



TRIAGEM VIRTUAL HIERÁRQUICA DE ANÁLOGOS DA RIFAMPICINA PARA A DESCOBERTA DE POTENCIAIS CANDIDATOS A FÁRMACOS CONTRA *Mycobacterium tuberculosis* MULTIRRESISTENTE

Layse S. Moraes¹; Romeu D. Ferreira²; Francny M. N. Cardoso^{3,4}; Luciana S. Lima⁵; Cleydson B. R. dos Santos^{3,4}

1. Programa de Pós-Graduação em Inovação Farmacêutica (PPGIF) da UNIFAP.
 2. Programa de Pós-Graduação em Química Medicinal e Modelagem Molecular (PPGQM3) da Universidade Federal do Pará.
 3. Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), Macapá Amapá, Brasil.
 4. Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE (PPG-BIONORTE), Polo Amapá.
 5. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Maranhão), São Luís, Maranhão, Brasil.
- Autor correspondente: layse.sampaio@hotmail.com

Palavras-Chave: Seleção de Compostos; Química medicinal; Triagem virtual.

Introdução

A tuberculose (TB), causada principalmente por *Mycobacterium tuberculosis*, permanece entre as doenças infecciosas de maior impacto na saúde pública mundial. O aumento da incidência de cepas resistentes aos principais fármacos de primeira e segunda linha, incluindo as formas multirresistente (MDR-TB) e extensivamente resistente (XDR-TB), restringe as opções terapêuticas disponíveis e reforça a necessidade do desenvolvimento de novos agentes antimicobacterianos (Farhat *et al.*, 2024).

Nesse contexto, a quimioinformática e a química medicinal computacional têm se consolidado como ferramentas estratégicas no planejamento racional de fármacos, permitindo a triagem hierárquica de extensas bibliotecas químicas por meio da avaliação de similaridade estrutural, propriedades farmacocinéticas e toxicológicas (ADME/Tox) e potencial atividade biológica *in silico*. Essa abordagem possibilita a priorização racional de compostos promissores, reduzindo tempo, custos e o número de candidatos destinados às etapas subsequentes de validação (Cardoso *et al.*, 2026).

A rifampicina, um dos principais fármacos de primeira linha utilizados no tratamento da tuberculose, foi adotada como composto pivô em virtude de sua reconhecida atividade antimicobacteriana e de seu mecanismo de ação bem estabelecido, baseado na inibição da RNA polimerase DNA-dependente de *Mycobacterium tuberculosis*, um alvo terapêutico essencial para a transcrição gênica e a sobrevivência do bacilo (Dulberger *et al.*, 2020).

Assim, o presente estudo teve como objetivo aplicar um pipeline hierárquico de triagem virtual para identificar moléculas estruturalmente semelhantes à rifampicina, empregando a seleção de estruturas em banco de dados químico, a predição de propriedades ADME/Tox e a avaliação da atividade biológica *in silico*, visando priorizar candidatos promissores para estudos

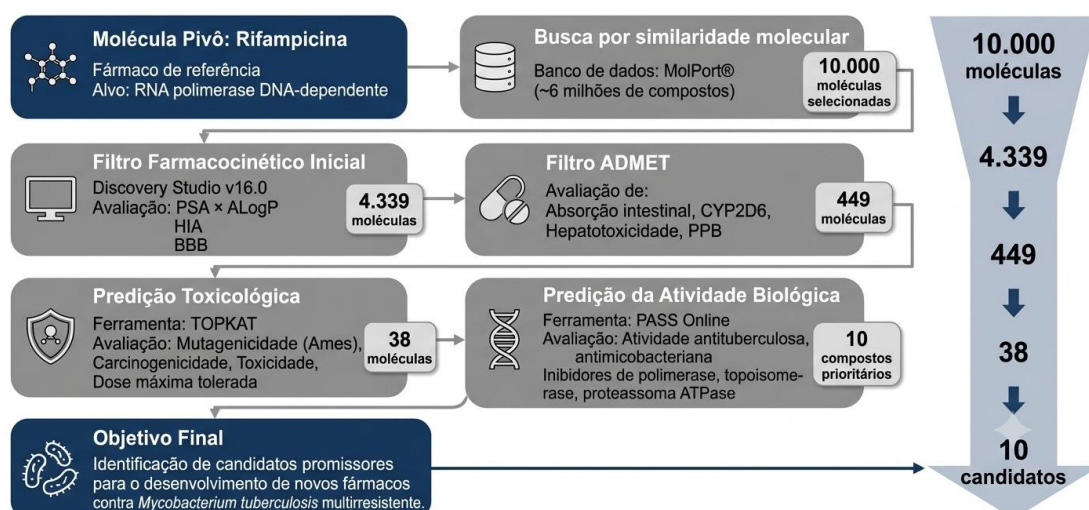


computacionais e experimentais subsequentes no desenvolvimento racional de novos agentes antimicrobianos.

