



ANÁLISE DAS PROPRIEDADES MOLECULARES DE ANFETAMÍNICOS E DE UM ANTICORPO ANTI-METANFETAMINA VISANDO O DESENVOLVIMENTO DE DISPOSITIVOS DE DETECÇÃO

Bruna F. Serafini^{1,2}; Nicolay F. Pietrobelli²; Juliana N. Scherer²; Mariana R. Meireles^{1,2,3}.

1 Biosens Desenvolvimento e Industria de Biossensores LTDA;

2 Programa de Pós-graduação em Saúde Coletiva, Universidade do Vale do Rio dos Sinos (UNISINOS);

3 Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

bferriserafini@gmail.com

Palavras-Chave: Bioinformática estrutural, fisicoquímica, anfetaminas.

Introdução

Os anfetamínicos são substâncias químicas derivadas da feniletilamina, caracterizadas por uma estrutura molecular composta por um anel aromático de benzeno conectado a um grupo amina através de uma cadeia curta. A anfetamina serve como a molécula base dessa classe, da qual derivam compostos como a metanfetamina. Os anfetamínicos podem ser classificados em diversas subclasses, incluindo anfetaminas clássicas, substituídas, sintéticas, naturais e terapêuticas, cada uma com propriedades químicas e farmacológicas distintas (Capela; Costa, 2023; Carvalho *et al.*, 2012).

Essas drogas são utilizadas por motoristas profissionais, por conta de longas e intensas jornadas de trabalho, visando a redução de fadiga e para manutenção de estados de alerta. Estudos sugerem um aumento do risco de responsabilidade por colisões fatais entre usuários de anfetaminas (Laumon *et al.*, 2005), mesmo considerando o uso isolado (Gjerde *et al.*, 2011; Bernhoft *et al.*, 2012). A relação entre consumo de anfetaminas e o risco de lesões em sinistros de trânsito evidencia o consumo como fator de risco, reforçando a necessidade de compreender os mecanismos pelos quais as anfetaminas agem e afetam o desempenho ao volante, bem como a importância de políticas públicas e medidas preventivas para mitigar os riscos associados ao uso dessas substâncias (Hayley *et al.*, 2016).

Para combater seu uso nas estradas, dispositivos portáteis como os drogômetros foram desenvolvidos para monitoramento; contudo, tais dispositivos não são calibrados para os padrões de consumo de anfetaminas no Brasil, resultando em falsos negativos e falhas na identificação de motoristas sob efeito dessas substâncias (Scherer *et al.*, 2017a). Essa divergência nos resultados pode ser atribuída a diferentes fatores, como variações estruturais nas moléculas que podem afetar a interação com receptores, a biodisponibilidade, a distribuição no organismo e a metabolização. Além disso, a detecção dessas substâncias pode ser influenciada pela forma como o composto está apresentado, uma vez que diferentes anfetaminas podem possuir regiões mais hidrofóbicas ou hidrofílicas. Essas características químicas particulares de cada tipo de anfetamina podem impactar tanto a sua identificação em análises toxicológicas quanto os efeitos biológicos que elas exercem (Capela; Costa, 2023; NIDA, 2019; Patel; Marwaha; Molla, 2025).

Nesse contexto, a bioinformática estrutural se apresenta como uma ferramenta poderosa para entender as propriedades físico-químicas e as interações moleculares entre as anfetaminas, enquanto biomarcadores, e seus bioreceptores, os alvos moleculares responsáveis pela ligação



e geração de respostas biológicas. Por meio de simulações computacionais, é possível identificar os mecanismos de interação, a afinidade e a especificidade dessas substâncias com seus respectivos bioreceptores. Essa abordagem permite a otimização do desenvolvimento de métodos de detecção mais eficientes e precisos, essenciais para a identificação do uso de anfetaminas por motoristas profissionais (Kesmen *et al.*, 2025).

