

ANÁLISE DA INTERAÇÃO ENTRE O COMPOSTO 5-((4-METOXIFENIL) TIO) BENZO[C][1,2,5] TIADIAZOL (MTDZ) E A MONOAMINA OXIDASE (MAO) NA AÇÃO DO TIPO-ANTIDEPRESSIVA: ABORDAGEM *IN SILICO* E *EX VIVO*

MELIZA DA CONCEIÇÃO OLIVEIRA¹; KARLINE DA COSTA RODRIGUES²;
NELSOL LUIS DE CAMPOS DOMINGUES³; LUCIELLI SAVEGNAGO⁴; MARIANA
GALLIO FRONZA⁵; CRISTIANE LUCHESE⁶

¹UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS (UFPeL) – melizacoliveira@hotmail.com;

²UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS (UFPeL) – line.karline@hotmail.com; ³UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS – nelsondomingues@ufgd.edu.br; ⁴UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS (UFPeL) – marianagfronza@hotmail.com; ⁵UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS (UFPeL) – lucielisavegnago@yahoo.com.br; ⁶UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS (UFPeL) – cristiane_luchese@yahoo.com.br (orientadora).

1. INTRODUÇÃO

O transtorno depressivo maior (TDM) é uma condição neuropsíquica que frequentemente coexiste com outras condições médicas, resultando em consequências sociais e econômicas significativas (SCHMAAL et al., 2020). A compreensão das múltiplas vias fisiopatológicas da depressão ainda não está completamente elucidada. Portanto, diversas classes de medicamentos com propriedades antidepressivas são empregadas no tratamento deste transtorno (KENNY et al., 2014). Entre as categorias disponíveis, os inibidores da enzima monoamina oxidase (MAO) merecem destaque, pois sua inibição desencadeia efeitos antidepressivos essenciais, incluindo a preservação dos neurotransmissores e a inibição do catabolismo das monoaminas (FINBERG; RABEY, 2016; RAMSAY et al., 2020).

Os tratamentos atualmente disponíveis para a depressão estão associados a efeitos adversos significativos, incluindo náuseas, agitação e sedação, e podem levar meses para produzir os efeitos desejados (FABBRI; SERRETTI, 2020). Portanto, existe uma necessidade premente de buscar novas abordagens terapêuticas que ofereçam benefícios antidepressivos com menos limitações do que os tratamentos convencionais. Nosso grupo de pesquisa tem se dedicado a explorar uma abordagem inovadora em busca de um novo tratamento para a depressão, com resultados promissores.

Nesse contexto, o composto ((4-metoxifenil)tio)benzo[c][1,2,5]tiadiazol (MTDZ) tem se destacado, demonstrando a capacidade de inibir a atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE) *in vitro* no córtex cerebral de camundongos, além de exibir efeitos antinociceptivos e anti-amnésicos (DA COSTA RODRIGUES et al., 2022; DA MOTTA et al., 2022, 2023). É importante destacar que a disfunção colinérgica pode estar relacionada ao transtorno depressivo maior (TDM), contribuindo para o seu curso e predispondo a desregulação de outras funções neurobiológicas.

Com base nisso, inicialmente será realizada uma análise *in silico* da interação molecular entre o composto MTDZ e a afinidade de ligação a enzima MAO. Posteriormente, será investigada a ação da enzima MAO em estruturas cerebrais de camundongos, uma vez que estes parâmetros podem indicar um potencial efeito tipo-antidepressivo.

2. METODOLOGIA

O composto MTDZ (Fig.1) foi preparado e caracterizado por método previamente descrito (SANTOS et al., 2020). Para realização deste estudo foram utilizados camundongos adultos Swiss machos e fêmeas (25-35g). O experimento foi conduzido de acordo com as normas preconizadas pela Comissão de Ética em Experimentação Animal na Universidade Federal de Pelotas – UFPEL (CONCEA nº 8970-2021).

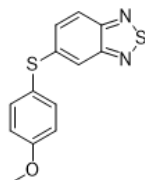


FIGURA 1. Estrutura química do 5-((4-metoxifenil)tio)benzo[c][1,2,5] tiodiazol (MTDZ).

Para observar a interação do composto MTDZ com as enzimas MAO, foi utilizado o software AutoDock Vina (versão 1.1.1). Primeiramente, a estrutura 2D do MTDZ foi desenhada e convertida para 3D (PETTERSEN et al., 2004). Para validar os protocolos de interação molecular, foi ancorado controles positivos, incluindo o inibidor duplo isocarboxazida, o inibidor seletivo de MAO-A clorgilina e o inibidor seletivo da MAO-B, selegilina. Através do software foi configurado todas as ligações rotativas dos ligantes para girar livremente, e os receptores de proteínas foram considerados rígidos (MORRIS et al., 2009). A preparação das proteínas consistiu na fixação de estruturas, exclusão de moléculas, íons e água, fixação de heterogrupos e, finalmente, otimização da estrutura usando cargas de Gasteiger com 500 etapas e minimização (TROTT; OLSON, 2009). Por fim, as interações proteína-ligante foram analisadas pelo software Discovery Studio Visualizer.

