



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA

EMANUELLE MACHADO MARINHO

**QUÍMICA COMPUTACIONAL APLICADA AO ESTUDO DO POTENCIAL
MODULATÓRIO SOBRE ADENOSINA A1 DE ALCALOIDES CARBAZÓLICOS**

FORTALEZA

2024

EMANUELLE MACHADO MARINHO

**QUÍMICA COMPUTACIONAL APLICADA AO ESTUDO DO POTENCIAL
MODULATÓRIO SOBRE ADENOSINA A1 DE ALCALOIDES CARBAZÓLICOS**

Monografia submetida à coordenação do
Curso de Bacharelado em Química, da
Universidade Federal do Ceará, como um dos
requisitos para obtenção do grau de Bacharel
em Química com Habilitação Química.
Local do estágio: Núcleo de Estudos
Ambientais (NEA)

Orientador: Prof. Dr. Pedro de Lima Neto.
Coorientador: Prof. Dr. Francisco Wagner de
Queiroz Almeida Neto.

Fortaleza

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- M29q Marinho, Emanuelle Machado.
Química computacional aplicada ao estudo do potencial modulatório sobre adenosina a1 de alcaloides carbazólicos / Emanuelle Machado Marinho. – 2024.
66 f. : il. color.
- Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Curso de Química, Fortaleza, 2024.
Orientação: Prof. Dr. Pedro de Lima Neto.
Coorientação: Prof. Dr. Francisco Wagner de Queiroz Almeida Neto.
1. Carbazomicinas. 2. Receptor Adenosina A1. 3. Doença de Parkinson. 4. Docking molecular. 5. Química quântica. I. Título.

CDD 540

EMANUELLE MACHADO MARINHO

QUÍMICA COMPUTACIONAL APLICADA AO ESTUDO DO POTENCIAL
MODULATÓRIO SOBRE ADENOSINA A1 DE ALCALOIDES CARBAZÓLICOS

Monografia submetida à coordenação do
Curso de Bacharelado em Química, da
Universidade Federal do Ceará, como um dos
requisitos para obtenção do grau de Bacharel
em Química com Habilitação Química.

Aprovada em: __/__/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Pedro de Lima Neto (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Francisco Wagner de Queiroz Almeida Neto
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

Prof. Dr. Francisco Rogenio da Silva Mendes
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

A Deus.

Aos meus pais, Emmanuel e Márcia.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por me dar forças para continuar me abençoando durante toda a minha jornada e por ter me agraciado com milagres que jamais vou esquecer ou deixar de agradecer.

Ao meu orientador, professor Pedro de Lima Neto, que me deu uma chance e mesmo depois de todas as falhas nunca deixou de me ajudar, sempre esteve ao meu lado. Um professor que hoje eu considero família, obrigada por tudo, meu eterno “chefinho”.

Ao meu pai, Emmanuel Silva Marinho, meu herói, que desde sempre fez de tudo para que eu tivesse um bom futuro. Que trabalha todos os dias visando abrir caminho e criar oportunidades, oportunidades que ele nunca teve. Que trabalha a semana inteira, mesmo assim dá uma atenção especial para todos os filhos. Que mesmo estando cansado, passa horas na cozinha preparando um almoço para reunir a família. Que tenta resolver tudo o que deve para poder ir à praia com a família e catar conchas com as filhas. Que mesmo quando não tinha condição, fez uma assinatura cara de revistinhas, só porque a filha amava ler, e continuou assinando durante muitos anos. Que mesmo quando não tinha muito ligava para filha perguntando se ela queria o novo The Sims que tinha acabado de lançar, pois sabia que era uma das paixões dela. Que durante minha vida acadêmica deu todo o suporte e condições para que eu seguisse em frente, sempre lembrando que mesmo se algo desse errado, ele estaria sempre ali para me colocar de volta nos trilhos, com muito carinho e amor. Que como seu nome já diz “*Deus Conosco*”, carrega Deus consigo em tudo que faz, mesmo sofrendo intolerância, julgamento e escárnio, mas é como diz a música “*Sendo humilhado todo dia por um cara/ Que se achava zilhões de vezes melhor do que eu?/ Sendo que, na verdade, era inveja/ Pois todos diziam que eu tinha talento/ Porque Deus me escolheu*”. Assim como Mufasa deu a vida para salvar Simba, sei que ele faria o mesmo por mim, sem nem ao menos pensar duas vezes.

À minha mãe, Márcia Machado Marinho, que desde sempre foi a minha melhor amiga, seja para resolver um problema, contar como foi seu dia, sair para assistir um filme no cinema, provar um doce ou dar uma volta no shopping. Que tem um riso que contagia, e leva embora qualquer estresse do dia. Que mesmo com doenças e em momentos que pareciam não levar a um final feliz, Deus mostrou a luz no final do túnel, como diz a música “*Já vi Deus fazendo milagres que eu não esperava/ E me entregando uma bênção maior do que a que eu desejava*”.

Aos meus irmãos, Luiz Emmanuel e Ana Márcia, meus dois presentes de Deus, que me lembram o porquê de seguir em frente, me motivando a cada dia ser um exemplo melhor, que me incentivam a estudar mais para continuar passando o meu conhecimento e continuar dando suporte em toda a jornada de vocês.

À minha tia, Gabrielle Silva Marinho, e minha avó Jumira Silva Marinho, por todo o apoio e amor que me deram, sempre buscando a minha alegria e pedindo a Deus que me ajude no meu caminho. Agradeço também pela minha mochila de gatinho que mesmo de 5 anos ainda segue firme e forte, pronta para aguentar comigo o mestrado.

À minha querida Sil, Silvânia Felismino, por sempre puxar minha orelha nos momentos em que pensava em parar ou desistir, nas palavras dela “Estude não para você ver!”.

À minha querida professora, Janete Eliza Soares de Lima por todos os conselhos, boas palavras, ensinamentos e risadas. Uma pessoa que eu guardo no coração com muito carinho e respeito. Que o futuro que nos aguarda seja ainda mais repleto de alegria e momentos bons.

Ao meu “irmão de coração”, Francisco Wagner de Queiroz Almeida Neto, que está sempre presente para tudo, um presente que a UFC me deu, um amigo para a vida toda.

Ao meu “tio”, Francisco Rogênio da Silva Mendes, por aceitar participar dessa vitória na minha vida, sempre presente para ajudar e alegrar nos momentos difíceis.

Ao meu professor da graduação, Paulo Naftali da Silva Casciano, por toda a ajuda em todo o período em que foi coordenador do curso.

Ao meu eterno “recruta”, Victor José Magalhães da Silva, meu companheiro de disciplinas e laboratório, sempre com um sorriso no rosto e rindo. Que você tenha muito sucesso e alegria nesse novo caminho que você está trilhando.

Aos meus colegas de laboratório, Matheus Nunes da Rocha, Caio Henrique Alexandre Roberto, Francisco Nithael Melo Lucio e Victor Moreira de Oliveira, por toda ajuda na realização desse trabalho.

Aos meus avôs, Manoel Marinho e Gerardo Machado, à minha tia avó Germana “tia Çeça”, e a minha irmã Germana Machado Marinho, que infelizmente não poderão presenciar essa vitória comigo, mas que serão para sempre lembrados nas minhas memórias e no meu coração.

À minha avó Rita, meus tios, Gerardo, Danilo, Renata, Conceição, Clomilson, Adriana e Olavo, meus primos, Yuri, Igor, Marcelo, Davi, Isabela, Bruna, Samuel, Clomilson, Jéssica e Bento, por todo carinho, momentos de descontração e apoio.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de iniciação científica.

“O ontem é história, o amanhã é um mistério,
mas o hoje é uma dádiva, é por isso que se
chama presente.” (Mestre Oogway).

RESUMO

A doença de Parkinson (DP) pertence à classe das doenças neurodegenerativas por induzir danos irreversíveis à estrutura cerebral, pela oxidação de neurotransmissores fundamentais para seu funcionamento. A DP, especificamente, se caracteriza por causar sintomas motores como tremores e rigidez muscular nos pacientes acometidos. Apesar das terapias existentes, baseados em inibidores de monoamina oxidase B, pesquisadores revelaram uma forte correlação que os receptores de adenosina A_1 e $A_{2A}R$ na inibição do efeito de recaptção de íons e de dopamina estriatal intracelular observada em ratos. Nesta premissa, as carbazomicinas são farmacóforos reivindicados para elaboração de substâncias ativas no sistema nervoso central (SNC) com efeito terapêutico promissor, uma vez que são derivados de carbazóis relatados na atividade anti-inflamatória neural e atividade neuroprotetora. Desta forma, o objetivo deste estudo é explorar as propriedades estruturais, eletrônicas e de bioatividade modulatória de receptores de adenosina A_1 de uma série de derivados de carbazomicina substituídas (**CCB1-4**). Para isso, foram realizadas uma otimização estrutural a nível quântico pela Teoria do Funcional da Densidade (DFT) para análise de seus descritores de reatividade global, enquanto uma abordagem de triagem virtual baseada em estrutura conduziu as simulações de *docking molecular* e dinâmica molecular dos derivados de **CCB1-4** em complexo com o receptor de adenosina A_1 . Os resultados mostraram que os diferentes ambientes (água, DMSO e clorofórmio) não afetaram drasticamente a reatividade dos derivados **CCB1-4**, visto pelos cálculos de DFT utilizando a base 6-31++G(d,p) double- ζ . O teste de predição do alvo, guiado pela estratégia de triagem virtual baseada em estrutura, mostrou que a natureza heteroaromática dos **CCB1-4** conduz uma similaridade estrutural com outras bases nitrogenadas moduladoras de receptores A_1R , incluindo o próprio ligante endógeno adenosina (ADN). Assim, as simulações de *docking molecular* estimaram uma maior afinidade do derivado **CCB3** ao receptor, com valor calculado de $-8,6 \text{ kcal.mol}^{-1}$, ao se ligar no sítio do agonista ADN. Corroborando a isso, as simulações de dinâmica molecular mostraram que o composto se liga ao alvo de forma estável, com energia livre de ligação em torno de $-25,9 \text{ kcal.mol}^{-1}$. Estes resultados sugerem que o **CCB3** pode antagonizar a ligação da ADN em seus receptores, efeito associado a moduladores de A_1R no tratamento da DP.

Palavras-chave: Carbazomicinas; Receptor Adenosina A_1 ; Doença de Parkinson; Docking molecular; Química quântica.

ABSTRACT

Parkinson's disease (PD) belongs to the class of neurodegenerative diseases because it induces irreversible damage to the brain structure through the oxidation of neurotransmitters that are essential for its functioning. PD, specifically, is characterized by causing motor symptoms such as tremors and muscle stiffness in affected patients. Despite existing therapies based on monoamine oxidase B inhibitors, researchers have revealed a strong correlation between adenosine A₁ and A_{2A}R receptors in inhibiting the ion reuptake effect and intracellular striatal dopamine observed in rats. In this premise, carbazomicins are pharmacophores claimed for elaborating active substances in the central nervous system (CNS) with promising therapeutic effect, since they are carbazole derivatives reported in neural anti-inflammatory activity and neuroprotective activity. Thus, this study aims to explore the structural, electronic and modulatory bioactivity properties of adenosine A₁ receptors of a series of substituted carbazomicin derivatives (**CCB1-4**). For this purpose, a structural optimization at the quantum level by Density Functional Theory (DFT) was performed to analyze their global reactivity descriptors. At the same time, a structure-based virtual screening approach was used to conduct *molecular docking* and molecular dynamics simulations of **CCB1-4** derivatives in complex with the adenosine A₁ receptor. The results showed that the difference in different environments (water, DMSO and chloroform) does not drastically affect the reactivity of CCB1-4 derivatives, as seen by DFT calculations using the 6-31++G(d,p) double- ζ base. The target prediction test, guided by the structure-based virtual screening strategy, showed that the heteroaromatic nature of **CCB1-4** leads to structural similarity with other nitrogenous bases modulating A₁R receptors, including the endogenous ligand adenosine (ADN). Thus, molecular docking simulations estimated a higher affinity of the CCB3 derivative to the receptor, with a calculated value of -8.6 kcal/mol, when binding to the DNA agonist site. Corroborating this, molecular dynamics simulations showed that the compound stably binds to the target, with a binding free energy of approximately -25.9 kcal/mol. These results suggest that **CCB3** can antagonize DNA binding to its receptors, an effect associated with A₁R modulators in treating PD.

Keywords: Carbazomicins; Adenosine A₁ receptor; Parkinson's disease; Molecular docking; Quantum chemistry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Representação bidimensional da estrutura química dos derivados de clorcarbazomicina 1-4 (CCB1-4)	15
Figura 2	– Representação tridimensional da estrutura otimizada dos derivados CCB1-4 em Água	27
Figura 3	– Orbitais de fronteira HOMO e LUMO e energia de gap (Egap) dos derivados de CCB1-4	28
Figura 4	– Valores do descritor multifílico para cada átomo do derivado CCB1	33
Figura 5	– Valores do descritor multifílico para cada átomo do derivado CCB2	33
Figura 6	– Valores do descritor multifílico para cada átomo do derivado CCB3	34
Figura 7	– Valores do descritor multifílico para cada átomo do derivado CCB4	34
Figura 8	– Potencial Eletrostático Molecular calculado em água para as clorcarbazomicinas CCB1-4	35
Figura 9	– Distribuição relativa da bioatividade dos derivados CCB1-4 por classes de alvos biológicos	37
Figura 10	– (A) Energia de afinidade (EA) obtida ao fim das simulações de molecular docking, (B) encaixe dos derivados CCB1-4 relação à ADN no receptor A ₁ R, e detalhes das interações ligante-receptor da (C) ADN e dos (D) derivados CCB1-4	38
Figura 11	– Contribuições estruturais nas interações ligante-receptor entre os derivados (A) CCB1, (B) CCB2, (C) CCB3 e (D) CCB4 e os resíduos de aminoácido do sítio ativo do receptor A ₁ R	40
Figura 12	– Variações de RMSD (A) Sistema formado com a presença do receptor A ₁ R, (B) variações conformacionais com o inibidor cocristalizado e (C) Valores de RMSD para o sistema formado com o ligante CCB3	43
Figura 13	– Flutuações de resíduos de aminoácidos do receptor alvo (linha preta) o receptor A ₁ R sem a presença de ligante, (linha vermelho) sistema formado com a presença do complexo ADN-A ₁ R e (linha verde)	45

flutuações do complexo CCB3-A₁R

- Figura 14 – Ocupação das ligações de hidrogênio, (A) Ligações de hidrogênio formadas com o composto ADN e A₁R, (B) percentual das ligações de hidrogênio existentes entre o composto CCB3 e o receptor A₁R 47
- Figura 15 – Visualização das variações dos sistemas por DM: (A) sistema formado com a presença do receptor A₁R, (B) sistema para o complexo ADN-A₁R, (C) complexo CCB3-A₁R 50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Descritores de reatividade dos análogos CCB1-4 baseados nas propriedades de HOMO e LUMO	30
Tabela 2	· Similaridade 2D com compostos moduladores de GPCRs a partir da triagem virtual baseada em ligantes	36
Tabela 3	– Dados das simulações de <i>molecular docking</i> expressos em RMSD e energia de afinidade (E_A) e detalhes das interações ligante-receptor expressos em tipo, resíduo e distância	40
Tabela 4	– Valores referente ao MM/GBSA, para os sistemas ADN-A ₁ R e CCB3-A ₁ R	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADN	Adenosina
A ₁ R	Adenosina A1
A _{2A} R	Adenosina A2A
AGL	Algoritmo Genético Lamarckiano
ASP5854	5-[5-amino-3-(4-fluorofenil) pirazina-2-il]-1-isopropilpirabina-2(1H)- ona
CCB1-4	Derivados de clorcarbazomicina 1-4
DFT	Teoria do Funcional da Densidade
DM	Dinâmica molecular
DP	Doença de Parkinson
EA	Afinidade eletrônica
SNC	Sistema nervoso central
FMO	Orbitais moleculares de fronteira
GPCR	<i>G protein-coupled receptor</i>
HOMO	<i>Highest Occupied Molecular Orbital</i>
IE	Energia de ionização
IEF-PCM	Formalismo de Equação Integral - Modelo Contínuo Polarizável
LUMO	<i>Lowest Unoccupied Molecular Orbital</i>
MAOB	Monoamina Oxidase B
MEP	Potencial eletrostático molecular
MM/GBS	Molecular Mechanics of Generalized Born Surface Area
MPTP	1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina
RMSD	Root Mean Square Deviation
RMSF	Root Mean Square Fluctuation
XTD	{2-amino-4-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]tiophen-3-yl}(4- chlorophenil)methanone

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	Objetivo geral	16
2.2	Objetivos específicos	16
3	REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1	Doença de Parkinson	17
3.2	Carbazomicinas	18
3.3	Modelagem molecular	19
4	MATERIAIS E MÉTODOS	21
4.1	Cálculos computacionais de química quântica	21
4.2	Triagem de predição do alvo	23
4.3	Simulações de <i>docking molecular</i>	23
4.4	Simulações de dinâmica molecular	24
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5.1	Cálculos computacionais de química quântica	27
<i>5.1.1</i>	<i>Otimização estrutural</i>	27
<i>5.1.2</i>	<i>Propriedades eletrônicas</i>	27
<i>5.1.3</i>	<i>Funções condensadas de Fukui</i>	31
<i>5.1.4</i>	<i>Potencial eletrostático molecular</i>	34
5.2	Triagem de predição do alvo	36
5.3	Simulações de <i>Docking Molecular</i> com o receptor A₁R	37
5.4	Simulações de dinâmica molecular	41
<i>5.4.1</i>	<i>Análises das variações de RMSD</i>	41
<i>5.4.2</i>	<i>Variações das flutuações por RMSF</i>	44
<i>5.4.3</i>	<i>Análises de ocupação de H-Bond</i>	46
<i>5.4.4</i>	<i>Cálculos de energia livre por MM/GBSA</i>	48
<i>5.4.5</i>	<i>Visualização dos sistemas por DM</i>	49
6	CONCLUSÃO	51
	REFERÊNCIAS	52
	ANEXO A – Estruturas otimizadas nos ambientes CHCl₃, DMSO e Metanol.	58

ANEXO B – Orbitais moleculares HOMO e LUMO nos demais solventes para CCB1.	59
ANEXO C – Orbitais moleculares HOMO e LUMO nos demais solventes para CCB2.	60
ANEXO D – Orbitais moleculares HOMO e LUMO nos demais solventes para CCB3.	61
ANEXO E – Orbitais moleculares HOMO e LUMO nos demais solventes para CCB4.	62
ANEXO F – MEP nos demais solventes para os derivados CCB1 e CCB2.	63
ANEXO G – MEP nos demais solventes para os derivados CCB3 e CCB4.	64

1 INTRODUÇÃO

A Doença de Parkinson (DP) é uma condição neurológica progressiva, caracterizada pela degeneração de áreas específicas do cérebro e associada a sintomas motores e não motores. Entre os sintomas motores, destacam-se rigidez muscular, tremores e instabilidade postural. Já os sintomas não motores envolvem disfunções autonômicas, como constipação intestinal e hipotensão ortostática, as quais, além de impactarem a qualidade de vida, podem favorecer o surgimento de distúrbios psiquiátricos, como depressão e ansiedade (FUNAYAMA *et al.*, 2023).

