



Reposicionamento de Fármacos: investigação do efeito de Anti-Inflamatórios Não-Esteroides sobre marcadores da Doença de Alzheimer

Ana Paula Rodrigues Santiago; Profa. Dra. Wanda Pereira Almeida

Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF) – Universidade Estadual de Campinas

INTRODUÇÃO

A Doença de Alzheimer (DA) é a principal doença neurodegenerativa relacionada à idade, caracterizada pela perda progressiva de memória, cognição e alteração comportamental, a qual conta com um arsenal terapêutico muito limitado. Assim, a pesquisa por novos candidatos a fármacos recebe destaque dentro da área de química medicinal, que, para isso, explora os diversos marcadores reconhecidos pelo seu envolvimento na fisiopatologia da doença, como o depósito de peptídeo β -amilóide (β A), neuroinflamação e déficit colinérgico (Harrison e Owen, 2016; Haam e Yakel, 2017).

A hipótese amilóide é a teoria mais prevalente na patogênese da doença. Na via de formação do peptídeo β -amilóide, a Proteína Precursora de Amilóide (PPA) sofre sucessivas clivagens enzimáticas por β e γ -secretases, originando duas principais isoformas, β A₄₀ e β A₄₂. São monômeros que se acumulam de forma abundante, principalmente β A₄₂, formando agregados fibrilares insolúveis, que resultam em toxicidade neuronal e mecanismos inflamatórios (Lane, Hardy e Schott, 2018; Harrison e

Owen, 2016; Minter, Taylor e Crack, 2016; Reiss et al., 2018).

A AChE é uma enzima classificada como serina hidrolase, presente no SNC, responsável por hidrolisar a acetilcolina na fenda sináptica. É notável um sistema colinérgico atrófico em pacientes com DA inicial, com redução na quantidade de neurônios bem como nos níveis de acetilcolina-transferase (AChT), enzima necessária para síntese de ACh, neurotransmissor envolvido em inúmeros processos fisiológicos como memória, aprendizado, atenção e informações sensoriais.

Neuroinflamação e Anti-inflamatórios Não Esteroidais (AINE's)

A relação entre neuroinflamação e o Alzheimer é discutida há mais de 30 anos. Também conhecida como macrófagos residentes do SNC, a microglia apresenta propriedades neuroprotetoras, essenciais para manutenção e remodelamento dos neurônios, porém, ela pode também exercer papel neurotóxico, através da síntese e liberação de diversas citocinas pró-inflamatórias, como interleucina-1 α (IL-1 α), interleucina-1 β (IL-1 β) e fator de necrose tumoral (TNF- α) (Ozben, 2019; Minter,

Taylor e Crack, 2016; Subhramanyam *et al.*, 2019).

Os anti-inflamatórios não esteroidais contemplam um grupo diversificado de medicamentos, com ação antitérmica, anti-inflamatória e analgésica, que atuam de forma reversível na inibição da ciclooxigenase 1 e 2 (COX-1 e COX-2). Estudos através do reposicionamento dos AINE's para a DA encontram-se em ascensão, com efeitos positivos sobre a neuroinflamação e marcadores da doença, além de ser uma estratégia alternativa e promissora ao desenvolvimento convencional de novas drogas (Ozben, 2019; Kwon *et al.*, 2019).

OBJETIVOS

Realizar um estudo comparativo de propriedades físico-químicas de AINES seletivos para a Cox-1 ou com baixa seletividade para Cox-2, para fins de reposicionamento para a Doença de Alzheimer, investigando o seu o efeito sobre dois marcadores dessa patologia: AChE e/ou a agregação do peptídeo A β .

METODOLOGIA

De acordo com a literatura, foram selecionados inicialmente 36 anti-inflamatórios de diferentes classes, não seletivos ou pouco seletivos para Cox-2. A predição foi realizada na plataforma SuperPred (Nickel *et al.*, 2014). A previsão do alvo é feita com base na distribuição de similaridade do composto em estudo com ligantes para a AChE ou como inibidores da agregação do peptídeo A β .

