DHFR) DE MYCOBACTERIUM LEPRAE

Souza, Laiane Angélica Costa¹; Olivier, Danilo da Silva²

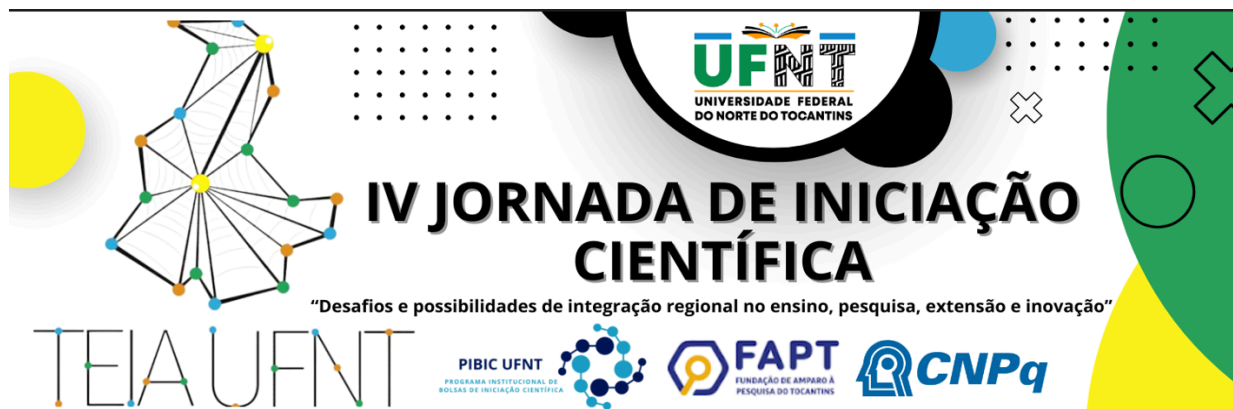
RESUMO

A hanseníase permanece como um desafio de saúde pública, sobretudo em regiões endêmicas como o Tocantins. Apesar da eficácia da poliquimioterapia, a resistência bacteriana e os efeitos adversos relacionados ao uso prolongado de dapsona e rifampicina reforçam a necessidade de novos agentes terapêuticos. Nesse contexto, a enzima diidrofolato redutase (DHFR) de *Mycobacterium leprae* surge como alvo estratégico para inibição farmacológica, devido ao seu papel essencial na síntese de purinas e replicação bacteriana. Este estudo teve como objetivo identificar potenciais inibidores da DHFR por meio da modelagem molecular, triagem virtual e *docking*. A modelagem tridimensional da enzima foi realizada por homologia, tendo como base estruturas cristalográficas de micobactérias geneticamente próximas, como *M. tuberculosis*. Em seguida, foram selecionados ligantes descritos na literatura e incluídos em bibliotecas virtuais, os quais foram submetidos a triagem virtual com 10.000 moléculas do banco *DrugBank*, avaliadas quanto à energia de ligação e estabilidade conformacional. As 10 moléculas com melhor desempenho apresentaram interações consistentes com o sítio ativo. Esses resultados sugerem potencial superior de afinidade e estabilidade em comparação aos inibidores previamente descritos.

Palavras-chave: Hanseníase. DHFR. *Mycobacterium leprae*. Docking molecular.

¹ Bolsista do Programa de Iniciação Científica (PIBIC/PIBITI). Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT). laiane.souza@ufnt.edu.br

² Professor Doutor da Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT). Danilo.olivier@ufnt.edu.br



Triagem virtual

I. INTRODUÇÃO

A hanseníase, doença infecciosa crônica causada pelo *Mycobacterium leprae*, permanece como um desafio de saúde pública, sobretudo em regiões hiperendêmicas como o estado do Tocantins. Apesar da adoção da poliquimioterapia padronizada pela Organização Mundial da Saúde (OMS), a emergência de resistência bacteriana e os efeitos adversos associados aos esquemas terapêuticos têm impulsionado a busca por novos alvos moleculares. Nesse cenário, a enzima diidrofolato redutase (DHFR) surge como um alvo estratégico, pois é essencial para a síntese de nucleotídeos e, conseqüentemente, para a sobrevivência do bacilo.