Considerando a utilização de drogômetros e identificação do alvo, muitos dos testes rápidos aplicam anticorpos como bioreceptores. Eles são amplamente empregados considerando a sua especificidade de ligação ao antígeno através do fragmento de ligação ao antígeno (Fab – *fragment antigen binding*), o qual interage com o alvo realizando interações por forças de *Van der Waals* e ligações de hidrogênio ou mesmo pontes salinas. Variações no alvo como diferentes anfetamínicos, com propriedades físico-químicas distintas, podem impactar as interações com bioreceptores, especialmente considerando estes como anticorpos monoclonais (Gaita e Thompson, 2015; Kinsey *et al.*, 2009).

No presente estudo, utiliza-se técnicas de bioinformática estrutural para compreender interações entre um anticorpo específico, que pode ser empregado como possível bioreceptor para drogômetro e os diferentes tipos de anfetaminas utilizadas no Brasil e seus derivados. O estudo procura estabelecer parâmetros de ligações e investigar as propriedades físico-químicas destes compostos, colaborando para compreensão das interações com o bioreceptor e aplicação em drogômetro.

Material e Métodos

1. Seleção e obtenção das estruturas química dos anfetamínicos

Foram realizadas buscas envolvendo os anfetamínicos anfepramona, femproporex, mazindol, anfetamina e metanfetamina no *PubChem*. O código *SMILES* foi obtido para utilização como *input* na plataforma *AVOGADRO* 1.2.0, a fim de determinar a estrutura do ligante e realizar a minimização de energia, ajustando sua configuração por meio da aplicação do UFF (*Universal Force Field*) (Casewit *et al.*, 2022) e do algoritmo *Steepest Descent*, buscando o mínimo local (Ahmad *et al.*, 2017). As estruturas otimizadas foram salvas no formato .pdb para análise posterior.

2. Seleção e obtenção da estrutura dos anticorpos anti-anfetamínicos

Para esta etapa, foram realizadas buscas no Protein Data Bank utilizando os descritores *anti-amfepramone antibodies*, *anti-fenproporex antibodies*, *anti-mazindol antibodies*, *anti-amphetamine antibodies* e *anti-methamphetamine antibodies*. As sequências de aminoácidos das estruturas encontradas foram utilizadas como *input* para verificar a similaridade entre elas por meio do *Protein BLAST*. A partir dessas buscas, duas estruturas (PDB IDs: 4LAR e 3GKZ) foram selecionadas e avaliadas. Essas estruturas se mostraram incompletas. Portanto, para obter o fragmento Fab capaz de reproduzir as interações com o antígeno, foi realizada uma modelagem do tipo *threading* no software I-TASSER (*Iterative Threading ASSEmbly Refinement*). O resultado da modelagem foi avaliado no software *SAVES*, utilizando o *PROCHECK* para gerar o gráfico de *Ramachandran* e verificar os ângulos ϕ (*phi*) e ψ (*psi*) dos



resíduos de aminoácidos que compõem o Fab. A interface *ChimeraX* foi utilizada para a visualização e avaliação dos modelos gerados.

3. Análise das propriedades físico-químicas das estruturas

Considerando os anfetamínicos e o fragmento Fab, foram avaliadas as seguintes propriedades físico-químicas: área de superfície acessível ao solvente (aSAS) e área de superfície exposta ao solvente (aSES). Os valores obtidos foram categorizados em três faixas (mínima, intermediária e máxima), com representação visual por escala de cores: rosa, branco e vermelho para a aSAS; lilás, branco e laranja para a aSES. Destaca-se que a aSAS e a aSES são influenciadas pela hidrofobicidade, uma vez que regiões mais hidrofílicas apresentam maior interação com o solvente, enquanto regiões hidrofóbicas reduzem a aSAS e a aSES. Os valores mínimos, médios e máximos de aSAS e aSES foram compilados e utilizados como *input* para análise no RStudio, por meio das bibliotecas *patchwork* e *tidyverse*, empregadas para avaliar a amplitude dos dados por meio de um *range plot*.

