

POTENCIAL DE INTERAÇÃO DE DERIVADOS DE TIOUREIAS COM AS ISOFORMAS MAO-A E MAO-B *IN VITRO* E *IN SILICO*

ANA LUIZA SCHÖFFEL¹; PÂMELLA DA COSTA²; MARIANA PARRON PAIM³;
MARCUS MANDOLESÍ SÁ⁴; CRISTIANI FOLHARINI BORTOLATTO⁵

¹Universidade Federal de Pelotas – analuizaschoffel@icloud.com

²Universidade Federal de Pelotas – pamelladacosta2002@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – maa_paim@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Santa Catarina – marcus.sa@ufsc.br

⁵Universidade Federal de Pelotas – cbortolatto@gmail.com.

1. INTRODUÇÃO

A monoamina oxidase (MAO) é uma enzima mitocondrial dependente de flavina (FAD) que catalisa a oxidação de aminas em iminas, as quais são posteriormente hidrolisadas pela água, resultando na formação de aldeídos ou cetonas, com consumo de oxigênio e liberação de peróxido de hidrogênio (COSTA, 2016). Essa enzima desempenha papel central na desaminação oxidativa de diversas aminas biogênicas, apresentando duas isoformas principais: MAO-A e MAO-B. A primeira oxida preferencialmente norepinefrina (NE) e serotonina, enquanto a segunda atua principalmente sobre a feniletilamina (PEA) (SHIH; CHEN; RIDD, 1999). A inibição da MAO tem relevância terapêutica, pois impede a degradação de neurotransmissores, aumentando sua disponibilidade sináptica (HIRSH; BIRNBAUM, 2023).

Nesse contexto, os sais de isotiourônio, por exemplo, têm sido empregados em estudos farmacológicos por apresentar atividade antitumoral e antimicrobiana, além de serem reportados como inibidores de proteínas quinases e antagonistas de receptores GABA (FERREIRA, 2015). Ademais, compostos aciltiouréicos apresentam muitas aplicações na agricultura, ciência e na indústria farmacêutica (SELCUK et al, 2024).

Assim, este estudo buscou investigar, por estratégias *in silico* e *in vitro*, a interação de três derivados de tioureia (**19**, **20** e **21**) com as isoformas MAO-A e MAO-B, com o intuito de identificar potenciais inibidores dessas enzimas.

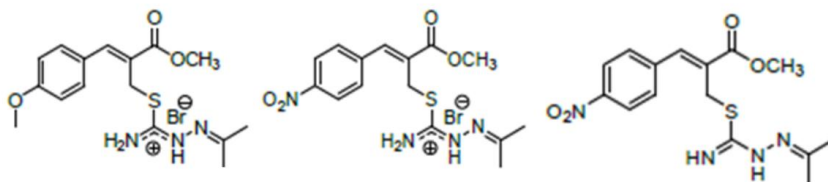


Figura 1. Estrutura química dos compostos **19**, **20** e **21**, respectivamente.

2. METODOLOGIA

2.1 Compostos e animais: Os compostos bromidrato de (4E,8Z)-5-amino-3,4-diaza-2-metil-8-metoxycarbonil-9-(4-metoxifenil)-6-tianona 2,4,8-trieno (**19**), bromidrato de (4E,8Z)-5-amino-3,4-diaza-2-metil-8-metoxycarbonil 9-(4-nitrofenil)-6-tianona-2,4,8 trieno (**20**) e (4E,8Z)-5-amino-3,4-diaza-2-metil-8-metoxycarbonil-9-(4-nitrofenil)-6-tianona-2,4,8-trieno (**21**) foram sintetizados no Laboratório

Laboratório de Metodologia e Síntese Orgânica (MESOLab) da Universidade Federal de Santa Catarina (FERREIRA et al., 2017) e dissolvidos em DMSO para os ensaios. Foram utilizados cérebros de ratos Wistar (250-300g) provenientes do Biotério Central da UFPEL. Todos os procedimentos seguiram rigorosamente as normas e diretrizes da Comissão de Ética no Uso de Animais (nº 23110.042314/2023-32) da UFPEL.

2.2 Docking Molecular: As estruturas dos compostos foram desenhadas no ChemDraw, otimizadas no Avogrado e preparadas no AutoDock Tools (ADT). As estruturas das enzimas MAO-B (PDB ID: 1GOS) (ZHENG et al., 2022) e MAO-A (PDB ID: 2Z5X) (MATEEV et al., 2023), ambas humanas, foram obtidas do Protein Data Bank e preparadas no PyMOL, Chimera e ADT. O *docking* foi realizado com o AutoDock Vina, e as energias de ligação entre ligante e receptor foram analisadas.