O presente trabalho insere-se na área de Ciências Exatas e da Terra, com ênfase em Biofísica Computacional, associando-se a áreas temáticas principais a modelagem molecular e a triagem virtual de compostos. Como área secundária, destaca-se a abrangência das Ciências da Saúde, sobretudo da Farmacologia e a Microbiologia aplicada. A utilização de ferramentas computacionais, como virtual screening e docking molecular, representa um recurso que possibilita a triagem de diversas moléculas com rapidez, exemplificando o potencial da bioinformática no desenvolvimento de terapias contra doenças negligenciadas.

II. BASE TEÓRICA

A DHFR foi escolhida como alvo terapêutico devido ao seu papel na síntese de purinas e timidilato, etapas fundamentais para a replicação do *Mycobacterium leprae* (WHITE et al., 2004). A hanseníase ainda representa um desafio clínico, com relatos de resistência bacteriana e efeitos adversos associados à poliquimioterapia



(SCOLLARD et al., 2006), o que reforça a necessidade de novas alternativas farmacológicas.

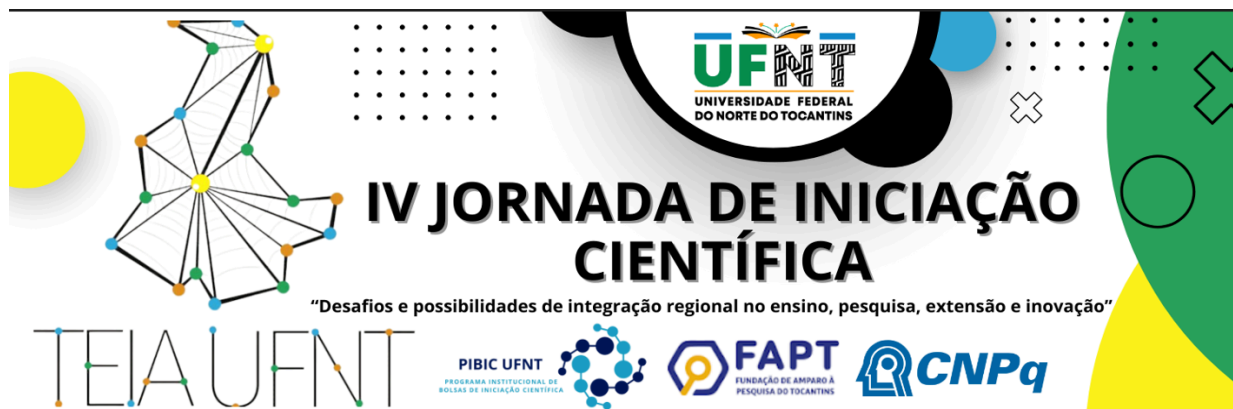
Estudos prévios demonstraram a atividade de inibidores como o epiroprim e K-130 contra cepas sensíveis e resistentes (DHOPLE, 2002), enquanto pesquisas de patentes evidenciaram o potencial das benzilpirimidinas como inibidores da DHFR (POE; RUYLE, 1981). No entanto, limitações de permeabilidade celular foram observadas (KANSY et al., 1992), indicando a importância da busca por compostos mais lipofílicos. Diante disso, este estudo empregou triagem virtual e docagem molecular para priorizar moléculas com maior afinidade e estabilidade frente à DHFR de *M. leprae*, permitindo a identificação de novos candidatos para o desenvolvimento de terapias mais eficazes contra a hanseníase.

III. OBJETIVOS

Objetivo geral: Identificar potenciais inibidores da enzima di-hidrofolato redutase (DHFR) de *Mycobacterium leprae* por meio de modelagem molecular, triagem virtual e análise computacional.

