



ESTUDO IN SILICO E DESCOBERTA DE POSSÍVEIS FÁRMACOS PARA O TRATAMENTO DO PARKINSON: CRIAÇÃO DE DOCKING MOLECULAR DE ANÁLOGOS DO 1,4-DIFENILBUT-1,3-DIENO

Juliano S. Reis¹; Antônio Guilherme G. Souza¹; Pedro Edson M. Correia¹; Gildomar L. V. Júnior¹;

¹Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.
julianosreis7@gmail.com

Palavras-Chave: Monoamina oxidase B, descritores, modelagem computacional.

Introdução

A Doença de Parkinson (DP) é um distúrbio neurológico de natureza progressiva, caracterizado por comprometimento motor e funcional que afeta de forma significativa a autonomia e a qualidade de vida dos indivíduos acometidos. À medida que a doença evolui, manifestam-se sintomas motores característicos, como tremores em repouso, rigidez muscular, bradicinesia (lentidão dos movimentos) e alterações no equilíbrio postural, especialmente evidentes em estágios avançados. De acordo com Kouli, Torsney e Kuan (2018), trata-se de uma condição neurodegenerativa de elevada complexidade, cujo curso impõe desafios substanciais tanto para o diagnóstico e monitoramento clínico quanto para as intervenções terapêuticas, refletindo o amplo impacto da DP sobre o sistema nervoso central.

Embora as causas da DP ainda não estejam completamente esclarecidas, as evidências atuais indicam que a degeneração de neurônios dopaminérgicos localizados na substância negra pars compacta desempenha um papel central em sua fisiopatologia. Esse processo leva à redução dos níveis de dopamina no corpo estriado e à diminuição das conexões sinápticas entre os neurônios dos gânglios da base, comprometendo, consequentemente, a regulação dos movimentos voluntários (KALIA; LANG, 2015). Entre os principais mecanismos fisiopatológicos associados à DP, destacam-se a agregação anormal da proteína α -sinucleína, com formação dos corpos de Lewy, que prejudicam a função neuronal, além do estresse oxidativo, disfunções mitocondriais e processos inflamatórios no tecido neural (HIRSCH; HUNOT, 2009). A interação entre esses fatores contribui significativamente para a progressão da neurodegeneração observada na doença.

No campo das abordagens terapêuticas, a enzima monoamina oxidase tipo B (MAO-B), uma enzima do corpo que decompõe diversas substâncias químicas no cérebro, assume um papel de relevo, pois ela participa ativamente da metabolização da dopamina. Bloquear seletivamente a atividade dessa enzima emergiu como uma tática eficiente para estender a presença e o efeito da dopamina no cérebro. Medicamentos como a selegilina e a rasagilina não apenas atrasam a degradação da dopamina, mas também demonstram potencial neuroprotetor. Isso ocorre porque eles ajudam a reduzir a quantidade de radicais livres produzidos durante o processamento dessa amina biogênica (YOUDIM; FINBERG, 2021; TEIXEIRA et al., 2013). Este fato expande o valor clínico desses fármacos, que ultrapassam a simples gestão dos sintomas.

A área da Química Medicinal exerce uma função crucial no desenvolvimento e na otimização de novos compostos que inibem a MAO-B, buscando sempre uma maior

especificidade e um perfil de segurança aprimorado. Ferramentas contemporâneas, incluindo a modelagem molecular e os estudos de relação estrutura-atividade (QSAR), são fundamentais para a concepção planejada de moléculas inovadoras, que são projetadas para uma interação precisa com a enzima desejada (BISCHOFF; YODIM, 2017). Neste contexto, o presente trabalho tem como objetivo empregar técnicas de modelagem computacional, especificamente o docking molecular, na busca por potenciais análogos mais eficazes de inibidores seletivos da MAO-B, com potencial aplicação no tratamento da doença de Parkinson.

Material e Métodos

Primeiramente, após estudar a fisiopatologia da doença, decidiu-se usar a Monoamina oxidase tipo B como alvo terapêutico. Logo após, utilizou-se o site do PDB (Protein Data Bank) para encontrar o alvo complexado com o ligante, no qual o escolhido foi o 1,4-difenilbut-1,3-dieno. O critério utilizado para a escolha foi não ter sido usado como fármaco, ou seja, uma molécula inovadora. Assim, o ligante e a proteína foram salvos em arquivos “.pdb”.