Resultados e Discussão

1. Estruturas dos anfetamínicos e avaliação de suas propriedades físico-químicas

As estruturas dos anfetamínicos (anfepramona, femproporex, mazindol, anfetamina e metanfetamina) foram analisadas na interface *ChimeraX*, que revelou os índices de área de superfície acessível e exposta ao solvente (aSAS e aSES, respectivamente) para cada composto, conforme apresentado na **Tabela 1**.

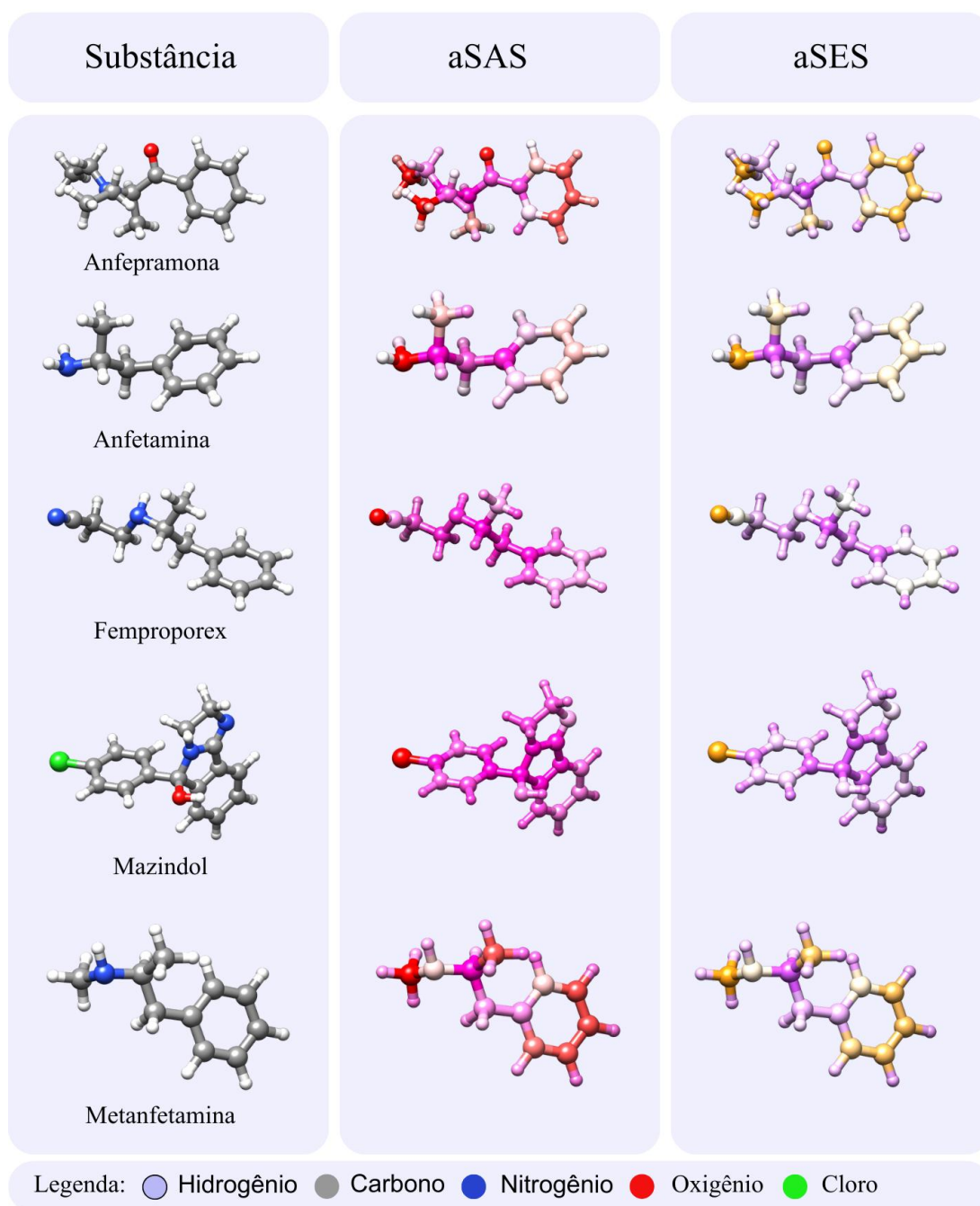
Tabela 1 – Valores mínimos, intermediários e máximos relativos à área de acessibilidade (aSAS) e exposição (aSES) ao solvente para os diferentes anfetamínicos estudados