2.3 Atividade da MAO-A e MAO-B cerebral *in vitro*: O efeito dos compostos foram avaliados sobre a atividade das enzimas MAO-A e MAO-B de cérebro de ratos nas concentrações de 5 a 200µM. As amostras foram incubadas a 37 °C com pargilina para MAO-A e clorgilina para MAO-B seguidas da adição de DMSO ou do controle positivo (clorgilina para MAO-A e pargilina para MAO-B) com pré-incubação de 10 minutos. Em seguida, adicionou-se o substrato quinuramina (2.7 mM para MAO-A e 1.8 mM para MAO-B), incubando por 30 minutos. A reação foi interrompida com ácido tricloroacético (TCA) 10%, centrifugada e o sobrenadante transferido para uma solução de NaOH 1 M. A fluorescência foi lida em excitação 315 e emissão nm 380 nm, e os resultados expressos em nmol de 4-hidroxiquinolina/mg de proteína/minuto (SOTO-OTERO et al., 2001).

2.4 Análise Estatística: A análise estatística foi realizada no GraphPad Prism 8.0.2. Aplicou-se ANOVA de uma via seguida pelo teste *post hoc* de Newman-Keuls. Os dados foram apresentados como média ± E.P.M., com significância em $p \leq 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da energia de ligação dos compostos estudados (**19**, **20** e **21**) com as isoformas da MAO, demonstrados na Tabela 1, indicam que os três compostos apresentam energias de ligação negativas para MAO-A e MAO-B, sugerindo afinidade de interação potencialmente relevante com ambas as isoformas.

O composto **20** apresentou as menores energias de ligação (-9,363 kcal/mol para MAO-A e -9,185 kcal/mol para a MAO-B), indicando afinidade relativa superior, enquanto os compostos **19** e **21** exibiram valores próximos e menos favoráveis, embora ainda biologicamente significativos.

Tabela 1. Energia de ligação dos compostos com as enzimas MAO-A e MAO-B

| Composto | Energia de ligação | |
|-----------|--------------------|-----------------|
| | MAO-A | MAO-B |
| 19 | -8.549 kcal/mol | -8.611 kcal/mol |
| 20 | -9.363 kcal/mol | -9.185 kcal/mol |
| 21 | -8.745 kcal/mol | -8.891 kcal/mol |

Os resultados do teste da atividade da MAO-A e MAO-B cerebral *in vitro*, mostrados na Figura 2, revelaram um impacto significativo dos compostos para

isoforma MAO-A, ilustrado pelas figuras 2A, 2B e 2C, respectivamente, ($F_{(7,16)} = 14,19$; $F_{(7,16)} = 27,05$; $F_{(7,16)} = 22,88$; $p < 0,001$). Em comparação ao controle, o composto **19** inibiu a atividade da enzima de 100 a 200 μM , o **20** de 50 a 200 μM e o **21** de 5 a 200 μM . A clorgilina, controle positivo, mostrou atividade inibitória em todos os ensaios.

A ANOVA de uma via, também mostrou resultados significativos dos compostos com a isoforma MAO-B, ilustrado pelas figuras 2D, 2E e 2F, respectivamente ($F_{(7,16)} = 48,38$; $F_{(7,16)} = 22,88$; $F_{(7,16)} = 51,13$; $p < 0,001$). O composto **19** e **20** inibiu a atividade da enzima de 5 a 200 μM (comparado ao controle) e o **21** nas concentrações de 10 a 200 μM . A pargilina, controle positivo, mostrou atividade inibitória em todos os ensaios.