Em seguida, foi utilizado o Wordpad para eliminar moléculas que não são importantes (heteroátomos e água) e separar a proteína do ligante, salvando os dois separadamente. Posteriormente, foi usado o Discovery Studio para analisar as interações do ligante com os átomos do sítio ativo, a fim de entendê-las para propor modificações ao ligante.

Logo depois, utilizou-se o Marvin Sketch para fazer as modificações do ligante, além de fazer os cálculos dos descritores topológicos e físico-químicos (Logaritmo do Coeficiente de Partição (log P), número de ligações rotacionáveis, área de superfície polar, acceptor de ligação de hidrogênio (HBA), doador de ligação de hidrogênio (HBD) e peso molecular) tanto do ligante, quanto dos análogos. Esses dados foram colocados numa tabela para análise, utilizando como filtro as regras de Lipinski (2000) e Veber (2002), que utilizam como base os descritores supracitados, que são cruciais na descoberta de medicamentos para prever a biodisponibilidade oral e otimizar as propriedades de fármacos candidatos.

Utilizando o AutoDock Tools, o receptor, o ligante e os análogos foram salvos como arquivo “.pdbqt”. Em seguida, foi utilizada a ferramenta “grid box”, que define as dimensões e coordenadas do ligante, que foram anotadas e salvas em um arquivo “.txt”, que vai ser o arquivo de entrada para os cálculos. Para o cálculo de energia, foi utilizado o AutoDock Vina, que gera um arquivo de saída com a energia calculada. Para cada análogo foi feito um novo arquivo “.txt”, trocando apenas o arquivo “.pdbqt” a ser lido. O mesmo foi feito para a selegilina, um dos principais fármacos da classe, a fim de comparar os resultados de afinidade dos análogos aprovados com um fármaco que já existe no mercado.

Fluxograma 1 – Programas utilizados durante o trabalho.

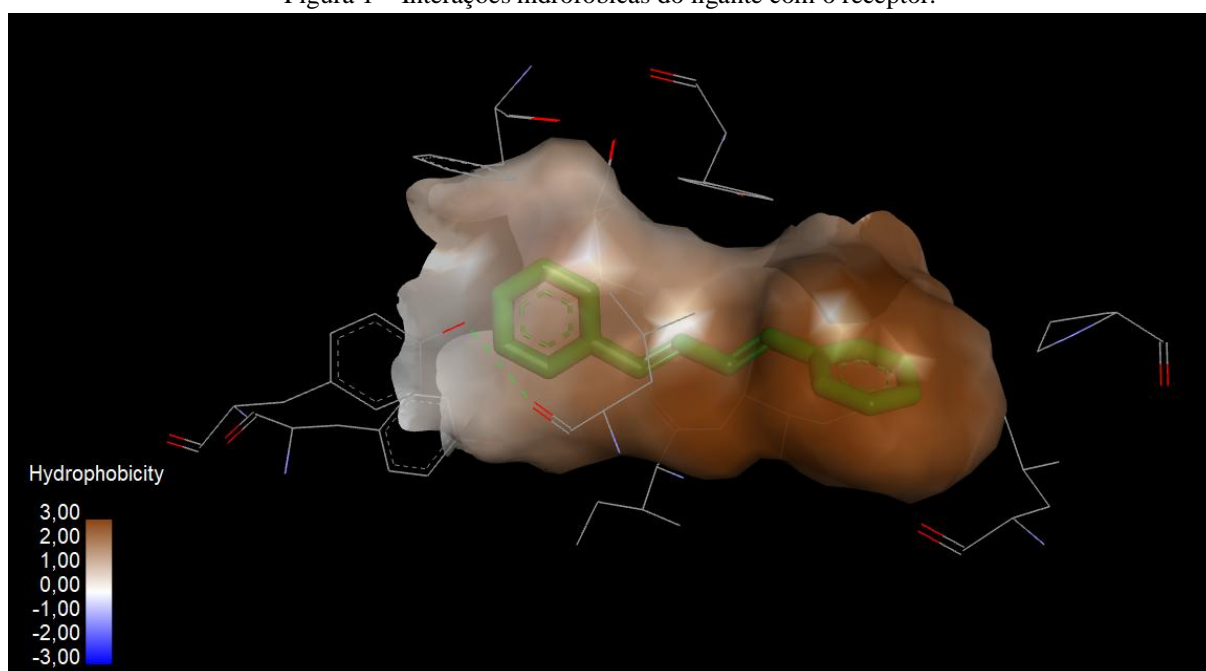


Fonte: autoria própria.

