



## TRIAGEM IN SILICO MULTI-TARGET DE DERIVADOS SINTÉTICOS INÉDITOS PARA PRIORIZAÇÃO DE CANDIDATOS ANTI NEUROBLASTOMA

M.F.A. VEIGA<sup>1</sup>, P. C. SOUZA<sup>1</sup>, T. P. W. BEZERRA<sup>1</sup>, A. C. L. LEITE<sup>1</sup>, M. M. ROSA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Ciências Farmacêuticas.

<sup>1</sup> Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Ciências Farmacêuticas.

Maria.veiga@ufpe.br

**Palavras-Chave:** docking molecular; ADMETox; neuro-oncologia.

### Introdução

O neuroblastoma é a neoplasia pediátrica mais comum e letal, representando 15% dos óbitos relacionados a câncer durante a infância. Esse tumor origina-se de células precursoras do sistema nervoso simpático, durante a formação da crista neural, e ocorre, majoritariamente, na medula adrenal, embora o tumor possa se manifestar em qualquer ponto da cadeia ganglionar simpática. Ademais, a elevada heterogeneidade biológica e clínica, que varia desde a regressão espontânea até formas de alto risco refratárias ao tratamento, está associada à sobrevivência e proliferação tumoral, sinalização cálcio-dependente e plasticidade celular entre estados adrenérgicos, mais diferenciado e sensível à quimioterapia, e mesenquimais, mais associado à resistência ao tratamento e à capacidade de reprogramação celular (LUNDBERG; TREIS; JOHNSON. 2022). Para os casos de alto risco, os quimioterápicos citotóxicos ocupam um papel central na terapia de indução, envolvendo regimes intensivos multiagentes, como platinas, antraciclinas e epipodofilotoxinas. Esses compostos atuam de forma sinérgica para reduzir o volume do tumor primário e limpar a medula óssea. Após a quimioterapia, busca-se a ressecção cirúrgica do tumor remanescente, um procedimento de alta complexidade devido ao frequente envolvimento de grandes vasos sanguíneos. Apesar disso, cerca de 20% desses pacientes são refratários à indução ou sofrem recidivas precoces. A falha na eliminação completa de células neoplásicas resistentes e a incapacidade da cirurgia de ressecção em controlar a doença residual mínima representam os principais obstáculos para a melhoria da sobrevida global desses indivíduos (BAGATELL. 2024). Nesse contexto, alvos como TrkB, CaMKII/CaMK2 e receptores AMPA representam eixos mecanísticos relevantes para investigação de novos candidatos antitumorais. Isso ocorre devido a dependência do tumor de vias de sinalização do desenvolvimento e plasticidade neural. O receptor TrkB é



frequentemente superexpressado em neuroblastomas de alto risco. A sua ativação pelo fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) desencadeia cascatas de sinalização intracelular que promovem a evasão da apoptose e conferem resistência, permitindo que as células tumorais sobrevivam durante a disseminação metastática (LIU et al., 2024; SIDDI et al., 2026). Já CaMKII/CaMK2 desempenha um papel fundamental na modulação morfológica e diferenciação neuronal de células de neuroblastoma, por isso, sua inibição compromete a capacidade proliferativa do tumor (YASUDA; HAYASHI; HELL, 2022). Por fim, o excesso de glutamato no microambiente tumoral do neuroblastoma pode ativar receptores AMPA, favorecendo a migração celular e a plasticidade fenotípica. A desregulação desses receptores e suas proteínas auxiliares correlaciona-se com a progressão da malignidade e a capacidade de invasão tecidual. Além da citotoxicidade direta, compostos capazes de interagir com essas vias podem apresentar potencial citostático ou modulador da progressão tumoral, hipótese que deve ser confirmada experimentalmente (QNEIBI et al., 2025). Considerando a urgência por novos candidatos antitumorais, o presente estudo utiliza ferramentas de química medicinal computacional para priorizar derivados sintéticos inéditos, denominados CT-21 a CT-30. A estratégia de triagem *in silico* integra docking molecular multi-target para avaliar a afinidade dessas moléculas pelos sítios ativos de TrkB, CaMKII e AMPA, buscando um perfil de ação amplo que minimize mecanismos compensatórios de resistência. De maneira complementar, a predição de toxicidade e análise de parâmetros ADMET (absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade) permite identificar precocemente moléculas com risco de mutagenicidade. O objetivo final é selecionar os candidatos que apresentem melhores resultados de eficácia e segurança farmacológica, estabelecendo uma base sólida para futuras validações experimentais *in vitro* e *in vivo*.