As estruturas moleculares dos compostos previamente selecionados, foram obtidas através

da base de dados PubChem (Kim *et al.*, 2019) e inseridas na plataforma online do SwissADME (Daina *et al.*, 2017), para cálculo das propriedades. O mesmo foi realizado para fármacos inibidores da AChE utilizados no tratamento na DA: Galantamina, Rivastigmina, Tacrina e Donepezil. Para cada uma das propriedades destes fármacos, foi estabelecida uma faixa que contém um limite mínimo e um máximo, avaliando se os resultados dos anti-inflamatórios estão dentro das mesmas (Tabela 1).

Após a seleção dos anti-inflamatórios, foi realizado o docking destes compostos com a estrutura da AChE (PDB ID 1EVE). O processo foi executado através do software AutoDock Vina (Trott e Olson, 2010), juntamente com PyMol (Molecular Graphics System, Schrodinger) para visualização dos resultados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo realizado através do SuperPred indicou 21 compostos que possuem ligação conhecida ou preditiva com a AChE e/ou peptídeo β -amiloide (A β). Os anti-inflamatórios selecionados e as propriedades consideradas estão dispostas na tabela 1. Apenas o Ácido acetilsalicílico e salicílico, Flurbiprofeno e Olsalazina são preditos inibidores da agregação do peptídeo amiloide.

A propriedade mais excludente foi a área de superfície polar, de modo que os únicos AINE'S que estariam dentro do limite comparativo seriam Fenilbutazona, Flurbiprofeno e Ibuprofeno. Outros AINE'S, embora não estejam completamente dentro da faixa de propriedades dos

inibidores da AChE, têm apenas uma “violação” – Cetoprofeno, Cetorolaco, Fenoprofeno, Sulindaco e Tolmetina, ou duas “violações” – Etodolaco, Indometacina e

Oxaprozina. Assim, temos, a princípio, 11 anti-inflamatórios com afinidade predita pelos alvos AChE e A β , como potenciais candidatos ao reposicionamento, em função da similaridade com propriedades de fármacos avaliadas *in silico*.

Tabela 1. Propriedades moleculares e físico-químicas dos Inibidores da AChE e dos Anti-inflamatórios selecionados (*)

Fármaco	PM (g/mol)	Área Polar (Å)	Nº de HBD	Nº de HBA	Log P (Consenso)	Log S (Silicos-IT)	Log S (ESOL)	Log S (ALI)
Galantamina	287,35	41,93	1	4	1,91	-2,96	-2,93	-2,34
Donepezila	379,49	38,77	0	4	4,00	-6,90	-4,81	-4,81
Rivastigmina	250,34	32,78	0	3	2,35	-3,15	-2,69	-2,62
Tacrina	198,26	38,91	1	1	2,59	-4,46	-3,27	-3,18
Faixa	198,26 a 379,49	32,78 a 41,93	0 - 1	1 - 4	1,91 a 4,00	-6,90 a -2,96	-4,81 a -2,69	-4,81 a -2,34
Ácido acetilsalicílico	180,16	63,60	1	4	1,28	-1,85	-1,85	-2,12
Ácido meclofenâmico	296,15	49,33	2	2	3,86	-5,95	-5,20	-5,94
Ácido mefenâmico	241,29	49,33	2	2	3,29	-5,12	-4,86	-5,90
Ácido salicílico	138,12	57,53	2	3	1,24	-1,17	-2,50	-3,1
Cetoprofeno	254,28	54,37	1	3	2,84	-4,68	-3,59	-3,93
Cetorolaco	255,27	59,30	1	3	2,05	-3,23	-3,37	-3,62
Etodolaco	287,35	62,32	2	3	2,95	-5,20	-3,45	-3,78
Fenilbutazona	308,37	40,62	0	2	3,18	-5,55	-3,89	-3,68
Fenoprofeno	242,27	46,53	1	3	3,00	-4,47	-3,66	-3,96
Flurbiprofeno	244,26	37,3	1	3	3,61	-5,01	-4,27	-4,65
Ibuprofeno	206,28	37,3	1	2	3,04	-3,44	-3,36	-3,97
Indometacina	357,79	68,53	1	4	3,63	-5,79	-4,86	-5,42
Meloxicam	351,40	136,22	2	5	1,73	-3,75	-4,34	-5,97
Olsalazina	302,24	139,78	4	8	2,01	-2,60	-3,83	-5,74
Oxaprozina	293,32	63,33	1	4	3,40	-6,45	-4,54	-5,23
Piroxicam	331,35	107,98	2	5	1,38	-4,11	-4,01	-4,99
Sulfasalazina	398,39	149,69	3	8	2,35	-5,86	-3,76	-4,96
Sulfimpirazona	404,48	76,90	0	3	3,06	-7,23	-3,86	-3,55
Sulindaco	356,41	73,58	1	4	3,94	-6,55	-4,30	-4,75
Tenoxicam	337,37	136,22	2	5	1,06	-3,38	-2,82	-3,59
Tolmetina	257,28	59,30	1	3	2,17	-3,81	-3,36	-3,69

