



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**Triagem virtual de derivados de isatina com potencial atividade
antiepiléptica baseada na estrutura do receptor**

Rhayane de Oliveira Santos

João Pessoa, PB

2024

Rhayane de Oliveira Santos

**Triagem virtual de derivados de isatina com potencial atividade
antiepiléptica baseada na estrutura do receptor**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-graduação em Química da
Universidade Federal da Paraíba - UFPB, como
requisito para a obtenção do título de Mestre em
Química.


ORIENTADORA: Profa. Dra. Karen Cacilda Weber

João Pessoa, PB


2024

Triagem virtual de derivados de isatina com potencial atividade antiepiléptica baseada na estrutura do receptor.


Dissertação de Mestrado apresentada pela discente **Rhayane de Oliveira Santos** e aprovada pela banca examinadora em 24 de outubro de 2024.

Documento assinado digitalmente
 **KAREN CACILDA WEBER**
Data: 30/10/2024 08:51:27-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Karen Cacilda Weber
DQ/UFPB
Orientadora/Presidente

Documento assinado digitalmente
 **MARCELO SANTOS CASTILHO**
Data: 28/10/2024 16:52:39-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Marcelo Santos Castilho
UFBA/Salvador-BA
Examinador externo

Documento assinado digitalmente
 **MARCUS TULLIUS SCOTTI**
Data: 30/10/2024 12:39:43-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Marcus Tullius Scotti
DQ/UFPB
Examinador interno

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S237t Santos, Rhayane de Oliveira.

Triagem virtual de derivados de isatina com potencial atividade antiepiléptica baseada na estrutura do receptor / Rhayane de Oliveira Santos. - João Pessoa, 2024.

80 f. : il.

Orientação: Karen Cacilda Weber.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN.

1. Epilepsia. 2. Triagem virtual. 3. Docking molecular. 4. Receptor GABAA. 5. Dinâmica molecular. I. Weber, Karen Cacilda. II. Título.

UFPB/BC

CDU 616.853(043)

À minha querida vó, Luiza. Dedicado a você, que tanto
me ensinou e cuidou durante toda sua vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela sua infinita bondade de fazer além do que pedi ou pensei, me proporcionando viver oportunidades que vão além do que eu mesma imaginava. Te agradeço por tudo que tem feito e que ainda vai fazer. Se até aqui cheguei, foi pela Sua abundante Graça.

Aos meus pais, obrigada pelo incentivo e por acreditarem em mim. Essa etapa também é sobre vocês, não tenho palavras para expressar a minha gratidão por tudo que fazem por mim. Ao meu irmão, sou muito agradecida por todo apoio, companheirismo. Amo vocês.

Gabriel, meu amor, obrigada por sua paciência, ajuda e constante incentivo ao longo dessa caminhada. Obrigada por acreditar em mim, estar ao meu lado nos momentos mais desafiadores e confiar que iria dar certo. Você foi essencial para que eu pudesse seguir e realizar essa conquista.

À Universidade Federal da Paraíba (UFPB), ao PPGQ (Programa de Pós graduação) e à CAPES pela bolsa concedida. Agradeço a todos do Laboratório de Química Quântica Computacional da UFPB (LQQC), foi muito bom ter a oportunidade de conhecer vocês. Em especial as “Luluzinhas”, Jéssika e Marília, vocês foram fundamentais nessa etapa, obrigada por me permitirem dividir esse momento com vocês e me ensinarem tanto.

À minha orientadora Karen Weber, sou grata por me aceitar como sua orientanda, por ensinar e me dar a oportunidade de aprender durante esse tempo. Muito obrigada!

Ao CENAPAD (Centro Nacional de Processamento de Alto Desempenho em São Paulo) pelo ambiente computacional. Aos colaboradores do LASOM-PB (Laboratório de Síntese Orgânica Medicinal da Paraíba) pela parceria no referido trabalho.

Agradeço em especial a alguns amigos (principalmente Kamilla, Sarah, Raquel) que se fizeram presentes desde o início, quando isso tudo ainda era um sonho/desejo longe da realidade. Obrigada, por tanto. Por fim, a todos que torceram e contribuíram de alguma forma, muito obrigada!

“And all my life You have been so, so good.

[...] Goodness of GOD”

(Cece Winans)

RESUMO

A epilepsia é um dos distúrbios cerebrais mais comuns, afetando cerca de 50 milhões de pessoas globalmente. Caracterizada por convulsões espontâneas, que podem ser parciais ou generalizadas. O tratamento principal é com medicamentos anticonvulsivantes, mas muitos pacientes não apresentam respostas significativas e sofrem efeitos colaterais, sendo fundamental o estudo e investigação de novos fármacos para reduzir os efeitos adversos e atender às necessidades não satisfeitas dos pacientes. Estudos computacionais têm sido uma ferramenta promissora para o desenvolvimento de novos fármacos, visto que o processo de descoberta e desenvolvimento consomem um longo tempo e recursos, devido ao grande número de estruturas moleculares que são avaliadas. Dessa forma, o objetivo deste trabalho é realizar uma triagem virtual baseada na estrutura do receptor, por meio do *docking* molecular em uma biblioteca de compostos derivados de isatina, utilizando os programas Autodock Vina e GOLD. Com os resultados da triagem foi possível observar que três moléculas apresentaram afinidade (como valores de energia -11,7, -11,2 e -11,1 kcal/mol) e possíveis modos de interações frente ao receptor GABAA. As propriedades ADMET desses compostos obtidos na triagem foram avaliadas utilizando as ferramentas SwissADME e Deep-PK, observado os parâmetros da Regra de Lipinski e alguns parâmetros importantes como número de ligações rotativas, área de superfície polar topológica, absorção gastrointestinal, penetração da barreira hematoencefálica, glicoproteína-P, interações com o citocromo P450, teste AMES, hepatotoxicidade e bloqueadores hERG. Em seguida, simulações de Dinâmica Molecular (DM) foram realizadas com o campo de força AMBER no programa Gromacs versão 2021.2 e evidenciaram a formação de complexos ligante-receptor estáveis, de acordo com os valores de RMSD e RMSF obtidos. A partir das trajetórias geradas na simulação de DM, foi possível estimar as energias livres de ligação empregando a abordagem MM/PBSA (Mecânica Molecular/Área de Superfície de Poisson-Boltzmann). Esta abordagem calcula a energia livre de ligação considerando três componentes separadamente: o complexo (proteína-ligante), o receptor (proteína) e o ligante (molécula pequena). Os resultados indicaram que duas moléculas apresentaram valores significativos de energia (-30.59, -26.18 kcal/mol) quando comparados com o diazepam (-21.45 kcal/mol).

Palavras-chave: Epilepsia, triagem virtual, *docking* molecular, receptor GABAA, dinâmica molecular.

ABSTRACT

Epilepsy is one of the most common brain disorders, affecting approximately 50 million people worldwide. It is characterized by spontaneous seizures, which can be either partial or generalized. The primary treatment consists of anticonvulsant medications, but many patients do not respond significantly and suffer from side effects, making the study and investigation of new drugs essential to reduce adverse effects. Computational studies have proven to be a promising tool in drug development, as the discovery and development process is time-consuming and resource-intensive due to the large number of molecular structures that must be evaluated. Thus, this study aims to conduct a structure-based virtual screening using molecular docking on a library of isatin-derived compounds, employing the Autodock Vina and GOLD programs. The screening results revealed that three molecules exhibited binding affinity (with energy values of -11.7, -11.2, and -11.1 kcal/mol) and potential interaction modes with the GABAA receptor. The ADMET properties of these compounds were assessed using the SwissADME and Deep-PK tools, considering Lipinski's Rule of Five and important parameters such as the number of rotatable bonds, topological polar surface area, gastrointestinal absorption, blood-brain barrier penetration, P-glycoprotein interaction, cytochrome P450 interactions, AMES test, hepatotoxicity, and hERG channel inhibition. Subsequently, Molecular Dynamics (MD) simulations were performed using the AMBER force field in Gromacs version 2021.2, revealing the formation of stable ligand-receptor complexes based on RMSD and RMSF values. From the trajectories generated in the MD simulation, binding free energies were estimated using the MM/PBSA (Molecular Mechanics/Poisson-Boltzmann Surface Area) approach. This method calculates binding free energy by considering three separate components: the complex (protein-ligand), the receptor (protein), and the ligand (small molecule). The results indicated that two molecules exhibited significant energy values (-30.59 and -26.18 kcal/mol) compared to diazepam (-21.45 kcal/mol).

Keywords: Epilepsy, virtual screening, molecular docking, GABAA receptor, molecular dynamics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação da estrutura do GABAA (PDB ID 6D6T), colorido por subunidades ($\alpha 1$, magenta; $\beta 2$, roxo; $\gamma 2$, verde; Fab, cinza). O GABA é representado por esferas vermelhas e o flumazenil (antagonista) por esfera azul. ECD (domínio Extracelular) e TMD (domínio transmembranar).....	21
Figura 2 - Representação estrutural das subunidades $\alpha 1$ (magenta) e $\gamma 2$ (verde) do receptor GABAA (6D6T) mostrando o sítio de ligação dos benzodiazepínicos.....	22
Figura 3 - Representação da Isatina (A) e o indol (B).....	23
Figura 4 - Representação de etapas envolvidas no docking molecular, desde a delimitação do espaço de procura no alvo molecular (sítio de ligação), ligante em estudo e o complexo gerado.....	25
Figura 5 - Representação das estruturas em 2D das 5 moléculas com melhor desempenho no GABAA. (A) mol55, (B) mol56, (C) mol57, (D) mol59 e (E) mol60.....	43
Figura 6 - Sobreposição das moléculas docadas no Vina (azul) e GOLD (bege). (A) mol56, (B) mol57 e (C) mol59.....	44
Figura 7 - Mapa de interação 2D para a mol 56.....	45
Figura 8 - Mapa de interação 2D para a mol 57.....	46
Figura 9- Mapa de interação 2D para a mol 59.....	46
Figura 10 - Representação A) do mapa de interação 2D do diazepam docado, B) interações no sítio da proteína.....	47
Figura 11 - RMSD do GABAA complexado com A) mol56, B) mol57, C) mol59, D) molécula de diazepam, E) ligante cristalográfico.....	51
Figura 12 - RMSF das cadeias D e E da A) mol 56, B) mol57, C) mol59, D) diazepam e E) ligante PDB.....	52
Figura 13 - Clusters mais populosos de cada sistema A) mol56, B) mol57, C) mol59 e D) diazepam.....	54
Figura 14 - Decomposição da energia por resíduos A) mol56, B) mol57, C) mol59 e D) Diazepam.....	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Códigos PDB das estruturas cristalográficas.....	35
Tabela 2 - Valores de RMSD dos redockings nos alvos moleculares estudados.....	39
Tabela 3 - Valores de energia (kcal/mol) dos redockings dos alvos moleculares estudados....	40
Tabela 5 - Energia de afinidade (kcal/mol) dos dockings nos alvos GABAA e VGSCs.....	41
Tabela 6- Valores de pontuação docking molecular com o GOLD.....	42
Tabela 7 - Análise em consenso pelo método rank by number.....	42
Tabela 8 - Resultados regras de Lipinski.....	48
Tabela 9 - Resultados barreira hematoencefálica, glicoproteína P, interações do citocromo P450.....	49
Tabela 10 - Resultados de toxicidade utilizando o Deep-PK.....	50
Tabela 11 - Resultados do cálculo do MM/PBSA.....	55

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ADMET - Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade
AGI - Absorção Gastrointestinal
AMPA - α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiônico
ASP - Astex Statistical Potential
BHE - Barreira hematoencefálica
CADD - Computer-Assisted Drug Design
DAEs - Drogas antiepiléticas
DM - Dinâmica Molecular
GABA - ácido gama-aminobutírico
GABAA - ácido gama-aminobutírico tipo A
GAT-1 - Transportador de GABA 1
GABA-T - transaminase GABA
gp-P - Glicoproteína-P
HTS - *High-Throughput Screening*
ILAE - Liga Internacional contra Epilepsia
MM- Massa molecular
MM/PBSA - Mecânica Molecular/Área de Superfície de Poisson-Boltzmann
nALH - Número de aceptores de ligação de hidrogênio
nDLH - Número de doadores de ligação de hidrogênio
NMDA- N-metil D-Aspartato
PDB - *Protein Data Bank*
RMSD - *Root Mean Square Deviation*
RMSF - *Root Mean Square Fluctuation*
SNC- Sistema nervoso central
SUDEP - Morte súbita em epilepsia
TV - Triagem Virtual
LBVS - *Ligand-based Virtual Screening*
SBVS - *Structure-based Virtual Screening*).
VGSCs - *Voltage-gated sodium channel*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. OBJETIVOS.....	16
2.1. Objetivo Geral.....	16
2.2. Objetivos Específicos.....	16
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	17
3.1. Epilepsia: Histórico e conceito.....	17
3.2. Classificação da epilepsia.....	18
3.3. Tratamento.....	18
3.4. Mecanismo de ação.....	19
3.5. Receptor GABAA.....	20
3.6. Derivados de Isatina.....	22
3.7. Triagem Virtual.....	23
3.8. Docking Molecular.....	24
3.9. Avaliação das propriedades farmacocinéticas in silico.....	27
3.10. Simulação de Dinâmica Molecular e MM/PBSA.....	29
4. METODOLOGIA.....	35
4.1. Banco de dados.....	35
4.1.1. Alvos biológicos em estudo.....	35
4.1.2. Biblioteca de compostos para a triagem virtual.....	36
4.2. Docking Molecular.....	36
4.2.1. 1º Etapa: Validação do Docking Molecular.....	36
4.2.2. 2º Etapa: Docking da biblioteca de ligantes.....	37
4.3. Avaliação das propriedades farmacocinéticas.....	37
4.4. Simulação de Dinâmica Molecular e MM/PBSA.....	38
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
5.1. Simulação de docking molecular.....	39

5.2. Propriedades Farmacocinéticas.....	48
5.3. Simulação de Dinâmica Molecular e MM/PBSA.....	50
6. CONCLUSÕES.....	57
REFERÊNCIAS.....	58
ANEXO A.....	63
APÊNDICE A.....	64
APÊNDICE B.....	67
APÊNDICE C.....	70
APÊNDICE D.....	73
APÊNDICE E.....	76
APÊNDICE F.....	79

1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de novos fármacos é um processo complexo e desafiador, que envolve identificar compostos capazes de interagir de forma eficaz com alvos moleculares. Além disso, o processo é demorado e muito caro, levando em média cerca de 12 anos para que um novo medicamento chegue ao mercado. Nesse contexto, os métodos computacionais têm se mostrado fundamentais, acelerando e otimizando esse processo [1, 2].

O Planejamento de Fármacos Auxiliado por Computador (CADD, do inglês *Computer-Assisted Drug Design*), envolve diferentes técnicas que permitem a identificação e otimização de moléculas bioativas de forma mais eficiente, o que pode reduzir significativamente o tempo e os custos envolvidos no desenvolvimento de novos medicamentos [3].

Uma série de diretrizes e princípios foram estabelecidos nos últimos anos para ajudar a prosseguir com o projeto e a otimização de compostos líderes para candidatos a fármacos. Como por exemplo, modelos computacionais que ajudam a prever se as moléculas apresentarão as propriedades ADMET (absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade) desejadas, além do uso de vários programas de *design* de fármacos baseados na estrutura do receptor, nos quais as estruturas determinadas por cristalografia de raios X ajudam a identificar os ligantes ideais para os receptores estudados [4].

Nessa perspectiva, o presente estudo visa identificar moléculas que possam apresentar atividades antiepilépticas a partir do uso de procedimentos computacionais, como triagem virtual baseada no receptor empregando docking molecular, avaliação de propriedades farmacocinéticas, dinâmica molecular e MM/PBSA. Isso porque, apesar da grande disponibilidade de drogas antiepilépticas (DAEs), cerca de 30% dos pacientes com epilepsia ainda não estão livres de convulsões e, portanto, há uma grande necessidade de desenvolver novas DAEs [5].

A epilepsia é uma das doenças neurológicas mais comuns, caracterizada pela tendência persistente de gerar crises epiléticas espontâneas, com várias consequências neurobiológicas, cognitivas e psicossociais. As causas da epilepsia incluem fatores genéticos, estruturais, metabólicos, infecciosos, imunológicos e outros que ainda são desconhecidos [6].

O uso de DAEs é a principal abordagem para o tratamento da epilepsia, sendo a monoterapia a opção preferida. No entanto, uma alta porcentagem dos pacientes requer politerapia para controlar suas convulsões. Por outro lado, fazer uso de politerapia aumenta o

risco de interações medicamentosas devido à indução ou inibição enzimática e alterações na ligação às proteínas. Essas interações farmacocinéticas podem resultar em baixa eficácia ou alta toxicidade dos DAEs. Devido a esses desafios, novas pesquisas são necessárias para desenvolver DAEs com melhores efeitos terapêuticos [7].

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Selecionar derivados de isatinas com potencial atividade antiepiléptica por meio de uma triagem virtual baseada na estrutura do receptor

2.2. Objetivos Específicos

- Identificar o alvo preferencial das estruturas derivadas da isatina dentre alvos conhecidos envolvidos em epilepsia;
- Selecionar as moléculas com maiores afinidades pelo receptor, por meio do *docking* molecular, para serem testadas experimentalmente por nossos colaboradores.
- Fazer o estudo das propriedades farmacocinéticas (ADMET) das moléculas que compõem a biblioteca de ligantes, a fim de selecionar somente as que têm propriedades adequadas;
- Verificar a estabilidade dos complexos ligante-receptor formados com as moléculas de mais alta afinidade por meio de simulações de dinâmica molecular;
- Determinar as energias livres de interação utilizando a técnica de MM-PBSA.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1. Epilepsia: Histórico e conceito

A epilepsia é reconhecida como umas das doenças mais antigas no mundo, havendo desde os primórdios relatos que abordam essa doença. Da concepção etimológica, o termo é derivado do grego (επιλαμβάνειν), que se refere a ser “tomado, atacado, possuído”, o que faz acepção aos sintomas ocorridos durante as crises. Pela falta de conhecimento, na antiguidade, a doença era relacionada a possessões espirituais, o que criou um estigma e crenças associadas ao misticismo [7, 8].

Apesar de já haver descrições afirmando que a epilepsia estivesse relacionada a anomalias decorrentes do cérebro, apenas no XIX com os avanços da neurofisiologia a epilepsia passou a ser vista como uma doença de origem cerebral, contribuindo significativamente nos estudos acerca da compreensão e tratamentos da doença [7]. Entretanto, a incompreensão, discriminação e os estigmas ainda estão presentes na atualidade, tendo impacto direto na qualidade de vida dos indivíduos com a doença [9].

A epilepsia é definida como uma doença cerebral crônica não transmissível, sendo um dos distúrbios cerebrais mais comuns, que afeta aproximadamente 50 milhões de pessoas em todo o mundo. Caracterizada por convulsões espontâneas, breves episódios de movimentos involuntários que podem envolver uma parte do corpo (parcial) ou todo o corpo (generalizados), apresenta consequências neurológicas, cognitivas e psicossociais [9, 6].

As convulsões são o resultado da descarga excessiva de um grupo de células cerebrais, porém, uma convulsão não significa necessariamente que o indivíduo possua epilepsia. Dessa forma, a definição clínica prática da doença passou a ser caracterizada pelas seguintes condições: pelo menos duas crises epiléticas não provocadas (ou reflexas) acontecendo com um intervalo superior a 24 h; uma crise não provocada (ou reflexa) e a probabilidade de ocorrência de outras crises, com um risco geral de recorrência de pelo menos 60% após duas crises epiléticas não provocadas nos próximos 10 anos; Diagnóstico de uma síndrome epilética [10].

3.2. Classificação da epilepsia

A Liga Internacional contra Epilepsia - ILAE classifica a doença em três níveis, sendo o primeiro caracterizado pelo tipo de crise (focal, generalizada e desconhecida), o segundo o tipo de epilepsia (epilepsia focal, generalizada, epilepsia focal e generalizada e um grupo de epilepsia desconhecida) e o terceiro nível é o tipo de síndrome. Em cada um desses estágios é importante enfatizar a etiologia, pois as causas podem ter implicações terapêuticas importantes. A etiologia é subdividida em seis subgrupos: genéticas, estruturais, metabólicas, infecciosas, imunológicas e desconhecidas [11].

A classificação das epilepsias é um fator importante na avaliação do indivíduo que apresenta crises epilêpticas. Essa classificação auxilia na compreensão do tipo de crise que um paciente está enfrentando, outros tipos de crises que podem ocorrer com mais frequência naquele indivíduo, fatores que possam ter causado as crises e, frequentemente, seu prognóstico. Além disso, a classificação fornece informações sobre os riscos de comorbidades, como dificuldades de aprendizado, deficiência intelectual e o risco de morte, como a morte súbita em epilepsia (SUDEP). É importante ressaltar que a classificação também orienta a seleção do tratamento com os medicamentos antiepilêpticos mais adequados [11].

3.3. Tratamento

A principal forma de tratar a epilepsia é por meio do uso de medicamentos anticonvulsivantes, com o objetivo de interromper as convulsões e não afetar a qualidade de vida do indivíduo [6]. A primeira opção de tratamento é iniciar com a monoterapia, se não houver uma resposta satisfatória, considerar mais duas tentativas com medicamentos isolados antes de optar pela politerapia [12]. A monoterapia é geralmente a melhor opção, pois a politerapia pode aumentar o risco de má adesão ao tratamento, interações medicamentosas e toxicidade a longo prazo [6].

A falta de resposta adequada aos tratamentos atuais ainda atingem uma grande parte dos pacientes com epilepsia e o uso desses medicamentos frequentemente acarreta efeitos colaterais indesejáveis como fadiga, tonturas, aumento de peso, instabilidade emocional e irritabilidade, além de reações alérgicas graves, episódios de depressão e psicose. Quando as

convulsões persistem apesar do tratamento com um único medicamento ou uma combinação deles, pode ser indicada uma avaliação para cirurgia como alternativa terapêutica [7].

A escolha adequada das drogas antiepiléticas (DAEs) depende do diagnóstico, das informações colhidas sobre o tipo de crise e síndrome epilética, idade do paciente, tolerabilidade e da segurança e eficácia das DAEs [12]. Dessa forma, a busca por novas opções terapêuticas é essencial para esses pacientes, visando aumentar a eficácia no controle das crises e ao mesmo tempo minimizar os efeitos adversos.

3.4. Mecanismo de ação

Os medicamentos anticonvulsivantes protegem contra convulsões ao interagir com um ou mais alvos moleculares no cérebro. Essas interações resultam na inibição das descargas convulsivas locais, reduzindo a capacidade dos neurônios de disparar potenciais de ação em alta velocidade e diminuindo a sincronização neuronal [13].

Dados científicos, indicam que a patogênese das crises epiléticas pode resultar de alterações da função sináptica e de diversas propriedades intrínsecas dos neurônios, como o desequilíbrio das alterações na transmissão sináptica glutamatérgica (relacionado ao neurotransmissor glutamato) e GABAérgica (referente ao neurotransmissor GABA-ácido gama-aminobutírico). Dessa forma, os anticonvulsivantes inibem a propagação da atividade epilética para áreas próximas e distantes, fortalecendo o entorno inibitório mediado por interneurônios GABAérgicos e reduzindo a neurotransmissão excitatória mediada pelo glutamato [13, 14].

Neurotransmissores inibitórios desempenham seu papel ao causar uma saída efetiva de íons nas células nervosas, o que geralmente leva à hiperpolarização da membrana celular. Por exemplo, esses neurotransmissores podem abrir canais de potássio (K^+), permitindo que os íons K^+ saiam da célula, ou canais de cloreto (Cl^-), permitindo que íons Cl^- entrem na célula. A saída desses íons tornam o interior da célula mais negativo, um processo conhecido como hiperpolarização. Esse aumento da carga negativa diminui a resistência da membrana e leva o potencial de membrana a ficar ainda mais abaixo do limiar necessário para desencadear um potencial de ação, reduzindo a capacidade dos neurônios de se despolarizar e disparar sinais [15].

Por outro lado, neurotransmissores excitatórios promovem o influxo de carga positiva na célula, despolarizando a membrana. Eles podem fazer isso abrindo canais de sódio (Na^+), que permitem a entrada de íons Na^+ na célula, ou fechando canais de potássio, o que diminui a

saída de íons K^+ . Ambos os mecanismos resultam em uma corrente de entrada positiva, tornando o interior da célula mais positivo e aumentando a probabilidade de que os neurônios disparem um potencial de ação. Assim, os neurotransmissores excitatórios geram uma despolarização da membrana, facilitando a transmissão de sinais nervosos [15].

O alívio sintomático das convulsões proporcionado pelos medicamentos antiepilépticos ocorre por meio de interações com diversos alvos celulares. As ações nesses alvos podem ser categorizadas em quatro grandes grupos [16]:

- 1) modulação dos canais de sódio, cálcio ou potássio dependentes de voltagem;
- 2) aumento da inibição sináptica rápida mediada por GABA;
- 3) modificação dos processos de liberação sináptica;
- 4) diminuição da excitação rápida mediada por glutamato.