A DP apresenta um desenvolvimento gradual e sua progressão é acelerada com o avanço da idade, sendo esta considerada um fator de risco relevante. A exposição a fatores ambientais, como pesticidas, substâncias químicas e metais pesados, tem sido associada ao aumento do risco de DP, uma vez que esses agentes podem promover a destruição dos neurônios dopaminérgicos. Dessa forma, a minimização da exposição a esses agentes ambientais é recomendada como medida preventiva (KANWAR RAJAWAT; BHARDWAJ; MATHUR, 2022).

Embora o mecanismo de inibição da Monoamina Oxidase B (MAOB) seja o alvo mais comumente relatado para o tratamento da DP, estudos recentes mostraram que o efeito antagonista de receptores de adenosina A₁ (A₁R) receptores de adenosina A_{2A} (A_{2A}R), pertencente a classe dos receptores acoplados à proteína G (GPCR, do inglês *G Protein-Coupled membrane Receptor*), apresentaram uma forte correlação terapêutica com o transtorno (WANG *et al.*, 2021; YAN *et al.*, 2003).

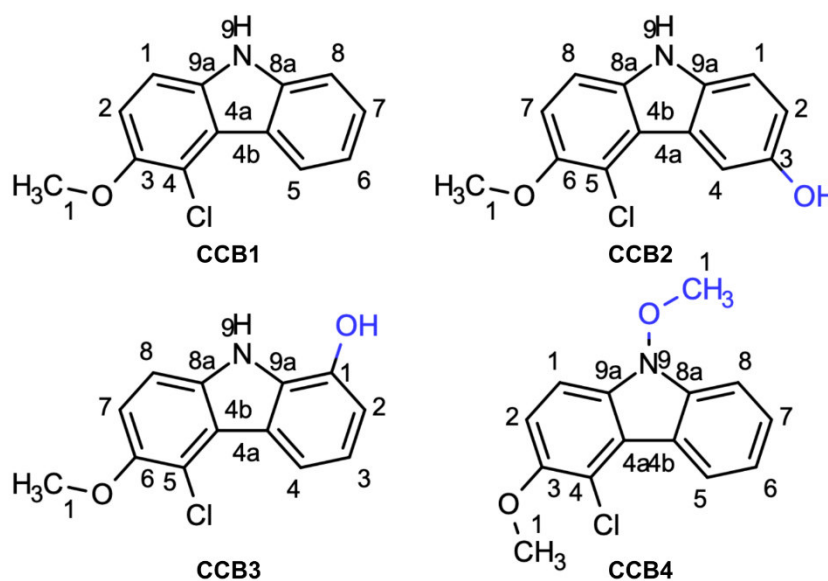
Pesquisadores demonstraram que o antagonismo dos receptores de adenosina A₁R e A_{2A}R, induzido pela molécula 5-[5-amino-3-(4-fluorofenil) pirazina-2-il]-1-isopropilpirabina-2(1H)-ona (ASP5854), resultou em um aumento dos níveis intracelulares de Ca²⁺ e no conteúdo de dopamina estriatal em ratos. Esses efeitos foram observados após a redução de dopamina provocada pela administração de 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) na espécie testada (MIHARA *et al.*, 2007).

Estudos revelam que compostos heteroaromáticos contendo amina, como hidrazinas e xantinas, apresentam alternativas de modulação de AR (GUILLOU *et al.*, 2024; MALLO-ABREU *et al.*, 2020), especialmente pela similaridade estrutural que apresentam com ligantes endógenos destes receptores, como a ADN e a cafeína. Entre estes, é válido citar os carbazoles, compostos heterocíclicos nitrogenados conjugados a sistemas aromáticos,

conhecido por suas propriedades neuroprotetivas associada a neuroinflamação (LI *et al.*, 2022; ZHU *et al.*, 2013), além de sua atividade relatada contra doença de Parkinson (DE JESÚS-CORTÉS *et al.*, 2012).

Cheng *et al.*, (2021) descobriram a presença de quatro metabólitos secundários de carbazoles 4-cloro- e 3-metóxi- substituídos, denominados clorcarbazomicinas 1-4 (CCB1-4), derivados de bactérias *Streptomyces diacarni* LHW51701 que apresentam atividade citotóxica em células de câncer de pulmão humano. Estes fragmentos substituídos estão diretamente associados a formação de compostos mais polares do que compostos que são tóxicos ao SNC, otimizando a bioatividade de candidatos a medicamento moduladores de GPCRs, ligantes de canais iônicos e inibidores enzimáticos (PETTERSSON *et al.*, 2016; WAGER *et al.*, 2010).

Figura 1 – Representação bidimensional da estrutura química dos derivados de clorcarbazomicina 1-4 (CCB1-4)



Fonte: Adaptado de Cheng *et al.*, (2021)

Neste contexto, o presente estudo tem como objetivo realizar uma triagem virtual baseada em ligantes (*ligand based virtual screening*), apoiada por uma abordagem computacional da química teórica, de uma série de derivados de clorcarbazomicina, com a finalidade de estimar a bioatividade desses compostos em relação aos receptores de adenosina A₁R no tratamento da DP.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Estimar a reatividade e a bioatividade de uma série de metabólitos secundários de CCB1-4 sobre receptores de A₁R no tratamento da DP.

2.2 Objetivos específicos

- Realizar uma caracterização estrutural e eletrônica dos derivados de **CCB1-4** seguindo o formalismo da química quântica;
- Analisar os descritores de reatividade global dos derivados de **CCB1-4**;
- Estimar a bioatividade dos derivados de **CCB1-4** a partir de similaridade estrutural com bioativos conhecidos depositados em bases de dados;
- Analisar as interações bioquímicas dos derivados de **CCB1-4** frente ao receptor de A₁R utilizando simulações de farmacodinâmica.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Doença de Parkinson

Pesquisas indicam que a DP é o distúrbio motor mais frequente entre idosos, sendo a segunda condição neurodegenerativa mais comum que compromete o sistema nervoso central (SNC), ficando atrás apenas da doença de Alzheimer. Estima-se que cerca de 10 milhões de pessoas em todo o mundo sejam afetadas, com uma prevalência superior a 3% entre aqueles com mais de 80 anos (POEWE *et al.*, 2017). Isso demonstra que a idade é um fator de risco significativo para o desenvolvimento da doença, juntamente com a predisposição genética (HERNANDEZ; REED; SINGLETON, 2016).

A DP é classificada como um transtorno neurodegenerativo crônico, devido à sua interferência na função motora, resultante da perda irreversível de neurônios, ocasionada por um desequilíbrio nos níveis de neurotransmissores no SNC (SVEINBJORNSDOTTIR, 2016). Atualmente, não existe cura para a doença, e seus sintomas principais incluem tremores, instabilidade postural e discinesia, afetando o controle muscular (CHANDRABHATLA; POMERANIEC; KSENDZOVSKY, 2022). Com o avanço da doença, esses sintomas podem se agravar, estando associados ao acúmulo de neurotoxinas no SNC, as quais desempenham um papel essencial na ferroptose, uma forma de morte celular programada dos neurônios (DO VAN *et al.*, 2016).

A patogênese da morte celular associada à PD está diretamente vinculada à degradação enzimática da dopamina nos neurônios (ZUCCA *et al.*, 2017). Assim, a terapia atual para o tratamento da doença inclui o uso de medicamentos que inibem essa degradação dopaminérgica, como os inibidores da monoamina oxidase B (MAOB). No entanto, estudos e avanços recentes na pesquisa científica envolvendo a DP mostraram a relação que os receptores de adenosina do tipo A₁R e A_{2A}R com o equilíbrio de neurotransmissores dopaminérgicos (MIHARA *et al.*, 2007).

Os receptores de adenosina desempenham um papel crucial no equilíbrio dos neurotransmissores, estando diretamente envolvidos nos efeitos de relaxamento e sonolência, promovidos pela ligação da ADN produzida internamente pelo organismo humano (DRAPER-JOYCE *et al.*, 2021; KORKUTATA *et al.*, 2019). A cafeína, por ser um substrato natural desses receptores, pode competir com a adenosina (ADN) pelos seus sítios de ligação nos receptores de adenosina (RIVERA-OLIVER; DÍAZ-RÍOS, 2014). Esse antagonismo, promovido pela cafeína, tem demonstrado reduzir o risco de desenvolver a DP (COSTA *et al.*, 2010). Esse efeito

sugere que a inibição da adenosina é um ponto de partida promissor para o desenvolvimento de novos moduladores dos receptores A₁R e A_{2A}R, com potencial terapêutico no tratamento da DP.

3.2 Carbazomicinas

As carbazomicinas são uma classe de compostos orgânicos heteroaromáticos pertencentes ao grupo dos derivados de carbazol que contém grupos oxigenados substituídos usualmente em um de seus anéis aromáticos (Figura 1), denominado anel A (NATHO; ALLEN; PARSONS, 2023). O esqueleto estrutural de um carbazol é caracterizado por um anel heterocíclico nitrogenado de pirrol, que constitui um centro de doação de hidrogênio (R-NH-R), fundido a dois anéis de benzeno que apresentam sítios de substituição nucleofílica (STEPHERSON *et al.*, 2016).

Esta classe de compostos é conhecida especificamente por ser precursora dos primeiros antibióticos isolados do grupo de bactérias *Streptomyces*, as carbazomicinas A e B, apresentando atividade antifúngica e antibacteriana (SAKANO; ISHIMARU; NAKAMURA, 1980; SCHMIDT; REDDY; KNÖLKER, 2012).

Estudos de síntese orgânica exploram amplamente a substituição de um de seus anéis por grupos doadores de densidade eletrônica, como radicais hidroxila (R-OH) e metoxila (R-OCH₃) (NATHO; ALLEN; PARSONS, 2023). Recentemente, estudos de isolamento impulsionaram a descoberta de 4 novos derivados de carbazomicinas em forma de metabólitos secundários produzidos por *Streptomyces diacarni*, contendo um grupo 3-OCH₃ substituído doador de elétrons, além de um grupo 4-Cl com maior densidade eletrônica (anel A), que apresentam atividade citotóxica em células cancerígenas relatada (CHENG *et al.*, 2021). Estes derivados incluem a variação da posição de grupos OH substituídos nos átomos de carbono de posições 1 e 3 do anel C e uma metoxilação no grupo amina de pirrol (Figura 1), cujos produtos químicos apresentam uma riqueza de atividade biológicas a serem exploradas.

Além da atividade antiproliferativa, compostos orgânicos derivados de carbazol, especificamente as que apresentam grupos halogeno-substituídos e grupos oxigenados doadores de densidade eletrônica, se destacam por desempenharem um efeito terapêutico positivo no SNC, atuando na neuroinflamação como substância neuroprotetora (CHENG *et al.*, 2019). Desta forma, esta subestrutura constitui um farmacóforo como ponto de partida fundamental para elaboração de análogos terapêuticos atuantes no SNC.

3.3 Modelagem Molecular

Os desafios na descoberta de novos fármacos estão diretamente relacionados ao elevado custo financeiro e à significativa demanda de tempo. Nesse contexto, as técnicas de modelagem molecular buscam otimizar o potencial dos fármacos com base em suas propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e farmacodinâmicas, permitindo identificar compostos com potencial atividade terapêutica e viabilidade adequada para uso. Utilizando técnicas preditivas e simulações computacionais, é possível avaliar as propriedades de cada composto, enquanto estudos de *docking molecular* e dinâmica molecular são empregados para analisar a afinidade entre o composto e o receptor-alvo, além de estimar a estabilidade do complexo formado (LUUKKONEN *et al.*, 2023).

A Teoria do Funcional de Densidade (DFT) é uma destas metodologias, amplamente utilizada para investigar propriedades estruturais, eletrônicas e de reatividade de compostos orgânicos, ganhando notoriedade devido à sua alta precisão, baixo custo com recursos computacionais e capacidade de incorporar efeitos de correlação eletrônica. Esse método é amplamente aplicado em diversas áreas, como física do estado sólido, ciência dos materiais, bioquímica, química farmacêutica, além de estudos envolvendo nano-sistemas e sistemas em escala atômica, entre outros (BURKE, 2012). O método DFT simplifica a resolução da equação de Schrödinger ao descrever os termos em função da densidade eletrônica, em vez de tratar diretamente as funções de onda de muitos elétrons. Isso reduz a complexidade do problema, já que a função de onda exige $3N$ coordenadas para cada elétron, enquanto a densidade eletrônica depende de apenas três coordenadas. Assim, conhecendo a densidade eletrônica, é possível obter as informações necessárias sobre o sistema (BURKE, 2012).

Já as simulações de sistemas biológicos, como as técnicas de *docking molecular* e dinâmica molecular, baseiam-se no conceito do modelo “chave-fechadura” para simular sistemas biológicos entre ligantes e proteínas para analisar um efeito terapêutico (PERSCH; DUMELE; DIEDERICH, 2015).

Entre as principais interações ligante-receptor, identificadas pelas simulações de *docking molecular* auxiliadas por análises de reconhecimento molecular, destacam-se as ligações de hidrogênio, que ocorrem em distâncias menores e envolvem um grupo polar doador de hidrogênio formando uma ligação com um centro aceitador, geralmente um resíduo de aminoácido no sítio de ligação. As interações hidrofóbicas são comuns entre ligantes hidrofóbicos e cadeias laterais apolares dos aminoácidos. Outra interação importante é o empilhamento- π , que ocorre entre centros aromáticos de ligantes e resíduos aromáticos dos aminoácidos, podendo ser paralelo (tipo P) ou perpendicular (tipo T), dependendo da

conformação da molécula e do encaixe no sítio de ligação (FOKOUE *et al.*, 2020; PERSCH; DUMELE; DIEDERICH, 2015).

Já as simulações de dinâmica molecular permitem realizar cálculos envolvendo sistemas complexos, que podem incluir moléculas de água, receptores alvo, ligantes bioativos e íons. Essas simulações são usadas para analisar o comportamento do sistema ligante-proteína ao longo de um determinado intervalo de tempo e estimar a energia livre de ligação entre as biomoléculas envolvidas (KOLLMAN *et al.*, 2000). Diferentemente do que ocorre nas simulações de *docking molecular*, onde são consideradas as estruturas proteicas rígidas e ligantes flexíveis.

De maneira geral, as simulações computacionais aplicadas a sistemas moleculares têm como objetivo prever o comportamento desses sistemas, estimando as forças que atuam de maneira uniforme sobre os elementos do sistema. As trajetórias dos átomos são calculadas com base nas interações de proximidade e afastamento, levando em consideração tanto as forças entre átomos ligados quanto aquelas entre átomos não ligados. Para ajustar as configurações moleculares, utiliza-se o modelo de massa-mola, permitindo identificar a presença de ligações químicas e ângulos moleculares. As forças não ligantes, por sua vez, estão associadas às interações de Van der Waals, que são calculadas pelo potencial de Lennard-Jones, e às interações eletrostáticas, modeladas pela lei de Coulomb (BAIDAKOV, 2016).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Cálculos computacionais de química quântica

Para este trabalho, todos os cálculos químicos quânticos foram realizados usando o método da Teoria do Funcional da Densidade (DFT) executado pelo software Gaussian 09 (<https://gaussian.com/glossary/g09/>). Para identificar as coordenadas tridimensionais que indicam a energia mínima do estado fundamental de cada composto, o processo de otimização geométrica das estruturas foi realizado usando o funcional híbrido de três parâmetros de Becke (B3) (BECKE, 1992) para troca com o funcional de correlação corrigido por gradiente de Lee, Yang e Parr (LYP) (LEE; YANG; PARR, 1988) e o conjunto de bases 6-31++G(d,p) double- ζ de Pople (PAPAJAK *et al.*, 2011). Esse funcional e o conjunto de bases foram escolhidos porque se correlacionam muito bem com dados experimentais no estudo de moléculas orgânicas (ALMEIDA-NETO *et al.*, 2020). O cálculo de otimização foi realizado no vácuo e com água, metanol, clorofórmio e DMSO como solvente implícito. O Formalismo de Equação Integral - Modelo Contínuo Polarizável (IEF-PCM) foi usado no estudo de solvatação. Foram realizados cálculos de frequência vibracional para investigar as propriedades vibracionais das colocarbazomicinas.

As energias dos orbitais moleculares de fronteira (FMO), o *Highest Occupied Molecular Orbital* (HOMO) e o *Lowest Unoccupied Molecular Orbital* (LUMO) foram calculados para investigar a reatividade global, uma vez que as energias HOMO e LUMO podem ser usadas como descritores da reatividade global (KOYAMBO-KONZAPA *et al.*, 2022). O *gap* de energia (ΔE_{gap}) é determinada a partir da diferença de energia entre os orbitais LUMO e HOMO (Eq. 1).

$$\Delta E_{\text{gap}} = E_{\text{LUMO}} - E_{\text{HOMO}} \quad (1)$$

O teorema de Koopman torna possível investigar a energia de ionização (IE) e a afinidade eletrônica (EA), respectivamente, por meio das energias dos orbitais HOMO (Eq.2) e LUMO (Eq. 3).

$$IE = -E_{\text{HOMO}} \quad (2)$$

$$EA = -E_{\text{LUMO}} \quad (3)$$

A eletronegatividade (χ), o potencial químico (μ) e a dureza química (η) podem ser calculados pela derivação da energia eletrônica das moléculas (E) em relação ao número de elétrons (N) expostos a um potencial externo constante ($v(r)$). A eletronegatividade (Eq. 4) é definida como a derivada de primeira ordem. O potencial químico (Eq.5) é definido como o

negativo da eletronegatividade e a dureza química (Eq. 6) é definida como a derivada de segunda ordem.

$$\chi = \left(\frac{\partial E}{\partial N} \right)_{v(r)} \quad (4)$$

$$\mu = -\chi \quad (5)$$

$$\eta = \frac{1}{2} \left(\frac{\partial \mu}{\partial N} \right)_{v(r)} \quad (6)$$

$$= \frac{1}{2} \left(\frac{\partial^2 E}{\partial N^2} \right)_{v(r)}$$

Usando o método de diferença finita, a eletronegatividade, o potencial químico e a dureza química podem ser estudados usando a primeira energia de ionização e a afinidade eletrônica, que, por sua vez, podem ser usadas para as energias dos orbitais HOMO e LUMO. Dessa forma, o potencial químico e a eletronegatividade são dados na Eq. 7 e a dureza química é dada na Eq. 8. A suavidade química (S) é expressa como o inverso da dureza química (Eq. 9).

$$\chi = -\mu = \frac{1}{2} (IE + EA) \quad (7)$$

$$= \frac{-1}{2} (E_{HOMO} + E_{LUMO})$$

$$\eta = \frac{1}{2} (IE - EA) \quad (8)$$

$$= \frac{-1}{2} (E_{HOMO} - E_{LUMO})$$

$$S = \frac{1}{\eta} \quad (9)$$

A eletrofilicidade está associada à eletronegatividade e à dureza química dos compostos químicos. O índice de eletrofilicidade global (ω) foi introduzido por Parr *et al.* (1994) e é dado pela equação Eq. 10. O índice de nucleofilicidade global (ε) é definido como o inverso do índice de eletrofilicidade global (Eq. 11).