Objetivos específicos: Construir modelo tridimensional da DHFR por homologia; realizar triagem virtual com docagem molecular; analisar interações ligante-receptor com ferramentas de bioinformática e biofísica computacional; selecionar compostos com maior afinidade e potencial inibitório com base em critérios estruturais e energéticos.

IV. METODOLOGIA



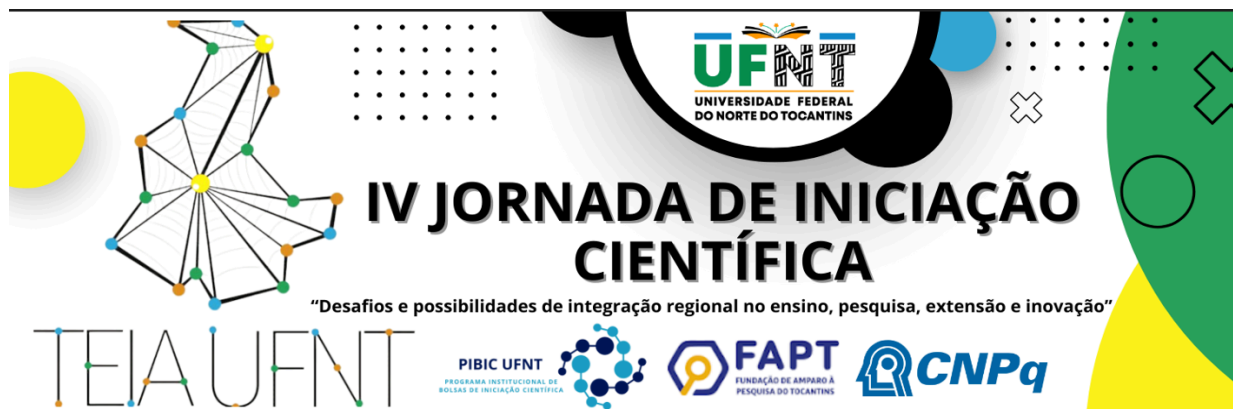
A pesquisa foi conduzida em etapas sequenciais. Inicialmente, realizou-se revisão bibliográfica nas bases Google Acadêmico, PubMed e Web of Science, com os descritores “DHFR inhibitors”, “Mycobacterium leprae” e “virtual screening”. Foram selecionados 16 artigos e uma patente, que embasaram a compreensão da função biológica da enzima e a escolha dos compostos.

Na ausência da estrutura cristalográfica da DHFR de *M. leprae*, procedeu-se à modelagem por homologia com base em proteínas de *M. tuberculosis*. Entre os modelos analisados no Swiss-Model, o 6DDW foi selecionado por apresentar melhor resolução (1,40 Å) e detalhamento do sítio ativo, a partir do qual foi construída a estrutura tridimensional da enzima.

A preparação estrutural incluiu otimização da proteína, remoção de moléculas de água e definição do sítio ativo no PyMOL. Ligantes de referência (K-130, epiroprim e aril-Z-alcoxi-5-benzilpirimidinas) e 20 compostos associados à DHFR de *M. tuberculosis* foram obtidos das bases *DrugBank* e *PubChem* e convertidos para o formato PDB para docagem inicial.

Na triagem virtual, 10.000 moléculas do DrugBank foram submetidas a simulações independentes de docking com a DHFR modelada, assegurando robustez estatística. As melhores candidatas tiveram suas estruturas comparadas às referências 2D e 3D do DrugBank para verificar consistência conformacional.

Por fim, aplicou-se o docking molecular no AutoDock Vina, com análise das interações no Discovery Studio e PyMOL, identificando os resíduos do sítio ativo envolvidos nas ligações e validando a estabilidade energética das conformações enzima-ligante.