Substância	aSAS				ASES			
	Mínimo	Intermediário	Máximo	Variação	Mínimo	Intermediário	Máximo	Variação
Anfetamina	0,97	16,05	31,13	30,16	23,80	8,20	14,02	11,64
Anfepramona	0,20	12,21	24,21	24,01	0,79	7,24	13,70	12,91
Femproporex	0,48	31,96	63,44	62,96	0,96	11,94	22,32	21,36
Metanfetamina	0,58	13,02	25,45	24,88	1,64	7,68	13,71	12,07
Mazindol	0,00	43,40	86,80	86,80	0,00	18,50	37,00	37,00

Verificou-se que as regiões de menor acessibilidade apresentaram valores iguais ou próximos de zero para todas as moléculas avaliadas. Entretanto, nas regiões de acessibilidade intermediária e elevada, foram observadas diferenças expressivas, com valores máximos variando de 24,21 para a anfepramona a 86,80 para o mazindol. Esses resultados indicam que, embora todas as substâncias sejam derivadas da anfetamina, as modificações estruturais promovem alterações em suas propriedades físico-químicas, o que pode influenciar suas interações moleculares. Comportamento semelhante foi identificado para a superfície exposta ao solvente, cujos valores máximos variaram de 13,69 para a anfepramona a 36,99 para o mazindol.