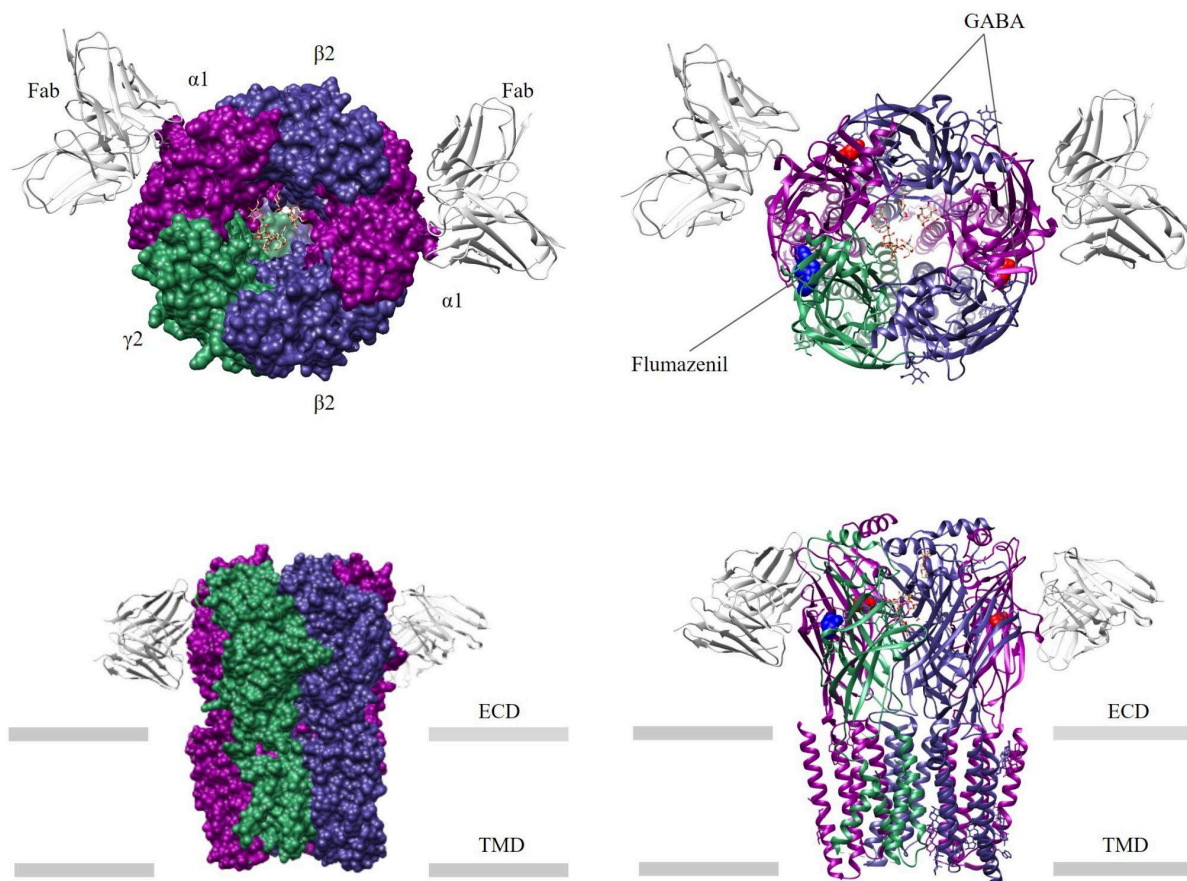
O resultado das interações com esses alvos é modificar as propriedades de excitabilidade intrínseca dos neurônios ou alterar a neurotransmissão inibitória ou excitatória rápida [16]. Sendo assim, os fármacos podem bloquear os receptores ou inibir a liberação de glutamato para reduzir a excitação neuronal e/ou potencializar a ação do GABA, aumentando a disponibilidade deste neurotransmissor, ou estimular sua síntese para aumentar a inibição neuronal.

3.5. Receptor GABAA

O funcionamento do sistema nervoso é dirigido por um equilíbrio de sinalização excitatória e inibitória. O GABA (ácido γ -aminobutírico) é o principal neurotransmissor inibitório no sistema nervoso central (SNC), atuando por meio dos receptores GABAA, um receptor ionotrópico de ação rápida e o GABAB um receptor metabotrópico de ação lenta [17].

Os receptores GABA mais abundantes no SNC consistem nos receptores de ionotrópicos de GABAA. Esses receptores pertencem à superfamília *Cys-loop* de receptores de neurotransmissores e são compostos por cinco subunidades (pentâmeros) dispostas em torno de um eixo central que forma o canal iônico. A isoforma sináptica mais abundante no cérebro é composta por duas subunidades $\alpha 1$, duas subunidades $\beta 2$ e uma subunidade $\gamma 2$, como representado na figura 1 [18, 19].

Figura 1 - Representação da estrutura do GABAA (PDB ID 6D6T), colorido por subunidades ($\alpha 1$, magenta; $\beta 2$, roxo; $\gamma 2$, verde; Fab, cinza). O GABA é representado por esferas vermelhas e o flumazenil (antagonista) por esfera azul. ECD (domínio Extracelular) e TMD (domínio transmembranar)

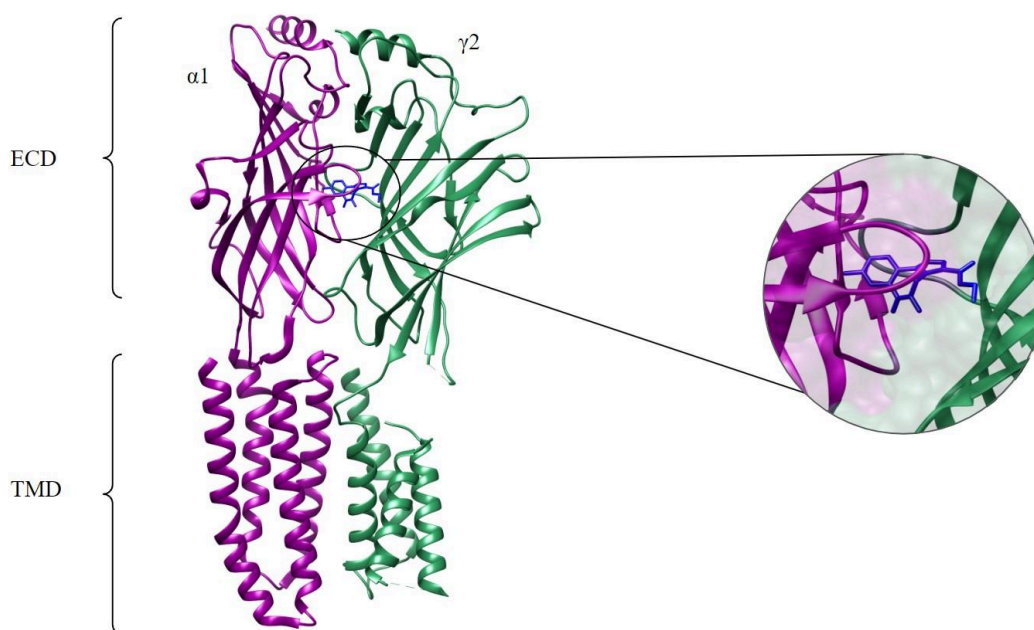


Fonte: Adaptado de ZHU et al. (2018)

Os receptores GABAA são canais iônicos importantes na função cerebral e são o alvo de medicamentos quimicamente diversos e clinicamente importantes. A disfunção desse receptor resulta em distúrbios neurológicos e transtornos mentais, como epilepsia, ansiedade e insônia [17, 18]. O receptor GABAA media a neurotransmissão inibitória rápida no SNC. Quando o GABA se liga ao receptor, ocorre a abertura do canal de cloreto, permitindo o influxo de íons cloreto (Cl^-), que hiperpolariza a membrana neuronal e reduz a excitabilidade neuronal. Isso se opõe à despolarização e inibe o disparo neuronal [18, 19].

Os receptores GABAA possuem vários sítios de ligação alostéricos, que são alvos de diferentes moduladores como benzodiazepinas, barbitúricos, anestésicos e etanol. Na combinação de subunidades mais comum do receptor GABAA ($\alpha 1\beta 2\gamma 2$), o sítio de ligação dos benzodiazepínicos está localizado em uma região diferente daquela que o neurotransmissor GABA se liga. Ambos estão na porção extracelular do receptor, mas enquanto o GABA está localizado entre as subunidades $\alpha 1$ e $\beta 2$, o sítio de ligação dos benzodiazepínicos encontra-se entre as subunidades $\alpha 1$ e $\gamma 2$, como representado na figura 2 [19].

Figura 2 - Representação estrutural das subunidades $\alpha 1$ (magenta) e $\gamma 2$ (verde) do receptor GABAA (6D6T) mostrando o sítio de ligação dos benzodiazepínicos.



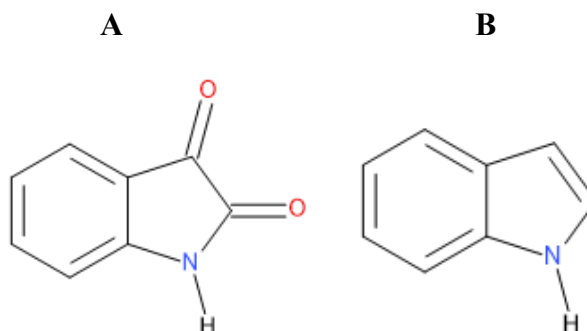
Fonte: Adaptado de SHARMA et al. (2021)

3.6. Derivados de Isatina

A isatina (1H-indol-2,3-diona), Figura 3 (A), é uma estrutura química derivada do indol (B), encontrada no corpo humano como um metabólito natural, possuindo uma ampla

gama de ações farmacológicas e biológicas, sendo uma das mais notáveis a sua capacidade de atuar como agente anticonvulsivante [20, 21].

Figura 3 - Representação da Isatina (A) e o indol (B)



Fonte: Autoria própria

A isatina é capaz de participar de diversas reações sintéticas, devido aos vários centros de reação, como por exemplo seus grupos cetona que podem participar de reações de adição e em condensações, assim como seu grupo amina, que pode ser envolvido em N-alquilação e N-acilação. Portanto, diversas modificações químicas podem ser feitas na isatina, o que leva ao seu uso extensivo como uma molécula precursora na química medicinal. Na literatura se encontram relatos de que os derivados de isatina exibiram potenciais atividades anticonvulsivantes do SNC, esses resultados sugerem a importância de estudar e analisar a isatina e derivados como um composto químico com potencial anticonvulsivante [20, 21].

3.7. Triagem Virtual

O desenvolvimento de fármacos é um processo muito longo, complexo e que exige muitos recursos. Fazer com que um composto passe pelos estágios de desenvolvimento e clínico é um processo que leva anos para ser concluído e, muitas vezes, os candidatos a fármacos falham antes mesmo de chegar ao mercado [22].

Um dos desafios mais complexos no desenvolvimento de fármacos é a fase inicial de identificação entre uma enorme quantidade de compostos candidatos. Nos anos 1990, a introdução da química combinatória e da técnica de Triagem em Larga Escala (do inglês, *High-Throughput Screening* - HTS) gerou grandes expectativas de que o processo de descoberta de novos medicamentos seria acelerado. No entanto, se observou que testar

aleatoriamente um grande número de compostos não resultou em um progresso significativo na descoberta de novos fármacos. Dessa forma, foi necessário buscar alternativas para descartar previamente estruturas inadequadas, ao mesmo tempo em que se aumentava o número de compostos promissores a serem avaliados em ensaios experimentais [22, 2].

Uma maneira eficiente de otimizar e auxiliar o desenvolvimento de novos fármacos é através da Triagem Virtual (VS, do inglês, *Virtual Screening*). Essa técnica permite selecionar, utilizando técnicas computacionais, entre uma grande biblioteca, as moléculas que apresentam maior probabilidade de se ligarem ao alvo biológico. Assim, é possível identificar compostos promissores para aplicações futuras, como estudos *in vitro* e *in vivo* [23]. A VS apresenta duas abordagens, a Triagem Virtual Baseada na Estrutura do Ligante (LBVS, do inglês, *Ligand-based Virtual Screening*) e Triagem Virtual Baseada na Estrutura do Alvo (SBVS, do inglês, *Structure-based Virtual Screening*).

A SBVS, da qual este trabalho faz uso, parte da estrutura tridimensional (3D) do receptor biológico, utilizando o *docking* molecular como principal estratégia para a seleção dos compostos mais promissores, investigando a interação dos ligantes (candidatos a fármacos) no sítio de ligação da proteína alvo [24, 25].

A LBVS, não requer informações da estrutura do alvo, mas das propriedades químicas de compostos conhecidos e testados. A ideia é de que as moléculas não conhecidas compartilhem algumas características químicas com os compostos conhecidos, facilitando assim a identificação de moléculas que atendam a critérios especificados [22].

3.8. *Docking* Molecular

O *docking* molecular é o método mais comum que tem sido amplamente utilizado para o planejamento de fármacos baseados em estrutura [26]. No estágio inicial de um projeto de descoberta de fármacos, as informações obtidas por esta técnica, como pose de ligação e a afinidade entre um ligante e uma proteína, são dados cruciais no processo de desenvolvimento [27].

Portanto, o *docking* molecular se tornou um grande aliado no desenvolvimento de fármacos, pois os custos computacionais desses estudos são muito menores quando comparados aos custos laboratoriais necessários para sintetizar e testar farmacologicamente um grande número de substâncias [28].

O processo de reconhecimento molecular proteína-ligante depende de características estruturais e físico-químicas das moléculas interagentes, com o objetivo de identificar o

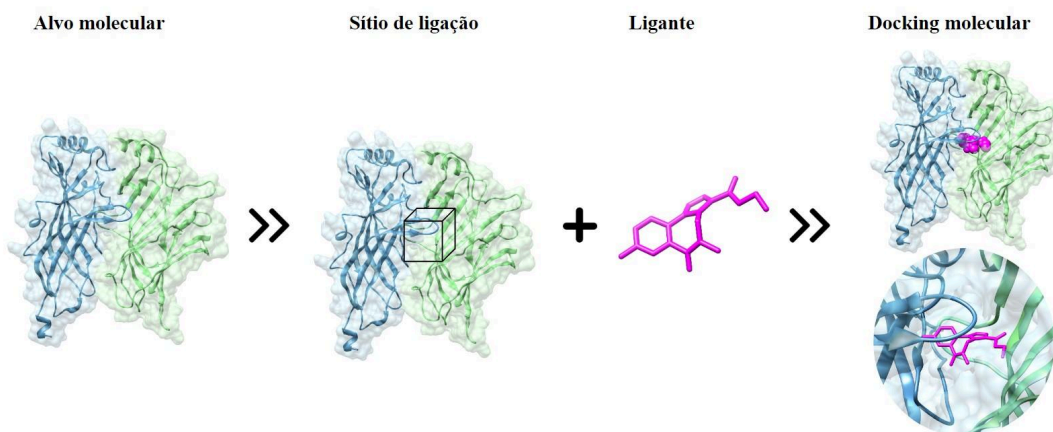
arranjo conformacional mais favorável, correspondente à menor energia livre de interação. Dirigido por uma combinação de efeitos entálpicos e entrópicos, esses efeitos podem ser estimados pela energia livre de ligação de Gibbs (ΔG_{lig}), que está relacionada, pela Equação 1, à constante de equilíbrio de ligação (K_{eq}), a qual pode ser medida experimentalmente [29].

$$\Delta G_{lig} = \Delta H - T\Delta S = -RT\ln K_{eq} \quad (1)$$

em que ΔH é a variação de entalpia, T é a temperatura absoluta, ΔS é a variação de entropia e R é a constante universal dos gases.

O *docking* molecular tem o objetivo de prever a estrutura do complexo proteína-ligante (representação na figura 4), usando algoritmos compostos por duas etapas que se correlacionam: *i*) investigação conformacional de uma pequena molécula (ligante) no sítio do alvo molecular (receptor); *ii*) quantificação da afinidade das conformações previstas [29, 26].

Figura 4 - Representação de etapas envolvidas no *docking* molecular, desde a delimitação do espaço de procura no alvo molecular (sítio de ligação), ligante em estudo e o complexo gerado



Fonte: Autoria própria

Levando em conta a etapa do *docking* molecular que realiza a busca por conformações, a flexibilidade das moléculas envolvidas é abordada de maneiras diferentes pelos diversos métodos. Três estratégias principais são empregadas: *i*) *docking* rígido; *ii*) *docking* semi-flexível; *iii*) *docking* flexível. Na primeira estratégia proteína e ligante considerados rígidos, apenas graus de liberdade translacionais e rotacionais do ligante são

levados em consideração, na segunda, proteína novamente rígida, enquanto o ligante é flexível e a terceira estratégia considera ligante e alguns resíduos próximos a ele como flexíveis [30].

Assim, a investigação conformacional do complexo proteína-ligante é realizada pelos *métodos de busca*, enquanto a afinidade dessas conformações pela *função de avaliação* ou *pontuação*. Os métodos de busca podem ser classificados basicamente em três categorias: métodos de busca sistemática, métodos de busca determinística e métodos de busca estocástica. Nos algoritmos de busca sistemática, cada grau de liberdade da molécula é associado a um conjunto específico de valores, permitindo que todos esses graus de liberdade sejam explorados de forma combinatória durante o processo de busca. O segundo método, a busca determinística, é caracterizada pelo fato de que, dado o mesmo estado inicial, sempre produzirá a mesma saída (métodos clássicos de minimização de energia e simulação por dinâmica molecular são exemplos de buscas determinísticas utilizados em programas de *docking*). Nos métodos de busca estocástica, a busca envolve movimentos aleatórios, resultando em saídas diferentes a partir do mesmo estado inicial de entrada [29].

Os métodos de busca geram uma grande quantidade de conformações do ligante durante o *docking* molecular. As funções de avaliação são então aplicadas a essas conformações para avaliar sua qualidade e classificá-las com base na afinidade com o receptor. Essas funções podem ser divididas em: funções baseadas em campos de força, funções empíricas e funções baseadas em conhecimento [31].

As funções baseadas em campo de força utilizam princípios da física para calcular a energia de interação entre o ligante e o receptor, descrevendo o comportamento molecular entre átomos ligados (distâncias, ângulos e torções de ligações químicas) e não ligados (eletrostáticas e de Van der Waals). Já as funções empíricas reproduzem dados experimentais associados à energia livre de ligação. E as funções baseadas em conhecimento levam em consideração dados estatísticos, utilizando as informações derivadas de número cada vez maior de estruturas determinadas experimentalmente, que descrevem geometrias de interação proteína-ligante, para assim avaliar a qualidade das conformações geradas [29, 30].

Para validação do *docking* molecular, um dos indicativos de que o algoritmo utilizado consegue prever o modo de ligação de um complexo proteína-ligante é quando o complexo gerado é semelhante ao obtido experimentalmente. Para que isso seja analisado é feito o procedimento de *redocking*, ou seja, o ligante é “redocado” na proteína, visando o cálculo do desvio quadrático médio (RMSD, do inglês *Root Mean Square Deviation*), cujo valor representa o desvio médio entre as posições atômicas obtidas no *docking* em comparação com

a pose do ligante cristalográfico. De acordo com a literatura, o valor padrão de RMSD considerado ideal é até 2 Å [29].

Os softwares utilizados nesta pesquisa foram Autodock4, Autodock Vina e GOLD. Para o Autodock4, o método primário para busca conformacional é um algoritmo genético Lamarckiano, utilizando um campo de força de energia livre semiempírico para prever energias livres de ligação de pequenas moléculas a alvos macromoleculares. O Autodock Vina é uma versão otimizada do Autodock4, que melhora significativamente a precisão das previsões do modo de ligação. No desenvolvimento do Vina, diversas técnicas de otimização global estocástica foram investigadas. Essas abordagens foram combinadas com diferentes procedimentos de otimização local e técnicas especiais para acelerar o processo de otimização [32, 33].

O GOLD (*Genetic Optimization for Ligand Docking*) utiliza um algoritmo genético para explorar a flexibilidade conformacional do ligante e também permite a flexibilidade parcial da proteína [34]. Atualmente, o GOLD apresenta quatro funções de pontuação: Goldscore, Chemscore, ASP (*Astex Statistical Potential*) e ChemPLP. A função de pontuação Chemscore utiliza a função empírica, já a Goldscore utiliza uma combinação de termos de campo de força com termos empíricos, a ChemPLP é uma função de pontuação empírica otimizada para previsão de pose e a ASP é uma função baseada em conhecimento, que utiliza um potencial estatístico derivado de estruturas de complexos proteína-ligante conhecidas [35].

3.9. Avaliação das propriedades farmacocinéticas *in silico*

Os processos de descoberta e desenvolvimento de fármacos consomem um longo tempo e recursos, visto que um grande número de estruturas moleculares são avaliadas com base em diversos parâmetros. Esse processo visa orientar a escolha dos compostos químicos que serão sintetizados e testados, buscando identificar aqueles que têm a maior probabilidade de se tornarem medicamentos eficazes para os pacientes [36]. Dessa forma, além do bom ajuste do ligante a um alvo biológico específico, também é importante considerar outras características desde o início, como suas propriedades farmacocinéticas, que englobam absorção, distribuição, metabolismo, eliminação e toxicidade, também conhecidas como propriedades ADMET [23]. A predição dessas propriedades desde os estágios iniciais da pesquisa é crucial, podendo haver otimização das propriedades através de modificações moleculares dos compostos que sejam promissores, diminuindo seu abandono em fases posteriores, o que resultaria em grandes perdas de tempo e investimento [37].

As moléculas precisam demonstrar alta atividade biológica e baixa toxicidade. Para ser eficaz como medicamento, uma molécula potente deve atingir o seu alvo no corpo em concentração suficiente e permanecer lá numa forma bioativa o tempo suficiente para que ocorram os eventos biológicos esperados [36].

Uma ampla gama de métodos *in silico* tem como objetivo prever parâmetros ADMET a partir da estrutura molecular. Um dos trabalhos pioneiros nesse campo foi realizado por Lipinski e colaboradores em 1997. Eles examinaram compostos oralmente ativos para identificar quais propriedades estão relacionadas a uma adequada biodisponibilidade oral, definindo faixas de valores de propriedades físico-químicas com alta probabilidade de sucesso como medicamentos orais [24].

Conhecida como “Regra dos cinco”, Lipinski delineou a relação entre os parâmetros farmacocinéticos e físico-químicos, utilizando parâmetros que já haviam sido associados com medidas de permeabilidade (massa molecular, coeficiente de partição octanol/água ($\log P$), número de átomos doadores de ligação de hidrogênio e número de átomos aceptores de ligação de hidrogênio). Neste sentido, uma boa absorção e permeabilidade podem ser alcançadas quando a molécula possui as seguintes características: $PM \leq 500$, $\log P \leq 5$, Doadores de ligações de hidrogênio ≤ 5 , Aceitador de ligações de hidrogênio ≤ 10 . Baseado nisso, Lipinski sugeriu que compostos que apresentem dois ou mais parâmetros com valores fora destas faixas têm grande chance de serem pouco permeáveis [38].

Mais adiante, foi estabelecido um conjunto de regras para uma boa penetração no sistema nervoso central (SNC). De acordo com essas regras, uma boa penetração no SNC pode ser alcançada quando o $PM \leq 400$, $\log P \leq 5$, doador de ligação de hidrogênio ≤ 3 eceptor de ligação de hidrogênio ≤ 7 [39].

Subsequentemente, outros parâmetros também foram levados em consideração, como o número de ligações rotacionáveis, fator crucial para a flexibilidade molecular, que pode influenciar a capacidade de uma molécula atravessar membranas biológicas. Foi proposto que compostos com ≤ 10 ligações rotacionáveis tendem a ser mais bem absorvidos por via oral. Também foi abordado sobre a área de superfície polar topológica (TPSA), que propõem que moléculas com TPSA abaixo de 140 \AA^2 tendem a ter melhor permeabilidade e absorção oral. A inclusão do TPSA, junto com o número de ligações rotacionáveis, aprimora a capacidade de prever a biodisponibilidade oral de novos candidatos a fármacos [40].

Outro conhecimento essencial é sobre a interação de moléculas com citocromos P450 (CYP). As enzimas do citocromo P450 desempenham um papel importante nos efeitos farmacológicos e toxicológicos dos medicamentos, pois são responsáveis pelo metabolismo

dos fármacos no fígado. Podem ser induzidas, aumentando a taxa de inativação dos fármacos, ou inibidas, o que faz com que o medicamento permaneça mais tempo no corpo, o que pode aumentar o risco de efeitos colaterais [15]. Portanto, é de grande importância para a descoberta de fármacos prever a probabilidade de uma molécula causar interações com outros medicamentos por meio da inibição de CYPs e determinar quais isoformas são afetadas.

As análises de toxicidade também são realizadas observando alguns parâmetros como o teste AMES, que refere-se ao potencial mutagênico dos compostos usando bactérias e, portanto, o seu potencial carcinogênico. A hepatotoxicidade também deve ser levada em consideração no desenvolvimento de fármacos, pois analisa se um determinado composto está associado a um evento patológico ou fisiológico do fígado, causando a interrupção da função normal do mesmo. Os estudos relacionados à inibição dos canais de potássio codificados por hERG (gene humano ether-go-go), também devem ser levados em consideração, por ser uma das principais causas do surgimento da síndrome do QT longo adquirida, podendo levar à arritmia ventricular fatal. Dessa forma, analisar se um composto químico pode afetar ou não esses canais é essencial para fins de toxicidade cardíaca [41, 42].

3.10. Simulação de Dinâmica Molecular e MM/PBSA

A simulação de dinâmica molecular (DM) é uma técnica computacional utilizada para calcular as propriedades de equilíbrio e transporte de um sistema clássico de muitos corpos [40]. Essa técnica é bem estabelecida para investigar os movimentos de macromoléculas em nível atômico, o que possibilita explorar as interações ligante-receptor, revelando os mecanismos dos processos biológicos com detalhes [43, 44].