$$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta} = \frac{(-\chi)^2}{2\eta} \quad (10)$$

$$\varepsilon = \frac{1}{\omega} \quad (11)$$

Todos os descritores mencionados acima estão relacionados à reatividade em um nível global. Para estudar a reatividade dos centros atômicos, Fukui propôs um conjunto de funções de fronteira que descrevem a densidade eletrônica dos orbitais de fronteira em relação às alterações no número total de elétrons. Dessa forma, as funções de Fukui possibilitam o estudo dos locais atômicos mais eletrofílicos e nucleofílicos nas moléculas. Matematicamente, a função de Fukui (Eq. 12) é dada como a derivada de primeira ordem da densidade eletrônica

($\rho(r)$) em relação ao número de elétrons (N) no sistema em um potencial externo constante ($v(r)$).

$$f(r) = \left[\frac{\partial \rho(r)}{\partial N} \right]_{v(r)} \quad (12)$$

As funções de Fukui condensadas possibilitam a realização de uma análise quantitativa da suscetibilidade dos sítios atômicos. Para calcular essas funções, o número da população atômica é usado para representar a quantidade de distribuição de densidade de elétrons em torno de um átomo. Dessa forma, ao aplicar o método de distância finita, podemos estudar separadamente a suscetibilidade dos compostos ao ataque nucleofílico (f_A^+) (Eq. 13), ao ataque eletrofílico (f_A^-) (Eq. 14) e ao ataque radical (f_A^0) (Eq. 15). Para este trabalho, a análise de população de Hirshfeld foi escolhida, pois apresenta excelente desempenho para o cálculo das funções condensadas de Fukui.

$$f_A^+ = q_N^A - q_{N+1}^A \quad (13)$$

$$f_A^- = q_{N-1}^A - q_N^A \quad (14)$$

$$f_A^0 = \frac{(q_{N-1}^A - q_{N+1}^A)}{2} \quad (15)$$

O estudo simultâneo dos sítios eletrofílicos ou nucleofílicos pode ser realizado usando as funções condensadas de Fukui e o índice de eletrofilicidade global (ω) juntos para calcular o descritor duplo (Δf) (Eq. 16) e o descritor multifílico ($\Delta\omega$) (Eq. 17).

$$\Delta f = f_A^{\pm} f_A^- \quad (16)$$

$$\Delta\omega = \omega \Delta f \quad (17)$$

4.2 Triagem de predição do alvo

Para predição do alvo biológico, o servidor online SwissTargetPrediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) foi configurado para realizar um teste de matriz de similaridade (s) entre composto i e composto j , considerando os compostos de entrada **CCB1-4** e mais de 300.000 bioativos conhecidos depositados na base de dados da ChEBML, conforme a correlação expressa na Eq. 18:

$$s = \frac{1}{\left(1 + \frac{1}{18} d_{ij}\right)} \quad (18)$$

Onde d_{ij} corresponde à menor distância de Manhattan, calculada a partir das distâncias 20×20 sobre todas as conformações possíveis de cada molécula (GFELLER *et al.*, 2014). Os resultados foram expressos em uma distribuição relativa de bioatividade a partir de classes de alvos terapêuticos do organismo *Rattus norvegicus*, que incluem receptores acoplados à proteína G (GPCR, do inglês *G protein-coupled receptor*), enzimas, proteases e canais iônicos, com o objetivo de selecionar a proteína para as simulações de *docking molecular*, seguindo uma abordagem de triagem virtual baseada em ligante (*ligand-based virtual screening*).

4.3 Simulações de docking molecular

A estrutura tridimensional do receptor de adenosina A1 (A_1R) complexado ao agonista endógeno adenosina (ADN) e o modulador alostérico {2-amino-4-[3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl]thiophen-3-yl}(4-chlorophenyl)methanone (XTD) foi retirado do repositório RCSB Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>), depositado sob código PDB ID 7LD3, classificada como proteína de sinalização no organismo *Homo sapiens* e sistema de expressão *Trichoplusia ni*, cuja estrutura química foi resolvida por microscopia eletrônica a uma resolução de 3.20 Å (DRAPER-JOYCE *et al.*, 2021).

A etapa de preparação da proteína inclui a remoção de moléculas de água (H_2O) e dos ligantes co-cristalizados, bem como a adição de hidrogênios polares aos resíduos de aminoácido e computação das cargas Gasteiger (MARINHO *et al.*, 2024), utilizando o programa AutoDockToolsTM (<https://autodocksuite.scripps.edu/adt/>). Ainda, o *grid-box* foi delimitado para abranger todo o espaço conformacional da proteína, ajustado com as dimensões $x = 80$ Å, $y = 62$ Å e $z = 54$ Å sob os eixos $x = 95,256$, $y = 107,644$ e $z = 112,722$ e grau de ‘exaustividade = 64.

O código AutoDockVinaTM (<https://vina.scripps.edu/>) foi configurado para realizar um ciclo de 50 simulações independentes de 20 poses cada, para cada um dos ligantes, utilizando o Algoritmo Genético Lamarckiano (AGL), onde o critério de seleção da *best-pose* inclui o alinhamento entre baixa energia de afinidade ($E_A \leq -6,0$ kcal/mol) e baixo desvio médio quadrático ($RMSD \leq 2,0$ Å) (MARINHO *et al.*, 2020).

4.4 Simulações de dinâmica molecular

Para que haja a reprodução e simulações de dinâmica molecular (DM), foram utilizados os resultados de best poses das simulações de *docking molecular*, onde foram selecionados os complexos formados que apresentaram melhores valores de energia livre de ligação (ΔG), classificado como um dos critérios para a seleção e realização da DM, dentre todos os compostos avaliados nas simulações de *docking molecular*, serão consideradas os pontos favoráveis de todos os compostos frente a receptor A_1R , a parametrização e formação dos sistemas para a realização das simulações de DM foram realizadas com a utilização do GROMACS 2022.4, sendo determinado os parâmetros para todos os sistemas de simulação, que consiste inicialmente na adição de moléculas de água com o formato TIP3 (BOONSTRA; ONCK; VAN DER GIESSEN, 2016), representando um formato cúbico em seguida foram adicionados íons Na^+ e Cl^- , sob interferência direta do campo de força CHARMM36 (HUANG

et al., 2017; YU *et al.*, 2021). Com a realização das simulações de DM devidamente realizadas pelo software GROMACS.

Após a etapa de parametrização inicial dos sistemas propostos, houve o ajuste de dois parâmetros essenciais que envolve a temperatura e a pressão em que esse sistema estará sob influência, onde, para a temperatura foi utilizado o integrador V-rescale devidamente ajustado para se manter em 310 K (NAGASUNDARAM *et al.*, 2017), já referente a pressão foi utilizado o método proposto por Parrinello-Rahman, onde o barostato foi calibrado para ser mantido em uma pressão igual a 1 bar (MARTOŇÁK; LAIO; PARRINELLO, 2003), durante o desenvolvimento dos cálculos de DM. A padronização das simulações ficou estipulada para serem realizadas na escala de 150 ns, com temperatura e pressão constantes (MANDAL *et al.*, 2022), em todos os sistemas avaliados de maneira independente e em triplicatas.

Os estudos para a análise das variações conformacionais para cada sistema serão determinadas as variações de RMSD (Root Mean Square Deviation), sendo apresentada na Eq. 19, esses cálculos apontam o comportamento de variação de todo o sistema sendo possível observar, como cada complexo se comporta ao longo de um tempo definido e assim, evidenciando se o sistema apresenta potenciais índices associados a estabilidade (KIRCHMAIR *et al.*, 2008).

$$RMSD \quad (19)$$

$$= \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^N (x_{i1} - x_{i2})^2 + (y_{i1} - y_{i2})^2 + (z_{i1} - z_{i2})^2}$$

Já ao tratar das variações de flexibilidade ou rigidez apresentados nos resíduos de aminoácidos presentes no receptor biológico serão simuladas as variações de flutuações RMSF (Root Mean Square Fluctuation), apresentada na Eq. 20, estes resultados apresentam o deslocamento de todos os átomos do receptor com avaliações em dois momentos distintos da simulação caracterizado em estado inicial e final da simulação (MARTÍNEZ, 2015). Em relação ao RMSF, foram avaliados o comportamento dos sistemas no decorrer de 150 ns, onde foi considerado o caráter de flexibilidade ou rigidez dos sistemas, e assim avaliar a possível interferência ocasionada pela presença dos ligantes inseridos nos sistemas simulados.

$$RMSF_{atom} \quad (20)$$

$$= \sqrt{\frac{1}{t} \sum_{i=1}^t (x_i^{ref} - x_i)^2 + (y_i^{ref} - y_i)^2 + (z_i^{ref} - z_i)^2}$$

Ainda referente aos dados das simulações por DM, foram calculados os valores de MM/GBSA (Molecular Mechanics of Generalized Born Surface Area), inserido na Eq. 21, para cada complexo formado entre o receptor alvo A₁R e os possíveis compostos inseridos nas cavidades específica do receptor, os resultados consistem das simulações de DM, através dos arquivos de trajetória respectivo para cada complexo, os cálculos MM/GBSA possuem a finalidade de apontar qual o valor de energia livre de ligação (ΔG_{bind}), existente entre receptor e ligante (POOPANDI *et al.*, 2021).

$$\Delta G_{bind} = E_{vdW} + E_{ele} + G_{GB} + G_{SA} - T\Delta S \quad (21)$$

As simulações de predição por DM, visam apontar como o receptor irá se comportar quando inserido em um meio com moléculas de água e íons, com possíveis variáveis como temperatura e pressão, sendo mantidas. Assim, as simulações podem estipular as variações específicas para cada sistemas e desta forma ressaltar possíveis índices de estabilidade ou instabilidade do sistema, corroborando diretamente com o potencial de inibição do receptor biológico.

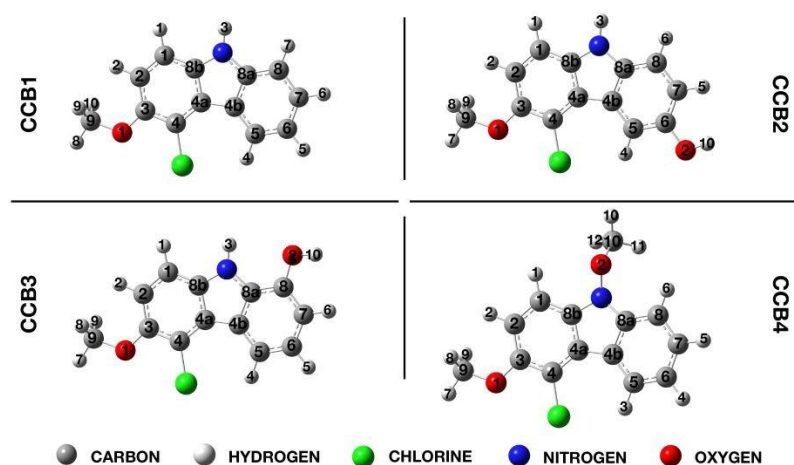
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Cálculos computacionais de química quântica

5.1.1 Otimização estrutural

Os carbazóis são compostos orgânicos aromáticos heterocíclicos que têm uma estrutura tricíclica, contendo dois anéis de benzeno, cada um fundido a um lado de um anel contendo nitrogênio heteroátomo de cinco membros. Os **CCB1-4** têm o grupo metoxi (OCH₃) ligado à posição C5 do anel benzênico A e o átomo de cloro ligado à posição C6 também no anel benzênico A. A diferença estrutural entre os compostos de carbazol está na presença do grupo hidroxila (OH) ligado às posições C14 e C13 do anel benzênico A, respectivamente para **CCB2** e **CCB3**. O **CCB4** tem o grupo metoxi (OCH₃) substituído no nitrogênio do anel heteroátomo. As estruturas otimizadas dos clorocarbazóis **CCB1-4** (Figura 2) mostram conformações planares, devido às suas estruturas rígidas formadas por três anéis aromáticos fundidos, onde a planaridade pode ser destacada pelos ângulos C3 - C2 - N11 - C10 de $\approx -179,99^\circ$ e C6 - C1 - C9 - C12 de $\approx -0,05^\circ$ em todos os compostos. Os dados geométricos nos ambientes simulados não apresentaram variações significativas.

Figura 2 – Representação bidimensional da estrutura química dos derivados de clorocarbazomicina 1-4 (CCB1-4)



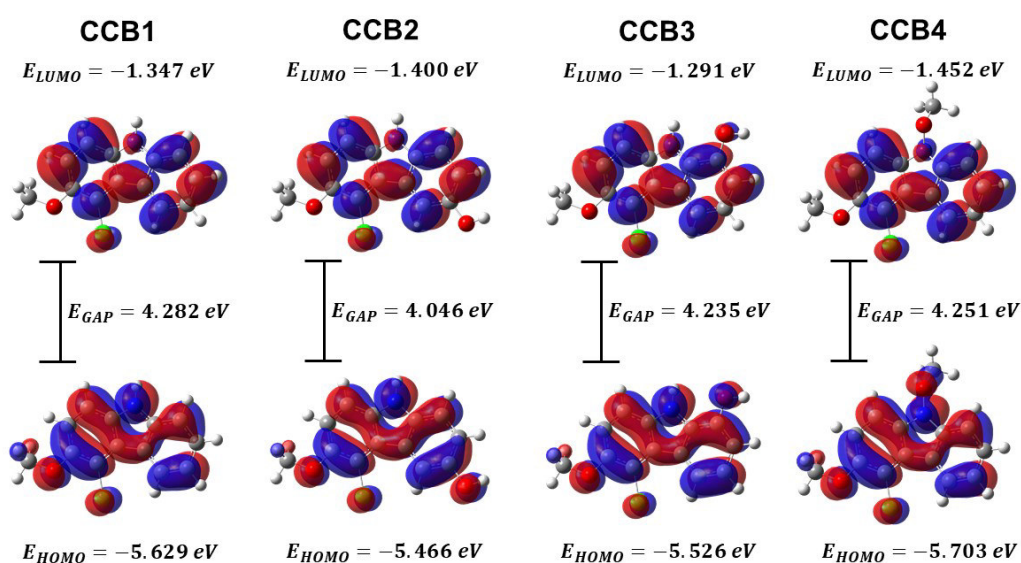
Fonte: Elaborado pelo autor

5.1.2 Propriedades eletrônicas

O *Highest Occupied Molecular Orbital* (HOMO) está associado à capacidade de doação de elétrons, enquanto o *Lowest Unoccupied Molecular Orbital* (LUMO) está associado à capacidade de aceitação de elétrons. Além disso, esses orbitais moleculares representam o

limite entre o estado fundamental e o estado excitado, em que o *gap* de energia entre esses orbitais significa a energia de excitação mínima necessária para a transição eletrônica do estado fundamental (HOMO) para o primeiro estado excitado (LUMO). Assim, a investigação dessas propriedades pode fornecer informações úteis para determinar a estabilidade cinética e a reatividade química de compostos potencialmente bioativos. As isosuperfícies dos orbitais moleculares de fronteira, HOMO e LUMO, das clorocarbazidas foram plotadas, e os valores de energia de cada orbital foram medidos. A Figura 3 mostra as isodensidades de **CCB1-4** calculadas em água, onde podemos observar que a isodensidade do orbital molecular HOMO está deslocalizada em toda a estrutura molecular de todas as clorocarbazidas, principalmente nas ligações π dos anéis fundidos. Com relação ao orbital molecular LUMO, a isodensidade é deslocalizada na posição π^* de toda a estrutura aromática do anel carbazol em todas as **CCB1-4**. Essa deslocalização da densidade eletrônica nos orbitais HOMO e LUMO em toda a estrutura molecular do anel carbazol ocorre devido ao efeito mesomérico presente em todos os anéis fundidos que constituem o anel carbazol. Essa deslocalização da densidade favorece possíveis transições eletrônicas intramoleculares no **CCB1-4**. As isodensidades dos orbitais moleculares HOMO e LUMO calculadas em outros ambientes são mostradas no material suplementar, onde nenhuma variação na deslocalização das densidades orbitais foi observada, com diferença apenas nos valores de energia.

Figura 3 – Orbitais de fronteira HOMO e LUMO e energia de *gap* (E_{gap}) dos derivados de CCB1-4



Fonte: Elaborado pelo autor

A interpretação das energias orbitais moleculares pode ser simplificada significativamente com o uso do Teorema de Koopmans. De acordo com o teorema, a energia LUMO se aproxima da afinidade eletrônica, enquanto a energia HOMO de uma molécula neutra pode ser considerada uma aproximação da energia de ionização da molécula (DAVIDSON; PLAKHUTIN, 2010). Essa associação possibilita que as energias das órbitas HOMO e LUMO sejam diretamente relacionadas a descritores químicos, como a tendência de um composto de perder ou ganhar elétrons, facilitando a análise teórica da reatividade química.

A Tabela 1 mostra os valores dos descritores de reatividade química global calculados para **CCB1-4** em clorofórmio, DMSO, metanol e água. Analisando os descritores em água, o **CCB2** tem a densidade de elétrons de valência mais suscetível à doação, pois apresentou o menor valor para o potencial de ionização ($IE_{CCB_{water}} = 5,466$ eV). O **CCB4**, por outro lado, tem a densidade de elétrons de valência menos suscetível à doação, pois apresentou o maior valor de potencial de ionização ($IE_{CCB_{water}} = 5,703$ eV). Com relação à acomodação de uma carga negativa extra, o **CCB4** apresenta o maior valor de afinidade de elétrons ($IA_{CCB_{water}} = 1,452$ eV), indicando que ele pode acomodar melhor a carga negativa extra. Por outro lado, o **CCB3** tende a acomodar a carga negativa extra de forma menos eficaz em comparação com as outras clorocarbazomicinas, pois apresenta o menor valor de afinidade eletrônica ($IA_{CCB_{water}} = 1,291$ eV). Em termos de estabilidade cinética, **CCB1**, **CCB3** e **CCB4** apresentaram comportamento semelhante, enquanto **CCB2** apresentou o valor mais baixo. Isso sugere que o **CCB2** tem menor estabilidade cinética, pois requer menos energia para a transição eletrônica do orbital molecular HOMO para o LUMO ($\Delta E_{GAP_{water}} = 4,066$ eV).

De acordo com o conceito de ácidos e bases duros e macios (HSAB), a dureza e a maciez químicas estão relacionadas à lacuna de energia, em que as moléculas mais duras tendem a ter valores mais altos de lacuna de energia e as espécies mais macias tendem a ter valores mais baixos de lacuna de energia. Assim, o **CCB2** é mais macio do que as outras clorocarbazomicinas, conforme observado na Tabela 1. Com relação ao comportamento eletrofílico e nucleofílico, todas as clorocarbazomicinas apresentaram valores mais altos para o potencial eletrofílico, com o **CCB4** apresentando o valor mais alto.