Para avaliar as atividades da MAO-A e MAO-B, um grupo de animais machos e fêmeas foram pré-tratados com MTDZ (10 mg/kg, i.g.) ou óleo de canola (controle, 10 mg/kg, i.g.), após 30 minutos foram eutanasiados e em seguida os córtices cerebrais e hipocampus foram removidos para análise *ex vivo*.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo de docagem molecular revelou uma possível inibição seletiva da enzima MAO pelo MTDZ. Para a avaliação da interação molecular, utilizou-se como controles positivos as moléculas de clorgilina, isocarboxazida e selegilina, que são medicamentos inibidores da MAO, apresentando afinidade de ligação com a enzima (Fig. 2).

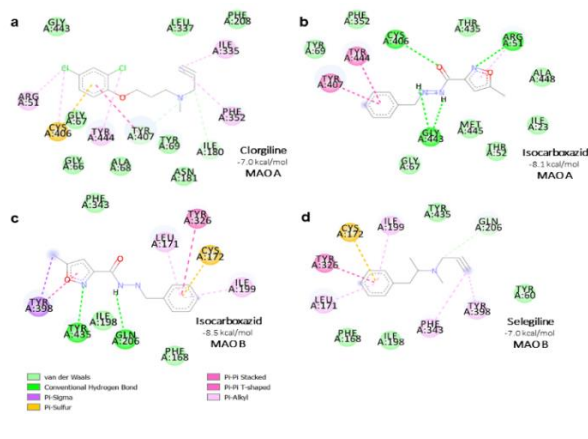


Figura 2. Demonstração da afinidade de ligação e interações ligante-proteína de (A) clorgilina e (B) isocarboxazida na isoforma MAO-A e (C) isocarboxazida e (D) selegilina na isoforma MAO-B.

O composto revelou uma notável afinidade de ligação com a MAO-A (Fig. 3A), estabelecendo várias interações significativas com o sítio de ligação do substrato. Essas interações incluem ligações de hidrogênio e a formação de uma ligação covalente com o grupo Pi-enxofre, que é uma parte crucial da flavina adenina dinucleotídeo (FAD). Além disso, a interação entre o complexo MAO-A e MTDZ envolve diversos resíduos de aminoácidos distintos. Por outro lado, observou-se que o MTDZ também interage com a MAO-B no sítio ativo (Fig. 3B), estabelecendo interações Pi-alquil, Pi-ânion e interações com o anel aromático, todas envolvendo o enxofre presente no MTDZ. Esses resultados sugerem a possibilidade de uma inibição seletiva da MAO-A pelo MTDZ, indicando um potencial de ação semelhante à antidepressiva. Esses achados destacam a importância dessas interações moleculares na compreensão do mecanismo de ação do MTDZ e seu potencial papel como agente antidepressivo seletivo.

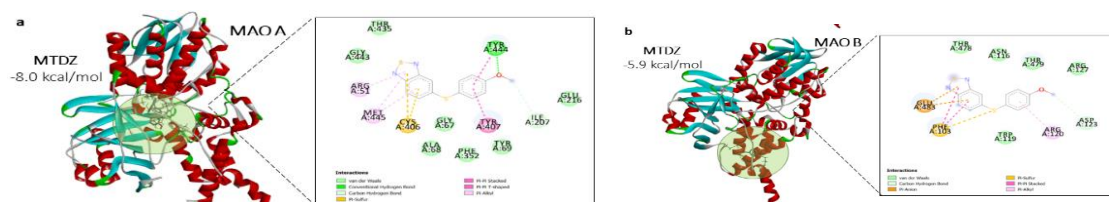


Figura 3. Previsão de afinidade de ligação e interações ligante-proteína de MTDZ nas isoformas (A) MAO-A e (B) MAO-B.

Através dos resultados obtidos, foi possível constatar que a administração do composto MTDZ resultou na diminuição da atividade da enzima MAO-A em duas importantes estruturas cerebrais: o córtex cerebral e o hipocampo (Fig. 4A e Fig. 4B, respectivamente). Em contrapartida, o tratamento com MTDZ não exerceu influência sobre a atividade da MAO-B em nenhuma das estruturas cerebrais avaliadas (Fig. 4C para córtex cerebral e Fig. 4D para hipocampo). Esses achados sugerem que o composto demonstrou habilidade seletiva na inibição da atividade da MAO-A, uma vez que essa enzima está frequentemente associada a pacientes com depressão. Dessa forma, essas descobertas podem contribuir para a compreensão do efeito do tipo-antidepressivo do MTDZ.