Fundamentada nos princípios da mecânica clássica, a DM fornece informações detalhadas sobre o comportamento dependente do tempo dos átomos em um sistema. As forças que agem sobre esses átomos são calculadas usando campos de força de mecânica molecular, que são conjunto de funções de potencial que definem as interações entre as partículas. Essas funções incluem os termos para as interações intramoleculares e intermoleculares, como representado na equação 2 [45, 3]:

$$V_{total} = \sum V_{intra} + \sum V_{inter} \quad (2)$$

sendo,

$$V_{intra} = \sum V_{ligação} + \sum V_{angular} + \sum V_{torção} \quad (3)$$

onde,

$$V_{ligação} = \frac{1}{2} \sum K_r (r - r_0)^2 \quad (4)$$

$$V_{angular} = \frac{1}{2} \sum K_\theta (\theta - \theta_0)^2 \quad (5)$$

$$V_{torção} = \frac{1}{2} \sum V_n [1 + \cos(n_\phi - \gamma)] \quad (6)$$

Na equação 3 é apresentado os potenciais que descrevem interações intramoleculares, também conhecidas por potenciais ligados, descrevendo as deformações moleculares. Nesta equação, $V_{ligação}$ corresponde aos estiramentos de uma ligação química, $V_{angular}$ e $V_{torção}$ correspondem, respectivamente, às descrições das deformações angulares e das deformações dos ângulos diedros. r e θ são os comprimentos e ângulos de ligação, r_0 e θ_0 correspondem aos valores de equilíbrio e K_r e K_θ as constantes de força para a restituição aos respectivos valores de equilíbrio. Para o terceiro termo, V_n é a barreira de energia para a torção, n é o número de máximos (ou mínimos) de energia em uma torção completa, ϕ é o ângulo diedro e γ é o ângulo de fase [29, 45].

Para V_{inter} ,

$$V_{inter} = V_{vdW} + V_{elet} \quad (7)$$

onde,

$$V_{vdw} = \sum_{i,j} 4\varepsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \quad (8)$$

$$V_{elet} = \sum_{i,j} \frac{q_i q_j}{4\pi\varepsilon_0 r_{ij}} \quad (9)$$

As interações entre pares de átomos não-ligados covalentemente (i, j), são descritas por potenciais compostos pelos termos de Van der Waals e eletrostáticos, representados respectivamente pelos potenciais de Lennard-Jones e de Coulomb (Equações 8 e 9). Sendo ε_{ij} , a profundidade do potencial entre a barreira atrativa e a repulsiva, e σ_{ij} a distância finita na qual o potencial inter-partícula é zero. Ambos são parâmetros ajustados experimentalmente

ou por cálculos teóricos. No caso das interações eletrostáticas, q_i, q_j correspondem à magnitude das cargas pontuais de cada átomo, r_{ij} a distância entre as cargas, ϵ_0 a permissividade do vácuo [45].

Nesse aspecto, os campos de forças existentes foram desenvolvidos de maneira independente e com todos os conjuntos de parâmetros específicos. A escolha do campo de força depende, em grande parte, do sistema a ser estudado e das propriedades que serão investigadas. No caso de sistemas biomoleculares, os campos de força mais utilizados são CHARMM, GROMOS, AMBER, OPLS, entre outros [45].

A simulação de DM consiste da solução numérica, passo a passo, da equação de movimento, que pode ser descrita para um sistema atômico simples pela equação 10, onde $F_i(t)$ é a força aplicada ao átomo i de um sistema em um determinado instante de tempo (t), que corresponde à sua massa (m) multiplicada por sua aceleração (a) [23, 45].

$$F_{x_i} = \frac{d^2 x_i}{dt^2} m_i = \frac{\Delta v_i}{\Delta t} m_i = a_i m_i \quad (10)$$

Uma vez estabelecido o campo de força, pode-se calcular as forças atuantes sobre cada átomo derivando a energia potencial, obtida a partir do campo de força selecionado, em relação às posições dos átomos. Integrando as equações de movimento a partir da aceleração, obtêm-se as velocidades, cuja integral subsequente proporciona a alteração na posição do átomo. Com as novas posições e velocidades de cada partícula, são calculadas as energias potencial e cinética do sistema. Repetindo esse processo continuamente, obtêm-se a chamada "trajetória", que é o conjunto de posições e velocidades de cada partícula ao longo do tempo [23, 45].

Para realização da simulação, especificar as posições iniciais das partículas que compõem o sistema é muito importante. Uma abordagem comum é posicionar inicialmente as partículas nas posições de uma rede cristalina, evitando sobreposições indesejadas, gerando uma caixa de simulação, que pode adotar diferentes geometrias, sendo as mais utilizadas cúbicas e octaédricas. A caixa geométrica contém um solvente, frequentemente água, e segue as condições periódicas de contorno. Isso significa que a caixa é reproduzida em todas as direções possíveis, evitando que o complexo estudado interaja com sua própria imagem devido à constante movimentação durante a DM [30, 45].

Ao serem solvatadas, é preciso levar em consideração a relação soluto-solvente. O solvente precisa se adaptar ao redor de seu soluto, e isto precisa ser corrigido antes que a simulação por DM se inicie. Dessa forma, o sistema deve ser minimizado (otimizado), visando encontrar um conjunto de coordenadas que minimizem a energia potencial do sistema. O procedimento de minimização envolve localizar as conformações estáveis (mínimos de energia) de uma molécula. Este processo ajusta as posições atômicas, relaxando distorções nas ligações químicas, nos ângulos de ligação e nos contatos de Van der Waals. O sistema minimizado apresenta forças pequenas sobre cada átomo e serve como estrutura de partida para as simulações de DM [30, 45].

Após o processo de minimização, o sistema precisa ser equilibrado. Em simulações de DM é essencial levar o sistema a um estado de equilíbrio termodinâmico antes da fase de produção da simulação. A fase de equilíbrio envolve ajustes como pressão, temperatura, aplicação de restrições e outras propriedades do sistema até que se estabilize. Após isso, o sistema pode ser levado à etapa chamada de simulação de produção, onde as trajetórias serão obtidas ao longo de um tempo maior de simulação.

As trajetórias obtidas nas simulações de DM representam a evolução temporal do sistema se movendo sob a ação das forças específicas. Os resultados podem ser analisados por meio das interações proteína-ligante, das conformações geradas, selecionando as mais representativas, ou por meio do cálculo do desvio quadrático médio (RMSD, do inglês *Root Mean Square Deviation*) e raiz quadrada da flutuação quadrática média (RMSF, do inglês *Root Mean Square Fluctuation*).

Com base nas trajetórias geradas na simulação de DM, é possível estimar as energias livres de ligação empregando a abordagem MM/PBSA (Mecânica Molecular/Área de Superfície de Poisson-Boltzmann). Esta abordagem calcula a energia livre de ligação considerando três componentes separadamente: o complexo (proteína-ligante), o receptor (proteína) e o ligante (molécula pequena) [46, 47].

A energia de ligação livre para um complexo pode ser estimada como:

$$\Delta G_{bind} = \langle G_{complexo} \rangle - \langle G_{receptor} \rangle - \langle G_{ligante} \rangle \quad (11)$$

onde cada termo é dado por:

$$\langle G_x \rangle = \langle E_{MM} \rangle + \langle G_{sol} \rangle - \langle TS \rangle \quad (12)$$

logo, a ΔG_{bind} também pode ser representado como:

$$\Delta G_{bind} = \Delta H - T\Delta S \quad (13)$$

A diferença na energia livre entre os componentes complexos e individuais pode ser decomposta em termos entálpicos (ΔH) e entrópicos ($-T\Delta S$) avaliando mudanças em interações de ligação e a entropia conformacional após a ligação. O termo de energia entálpica pode ser aproximado como a energia da mecânica molecular da fase gasosa (ΔE_{MM}) e energia livre de solvatação (ΔG_{sol}), como representado na Equação 14. O termo entrópico frequentemente é omitido devido ao alto custo computacional. Quando esse termo é descartado, o valor computado é a energia livre efetiva, que geralmente é suficiente para comparar energias livres de ligação relativas de ligantes relacionados [48, 47].

$$\Delta H = \Delta E_{MM} + \Delta G_{sol} \quad (14)$$

$$\Delta E_{MM} = \Delta E_{bonded} + \Delta E_{nonbonded} \quad (15)$$

$$\Delta E_{MM} = (\Delta E_{bond} + \Delta E_{angle} + \Delta E_{dihedral}) + (\Delta E_{ele} + \Delta E_{vdw})$$

$$\Delta G_{sol} = \Delta G_{polar} + \Delta G_{non-polar} = \Delta G_{PB/GB} + \Delta G_{non-polar} \quad (16)$$

Nas equações, ΔE_{MM} corresponde às mudanças de energia mecânica molecular na fase gasosa, que inclui ΔE_{bonded} , também conhecido como energia interna, e $\Delta E_{nonbonded}$, correspondendo às contribuições de van der Waals e eletrostática. ΔG_{sol} descreve a contribuição de interações polares e não polares para a transferência do ligante da fase gasosa para o solvente. O componente de solvatação polar (ΔG_{polar}) especifica a energia de interação da distribuição de carga do soluto no solvente contínuo e é encontrado pela avaliação da equação de Poisson-Boltzmann. O termo de solvatação não polar ($\Delta G_{non-polar}$) mede a energia do soluto formando uma cavidade no solvente e as interações de van der Waals na interface da cavidade entre o soluto e o solvente [48, 47].

O método MM/PBSA, atinge um bom equilíbrio entre exatidão, precisão e eficiência computacional, sendo mais preciso do que a maioria das funções de pontuação, permitindo estimar energias livres de ligação, determinar estabilidade estrutural, prever pontos críticos e avaliar as contribuições de resíduos individuais ou termos de energia por análises de decomposição de energia livre [48].

4. METODOLOGIA

Este estudo utilizou uma abordagem de triagem virtual baseada no receptor, ou seja, com base na estrutura 3D do alvo biológico, avaliando assim as potenciais afinidades de uma biblioteca de ligantes contra possíveis alvos envolvidos em epilepsia. Para isso, foi realizado docking molecular utilizando os programas Autodock4 [32], Autodock Vina [33] e GOLD [34], tomando como ponto de partida as estruturas cristalográficas de receptores conhecidos para os seguintes medicamentos antiepiléticos: diazepam, tiagabina, etossuximida, vigabatrina e carbamazepina.

4.1. Banco de dados

4.1.1. Alvos biológicos em estudo

As estruturas foram retiradas do banco de dados *Protein Data Bank* (PDB), o banco de dados de proteínas, mantido no Laboratório Nacional Brookhaven, Upton, New York, que contém estruturas de raios-X de várias centenas de proteínas [49, 3]. As estruturas cristalográficas utilizadas para o estudo estão listadas abaixo com seu código de referência do PDB.

Tabela 1 - Códigos PDB das estruturas cristalográficas

Código PDB	Receptor	Ligante
6D6T	GABAA (ácido gama-aminobutírico tipo A)	FYP
1FTL	AMPA(α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropionico)	DNQ
7SK2	GAT-1 (Transportador de GABA 1),	TGI
5VIH	NMDA (N-metil-D-aspartato)	5DZ
5EK0	VGSCs (canal de sódio dependente de voltagem)	5P2

FYP: ethyl 8-fluoro- 5,6-dihydro- 5-methyl- 6-oxo- 4H- imidazo [1,5-a] [1,4] benzodiazepine- 3-carboxylate; DNQ: 6,7-dinitroquinoxaline-2,3-dione; TGI: (3R)-1-[4,4-bis(3-methylthiophen-2-yl)but-3-en-1-yl]piperidine-3-carboxylic acid; 5DZ: 5-[(2R)-2-amino-2-carboxyethyl]-1-(4-fluorophenyl)-1H-pyrazole-3-carboxylic acid; 5P2: 3-cyano-4-[2-[2-(1-ethylazetidin-3-yl)pyrazol-3-yl]-4-(trifluoromethyl)phenoxy]~{N}-(1,2,4-thiadiazol-5-yl)benzenesulfonamide

4.1.2. Biblioteca de compostos para a triagem virtual

Uma biblioteca contendo 87 ligantes inéditos, derivados da isatina, foi fornecida pelos nossos colaboradores do Laboratório de Síntese Orgânica Medicinal da Paraíba (LASOM-PB), a fim de identificar as moléculas com maiores afinidades frente aos alvos estudados e futuramente serem testadas experimentalmente pelos colaboradores.

Os ligantes foram planejados partindo do esqueleto comum das bases de Schiff publicadas por Emami (2021), com base em derivados de isatina e intermediários de reação disponíveis no LASOM-PB, buscando moléculas com maior lipofilicidade, tendo assim, melhor capacidade de ultrapassar a barreira hematoencefálica.

4.2. Docking Molecular

4.2.1. 1º Etapa: Validação do Docking Molecular

Para validação do *docking* molecular, realizou-se o procedimento de *redocking*, no qual é possível comparar a posição de um ligante cristalizado juntamente com a proteína, com a posição de um ligante que foi docado no sítio ativo desta mesma proteína. Esse processo foi realizado nos programas Autodock4, Autodock Vina e GOLD, com o objetivo de avaliar qual software apresentaria melhor resultado no que diz respeito ao cálculo do desvio quadrático médio, RMSD (Root mean square deviation), que representa a distância entre as posições obtidas no docking e a posição do ligante cristalográfico.

Essa etapa de *redocking* foi realizada utilizando, como referência, os ligantes das estruturas do PDB. O receptor e o ligante foram preparados no software BIOVIA Discovery Studio [50], onde foi possível separar os arquivos para realizar o *redocking*. Esse mesmo programa e o UCSF Chimera [51] também foram utilizados para visualizar, gerar as imagens de sobreposição e os mapas de interações dos ligantes docados.

No Autodock4, as moléculas foram docadas com um tamanho de caixa 50x50x50 com uma distância entre pontos de 0,375 Å, usando o algoritmo genético Lamarckiano. No Autodock Vina, utilizou-se um script com um tamanho de caixa 24x28x22 com uma distância entre pontos de 1 Å e uma exaustividade de 32. Os arquivos pdb do ligante e receptor foram transformados em arquivos pdbqt. No GOLD, o docking molecular foi realizado utilizando as 4 funções de pontuação (ChemPLP, Goldscore, Chemscore e ASP).

Após a realização do redocking, o cálculo do RMSD foi feito por meio do servidor DockRMSD [52]. Os resultados obtidos neste procedimento serviram como parâmetro para os *dockings* a serem realizados em seguida.

4.2.2. 2º Etapa: *Docking* da biblioteca de ligantes

Após a validação, foi realizado *docking* na biblioteca de ligantes inéditos. As estruturas dessas moléculas foram criadas usando o programa MarvinSketch, versão 23.9 (<http://www.chemaxon.com>). Em seguida, todas estruturas foram preparadas no programa Avogadro [53] gerando os arquivos de entrada para otimização, realizada por meio do software MOPAC [54]. O método utilizado para otimizar cada geometria molecular foi o PM6 (Parametric Model 6) [55].

Para realização da triagem por meio do *docking* nesta biblioteca de ligantes, todos os arquivos das estruturas otimizadas foram convertidos para pdbqt, utilizando o programa Open Babel [56]. Os *dockings* foram computados utilizando o Autodock Vina e GOLD, empregando os mesmos parâmetros utilizados para o *redocking*.

Todas as moléculas foram ranqueadas de acordo com sua afinidade de ligação. Em seguida os resultados foram normalizados e realizou-se uma análise em consenso, utilizando uma classificação de *rank-by-number*, que é uma maneira de combinar várias funções de pontuação na predição, calculando a média dos valores sobre todas as funções de pontuação [57].

Para realizar análises comparativas do sítio de interação, foi utilizada uma molécula de diazepam extraída do banco de dados PUBCHEM [58]. A estrutura foi preparada e otimizada utilizando o mesmo procedimento dos ligantes da biblioteca e, em seguida, docada no sítio ativo do receptor GABAA.

4.3. Avaliação das propriedades farmacocinéticas

Todas as moléculas que compunham a biblioteca de ligantes passaram por uma triagem baseada nas suas propriedades farmacocinéticas (absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade). Os parâmetros analisados foram baseados na regra de Lipinski (PM (peso molecular), logP (coeficiente de partição octanol/água), contagens de doadores/aceitadores de ligação de hidrogênio), também levando em consideração o número de ligações rotativas, TPSA (área de superfície polar topológica), absorção gastrointestinal (GI absorption), penetração da barreira hematoencefálica (BHE), glicoproteína-P (gp-P), interações com o citocromo P450.

Para essa investigação foi utilizado o servidor SwissADME para os cálculos das propriedades ADME e o Deep-PK para calcular a toxicidade [36, 42].

4.4. Simulação de Dinâmica Molecular e MM/PBSA

Simulações de Dinâmica Molecular (DM) foram realizadas utilizando as melhores poses previstas a partir da estimativa do *docking*, para os complexos com as três moléculas que apresentaram melhores resultados, para os complexos com a molécula de diazepam e para o ligante cristalográfico (flumazenil).

Para realização da simulação foi utilizado o programa Gromacs versão 2021.2 [59]. Inicialmente a estrutura da proteína (GABAA) passou por um processo de modelagem a fim de completar os resíduos faltantes, utilizando o servidor SWISS-MODEL (<http://swissmodel.expasy.org>) [60]. O SWISS-MODEL é um servidor gratuito para modelagem comparativa automatizada de estruturas tridimensionais (3D) de proteínas, permitindo construir a estrutura cuja sequência de aminoácidos é conhecida, por meio de uma busca por outras proteínas com estruturas resolvidas similares à que se quer modelar. Os resultados foram avaliados utilizando o *Molprobit* [61], cujo gráfico de Ramachandran se encontra no Anexo A, que é muito útil na validação, pois define os resíduos que se encontram nas regiões energeticamente mais favoráveis e desfavoráveis e orienta a avaliação da qualidade de modelos teóricos ou experimentais de proteínas [60, 62].

Os ligantes foram parametrizados de acordo com o campo de força GAFF2, e as suas cargas atômicas parciais foram calculadas de acordo com o método AM1-BCC, por meio do programa Antechamber, incluso no pacote Ambertools. O campo de força AMBER99SB-ILDN foi utilizado para a proteína [63].

Em seguida os complexos foram inseridos em uma caixa cúbica de 15 Å e solvatados em modelo de água TIP3P. Toda a caixa de simulação também foi minimizada usando o algoritmo integrador Steepest Descent e equilibrada em conjuntos NVT e NPT de 100000 ps a 310 K. Após a etapa de equilíbrio, foram rodados 200 ns de produção. Para avaliar o comportamento dinâmico dos complexos proteína-ligante a partir dos resultados obtidos, foram utilizadas as ferramentas de análise do pacote Gromacs para análise de RMSD (*Root Mean Square Deviation*) e RMSF (*Root Mean Square Fluctuation*). Uma clusterização foi feita utilizando o Gromacs para avaliar as poses mais representativas das trajetórias de cada complexo. O algoritmo de clusterização utilizado foi o gromos com raio de corte de 0,2 nm. Para estimar a energia livre e a energia de decomposição por resíduo dos complexos foi utilizado o programa gmx_MMPBSA [48].

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Simulação de docking molecular

Os resultados dos *redockings* são apresentados na Tabela 2. De acordo com a literatura, os valores de RMSD, que representam os desvios das posições atômicas do ligante docado em relação à pose cristalográfica, não devem ser superiores a 2,0 Å [29]. Sendo assim, baseado nos *redockings*, é possível observar que os melhores resultados para todos os sistemas estudados, em termos de RMSD, foram obtidos com o programa GOLD, exceto para o alvo GAT-1, que teve um RMSD ligeiramente mais baixo com o Autodock Vina.

Tabela 2 - Valores de RMSD dos *redockings* nos alvos moleculares estudados

	RMSD (Å)					
	Autodock	Autodock Vina	PLP	ASP	CS	GS
AMPA	5.487	0.620	0,381	0.680	1306	3.506
GABAA	5.991	1.1401	1.289	0.892	1.306	3.506
GAT-1	1.753	0,644	0.886	1.915	2.892	5.027
NMDA	0.720	0.792	0.563	0.335	0.762	0.421
VGSCs	3.592	0.739	0.512	0.550	0.619	0.977

O Vina também apresentou valores adequados de RMSD, todos abaixo da referência, enquanto o Autodock4 mostrou um valor abaixo de 2,0 Å apenas para o alvo NMDA. Tanto o Autodock4 quanto o Vina são softwares gratuitos para uso acadêmico, que podem determinar a afinidade e ligação ao ligante [64, 27]. No entanto, o Vina apresenta uma melhora significativa na predição de afinidades, por apresentar um método mais sofisticado de otimização local [33].

O GOLD é um software comercial que apresenta quatro diferentes funções de pontuação (Goldscore, Chemscore, ChemPLP, ASP). Dentre essas funções, os melhores valores de RMSD obtidos neste estudo foram com a função ChemPLP para os alvos AMPA, GAT-1 e VGSCs e a função ASP para os alvos GABAA e o NMDA.


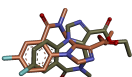
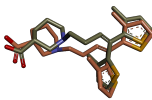
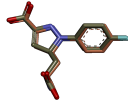
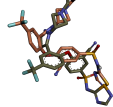
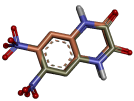
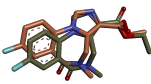
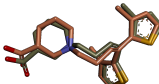
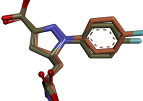
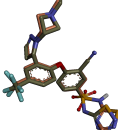
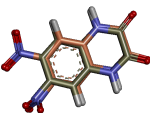
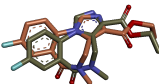
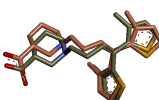
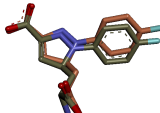
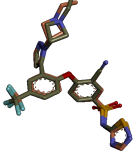
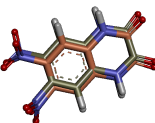

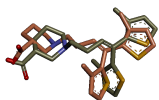
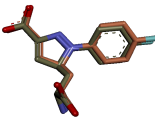
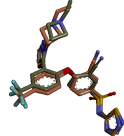
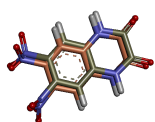
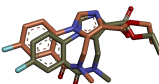
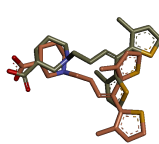
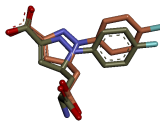

Com relação às energias de interação calculadas e os valores de função de pontuação, apresentados na Tabela 3, é possível observar que o ranqueamento dos alvos estudados é

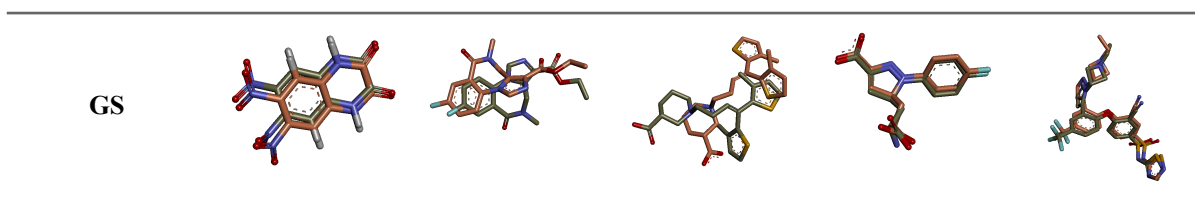
semelhante para os três programas, sendo o VGSCs o que apresentou melhor predição em ambos os programas, exceto para a função ChemScore, que teve melhor score no alvo GABAA. A sobreposição das estruturas docadas e cristalográficas para cada ligante é mostrada na Tabela 4.

Tabela 3 - Valores de energia (kcal/mol) dos *redockings* dos alvos moleculares estudados

Alvo molecular	Autodock Energia (kcal/mol)	Autodock Vina Energia (kcal/mol)	PLP (Score)	ASP (Score)	CS (Score)	GS (Score)
AMPA	-7.90	-8.9	71,18	47,44	28,54	58,06
GABAA	-7.55	-9.4	73,74	44,71	37,28	58,05
GAT-1	-8.92	-8.5	73,28	29,36	34,86	70,78
NMDA	-8.91	-8.3	91,66	37,93	36,88	87,83
VGSCs	-9.68	-11.2	116,70	67,13	36,08	114,34

Tabela 4 - Sobreposição das moléculas do *redocking*

	AMPA	GABAA	GAT-1	NMDA	VGSCs
Autodock4					
Autodock Vina					
PLP					
ASP					
CS					



Como os resultados obtidos nesta etapa de validação estão dentro do esperado, foi possível realizar o *docking* com a biblioteca de compostos derivados da isatina. Assim, os programa Autodock Vina e GOLD foram escolhidos para os *dockings* devido aos melhores valores de RMSD apresentados na etapa de *redocking*.

Dentre os alvos estudados, os melhores resultados em termos de energia foram obtidos para o GABAA e o VGSCs (todos os resultados do *docking* encontram-se nos apêndices A, B, C, D, E, e F). Os *dockings* foram realizados nestes alvos com a biblioteca de compostos e foi possível ranquear as moléculas pela energia de afinidade no Vina e o valor de *Score* para o GOLD, indicando quais alvos moleculares são possíveis mecanismos de ação para as moléculas em estudo. A Tabela 5 apresenta o ranqueamento dos valores de energia de afinidade das cinco moléculas que apresentaram os melhores valores no Vina (no apêndice A, encontram-se os valores referentes a todas as moléculas).