Comparando os ambientes, os valores de energia HOMO e LUMO apresentaram variações mínimas, sugerindo que a mudança no solvente não altera significativamente os limites eletrônicos do **CCB1-4**. Além disso, a lacuna de energia também apresentou pouca diferença entre os solventes, indicando que a reatividade, em termos de transições eletrônicas, permanece estável em diferentes solventes. O índice de eletronegatividade e a afinidade de

elétrons também apresentaram variações mínimas entre os solventes, reforçando ainda mais a ideia de que o **CCB1-4** mantém uma natureza eletrônica estável em diferentes ambientes. A dureza química global permanece praticamente constante, assim como a suavidade química global. Isso indica que as moléculas apresentam uma resposta consistente às interações químicas, independentemente do solvente. A variação nos índices de eletrofilicidade e nucleofilicidade é mínima, sugerindo que o caráter eletrofílico/nucleofílico não é significativamente influenciado por diferentes solventes. Assim, os dados mostram que as clorocarbazomicinas apresentam estabilidade eletrônica e energética consistente em diferentes ambientes de solvente, com pequenas variações provavelmente relacionadas à polaridade do solvente.

Tabela 1 – Descritores de reatividade dos análogos CCB1-4 baseados nas propriedades de HOMO e LUMO.

CCB1				
Descritores	Clorofórmio	DMSO	Metanol	Água
Energia de HOMO (E_{HOMO}, eV)	-5.579	-5.626	-5.626	-5.629
Energia LUMO (E_{LUMO}, eV)	-1.292	-1.344	-1.341	-1.347
Energia de <i>Gap</i> (ΔE_{GAP}, eV)	4.287	4.282	4.285	4.282
Energia de ionização (IE, eV)	5.579	5.626	5.626	5.629
Afinidade eletrônica (EA, eV)	1.292	1.344	1.341	1.347
Eletronegatividade (χ, eV)	3.436	3.485	3.484	3.488
Dureza (η, eV)	2.144	2.141	2.143	2.141
Moleza (S, eV⁻¹)	0.467	0.467	0.467	0.467
Eletrofilicidade (ω, eV)	2.753	2.836	2.832	2.841
Nucleofilicidade (ϵ, eV⁻¹)	0.363	0.353	0.353	0.352
CCB2				
Descritores	Clorofórmio	DMSO	Metanol	Água
Energia de HOMO (E_{HOMO}, eV)	-5.388	-5.433	-5.440	-5.466
Energia LUMO (E_{LUMO}, eV)	-1.343	-1.397	-1.394	-1.400
Energia de <i>Gap</i> (ΔE_{GAP}, eV)	4.045	4.036	4.046	4.066
Energia de ionização (IE, eV)	5.388	5.433	5.440	5.466
Afinidade eletrônica (EA, eV)	1.343	1.397	1.394	1.400
Eletronegatividade (χ, eV)	3.366	3.415	3.417	3.433
Dureza (η, eV)	2.023	2.018	2.023	2.033

Moleza (S , eV ⁻¹)	0.494	0.496	0.494	0.492
Eletrofilicidade (ω , eV)	2.800	2.890	2.886	2.899
Nucleofilicidade (ϵ , eV ⁻¹)	0.357	0.346	0.347	0.345
CCB3				
Descritores	Clorofórmio	DMSO	Metanol	Água
Energia de HOMO (E_{HOMO} , eV)	-5.465	-5.522	-5.519	-5.526
Energia LUMO (E_{LUMO} , eV)	-1.230	-1.288	-1.284	-1.291
Energia de <i>Gap</i> (ΔE_{GAP} , eV)	4.235	4.234	4.235	4.235
Energia de ionização (IE, eV)	5.465	5.522	5.519	5.526
Afinidade eletrônica (EA, eV)	1.230	1.288	1.284	1.291
Eletronegatividade (χ , eV)	3.348	3.405	3.402	3.409
Dureza (η , eV)	2.118	2.117	2.118	2.118
Moleza (S , eV ⁻¹)	0.472	0.472	0.472	0.472
Eletrofilicidade (ω , eV)	2.646	2.738	2.732	2.743
Nucleofilicidade (ϵ , eV ⁻¹)	0.378	0.365	0.366	0.365
CCB4				
Descritores	Clorofórmio	DMSO	Metanol	Água
Energia de HOMO (E_{HOMO} , eV)	-5.639	-5.699	-5.696	-5.703
Energia LUMO (E_{LUMO} , eV)	-1.385	-1.448	-1.444	-1.452
Energia de <i>Gap</i> (ΔE_{GAP} , eV)	4.254	4.251	4.252	4.251
Energia de ionização (IE, eV)	5.639	5.699	5.696	5.703
Afinidade eletrônica (EA, eV)	1.385	1.448	1.444	1.452
Eletronegatividade (χ , eV)	3.512	3.574	3.570	3.578
Dureza (η , eV)	2.127	2.126	2.126	2.126
Moleza (S , eV ⁻¹)	0.470	0.470	0.470	0.470
Eletrofilicidade (ω , eV)	2.899	3.004	2.997	3.011
Nucleofilicidade (ϵ , eV ⁻¹)	0.345	0.333	0.334	0.332

Fonte: Elaborado pelo autor

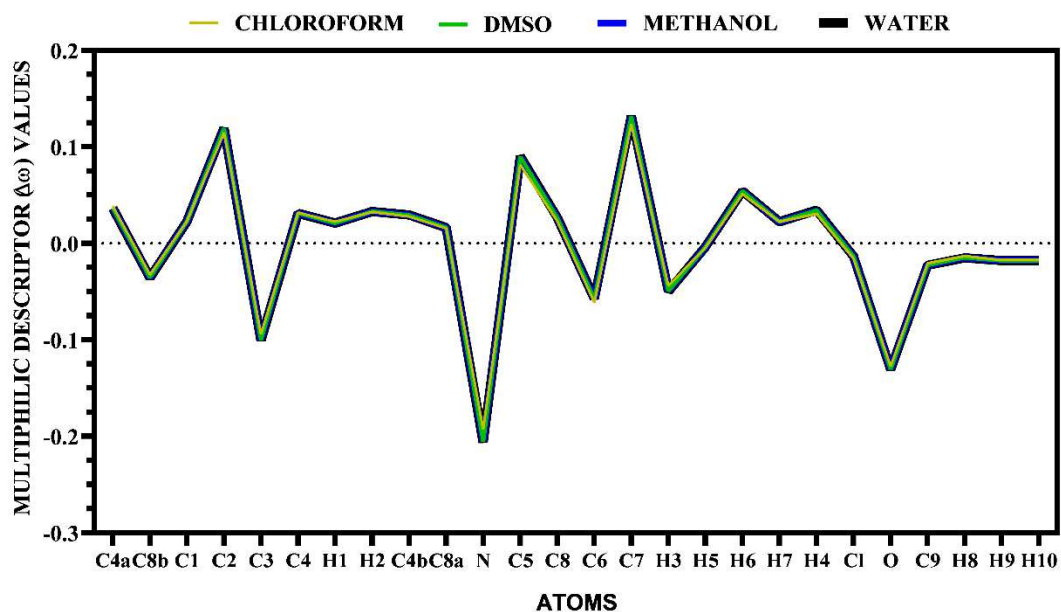
5.1.3 Funções condensadas de Fukui

As funções de suscetibilidade de ataque nucleofílico (f_A^+) e de suscetibilidade de ataque eletrofílico (f_A^-), juntamente com o descritor duplo (Δf) e o descritor multifrontal ($\Delta\omega$), são parâmetros usados para descrever o comportamento de cada átomo em uma molécula.

As funções de Fukui f_A^+ e f_A^- caracterizam o comportamento de cada átomo em uma molécula por meio de variações na densidade eletrônica após a remoção ou adição de carga (ZAINURI *et al.*, 2017). A função f_A^+ é usada para descrever a suscetibilidade de um átomo a

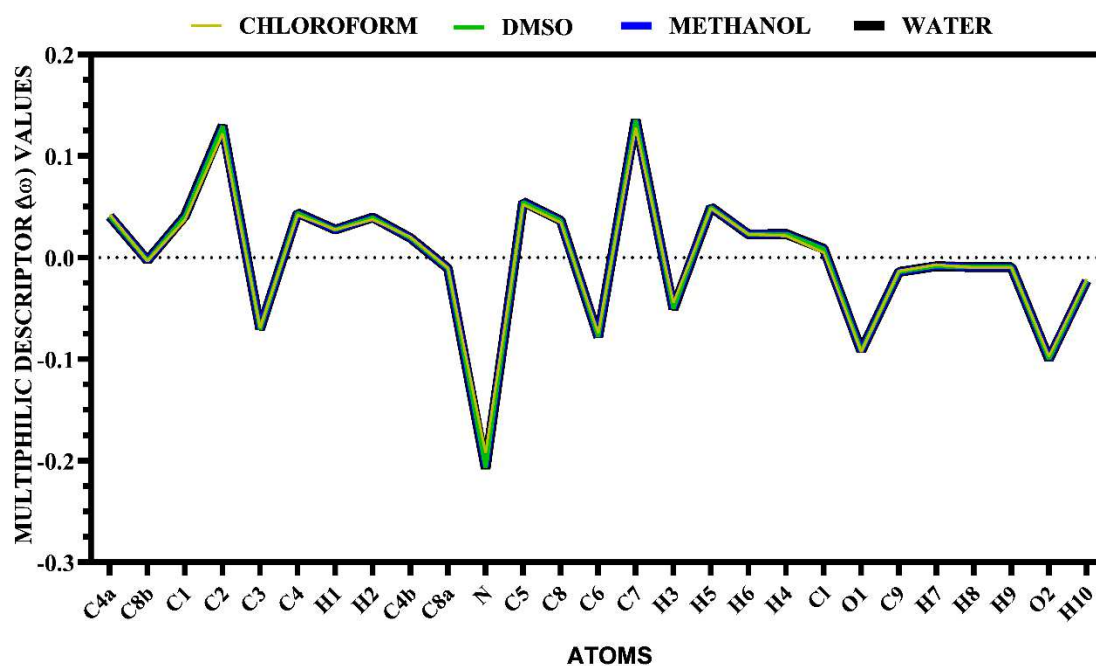
ataques nucleofílicos, enquanto a função f_A^- é usada para descrever a suscetibilidade de um átomo a ataques eletrofílicos. Os resultados mostram valores positivos para ambas as funções nos ambientes calculados para todos os derivados (Tabela 1). O descritor duplo Δf e o descritor multifílico $\Delta\omega$, calculados a partir das funções de Fukui, caracterizam simultaneamente as contribuições nucleofílicas e eletrofílicas de cada átomo, fornecendo assim um perfil de reatividade local inequívoco. Os dados do descritor multifílico calculados para os derivados estão compilados nas Figuras 4-7. Observa-se que o comportamento químico de cada átomo não foi afetado por alterações no ambiente simulado para os derivados. Além disso, quando comparados uns aos outros, os derivados apresentam um perfil de comportamento químico semelhante. Os resultados indicam que os átomos mais suscetíveis ao ataque nucleofílico são C1, C2, C4, C4a, C4b, C5, C7, C8 e C8a para o derivado **CCB1**; C1, C2, C4, C4a, C4b, C5, C7, C8 e C1 para os isômeros **CCB2** e **CCB3**; C1, C2, C4, C4a, C4b, C5, C7, C8 e C8a para o derivado **CCB4**. Enquanto os átomos mais suscetíveis ao ataque eletrofílico são C3, C6, C8b, C9, C1 e N para o derivado **CCB1**; C3, C6, C8b, C9, O1, O2 e N para o derivado **CCB2** e **CCB3**; C3, C6, C8b, C9, C10, O1, O2 e N para o derivado **CCB4**. Os resultados indicam que os átomos mais suscetíveis ao ataque nucleofílico são C1, C2, C4, C4a, C4b, C5, C7, C8 e C8a para o derivado **CCB1**; C1, C2, C4, C4a, C4b, C5, C7, C8 e C1 para os isômeros **CCB2** e **CCB3**; e C1, C2, C4, C4a, C4b, C5, C7, C8 e C8a para o derivado **CCB4**. Enquanto isso, os átomos mais suscetíveis ao ataque eletrofílico são C3, C6, C8b, C9, C1 e N para o derivado **CCB1**; C3, C6, C8b, C9, O1, O2 e N para os derivados **CCB2** e **CCB3**; e C3, C6, C8b, C9, C10, O1, O2 e N para o derivado **CCB4**.

Figura 4 – Valores do descritor multifílico para cada átomo do derivado CCB1



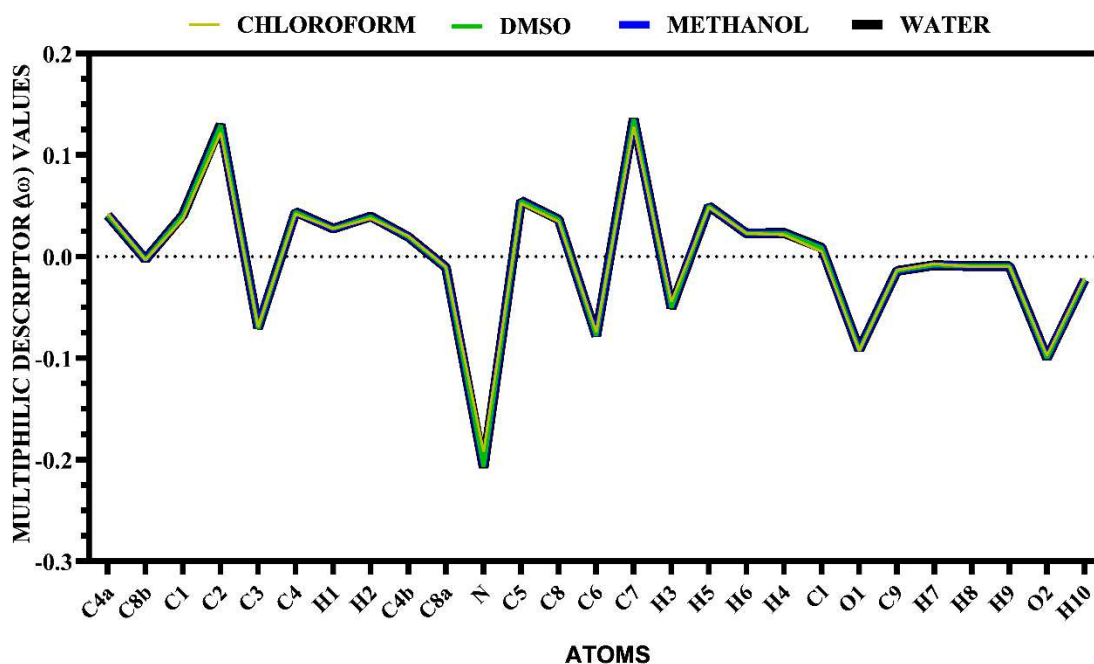
Fonte: Elaborado pelo autor

Figura 5 – Valores do descritor multifílico para cada átomo do derivado CCB2



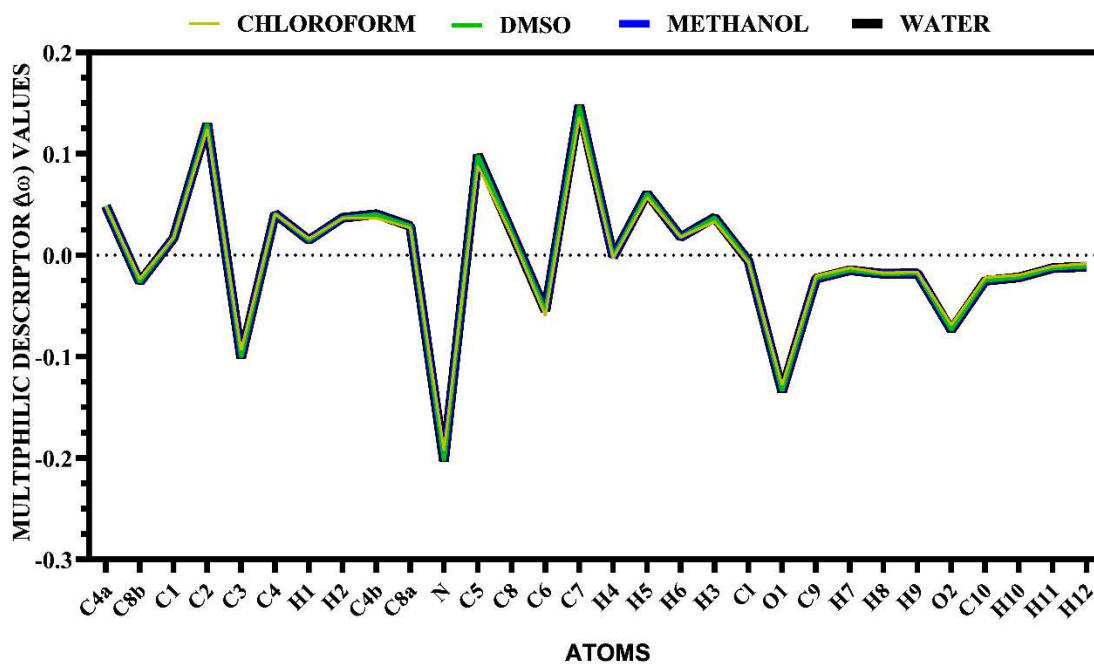
Fonte: Elaborado pelo autor

Figura 6 – Valores do descritor multifílico para cada átomo do derivado CCB3



Fonte: Elaborado pelo autor

Figura 7 – Valores do descritor multifilico para cada átomo do derivado CCB4



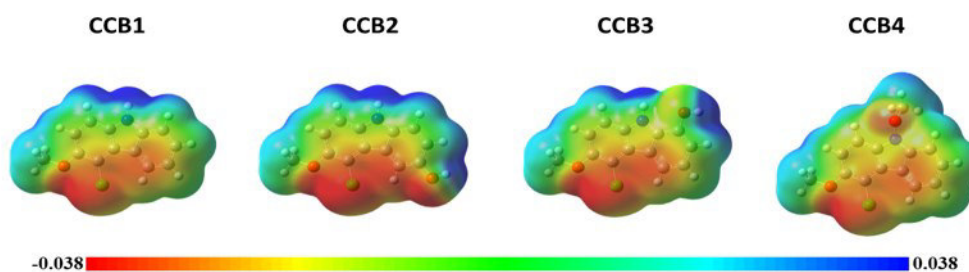
Fonte: Elaborado pelo autor

5.1.4 Potencial eletrostático molecular

O potencial eletrostático molecular (MEP) é uma ferramenta essencial para compreender a distribuição da densidade eletrônica em moléculas de interesse e como essas

distribuições podem afetar as interações intermoleculares. As superfícies MEP para as clorocarbazomicinas, calculadas no nível de teoria B3LYP/6-31++G(d,p), são mostradas na Figura 8 para os solventes clorofórmio, DMSO e metanol, e na Figura 4 para a água. As superfícies MEP exibem gradientes de cores que vão do azul (baixa densidade eletrônica), passando pelo verde (zona neutra), até o amarelo, laranja e vermelho (alta densidade eletrônica). O derivado **CCB1** exibe regiões de cor vermelha intensa sobre os átomos de oxigênio e cloro, devido à alta eletronegatividade desses átomos, e cor azul sobre os átomos de hidrogênio, com a maior intensidade observada para H3. O esqueleto de carbono é representado por uma região verde, e a presença de grupos de retirada de elétrons por meio de efeitos indutivos no anel A reduz a densidade eletrônica nessa região, exibindo uma superfície amarela, enquanto o anel C mostra uma superfície vermelho-amarelada. Os isômeros **CCB2** e **CCB3** apresentam uma distribuição eletrônica semelhante à do derivado **CCB1**, diferindo apenas no comportamento do O2. Para o **CCB2**, o O2 apresenta uma região de alta densidade eletrônica, exibindo coloração vermelha intensa, enquanto no derivado **CCB3**, o átomo O2 apresenta densidade eletrônica mais baixa com coloração amarela clara. Essa discrepância pode ser atribuída à ligação de hidrogênio entre O2 e H3 no **CCB3**. Para o derivado **CCB4**, são observadas diferenças menores na distribuição da densidade eletrônica, com colorações menos intensas em regiões de alta e baixa densidade eletrônica em comparação com os outros derivados. Ao analisar diferentes ambientes, a constante dielétrica afeta a distribuição da densidade eletrônica. Assim, uma constante dielétrica mais alta leva a uma maior separação de cargas parciais e a diferenças maiores na distribuição da densidade eletrônica nas moléculas analisadas.