## Material e Métodos

As simulações de acoplamento molecular (*docking*) foram executadas utilizando o software GOLD (*Genetic Optimization for Ligand Docking*), versão 2023.1, para investigar a afinidade teórica e os modos de ligação da série de compostos sintetizados (CT-21 a CT-30) frente a três alvos proteicos estratégicos: a quinase B do receptor de tropomiosina (TrkB), a proteína quinase II dependente de cálcio/calmodulina (CaMKII) e o receptor ionotrópico de glutamato tipo AMPA. As estruturas tridimensionais das macromoléculas foram obtidas do *Protein Data Bank* (PDB), selecionando-se moldes cristaló-gráficos de alta resolução e complexados com ligantes co-cristalizados para a definição precisa dos sítios ativos. A preparação das proteínas envolveu a remoção de solventes, íons não catalíticos e co-fatores. O sítio de ligação foi delimitado por uma esfera de 10 Å em torno do centro de massa do ligante nativo, garantindo a exploração exaustiva das cavidades ortostéricas e regiões adjacentes. Os ligantes CT-21 a CT-30 foram estruturados e otimizados geometricamente sob o campo de força MMFF94, visando o estado de menor energia conformacional. Para assegurar a



reprodutibilidade do método, procedeu-se à validação via *redocking* do ligante cristalográfico, afim de obter um desvio quadrático médio (RMSD). Este valor, inferior ao limiar crítico de 2,0 Å, ratifica a precisão do protocolo em prever poses de ligação fidedignas. Paralelamente, o perfil farmacocinético e de segurança biológica foi delineado por meio das plataformas SwissADME e ProTox-II. Esta ferramenta integra modelos de aprendizado de máquina e farmacóforos para prever a toxicidade de pequenas moléculas com base em fragmentos estruturais. As estruturas foram submetidas em formato SMILES para a estimativa da dose letal mediana (LD50) e classificação de toxicidade oral aguda segundo o Sistema Globalmente Harmonizado (GHS). Foram avaliados diversos *endpoints* toxicológicos, incluindo neurotoxicidade, nefrotoxicidade e mutagenicidade (Teste de Ames), além da probabilidade de interferência no potencial de membrana mitocondrial, um marcador crucial de citotoxicidade precoce. A análise contemplou ainda uma avaliação exploratória da permeabilidade da barreira hematoencefálica (BHE), essencial para a validação do potencial neurofarmacológico dos compostos. A integração dos dados de *docking* com os indicadores de segurança permitiu a priorização estratificada dos candidatos que conciliam elevada eficácia teórica com baixos riscos toxicológicos preditos.

## Resultados e Discussão

Os ensaios de modelagem molecular revelaram que os compostos sintetizados apresentam um perfil de interação favorável com alvos moleculares envolvidos na plasticidade sináptica e na progressão tumoral: TrkB, CaMKII e o receptor AMPA. A validade do protocolo de *docking* foi confirmada via *redocking*, resultando em valores de RMSD de 0,709 Å, 1,147 Å e 1,560 Å, respectivamente. A obtenção de valores inferiores ao limiar crítico de 2,0 Å ratifica a precisão do método na predição das poses de ligação e a confiabilidade dos dados gerados. Os fitness scores dos ligantes de referência (85,03 para TrkB; 68,34 para CaMKII; e 62,77 para AMPA) serviram como parâmetros de corte para a identificação de candidatos com potencial multitarget superior. Notadamente, uma parcela dos compostos avaliados exibiram *scores* de *docking* superiores aos dos respectivos ligantes de referência nos três alvos, sugerindo uma elevada complementaridade estrutural com os sítios de ligação. Esse perfil reforça o potencial da estratégia multi-target para a identificação de candidatos capazes de modular simultaneamente diferentes vias associadas à progressão tumoral, ao estabelecer ligações importantes entre os aminoácidos essenciais (PINZI; RASTELLI, 2019).

Entre os compostos avaliados, CT-23 destacou-se como o candidato mais promissor, apresentando os maiores *scores* para TrkB (98,14), CaMKII/CaMK2 (109,64) e AMPA (91,68), superando simultaneamente os ligantes de referência. Esse perfil multi-target é particularmente relevante, uma vez que a ativação da via BDNF/TrkB está associada à





sobrevivência celular, progressão tumoral e resistência terapêutica em neuroblastomas de alto risco (LIU et al., 2024; SIDDI et al., 2026). Da mesma forma, a CaMKII participa da regulação da diferenciação e plasticidade celular (YASUDA; HAYASHI; HELL, 2022), enquanto a sinalização mediada por receptores AMPA contribui para a plasticidade fenotípica e capacidade invasiva das células tumorais (QNEIBI et al., 2025). Os compostos CT-29 e CT-27 também apresentaram perfil multitarget consistente, mantendo elevados valores de docking nos três receptores avaliados. Embora ligeiramente inferiores aos observados para CT-23, os resultados sugerem afinidade molecular suficiente para permitir interação estável com TrkB, CaMKII/CaMK2 e AMPA.