Material e Métodos

A prospecção de potenciais compostos inibidores da enzima RNA polimerase dependente de DNA do *Mycobacterium tuberculosis* foi realizada através de uma triagem virtual hierárquica, integrando busca por similaridade molecular, predição farmacocinética (ADME), toxicológica (TOPKAT) e avaliação da atividade biológica *in silico* para a priorização racional de compostos bioativos. A visão geral da estratégia empregada é apresentada na Figura 1.

Figura 1: Fluxograma das etapas metodológicas empregadas neste estudo



Fonte: autor, 2026.

A rifampicina foi utilizada como composto de referência para a busca por similaridade estrutural na base MolPort® (~6 milhões de compostos), selecionando inicialmente 10.000 compostos. As moléculas selecionadas foram submetidas às predições *in silico* de propriedades farmacocinéticas (ADME), toxicológicas (TOPKAT) no Discovery Studio® v16.0 (DASSAULT SYSTÈMES BIOVIA, 2016), e de atividade biológica no programa PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances), sendo priorizados os compostos com perfis mais favoráveis (Lima et al. 2022).

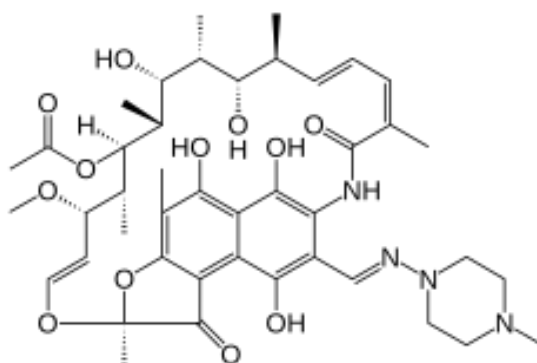
Resultados e Discussão

A busca por similaridade molecular na base MolPort®, utilizando a rifampicina como composto de referência, resultou na seleção de 10.000 estruturas químicas estruturalmente relacionadas. Esse critério proporcionou um conjunto quimicamente representativo,



preservando características estruturais relevantes da rifampicina e estabelecendo uma base robusta para as etapas subsequentes de triagem virtual.

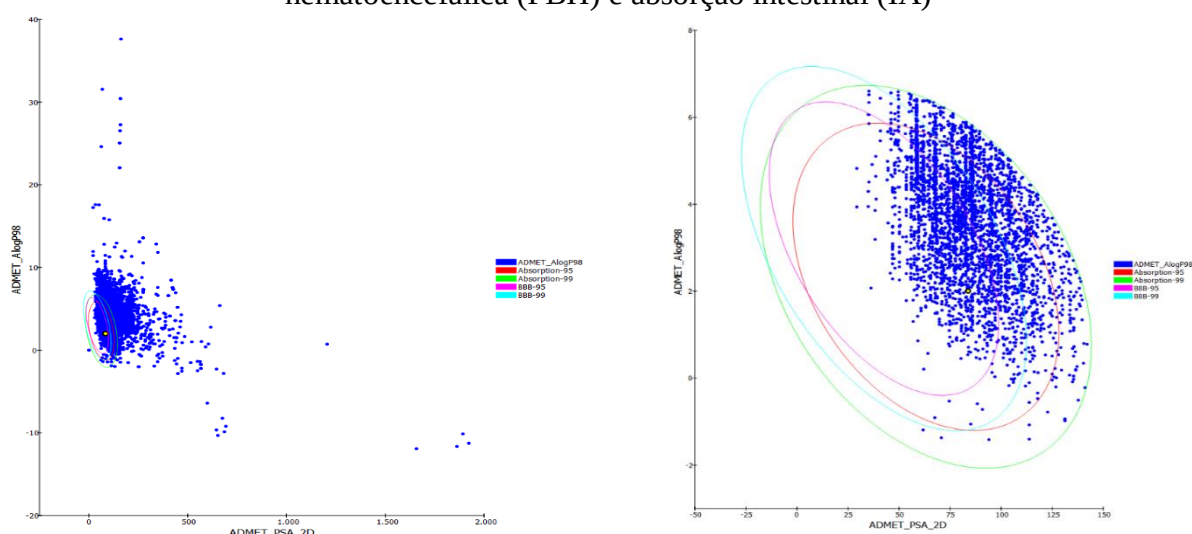
Figura 1. A estrutura 2d da Rifampicina, molécula controle



Fonte: autor, 2026.