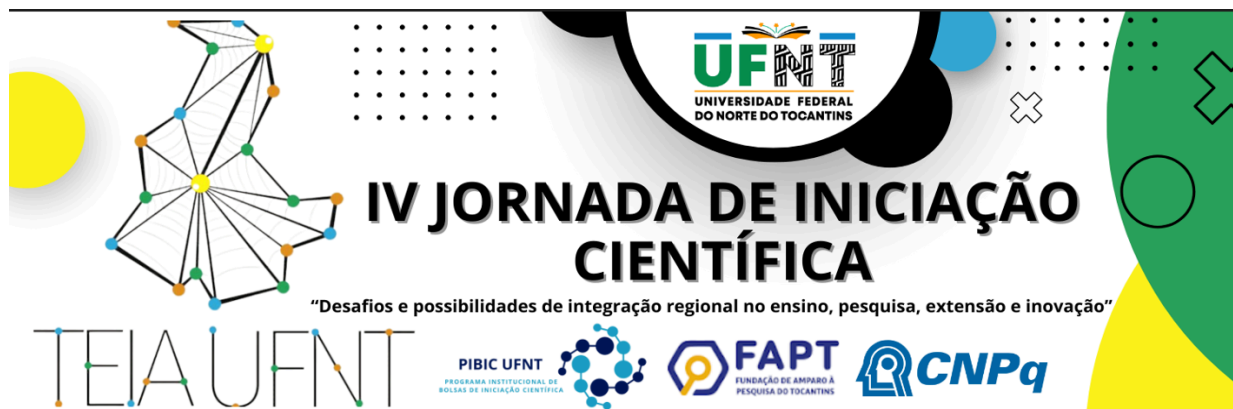
V. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O modelo por homologia da DHFR de *M. leprae* apresentou identidade de 72,5% em relação à DHFR de *M. tuberculosis* (PDB ID: 6DDW), com 120 resíduos idênticos. A visualização no PyMOL evidenciou a preservação do sítio ativo, validando sua aplicação nas etapas de *docking*.

O alinhamento estrutural entre a estrutura de referência *M. tuberculosis* e a DHFR modelada mostrou boa sobreposição, com diferenças apenas em regiões de alças e extremidades, o que reforça a fidelidade da modelagem.

A revisão bibliográfica destacou compostos já testados contra a DHFR de micobactérias. O K-130, derivado da trimetoprima, apresentou potência 100 vezes superior ao fármaco original, devido à maior lipofilicidade (KANSY et al., 1992; DHOPLÉ, 2002). O epiroprim demonstrou atividade bactericida em modelos murinos e efeito sinérgico com a dapsona (DHOPLÉ, 2002). Derivados da trimetoprima (K-128, K-130, K-132 e GH-305) também mostraram inibição expressiva da multiplicação bacteriana (SEYDEL et al., 1986). Além disso, patentes descrevem aril-Z-alcoxi-5-benzilpirimidinas como inibidores promissores com menor toxicidade e versatilidade de administração (POE; RUYLE, 1981).

Na triagem virtual, 10.000 moléculas do *DrugBank* foram testadas em duas etapas: 1 - Uma simulação do complexo - proteína-ligante - para cada molécula do banco de dados; 2 - Os 50 melhores resultados da primeira etapa foram submetidos ao teste de reprodutibilidade, o qual cada molécula foi testada 100 simulações independentes de *docking*. Após essa etapa, foram selecionados os 10 compostos mais promissores ($\Delta G < -11,0$ kcal/mol e reprodutibilidade $> 89\%$).



Entre os mais relevantes, destacaram-se DB17163, DB12983 e DB02112, que apresentaram energias de ligação entre - 11,8 e -12,1 kcal/mol, superiores aos valores obtidos para epiroprim (- 8,3 kcal/mol), k-130 (-7,5 kcal/mol) e benzilpirimidinas descritas na literatura (-7,4 kcal/mol). Esses resultados indicam maior estabilidade e afinidade no modelo adotado. Ademais, as taxas de sucesso observadas para o acoplamento dessas moléculas foram de 89% para o DB17163, 92% para o DB12983 e 100% para o DB02112, reforçando o potencial destas estruturas como inibidores DHFR de *M. leprae*.