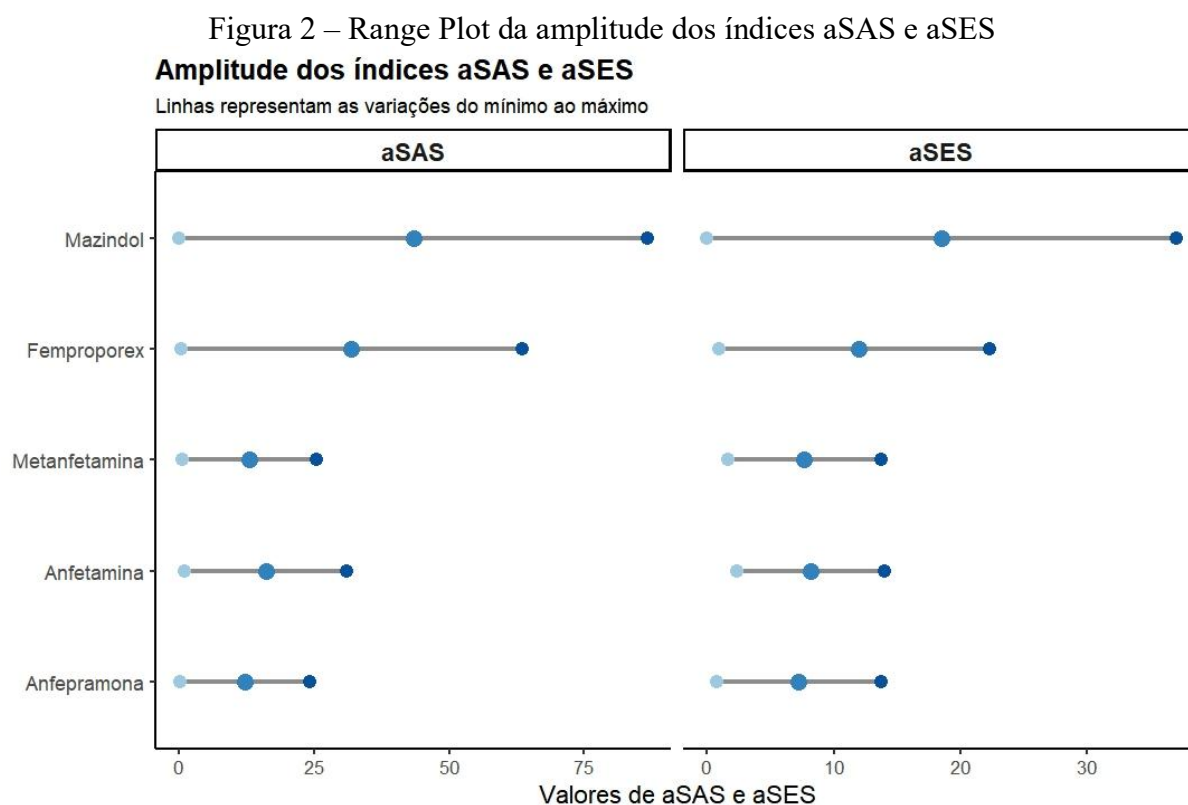
Destaca-se que a anfepramona, a anfetamina e a metanfetamina apresentaram valores mínimos, intermediários e máximos de aSAS e aSES semelhantes. A distribuição espacial dessas propriedades nos átomos de cada molécula está ilustrada na **Figura 1**, na qual os menores e maiores valores de aSAS são representados em rosa e vermelho, respectivamente, enquanto os de aSES são representados em lilás e laranja.

Figura 1 – Identificação dos átomos e distribuição da área de acessibilidade e exposição ao solvente



Fonte: Elaborada pela autora (2026).

Conforme observado na **Figura 1**, a metanfetamina e a anfepramona apresentaram distribuição semelhante de aSAS e aSES, enquanto os maiores valores dessas propriedades no femproporex e no mazindol concentraram-se nas ramificações das moléculas. Complementarmente, a **Figura 2** apresenta a amplitude dos valores de aSAS e aSES dos anfetamínicos avaliados.



Fonte: Elaborada pela autora (2026).

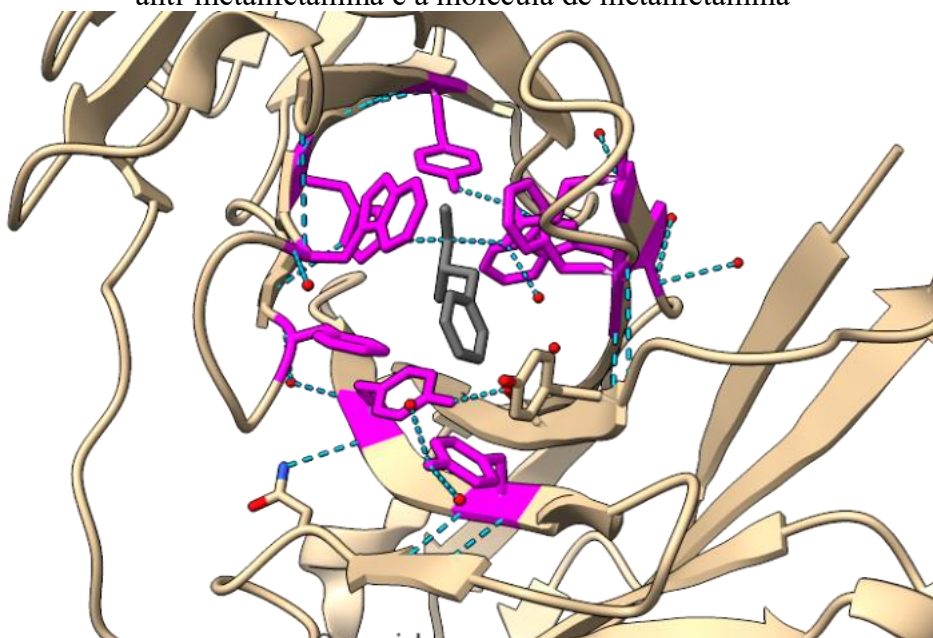
De acordo com os dados do *range plot*, o mazindol apresentou a maior amplitude de valores para aSAS e aSES, indicando maior heterogeneidade na acessibilidade e exposição ao solvente. O femproporex também apresentou valores elevados, principalmente para a aSAS. Em contrapartida, anfetamina, metanfetamina e anfepramona exibiram perfis semelhantes, com menor amplitude para ambas as propriedades (Masuda *et al.*, 1997).