Resultados e Discussão

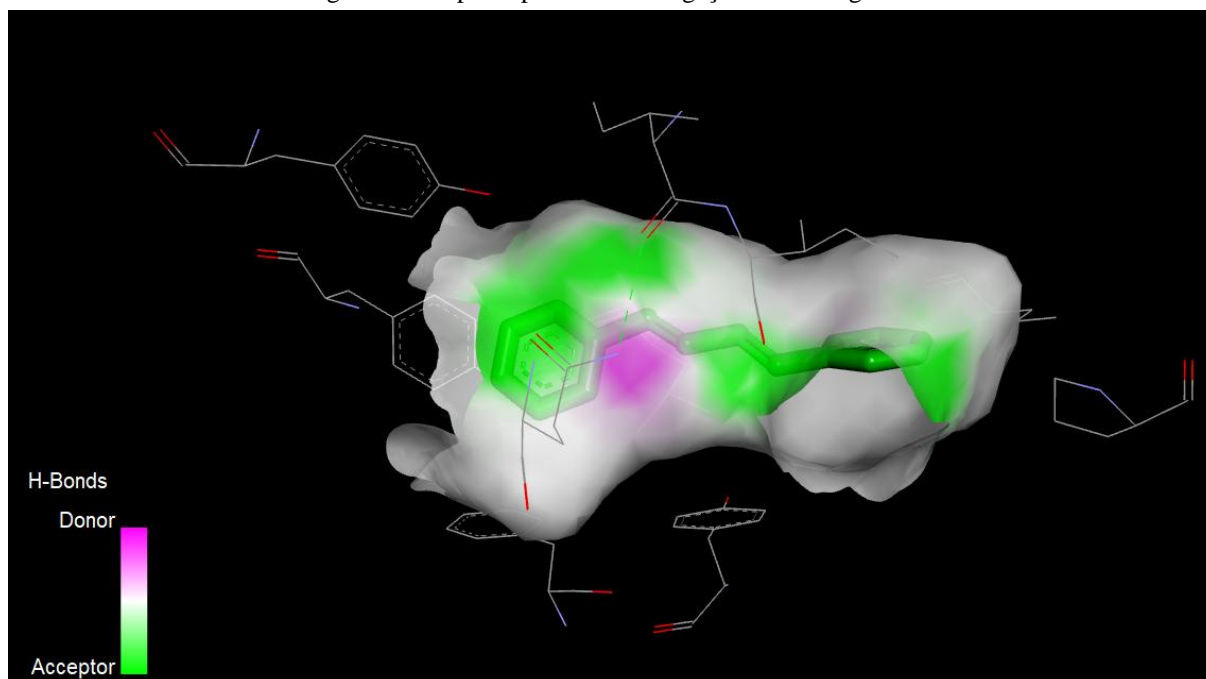
A análise das interações hidrofóbicas entre o ligante e o receptor, ilustradas na Figura 1, evidencia a predominância dessas interações na estabilização do complexo ligante–proteína. Nesse contexto, a adição de substituintes com maior lipofilicidade apresenta-se como uma estratégia potencialmente eficaz para o incremento da afinidade com o receptor. Além disso, pode ajudar na penetração da molécula na barreira hematoencefálica, que é o local de ação da enzima MAO-B. Por sua vez, a Figura 2, referente ao mapa de potenciais de ligações de hidrogênio, demonstra que determinadas regiões do ligante poderiam se beneficiar da inserção de grupos doadores ou aceptores de hidrogênio, contribuindo para o fortalecimento das interações específicas com o sítio receptor.