VI. CONCLUSÃO/CONSIDERAÇÕES FINAIS

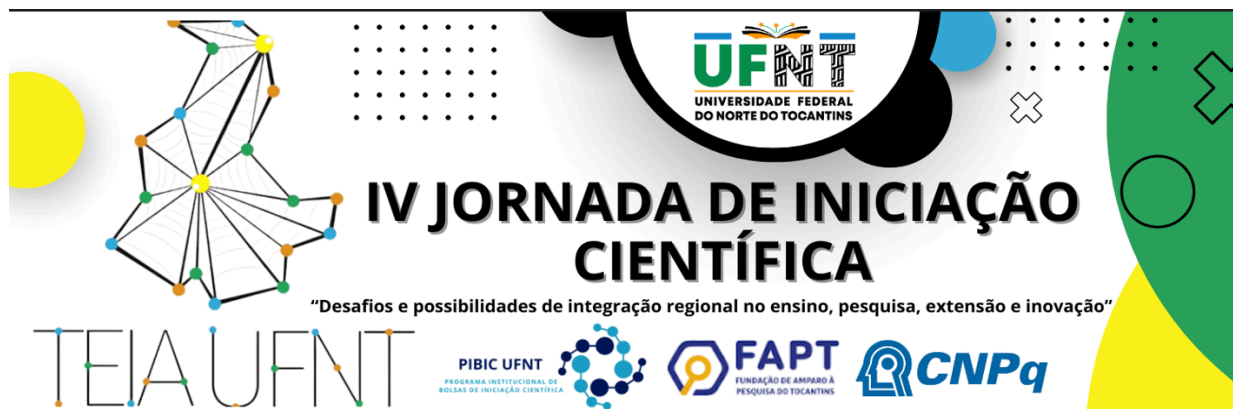
Os resultados indicaram que algumas moléculas apresentaram energias de ligação negativas expressivas, sugerindo boa afinidade com a DHFR. A estabilidade conformacional observada nas simulações reforça o potencial desses compostos como inibidores da enzima. O projeto também proporcionou aprimoramento técnico no uso de ferramentas de modelagem molecular, contribuindo para a formação científica e para o fortalecimento do LABMADE como núcleo de pesquisa da UFNT.

VII. REFERÊNCIAS

DHOPLE, A. M. In vivo activity of epiroprim, a dihydrofolate reductase inhibitor, singly and in combination with dapson, against Mycobacterium leprae. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 19, n. 1, p. 71–74, jan. 2002. DOI: 10.1016/s0924-8579(01)00470-8.

KANSYL, M. et al. Synthesis of new 2,4-diamino-5-benzylpyrimidines active against various bacterial species. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 27, n. 3, p. 237–244, 6 maio 2004. DOI: 10.1016/j.bmcl.2021.128213.

POE, M.; RUYLE, W. V. Inhibitor of dihydrofolate reductase. Estados Unidos, Patente nº 4.258.045, 24 mar. 1981.



SCOLLARD, D. M. et al. The continuing challenges of leprosy. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 19, n. 2, p. 338-381, 1 abr. 2006. DOI: 10.1128/CMR.19.2.338-381.2006.

WHITE, E. L. et al. Cloning, expression, and characterization of Mycobacterium tuberculosis dihydrofolate reductase. **FEMS Microbiology Letters**, v. 232, n. 1, p. 101-105, 12 mar. 2004. DOI: 10.1128/jb.181.21.6814-6821.1999.

VIII. AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar meus agradecimentos ao Professor Dr. Danilo da Silva Olivier pela orientação, dedicação e comprometimento durante o desenvolvimento deste projeto. Sua orientação foi fundamental para o avanço e a qualidade deste trabalho, principalmente nas etapas mais complexas de análise e interpretação dos resultados. Agradeço também ao LABMADE, pelo ambiente colaborativo que possibilitou a execução das etapas computacionais do projeto.

Este trabalho foi realizado com o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Tocantins (FAPT), à qual expresso meu reconhecimento pelo incentivo à pesquisa e à formação científica no Estado do Tocantins.