2. Estrutura do anticorpo anti-metanfetamina e avaliação de suas propriedades físico-químicas

Ao analisar as entradas 4LAR e 3GDZ do Protein Data Bank, verificaram-se padrões de ligação do fragmento Fab com a metanfetamina. Essa análise revelou que aminoácidos específicos presentes nas *Complementarity Determining Regions* (Regiões Determinantes de Complementaridade – CDRs) do anticorpo interagem com a droga, demonstrando que resíduos distintos e espacialmente próximos (Tyr55, Tyr58, Phe106, Phe114, Tyr177, His230, Trp232 e Phe237) realizam interações por meio de ligações de hidrogênio entre si e com o alvo. Essas

interações permitem a estabilização da região de ligação ao antígeno e, em alguns casos (como os resíduos Glu114 e His230), a ligação com ele. A **Figura 3** demonstra os resíduos presentes nessa interface com o antígeno e as ligações de hidrogênio estabelecidas entre eles, com outros resíduos da macromolécula e com o alvo (Peterson *et al.*, 2013).

Figura 3 – Interações entre os resíduos de aminoácidos do fragmento Fab do anticorpo anti-metanfetamina e a molécula de metanfetamina



Fonte: Elaborada pela autora (2026)

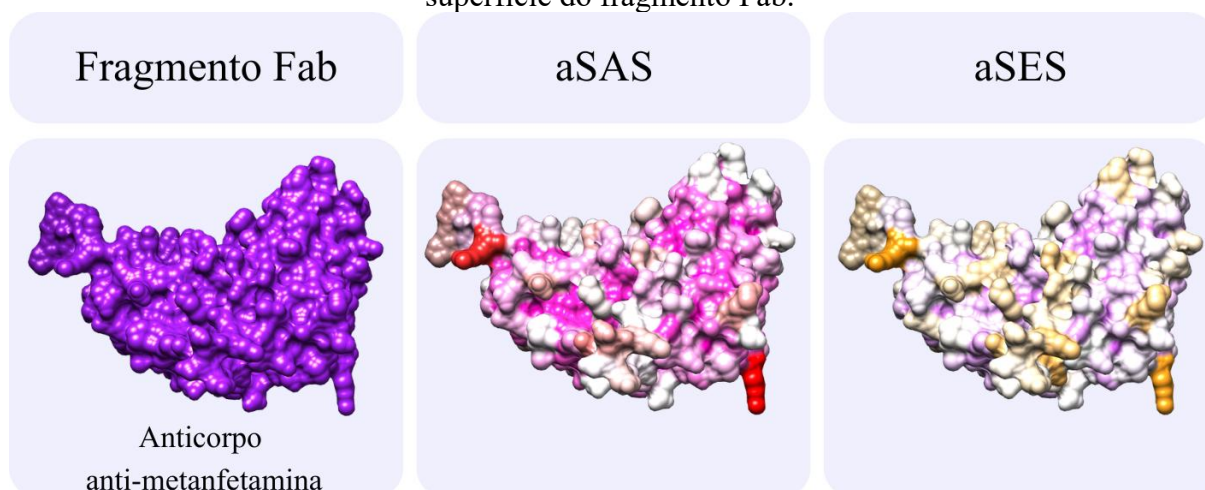
Paralelamente, foi realizada a modelagem do anticorpo anti-anfetamínico, conforme a metodologia. A avaliação do modelo por meio do gráfico de Ramachandran demonstrou apenas 6% dos resíduos em regiões desfavoráveis, indicando sua validação. A partir desse modelo, foi possível avaliar as propriedades físico-químicas relacionadas à distribuição dos átomos na estrutura terciária do fragmento de ligação ao antígeno (Fab). A **Tabela 2** apresenta os valores mínimos, intermediários e máximos de aSAS e aSES para o fragmento Fab do anticorpo anti-metanfetamina.