A aplicação do filtro farmacocinético baseado na distribuição das moléculas nos gráficos de elipses de confiança (95% e 99%) da Área de Superfície Polar (PSA) versus ALogP permitiu avaliar simultaneamente a absorção intestinal humana (HIA) e a penetração na barreira hematoencefálica (BBB) dos compostos selecionados. Dos 10.000 compostos inicialmente obtidos pela busca por similaridade molecular com a rifampicina, 4.339 moléculas permaneceram dentro das elipses de confiança de 99% para absorção intestinal, indicando propriedades físico-químicas compatíveis com perfis farmacocinéticos favoráveis.

Figura 1: Área de superfície polar (PSA) versus gráfico ALogP mostrando moléculas em 95% e 99% elipses de limite de confiança correspondentes à Penetração na barreira hematoencefálica (PBH) e absorção intestinal (IA)



Fonte: autor, 2026.



O emprego desse filtro inicial é amplamente utilizado na descoberta racional de fármacos por possibilitar a exclusão precoce de moléculas com baixa probabilidade de apresentarem adequada biodisponibilidade, reduzindo o número de candidatos destinados às etapas subsequentes de triagem (Lipinski et al., 2012; Schneider, 2018). A partir das 4.339 moléculas, foram aplicados filtros adicionais baseados em propriedades farmacocinéticas, incluindo hepatotoxicidade predita, ligação às proteínas plasmáticas (PPB) e Citocromo P2D6 (CYP2D6), resultando na seleção de 449 compostos com perfil ADMET mais favorável.

Tabela 1. Propriedades farmacocinéticas dos compostos selecionados e da molécula pivô.

Estruturas	AIH ^[a]	CYP2D6 ^[b]	Hepatotoxic. ^[c]	PPB ^[d]
Rifampicina	3	False	True	falso
LMQC-224	1	False	false	true
LMQC-405	0	False	false	true
LMQC-651	1	False	false	true
LMQC-348	1	False	false	true
LMQC-466	0	False	false	true
LMQC-739	0	False	false	true
LMQC-183	0	False	false	true
LMQC-925	1	False	false	true
LMQC-030	1	False	false	true

[a] AIH - (Absorção intestinal); [b] CYP2D6- (Citocromo P2D6); [c] Hepatotoxicidade - (verdadeiro: Causa danos ao fígado. Falso: não causa danos); [d] PPB - (verdadeiro: se liga as proteínas plasmáticas). Fonte: autor, 2026.

Conforme apresentado na Tabela 1, todos os TopHits selecionados apresentaram ausência de inibição da CYP2D6 e ausência de hepatotoxicidade predita, diferentemente da rifampicina, reconhecida pelo potencial de induzir lesões hepáticas durante o tratamento da tuberculose (Tostmann et al., 2008). Esses resultados sugerem que os compostos priorizados apresentam características farmacocinéticas promissoras, podendo reduzir a ocorrência de efeitos adversos e interações medicamentosas, aspectos relevantes no desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos.

Na etapa seguinte, os 449 compostos foram submetidos à avaliação toxicológica pelo módulo TOPKAT, sendo priorizados 38 candidatos com ausência de mutagenicidade, carcinogenicidade e toxicidade predita. Segundo, Cheng et al. (2012), ferramentas computacionais de toxicologia constituem importantes estratégias para a redução de custos e do tempo necessário ao desenvolvimento de novos fármacos, permitindo concentrar os estudos experimentais em moléculas com maior probabilidade de sucesso. Os resultados obtidos reforçam a eficiência do pipeline hierárquico empregado na eliminação progressiva de compostos com perfis desfavoráveis.