Figura 1 – Interações hidrofóbicas do ligante com o receptor.



Fonte: autoria própria.

Figura 2 – Mapa de potenciais de ligações de hidrogênio.



Fonte: autoria própria.

Os estudos do ligante mostraram que seu log P estava quase no limite da regra de Lipinski (2000), que deve ser menor ou igual a 5. Desse modo, a análise feita com base nos descritores físico-químicos e topológicos, demonstrados na tabela 1, foram realizadas apenas para esse parâmetro, visto que por ser uma molécula mais simples, os outros descritores estavam sempre bem abaixo do limite, como mostra a tabela 2. Logo, pela regra de Veber (2002), todos seriam aprovados, mas pela regra de Lipinski (2000), nem todos seriam. Essas regras são parâmetros fundamentais na modelagem molecular e no planejamento racional de fármacos, pois auxiliam na avaliação preliminar das propriedades farmacocinéticas de uma molécula, principalmente sua absorção oral, biodisponibilidade e permeabilidade. Elas funcionam como filtros iniciais para selecionar compostos com maior potencial de se tornarem candidatos a fármacos.

Tabela 1 – Parâmetros utilizados como filtro dos descritores.

Regra de Lipinski	Regra de Veber
$\text{Log P} \leq 5$	≤ 10 ligações rotacionáveis
$\text{HBA} \leq 10$	Área de superfície polar $\leq 140 \text{ \AA}^2$
$\text{HBD} \leq 5$	$\leq 12 \text{ HBA} + \text{HBD}$
Peso Molecular ≤ 500 da	-

Fonte: Lipinski (2000) e Veber (2002).

Tabela 2 – Cálculo dos descritores do ligante e análogos.

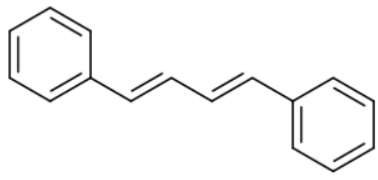
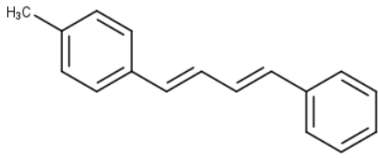
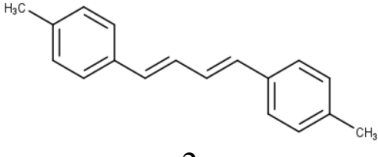
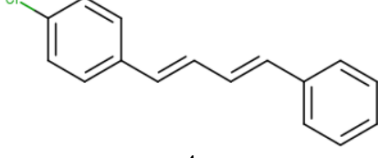
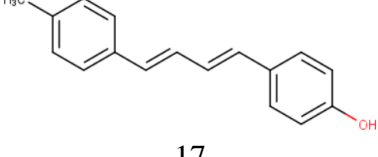
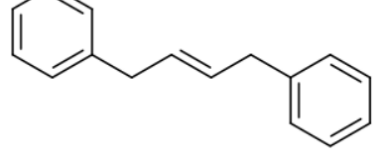
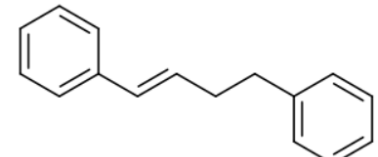
Análogo	LogP	HBA	HBD	Área de Superfície Polar	Peso Molecular	Ligações Rotacionáveis
Ligante	4,84	0	0	0	206,2	3
1	5,35	0	0	0	220,3	3
2	5,87	0	0	0	234,3	3
3	4,01	1	1	26,02	221,3	3
4	5,44	0	0	0	240,7	3
5	4,52	1	1	26,02	235,3	3
6	3,90	1	1	26,02	249,3	3
7	4,24	1	1	26,02	237,3	4
8	3,18	2	2	52,04	236,3	3
9	5,00	1	1	26,02	271,3	3
10	4,17	2	2	52,04	286,3	3
11	3,48	1	0	3,24	209,2	3
12	3,91	0	0	4,93	195,2	3
13	4,43	0	0	4,93	209,2	3
14	2,98	0	0	9,86	184,2	3
15	2,55	1	0	8,17	198,2	3
16	2,69	1	0	17,82	196,2	3
17	5,05	1	1	20,23	236,3	3
18	4,54	1	1	20,23	222,2	3
19	5,04	0	0	0	208,3	4
20	5,12	0	0	0	208,3	4
21	3,34	3	3	78,06	301,4	3

Fonte: autoria própria.