Tabela 2 – Valores mínimos, intermediários e máximos relativos à área de superfície acessível ao solvente e à área de superfície exposta ao solvente para o fragmento Fab do anticorpo anti-metanfetamina.

Substância	aSAS				aSES			
	Mínimo	Intermediário	Máximo	Variação	Mínimo	Intermediário	Máximo	Variação
Anticorpo anti-metanfetamina	0,00	118,26	236,52	236,52	0,00	72,23	144,46	144,46

É possível observar que os índices de aSAS e aSES do fragmento Fab apresentam maior variação quando comparados aos índices dos anfetamínicos. Esse comportamento pode ser atribuído à maior complexidade estrutural dessa macromolécula, que apresenta uma superfície mais diversificada, resultando em diferentes padrões de interação com o solvente. A **Figura 4** apresenta a distribuição dos índices de aSAS e aSES na superfície do fragmento Fab, na qual os valores mínimos e máximos de aSAS estão representados em rosa e vermelho, respectivamente, enquanto os valores mínimos e máximos de aSES estão representados em lilás e laranja, respectivamente.

Figura 4 – Distribuição da área de superfície acessível e exposta ao solvente na superfície do fragmento Fab.



Fonte: Elaborada pela autora (2026).

Pequenas expansões na superfície do fragmento Fab apresentam maior interação com o solvente devido ao caráter hidrofílico, resultando em maiores valores de aSAS e aSES. Conforme observado na **Figura 4**, essas regiões estão representadas em vermelho e laranja, respectivamente. Em contrapartida, regiões mais hidrofóbicas, que formam invaginações na superfície, apresentam menores valores dessas propriedades, podendo contribuir para a formação de arcabouços conformacionais envolvidos na interação com os anfetamínicos (Bissantz *et al.*, 2010).

Conclusões

A caracterização estrutural dos anfetamínicos demonstrou que modificações químicas na molécula de anfetamina resultam em diferenças expressivas nas propriedades físico-químicas, especialmente nas aSAS e aSES, podendo influenciar a interação dessas substâncias com bioreceptores. Entre os compostos avaliados, mazindol e femproporex apresentaram maior heterogeneidade estrutural, enquanto anfetamina, metanfetamina e anfepramona exibiram perfis mais semelhantes.

A modelagem e validação do fragmento Fab do anticorpo anti-metanfetamina permitiram identificar regiões estruturais compatíveis com o reconhecimento molecular,



evidenciando resíduos de aminoácidos potencialmente envolvidos na estabilização e ligação ao antígeno. A análise das propriedades de superfície do anticorpo também revelou regiões hidrofóbicas que podem favorecer a interação com os anfetamínicos. Em conjunto, esses resultados fornecem subsídios para a compreensão dos mecanismos de reconhecimento molecular entre anticorpos e anfetamínicos e estabelecem uma base para etapas futuras de *docking* e dinâmica molecular, visando a seleção de bioreceptores mais eficientes para aplicação em drogômetros. Dessa forma, o estudo contribui para o desenvolvimento de estratégias voltadas ao aprimoramento da detecção dessas substâncias, com potencial impacto na fiscalização do uso de anfetamínicos por motoristas profissionais e, consequentemente, na segurança viária.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 e da startup Biosens Tech.