Tabela 5 - Energia de afinidade (kcal/mol) dos *dockings* nos alvos GABAA e VGSCs

GABAA	Energia de afinidade (kcal/mol)	Normalização	VGSCs	Energia de afinidade (kcal/mol)	Normalização
mol 56	-11,7	1,0000	mol 56	-11,3	1,0000
mol 57	-11,2	0,9573	mol 57	-11,0	0,9735
mol 59	-11,1	0,9487	mol 55	-11,0	0,9735
mol 55	-11,0	0,9402	mol 59	-10,9	0,9646
mol 60	-10,8	0,9231	mol 60	-10,9	0,9646

Observando a tabela é possível visualizar que as mesmas cinco moléculas estão no ranque de melhores resultados nos dois alvos. A mol 56 foi a que apresentou melhor predição frente aos alvos, no GABAA apresentou um valor de -11,7 kcal/mol, resultado maior do que o ligante PDB da referida proteína, que apresentou no Vina -9.4 kcal/mol, enquanto no VGSCs apontou um valor de -11,3 kcal/mol próximo ao valor de referência (-11,2 kcal/mol).

No GOLD, a função de pontuação com melhor desempenho para previsão da triagem virtual foi a ChemPLP, sendo os alvos GABAA e VGSCs destacados como possíveis mecanismos de ação para essas moléculas. A mol 56 se manteve em primeiro lugar nesse

programa, assim como no Vina, apontando valores de pontuação 89,39 para o GABAA e 89,64 para o VGSCs (os valores estão representados na Tabela 6).

Tabela 6- Valores de pontuação docking molecular com o GOLD

GABAA			VGSCs		
Moléculas	Score PLP	Normalização	Moléculas	Score PLP	Normalização
mol 56	89,39	1,0000	mol 56	89,64	1,0000
mol 57	88,78	0,9968	mol 57	89,35	0,9968
mol 55	85,92	0,9847	mol 66	88,27	0,9847
mol 58	80,53	0,9809	mol 65	87,93	0,9809
mol 33	80,11	0,9597	mol 60	86,03	0,9597

Embora as moléculas tenham mostrado bom desempenho contra os alvos GABAA e VGSCs, as análises seguintes serão focadas nas interações dessas moléculas com o receptor GABAA. Este receptor é mais bem caracterizado na literatura, o que permite uma comparação mais direta e robusta com estudos anteriores. Assim, pode-se validar os resultados de forma mais eficaz e contextualizar as novas descobertas dentro do conhecimento existente.

A triagem avalia a capacidade dos programas de identificar ligantes e verificar a concordância entre afinidades experimentais e previstas por docking. Uma grande variedade de programas de docking estão disponíveis atualmente, que diferem nos algoritmos e abordagens usadas para prever o modo de ligação e a afinidade do ligante. Dessa forma, normalizar os resultados permite compará-los de maneira significativa, apresentando uma maior confiabilidade principalmente quando se utilizam diferentes ferramentas de docking ou diferentes parâmetros dentro da mesma ferramenta.

Então, a partir dos resultados do docking foi realizada uma análise em consenso, utilizando o método *rank by number*. Esse método possibilita obter uma média das pontuações para cada alvo e identificar as moléculas com maior probabilidade de interação. Especificamente para o receptor GABAA, a média das pontuações obtidas em diferentes funções *scores* utilizadas no *docking* (Vina, Goldscore, Chemscore, ChemPLP, ASP) são identificadas na Tabela 7.

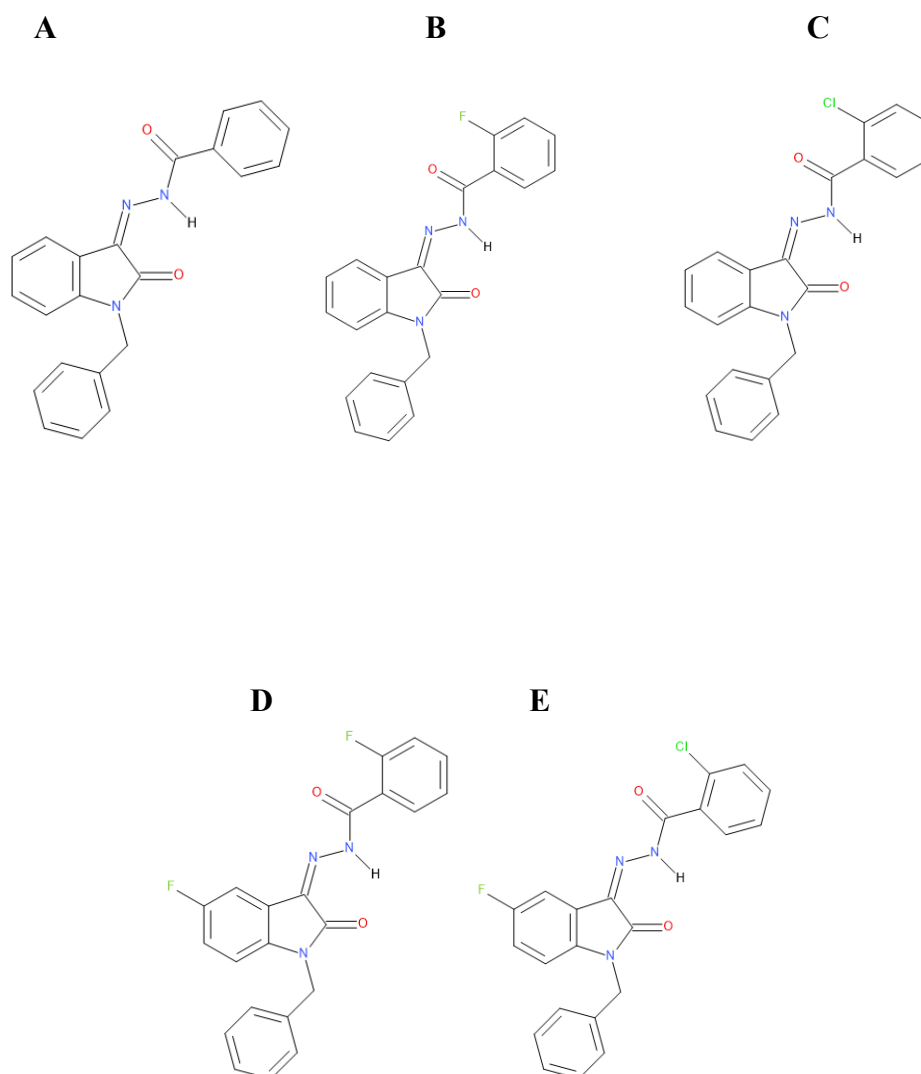
Tabela 7 - Análise em consenso pelo método *rank by number*

Moléculas	Média do consenso
mol 57	0,9749

mol 56	0,9713
mol 55	0,9442
mol 59	0,9256
mol 60	0,9254

As moléculas que apresentaram melhores desempenhos estão representadas na figura 5. A mol59 e a mol60 possuem um substituinte flúor no anel aromático, apresentam espaçadores N-Acil hidrazona e diferem quanto ao grupo substituinte do anel aromático, sendo fluorado (mol56 e mol59) e clorado (mol57).

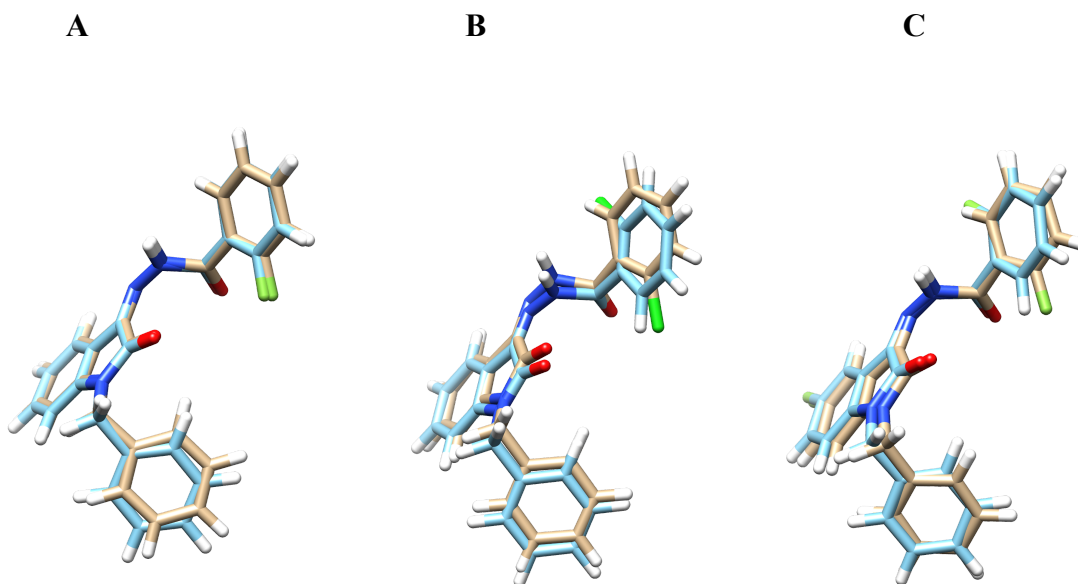
Figura 5 - Representação das estruturas em 2D das 5 moléculas com melhor desempenho no GABAA. (A) mol55, (B) mol56, (C) mol57, (D) mol59 e (E) mol60.



Fonte: Autoria própria.

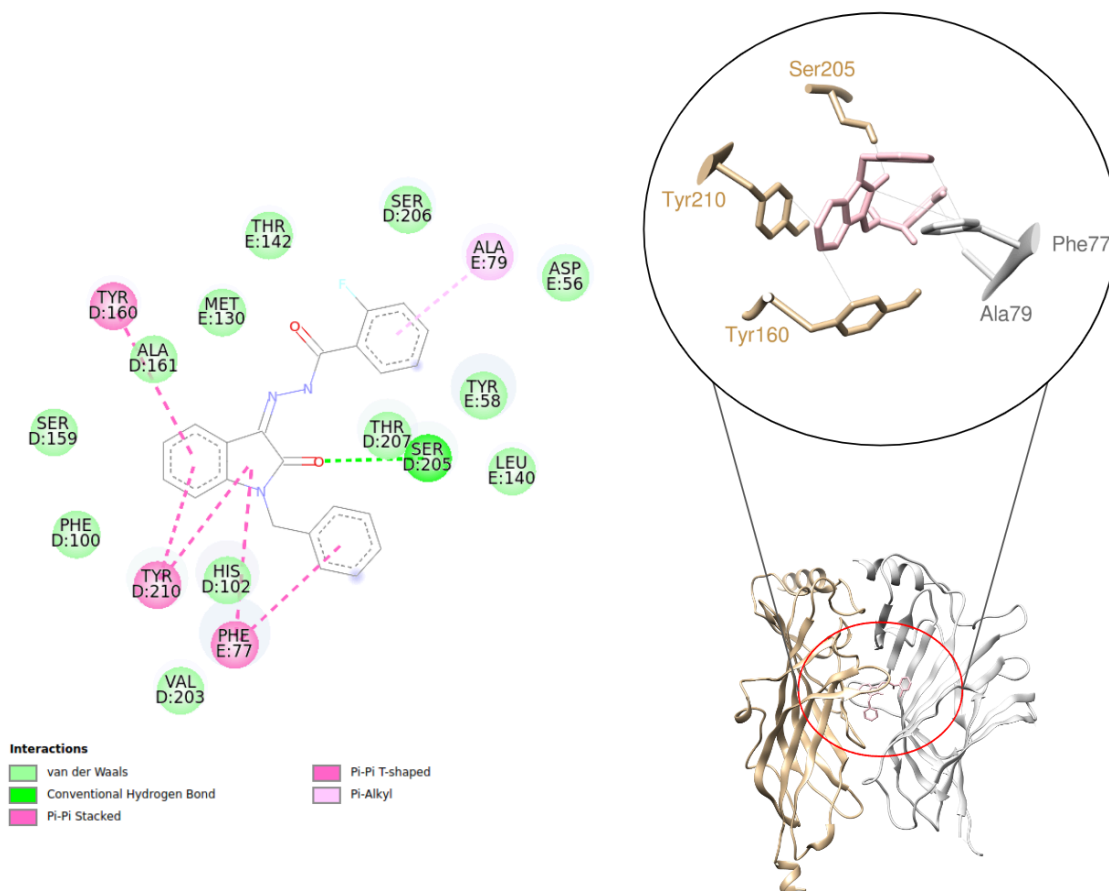
As conformações geradas pelos programas GOLD e Vina são bastante semelhantes, como pode ser observado na sobreposição das estruturas das moléculas melhor pontuadas, mostradas na Figura 6. Assim, as análises subsequentes foram realizadas com os complexos proteína-ligante gerados pelo Vina.

Figura 6 - Sobreposição das moléculas docadas no Vina (azul) e GOLD (bege). (A) mol56, (B) mol57 e (C) mol59



As três moléculas apresentam bastante semelhança nas interações devido à similaridade nas estruturas, de acordo com os *dockings*, como representado nas figuras 7, 8 e 9. A mol56 faz ligação de hidrogênio com o resíduo Ser205, pi-pi stacking com os resíduos Tyr160, Tyr210, Phe77. pi alquil com o resíduo Ala79 e interações de Van der Waals com os resíduos Phe100, His102, Ser159, Ala161, Met130, Thr142, Ser206, Asp56, Tyr58, Thr207, Leu140, Val203.

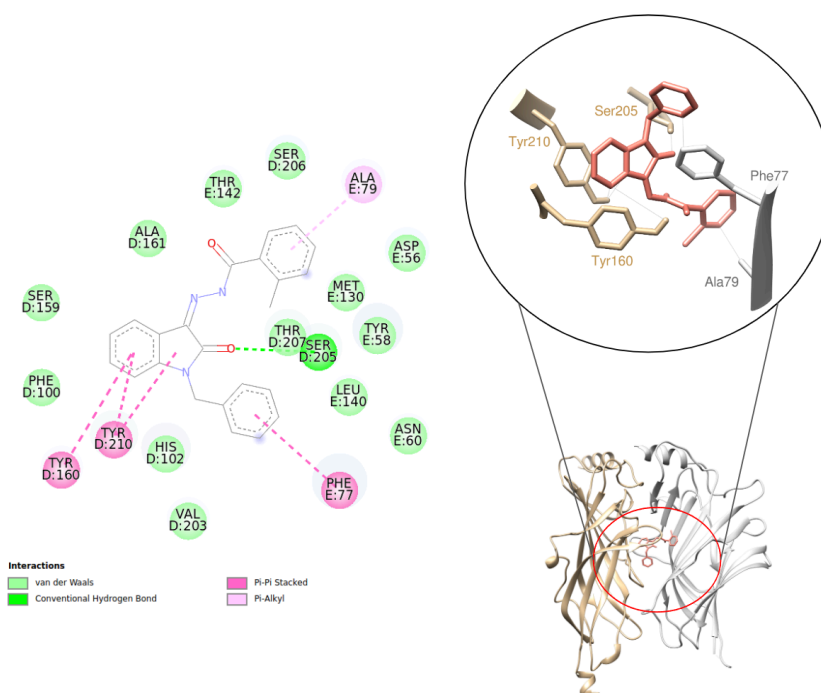
Figura 7 - Mapa de interação 2D para a mol 56



Fonte: Autoria própria.

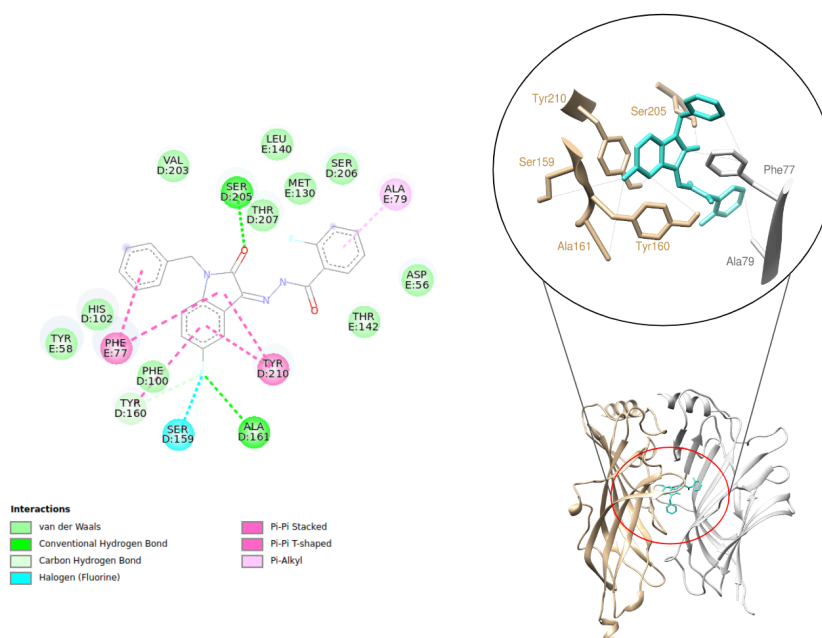
Para a mol57, é possível visualizar uma ligação de hidrogênio com a Ser205, interação pi-pi stacking com os resíduos Tyr160, Tyr210, Phe77, pi alkyl com o resíduo Ala79 e interações de Van der Waals com os resíduos Phe100, His102, Val203, Asn60, Leu140, Tyr58, Thr207, Met130, Asp56, Ser206, Thr142, Ala161, Ser159. A mol59 também apresenta ligação de hidrogênio com a Ser205 e com a Ala161, ligação pi-pi stacked com a Tyr210, Phe77, interação pi alkyl com a Ala79, ligação carbono hidrogênio com Tyr160, interação do halogênio da estrutura com a Ser159 e interações de Van der Waals com Phe100, His102, Tyr58, Val203, Thr207, Leu140, Met130, Ser206, Asp56, Thr142.

Figura 8 - Mapa de interação 2D para a mol 57



Fonte: Autoria própria.

Figura 9- Mapa de interação 2D para a mol 59

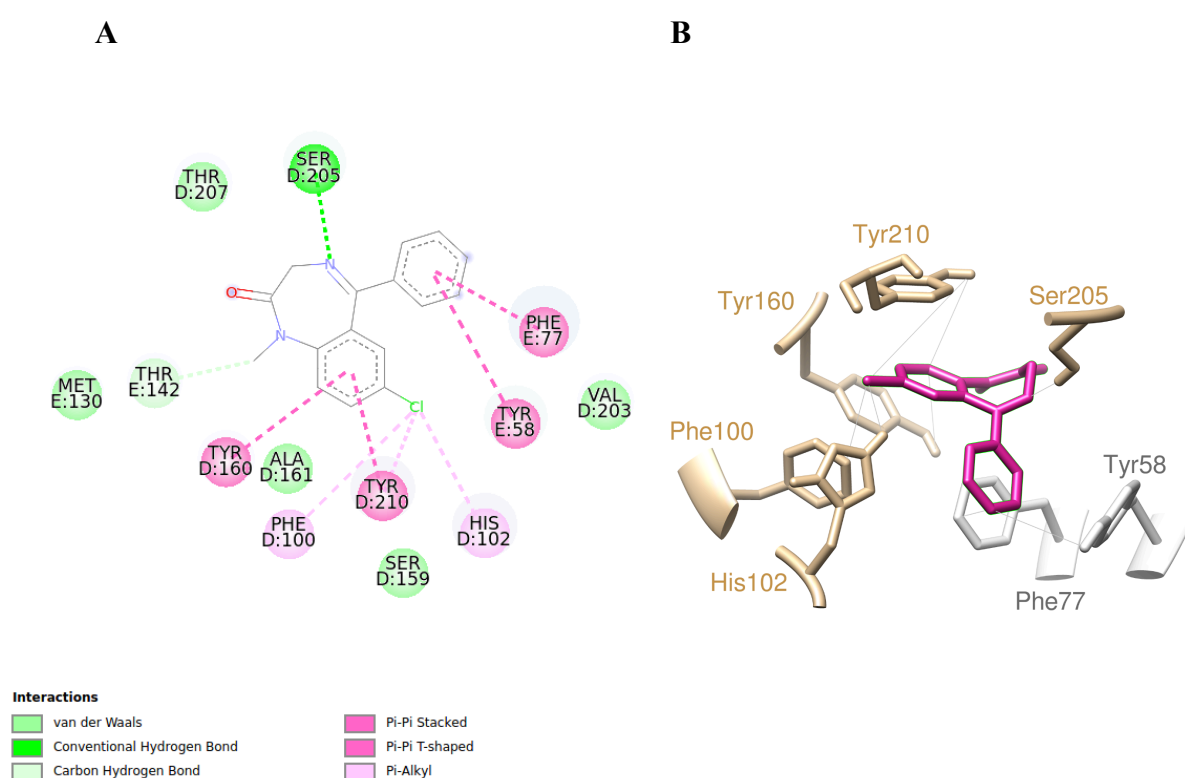


Fonte: Autoria própria.

Com esses resultados é possível identificar alguns resíduos que se fazem presentes nas interações das três moléculas com o receptor GABAA. Essas interações foram comparadas com o medicamento de controle, diazepam. O diazepam foi docado no sítio ativo da proteína

e apresentou uma afinidade de ligação de -9,7 kcal/mol, apresentando ligação de hidrogênio com a Ser205, ligação carbono-hidrogênio com Thr142, interações pi pi stacked e pi pi T-shaped com os resíduos Tyr160, Tyr210, Phe77, Tyr58, interações do tipo pi-alkil com Phe100, His102. E por fim, interações de van der Waals com os resíduos Thr207, Val203, Ser159, Ala161 e Met130, como mostrado na Figura 10.

Figura 10 - Representação A) do mapa de interação 2D do diazepam docado, B) interações no sítio da proteína.



Fonte: Autoria própria

Comparando as interações das moléculas da biblioteca com as interações do diazepam, é possível observar que elas também apresentam a ligação de hidrogênio com a Ser205 e interações pi-pi stacking com os resíduos Tyr160, Tyr210, Phe77. Na literatura, o sítio ativo do diazepam apresenta interações com os resíduos, Tyr160, Phe100, His102, Tyr210, Thr207, Ser205, Ser206, Phe77, Tyr58, Thr142, Ala79 [17].

Em seus estudos, Emami et al. (2021) também encontraram ligação de hidrogênio com a Ser205, interações do tipo pi-pi stacking e pi alkyl com os resíduos Tyr160, Tyr210, Phe77,

podendo assim ser considerados os resíduos mais críticos dessas interações, atuando na modulação da atividade do receptor [21].

5.2. Propriedades Farmacocinéticas

Todas as moléculas que fazem parte da biblioteca de ligantes foram analisadas de acordo com as regras Lipinski e não apresentaram violação. Na Tabela 8 são apresentados os valores referentes às três moléculas melhor pontuadas (mol56, mol57, mol59).

Tabela 8 - Resultados regras de Lipinski

Parâmetros	PM ^a (g/mol)	nALH ^b	DLH ^c	LogP ^d	Nº Ligações Rotacionáveis	Violação RO5
mol 56	373,38	4	1	3,59	5	0
mol 57	389.83	3	1	3,70	5	0
mol 59	391,37	5	1	3,99	5	0

^a Peso molecular;

^b Número de aceptores de ligação de hidrogênio;

^c Doadores de ligação de hidrogênio;

^d Coeficiente de partição, consenso das cinco predições, LogP_{o/w}(iLOGP), LogP_{o/w}(XLOGP3), LogP_{o/w}(WLOGP), LogP_{o/w}(MLOGP), LogP_{o/w}(SILICOS-IT).

Os medicamentos para o SNC apresentam valores de peso molecular, lipofilicidade e doador/aceptor de ligações de hidrogênio que, em geral, exibem uma faixa menor que a terapêutica geral. Foram observados valores de PM entre 373,38 - 391,37, estando de acordo com a estimativa (≤ 400) para moléculas que atuam no SNC [39].

Com base nos resultados da tabela, o número de aceptores de ligação de hidrogênio está na faixa de 3 a 5 e de doadores de ligações de hidrogênio igual a 1. De modo que todos os resultados desses parâmetros estão na faixa apropriada para compostos ativos no SNC (Aceitador de ligação de hidrogênio ≤ 7 e Doador de ligação de hidrogênio ≤ 3) [39].

A lipofilicidade é um dos mais importantes descritores para a penetração de compostos no SNC, pois, com o aumento da lipofilicidade aumenta a penetração no cérebro. As moléculas apresentaram valores de Log P entre 3,59 - 3,99, estando dentro da faixa aceitável ($\text{Log P} \leq 5$). Alguns estudos indicam que os medicamentos comercializados para o SNC têm o valor médio do log P igual a 2,5, considerado um valor de log P moderado [39].

As características físico-químicas fundamentais dos medicamentos para o SNC estão relacionadas à sua capacidade de penetrar na afinidade da barreira hematoencefálica e exibir

atividade no SNC. Como pode ser observado na Tabela 9, Todas moléculas apresentaram baixos valores de TPSA, indicando a possibilidade atravessam mais facilmente a barreira lipídica da barreira hematoencefálica (BHE). Estudos mostram que substâncias com TPSA abaixo de 90 \AA^2 têm maior probabilidade de atingir o sistema nervoso central. Todas as moléculas apresentaram penetração da BHE, alta absorção gastrointestinal e não são substratos da glicoproteína P(gp-P). A importância da gp-P está na sua capacidade de limitar a entrada de um grande número de medicamentos prescritos no SNC, contribuindo para a baixa taxa de sucesso dos candidatos a medicamentos para o SNC. Dessa forma, todos os resultados estão na faixa apropriada para compostos ativos no SNC [40].