Assim, dos 21 análogos avaliados, 6 não atenderam aos critérios estabelecidos pela regra de Lipinski (2000), conforme apresentado na Tabela 3. As modificações estruturais responsáveis por essa reprovação envolveram, principalmente, a introdução de grupos lipofílicos no anel aromático e a remoção de uma ligação dupla na cadeia principal. Tais alterações resultaram em um aumento significativo do valor de log P, conferindo às moléculas um caráter excessivamente

apolar, que é uma característica indesejável, uma vez que pode comprometer propriedades farmacocinéticas essenciais ao desenvolvimento de um candidato a fármaco.

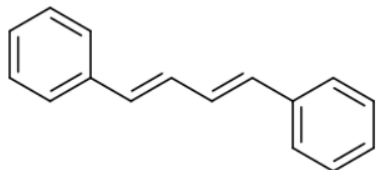
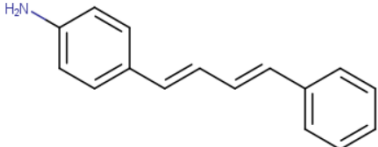
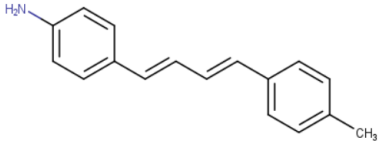
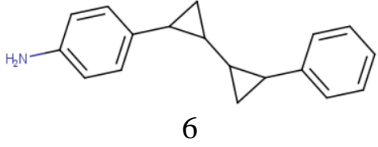
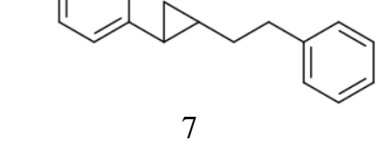
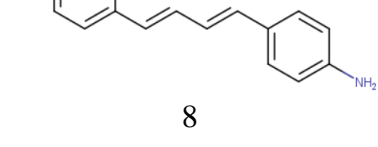
Tabela 3 - Análogos reprovados segundo a regra de Lipinski.

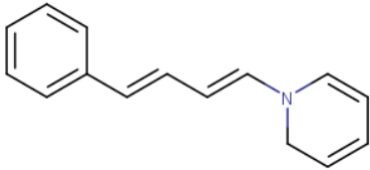
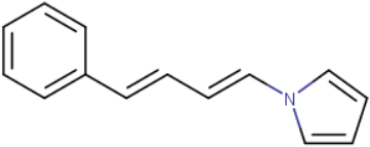
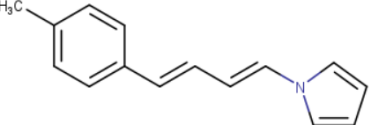
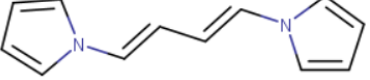
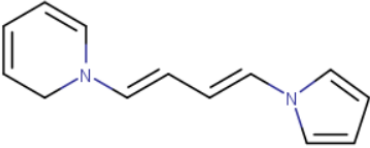
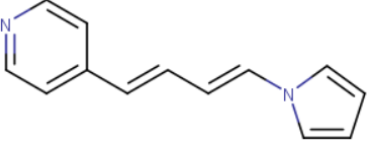
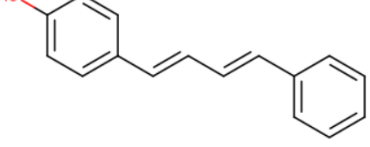
Análogo	Log P	Resultado
 Ligante original	4,84	-
 1	5,35	Reprovado
 2	5,87	Reprovado
 4	5,44	Reprovado
 17	5,05	Reprovado
 19	5,04	Reprovado
 20	5,12	Reprovado

Fonte: autoria própria.