TABELA 1.

| Alvo   | Score do docking | RMS D (Å) | CT-21 | CT-22  | CT-23  | CT-24 | CT-25 | CT-26 | CT-27 | CT-28 | CT-29 | CT-30 |
|--------|------------------|-----------|-------|--------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| TrkB   | 91,12            | 0,709     | 88.02 | 100.52 | 98.14  | 94.53 | 88.58 | 86.18 | 90.68 | 92.36 | 90.35 | 87.26 |
| CaMKII | 68,34            | 1,147     | 81.95 | 89.01  | 109.64 | 87.24 | 85.13 | 89.89 | 93.63 | 91.86 | 97.31 | 86.25 |
| AMPA   | 62,77            | 1,560     | 71.79 | 78.85  | 91.68  | 76.63 | 76.53 | 79.37 | 87.34 | 86.63 | 84.86 | 82.98 |

Tabela 1. Scores de docking molecular e valores de RMSD dos derivados sintéticos CT-21 a CT-30 frente aos alvos biológicos TrkB, CaMKII e AMPA.

Além da afinidade molecular, a análise ADMET/Tox acrescentou informações importantes para a priorização dos candidatos. CT-23, CT-27 e CT-29 apresentaram LD<sub>50</sub> predita de aproximadamente 418 mg/kg, sendo classificados na classe toxicológica 4 pelo ProTox-3.0. Essa classificação indica toxicidade aguda moderada, compatível com moléculas bioativas em fase inicial de desenvolvimento, sugerindo um equilíbrio favorável entre atividade biológica potencial e segurança predita. Dessa forma, esses compostos reúnem simultaneamente elevado potencial farmacodinâmico e perfil toxicológico compatível com estudos experimentais subsequentes.

Embora o CT-30 tenha apresentado desempenho relativo nos estudos de docking, seu menor resultado LD predita (300 mg/kg; classe toxicológica 3) evidencia que elevada toxicidade potencial não está necessariamente associada a uma possível maior afinidade pelos



alvos investigados. Esse resultado demonstra que modificações estruturais capazes de aumentar a reatividade biológica também podem comprometer o perfil de segurança do composto, reforçando a necessidade de avaliar simultaneamente parâmetros de eficácia e toxicidade durante a etapa de triagem computacional. A divergência observada entre afinidade molecular e toxicidade predita evidencia que a seleção de candidatos não deve ser baseada exclusivamente nos resultados de docking, uma vez que compostos altamente reativos podem apresentar limitações importantes para o desenvolvimento farmacêutico, sendo necessário estudos adicionais *in vitro* e *in vivo* (PIRES; BLUNDELL; ASCHER, 2015).

TABELA 2.

|                                   | CT-21     | CT-22     | CT-23     | CT-24     | CT-25     | CT-26     | CT-27     | CT-28     | CT-29     | CT-30     |
|-----------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| <b>LD50 (mg/kg)</b>               | 500 mg/kg | 960 mg/kg | 500 mg/kg | 500 mg/kg | 500 mg/kg | 500 mg/kg | 418 mg/kg | 500 mg/kg | 418 mg/kg | 300 mg/kg |
| <b>Classe de Toxicidade (GHS)</b> | Classe 4  | Classe 4  | Classe 4  | Classe 4  | Classe 4  | Classe 4  | Classe 4  | Classe 4  | Classe 4  | Classe 3  |

Tabela 2. Predição de toxicidade aguda (LD50) e classificação de toxicidade segundo o GHS para os derivados sintéticos CT-21 a CT-30.

Ademais, o CT-28 apresentou elevada afinidade predita para TrkB, CaMKII/CaMK2 e receptores AMPA, porém foi associado a alertas de mutagenicidade, alteração do potencial de membrana mitocondrial (MMP) e permeabilidade à barreira hematoencefálica (BBB). Devido ao elevado potencial de interação molecular e alertas toxicológicos sugere que as modificações estruturais nos grupos farmacofóricos presente na série podem ter influenciado simultaneamente a capacidade de reconhecimento dos alvos e parâmetros associados à toxicidade predita. Essa dissociação entre afinidade molecular e perfil ADMET reforça a importância de estratégias da relação estrutura atividade na descoberta de fármacos, permitindo identificar compostos passíveis de otimização estrutural que possam favorecer a atividade biológica e à minimização de potenciais riscos toxicológicos. Assim, o CT-28 constitui um candidato relevante para ciclos subsequentes de planejamento molecular, nos quais a identificação dos determinantes estruturais responsáveis pelos alertas toxicológicos poderá ser um candidato ao desenvolvimento de novos fármacos com maior equilíbrio entre afinidade molecular e perfil de segurança (PINZI; RASTELLI, 2019; PIRES; BLUNDELL; ASCHER, 2015).