Tabela 9 - Resultados barreira hematoencefálica, glicoproteína P, interações do citocromo P450

Parâmetros	mol56	mol57	mol59
TPSA \AA^2 ^a	61,77	61,77	61,77
BHE	Sim	Sim	Sim
AGI	Alta	Alta	Alta
gp-P	Não	Não	Não
CYP1A2	Sim	Sim	Sim
CYP2C19	Sim	Sim	Sim
CYP2C9	Sim	Sim	Sim
CYP2D6	Não	Não	Não
CYP3A4	Não	Não	Não

^a Área de superfície polar topológica

Outras propriedades observadas foram interações com o citocromo P450, que desempenham um papel importante na eliminação de fármacos por meio da biotransformação metabólica [15]. De acordo com os resultados da Tabela 9, pode-se esperar que as moléculas sejam inibidores das enzimas CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9 e não inibidores das enzimas CYP2D6 e CYP3A4. A literatura afirma que, para que o medicamento seja bem sucedido no SNC não deve ter metabolismo significativo do CYP2D6 e ser um indutor não potente do CYP3A4. O CYP3A4 e o CYP2D6 são de grande interesse devido à sua alta probabilidade de estarem envolvidos no metabolismo de muitos medicamentos coadministrados. Um composto

que inibe fortemente uma dessas duas enzimas tem uma boa chance de inibir o metabolismo de medicamentos coadministrados [39].

Todas as três moléculas foram analisadas quanto aos parâmetros de toxicidade observando os testes de AMES, hepatotoxicidade e hERG. Os resultados mostrados na Tabela 10 evidenciam que todas as três moléculas apontam segurança quanto ao teste de AMES, com alta confiança, sendo assim não apresentam potencial carcinogênico. A hepatotoxicidade é uma grande preocupação durante o desenvolvimento de novos medicamentos, pelo fato do fígado ser o primeiro órgão a ser afetado por toxicidades. Todas as moléculas apresentaram ser tóxicas, nesse parâmetro. Em relação ao bloqueio do hERG, as moléculas mostraram ser seguras, ou seja, não exercem uma inibição significativa sobre esse canal de potássio, isso implica que o composto tem um baixo potencial para prolongar o intervalo QT no eletrocardiograma e, portanto, é menos provável que cause arritmias cardíacas [41, 42].

Tabela 10 - Resultados de toxicidade utilizando o Deep-PK

Parâmetros	AMES	Hepatotoxicidade	bloqueadores hERG
mol56	Seguro (Alta confiança)	Tóxico (Confiança Média)	Seguro (Alta confiança)
mol57	Seguro (Alta confiança)	Tóxico (Confiança Média)	Seguro (Alta confiança)
mol59	Seguro (Alta confiança)	Tóxico (Alta confiança)	Seguro (Alta confiança)

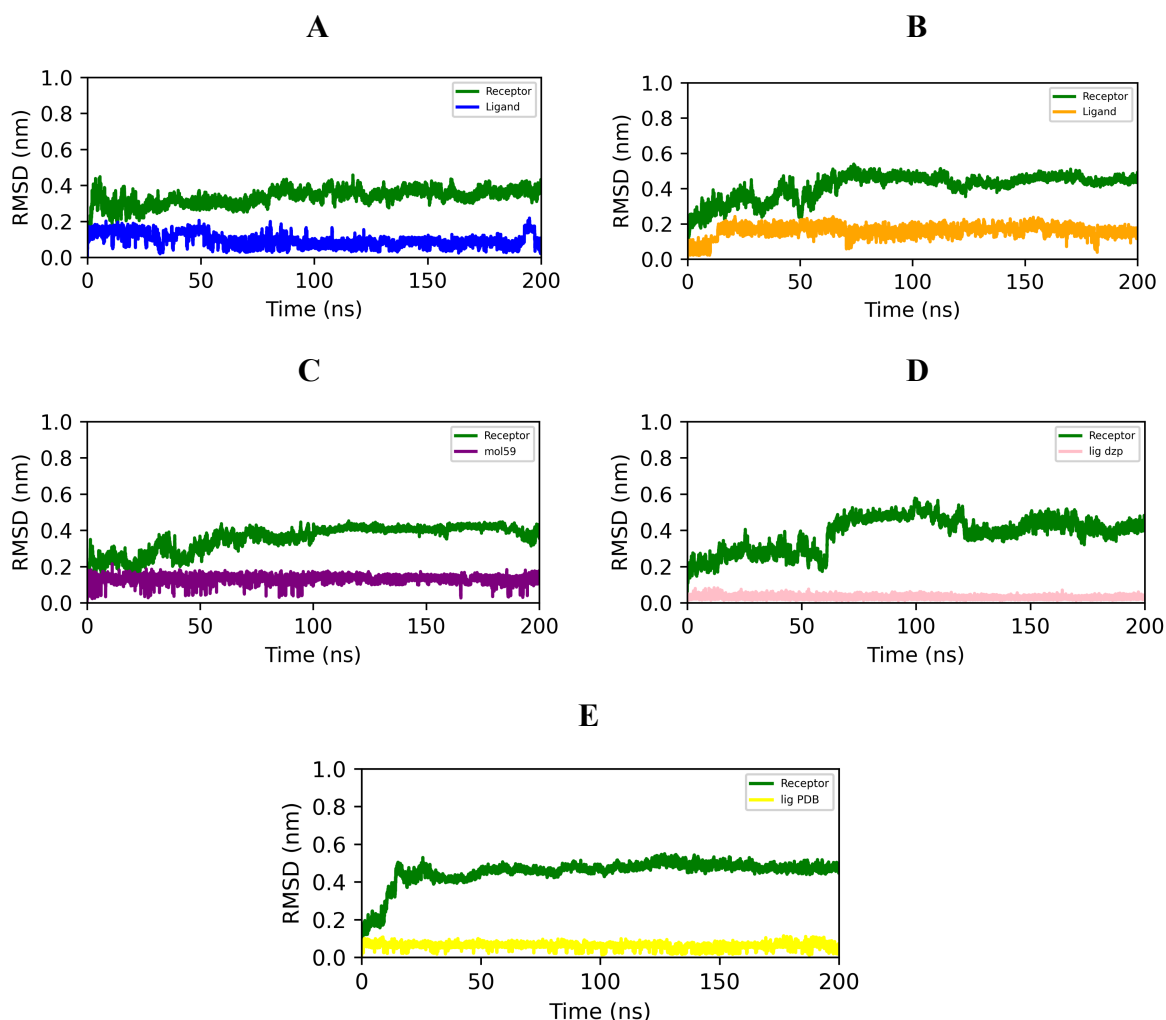
5.3. Simulação de Dinâmica Molecular e MM/PBSA

As três moléculas que apresentaram melhores predições de *docking* no receptor GABAA, o ligante cristalográfico e a molécula de diazepam foram submetidas a uma simulação de dinâmica molecular. Utilizando o Gromacs, foi conduzida uma simulação de produção de 200 ns para cada complexo a fim de avaliar sua estabilidade.

Por meio da análise do desvio quadrático médio (RMSD) das trajetórias, é possível identificar a estabilidade conformacional dos ligantes dentro da região ativa da proteína. A partir dos gráficos apresentados na Figura 11, é possível observar que os ligantes apresentaram uma boa estabilidade com poucos desvios, apresentando um RMSD médio em torno de aproximadamente 0.2 nm (2 Å). O ligante mol56, que teve um bom desempenho nos

estudos de docking, apresentou uma boa estabilidade estrutural durante a simulação de DM, com pequenas oscilações, mas mantendo um RMSD de aproximadamente 2Å. O ligante mol57 também apresentou uma estabilidade e manteve seu RMSD próximo 2Å (0,2nm). A mol59 que ficou em terceiro lugar nos estudos de *docking*, também exibiu um padrão estável durante toda trajetória, apresentando um RMSD menor do que 2Å (0,2nm). Enquanto a molécula de diazepam e o ligante cristalográfico apresentaram valores de RMSD menores que 1Å (0,1nm).

Figura 11 - RMSD do GABAA complexado com A) mol56, B) mol57, C) mol59, D) molécula de diazepam, E) ligante cristalográfico.



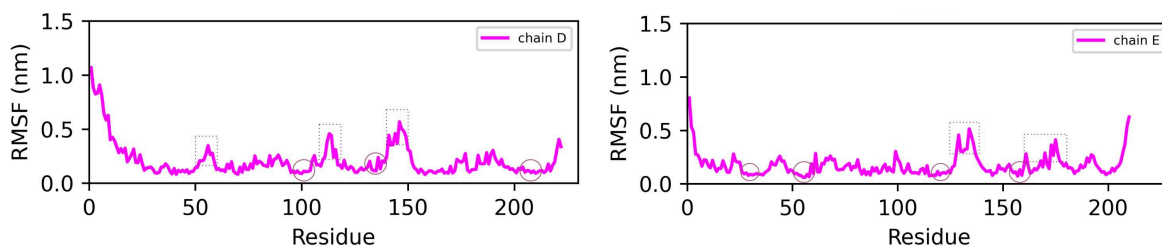
O gráfico do backbone da proteína para o complexo com o ligante cristalográfico apresentou, a partir de 15 ns, valores de RMSD entre 4 e 5 Å. O backbone para o complexo com diazepam apresentou baixos desvios no início da trajetória e a partir de 60 ns o RMSD variou entre 4 e 6 Å. Já para os complexos com as moléculas da biblioteca, o backbone teve

um desvio entre 2 e 4 Å para a mol56, para o complexo da mol57 RMSD abaixo de 6 Å durante toda trajetória e para a mol59 valores de RMSD inicialmente baixo e a partir de 40ns variando até próximo a 5 Å.

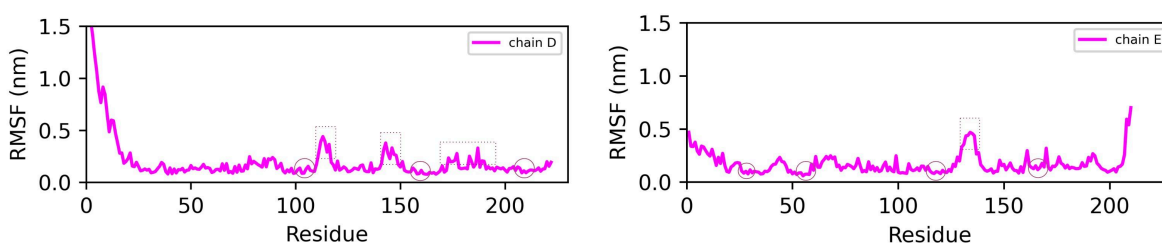
Apenas os resultados do RMSD não possibilitam avaliar a contribuição de determinadas regiões da proteína para a estabilidade estrutural, por exemplo, o sítio de ligação do substrato. Desta forma, a flutuação dos átomos de cada resíduo pode auxiliar na compreensão da estabilização da estrutura com foco na região do sítio ativo bem como auxiliar na proposição de um modo de interação. Para isso, foram gerados os gráficos de RMSF, representados na Figura 12, para visualizar e comparar as flutuações dos resíduos durante a DM.

Figura 12 - RMSF das cadeias D e E da A) mol 56, B) mol57, C) mol59, D) diazepam e E) ligante PDB.

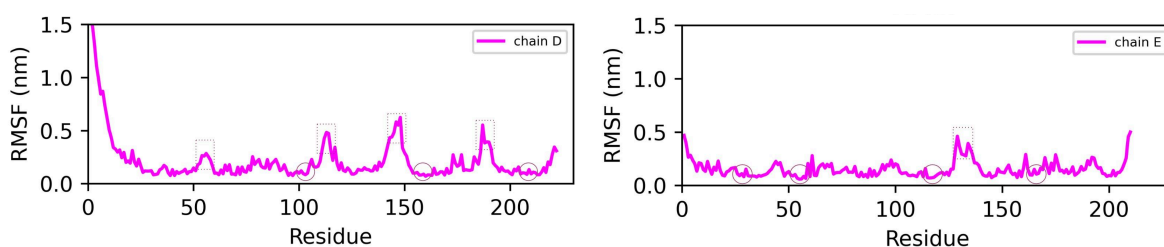
A



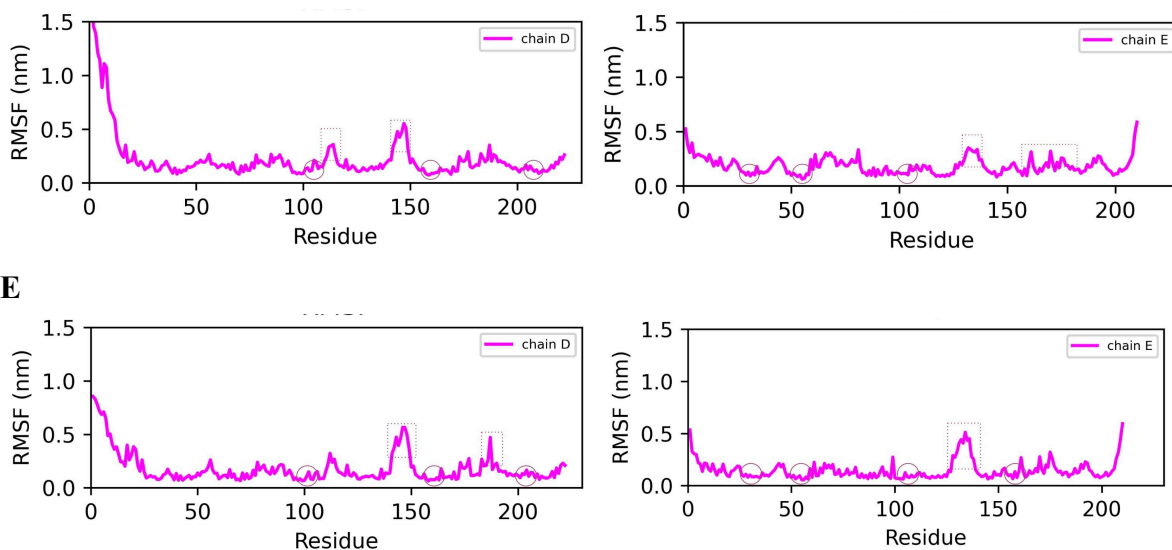
B



C



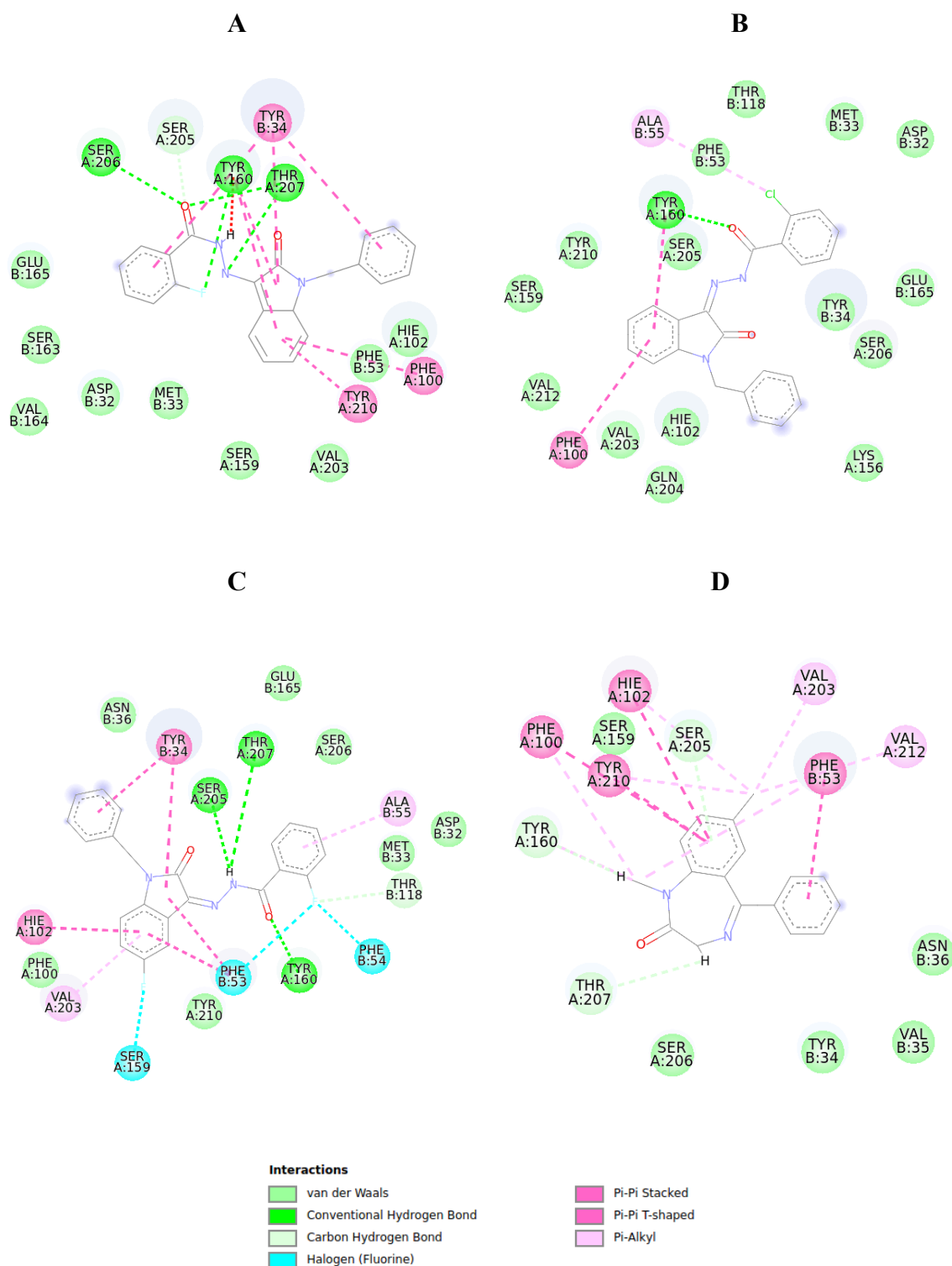
D



As regiões com maiores flutuações atômicas estão identificadas com retângulos pontilhados e representam as regiões de alças (*loops*). Essas regiões são conhecidas por sua alta flexibilidade conformacional, por isso tendem a apresentar os maiores valores de flutuação. Já os círculos nos gráficos estão representando o sítio ativo da proteína e possuem flutuações muito pequenas.

Após essa etapa de dinâmica foi realizada uma clusterização, onde foi escolhido o cluster mais representativo de cada complexo. Para o primeiro sistema, referente a mol56, foram encontrados 31 clusters, onde o cluster mais populoso continha 4301 frames. Para o complexo com a mol57 também foram encontrados 31 clusters, sendo o mais populoso com 6572 frames. Já para a mol59 33 foram encontrados e o mais populoso continha 5882 representações. Enquanto que para a molécula de diazepam, 68 clusters foram encontrados, com o mais populoso contendo 2504. Para análise foi gerado um mapa de interação para o cluster mais representativo de cada sistema e as interações foram comparadas com as encontradas na etapa de *docking* molecular.

Figura 13 - Clusters mais populosos de cada sistema A) mol56, B) mol57, C) mol59 e D) diazepam



As possíveis interações dos clusters mais representativos com os ligantes são apresentadas pela Figura 13. É possível observar a mol56 fazendo interações, do tipo pi pi

stacked com os resíduos Tyr210, Phe100, Tyr34, ligação de hidrogênio com Tyr160, Thr207 e Ser206 e com os demais resíduos apresentaram interações de van der Waals. A mol57 apresentou interação pi pi stacked com Phe100, pi alquil com Ala55 e de hidrogênio com Tyr160. A mol59 apresentou interações com a Tyr34 e Hie102 do tipo pi pi stacked, pi alquil com Ala55, ligação de hidrogênio com os resíduos Tyr160, Ser205 e Thr207, algumas interações de halogênio e as demais de Van der Waals. A molécula de diazepam apresentou interações de do tipo pi pi stacked com Tyr210, Phe100, Hie102, Phe53, do tipo pi alquil com Val203, Val212 e de carbono hidrogênio com Tyr160, Thr207 e Ser205.

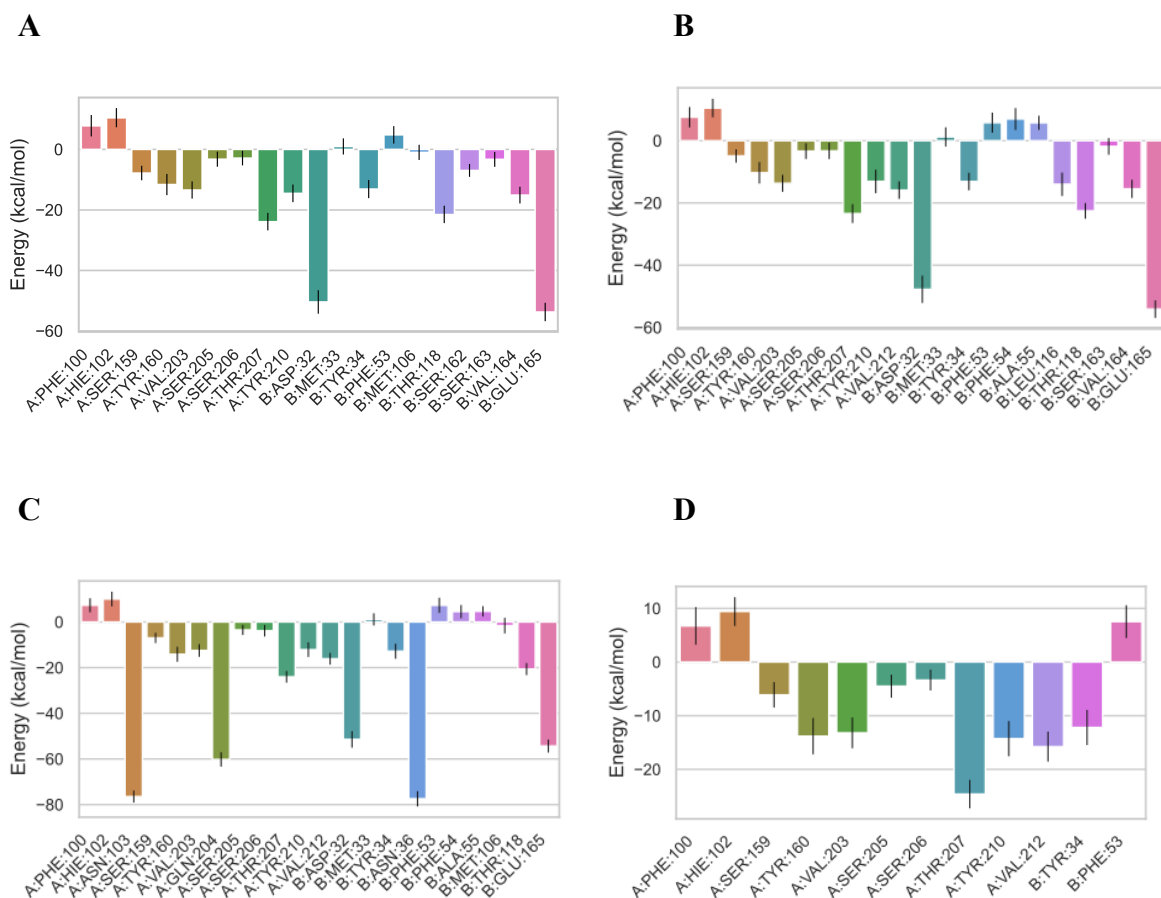
As trajetórias obtidas a partir das simulações de DM foram utilizadas para análise do MM/PBSA (Mecânica Molecular/Área de Superfície de Poisson-Boltzmann). Empregando a ferramenta gmx_MMPBSA, e o método MM/PBSA com o objetivo de calcular a energia livre de ligação dos complexos simulados. Na tabela 11, os valores de ΔG (energia livre de ligação) com seus respectivos desvios padrões são apresentados.

Tabela 11 - Resultados do cálculo do MM/PBSA

	mol56	mol57	mol59	DZP
ΔVDW (kcal/mol)	-45.22 +/- 3.52	-46.44 +/- 3.23	-48.33 +/- 2.88	-38.36 +/- 2.72
ΔEEL (kcal/mol)	-17.32 +/- 4.21	-17.07 +/- 6.77	-24.49 +/- 4.23	-6.16 +/- 2.83
ΔG_{gas} (kcal/mol)	-62.54 +/- 5.42	-63.51 +/- 7.95	-72.82 +/- 4.86	-44.52 +/- 4.38
ΔG_{solv} (kcal/mol)	42.17 +/- 4.26	37.33 +/- 5.85	42.23 +/- 4.18	23.08 +/- 3.04
ΔG_{total} (kcal/mol)	-20.37 +/- 3.36	-26.18 +/- 4.27	-30.59 +/- 3.23	-21.45 +/- 2.78

É possível visualizar que o ΔG_{total} calculado para os sistemas mostram uma interação favorável entre a proteína e o ligante, pois apresentam níveis de energias melhores que o ligante de referência (diazepam), exceto a mol56 que apresentou um valor maior. A mol59 foi a que apresentou o menor valor, de aproximadamente -30.59 kcal/mol, enquanto o diazepam apresentou um valor de -21.45 kcal/mol. Esse valor de ΔG_{total} é decomposto no ΔG_{gas} , que incluem as contribuições de van der Waals e eletrostática descritas na tabela, e ΔG_{solv} , a energia de solvatação, sendo para todos os complexos a contribuição mais significativa é da energia de van der Waals. Um valor menor de energia de van der waals implica que a molécula está envolvida em interações fortes com o receptor [65].