Referências

- AHMAD M.; AZAM M.; NAEEM M.; IQBAL M., ANPALAGAN A.; HANEEF M. Resource management in D2D communication: An optimization perspective. **Journal of Network and Computer Applications**, 93, 51-75, 2017.
- BERNHOF, I. M. et al. Prevalence and Risk of Injury in Europe by Driving with Alcohol, Illicit Drugs and Medicines. **Procedia - Social and Behavioral Sciences**. 48, 2907-2916, 2012.
- BISSANTZ, C.; KUHN, B.; STAHL, M. A medicinal chemist's guide to molecular interactions. **Journal of medicinal chemistry**, 53(14), 5061-5084, 2010.
- CAPELA, J. P.; COSTA, V. M. Pharmacology and Toxicology of Amphetamine-Type Stimulants. **Future Pharmacology**. 3(2), 515-516, 2023.
- CARVALHO, M. et al. Toxicity of amphetamines: an update. **Archives of Toxicology**. 86(8), 1167-1231, 2012.
- CRIVIANU-GAITA C.; THOMPSON M. Immobilization of Fab' fragments onto substrate surfaces: A survey of methods and applications. **Biosensors and Bioelectronics**. 70, 167-180, 2015.
- GJERDE, H. et al. Alcohol, psychoactive drugs and fatal road traffic accidents in Norway: A case-control study. **Accident Analysis & Prevention**. 43(3), 1197-1203, 2011.
- HAYLEY, A. C. et al. Amphetamine-type stimulant use and the risk of injury or death as a result of a road-traffic accident: A systematic review of observational studies. **European Neuropsychopharmacology**. 26(6), 901-922, 2016.
- KESMEN, E. et al. Bioinformatics-driven untargeted metabolomic profiling for clinical screening of methamphetamine abuse. **Forensic Toxicology**. 43(1), 117-129, 2025.
- KINSEY, B.M.; JACKSON, D.C.; ORSON, F.M. Anti-drug vaccines to treat substance abuse. **Immunol Cell Biol**. 87, 309-314, 2009.
- LAUMON, B. et al. Cannabis intoxication and fatal road crashes in France: population based case-control study. **BMJ**. 331(7529), 1371, 2005.
- MASUDA, T.; JIKIHARA, T.; NAKAMURA, K.; KIMURA, A.; TAKAGI, T.; FUJIWARA, H. Introduction of solvent-accessible surface area in the calculation of the hydrophobicity parameter log P from an atomistic approach. **J Pharm Sci**. 86(1):57-63, 1997.



NIDA. Drugged Driving DrugFacts. **National Institute on Drug Abuse website**. 2019.

PATEL, P.; MARWAHA, R.; MOLLA, M. Dextroamphetamine-Amphetamine. **StatPearls Publishing**. 2025.

PETERSON, E. C.; CELIKEL, E.; GOKULAN, K.; VARUGHESE, K. L.. Structural Characterization of a Therapeutic Anti-Methamphetamine Antibody Fragment: Oligomerization and Binding of Active Metabolites. **PLOS ONE**. 9(1): 10.1371, 2013.

RAPPE A. K.; CASEWIT C. J.; COLWELL K. S.; GODDARD III W. A.; SKIFF. W. M. UFF, a full periodic table force field for molecular mechanics and molecular dynamics simulations. **Journal of the American Chemical Society**. 114(25), 10024-10035, 1992.

SCHERER, J. N. *et al.* Oral Fluid Testing for Cocaine: Analytical Evaluation of Two Point-of-Collection Drug Screening Devices. **Journal of Analytical Toxicology**. 41(5), 392–398, 2017.