Tabela 2. Parâmetros de toxicidade *in silico* em modelo animal, predição de risco de toxicidade e dose tolerada da potência carcinogênica do TopHits

Parâmetros de toxicidade <i>in silico</i>						
Moléculas	Ames (Mutagênica)	WOE (Carcinogênica)	(Peso Corporal/Dia)			
			DTP	TD ₅₀ (mg/kg)	TD ₅₀ (mg/kg)	RMTD (g/kg)
Rifampicina	NM	NC	T	0,0202568	2,04092	0,0319462
LMQC-224	NM	NC	NT	0,659342	27,6355	0,000280659
LMQC-405	NM	NC	NT	0,0037821	1,13752	2,48736e-05
LMQC-651	NM	NC	NT	56,8381	66,4323	0,0115217
LMQC-348	NM	NC	NT	124,204	114,461	0,0139166
LMQC-466	NM	NC	NT	56,5119	64,5588	0,00885529
LMQC-739	NM	NC	NT	3,1835	24,8043	0,17629
LMQC-183	NM	NC	NT	3,1835	24,8043	0,171629
LMQC-925	NM	NC	NT	52,6395	57,1041	0,00784239
LMQC-030	NM	NC	NT	52,7155	57,8438	0,00893267

Ames: Mutagenicidade; RMTD: Dose máxima tolerada em ratos; TD50: Valor de potência carcinogênica; C (carcinógeno); (não carcinógeno); NM (não mutagênico); NT (Não tóxico); T (Tóxico). Fonte: autor, 2026.

Os 38 compostos selecionados foram então submetidos à predição da atividade biológica utilizando a plataforma PASS, etapa que permitiu priorizar 10 moléculas com maior probabilidade de apresentarem atividade antimicobacteriana. Entre os candidatos selecionados, destacaram-se compostos com potencial atividade antituberculosa e antimicobacteriana, além da predição de inibição de enzimas essenciais para a sobrevivência bacteriana, como DNA polimerase I, topoisomerases e ATPase do proteassoma. Embora a rifampicina exerça sua atividade pela inibição da RNA polimerase dependente de DNA, a identificação de compostos capazes de atuar sobre diferentes alvos moleculares representa uma estratégia promissora para o enfrentamento da tuberculose multirresistente, reduzindo a probabilidade de desenvolvimento de resistência e ampliando as possibilidades terapêuticas (Kleinerman et al. 2022).

Tabela 2. Predição da atividade biológica dos compostos selecionados na Triagem Virtual.

Estruturas	Atividade Biológica	Pa[a]	Pi[b]
Rifampicina	Antituberculosic	0,995	0,000
	Topoisomerase II inhibitor	0,141	0,037
	DNA gyrase inhibitor	0,076	0,004
LMQC-224	Inibidor da ATPase do proteassomo	0,793	0,005
	Antibiótico do tipo glicopeptídeo	0,745	0,003
	Antibacteriano	0,329	0,050
	Antibiótico antineoplásico	0,166	0,028
	Antibiótico	0,169	0,039
	Inibidor da topoisomerase I	0,123	0,075
	Inibidor da topoisomerase II	0,094	0,065



LMQC-405	Inibidor de redutase	0,101	0,076
LMQC-651	Inibidor da topoisomerase I	0,222	0,027
	Antituberculoso	0,250	0,110
	Antimicobacteriano	0,221	0,149
	Inibidor da topoisomerase II	0,104	0,058
	Inibidor da DNA polimerase I	0,339	0,037
LMQC-348	Antituberculoso	0,371	0,041
	Inibidor da DNA polimerase I	0,336	0,038
	Inibidor da topoisomerase I	0,142	0,061
LMQC-466	Inibidor da DNA polimerase I	0,334	0,039
	Inibidor da topoisomerase I	0,227	0,026
	Antituberculoso	0,250	0,110
	Antimicobacteriano	0,218	0,152
	Inibidor da topoisomerase II	0,110	0,054
LMQC-739	Proteasome ATPase inibito	0,536	0,050
LMQC-183	Proteasome ATPase inhibitor	0,536	0,054
LMQC-925	Topoisomerase I inhibitor	0,215	0,029
	Antituberculosic	0,250	0,110
	Topoisomerase II inhibitor	0,101	0,060
LMQC-030	Topoisomerase I inhibitor	0,215	0,029
	Antituberculosic	0,250	0,110
	DNA polymerase I inhibitor	0,338	0,037

Fonte: autor, 2026.

De forma geral, o pipeline computacional empregado demonstrou elevada eficiência na descoberta racional de candidatos a fármacos antituberculose, promovendo a redução progressiva do conjunto inicial de 10.000 moléculas para apenas 10 compostos com perfis farmacocinéticos, toxicológicos e biológicos considerados mais favoráveis. Essa estratégia evidencia o potencial das abordagens de bioquimioinformática em acelerar a identificação de moléculas promissoras, reduzindo custos e aumentando a probabilidade de sucesso nas etapas subsequentes de docking molecular, dinâmica molecular e validação experimental, contribuindo para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos contra cepas multirresistentes de *Mycobacterium tuberculosis*.