Figura 8 – Potencial Eletrostático Molecular calculado em água para as clorocarbazomicinas CCB1-4



Fonte: Elaborado pelo autor

5.2 Triagem de predição do alvo

A abordagem de triagem virtual baseada em ligante (*ligand-based virtual screening*) foi aplicada para predição do alvo biológico de ligação (DA ROCHA *et al.*, 2024), e os resultados podem ser visualizados no gráfico da Figura 9. O teste de predição de alvo aqui utilizado é impulsionado por um modelo de aprendizagem de máquina que consiste na similaridade estrutural dos compostos de entrada com bioativos conhecidos depositados na base de dados da ChEMBL (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2019).

Os resultados mostraram que os quatro derivados **CCB1-3** mostraram uma distribuição relativa de, pelo menos, 33,3% de sua bioatividade como moduladores de receptores acoplados a proteína G (GPCR), com destaque para o derivado **CCB3**, com uma distribuição relativa de 40% de sua bioatividade em relação a esta classe de receptores (Figura 9). Outras atividades incluem a inibição de enzimas e ligação com canais de transporte iônico, com aproximadamente 20% para estes análogos (Figura 9).

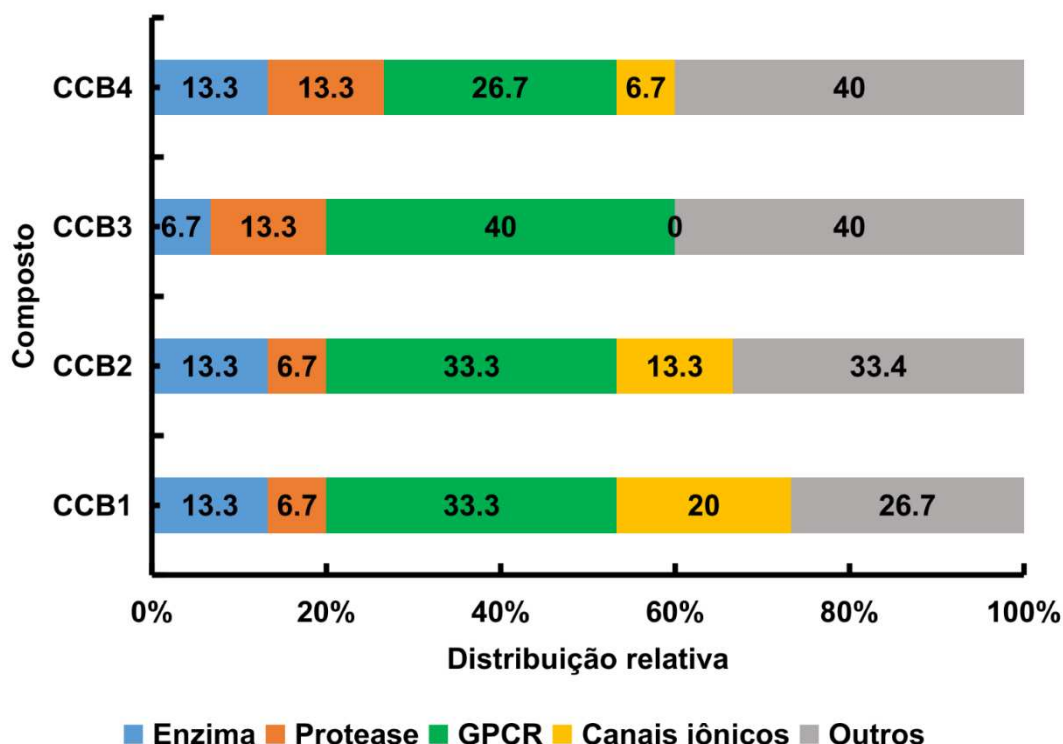
Nesta predição, foi possível observar que os derivados **CCB1-4** mostraram similaridade estrutural com uma série de moduladores de GPCRs específicas. Os resultados sugerem que os compostos **CCB1** e **CCB4** apresentam similaridade estrutural com pelo menos 100 compostos moduladores de receptores de adenosina A1 (A₁R), incluindo bases nitrogenadas e compostos heterocíclicos aminados, e mais de 50 compostos moduladores do receptor de monoamina oxidase A (Tabela 2). Já os derivados **CCB2** e **CCB3** apresentaram similaridade com pelo menos 17 moduladores de receptores A₁R, incluindo compostos heterocíclicos aminados (Tabela 2). Estes resultados sugerem que os derivados de **CCB1-4** podem atuar como moduladores de A₁R no sistema nervoso central (SNC).

Tabela 2 – Similaridade 2D com compostos moduladores de GPCRs a partir da triagem virtual baseada em ligantes.

Alvos/GPCR	CCB1	CCB2	CCB3	CCB4
Receptor de Adenosina A1	106	17	19	183
Receptor GABA _A	2	2	1	4
Receptor Monoamina oxidase A	53	9	10	82
Receptor Opióide κ	6	5	3	-
Receptor Opióide μ	-	8	5	16

Fonte: Elaborado pelo autor

Figura 9 – Distribuição relativa da bioatividade dos derivados CCB1-4 por classes de alvos biológicos



Fonte: Elaborado pelo autor

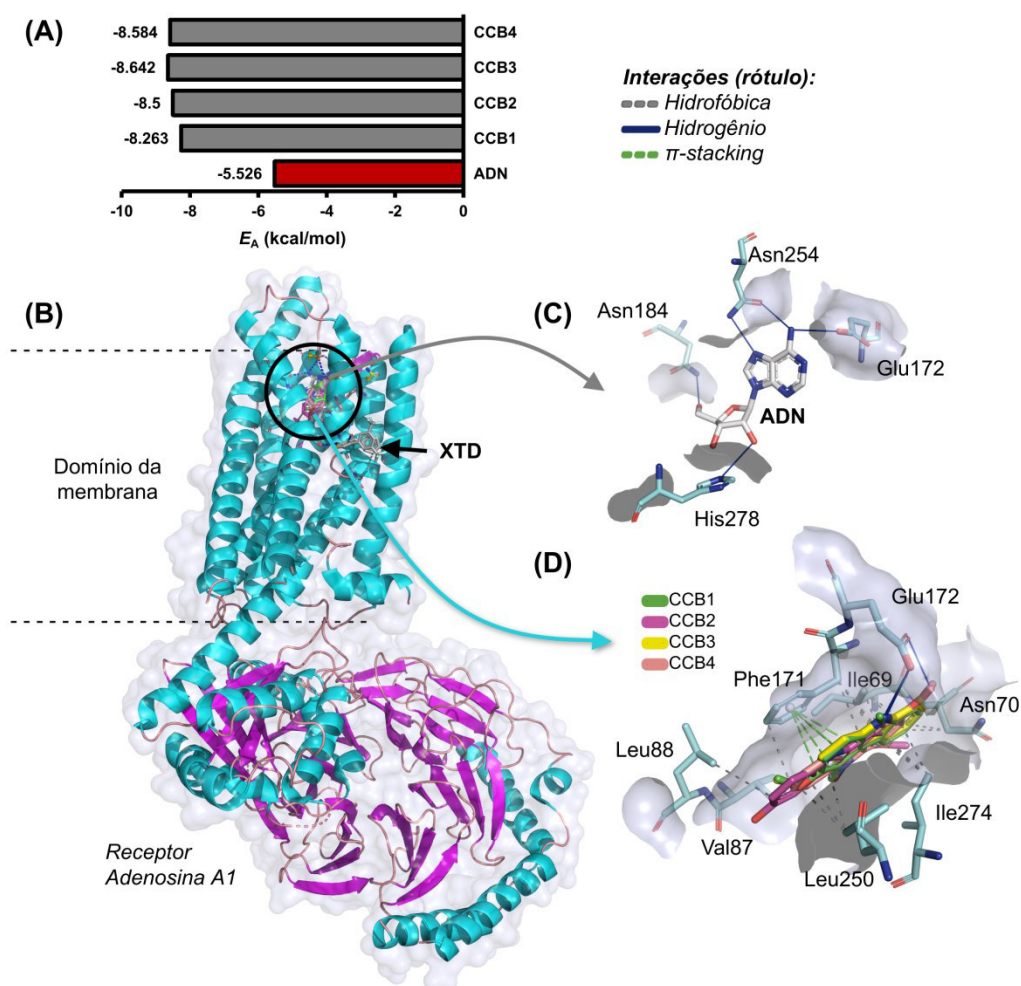
5.3 Simulações de *Docking Molecular* com o receptor A₁R

Neste estudo, o efeito anti-parkinson dos derivados CCB1-4 foi avaliado via simulações de *docking molecular*, tendo como alvo o receptor A₁R, identificado pela triagem virtual baseada em ligante (Tabela 2). Ao fim do ciclo de 50 simulações independentes de 20 poses cada, para cada um dos análogos CCB, foi possível observar que os compostos se ligam ao sítio ativo do receptor com uma ordem de energia de afinidade (E_A) inferior a -8,0 kcal/mol, indicando que os compostos apresentam uma ótima especificidade pelo sítio de ligação do domínio da membrana do receptor A₁R (Figure 10A), além de mostrarem maior afinidade pelo receptor quando comparado ao ligante endógeno adenosina (ADN) (SHITYAKOV; FOERSTER, 2014). As simulações, com as *best-poses* selecionadas, performaram dentro de um limiar estatístico formado por RMSD inferior a 2.0 Å, indicando um baixo desvio quadrático médio (YUSUF *et al.*, 2008), onde os derivados de CCB se complexou no mesmo sítio de ligação da ADN, localizado no domínio transmembranar (Figura 10B).

Dentro das análises de reconhecimento molecular, foi possível observar que as interações entre o ligante endógeno ADN e o receptor de A₁R são essencialmente baseadas em interações de hidrogênio, onde a base nitrogenada e o grupo amina primário (-NH₂) interagem com a porção polar da cadeia lateral dos resíduos de Glu172 e Asn254, enquanto a subestrutura

de pentose interagiu com a porção polar dos resíduos de Asn184 e His278 (Figura 10C) (DRAPER-JOYCE *et al.*, 2021). É válido notar que os derivados **CCB1-4** mostraram interações específicas em comum com a ADN em relação aos resíduos de aminoácido do sítio ativo do A₁R, incluindo interações de hidrogênio com o resíduo de Glu172, destacando que a natureza aromática dos compostos favoreceu a formação de interações de π -stacking com a porção aromática do resíduo de Phe171 (Figura 10D).

Figura 10 – (A) Energia de afinidade (EA) obtida ao fim das simulações de *docking molecular*, (B) encaixe dos derivados CCB1-4 relação à ADN no receptor A₁R, e detalhes das interações ligante-receptor da (C) ADN e dos (D) derivados CCB1-4



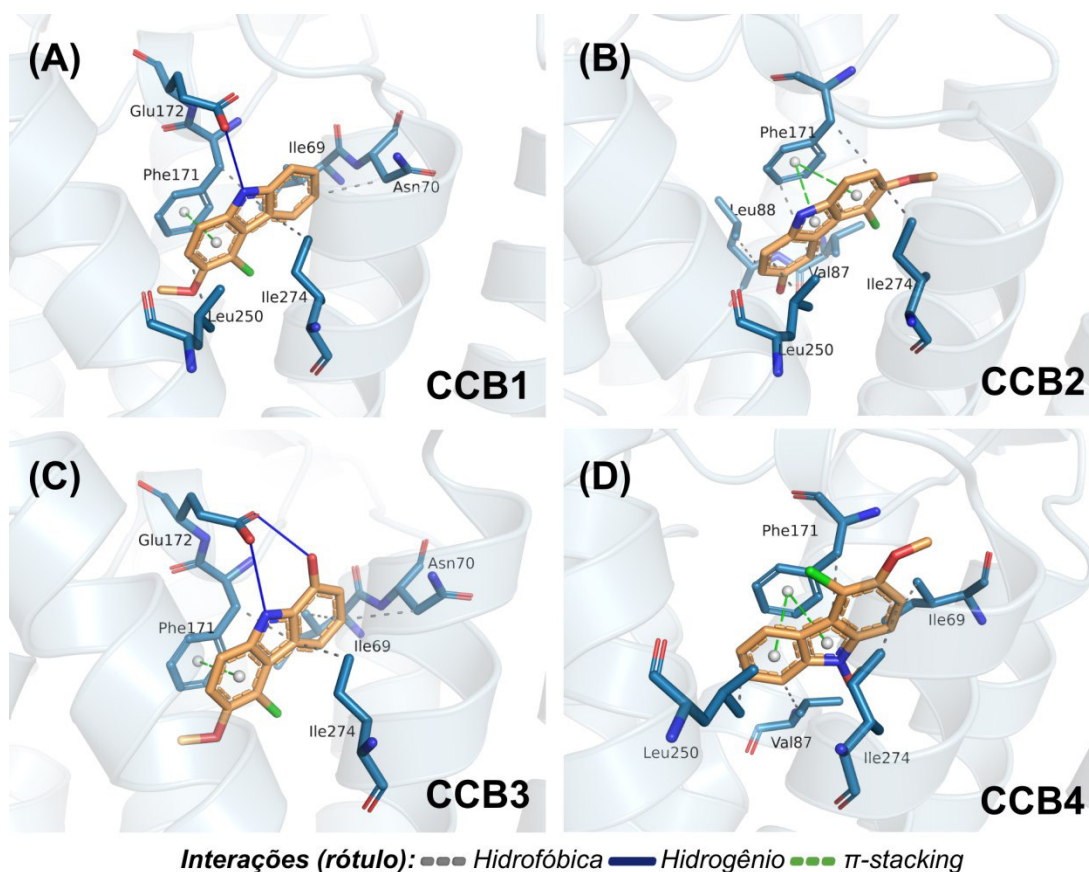
Fonte: Elaborado pelo autor

A partir da análise das contribuições estruturais foi possível observar os tipos de interações que os derivados de **CCB1-4** formaram com os resíduos do sítio de ligação do A₁R. Para os derivados **CCB1-3**, é válido observar que o sistema aromático que envolve o anel

heteroaromático contendo amina (-NH) e o benzeno cloro-substituído contribuiu para a formação de interações de π -stacking com a porção aromática do resíduo de Phe171 (Figura 11), com distância relativa que varia entre 3.8-3.9 Å entre os anéis aromáticos dos ligantes e o anel aromático do resíduo (Tabela 3) (PERSCH; DUMELE; DIEDERICH, 2015). É curioso notar que, nos derivados **CCB1** e **CCB3**, o empilhamento paralelo entre os sistemas aromáticos cloro-substituídos e o resíduo de Phe171 favoreceu a formação de interações de hidrogênio entre o grupo amina (-NH) dos ligantes com o grupo carboxilato (-COO⁻) do resíduo de Glu172, enquanto a interação de π -stacking do resíduo de Phe171 com o grupo heteroaromático aumentou a prevalência de interações hidrofóbicas nos compostos **CCB2** e **CCB4** (Figura 11).

Ainda, foi possível observar que o ligante **CCB3** apresenta um grupo hidroxila substituído (-OH) no anel benzeno fundido ao anel heteroaromático que atua como um doador de hidrogênio para a carbonila da cadeia lateral polar do resíduo de Glu172 (R-OH \cdots O=C-Glu172) (PERSCH; DUMELE; DIEDERICH, 2015), com distância doador-aceitador na ordem de 2.09 Å, indicando que o composto pode se ligar mais fortemente à proteína quando comparado aos demais análogos (IMBERTY *et al.*, 1991).

Figura 11 – Contribuições estruturais nas interações ligante-receptor entre os derivados (A) CCB1, (B) CCB2, (C) CCB3 e (D) CCB4 e os resíduos de aminoácido do sítio ativo do receptor A₁R



Fonte: Elaborado pelo autor

Tabela 3 – Dados das simulações de *docking molecular*, expressos em RMSD e energia de afinidade (E_A) e detalhes das interações ligante-receptor expressos em tipo, resíduo e distância

Ligante	RMSD	E_A	Interações ligante-receptor		
			Tipo	Resíduo	Distância
CCB1	1,641 Å	-8,263 kcal/mol	Hidrofóbica	Ile69	3,43
				Asn70	3,55
				Phe171	3,67
				Leu250	3,94
				Ile274	3,49
			Hidrogênio	Glu172	2,38
CCB2	1,601 Å	-8,5 kcal/mol	Hidrofóbica	Phe171	3,94
				Val87	3,42
				Leu88	3,92
				Phe171	3,52
CCB3	1,641 Å	-8,263 kcal/mol	Hidrofóbica	Ile69	3,43
				Asn70	3,55
CCB4	1,601 Å	-8,5 kcal/mol	Hidrofóbica	Val87	3,42
				Leu250	3,92
				Phe171	3,52
				Phe171	3,98

				Leu250	3,72
				Ile274	3,48
			π -stacking	Phe171	4,09
				Phe171	3,81
CCB3	1,591 Å	-8,642 kcal/mol	Hidrofóbica	Ile69	3,54
				Asn70	3,69
				Phe171	3,55
				Ile274	3,49
			Hidrogênio	Glu172	2,09
				Glu172	2,27
			π -stacking	Phe171	3,85
CCB4	1,518 Å	-8,584 kcal/mol	Hidrofóbica	Ile69	3,64
				Val87	3,60
				Phe171	3,62
				Leu250	3,74
				Ile274	3,72
			π -stacking	Phe171	3,90
				Phe171	3,85
ADN	1,098 Å	-5,526 kcal/mol	Hidrogênio	Glu172	2,41
				Asn184	3,02
				Asn254	1,96
				Asn254	2,11
				His278	2,74

Fonte: Elaborado pelo autor

5.4 Simulações de dinâmica molecular

5.4.1 Análises das variações de RMSD

Após as simulações de DM, foram avaliados todos os valores conformacionais propostos para cada sistema simulado, sendo observadas as possíveis variações para cada sistema pela variação de RMSD (Figura 12), onde o receptor A₁R foi simulado inicialmente sem a presença de qualquer ligante em seus sítios (Figura 12A), para assim avaliar como o receptor irá se comportar. Na Figura 12B é apresentadas todas as variações realizadas entre o receptor e o inibidor ADN, enquanto na Figura 12C é possível observar os valores de RMSD para o complexo formado entre o ligante **CCB3** com o receptor A₁R. As simulações foram

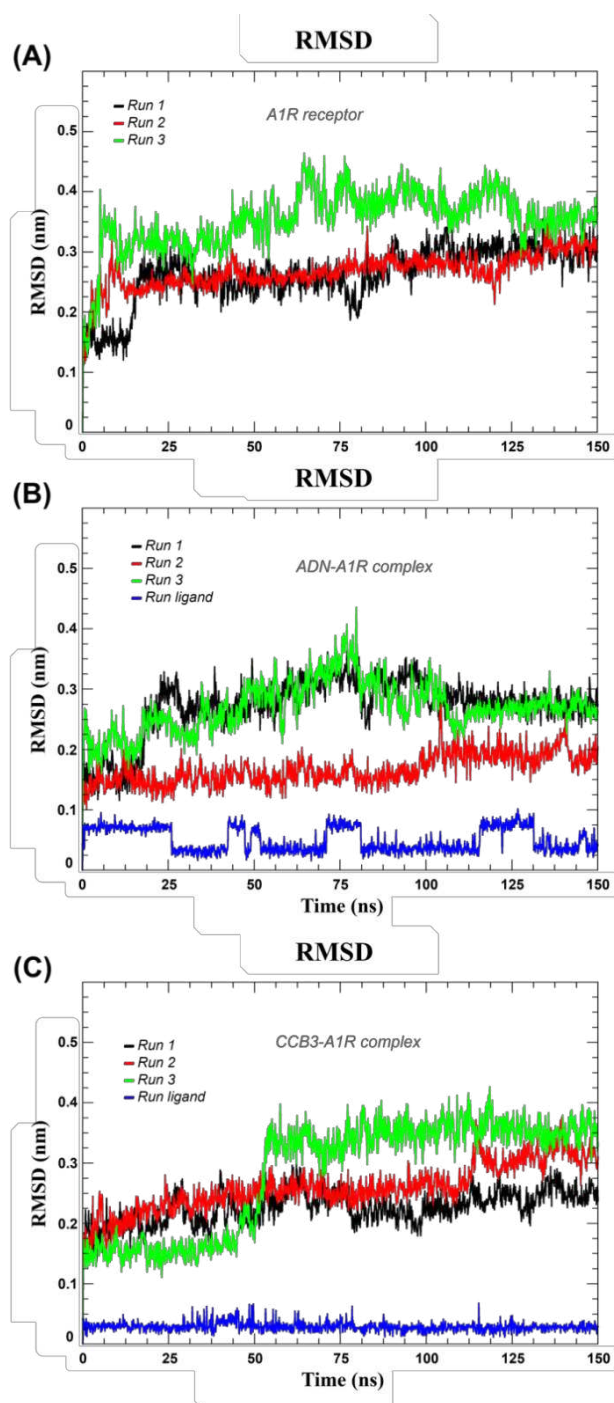
realizadas em triplicata (três corridas), representadas pelas linhas preta (*run 1*), vermelha (*run 2*) e verde (*run 3*).