Figura 14 - Decomposição da energia por resíduos A) mol56, B) mol57, C) mol59 e D) Diazepam.



Fonte: Autoria própria.

Foi realizado o cálculo da decomposição de energia por resíduos para os sistemas estudados, como está representado na figura 14. Os resíduos Thr207, Tyr210, Tyr160, Val203, Tyr34, Ser159, Ser205, Ser206, são encontrados na molécula de referência (diazepam) com as contribuições mais significativas e também mostram contribuição para todas as moléculas em estudo. Entretanto essas moléculas apresentaram interações com outros resíduos que não constam no diazepam. Na mol56, os resíduos Glu165 (-53,77 kcal/mol), Asp32 (-50,44 kcal/mol) apresentaram contribuições mais significativas. Para mol57, as maiores contribuições também foram da Glu165 (-54,13 kcal/mol), Asp32 (-47,76 kcal/mol). Na mol59, os resíduos que mais contribuíram foram Asn36 (-77,44 kcal/mol), Asn103 (-73,46 kcal/mol), Glu204 (-60,21 kcal/mol), Glu165(-54,35 kcal/mol) e Asp32 (-51,42 kcal/mol). Para o diazepam, os resíduos mais importantes foram Thr207 (-24,61 kcal/mol), Val212 (-15,76 kcal/mol), Tyr210 (-14,29 kcal/mol), Tyr160 (-13,82 kcal/mol) e Val203 (-13,21 kcal/mol).

6. CONCLUSÕES

A triagem virtual realizada na biblioteca de moléculas derivadas da isatina sugeriu que a ligação ao receptor GABAA pode ser um possível mecanismo de ação para estes compostos. Três moléculas (mol56, mol57 e mol59) foram analisadas e comparadas com o diazepam (medicamento de controle) e apresentaram interações com resíduos semelhantes, podendo ser considerados os resíduos críticos para essa atividade.

Passando pela avaliação farmacocinética, a análise das propriedades ADMET, nenhuma das moléculas violou as regras de Lipinski. Os parâmetros que estão relacionados com medicamentos que atuam no sistema nervoso central foram favoráveis, como por exemplo a barreira hematoencefálica, entretanto nos estudos de toxicidade as moléculas se mostraram possivelmente tóxicas nos parâmetros de hepatotoxicidade, o que pode sugerir a necessidade de modificações estruturais com o intuito de melhorar seu perfil farmacocinético.

As três moléculas que apresentaram maior afinidade pelo receptor foram selecionadas para a realização de simulações de dinâmica molecular, tendo demonstrado um perfil de estabilidade estrutural das interações dos ligantes com o sítio ativo do GABAA, as moléculas mostraram um perfil estável nesta etapa. Posteriormente, foi realizado o cálculo de energia livre (MM/PBSA) para compreender a afinidade entre o ligante e o receptor, que é um fator fundamental em estudos de interação molecular e todas as três moléculas apresentaram resultados favoráveis, especialmente a mol57 e mol59 quando comparadas ao diazepam.

As moléculas identificadas neste estudo como apresentando as maiores afinidades foram encaminhadas para a realização de testes in vivo por nossos colaboradores Laboratório de Farmacologia e Bioquímica Experimental, do Departamento de Biologia Molecular da Universidade Federal da Paraíba.

REFERÊNCIAS

- [1] RAOA, Raksha K. et al. Techniques and algorithms for Structure-based Virtual Screening (SBVS): An overview. **Indian Drugs**, v. 61, n. 01, p. 7-17, 2024. DOI: 10.53879/id.61.01.13346
- [2] SILVA ROCHA, Sheisi FL et al. Virtual screening techniques in drug discovery: review and recent applications. **Current topics in medicinal chemistry**, v. 19, n. 19, p. 1751-1767, 2019. Doi: 10.2174/1568026619666190816101948
- [3] SANT'ANNA, Carlos Mauricio R. Glossário de termos usados no planejamento de fármacos (recomendações da IUPAC para 1997). **Química Nova**, v. 25, p. 505-512, 2002. DOI: 10.21577/0100-4042.20170210
- [4] NICOLAOU, Kyriacos Costa. Advancing the drug discovery and development process. **Angewandte Chemie**, v. 126, n. 35, p. 9280-9292, 2014. DOI: 10.1002/ange.201404761
- [5] BIALER, Meir. Chemical properties of antiepileptic drugs (AEDs). **Advanced drug delivery reviews**, v. 64, n. 10, p. 887-895, 2012. DOI: 10.1016/j.addr.2011.11.006
- [6] THIJS, Roland D. et al. Epilepsy in adults. **The lancet**, v. 393, n. 10172, p. 689-701, 2019. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)32596-0
- [7] FERNANDES, Maria José da Silva. Epilepsia do lobo temporal: mecanismos e perspectivas. **Estudos avançados**, v. 27, p. 85-98, 2013. DOI: 10.1590/S0103-40142013000100007
- [8] REKTOR, Ivan et al. Epilepsy, behavior, and art (Epilepsy, Brain, and Mind, part 1). **Epilepsy & Behavior**, v. 28, n. 2, p. 261-282, 2013. DOI: 10.1016/j.yebeh.2013.03.011
- [9] WHO - World Health Organization. Epilepsy. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/epilepsy>. Acesso em: 16 fev. 2024.
- [10] FISHER, Robert S. et al. ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. **Epilepsia**, v. 55, n. 4, p. 475-482, 2014. DOI: 10.1111/epi.12550
- [11] SCHEFFER, Ingrid E. et al. ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. **Epilepsia**, v. 58, n. 4, p. 512-521, 2017. DOI: 10.1111/epi.13709
- [12] COSTA, L. L. DE O.; BRANDÃO, E. C.; SEGUNDO, L. M. DE B. M. Atualização em epilepsia: revisão de literatura. **Revista de Medicina**, v. 99, n. 2, p. 170-181, 24 abr. 2020
- [13] ROGAWSKI, Michael A. Antiseizure drugs. **Basic & Clinical Pharmacology**. 15th Edition McGrawHill, Duluth, MN, p. 422-455, 2021.
- [14] SIERRA-PAREDES, German; SIERRA-MARCUÑO, Germán. Extrasynaptic GABA and glutamate receptors in epilepsy. **CNS & Neurological Disorders-Drug Targets** (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders), v. 6, n. 4, p. 288-300, 2007.

DOI: 10.2174/187152707781387251

[15] GOLAN, David E. et al. **Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014. 952 p.

[16] ROGAWSKI, Michael A.; LÖSCHER, Wolfgang; RHO, Jong M. Mechanisms of action of antiseizure drugs and the ketogenic diet. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, v. 6, n. 5, p. a022780, 2016. DOI: 10.1101/cshperspect.a022780

[17] ZHU, Shaotong et al. Structure of a human synaptic GABAA receptor. **Nature**, v. 559, n. 7712, p. 67-72, 2018. DOI: 10.1038/s41586-018-0255-3

[18] KIM, Jeong Joo; HIBBS, Ryan E. Direct structural insights into GABAA receptor pharmacology. **Trends in biochemical sciences**, v. 46, n. 6, p. 502-517, 2021. DOI: 10.1016/j.tibs.2021.01.011

[19] MARTINS, Ronald Sodre. **Avaliação in silico da interação entre o receptor GABAA e metalocompostos derivados de benzodiazepínicos**. 2019. 124f. Dissertação (Mestrado em biologia computacional e sistemas) - Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2019.

[20] PAKRAVAN, Parvaneh et al. Biochemical and pharmacological characterization of isatin and its derivatives: from structure to activity. **Pharmacological Reports**, v. 65, n. 2, p. 313-335, 2013. DOI:10.1016/S1734-1140(13)71007-7

[21] EMAMI, Saeed et al. Synthesis, in silico, in vitro and in vivo evaluations of isatin aroylhydrazones as highly potent anticonvulsant agents. **Bioorganic Chemistry**, v. 112, p. 104943, 2021. DOI: 10.1016/j.bioorg.2021.104943

[22] CARPENTER, Kristy A.; HUANG, Xudong. Machine learning-based virtual screening and its applications to Alzheimer's drug discovery: A review. **Current pharmaceutical design**, v. 24, n. 28, p. 3347-3358, 2018. DOI: 10.2174/1381612824666180607124038

[23] PICCIRILLO, Erika; AMARAL, Antonia Tavares do. Busca virtual de compostos bioativos: conceitos e aplicações. **Química Nova**, v. 41, n. 6, p. 662-677, 2018. DOI: 10.21577/0100-4042.20170210

[24] RODRIGUES, Ricardo P. et al. Estratégias de triagem virtual no planejamento de fármacos. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 6, p. 739-776, 2012. DOI: 10.5935/1984-6835.20120055

[25] WU, Hongjie et al. A review of deep learning methods for ligand based drug virtual screening. **Fundamental Research**, 2024. DOI: 10.1016/j.fmre.2024.02.011

[26] MENG, Xuan-Yu et al. Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. **Current Computer-Aided Drug Design**, v. 7, n.2, p. 146–157, 2011. DOI: 10.2174/157340911795677602

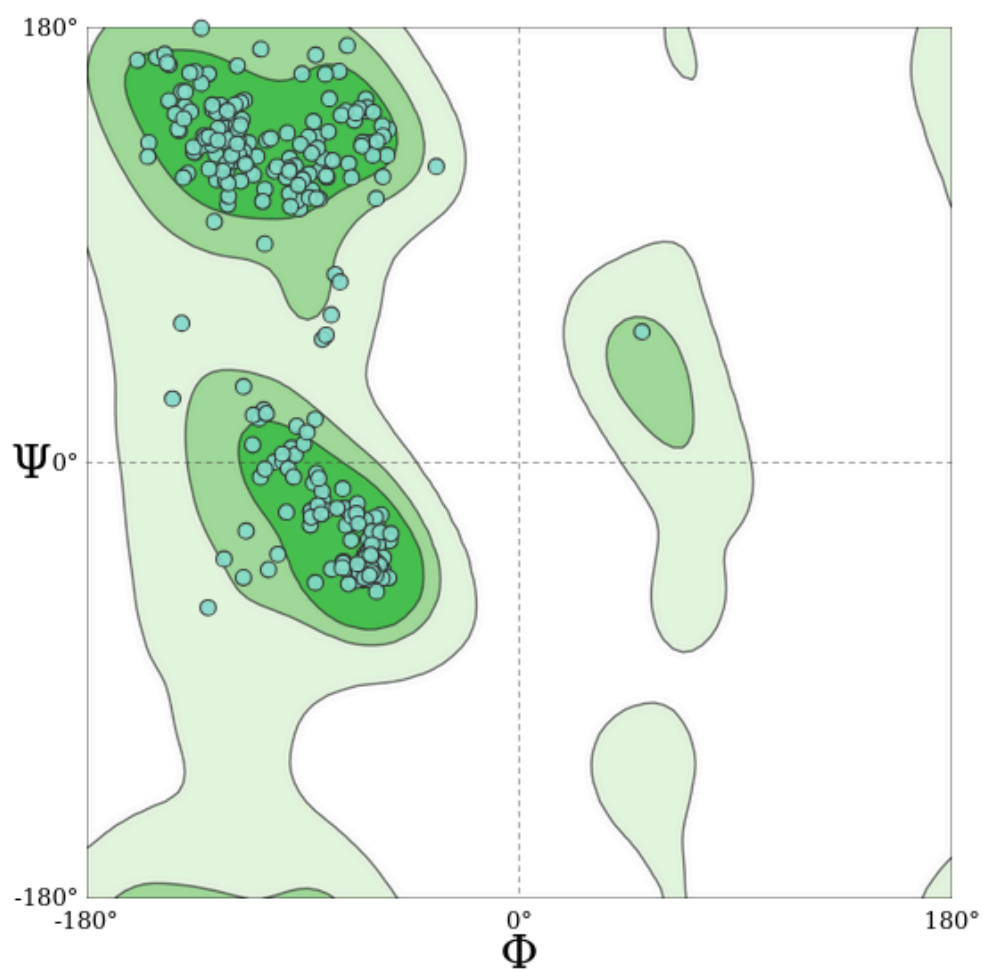
- [27] NGUYEN, Nguyen Thanh et al. Autodock vina adopts more accurate binding poses but autodock4 forms better binding affinity. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 60, n. 1, p. 204-211, 2019. DOI: 10.1021/acs.jcim.9b00778
- [28] SOUZA, Raphael Lopes. **Aplicação da técnica de ancoragem molecular na otimização do fármaco hipoglicemiante metformina**. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia). Centro Universitário Luterano de Palmas. Palmas, 2015.
- [29] MORGON, Nelson H.; COUTINHO, Kaline Rabelo. **Métodos de química teórica e modelagem molecular**. São Paulo: Editora Livraria da Física, 2007.
- [30] VERLI, Hugo. **Bioinformática: da biologia à flexibilidade molecular**. 1. ed. - São Paulo: SBBq, 2014. 282 P.
- [31] KITCHEN, Douglas B. et al. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. **Nature reviews Drug discovery**, v. 3, n. 11, p. 935-949, 2004. DOI: 10.1038/nrd1549
- [32] MORRIS, Garrett M. et al. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. **Journal of computational chemistry**, v. 30, n. 16, p. 2785-2791, 2009. DOI: 10.1002/jcc.21256
- [33] TROTT, Oleg; OLSON, Arthur 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, n. 2, p. 455-461, 2010. DOI: 10.1002/jcc.21334
- [34] JONES, Gareth et al. Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking. **Journal of molecular biology**, v. 267, n. 3, p. 727-748, 1997. DOI: 10.1006/jmbi.1996.0897
- [36] SAPUNDZHI, Fatima; PRODANOVA, Krasimira; LAZAROVA, Meglena. Survey of the scoring functions for protein-ligand docking. In: AIP Conference Proceedings. AIP Publishing, 2019. DOI: 10.1063/1.5133601
- [36] DAINA, Antoine; MICHIELIN, Olivier; ZOETE, Vincent. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 42717, 2017. DOI: 10.1038/srep42717
- [37] SILVA, Daniella Felix; DE MELLO PADILHA, Itácio Queiroz. Avaliação in silico de propriedades farmacocinéticas de compostos antileucêmicos publicados por periódicos científicos. **Archives Health Sciences**, v. 30, 2023. DOI: 10.17696/2318-3691.30.1.2023.172
- [38] LIPINSKI, Christopher A. et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced drug delivery reviews**, v. 23, n. 1-3, p. 3-25, 1997. DOI: 10.1016/j.addr.2012.09.019
- [39] PAJOUHESH, Hassan; LENZ, George R. Medicinal chemical properties of successful central nervous system drugs. **NeuroRx**, v. 2, p. 541-553, 2005. DOI: 10.1602/neurorx.2.4.541

- [40] VEBER, D. F. et al. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 12, p. 2615–2623, jun. 2002. DOI: 10.1021/jm020017n
- [41] NASCIMENTO, Pamela Inácio et al. Análise in silico da toxicidade de metabólitos da espécie *Melissa Officinalis* L. visando obtenção de novos fármacos. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 16, p. DOI: 10.33448/rsd-v11i16.37606.
- [42] MYUNG, Yoochan; SÁ, Alex G. C; ASCHER, David B. Deep-PK: deep learning for small molecule pharmacokinetic and toxicity prediction. **Nucleic Acids Research**, v. 52, n. W1, p. W469–W475, 2024. DOI: 10.1093/nar/gkae254
- [43] HILDEBRAND, Peter W.; ROSE, Alexander S.; TIEMANN, Johanna KS. Bringing molecular dynamics simulation data into view. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 44, n. 11, p. 902-913, 2019. 10.1016/j.tibs.2019.06.004
- [44] WANG, Lele et al. Simulating dynamic interaction between diazepam and ethanol targeting the GABAA receptor via in silico model. **NeuroToxicology**, v. 95, p. 136-143, 2023. DOI: 10.1016/j.neuro.2023.01.012
- [45] NAMBA, Adriana Mico; DA SILVA, Vinícius Barreto; DA SILVA, C. H. T. P. Dinâmica molecular: teoria e aplicações em planejamento de fármacos. **Eclética Química**, v. 33, p. 13-24, 2008. DOI: 10.1590/S0100-46702008000400002
- [46] KING, Edward et al. Recent developments in free energy calculations for drug discovery. **Frontiers in Molecular Biosciences**, v. 8, p. 712085, 2021. DOI: 10.3389/fmolb.2021.712085
- [47] YASIR, Muhammad et al. Discovery of GABA aminotransferase inhibitors via molecular docking, molecular dynamic simulation, and biological evaluation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 23, p. 16990, 2023. DOI: 1422-0067/24/23/16990#
- [48] VALDÉS-TRESANCO, Mario S. et al. gmx_MMPBSA: a new tool to perform end-state free energy calculations with GROMACS. **Journal of chemical theory and computation**, v. 17, n. 10, p. 6281-6291, 2021. DOI: 10.1021/acs.jctc.1c00645
- [49] BERMAN, H. M. The Protein Data Bank. **Nucleic Acids Research**, v. 28, n. 1, p. 235–242, 2000.
- [50] BIOVIA, Dassault Systèmes, Discovery Studio visualizer, [21.1], San Diego: Dassault Systèmes, [2021]
- [51] PETTERSEN, E. F. et al. UCSF Chimera—A visualization system for exploratory research and analysis. **Journal of Computational Chemistry**, New York, v. 25, n. 13, p. 1605-1612, 2004.
- [52] BELL, Eric W.; ZHANG, Yang. DockRMSD: an open-source tool for atom mapping and RMSD calculation of symmetric molecules through graph isomorphism. **Journal of cheminformatics**, 2019. [https://doi.org/10.1186/s13321-019-0362-7]

- [53] HANWELL, Marcus D. et al. Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. **Journal of cheminformatics**, v. 4, p. 1-17, 2012. DOI: 10.1186/1758-2946-4-17
- [54] JAMES, STEWART. Stewart computational chemistry. <http://openmopac.net/>, 2008.
- [55] STEWART, James JP. Optimization of parameters for semiempirical methods VI: more modifications to the NDDO approximations and re-optimization of parameters. **Journal of molecular modeling**, v. 19, p. 1-32, 2013. DOI: 10.1007/s00894-012-1667-x
- [56] O'BOYLE, Noel M. et al. Open Babel: An open chemical toolbox. **Journal of cheminformatics**, v. 3, p. 1-14, 2011. DOI: 10.1186/1758-2946-3-33
- [57] WANG, Renxiao; WANG, Shaomeng. How does consensus scoring work for virtual library screening? An idealized computer experiment. **Journal of Chemical Information and Computer Sciences**, v. 41, n. 5, p. 1422-1426, 2001. DOI: 10.1021/ci010025x
- [58] 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 in 2021: new data content and improved web interfaces. **Nucleic Acids Res.** 2021, 49(1),1388-1395. DOI: 10.1093/nar/gkaa971
- [59] ABRAHAM, Mark James et al. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. **SoftwareX**, v. 1, p. 19-25, 2015. DOI: 10.1016/j.softx.2015.06.001
- [60] WATERHOUSE, Andrew et al. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. **Nucleic acids research**, v. 46, n. W1, p. W296-W303, 2018. DOI: 10.1093/nar/gky427
- [61] CHEN, Vincent B. et al. MolProbity: all-atom structure validation for macromolecular crystallography. **Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography**, v. 66, n. 1, p. 12-21, 2010. DOI: 10.1107/S0907444909042073
- [62] SANTOS FILHO, Osvaldo Andrade; ALENCASTRO, Ricardo Bicca de. Modelagem de proteínas por homologia. **Química Nova**, v. 26, p. 253-259, 2003. DOI: 10.1590/S0100-40422003000200019
- [63] HE, Xibing et al. A fast and high-quality charge model for the next generation general AMBER force field. **The Journal of Chemical Physics**, v. 153, n. 11, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1063/5.0019056>
- [64] SABE, Victor T. et al. Current trends in computer aided drug design and a highlight of drugs discovered via computational techniques: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 224, p. 113705, 2021. DOI: 10.21577/0100-4042.20170821
- [65] SHARMA, Jatin et al. Identification of naturally originated molecules as γ -aminobutyric acid receptor antagonist. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 39, n. 3, p. 911-922, 2021. DOI: 10.1080/07391102.2020.1720818

ANEXO A

Gráfico de Ramachandran



Resultados Molprobit

Clash Score	0.17
Ramachandran Favoured	97.75%
Ramachandran Outliers	0.00%
Rotamer Outliers	0.63%
C-Beta Deviations	1
Bad Bonds	0 / 2966
Bad Angles	25 / 4035

APÊNDICE A

Resultados docking molecular utilizando o Autodock Vina (Energia - Kcal/mol)

Moléculas	GABBA		VGSCs		AMPA		GAT-1		NMDA	
	Energy	Norm	Energy	Norm	Energy	Norm	Energy	Norm	Energy	Norm
mol 01	-10	0,8547	-9,8	0,8673	-8,7	0,8788	-8,9	0,8165	-8,90	0,9889
mol 02	-10	0,8547	-10	0,8850	-8,5	0,8586	-9	0,8257	-8,20	0,9111
mol 03	-9,9	0,8462	-10,1	0,8938	-8,3	0,8384	-8,9	0,8165	-8,10	0,9000
mol 04	-9,2	0,7863	-9,7	0,8584	-9	0,9091	-9,2	0,8440	-8,60	0,9556
mol 05	-9,3	0,7949	-9,6	0,8496	-8,1	0,8182	-9,2	0,8440	-8,40	0,9333
mol 06	-9,5	0,8120	-9,4	0,8319	-8,1	0,8182	-9,1	0,8349	-7,80	0,8667
mol 07	-9,4	0,8034	-10	0,8850	-8,8	0,8889	-9,1	0,8349	-8,70	0,9667
mol 08	-9,2	0,7863	-9,7	0,8584	-8,3	0,8384	-9,1	0,8349	-8,70	0,9667
mol 09	-9,3	0,7949	-9,4	0,8319	-8,1	0,8182	-9,1	0,8349	-8,80	0,9778
mol 10	-9,4	0,8034	-9,7	0,8584	-9,5	0,9596	-9,6	0,8807	-8,70	0,9667
mol 11	-9,5	0,8120	-9,5	0,8407	-8,6	0,8687	-10,1	0,9266	-8,60	0,9556
mol 12	-9,8	0,8376	-9,3	0,8230	-8,5	0,8586	-10,2	0,9358	-8,80	0,9778
mol 13	-9,5	0,8120	-9,7	0,8584	-9	0,9091	-9,2	0,8440	-8,60	0,9556
mol 14	-9,6	0,8205	-9,9	0,8761	-8,7	0,8788	-9,3	0,8532	-8,40	0,9333
mol 15	-9,8	0,8376	-9,8	0,8673	-8,3	0,8384	-9,1	0,8349	-8,30	0,9222
mol 16	-9	0,7692	-9,7	0,8584	-8,9	0,8990	-9	0,8257	-8,20	0,9111
mol 17	-9,3	0,7949	-9,3	0,8230	-8,1	0,8182	-8,9	0,8165	-8,20	0,9111
mol 18	-9,4	0,8034	-9,1	0,8053	-8,1	0,8182	-9,1	0,8349	-8,20	0,9111
mol 19	-9,4	0,8034	-9,9	0,8761	-9,2	0,9293	-9,3	0,8532	-8,20	0,9111
mol 20	-9,5	0,8120	-9,7	0,8584	-8,2	0,8283	-9,3	0,8532	-8,50	0,9444
mol 21	-10	0,8547	-9,6	0,8496	-8,1	0,8182	-9	0,8257	-8,90	0,9889
mol 22	-9,7	0,8291	-9,9	0,8761	-9,2	0,9293	-9,7	0,8899	-8,40	0,9333
mol 23	-9,5	0,8120	-10	0,8850	-7,8	0,7879	-9,5	0,8716	-8,20	0,9111
mol 24	-10	0,8547	-10,2	0,9027	-7,7	0,7778	-9,3	0,8532	-7,80	0,8667
mol 25	-9,3	0,7949	-9,6	0,8496	-9	0,9091	-9	0,8257	-8,00	0,8889
mol 26	-9,5	0,8120	-9,4	0,8319	-7,8	0,7879	-9,3	0,8532	-7,90	0,8778
mol 27	-9,6	0,8205	-9,4	0,8319	-7,8	0,7879	-9,2	0,8440	-8,00	0,8889
mol 28	-9,5	0,8120	-9,8	0,8673	-9,3	0,9394	-9,6	0,8807	-8,10	0,9000
mol 29	-9,6	0,8205	-9,8	0,8673	-7,8	0,7879	-9,4	0,8624	-7,80	0,8667
mol 30	-10,1	0,8632	-9,8	0,8673	-7,9	0,7980	-9,4	0,8624	-7,80	0,8667
mol 31	-10,4	0,8889	-10	0,8850	-8,9	0,8990	-9,1	0,8349	-8,60	0,9556
mol 32	-9,9	0,8462	-10,3	0,9115	-7,8	0,7879	-9,5	0,8716	-7,90	0,8778
mol 33	-10,2	0,8718	-10,3	0,9115	-7,9	0,7980	-9,3	0,8532	-7,50	0,8333
mol 34	-9,2	0,7863	-9,5	0,8407	-9,2	0,9293	-9,5	0,8716	-8,00	0,8889