Ademais, entre os análogos aprovados, 12 tiveram afinidade menor que o ligante original com a enzima MAO-B, como mostra a tabela 4. Todas essas modificações diminuíram o log P, mas a consequência foi a perda da atividade biológica da molécula. Entre as principais modificações estruturais destacam-se: a substituição da dupla ligação por um grupo ciclopropano (análogos 6 e 7); a introdução de grupos amina ou hidroxila na posição para de um dos anéis aromáticos (análogos 3, 5, 6, 7 e 8); a troca do anel aromático por um anel heterocíclico N-penteno aromático (análogos 12 a 16); e, por fim, a substituição de átomos de carbono do anel por nitrogênio (análogos 11, 15 e 16). Essas alterações visavam diminuir o log P e interagir com os possíveis aceptores ou doadores de H presentes na estrutura da enzima, porém não foram eficazes, possivelmente devido à importância de ambos os anéis aromáticos para a interação com o receptor.

Tabela 4 - Análogos aprovados pela regra de Lipinski, mas que tem menor afinidade que o ligante original.

Análogo	Log P	Energia (kcal/mol)
 Ligante original	4,84	-9,8
 3	4,01	-9,3
 5	4,52	-9,7
 6	3,90	-9,5
 7	4,24	-9,3
 8	3,18	-9,3

 11	3,48	-9,1
 12	3,91	-8,4
 13	4,43	-8,3
 14	2,98	-7,2
 15	2,55	-7,7
 16	2,69	-7,5
 18	4,54	-9,3

Fonte: autoria própria.

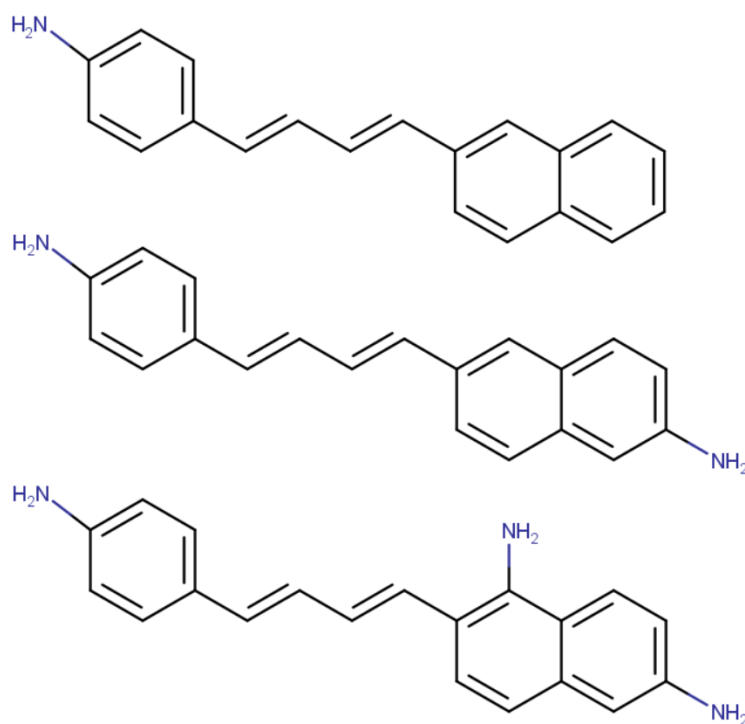
Por fim, 3 análogos aprovados apresentaram maior afinidade que o ligante, como mostra a tabela 5. Essas modificações tiveram como base a adição de mais um anel aromático, para tentar manter a lipofilicidade, ao mesmo tempo que adicionou-se aminas nesses anéis, para diminuir o log P e interagir com os potenciais aceptores de H do receptor. Desse modo, esse equilíbrio foi encontrado nos análogos 9, 10 e 21, como mostra a figura 3. Comparando com a selegilina, um dos principais fármacos da classe, pode-se notar que, tanto o ligante, quanto os análogos aprovados, conseguiram obter uma afinidade maior com o receptor do que o fármaco.

Tabela 5 - Análogos aprovados com maior afinidade que o ligante e comparação com a selegilina.

Análogos	Log P	Área de superfície polar	Peso molecular	Energia (kcal/mol)
Ligante	4,84	0	206,2	-9,8
9	5,00	26,02	271,3	-11,3
10	4,17	52,04	286,3	-11,4
21	3,34	78,06	301,4	-11,6
Selegilina	2,85	3,24	187,3	-7,0

Fonte: autoria própria.