Ao tratar das variações de RMSD do receptor, presente na Figura 12A, é possível observar que o sistema apresentou variações significativas logo no início da simulação, referente as três simulações, com variações de 1,6 Å em 5 ns para a primeira corrida. Já a segunda corrida, a variação conformacional foi igual a 2,4 Å, enquanto a terceira simulação apresentou valores próximos de 3,6 Å. A primeira e segunda simulação apresentaram valores coesos a partir 15 ns, com resultados próximos a 2,5 Å, e mantiveram-se relativamente coesos até 150 ns, com variações conformacionais em torno de 3,0 Å. Por outro lado, ao tratar da terceira simulação, foi observado que o sistema atingiu um ápice de variação com valores de RMSD em torno de 4,5 Å e, em seguida, apresentou menores desvios, atingindo ao final da simulação o valor igual a 3,1 Å.

As simulações de DM realizadas com o receptor A₁R na presença do ligante endógeno ADN apresentaram dois comportamentos distintos nas corridas avaliadas. Na primeira e terceira corridas, observou-se estabilização e coesão com desvios de 3,0 Å em 22 ns, alcançando variações conformacionais de 3,5 Å em 75 ns para a primeira corrida e 4,0 Å para a terceira. Ambas estabilizaram em 2,8 Å até 150 ns. Já a segunda corrida apresentou menores variações, com 1,5 Å em 3 ns, mantendo-se constante até 100 ns e subindo para 2,1 Å até 150 ns. Em relação ao RMSD do ligante, ocorreram quatro momentos de instabilidade: entre 1 ns e 26 ns (0,7 Å), 40 ns e 51 ns (0,6 Å), 71 ns e 81 ns (0,8 Å), e 115 ns a 130 ns (0,7 Å). Após esse ponto, o sistema estabilizou com RMSD de 0,5 Å até o final da simulação em 150 ns.

No sistema formado pelo complexo CCB3-A₁R (Figura 12C), as duas primeiras corridas apresentaram valores de RMSD similares, em torno de 2,5 Å até 110 ns. A partir desse ponto, a primeira corrida permaneceu estável com variações de 2,8 Å até o final da simulação, enquanto a segunda corrida apresentou picos de até 3,0 Å em 150 ns. A terceira corrida teve inicialmente variações de 1,6 Å até 50 ns, seguidas por um aumento para 3,6 Å em 55 ns, mantendo-se estável até 150 ns. Quanto ao ligante CCB3, ele apresentou variações mínimas durante toda a simulação, com valores constantes de 0,35 Å.

Figura 12 – Variações de RMSD (A) Sistema formado com a presença do receptor A₁R, (B) variações conformacionais com o inibidor cocristalizado e (C) Valores de RMSD para o sistema formado com o ligante CCB3



Fonte: Elaborado pelo autor

Os valores de Variações observados na Figura 12A apontam que o receptor A₁R demonstrou valores que ressaltam potencias instabilidades associados principalmente a terceira corrida, já a primeira e segunda foi demonstrado bons valores de iniciais, mas ao se aproximar do final da simulação a similaridade observada entre primeira e a segunda corrida foram desfeitas, apontando que o sistema demonstrou índices de instabilidades pelas suas variações de RMSD e possíveis variações crescentes nas variações divergentes de RMSD (DURAN *et al.*, 2021).

Em avaliação do sistema formado com o inibidor caracterizada pela presença do complexo ADN-A₁R, foi destacado que o sistema apresentou bons índices de estabilidade, observado principalmente na segunda corrida, outro ponto favorável está relacionada a presença de coesão entre a primeira e a segunda corrida, quando é avaliada as variações conformacionais do próprio inibidor (azul), foi observado que ocorreu baixas variações conformacionais, mas apresentando pequenas variações estruturais, mas ao final dos estudos de predição o ligante apresentou bons resultados que remetem a estabilidade com valores em torno de 0,5 Å até 150 ns, demonstrando a presença do potencial de inibição ocasionado, pela participação do inibidor ADN e sua majoritária coesão entre as variações de RMSD (GUTERRES; IM, 2020).

Ao analisar os resultados expresso pela a presença do composto **CCB3** em complexo direto com o receptor A₁R é observado que o sistema apresentou índices de estabilidade bastante associado pela primeira e a segunda corrida, demonstrando baixos valores de RMSD, mas ao observar as variações únicas referente ao ligante é apresentado que o composto, apresentou baixas variações de RMSD e excelente coesão e continuidade até atingir 150 ns, apontando que o ligante apresentou um favorecimento na especificidade em relação a cavidade em que está inserido, podendo ser um ponto determinante, que ressalta o potencial de inibição associado diretamente ao composto **CCB3**, em formação de complexo com o receptor A₁R (GUTERRES; IM, 2020; PEREIRA *et al.*, 2024).

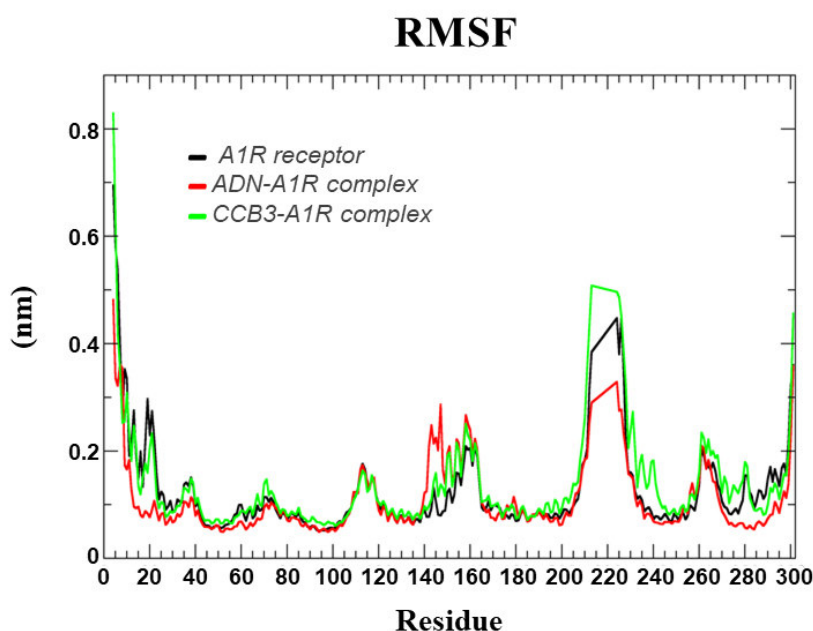
5.4.2 *Variações das flutuações por RMSF*

As variações de RMSF estão associadas diretamente ao potencial de rigidez ou flexibilidade que alguns resíduos de aminoácidos presentes nos receptores alvos, apontando assim possíveis deformações em aminoácidos por uma análise entre o estado inicial e final da simulação de DM. As flutuações observadas na Figura 13 foram dívidas em três sistemas diferente sendo o primeiro o receptor A₁R sem a presença de ligante (preto), o segundo é o complexo formado entre o receptor A₁R com a presença do inibidor co-cristalizado ADN (vermelho) e a terceira variação de RMSF, está relacionado ao complexo **CCB3**-A₁R (verde).

As flutuações dos resíduos de aminoácidos entre os sistemas demonstraram uma grande similaridade, indicando isonomia na flexibilidade da maioria dos resíduos. No entanto, alguns resíduos exibiram variações distintas. Por exemplo, o resíduo Gly145 apresentou flutuações de 1,0 Å no sistema A₁R, 2,3 Å no complexo ADN-A₁R, e 1,6 Å no complexo **CCB3**-A₁R. Esse padrão de divergência manteve-se até o resíduo Ala158, que mostrou variações de 2,1 Å, 2,6 Å e 2,5 Å, respectivamente, nos três sistemas. Outro ponto de divergência foi observado no resíduo 213, cujas flutuações foram de 3,8 Å no A₁R, 3,0 Å no

ADN-A₁R, e 5,1 Å no **CCB3**-A₁R, sugerindo diferenças significativas na flexibilidade local. Além disso, o resíduo Lys228 apresentou flutuações de 2,2 Å no sistema A₁R, 2,0 Å no ADN-A₁R, e 3,2 Å no complexo **CCB3**-A₁R, reforçando a heterogeneidade nos comportamentos dos sistemas. Por fim, uma flutuação acentuada foi observada no resíduo Leu240, especificamente no complexo **CCB3**-A₁R (1,8 Å), enquanto os sistemas A₁R e ADN-A₁R exibiram deformações menores, em torno de 0,7 Å, destacando uma flexibilidade diferenciada nessa região.

Figura 13 – Flutuações de resíduos de aminoácidos do receptor alvo (linha preta) o receptor A₁R sem a presença de ligante, (linha vermelho) sistema formado com a presença do complexo ADN-A₁R e (linha verde) flutuações do complexo CCB3-A₁R



Fonte: Elaborado pelo autor

As variações de RMSF demonstram que o sistema formado apenas com receptor alvo apontou em alguns momentos menores deformações em seus resíduos de aminoácidos, mas ao comparar diretamente com a variações de flutuação do complexo ADN-A₁R, é observado que este sistema apresentou menores deformações de maneira geral, apresentando menores flutuações no decorrer dos resíduos de aminoácido, mas, ao observar as deformações expressas pelo complexo **CCB3**-A₁R, é apresentado que houve a presença de deformações similares quando comparados com o complexo formado com o inibidor, corroborando com potencial estabilidade e o potencial de inibição do receptor A₁R (DA FONSECA *et al.*, 2024).

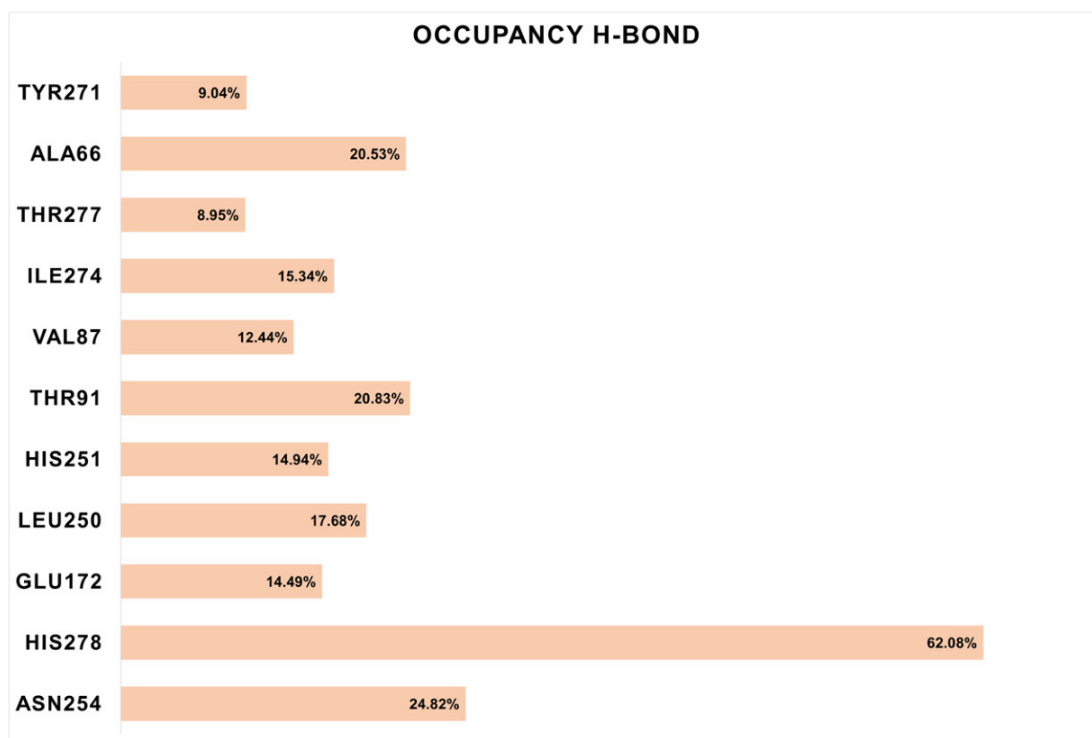
5.4.3 Análises de ocupação de H-Bond

As ligações de hidrogênio formadas a partir da relação entre receptor A₁R e os ligantes ADN e **CCB3** são apresentadas na Figura 14, onde são apontadas as ocupações das ligações de hidrogênio formadas no decorrer das simulações de DM no intervalo de 150 ns, sendo considerados valores de percentuais significativos quando superiores a 5,0% (DE OLIVEIRA *et al.*, 2024).

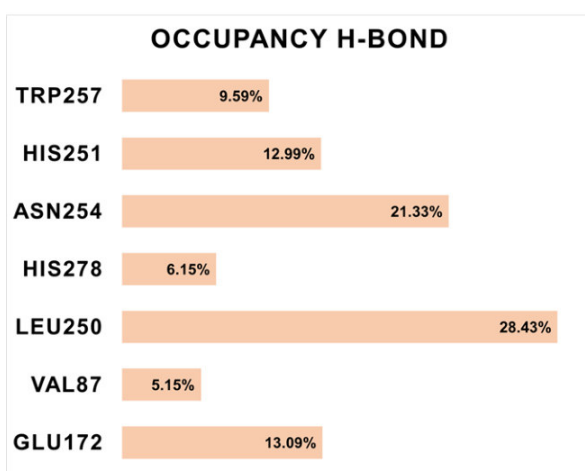
Ao analisar os valores de ocupação das ligações de hidrogênio formadas entre o agonista endógeno ADN e os resíduos do seu sítio de ligação (Figura 14A), destacam-se os resíduos de Tyr271 (9,04%), Ala66 (20,53%), Thr277 (8,95%), Ile274 (15,34%), Val87 (12,44%), Thr91 (20,83%), His251 (14,94%), Leu250 (17,68%), Glu172 (14,49%), His278 (62,08%) e Asn254 (24,82%). Nesta relação, é válido destacar que os resíduos de Thr277, Ile274, Val87, Thr91, Leu250, Glu172, His278 e Asn254, constituem o sítio ativo do receptor A₁R. Por outro lado, o complexo formado entre o ligante **CCB3** e o receptor A₁R (Figura 14B) apresentou ocupação de ligações de hidrogênio com os resíduos de Trp257 (9,59%), His251 (12,99%), Asn254 (21,33%), His278 (6,15%), Leu250 (28,43%), Val87 (5,15%) e Glu172 (13,09%). Nesta relação, apenas o resíduo de His251 não está listado entre os resíduos do sítio ativo do receptor A₁R, indicando que o composto **CCB3** forma uma série de interações de hidrogênio que envolvem a porção polar destes resíduos de aminoácido.

Figura 14 – Ocupação das ligações de hidrogênio, (A) Ligações de hidrogênio formadas com o composto ADN e A₁R, (B) percentual das ligações de hidrogênio existentes entre o composto CCB3 e o receptor A₁R

(A)



(B)



Fonte: Elaborado pelo autor

Através das análises das ocupações das ligações de hidrogênio é possível relatar que o inibidor co-cristalizado ADN presente no sítio de inibição exerce diversas ligações de hidrogênio diretamente com resíduos do sítio ativo, apresentando projeções favoráveis de para a formação da ligação vantajosas para o potencial de interação, e conseqüentemente elevando o potencial de inibição associado diretamente a relação entre ligante e receptor alvo (ALI *et al.*,

2023). A partir das análises das ligações de hidrogênio observadas pela ocupação, é possível destacar que o composto **CCB3**, apresentou a formação das ligações de hidrogênio com seis resíduos de aminoácidos presentes no sítio ativo do receptor alvo apontando um elevado percentual de ligação que chegou até 28,43% através da interação com o resíduo Leu250, todas as ligações apontam que possivelmente o composto apresentou estabilidade no sítio de inibição demonstrando um elevado potencial frente a inibição da atividade biológica do alvo A₁R (ALAMRI *et al.*, 2020; BITENCOURT-FERREIRA; VEIT-ACOSTA; DE AZEVEDO, 2019).

5.4.4 Cálculos de energia livre por MM/GBSA

As simulações de DM apresentaram o comportamento de estabilidade associado pela interação exercida entre ligante e o receptor alvo, desta forma é apresentada na Tabela 4, todos os valores calculados por MM/GBSA dos sistemas formados com a presença dos complexos ADN-A₁R e **CCB3**-A₁R, os valores de energia livre para cada complexo foi igual a $-23,32 \pm 4,42$ kcal/mol (ADN-A₁R) e $-25,93 \pm 4,13$ kcal/mol (**CCB3**-A₁R).