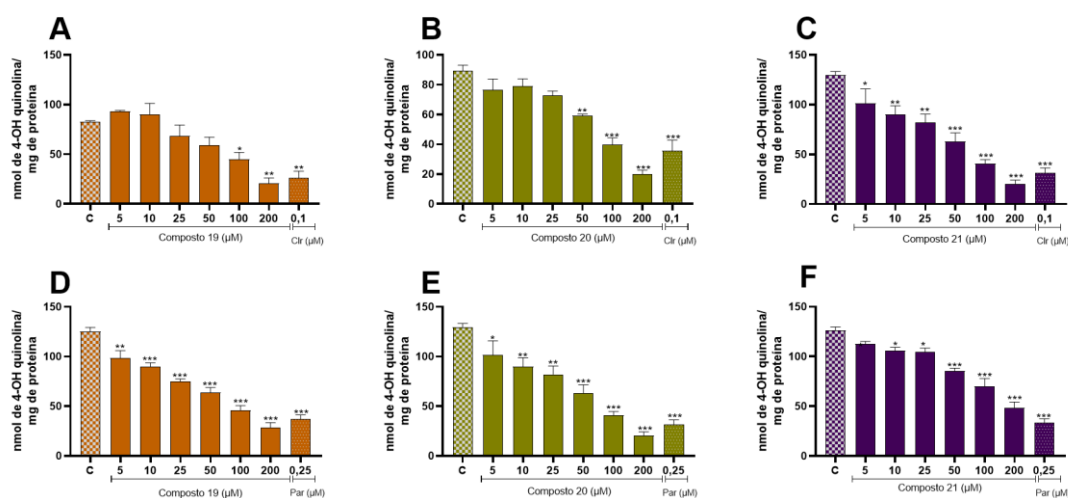


Figura 2. Ação inibitória dos compostos **19**, **20**, **21** sobre as isoformas MAO-A e MAO-B em cérebro de ratos *in vitro*. As figuras A, B e C representam a dosagem de MAO-A, enquanto as figuras D, E e F a dosagem de MAO-B, para os compostos **19**, **20** e **21**, respectivamente. Os resultados estão representados em média \pm EPM ($n = 3$ experimentos independentes) e foram analisados por ANOVA de uma via e teste *post hoc* de Newman-Keuls. * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ e *** $p \leq 0,001$ comparado ao controle (C). Abreviações: C: controle; Clr: clorgilina; Par: Pargilina.

Os compostos **19**, **20** e **21** demonstraram inibição significativa das isoformas MAO-A e MAO-B cerebral de forma dependente da concentração. O composto **21** se destacou na MAO-A, apresentando efeito já a partir de 5 μM , indicando maior potência em relação aos demais (o **20** a partir de 50 μM e o **19** a partir de 100 μM). Para a MAO-B, o composto **19** e **20** se mostraram mais eficazes, inibindo a enzima a partir de 5 μM , seguido 21 que atuou a partir de 10 μM . Esses resultados evidenciam diferenças claras seletividade entre os compostos, sendo o composto 21 apresentou maior seletividade para MAO-A e os compostos 19 e 20 apresentaram maior seletividade com a MAO-B.

Os resultados de *docking* e os ensaios enzimáticos mostraram concordância parcial. O composto **20** apresentou as menores energias de ligação para MAO-A e MAO-B, indicando forte interação. Porém, experimentalmente, o composto **21** mostrou maior potência no ensaio da MAO-A e os **19** e **20** para MAO-B, refletindo diferenças de seletividade *in vitro*. Essa diferença pode estar ligada à solubilidade, estabilidade e limitações das simulações em reproduzir condições biológicas reais.

4. CONCLUSÕES

Os resultados indicam que as moléculas avaliadas (sais de isotiourônio e N-acilisotioureia) inibem ambas as isoformas da enzima MAO, tanto *in vitro* quanto *in silico*, sugerindo uma possível ação neuroprotetora desses compostos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COSTA, Jonas Henrique. **Triagem de monoamina oxidase e transaminase em fungos isolados da pele humana**. 2016. 1 recurso online (75 p.) Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas, SP. Disponível em: 20.500.12733/1629338. Acesso em: 1 ago. 2025.

FERREIRA, M. **Preparação de sais de isotiourônio a partir de brometos alílicos e tioureias: avaliação da atividade antitumoral e aplicações na síntese de 2-iminotiazolidinas e derivados**. 2015. Tese - Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina.

FERREIRA, M. et al. Allylic isothiuronium salts: The discovery of a novel class of thiourea analogues with antitumor activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.129, n.31, p.151-158, 2017.

HIRSCH, M.; BIRNBAUM, R. **Monoamine oxidase inhibitors (MAOIs): Pharmacology, administration, safety, and side effects**. UpToDate, Inc., 2021. Acesso em: 1 ago. 2025.

MATEEV, E. et al. Structure-Based Design of Novel MAO-B Inhibitors: a review. **Molecules**, [S.L.], v. 28, n. 12, p. 4814, 16 jun. 2023. MDPI AG.

SELCUK, O.; et al. Acyl thiourea derivatives: Versatile tools for chemosensing and heavy metal remediation. In: Lim TT.; Vilar V. **Journal of Environmental Chemical Engineering**. Elsevier, 2024.

SHIH, J.C.; CHEN K.; RIDD, M.J. Monoamine Oxidase: From genes to Behavior. In: BROMFIELD, H. **Annual Review of Neuroscience**. Alexandria: Elsevier, 1999. Cap. 22, p. 197-217.

SOTO-OTERO, R., et al. Inhibition of brain monoamine oxidase activity by the generation of hydroxyl radicals Potential implications in relation to oxidative stress. **Life Sciences**, v. 69, n. 8, p. 879-889, 2001.

ZHENG, L. et al. Discovery of MAO-B Inhibitor with Machine Learning, Topomer CoMFA, Molecular Docking and Multi-Spectroscopy Approaches. **Biomolecules**, [S.L.], v. 12, n. 10, p. 1470, 13 out. 2022. MDPI AG.