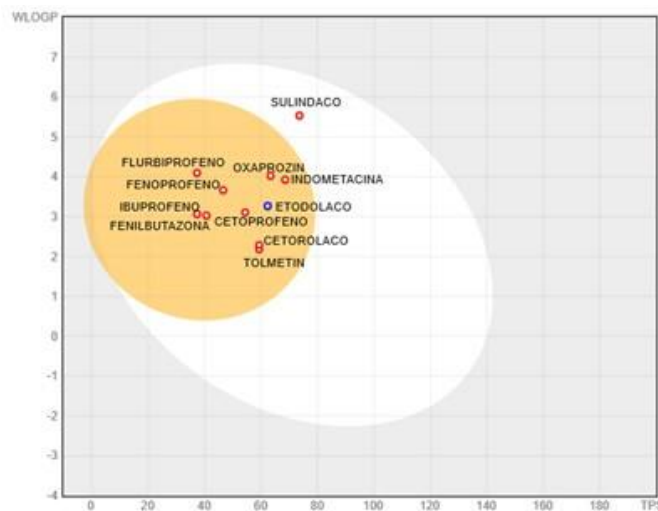
(*) a plataforma SPRED faz o tratamento estatístico dos resultados. A metodologia está descrita no site.

Outros filtros utilizados no desenvolvimento de fármacos são importantes, como o de Lipinski, Ghose e Veber, verificando se um determinado candidato a fármaco tem propriedades que possibilitariam uma boa biodisponibilidade oral (*druglikeness*). Ácido salicílico e Sulfasalazina violam os parâmetros de Ghose e Veber, sendo excluídos do estudo.

Por ser tratar de uma doença a nível de SNC, a permeabilidade através da BHE é uma característica imprescindível a ser avaliada. SwissADME utiliza a técnica do “BOILED-Egg” (Daina e Zoete, 2016), o qual predita a permeabilidade da molécula através da BHE (“gema do ovo”) e sua absorção gastrointestinal (“clara do

ovo”), de acordo com as características de lipofilicidade (LogP) e polaridade (Figura 1).

Figura 1. AINE'S dispostos conforme representação gráfica do método Boiled-Egg. Sulindaco não apresenta permeabilidade através da Barreira Hematoencefálica.