Tabela 4 – Valores referente ao MM/GBSA, para os sistemas ADN-A₁R e **CCB3**-A₁R

Complexo	E_{vdW}	E_{ele}	G_{GB}	G_{SA}	$-T\Delta S$	ΔG_{bind}
ADN-A ₁ R	-29,76	-36,01	41,86	-4,68	5,27	$-23,32 \pm 4,42$
CCB3 -A ₁ R	-29,88	-35,89	40,20	-5,54	5,18	$-25,93 \pm 4,13$

Fonte: Elaborado pelo autor

A Tabela 4 mostra todos os valores associados ao cálculo de MM/GBSA, onde é destacado todas as contribuições exercidas em cada sistema, ressaltando que o complexo ADN-A₁R apresentou um valor de energia livre de ligação igual a $-23,32$ kcal/mol, onde foram acentuadas três contribuições favoráveis a favor da energia livre, responsável pelos termos E_{vdW} ($-29,76$ kcal/mol), E_{ele} ($-36,01$ kcal/mol) e G_{SA} ($-4,68$ kcal/mol). No entanto, ao tratar das contribuições desfavoráveis relacionadas a energia livre, são apontados os termos G_{GB} ($41,86$ kcal/mol) e $-T\Delta S$ ($5,27$ kcal/mol). Ao avaliar o comportamento energético é possível apontar que ocorreram a prevalência de três termos determinantes para a energia livre distribuídos pelos termos E_{vdW} , E_{ele} e G_{GB} , a relação ligante e receptor resultou em um excelente valor de energia livre, corroborando com a afinidade do complexo (MENA-ULECIA *et al.*, 2014). As simulações de DM expulsaram os valores de MM/GBSA para o complexo **CCB3**-A₁R, onde é possível destacar que o seu valor de energia livre foi igual a $-25,93$ kcal/mol, devidamente relacionada aos termos calculados, onde foi possível destacar três contribuições favoráveis para a energia livre, representadas pelos termos E_{vdW} ($-29,88$ kcal/mol), E_{ele} ($-35,89$ kcal/mol) e G_{SA}

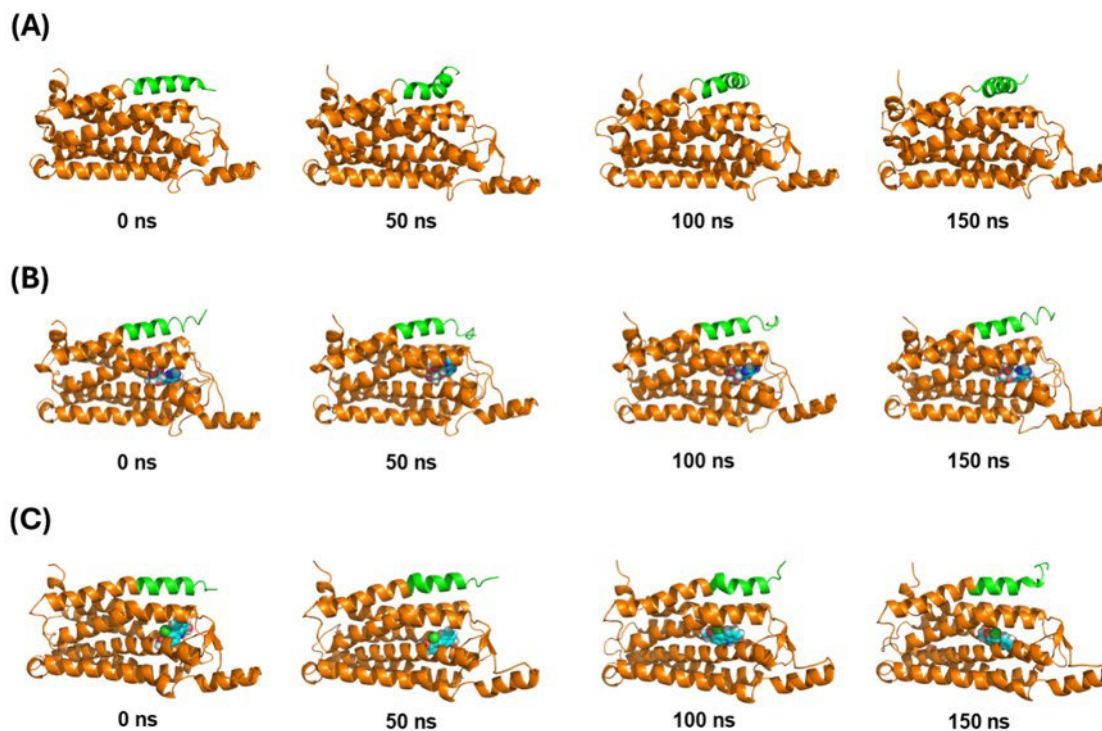
(-5,54 kcal/mol). Já para os termos desfavoráveis, é possível destacar a participação dos termos G_{GB} (40,20 kcal/mol) e $-T\Delta S$ (5,18 kcal/mol). Estes resultados sugerem que grande parte das contribuições determinantes para o potencial de energia livre ficou a cargo dos termos E_{vdw} , E_{ele} e G_{GB} (MENA-ULECIA *et al.*, 2014; SINGH *et al.*, 2024).

Pelos resultados apresentados é possível ressaltar que em decorrência dos valores de energia livre, ambos os complexos apresentaram excelentes valores de energia livre. Mas quando comparado os dois sistemas, é válido ressaltar que o complexo **CCB3-A₁R**, apresentou uma melhor ordem de energia livre em relação ao ligante endógeno ADN, demonstrando assim, um elevado potencial de estabilidade e afinidade, observada pelas simulações de DM.

5.4.5 Visualização dos sistemas por DM

Referente às análises das variações estruturais dos sistemas analisados, é possível destacar todas as mudanças ocorridas em alguns *frames* específicos das simulações, referente aos sistemas formados do receptor A₁R, e os complexos envolvendo os sistemas ADN-A₁R e **CCB3-A₁R** (Figura 15), demonstrando assim, como cada sistema se composta com a possibilidade da inserção ou não de um ligante em suas coordenadas. Nestas análises foram avaliadas as mudanças estruturais em todos os sistemas simulados, especificamente nos intervalos de tempo em 0 ns (conformação inicial), em 50 ns, 100 ns e por fim 150 ns (conformação final), apontando como cada um dos sistemas se comportou no decorrer das simulações de DM.

Figura 15 – Visualização das variações dos sistemas por DM: (A) sistema formado com a presença do receptor A₁R, (B) sistema para o complexo ADN-A₁R, (C) complexo CCB3-A₁R



Fonte: Elaborado pelo autor

Ao tratar da visualização expressa pelos cálculos de predição por DM é possível destacar que o sistema formado com apenas o receptor A_1R , inserido na Figura 15A, apresentou de maneira geral, pequenas variações em seus resíduos de aminoácidos, ressaltado entre 0 ns até 150 ns, mas ao observar as variações em regiões distintas do receptor é possível ressaltar a presença e a movimentação de uma alça (verde), que apresenta picos de instabilidades logo em 50 ns caracterizada por uma deformação em seus resíduos que se distânciam dos demais resíduos de aminoácidos, permanecendo praticamente inalterado em 100 ns até o final da simulação, demonstrando a presença de uma região no receptor que exerce momentos de instabilidade.

Quando as simulações ocorreram com a presença do ligante co-cristalizado ADN (azul), Figura 15B, é ressaltado inicialmente que o ligante apresentou excelentes índices de estabilidade dentro da cavidade onde está inserido, apresentando baixa variação estrutural no sistema. Ao estimar as mudanças ocorridas no receptor, onde o ADN está inserido, destaca-se que a alça (verde), que sofreu deformações estruturais quando o receptor estava sozinho, apresentou maior estabilidade desde o início da simulação até 150 ns, demonstrando que, possivelmente, a presença do nucleosídeo elevou a estabilidade do receptor A_1R , sugerindo um aumento no potencial de inibição com a presença da ADN. Ao tratar do complexo **CCB3**- A_1R , Figura 15C, observa-se que o composto **CCB3** (azul) apresentou excelente estabilidade no sistema, com baixas variações estruturais ao longo de 150 ns, ressaltando a elevação em sua

afinidade. Em relação à análise das modificações estruturais do receptor, a alça (verde) apresentou poucas mudanças durante a simulação, demonstrando que os resíduos de aminoácidos sofreram poucas deformações, evidenciando pontos de estabilidade que se correlacionam diretamente com o potencial de inibição do receptor A₁R pela interação com o ligante **CCB3** (DE OLIVEIRA *et al.*, 2024).

6 CONCLUSÃO

Os descritores de reatividade química indicaram que o **CCB2** é mais suscetível à doação de elétrons, enquanto o **CCB4** demonstra maior capacidade de acomodar carga negativa extra, sugerindo comportamentos reativos distintos entre os compostos em meio aquoso. A análise das energias orbitais moleculares HOMO e LUMO revelou que a reatividade das clorocarbazomicinas permanece estável em diferentes solventes, com variações mínimas que não afetam significativamente os orbitais de fronteira eletrônica, indicando consistência na natureza eletrônica do **CCB1-4**. Assim, a reatividade química das clorocarbazomicinas não é fortemente alterada pela presença dos ambientes simulados. As simulações de *docking molecular* mostraram que o derivado **CCB3** apresenta uma maior afinidade pelo sítio de ligação da agonista endógeno ADN no receptor A₁R. Corroborando a isso, as simulações de dinâmica molecular mostraram que a presença do **CCB3** resultou em uma maior estabilidade estrutural da proteína A₁R mostrando uma energia livre de ligação na ordem de -25,93 kcal/mol, corroborando diretamente com o potencial de afinidade do ligante pelo receptor A₁R. Estes resultados sugerem que o **CCB3** pode atuar como antagonista da ADN em receptores A₁R, seguindo uma proposta de interação com o alvo de forma semelhante a outros antagonistas da ADN no tratamento da DP.

REFERÊNCIAS

- ALAMRI, M. A. *et al.* Structure-based virtual screening and molecular dynamics of phytochemicals derived from Saudi medicinal plants to identify potential COVID-19 therapeutics. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 13, n. 9, p. 7224–7234, set. 2020.
- ALI, I. *et al.* Identification of Natural Lead Compounds against Hemagglutinin-Esterase Surface Glycoprotein in Human Coronaviruses Investigated via MD Simulation, Principal Component Analysis, Cross-Correlation, H-Bond Plot and MMGBSA. **Biomedicines**, v. 11, n. 3, p. 793, 6 mar. 2023.
- ALMEIDA-NETO, F. W. Q. *et al.* Characterization of the structural, spectroscopic, nonlinear optical, electronic properties and antioxidant activity of the N-{4'-[(E)-3-(Fluorophenyl)-1-(phenyl)-prop-2-en-1-one]}-acetamide. **Journal of Molecular Structure**, v. 1220, p. 128765, nov. 2020.
- BAIDAKOV, V. G. Spontaneous cavitation in a Lennard-Jones liquid: Molecular dynamics simulation and the van der Waals-Cahn-Hilliard gradient theory. **The Journal of Chemical Physics**, v. 144, n. 7, p. 074502, 21 fev. 2016.
- BECKE, A. D. Density-functional thermochemistry. I. The effect of the exchange-only gradient correction. **The Journal of Chemical Physics**, v. 96, n. 3, p. 2155–2160, fev. 1992.
- BITENCOURT-FERREIRA, G.; VEIT-ACOSTA, M.; DE AZEVEDO, W. F. Hydrogen Bonds in Protein-Ligand Complexes. Em: DE AZEVEDO, W. F. (Ed.). **Docking Screens for Drug Discovery**. Methods in Molecular Biology. New York, NY: Springer New York, 2019. v. 2053p. 93–107.
- BOONSTRA, S.; ONCK, P. R.; VAN DER GIESSEN, E. CHARMM TIP3P Water Model Suppresses Peptide Folding by Solvating the Unfolded State. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 120, n. 15, p. 3692–3698, 21 abr. 2016.
- BURKE, K. Perspective on density functional theory. **The Journal of Chemical Physics**, v. 136, n. 15, p. 150901, 21 abr. 2012.
- CHANDRABHATLA, A. S.; POMERANIEC, I. J.; KSENDZOVSKY, A. Co-evolution of machine learning and digital technologies to improve monitoring of Parkinson's disease motor symptoms. **npj Digital Medicine**, v. 5, n. 1, p. 32, 18 mar. 2022.
- CHENG, H. W. A. *et al.* First Nondiscriminating Translocator Protein Ligands Produced from a Carbazole Scaffold. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 62, n. 17, p. 8235–8248, 12 set. 2019.
- CHENG, Y. *et al.* Antimicrobial Chlorinated Carbazole Alkaloids from the SPONGE-ASSOCIATED Actinomycete *Streptomyces diacarni* LHW51701. **Chinese Journal of Chemistry**, v. 39, n. 5, p. 1188–1192, maio 2021.
- COSTA, J. *et al.* Caffeine Exposure and the Risk of Parkinson's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studiess. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 20, n. s1, p. S221–S238, 14 abr. 2010.

- DA FONSECA, A. M. *et al.* Screening of Potential Inhibitors Targeting the Main Protease Structure of SARS-CoV-2 via Molecular Docking, and Approach with Molecular Dynamics, RMSD, RMSF, H-Bond, SASA and MMGBSA. **Molecular Biotechnology**, v. 66, n. 8, p. 1919–1933, ago. 2024.
- DA ROCHA, M. N. *et al.* Ligand and structure-based virtual screening approaches in drug discovery: minireview. **Molecular Diversity**, 2 set. 2024.
- DAINA, A.; MICHELIN, O.; ZOETE, V. SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules. **Nucleic Acids Research**, v. 47, n. W1, p. W357–W364, 2 jul. 2019.
- DAVIDSON, E. R.; PLAKHUTIN, B. N. Koopmans's theorem in the restricted open-shell Hartree–Fock method. II. The second canonical set for orbitals and orbital energies. **The Journal of Chemical Physics**, v. 132, n. 18, p. 184110, 14 maio 2010.
- DE JESÚS-CORTÉS, H. *et al.* Neuroprotective efficacy of aminopropyl carbazoles in a mouse model of Parkinson disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 42, p. 17010–17015, 16 out. 2012.
- DE OLIVEIRA, V. M. *et al.* Insights of structure-based virtual screening and MPO-based SAR analysis of berberine-benzimidazole derivatives against Parkinson disease. **Journal of Molecular Structure**, v. 1302, p. 137453, abr. 2024.
- DO VAN, B. *et al.* Ferroptosis, a newly characterized form of cell death in Parkinson's disease that is regulated by PKC. **Neurobiology of Disease**, v. 94, p. 169–178, out. 2016.
- DRAPER-JOYCE, C. J. *et al.* Positive allosteric mechanisms of adenosine A1 receptor-mediated analgesia. **Nature**, v. 597, n. 7877, p. 571–576, 23 set. 2021.
- DURAN, T. *et al.* Molecular Dynamics Simulation to Uncover the Mechanisms of Protein Instability During Freezing. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 110, n. 6, p. 2457–2471, jun. 2021.
- FOKOUE, H. *et al.* Há algo novo no reconhecimento molecular aplicado à química medicinal? **Química Nova**, v. 43, n. 1, p. 78–79, 2020.
- FUNAYAMA, M. *et al.* Molecular genetics of Parkinson's disease: Contributions and global trends. **Journal of Human Genetics**, v. 68, n. 3, p. 125–130, mar. 2023.
- GFELLER, D. *et al.* SwissTargetPrediction: a web server for target prediction of bioactive small molecules. **Nucleic Acids Research**, v. 42, n. W1, p. W32–W38, 1 jul. 2014.
- GUILLOU, A. *et al.* The Hydrazine Moiety in the Synthesis of Modified Nucleosides and Nucleotides. **ChemMedChem**, v. 19, n. 16, p. e202400234, 19 ago. 2024.
- GUTERRES, H.; IM, W. Improving Protein-Ligand Docking Results with High-Throughput Molecular Dynamics Simulations. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 60, n. 4, p. 2189–2198, 27 abr. 2020.

HERNANDEZ, D. G.; REED, X.; SINGLETON, A. B. Genetics in Parkinson disease: Mendelian versus non-Mendelian inheritance. **Journal of Neurochemistry**, v. 139, n. S1, p. 59–74, out. 2016.

HUANG, J. *et al.* CHARMM36m: an improved force field for folded and intrinsically disordered proteins. **Nature Methods**, v. 14, n. 1, p. 71–73, jan. 2017.

IMBERTY, A. *et al.* Molecular modelling of protein-carbohydrate interactions. Docking of monosaccharides in the binding site of concanavalin A. **Glycobiology**, v. 1, n. 6, p. 631–642, 1991.

KANWAR RAJAWAT, N.; BHARDWAJ, K.; MATHUR, N. Risk of Parkinson disease associated with pesticide exposure and protection by probiotics. **Materials Today: Proceedings**, v. 69, p. A1–A11, 2022.

KIRCHMAIR, J. *et al.* Evaluation of the performance of 3D virtual screening protocols: RMSD comparisons, enrichment assessments, and decoy selection—What can we learn from earlier mistakes? **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, v. 22, n. 3–4, p. 213–228, mar. 2008.

KOLLMAN, P. A. *et al.* Calculating Structures and Free Energies of Complex Molecules: Combining Molecular Mechanics and Continuum Models. **Accounts of Chemical Research**, v. 33, n. 12, p. 889–897, 1 dez. 2000.

KORKUTATA, M. *et al.* Enhancing endogenous adenosine A_{2A} receptor signaling induces slow-wave sleep without affecting body temperature and cardiovascular function. **Neuropharmacology**, v. 144, p. 122–132, jan. 2019.

KOYAMBO-KONZAPA, S.-J. *et al.* Spectroscopic, quantum chemical, molecular docking and molecular dynamics investigations of hydroxylic indole-3-pyruvic acid: a potent candidate for nonlinear optical applications and Alzheimer's drug. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 40, n. 21, p. 10651–10664, 5 dez. 2022.

LEE, C.; YANG, W.; PARR, R. G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. **Physical Review B**, v. 37, n. 2, p. 785–789, 15 jan. 1988.

LI, C.-H. *et al.* Natural carbazole alkaloid murrayafoline A displays potent anti-neuroinflammatory effect by directly targeting transcription factor Sp1 in LPS-induced microglial cells. **Bioorganic Chemistry**, v. 129, p. 106178, dez. 2022.

LUUKKONEN, S. *et al.* Artificial intelligence in multi-objective drug design. **Current Opinion in Structural Biology**, v. 79, p. 102537, abr. 2023.

MALLO-ABREU, A. *et al.* Nitrogen-Walk Approach to Explore Bioisosteric Replacements in a Series of Potent A_{2B} Adenosine Receptor Antagonists. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 63, n. 14, p. 7721–7739, 23 jul. 2020.

MANDAL, D. *et al.* **Molecular Dynamics Simulation for Serial and Parallel Computation Using Leaf Frog Algorithm**. 2022 Seventh International Conference on Parallel, Distributed and Grid Computing (PDGC). **Anais...** Em: 2022 SEVENTH INTERNATIONAL

CONFERENCE ON PARALLEL, DISTRIBUTED AND GRID COMPUTING (PDGC).

Solan, Himachal Pradesh, India: IEEE, 25 nov. 2022. Disponível em:

<<https://ieeexplore.ieee.org/document/10053161/>>. Acesso em: 11 set. 2024

MARINHO, E. M. *et al.* Virtual screening based on molecular docking of possible inhibitors of Covid-19 main protease. **Microbial Pathogenesis**, v. 148, p. 104365, nov. 2020.