Figura 3 - Análogos 9, 10 e 21, respectivamente.



Fonte: autoria própria.

Portanto, percebeu-se que a adição do anel aromático ajudou a aumentar a atividade biológica da molécula, assim como as aminas adicionadas. No entanto, embora tais modificações juntas reduzam o log P e aumentem a solubilidade, podem comprometer a lipofilicidade necessária para a penetração na barreira hematoencefálica (BHE), um aspecto crucial para fármacos destinados ao tratamento da Doença de Parkinson.

Também deve-se considerar que os cálculos de docking molecular apresentam algumas limitações, como a ausência da dinâmica molecular completa e do efeito do ambiente biológico (pH, presença de cofatores, metabolismo hepático, etc.). Assim, embora os análogos 9, 10 e 21 tenham se mostrado promissores, estudos adicionais, incluindo dinâmica molecular e ensaios in vitro, seriam necessários para confirmar a real viabilidade dessas moléculas como candidatos a fármacos inibidores da enzima MAO-B.



Conclusões

Diante disso, o presente estudo evidenciou a viabilidade do emprego de ferramentas de modelagem molecular na identificação e no desenvolvimento de análogos com potencial terapêutico para a Doença de Parkinson, por meio da inibição da MAO-B. A caracterização do sítio ativo do receptor, bem como a análise das suas interações com o ligante, mostrou-se etapas fundamentais para o delineamento racional das moléculas. A partir do composto 1,4-difenilbut-1,3-dieno, foram gerados 21 análogos, dos quais seis não atenderam aos critérios estabelecidos pela Regra de Lipinski em razão do elevado valor de log P. Entre os 15 compostos aprovados, 12 apresentaram desempenho energético inferior ao ligante de referência, enquanto apenas três demonstraram potencial atividade biológica superior.

Os achados indicaram que as modificações estruturais mais efetivas corresponderam à inserção de anéis aromáticos e grupos amina, alterações capazes de reduzir o log P e, simultaneamente, aumentar a afinidade dos compostos pelo sítio ativo da MAO-B. Assim, este estudo ressalta a relevância da modelagem computacional como estratégia no desenvolvimento de novos fármacos e aponta perspectivas promissoras para futuras investigações voltadas ao tratamento da Doença de Parkinson, com ênfase na obtenção de moléculas mais eficazes e seguras.



Referências

KOULI, A.; TORSNNEY, K.M.; KUAN, W.L. Parkinson's Disease: Etiology, Neuropathology, and Pathogenesis. In: Stoker TB, Greenland JC, editors. Parkinson's Disease: Pathogenesis and Clinical Aspects [Internet]. Brisbane (AU): **Codon Publications**; 2018 Dec 21. Chapter 1. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK536722/> doi: 10.15586/codonpublications.parkinsonsdisease.2018.ch1.

KALIA, L. V.; LANG, A. E. Parkinson 's disease. **The Lancet**, v. 386, n. 9996, p. 896-912, 2015.

HIRSCH, E. C.; HUNOT, S. Neuroinflammation in Parkinson's disease: a target for neuroprotection? **The Lancet Neurology**, v. 8, n. 4, p. 382-397, 2009.

YOUDIM, M. B. H.; FINBERG, J. P. M. Update on the pharmacology of selective inhibitors of MAO-A and MAO-B: focus on modulation of CNS monoamine neurotransmitter release. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 143, n. 2, p. 133-152, 2021.

TEIXEIRA, F. G. et al. Rasagiline: a neuroprotective monotherapy in Parkinson's disease. **Expert Review of Neurotherapeutics**, v. 13, n. 9, p. 979-987, 2013.

BISCHOFF, S.; YOUDIM, M. B. H. Advances in MAO-B inhibitors for Parkinson's disease. **Current Medicinal Chemistry**, v. 24, n. 15, p. 1627-1647, 2017.

LIPINSKI, C. A. Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability. **J. Pharmacol Toxicol Methods**.2000, 44(1).

VEBER et al. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. **J. Med. Chem.**, 2002, 45 (12).