Em conjunto, os resultados demonstram que a abordagem integrada de docking molecular multitarget associada às predições ADMET constitui uma estratégia eficiente para priorização racional de candidatos antitumorais. Entre os derivados avaliados, CT-23 emerge como o candidato mais promissor para validações experimentais, apresentando o melhor equilíbrio entre afinidade molecular, perfil multitarget e segurança predita.

### Conclusões

Os resultados obtidos por meio da triagem *in silico* confirmam que a série de derivados sintéticos CT-21 a CT-30 possui potencial promissor como novos agentes antitumorais para o neuroblastoma de alto risco. A análise de docking multi-target revelou que todos os compostos apresentaram afinidade estrutural superior aos ligantes de referência para os alvos TrkB, CaMKII/CaMK2 e receptores AMPA, sugerindo que essas moléculas podem interagir de forma mais eficaz com os sítios alostéricos de proteínas críticas para a progressão tumoral, não apenas ocupando os sítios de ligação como também interagindo com aminoácidos responsáveis por iniciar a transdução de sinal intracelular. O composto CT-23 emergiu como o principal destaque da série, apresentando a melhor integração de scores nos três eixos moleculares avaliados. Essa superioridade simultânea sustenta sua priorização imediata para ensaios experimentais de viabilidade celular, visando confirmar sua eficácia na interrupção das cascatas de sinalização pró-sobrevivência. A confirmação experimental do potencial citotóxico e citostático desses derivados poderá viabilizar o desenvolvimento de terapias adjuvantes capazes de superar os desafios impostos pelos protocolos citotóxicos convencionais, transformando eixos mecanísticos associados à plasticidade sináptica em novas oportunidades de inovação terapêutica para pacientes pediátricos.

### Agradecimentos

À CAPES, pelo fomento, ao Núcleo de Pesquisa em Inovação Terapêutica Suely Galdino, aos meus co-orientadores e à minha orientadora, pelas contribuições que viabilizaram a execução deste trabalho.

### Referências

LUNDBERG, K. I.; TREIS, D.; JOHNSEN, J. I. Neuroblastoma heterogeneity, plasticity, and emerging therapies. **Current Oncology Reports**, v. 24, n. 8, p. 1053–1062, 2022.

BAGATELL, R. Updates in Neuroblastoma Treatment. **Journal of the National Comprehensive Cancer Network**, v. 22, supl., 2024.

LIU, T.; YIN, H.; HU, Q.; DONG, X.; XIN, B.; WU, Y.; HU, X.; YAN, W.; LI, Z. Small Molecule Compound DHPA Screened by Computer-Aided Drug Design and Molecular Dynamics Simulation Inhibits Neuroblastoma Cell Proliferation by Targeting TrkB. **ACS Omega**, v. 9, n. 41, p. 42227–42244, 2024.



SIDDI, C.; BALLA, J.; FADDA, P.; DEDONI, S. Epigenetic Regulation of Trk Receptors and Neurotrophic Signalling in Neuroblastoma: Mechanisms, Plasticity, and Therapeutic Opportunities. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 27, n. 7, p. 3238, 2026.

HUANG, L.; JIANG, S.; SHI, Y. Tyrosine kinase inhibitors for solid tumors in the past 20 years (2001-2020). **Journal of Hematology & Oncology**, v. 13, n. 1, p. 1–23,. 2020.

YASUDA, R.; HAYASHI, Y.; HELL, J. W. CaMKII: a central molecular organizer of synaptic plasticity, learning and memory. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 23, n. 11, p. 666–682, 2022.

QNEIBI, M.; BDIR, S.; BDAIR, M.; ALDWAIK, S. A.; HEEEH, M.; SANDOUKA, D.; IDAIS, T. Exploring the role of AMPA receptor auxiliary proteins in synaptic functions and diseases. **The FEBS Journal**, v. 292, n. 10, p. 2433–2478, 2025.

PINZI, L.; RASTELLI, G. Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 18, p. 4331, 2019.

PIRES, D. E. V.; BLUNDELL, T. L.; ASCHER, D. B. pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. **Journal of Medicinal Chemistry**, 2015.