MARINHO, M. M. *et al.* Insights of potential trypanocidal effect of the synthetic derivative (2E)-1-(4-aminophenyl)-3-(2,4-dichlorophenyl)prop-2-en-1-one: in vitro assay, MEV analysis, quantum study, molecular docking, molecular dynamics, MPO analysis, and predictive ADMET. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, 9 maio 2024.

MARTÍNEZ, L. Automatic Identification of Mobile and Rigid Substructures in Molecular Dynamics Simulations and Fractional Structural Fluctuation Analysis. **PLOS ONE**, v. 10, n. 3, p. e0119264, 27 mar. 2015.

MARTOŇÁK, R.; LAIO, A.; PARRINELLO, M. Predicting Crystal Structures: The Parrinello-Rahman Method Revisited. **Physical Review Letters**, v. 90, n. 7, p. 075503, 20 fev. 2003.

MENA-ULECIA, K. *et al.* Study of the Affinity between the Protein Kinase PKA and Peptide Substrates Derived from Kemptide Using Molecular Dynamics Simulations and MM/GBSA. **PLoS ONE**, v. 9, n. 10, p. e109639, 2 out. 2014.

MIHARA, T. *et al.* Pharmacological Characterization of a Novel, Potent Adenosine A₁ and A_{2A} Receptor Dual Antagonist, 5-[5-Amino-3-(4-fluorophenyl)pyrazin-2-yl]-1-isopropylpyridine-2(1*H*)-one (ASP5854), in Models of Parkinson's Disease and Cognition. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 323, n. 2, p. 708–719, nov. 2007.

NAGASUNDARAM, N. *et al.* Molecular Dynamics Validation of Crizotinib Resistance to ALK Mutations (L1196M and G1269A) and Identification of Specific Inhibitors. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 118, n. 10, p. 3462–3471, out. 2017.

NATHO, P.; ALLEN, L. A. T.; PARSONS, P. J. A Cyclobutanol Ring-Expansion Approach to Oxygenated Carbazoles: Total Synthesis of Glycoborine, Carbazomycin A and Carbazomycin B. **Synlett**, v. 34, n. 08, p. 937–942, maio 2023.

PAPAJAK, E. *et al.* Perspectives on Basis Sets Beautiful: Seasonal Plantings of Diffuse Basis Functions. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 7, n. 10, p. 3027–3034, 11 out. 2011.

PEREIRA, A. M. G. *et al.* Structure and Ligand Based Virtual Screening and MPO Topological Analysis of Triazolo Thiadiazepine-fused Coumarin Derivatives as Anti-Parkinson Drug Candidates. **Molecular Biotechnology**, 4 jun. 2024.

PERSCH, E.; DUMELE, O.; DIEDERICH, F. Molecular Recognition in Chemical and Biological Systems. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 54, n. 11, p. 3290–3327, 9 mar. 2015.

PETTERSSON, M. *et al.* Quantitative Assessment of the Impact of Fluorine Substitution on P-Glycoprotein (P-gp) Mediated Efflux, Permeability, Lipophilicity, and Metabolic Stability. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 59, n. 11, p. 5284–5296, 9 jun. 2016.

POEWE, W. *et al.* Parkinson disease. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, n. 1, p. 17013, 23 mar. 2017.

POOPANDI, S. *et al.* Computational screening of potential inhibitors targeting MurF of *Brugia malayi* Wolbachia through multi-scale molecular docking, molecular dynamics and MM-GBSA analysis. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 246, p. 111427, nov. 2021.

RIVERA-OLIVER, M.; DÍAZ-RÍOS, M. Using caffeine and other adenosine receptor antagonists and agonists as therapeutic tools against neurodegenerative diseases: A review. **Life Sciences**, v. 101, n. 1–2, p. 1–9, abr. 2014.

SAKANO, K.-I.; ISHIMARU, K.; NAKAMURA, S. New antibiotics, carbazomycins A and B. I. Fermentation, extraction, purification and physico-chemical and biological properties. **The Journal of Antibiotics**, v. 33, n. 7, p. 683–689, 1980.

SCHMIDT, A. W.; REDDY, K. R.; KNÖLKER, H.-J. Occurrence, Biogenesis, and Synthesis of Biologically Active Carbazole Alkaloids. **Chemical Reviews**, v. 112, n. 6, p. 3193–3328, 13 jun. 2012.

SHITYAKOV, S.; FOERSTER, C. In silico predictive model to determine vector-mediated transport properties for the blood–brain barrier choline transporter. **Advances and Applications in Bioinformatics and Chemistry**, p. 23, set. 2014.

SINGH, A. P. *et al.* Computational screening and MM/GBSA-based MD simulation studies reveal the high binding potential of FDA-approved drugs against *Cutibacterium acnes* sialidase. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 42, n. 12, p. 6245–6255, 12 ago. 2024.

STEPHERSON, J. R. *et al.* Carbazole Annulation via Cascade Nucleophilic Addition–Cyclization Involving 2-(Silyloxy)pentadienyl Cation. **Organic Letters**, v. 18, n. 12, p. 3002–3005, 17 jun. 2016.

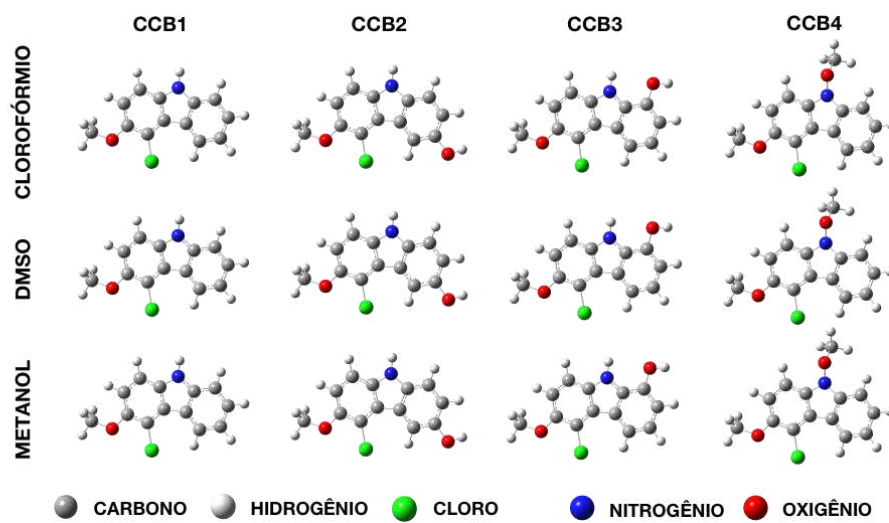
SVEINBJORNSDOTTIR, S. The clinical symptoms of Parkinson’s disease. **Journal of Neurochemistry**, v. 139, n. S1, p. 318–324, out. 2016.

WAGER, T. T. *et al.* Defining Desirable Central Nervous System Drug Space through the Alignment of Molecular Properties, in Vitro ADME, and Safety Attributes. **ACS Chemical Neuroscience**, v. 1, n. 6, p. 420–434, 16 jun. 2010.

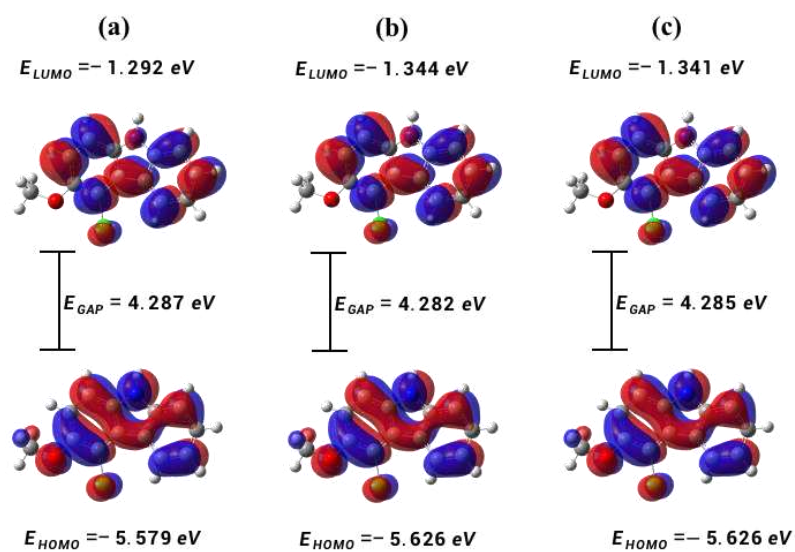
WANG, M. *et al.* Discovery of novel dual adenosine A1/A2A receptor antagonists using deep learning, pharmacophore modeling and molecular docking. **PLOS Computational Biology**, v. 17, n. 3, p. e1008821, 19 mar. 2021.

YAN, L. *et al.* Adenosine receptor agonists: from basic medicinal chemistry to clinical development. **Expert Opinion on Emerging Drugs**, v. 8, n. 2, p. 537–576, nov. 2003.

- YU, Y. *et al.* Semi-automated Optimization of the CHARMM36 Lipid Force Field to Include Explicit Treatment of Long-Range Dispersion. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 17, n. 3, p. 1562–1580, 9 mar. 2021.
- YUSUF, D. *et al.* An Alternative Method for the Evaluation of Docking Performance: RSR vs RMSD. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 48, n. 7, p. 1411–1422, 1 jul. 2008.
- ZAINURI, D. A. *et al.* Synthesis, XRD crystal structure, spectroscopic characterization (FT-IR, ¹H and ¹³C NMR), DFT studies, chemical reactivity and bond dissociation energy studies using molecular dynamics simulations and evaluation of antimicrobial and antioxidant activities of a novel chalcone derivative, (E)-1-(4-bromophenyl)-3-(4-iodophenyl)prop-2-en-1-one. **Journal of Molecular Structure**, v. 1128, p. 520–533, jan. 2017.
- ZHU, D. *et al.* Discovery of novel N-substituted carbazoles as neuroprotective agents with potent anti-oxidative activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 68, p. 81–88, out. 2013.
- ZUCCA, F. A. *et al.* Interactions of iron, dopamine and neuromelanin pathways in brain aging and Parkinson's disease. **Progress in Neurobiology**, v. 155, p. 96–119, ago. 2017.

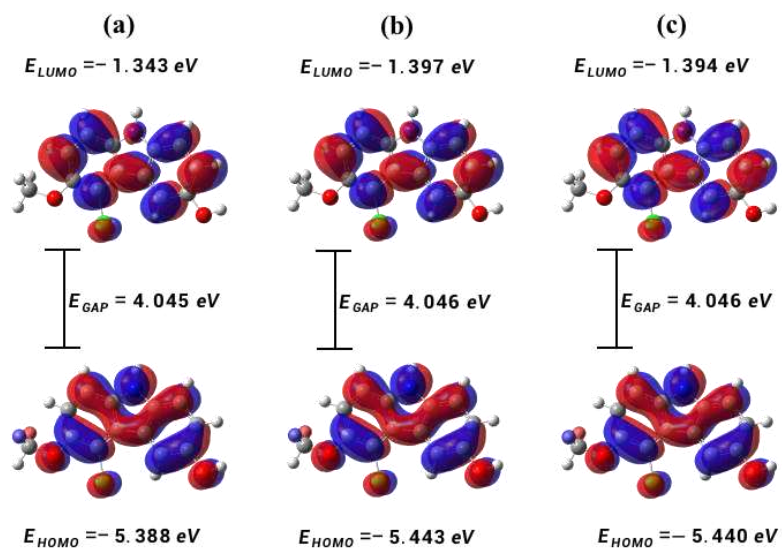
ANEXO A – Estruturas otimizadas nos ambientes CHCl_3 , DMSO e Metanol

Fonte: Elaborado pelo autor

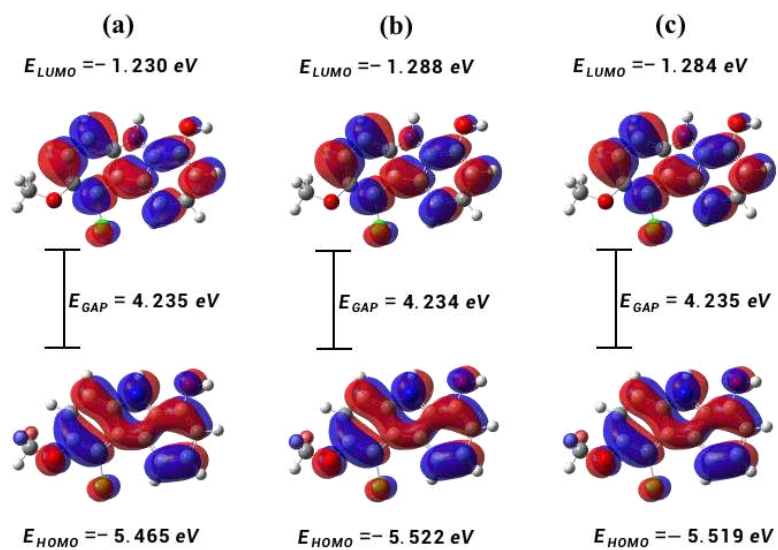
ANEXO B – Orbitais moleculares HOMO e LUMO nos demais solventes para CCB1

Fonte: Elaborado pelo autor

ANEXO C – Orbitais moleculares HOMO e LUMO nos demais solventes para CCB2

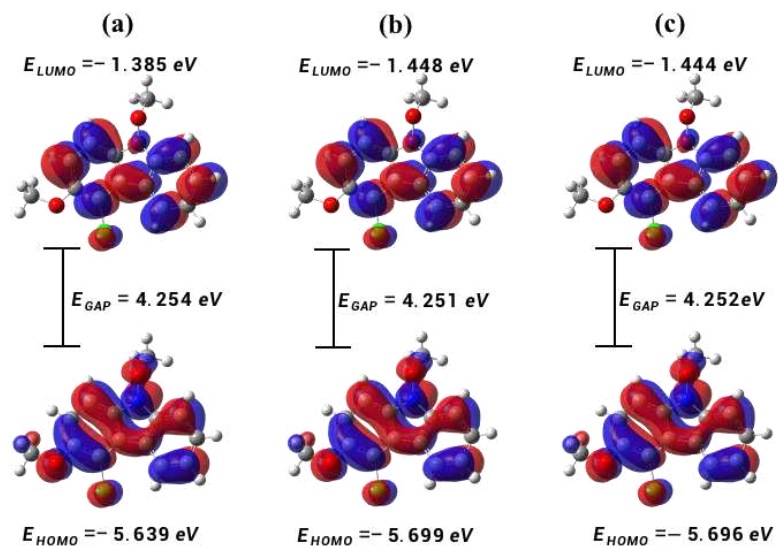


Fonte: Elaborado pelo autor

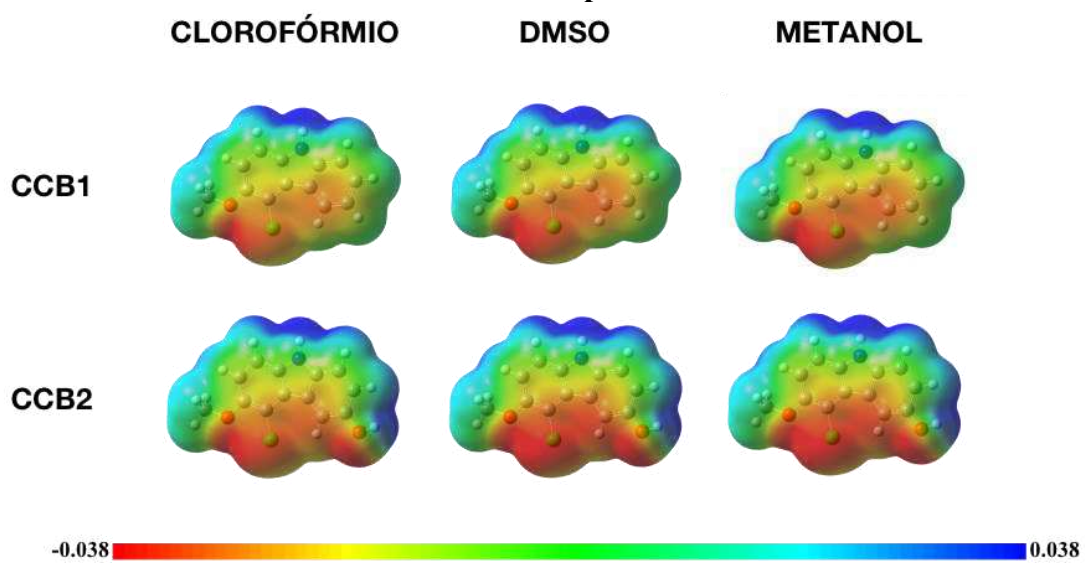
ANEXO D – Orbitais moleculares HOMO e LUMO nos demais solventes para CCB3

Fonte: Elaborado pelo autor

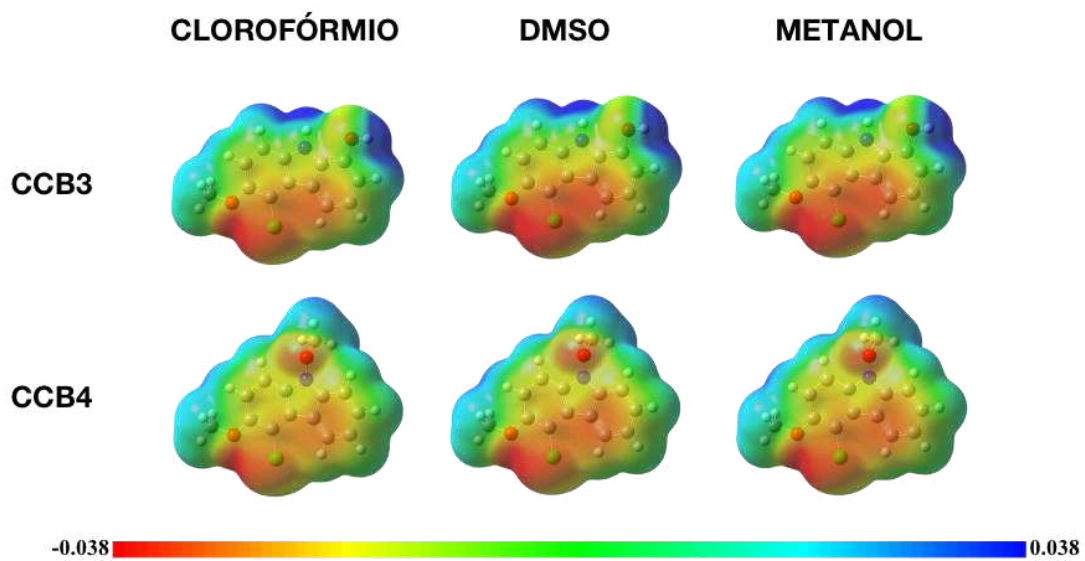
ANEXO E – Orbitais moleculares HOMO e LUMO nos demais solventes para CCB4



Fonte: Elaborado pelo autor

ANEXO F – MEP nos demais solventes para os derivados CCB1 e CCB2

Fonte: Elaborado pelo autor

ANEXO G – MEP nos demais solventes para os derivados CCB3 e CCB4

Fonte: Elaborado pelo autor