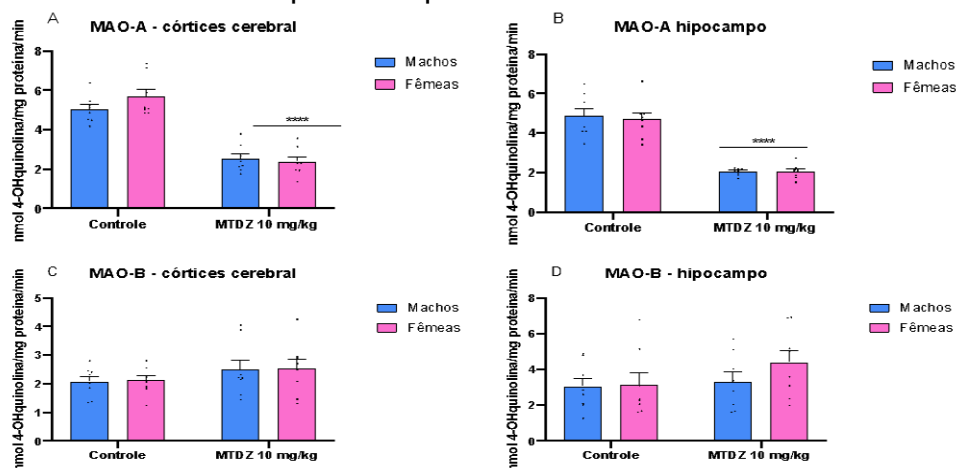


Figura 4. Efeito do 5-((4-metoxifenil)tio)benzo[c][1,2,5]tiodiazol (MTDZ) na atividade da Monoamina oxidase: (a) MAO-A em córtex cerebral; (b) MAO-A em

hipocampo; (c) MAO-B em córtices cerebral; (d) MAO-B em hipocampo. (****) indicam $p < 0,0001$, quando comparado ao grupo controle.

4. CONCLUSÕES

Finalmente, os resultados deste estudo demonstraram a inibição seletiva da isoforma A da MAO pelo MTDZ, por meio de análises tridimensionais, validando sua seletividade e os efeitos promissores associados. Além disso, os achados indicaram que o MTDZ apresentou potencial inibitório sobre a enzima MAO-A, sugerindo sua possível eficácia como agente antidepressivo. Esses resultados fornecem uma base sólida para futuras investigações mais detalhadas neste campo de estudo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DA COSTA RODRIGUES, K. et al. A new arylsulfanyl-benzo-2,1,3-thiadiazoles derivative produces an anti-amnesic effect in mice by modulating acetylcholinesterase activity. **Chemico-Biological Interactions**, v. 351, p. 109736, jan. 2022.
- DA MOTTA, K. P. et al. Target enzymes in oxaliplatin-induced peripheral neuropathy in Swiss mice: A new acetylcholinesterase inhibitor as therapeutic strategy. **Chemico-Biological Interactions**, v. 352, p. 109772, jan. 2022.
- DA MOTTA, K. P. et al. The Antinociceptive Responses of MTDZ to Paclitaxel-Induced Peripheral Neuropathy and Acute Nociception in Mice: Behavioral, Pharmacological, and Biochemical Approaches. **Pharmaceuticals**, v. 16, n. 9, p. 1217, 29 ago. 2023.
- FABBRI, C.; SERRETTI, A. Clinical application of antidepressant pharmacogenetics: Considerations for the design of future studies. **Neuroscience Letters**, v. 726, p. 133651, maio 2020.
- FAN, Y.; ZHANG, Q. Development of liposomal formulations: From concept to clinical investigations. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 8, n. 2, p. 81–87, abr. 2013.
- FINBERG, J. P. M.; RABEY, J. M. Inhibitors of MAO-A and MAO-B in Psychiatry and Neurology. **Frontiers in Pharmacology**, v. 7, 18 out. 2016.
- KENNY, O. et al. Investigating the potential of under-utilised plants from the Asteraceae family as a source of natural antimicrobial and antioxidant extracts. **Food Chemistry**, v. 161, p. 79–86, out. 2014.
- MORRIS, G. M. et al. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. **Journal of Computational Chemistry**, v. 30, n. 16, p. 2785–2791, dez. 2009.
- PETTERSEN, E. F. et al. UCSF Chimera?A visualization system for exploratory research and analysis. **Journal of Computational Chemistry**, v. 25, n. 13, p. 1605–1612, out. 2004.
- RAMSAY, R. R. et al. Parameters for Irreversible Inactivation of Monoamine Oxidase. **Molecules**, v. 25, n. 24, p. 5908, 13 dez. 2020.
- SANTOS, B. F. et al. Efficient palladium-catalyzed C-S cross-coupling reaction of benzo-2,1,3-thiadiazole at C-5-position: A potential class of AChE inhibitors. **Applied Organometallic Chemistry**, v. 34, n. 7, jul. 2020.
- SCHMAAL, L. et al. ENIGMA MDD: seven years of global neuroimaging studies of major depression through worldwide data sharing. **Translational Psychiatry**, v. 10, n. 1, p. 172, dez. 2020.
- TROTT, O.; OLSON, A. J. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. **Journal of Computational Chemistry**, p. NA-NA, 2009.