Conclusões

O pipeline hierárquico de triagem virtual empregado mostrou-se eficiente na identificação e priorização racional de candidatos a fármacos contra *Mycobacterium tuberculosis*. A estratégia permitiu reduzir progressivamente um conjunto inicial de 10.000 moléculas para 10 compostos com perfis farmacocinéticos, toxicológicos e biológicos mais favoráveis, demonstrando a capacidade das abordagens bioquimioinformáticas em otimizar a seleção de candidatos promissores nas etapas iniciais da descoberta de fármacos. Os compostos priorizados apresentaram propriedades ADMET compatíveis com o desenvolvimento farmacêutico, ausência de predições de mutagenicidade, carcinogenicidade e hepatotoxicidade, além de potencial atividade antimicobacteriana e antituberculosa predita. Esses resultados atendem ao objetivo proposto de identificar moléculas estruturalmente relacionadas à



rifampicina com potencial terapêutico, reduzindo significativamente o número de compostos a serem avaliados experimentalmente. Dessa forma, os candidatos selecionados constituem moléculas promissoras para estudos complementares de docking molecular, dinâmica molecular, avaliação da afinidade pelo alvo terapêutico e posterior validação biológica *in vitro* e *in vivo*, contribuindo para o desenvolvimento racional de novos agentes contra a tuberculose multirresistente.

Agradecimentos

Ao CNPq pelo fomento à pesquisa, ao Prof. Dr. Cleydson Breno Rodrigues dos Santos pela orientação essencial e aos membros Laboratório de Modelagem e Química Computacional (LMQC) pelo suporte a este projeto.

Referências

- CARDOSO, F. M. N.; SILVA, A. V.; LIMA, L. S.; OLIVEIRA, L. P. O. B. P.; SANCHES, V. H. S.; MORAES, L. S.; VASCONCELOS, H. C. G.; SANTOS, C. B. R. Biochemoinformatics approaches to combating bacterial resistance: advances, challenges and perspectives. *Revista CHENG, F. et al. admetSAR: a comprehensive source and free tool for assessment of chemical ADMET properties. Journal of Chemical Information and Modeling*, v. 52, n. 11, p. 3099-3105, 2012.
- DASSAULT SYSTÈMES BIOVIA. **Discovery Studio Modeling Environment**. Version 16.0. San Diego: Dassault Systèmes, 2016. Disponível em: <https://www.3ds.com/products-services/biovia/>.
- DULBERGER, C. L. et al. Tuberculosis. **Nature Reviews Disease Primers**, London, v. 6, n. 1, p. 1–23, 2020.
- FARHAT, M.; COX, H.; GHANEM, M. et al. Drug-resistant tuberculosis: a persistent global health concern. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 22, p. 617-635, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41579-024-01025-1>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41579-024-01025-1>
- KLEINERMAN, R.; ALMEIDA, A. M.; DIAS, M. V. B. Medicinal chemistry strategies to tackle Mycobacterium tuberculosis. **Drug Discovery Today**, v. 27, n. 10, p. 1033–1042, 2022. DOI: 10.1016/j.drudis.2022.07.013
- LIPINSKI, C. A. et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, p. 4-17, 2012.
- LIMA, L. R.; BASTOS, R. S.; FERREIRA, ELENILZE F. B. ; LEÃO, R. P. ; ARAÚJO, P. H. F. ; PITA, S. S. DA R. ; DE FREITAS, H. F. ; CLEYDSON B. R. . Identification of Potential New Aedes aegypti Juvenile Hormone Inhibitors from N-Acyl Piperidine Derivatives: A Bioinformatics Approach. **INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES JCR**, v. 23, p. 9927-29, 2022.
- PICCIRILLO, E.; AMARAL, A. T. do. Busca virtual de compostos bioativos: conceitos e aplicações. **Química Nova**, v. 41, n. 6, p. 662–677, 2018. DOI: <https://doi.org/10.21577/0100-4042>.
- SCHNEIDER, G. Automating drug discovery. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 17, p. 97-113, 2018.



WU, Y. et al. Computational strategies for antimicrobial discovery: from machine learning to multiscale simulation. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmp.2025.10.003>.