mol 35	-9,4	0,8034	-9,7	0,8584	-7,8	0,7879	-9,4	0,8624	-7,70	0,8556
mol 36	-9,8	0,8376	-9,8	0,8673	-7,9	0,7980	-9,2	0,8440	-8,00	0,8889
mol 37	-9,5	0,8120	-9,8	0,8673	-9,1	0,9192	-9,2	0,8440	-8,70	0,9667
mol 38	-9,8	0,8376	-9,8	0,8673	-7,9	0,7980	-9,4	0,8624	-8,00	0,8889
mol 39	-9,4	0,8034	-9,6	0,8496	-8,1	0,8182	-9,2	0,8440	-8,80	0,9778
mol 40	-9,5	0,8120	-9,5	0,8407	-9,8	0,9899	-9,9	0,9083	-8,30	0,9222
mol 41	-9,7	0,8291	-9,6	0,8496	-8,2	0,8283	-10,1	0,9266	-8,00	0,8889
mol 42	-10,1	0,8632	-9,6	0,8496	-8,4	0,8485	-10,3	0,9450	-8,40	0,9333
mol 43	-10,3	0,8803	-10,2	0,9027	-9,1	0,9192	-9,4	0,8624	-8,80	0,9778
mol 44	-10,1	0,8632	-10,4	0,9204	-8,7	0,8788	-9,2	0,8440	-8,50	0,9444
mol 45	-10,2	0,8718	-10,4	0,9204	-8,4	0,8485	-9,1	0,8349	-8,50	0,9444
mol 46	-9,3	0,7949	-10,1	0,8938	-9,3	0,9394	-9,5	0,8716	-8,80	0,9778
mol 47	-9,7	0,8291	-10	0,8850	-8	0,8081	-9,5	0,8716	-8,50	0,9444
mol 48	-9,9	0,8462	-9,7	0,8584	-8,1	0,8182	-9,3	0,8532	-8,70	0,9667
mol 49	-9,7	0,8291	-10,3	0,9115	-9,1	0,9192	-9,3	0,8532	-9,00	1,0000
mol 50	-9,9	0,8462	-10	0,8850	-8,6	0,8687	-9,4	0,8624	-8,80	0,9778
mol 51	-9,4	0,8034	-9,7	0,8584	-8,3	0,8384	-9,2	0,8440	-8,90	0,9889
mol 52	-9,7	0,8291	-9,9	0,8761	-9,8	0,9899	-9,9	0,9083	-8,70	0,9667
mol 53	-9,9	0,8462	-9,8	0,8673	-8,7	0,8788	-10,2	0,9358	-8,70	0,9667
mol 54	-10,1	0,8632	-9,5	0,8407	-8,6	0,8687	-9,9	0,9083	-8,70	0,9667
mol 55	-11	0,9402	-10,9	0,9646	-9,5	0,9596	-10,1	0,9266	-8,50	0,9444
mol 56	-11,70	1,0000	-11,3	1,0000	-9,6	0,9697	-10,7	0,9817	-9,00	1,0000
mol 57	-11,2	0,9573	-11	0,9735	-9,1	0,9192	-10,3	0,9450	-8,00	0,8889
mol 58	-10,7	0,9145	-10,6	0,9381	-9,7	0,9798	-10,2	0,9358	-8,60	0,9556
mol 59	-11,1	0,9487	-11	0,9735	-9,9	1,0000	-10,9	1,0000	-8,60	0,9556
mol 60	-10,8	0,9231	-10,9	0,9646	-9,1	0,9192	-10,6	0,9725	-8,20	0,9111
mol 61	-9,2	0,7863	-10,2	0,9027	-9,3	0,9394	-10	0,9174	-8,30	0,9222
mol 62	-10,6	0,9060	-10,6	0,9381	-8,9	0,8990	-10,4	0,9541	-8,50	0,9444
mol 63	-10,6	0,9060	-10,5	0,9292	-8,9	0,8990	-10,8	0,9908	-7,90	0,8778
mol 64	-10	0,8547	-10,4	0,9204	-9,4	0,9495	-10,5	0,9633	-8,50	0,9444
mol 65	-10,5	0,8974	-10,8	0,9558	-9,5	0,9596	-10,6	0,9725	-8,50	0,9444
mol 66	-10,1	0,8632	-10,7	0,9469	-8,8	0,8889	-10,5	0,9633	-7,90	0,8778
mol 67	-9,4	0,8034	-10	0,8850	-9	0,9091	-9,9	0,9083	-8,00	0,8889
mol 68	-9,9	0,8462	-10,4	0,9204	-8,9	0,8990	-10,1	0,9266	-8,90	0,9889
mol 69	-9,4	0,8034	-10,3	0,9115	-8,7	0,8788	-10	0,9174	-7,90	0,8778
mol 70	-10	0,8547	-10,2	0,9027	-9,5	0,9596	-10,5	0,9633	-8,50	0,9444
mol 71	-9,8	0,8376	-10,5	0,9292	-9,5	0,9596	-10,8	0,9908	-9,00	1,0000
mol 72	-10,4	0,8889	-10,5	0,9292	-9,1	0,9192	-10,4	0,9541	-8,80	0,9778
mol 73	-9,5	0,8120	-9	0,7965	-7,8	0,7879	-8,8	0,8073	-8,50	0,9444
mol 74	-9,6	0,8205	-8,9	0,7876	-7,5	0,7576	-8,9	0,8165	-8,80	0,9778

mol 75	-9,2	0,7863	-9	0,7965	-7,6	0,7677	-8,8	0,8073	-8,60	0,9556
mol 76	-9,3	0,7949	-9,2	0,8142	-8,3	0,8384	-8,6	0,7890	-8,40	0,9333
mol 77	-9,3	0,7949	-8,9	0,7876	-7,5	0,7576	-8,8	0,8073	-8,70	0,9667
mol 78	-9	0,7692	-8,9	0,7876	-7,5	0,7576	-9	0,8257	-8,60	0,9556
mol 79	-9,2	0,7863	-9	0,7965	-8,3	0,8384	-8,9	0,8165	-8,60	0,9556
mol 80	-9,5	0,8120	-9,1	0,8053	-7,8	0,7879	-9,2	0,8440	-8,80	0,9778
mol 81	-9	0,7692	-9,1	0,8053	-7,6	0,7677	-9	0,8257	-8,60	0,9556
mol 82	-9,1	0,7778	-9,2	0,8142	-8,4	0,8485	-8,5	0,7798	-8,30	0,9222
mol 83	-9	0,7692	-8,9	0,7876	-7,5	0,7576	-8,9	0,8165	-8,50	0,9444
mol 84	-8,7	0,7436	-8,9	0,7876	-7,6	0,7677	-9,1	0,8349	-8,50	0,9444
mol 85	-9,5	0,8120	-9,3	0,8230	-8,7	0,8788	-9,3	0,8532	-8,80	0,9778
mol 86	-9,7	0,8291	-8,9	0,7876	-8,5	0,8586	-9,7	0,8899	-8,80	0,9778
mol 87	-9,1	0,7778	-8,8	0,7788	-8,2	0,8283	-9,8	0,8991	-8,70	0,9667

APÊNDICE B

Resultados docking molecular para o receptor GABAA utilizando o GOLD

Moléculas	GABAA							
	SCORE PLP	NORM	SCORE ASP	NORM	SCORE CS	NORM	SCORE GS	NORM
mol 1	67,06	0,7502	39,55	0,7469	36,30	0,8108	57,04	0,7495
mol 2	71,11	0,7955	42,74	0,8072	36,87	0,8235	61,13	0,8033
mol 3	74,21	0,8302	43,27	0,8172	35,55	0,7941	62,46	0,8208
mol 4	65,13	0,7286	41	0,7743	36,83	0,8227	59,66	0,7840
mol 5	65,53	0,7331	41,73	0,7881	36,62	0,8180	64,46	0,8470
mol 6	66,90	0,7484	39,9	0,7535	33,92	0,7577	63,62	0,8360
mol 7	57,16	0,6395	38,82	0,7331	35,47	0,7923	58,83	0,7731
mol 8	64,34	0,7198	40,87	0,7719	35,81	0,7999	63,26	0,8313
mol 9	66,65	0,7456	42,38	0,8004	34,34	0,7670	65,53	0,8611
mol 10	66,06	0,7390	42,7	0,8064	31,31	0,6994	61	0,8016
mol 11	58,29	0,6521	44,83	0,8467	30,50	0,6813	65,33	0,8585
mol 12	69,49	0,7774	48,12	0,9088	32,55	0,7271	60,45	0,7944
mol 13	65,05	0,7277	42,44	0,8015	35,09	0,7838	56,34	0,7403
mol 14	67,93	0,7599	43,6	0,8234	36,05	0,8052	61,93	0,8138
mol 15	68,30	0,7641	43,42	0,8200	32,98	0,7367	63,51	0,8346
mol 16	65,11	0,7284	39,66	0,7490	37,07	0,8280	60,17	0,7907
mol 17	65,70	0,7350	40,78	0,7702	36,83	0,8227	65,52	0,8610
mol 18	66,65	0,7456	40,21	0,7594	33,92	0,7577	66,38	0,8723
mol 19	65,64	0,7343	41,55	0,7847	36,93	0,8249	59,79	0,7857
mol 20	66,71	0,7463	41,93	0,7919	37,11	0,8289	65,74	0,8639
mol 21	69,07	0,7727	41,71	0,7877	33,97	0,7588	65,37	0,8590
mol 22	71,66	0,8017	41,13	0,7768	36,28	0,8104	59,3	0,7792
mol 23	68,30	0,7641	44,48	0,8400	35,80	0,7996	62,15	0,8167
mol 24	70,13	0,7845	44,21	0,8349	35,73	0,7981	63,32	0,8321
mol 25	65,78	0,7359	39,65	0,7488	37,93	0,8472	63,15	0,8298
mol 26	63,58	0,7113	43,48	0,8212	36,79	0,8218	66,67	0,8761
mol 27	67,99	0,7606	41,24	0,7789	34,95	0,7807	66,78	0,8775
mol 28	68,90	0,7708	40,66	0,7679	38,25	0,8544	62,43	0,8204
mol 29	65,86	0,7368	42,35	0,7998	38,86	0,8680	66,71	0,8766
mol 30	69,12	0,7732	42,63	0,8051	36,31	0,8110	62,36	0,8195
mol 31	68,05	0,7613	41,85	0,7904	39,24	0,8765	58,76	0,7721
mol 32	70,22	0,7856	42,06	0,7943	38,97	0,8705	62,89	0,8264
mol 33	80,11	0,8962	43,12	0,8144	39,20	0,8756	63,27	0,8314
mol 34	67,36	0,7536	39,94	0,7543	38,26	0,8546	60,53	0,7954
mol 35	65,03	0,7275	42,05	0,7942	36,42	0,8135	66,06	0,8681
mol 36	67,18	0,7515	41,45	0,7828	33,74	0,7536	66,93	0,8795

mol 37	60,61	0,6780	37,68	0,7116	37,87	0,8459	58,83	0,7731
mol 38	68,03	0,7611	42,11	0,7953	34,71	0,7753	65,43	0,8598
mol 39	68,53	0,7666	41,5	0,7838	35,02	0,7822	66,66	0,8760
mol 40	66,90	0,7484	41,23	0,7787	33,02	0,7376	63,42	0,8334
mol 41	65,03	0,7275	45,6100	0,8614	33,85	0,7561	66,46	0,8733
mol 42	69,85	0,7814	46,9300	0,8863	36,45	0,8142	67,25	0,8837
mol 43	67,68	0,7571	42,0100	0,7934	37,84	0,8452	57	0,7490
mol 44	70,54	0,7891	44,0400	0,8317	37,21	0,8311	61,36	0,8063
mol 45	79,58	0,8903	46,1800	0,8721	37,01	0,8267	63,08	0,8289
mol 46	68,83	0,7700	43,3100	0,8179	36,44	0,8139	60,23	0,7915
mol 47	66,36	0,7424	44,6800	0,8438	37,00	0,8265	65,86	0,8654
mol 48	68,88	0,7706	42,6400	0,8053	33,19	0,7413	66,93	0,8795
mol 49	63,12	0,7061	40,9900	0,7741	36,91	0,8244	58,92	0,7742
mol 50	67,84	0,7589	43,5000	0,8215	35,68	0,7970	63,8	0,8384
mol 51	67,74	0,7578	41,8000	0,7894	35,37	0,7900	63,55	0,8351
mol 52	69,13	0,7734	42,8200	0,8087	32,06	0,7161	60,94	0,8008
mol 53	63,33	0,7085	43,4400	0,8204	32,99	0,7369	67,07	0,8813
mol 54	71,33	0,7980	48,8700	0,9230	34,24	0,7648	65,72	0,8636
mol 55	85,92	0,9612	50,6000	0,9556	41,37	0,9241	71,54	0,9401
mol 56	89,39	1,0000	51,8400	0,9790	43,00	0,9605	69,77	0,9168
mol 57	88,78	0,9932	51,4600	0,9719	44,77	1,0000	72,46	0,9522
mol 58	80,53	0,9009	50,1000	0,9462	38,57	0,8615	70,19	0,9223
mol 59	78,36	0,8766	52,9500	1,0000	40,49	0,9044	68,37	0,8984
mol 60	75,09	0,8400	51,2500	0,9679	41,61	0,9294	73,54	0,9664
mol 61	72,81	0,8145	47,9800	0,9061	39,87	0,8906	73,32	0,9635
mol 62	76,87	0,8599	50,2300	0,9486	39,45	0,8812	72,96	0,9587
mol 63	72,69	0,8132	49,4600	0,9341	39,79	0,8888	73,97	0,9720
mol 64	74,33	0,8315	47,7900	0,9026	36,95	0,8253	73,85	0,9704
mol 65	77,06	0,8621	50,9300	0,9619	39,21	0,8758	74,36	0,9771
mol 66	77,63	0,8684	49,8700	0,9418	38,84	0,8676	75,91	0,9975
mol 67	73,44	0,8216	46,8500	0,8848	41,07	0,9174	75,43	0,9912
mol 68	75,18	0,8410	48,6400	0,9186	38,12	0,8515	71,84	0,9440
mol 69	74,25	0,8306	47,9200	0,9050	38,58	0,8617	74,88	0,9840
mol 70	73,43	0,8215	49,1900	0,9290	36,07	0,8057	74,09	0,9736
mol 71	76,55	0,8564	47,4400	0,8959	37,01	0,8267	76,1	1,0000
mol 72	75,01	0,8391	51,2700	0,9683	37,83	0,8450	75,36	0,9903
mol 73	59,13	0,6615	39,4600	0,7452	35,01	0,7820	63,45	0,8338
mol 74	62,35	0,6975	40,7100	0,7688	34,92	0,7800	65,34	0,8586
mol 75	64,76	0,7245	43,1700	0,8153	33,36	0,7451	71,62	0,9411
mol 76	54,99	0,6152	39,0800	0,7381	34,36	0,7675	65,34	0,8586

mol 77	60,80	0,6802	40,8700	0,7719	35,42	0,7912	69,51	0,9134
mol 78	68,36	0,7647	41,3800	0,7815	34,30	0,7661	74,76	0,9824
mol 79	58,82	0,6580	39,6800	0,7494	33,32	0,7443	62,02	0,8150
mol 80	62,64	0,7008	39,5400	0,7467	36,04	0,8050	66,49	0,8737
mol 81	70,13	0,7845	41,8400	0,7902	35,61	0,7954	71,41	0,9384
mol 82	54,42	0,6088	41,8700	0,7908	34,19	0,7637	65,11	0,8556
mol 83	61,10	0,6835	40,4400	0,7637	33,56	0,7496	69,48	0,9130
mol 84	66,39	0,7427	41,3000	0,7800	34,59	0,7726	75,29	0,9894
mol 85	64,00	0,7160	44,2700	0,8361	36,64	0,8184	64,95	0,8535
mol 86	64,11	0,7172	46,0000	0,8687	38,21	0,8535	68,92	0,9057
mol 87	69,85	0,7814	47,5200	0,8975	32,66	0,7295	70,23	0,9229

APÊNDICE C

Resultados docking molecular para o receptor VGSCs utilizando o GOLD

moléculas	VGSCs							
	Score PLP	NORM	Score ASP	NORM	Score CS	NORM	Score GS	NORM
mol 1	61,97	0,6913	30,87	0,6923	25,8	0,7100	48,51	0,6528
mol 2	69,26	0,7726	34,52	0,7742	27,15	0,7471	52,34	0,7043
mol 3	74,76	0,8340	34,61	0,7762	26,93	0,7411	56,69	0,7629
mol 4	61,17	0,6824	31,36	0,7033	26,38	0,7259	53,03	0,7136
mol 5	63,67	0,7103	34,56	0,7751	26,43	0,7273	54,36	0,7315
mol 6	71,14	0,7936	34,48	0,7733	27,13	0,7466	59,03	0,7944
mol 7	65,18	0,7271	31,72	0,7114	26,4	0,7265	53,21	0,7161
mol 8	66,64	0,7434	33	0,7401	27,95	0,7691	55,15	0,7422
mol 9	74,11	0,8268	35,18	0,7890	27,7	0,7622	60,95	0,8202
mol 10	62,15	0,6933	36,66	0,8222	29,36	0,8079	56,95	0,7664
mol 11	63,88	0,7126	35,35	0,7928	28,69	0,7895	53,2	0,7159
mol 12	69,59	0,7763	35,98	0,8069	26,75	0,7361	56,81	0,7645
mol 13	63,42	0,7075	32,97	0,7394	26,14	0,7193	48,97	0,6590
mol 14	67,79	0,7562	35,87	0,8044	25,83	0,7108	51,66	0,6952
mol 15	74,51	0,8312	35,62	0,7988	25,34	0,6973	56,45	0,7597
mol 16	60,71	0,6773	31,12	0,6979	25,72	0,7078	52,98	0,7130
mol 17	62,33	0,6953	33,47	0,7506	26,54	0,7303	54,09	0,7279
mol 18	71,5	0,7976	33,76	0,7571	26,53	0,7300	59,02	0,7942
mol 19	62,03	0,6920	31,57	0,7080	26,8	0,7375	51,78	0,6968
mol 20	65,01	0,7252	33,94	0,7612	26,65	0,7334	54,53	0,7338
mol 21	73,77	0,8230	34,54	0,7746	27,26	0,7501	58,01	0,7806
mol 22	67,41	0,7520	35,29	0,7914	27,1	0,7457	52,17	0,7021
mol 23	71,14	0,7936	38,77	0,8695	28,73	0,7906	53,49	0,7198
mol 24	78,29	0,8734	38,86	0,8715	29,05	0,7994	59,82	0,8050
mol 25	64,59	0,7205	34,06	0,7638	27,8	0,7650	56,35	0,7583
mol 26	68,19	0,7607	34,11	0,7650	29,6	0,8145	55,35	0,7449
mol 27	76,42	0,8525	36,36	0,8154	30,12	0,8288	60,67	0,8164
mol 28	65,88	0,7349	34,56	0,7751	27,96	0,7694	52,27	0,7034
mol 29	69,21	0,7721	36,97	0,8291	29,63	0,8154	55,16	0,7423
mol 30	77,94	0,8695	36,68	0,8226	30,02	0,8261	60,13	0,8092
mol 31	65,22	0,7276	34,63	0,7766	27,5	0,7567	51,66	0,6952
mol 32	71,84	0,8014	36,8	0,8253	29,06	0,7997	54,59	0,7346
mol 33	80,92	0,9027	37,86	0,8491	28,95	0,7966	61,5	0,8276
mol 34	64,44	0,7189	35,03	0,7856	27,81	0,7653	55,36	0,7450
mol 35	68,76	0,7671	34,41	0,7717	29,83	0,8209	54,35	0,7314
mol 36	77,13	0,8604	36,14	0,8105	29,58	0,8140	60,66	0,8163

mol 37	68,92	0,7689	33,51	0,7515	29,45	0,8104	55,25	0,7435
mol 38	72,39	0,8076	34,52	0,7742	30,31	0,8341	57,35	0,7718
mol 39	77,88	0,8688	37,23	0,8349	30,4	0,8365	62,91	0,8466
mol 40	65,12	0,7265	36,78	0,8248	29,46	0,8107	59,09	0,7952
mol 41	66,69	0,7440	34,85	0,7816	29,95	0,8242	54,17	0,7290
mol 42	73,81	0,8234	37,98	0,8518	27,49	0,7565	61,08	0,8220
mol 43	65,9	0,7352	33,46	0,7504	25,82	0,7105	49,27	0,6630
mol 44	71,93	0,8024	35,51	0,7964	27,34	0,7523	52,59	0,7077
mol 45	79,61	0,8881	38,31	0,8592	27,43	0,7548	57,6	0,7751
mol 46	65,29	0,7284	34,16	0,7661	27,14	0,7468	50,05	0,6735
mol 47	69,59	0,7763	34,34	0,7701	28,42	0,7821	52,23	0,7029
mol 48	78,06	0,8708	36,94	0,8284	28,08	0,7727	57,82	0,7781
mol 49	70,26	0,7838	34,59	0,7757	27,77	0,7642	52,88	0,7116
mol 50	72,22	0,8057	35,34	0,7926	29,94	0,8239	55,57	0,7478
mol 51	79,44	0,8862	37,53	0,8417	29,11	0,8010	61,37	0,8259
mol 52	65,24	0,7278	37,29	0,8363	28,52	0,7848	55,67	0,7492
mol 53	64,97	0,7248	36,1	0,8096	28,67	0,7889	53,53	0,7204
mol 54	69,98	0,7807	37,78	0,8473	26,45	0,7278	58,11	0,7820
mol 55	85,36	0,9523	39,94	0,8957	32,38	0,8910	61,51	0,8277
mol 56	89,64	1,0000	44,37	0,9951	33,95	0,9342	62,08	0,8354
mol 57	89,35	0,9968	43,29	0,9708	34,55	0,9507	64,13	0,8630
mol 58	82,57	0,9211	40,73	0,9134	30,48	0,8387	59,22	0,7969
mol 59	86,02	0,9596	41,95	0,9408	32,43	0,8924	58,38	0,7856
mol 60	86,03	0,9597	43,68	0,9796	34,73	0,9557	63,37	0,8528
mol 61	80,93	0,9028	39,68	0,8899	30,82	0,8481	61,2	0,8236
mol 62	85,04	0,9487	42,29	0,9484	33,94	0,9340	62,71	0,8439
mol 63	84,46	0,9422	42,24	0,9473	34,56	0,9510	66,3	0,8922
mol 64	83,12	0,9273	41,42	0,9289	32,48	0,8938	62,67	0,8434
mol 65	87,93	0,9809	43,13	0,9673	34,85	0,9590	62,48	0,8408
mol 66	88,27	0,9847	43,87	0,9839	36,34	1,0000	65,27	0,8783
mol 67	80,95	0,9031	39,87	0,8941	30,85	0,8489	64,43	0,8670
mol 68	84,6	0,9438	41,58	0,9325	34,51	0,9496	62,86	0,8459
mol 69	84,41	0,9417	42,04	0,9428	34,43	0,9474	67,66	0,9105
mol 70	79,76	0,8898	41,32	0,9267	29,44	0,8101	63,01	0,8479
mol 71	81,34	0,9074	44,59	1,0000	30,75	0,8462	62,71	0,8439
mol 72	81,96	0,9143	43,07	0,9659	32,06	0,8822	60,92	0,8198
mol 73	61,09	0,6815	32,74	0,7342	26,48	0,7287	51,29	0,6902
mol 74	62,09	0,6927	33,97	0,7618	27,39	0,7537	59,24	0,7972
mol 75	65,58	0,7316	35,03	0,7856	26,39	0,7262	67,19	0,9042
mol 76	62,88	0,7015	32,66	0,7325	27,22	0,7490	60,23	0,8105

mol 77	65,08	0,7260	33,99	0,7623	26,52	0,7298	64,06	0,8621
mol 78	64,25	0,7168	34,02	0,7630	25,99	0,7152	69,62	0,9369
mol 79	51,42	0,5736	33,68	0,7553	27,62	0,7600	58,16	0,7827
mol 80	58,07	0,6478	33,94	0,7612	27,17	0,7477	60,33	0,8119
mol 81	63,52	0,7086	35,13	0,7878	25,97	0,7146	71,59	0,9634
mol 82	62,36	0,6957	33,04	0,7410	26,48	0,7287	60,91	0,8197
mol 83	62,57	0,6980	34,03	0,7632	25,56	0,7034	64,2	0,8639
mol 84	63,5	0,7084	33,72	0,7562	25,2	0,6935	70,27	0,9456
mol 85	64,38	0,7182	34,1	0,7647	28,2	0,7760	63,59	0,8557
mol 86	68,1	0,7597	36,94	0,8284	29,02	0,7986	66,91	0,9004
mol 87	69,82	0,7789	38,39	0,8610	25,44	0,7001	74,31	1,0000