Após a seleção e avaliação de todos os medicamentos, foi realizado o estudo de docking dos 11 AINE's selecionados, com a AChE, avaliando a interação de cada composto através dos valores de energia de ligação obtidos. Indometacina apresentou a maior energia de ligação, com -7,5 kcal/mol, seguido de Cetorolaco e Oxaprozín, com -7,3 kcal/mol. Fenilbutazona, Flurbiprofeno e Ibuprofeno apresentaram alta similaridade com todas as propriedades anteriormente consideradas dos medicamentos utilizados na DA, sem nenhuma "violação". Através do estudo de docking, obteve-se energia de ligação de -6,5 kcal/mol, -7,1 kcal/mol e -5,5 kcal/mol,

respectivamente, sendo o Flurbiprofeno o melhor candidato.

CONCLUSÃO

Cetorolaco, Flurbiprofeno, Indometacina e Oxaprozín apresentaram alta similaridade quando comparados com diversas propriedades da Rivastigmina, Tacrina, Donepezila e Galantamina. O Flurbiprofeno foi o candidato que demonstrou total similaridade com os parâmetros avaliados, bem como alta energia de interação com a AChE. Além, é o único medicamento predito inibidor da AChE e agregação do peptídeo amiloide, sendo o melhor candidato para ser reposicionado.

REFERÊNCIAS

- Daina, A., Michielin, O., Zoete, V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci. Rep.* 7:42717, 2017.
- Daina, A.; Zoete V.; A BOILED-Egg to predict gastrointestinal absorption and brain penetration of small molecules. *ChemMedChem.* v. 11, n. 11, p.1117-1121, 2016.
- Haam J., Yakel J.L. "Cholinergic modulation of the hippocampal region and memory function" *J. Neurochem.*, v. 142, p. 111-121, 2017.
- Harrison J.R., Owen M.J. "Alzheimer's Disease: the amyloid hypothesis on trial." *The British Journal of Psychiatry*, v. 208, p. 1-3, 2016.
- Kim S., Chen J., Cheng, T., Gindulyte A., He J., He S., Li Q., Shoemaker B.A., Thiessen P.A., Yu B., Zaslavsky L., Zhang J., Bolton E.E. PubChem 2019 update: improved access to chemical data. *Nucleic Acids Res.* 2019.
- Kwon O.S., Kim W., Cha H.J., Lee H. In silico drug repositioning: from large-scale transcriptome data to therapeutics. *Arch Pharm Res.*, v. 42, n. 10, p. 879-889, 2019.
- Lane C.A., Hardy J., Schott J.M. "Alzheimer's Disease." *European Journal of Neurology*, n. 25, p. 59-70, 2018.
- Minter M.R., Taylor J.M., Crack P.J. The contribution of neuroinflammation to amyloid toxicity in Alzheimer's Disease. *J. Neurochem.* n. 136, p. 457-474, 2016.
- Nickel J., Gohlke, B.-O., Ehreman J., Banerjee P., Rong W.W., Goede A., Dunkel M., Preissner R. SuperPred: update on drug classification and target prediction, 2014.
- Ozben T., Ozben S. Neuro-inflammation and anti-inflammatory treatment options for Alzheimer's disease. *Clinical Biochemistry*, n. 72, p. 87-89, 2019.
- Reiss A.B., Arain H.A., Stecker M.M., Siegart N.M., Kasselmann L.J. Amyloid toxicity in Alzheimer's disease. *Reviews in the Neurosciences*, v. 29, n. 6, 2018.
- Subramanyam C.S., Wang C., Hu Q., Dheen S.T. Microglia-mediated neuroinflammation in neurodegenerative

diseases. *Seminars in Cell and developmental biology*, n. 94, p. 112-120, 2019.

Terzi M., Altun G., Sen, S., Kocaman A., Kaplan A.A., Yurt K.K., Kaplan S. The use of non-steroidal anti-inflammatory drugs in neurological diseases. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, n. 87, p. 12-24, 2018.

The PyMOL Molecular Graphics System, Version 2.0 Schrodinger, LLC.

Trott, O., Olson, A.J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*. v. 31, p. 455-461, 2010.