APÊNDICE D

Resultados docking molecular para o receptor AMPA utilizando o GOLD

Moléculas	AMPA							
	Score PLP	NORM	Score ASP	NORM	Score CS	NORM	Score GS	NORM
mol 1	68,63	0,8647	35,8	0,8402	36,68	0,9008	55,74	0,7712
mol 2	58,36	0,7353	32,63	0,7658	30,5	0,7490	51,23	0,7088
mol 3	64,89	0,8176	32,1	0,7533	28,15	0,6913	58,66	0,8116
mol 4	71,94	0,9064	36,99	0,8681	38,03	0,9339	61,24	0,8473
mol 5	57,92	0,7298	30,8	0,7228	29,86	0,7333	52,36	0,7244
mol 6	66,62	0,8394	33,36	0,7829	28,7	0,7048	56,57	0,7827
mol 7	64,83	0,8168	36,25	0,8507	39,3	0,9651	59,81	0,8275
mol 8	57,78	0,7280	30,94	0,7261	31,55	0,7748	54,45	0,7533
mol 9	62,77	0,7909	33,95	0,7968	30,85	0,7576	59,25	0,8197
mol 10	77,54	0,9769	39,68	0,9312	39,34	0,9661	61,07	0,8449
mol 11	64,63	0,8143	33,96	0,7970	30,85	0,7576	58,61	0,8109
mol 12	70,31	0,8859	36,35	0,8531	31,32	0,7692	60,65	0,8391
mol 13	72,86	0,9180	37,03	0,8690	36,72	0,9018	57,98	0,8022
mol 14	58,3	0,7345	32,18	0,7552	29,74	0,7304	53,96	0,7465
mol 15	66,78	0,8414	33,22	0,7796	27,57	0,6771	57,27	0,7923
mol 16	71,53	0,9012	37,44	0,8787	37,86	0,9298	61,78	0,8547
mol 17	58,17	0,7329	30,48	0,7153	29,62	0,7274	53,45	0,7395
mol 18	66,12	0,8331	31,88	0,7482	28,88	0,7092	58,92	0,8152
mol 19	72,13	0,9088	37,05	0,8695	38,06	0,9347	61,76	0,8545
mol 20	58,7	0,7396	30,46	0,7149	29,99	0,7365	52,69	0,7290
mol 21	65,62	0,8268	32,29	0,7578	28,7	0,7048	59,26	0,8199
mol 22	73,64	0,9278	38,13	0,8949	37,81	0,9285	58,01	0,8026
mol 23	61,08	0,7696	32,99	0,7742	30,54	0,7500	54,34	0,7518
mol 24	68,43	0,8622	34,09	0,8001	30,01	0,7370	58,37	0,8076
mol 25	72,62	0,9150	38,18	0,8960	38,71	0,9506	62,75	0,8682
mol 26	61,21	0,7712	30,26	0,7102	31,03	0,7620	55,22	0,7640
mol 27	67,98	0,8565	31	0,7275	30,78	0,7559	59,42	0,8221
mol 28	74,14	0,9341	38,52	0,9040	39,1	0,9602	62,52	0,8650
mol 29	60,37	0,7606	30,15	0,7076	31	0,7613	55,01	0,7611
mol 30	67,93	0,8559	32,98	0,7740	30,38	0,7461	59,63	0,8250
mol 31	70,8	0,8920	37,68	0,8843	37,93	0,9315	58,66	0,8116
mol 32	60,87	0,7669	30,76	0,7219	31,33	0,7694	55,27	0,7647
mol 33	64,69	0,8150	31,28	0,7341	30,04	0,7377	60,31	0,8344
mol 34	73,19	0,9221	39,06	0,9167	39,01	0,9580	61,93	0,8568
mol 35	58,76	0,7403	30,51	0,7160	30,61	0,7517	55,94	0,7739
mol 36	67,44	0,8497	32,03	0,7517	29,35	0,7208	58,74	0,8127

mol 37	67,23	0,8471	37,54	0,8810	40,21	0,9875	60,66	0,8392
mol 38	58,92	0,7424	31,68	0,7435	32,13	0,7891	58,87	0,8145
mol 39	63,69	0,8024	32,95	0,7733	29,92	0,7348	61,12	0,8456
mol 40	79,37	1,0000	41,22	0,9674	40,72	1,0000	62,94	0,8708
mol 41	65,07	0,8198	36,13	0,8479	33,7	0,8276	60,83	0,8416
mol 42	72,27	0,9106	35,76	0,8392	32,17	0,7900	62,32	0,8622
mol 43	71,02	0,8948	38,99	0,9150	37,37	0,9177	57,27	0,7923
mol 44	60,5	0,7623	32,15	0,7545	30,91	0,7591	52,52	0,7266
mol 45	65,04	0,8195	34,44	0,8083	28,48	0,6994	59,6	0,8246
mol 46	74,04	0,9329	40,23	0,9441	38,62	0,9484	60,07	0,8311
mol 47	60,96	0,7681	32,17	0,7550	30,35	0,7453	52,39	0,7248
mol 48	68,86	0,8676	34	0,7979	29,62	0,7274	57,3	0,7928
mol 49	67,6	0,8517	37,22	0,8735	39,35	0,9664	59,47	0,8228
mol 50	60,12	0,7575	32,84	0,7707	32,15	0,7895	55,57	0,7688
mol 51	63,63	0,8017	33,65	0,7897	29,34	0,7205	59,2	0,8190
mol 52	78,95	0,9947	42,61	1,0000	39,87	0,9791	61,08	0,8451
mol 53	65,51	0,8254	36,54	0,8576	31,49	0,7733	53,19	0,7359
mol 54	73,37	0,9244	37,52	0,8805	31,47	0,7728	59,79	0,8272
mol 55	74,25	0,9355	35,29	0,8282	31,6	0,7760	63,91	0,8842
mol 56	71,93	0,9063	37,44	0,8787	30,26	0,7431	60,89	0,8424
mol 57	75,06	0,9457	36,84	0,8646	32,36	0,7947	66,92	0,9258
mol 58	74,7	0,9412	37,99	0,8916	31,57	0,7753	62,95	0,8709
mol 59	74,2	0,9349	41,16	0,9660	30,18	0,7412	63,2	0,8744
mol 60	72,42	0,9124	37,7	0,8848	31,51	0,7738	64,75	0,8958
mol 61	72,59	0,9146	38,85	0,9118	31,52	0,7741	63,69	0,8812
mol 62	72,55	0,9141	37,74	0,8857	31,5	0,7736	60,43	0,8361
mol 63	73,71	0,9287	36,32	0,8524	32,92	0,8085	61,1	0,8453
mol 64	74,87	0,9433	38,39	0,9010	32,79	0,8053	60,71	0,8399
mol 65	76,15	0,9594	38,36	0,9003	32,11	0,7886	64,39	0,8908
mol 66	73,77	0,9294	35,85	0,8414	31,82	0,7814	65,09	0,9005
mol 67	70,87	0,8929	37,71	0,8850	31,98	0,7854	63,55	0,8792
mol 68	72,71	0,9161	37,62	0,8829	31,12	0,7642	64,51	0,8925
mol 69	73,47	0,9257	34,92	0,8195	33,14	0,8139	64,8	0,8965
mol 70	73,43	0,9252	37,86	0,8885	34,35	0,8436	63,91	0,8842
mol 71	75,58	0,9523	40,75	0,9564	32,43	0,7964	63,63	0,8803
mol 72	73,35	0,9242	39,15	0,9188	32,14	0,7893	66,4	0,9187
mol 73	65,36	0,8235	34,5	0,8097	35,13	0,8627	62,65	0,8668
mol 74	55,31	0,6969	32,69	0,7672	31,39	0,7709	58,47	0,8089
mol 75	65,28	0,8225	31,9	0,7487	30,33	0,7448	64,2	0,8882
mol 76	67,31	0,8481	34,89	0,8188	35,81	0,8794	65,16	0,9015

mol 77	57,94	0,7300	31,83	0,7470	31,23	0,7669	60,88	0,8423
mol 78	59,82	0,7537	33,09	0,7766	29,56	0,7259	65,31	0,9036
mol 79	63,55	0,8007	36,58	0,8585	38,23	0,9389	63,88	0,8838
mol 80	56,25	0,7087	30,73	0,7212	31,53	0,7743	63,29	0,8756
mol 81	65	0,8190	32,72	0,7679	30,27	0,7434	67,15	0,9290
mol 82	66,31	0,8355	35,72	0,8383	35,86	0,8807	66,76	0,9236
mol 83	57,47	0,7241	32,29	0,7578	30,13	0,7399	60,41	0,8358
mol 84	60,98	0,7683	31,65	0,7428	29,85	0,7331	65,44	0,9054
mol 85	72,63	0,9151	37,96	0,8909	37,78	0,9278	66,02	0,9134
mol 86	72,38	0,9119	34,92	0,8195	35,89	0,8814	64,82	0,8968
mol 87	78,97	0,9950	36,68	0,8608	36,88	0,9057	72,28	1,0000

APÊNDICE E

Resultados docking molecular para o receptor GAT-1 utilizando o GOLD

Moléculas	GAT-1							
	Score PLP	NORM	Score ASP	NORM	Score CS	NORM	Score GS	NORM
mol 1	58,09	0,6310	31,14	0,7018	32,59	0,8221	51,91	0,7111
mol 2	65,56	0,7121	33,2	0,7483	31,13	0,7853	54,18	0,7422
mol 3	73,32	0,7964	36,04	0,8123	33,64	0,8486	62,36	0,8542
mol 4	60,74	0,6598	31,13	0,7016	31,74	0,8007	58,33	0,7990
mol 5	66,9	0,7267	34,03	0,7670	32,92	0,8305	54,98	0,7532
mol 6	72,27	0,7850	35,14	0,7920	33,25	0,8388	61,85	0,8473
mol 7	64,28	0,6982	32,67	0,7363	31,79	0,8020	55,4	0,7589
mol 8	68,78	0,7471	35,27	0,7949	33,57	0,8469	55,27	0,7571
mol 9	71,91	0,7811	31,14	0,7018	33,62	0,8481	64,46	0,8830
mol 10	61,26	0,6654	33,03	0,7444	31,95	0,8060	52,96	0,7255
mol 11	63,27	0,6873	36,45	0,8215	33,39	0,8423	57,42	0,7866
mol 12	72,21	0,7844	37,43	0,8436	34,76	0,8769	65,92	0,9030
mol 13	60,99	0,6625	32,64	0,7356	30,77	0,7762	51,46	0,7049
mol 14	65,9	0,7158	34,48	0,7771	31,56	0,7962	57,06	0,7816
mol 15	73,51	0,7985	37,13	0,8368	31,79	0,8020	58,92	0,8071
mol 16	60,48	0,6570	30,74	0,6928	31,63	0,7979	51,4	0,7041
mol 17	64,59	0,7016	33,32	0,7510	32,12	0,8103	53,77	0,7366
mol 18	72,91	0,7920	34,38	0,7748	33,36	0,8416	61,31	0,8399
mol 19	60,78	0,6602	30,75	0,6930	31,35	0,7909	51,5	0,7055
mol 20	65,13	0,7075	33,62	0,7577	32,38	0,8169	54,84	0,7512
mol 21	74,61	0,8104	35,45	0,7990	34,12	0,8607	60,43	0,8278
mol 22	63,58	0,6906	33,43	0,7534	31,03	0,7828	55,72	0,7633
mol 23	68,62	0,7454	36,22	0,8163	32,58	0,8219	56	0,7671
mol 24	76,94	0,8358	37,26	0,8398	33,61	0,8479	61,66	0,8447
mol 25	63,06	0,6850	31,78	0,7162	33,12	0,8355	54,12	0,7414
mol 26	67,87	0,7372	34,55	0,7787	34,1	0,8602	60,57	0,8297
mol 27	76	0,8255	36,58	0,8244	34,58	0,8724	64,68	0,8860
mol 28	63,72	0,6922	32,4	0,7302	31,66	0,7987	59,86	0,8200
mol 29	68,65	0,7457	34,88	0,7861	34,74	0,8764	56,89	0,7793
mol 30	76,83	0,8346	37,08	0,8357	35,66	0,8996	63,61	0,8714
mol 31	60,56	0,6578	31,6	0,7122	33,32	0,8406	57,35	0,7856
mol 32	66,31	0,7203	34,24	0,7717	32,61	0,8227	58,98	0,8079
mol 33	73,84	0,8021	35,55	0,8012	34,44	0,8688	63,24	0,8663
mol 34	63,08	0,6852	33,01	0,7440	32,91	0,8302	52,84	0,7238
mol 35	68	0,7386	36,11	0,8138	34,27	0,8645	55,53	0,7607
mol 36	76,1	0,8266	35,86	0,8082	34,99	0,8827	60,28	0,8258
mol 37	69,16	0,7512	34,36	0,7744	32,76	0,8264	54,99	0,7533
mol 38	70,38	0,7645	35,28	0,7951	33,62	0,8481	57,59	0,7889

mol 39	76,82	0,8345	37,51	0,8454	34,12	0,8607	66,69	0,9136
mol 40	64	0,6952	33	0,7437	33,25	0,8388	60,57	0,8297
mol 41	66,27	0,7199	37,25	0,8395	33,37	0,8418	62,38	0,8545
mol 42	74,55	0,8098	36,15	0,8147	35,87	0,9049	66,3	0,9082
mol 43	60,42	0,6563	32,32	0,7284	32,79	0,8272	54,16	0,7419
mol 44	66,94	0,7271	34,89	0,7863	32,94	0,8310	55,91	0,7659
mol 45	77,03	0,8367	37,18	0,8380	33,07	0,8343	59,83	0,8196
mol 46	63,8	0,6930	33,71	0,7597	31,34	0,7906	56,92	0,7797
mol 47	68,92	0,7486	36,66	0,8262	32,87	0,8292	57,37	0,7859
mol 48	77,25	0,8391	39,26	0,8848	33,89	0,8549	60,21	0,8248
mol 49	66,04	0,7174	34,51	0,7778	32,54	0,8209	53,19	0,7286
mol 50	72,31	0,7855	38,09	0,8585	33,09	0,8348	57,23	0,7840
mol 51	75,58	0,8210	40,18	0,9056	33,45	0,8438	65,01	0,8905
mol 52	63,97	0,6949	34,76	0,7834	31,39	0,7919	54,98	0,7532
mol 53	67,15	0,7294	36,8	0,8294	33,54	0,8461	59,19	0,8108
mol 54	75,93	0,8248	38,65	0,8711	33,81	0,8529	61	0,8356
mol 55	81,57	0,8861	39,25	0,8846	38,19	0,9634	64,05	0,8774
mol 56	88,5	0,9613	42,59	0,9599	37,8	0,9536	63,43	0,8689
mol 57	83,63	0,9084	39,21	0,8837	37,83	0,9543	65	0,8904
mol 58	86,02	0,9344	40,52	0,9132	36,17	0,9125	63,87	0,8749
mol 59	92,06	1,0000	44,37	1,0000	36,3	0,9157	61,71	0,8453
mol 60	91,78	0,9970	43,65	0,9838	38,12	0,9617	64,91	0,8892
mol 61	76,2	0,8277	40,94	0,9227	38,21	0,9639	69,5	0,9521
mol 62	87,18	0,9470	42,37	0,9549	38,03	0,9594	69,23	0,9484
mol 63	88,76	0,9642	41,75	0,9410	38,89	0,9811	70,57	0,9667
mol 64	79,58	0,8644	41,72	0,9403	35,85	0,9044	72,96	0,9995
mol 65	86,36	0,9381	43,35	0,9770	35,46	0,8946	66,56	0,9118
mol 66	84,62	0,9192	43,21	0,9739	37,39	0,9432	69,2	0,9479
mol 67	82,68	0,8981	39,87	0,8986	38,92	0,9818	63,09	0,8642
mol 68	90,45	0,9825	41,17	0,9279	39,53	0,9972	66,08	0,9052
mol 69	84,61	0,9191	39,65	0,8936	39,34	0,9924	65,64	0,8992
mol 70	84,77	0,9208	42,17	0,9504	39,64	1,0000	72,87	0,9982
mol 71	89,1	0,9678	43,96	0,9908	39,21	0,9892	66,69	0,9136
mol 72	86,27	0,9371	40,73	0,9180	38,84	0,9798	73	1,0000
mol 73	57,39	0,6234	30,75	0,6930	32,72	0,8254	57,11	0,7823
mol 74	64,06	0,6959	32,6	0,7347	31,96	0,8063	58,94	0,8074
mol 75	71,02	0,7715	34,05	0,7674	31,74	0,8007	62,58	0,8573
mol 76	59,58	0,6472	29,61	0,6673	32,52	0,8204	59,89	0,8204
mol 77	64,61	0,7018	33,55	0,7561	33,31	0,8403	62,79	0,8601
mol 78	67,3	0,7310	30,54	0,6883	33,78	0,8522	65,5	0,8973
mol 79	65,64	0,7130	34,36	0,7744	33,2	0,8375	62,06	0,8501
mol 80	67,7	0,7354	33,63	0,7579	34,28	0,8648	64,71	0,8864

mol 81	75,56	0,8208	31,48	0,7095	34,6	0,8729	66,01	0,9042
mol 82	61,67	0,6699	29,78	0,6712	32,42	0,8179	59,58	0,8162
mol 83	64,75	0,7033	33,45	0,7539	33,53	0,8459	64,88	0,8888
mol 84	66,67	0,7242	32,01	0,7214	33,68	0,8496	64,15	0,8788
mol 85	63,52	0,6900	31,44	0,7086	33,32	0,8406	60,68	0,8312
mol 86	68,45	0,7435	33,29	0,7503	31,02	0,7825	63,82	0,8742
mol 87	68,89	0,7483	33,9	0,7640	31,01	0,7823	65,99	0,9040

APÊNDICE F

Resultados docking molecular para o receptor NMDA utilizando o GOLD

Moléculas	NMDA							
	Score PLP	NORM	Score ASP	NORM	Score CS	NORM	Score GS	NORM
mol 1	64,29	0,7836	31,11	0,7870	32,59	0,8859	55,83	0,7569
mol 2	64,98	0,7921	30,42	0,7695	31,13	0,8822	55,81	0,7566
mol 3	71,64	0,8732	29,88	0,7559	33,64	0,8750	62,17	0,8429
mol 4	63,27	0,7712	29,26	0,7402	31,74	0,8900	57,83	0,7840
mol 5	63,71	0,7766	31,26	0,7908	32,92	0,8978	58,19	0,7889
mol 6	71,87	0,8760	30,31	0,7668	33,25	0,8810	64,2	0,8704
mol 7	70,04	0,8537	30,81	0,7794	31,79	0,9199	60,62	0,8219
mol 8	66,55	0,8112	31,66	0,8009	33,57	0,8914	60,78	0,8240
mol 9	76,12	0,9278	32,71	0,8275	33,62	0,9260	67,53	0,9155
mol 10	67,49	0,8226	30,23	0,7647	31,95	0,9070	57,53	0,7800
mol 11	67,12	0,8181	32,67	0,8265	33,39	0,9084	57,99	0,7862
mol 12	78,29	0,9543	34,08	0,8621	34,76	0,9493	61,97	0,8402
mol 13	63,12	0,7694	32,55	0,8234	30,77	0,8825	60,41	0,8190
mol 14	64,17	0,7822	31,01	0,7845	31,56	0,8704	56,17	0,7615
mol 15	74,05	0,9026	31,91	0,8072	31,79	0,8721	63,55	0,8616
mol 16	63,71	0,7766	28,91	0,7313	31,63	0,8744	61,9	0,8392
mol 17	62	0,7557	29,93	0,7571	32,12	0,9090	58,3	0,7904
mol 18	73,72	0,8986	30,86	0,7807	33,36	0,8931	65,01	0,8814
mol 19	64,73	0,7890	30,57	0,7733	31,35	0,8857	57,49	0,7794
mol 20	64,94	0,7916	31,35	0,7931	32,38	0,8767	58,54	0,7937
mol 21	77,64	0,9464	33,22	0,8404	34,12	0,9418	66,18	0,8972
mol 22	66,65	0,8124	32,2	0,8146	31,03	0,8785	57,37	0,7778
mol 23	65,76	0,8016	31,42	0,7948	32,58	0,8456	56,41	0,7648
mol 24	75,84	0,9244	30,31	0,7668	33,61	0,8787	63,89	0,8662
mol 25	65,59	0,7995	30,05	0,7602	33,12	0,8865	59,72	0,8097
mol 26	64,24	0,7830	27,48	0,6952	34,10	0,8773	58,8	0,7972
mol 27	74,13	0,9036	29,78	0,7534	34,58	0,9003	65,26	0,8848
mol 28	66,78	0,8140	31,46	0,7959	31,66	0,9050	63,51	0,8610
mol 29	64,24	0,7830	29,46	0,7453	34,74	0,8695	58,47	0,7927
mol 30	74,21	0,9046	30,13	0,7622	35,66	0,8851	65,38	0,8864
mol 31	68,27	0,8322	31,49	0,7966	33,32	0,9113	56,37	0,7642
mol 32	65,71	0,8010	30,3	0,7665	32,61	0,8499	56,74	0,7693
mol 33	75,19	0,9165	29,09	0,7359	34,44	0,8842	63,4	0,8595
mol 34	67,69	0,8251	29,79	0,7536	32,91	0,9280	58,66	0,7953
mol 35	64	0,7801	29,51	0,7465	34,27	0,8767	59,62	0,8083
mol 36	70,12	0,8547	32,12	0,8125	34,99	0,8764	65,07	0,8822
mol 37	70,14	0,8549	28,86	0,7301	32,76	0,9289	62,31	0,8448
mol 38	66,34	0,8086	29,92	0,7569	33,62	0,9349	61,59	0,8350

mol 39	79,41	0,9679	28,63	0,7243	34,12	0,9280	64,24	0,8709
mol 40	71,22	0,8681	31,21	0,7895	33,25	0,9453	58,14	0,7882
mol 41	66,69	0,8129	31,78	0,8039	33,37	0,8799	62,6	0,8487
mol 42	75,31	0,9180	34,58	0,8748	35,87	0,9124	66,07	0,8957
mol 43	66,63	0,8122	33,04	0,8358	32,79	0,8626	55,27	0,7493
mol 44	65,79	0,8019	32,21	0,8148	32,94	0,8191	55,6	0,7538
mol 45	74,55	0,9087	33,49	0,8472	33,07	0,8505	62,16	0,8427
mol 46	66,42	0,8096	30,75	0,7779	31,34	0,8655	57,21	0,7756
mol 47	67,14	0,8184	32,47	0,8214	32,87	0,8393	57,97	0,7859
mol 48	74,98	0,9139	32,74	0,8282	33,89	0,8736	65,09	0,8825
mol 49	72,01	0,8777	31,29	0,7916	32,54	0,9018	61,5	0,8338
mol 50	66,61	0,8119	32,18	0,8141	33,09	0,8888	60,1	0,8148
mol 51	77,64	0,9464	32,89	0,8320	33,45	0,8882	66,78	0,9054
mol 52	70,47	0,8590	33,78	0,8545	31,39	0,9176	58,13	0,7881
mol 53	67,42	0,8218	35,29	0,8927	33,54	0,8779	57,93	0,7854
mol 54	76,08	0,9274	37,16	0,9400	33,81	0,9041	63,92	0,8666
mol 55	78,71	0,9594	34,63	0,8760	38,19	0,9948	71,21	0,9654
mol 56	79,98	0,9749	37,09	0,9383	37,80	0,8747	67,67	0,9174
mol 57	78,67	0,9589	35,87	0,9074	37,83	0,9758	70,86	0,9607
mol 58	74,34	0,9061	35,72	0,9036	36,17	0,8983	69,19	0,9380
mol 59	79,17	0,9650	38,04	0,9623	36,30	0,8733	65,45	0,8873
mol 60	76,24	0,9293	35,6	0,9006	38,12	0,8779	68,73	0,9318
mol 61	74,31	0,9058	35,62	0,9011	38,21	0,9297	70,06	0,9498
mol 62	75,44	0,9196	35,79	0,9054	38,03	0,9525	72,78	0,9867
mol 63	80,05	0,9757	35,66	0,9021	38,89	0,9516	69,08	0,9366
mol 64	78,94	0,9622	36	0,9107	35,85	0,9410	68,2	0,9246
mol 65	77,48	0,9444	35,15	0,8892	35,46	0,9093	69,68	0,9447
mol 66	79,84	0,9732	33,59	0,8497	37,39	0,9369	71,41	0,9681
mol 67	76,72	0,9352	35,24	0,8915	38,92	0,9816	73,76	1,0000
mol 68	77,12	0,9400	37,41	0,9464	39,53	0,9090	68,07	0,9229
mol 69	82,04	1,0000	32,33	0,8179	39,34	0,9680	72,69	0,9855
mol 70	78,68	0,9590	37,93	0,9595	39,64	0,9991	70,18	0,9515
mol 71	81,82	0,9973	39,53	1,0000	39,21	0,9626	67,38	0,9135
mol 72	77,09	0,9397	39,01	0,9868	38,84	0,8966	70,56	0,9566
mol 73	58,17	0,7090	30,73	0,7774	32,72	0,8810	61,5	0,8338
mol 74	64,02	0,7804	31,18	0,7888	31,96	0,9038	60,31	0,8177
mol 75	73,05	0,8904	33,36	0,8439	31,74	0,8888	67,09	0,9096
mol 76	58,18	0,7092	31,2	0,7893	32,52	0,8929	63,25	0,8575
mol 77	64,67	0,7883	32,91	0,8325	33,31	0,9352	62,84	0,8520
mol 78	74,93	0,9133	33,5	0,8475	33,78	0,8859	69,25	0,9389
mol 79	61,67	0,7517	32,9	0,8323	33,20	0,9297	65,56	0,8888
mol 80	67,87	0,8273	33,64	0,8510	34,28	0,9605	65,6	0,8894

mol 81	76,75	0,9355	32,69	0,8270	34,60	0,9047	70,41	0,9546
mol 82	58,29	0,7105	31,82	0,8050	32,42	0,9058	63,3	0,8582
mol 83	64,54	0,7867	32,71	0,8275	33,53	0,9214	62,6	0,8487
mol 84	73,85	0,9002	31,8	0,8045	33,68	0,8387	70,17	0,9513
mol 85	62,97	0,7676	33,71	0,8528	33,32	0,9718	63,67	0,8632
mol 86	68,86	0,8393	33,93	0,8583	31,02	0,9991	65,72	0,8910
mol 87	80,7	0,9837	34,14	0,8636	31,01	1,0000	70,13	0,9508