



**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

**Catalogação na publicação  
Seção de Catalogação e Classificação**

S237t Santos, Rhayane de Oliveira.

Triagem virtual de derivados de isatina com  
potencial atividade antiepileptica 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 GABA. 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 -  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiônico  
ASP - Astex Statistical Potential  
BHE - Barreira hematoencefálica  
CADD - Computer-Assisted Drug Design  
DAEs - Drogas antiepilepticas  
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

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>16</b>
2.1. Objetivo Geral.....	16
2.2. Objetivos Específicos.....	16
<b>3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>17</b>
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 GABA.....	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
<b>4. METODOLOGIA.....</b>	<b>35</b>
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
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>39</b>
5.1. Simulação de docking molecular.....	39

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

## 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 antiepilepticas 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 antiepilepticas (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 epilépticas 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 antiepileptica 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 uma 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 neurobiológicas, 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 epilépticas 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 epilépticas não provocadas nos próximos 10 anos; Diagnóstico de uma síndrome epiléptica [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 epilépticas. 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 antiepilepticos 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 antiepilepticas (DAEs) depende do diagnóstico, das informações colhidas sobre o tipo de crise e síndrome epiléptica, 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 epilépticas 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 epiléptica 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 antiepilepticos 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.

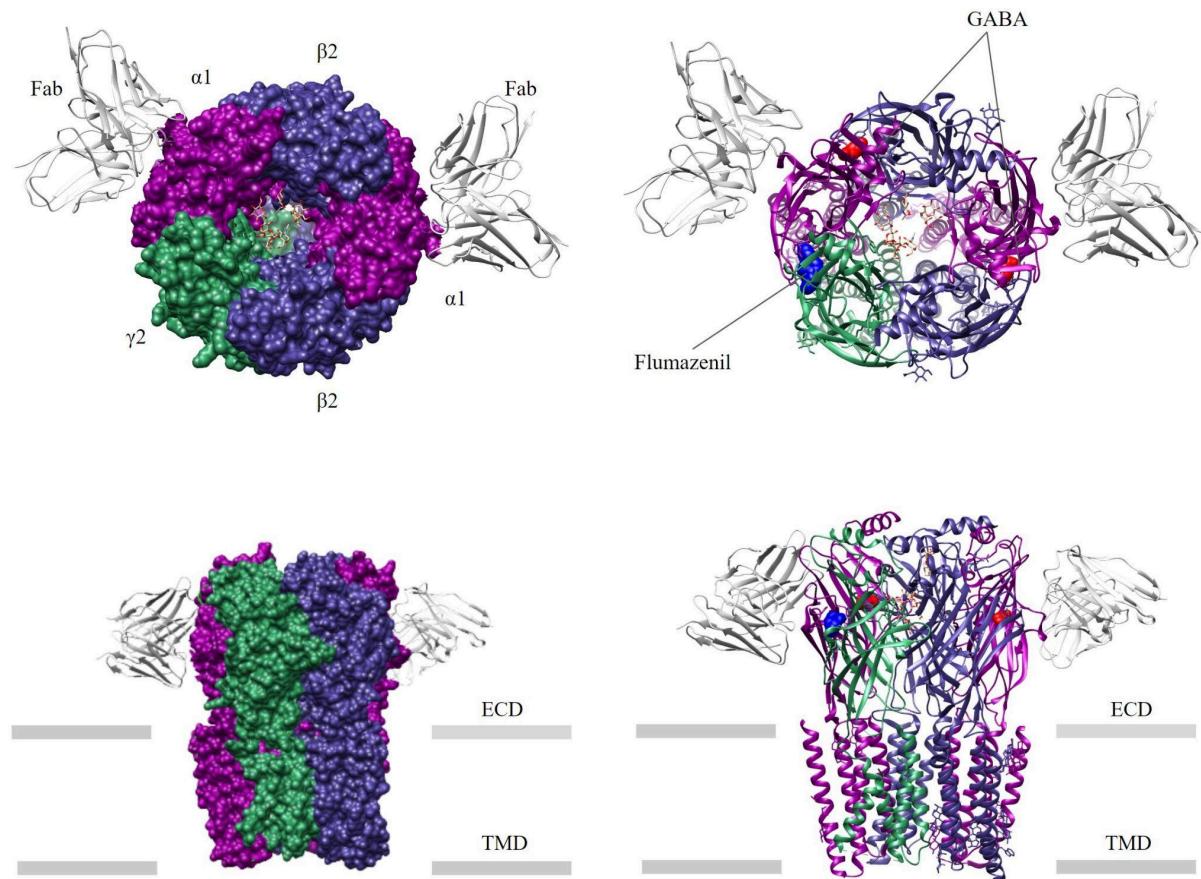
O resultado das interações com esses alvos é modificar as propriedades de excitabilidade intrínseca dos neurônios ou alterar a neurotransmissão inibitória ou excitatória rápida [16]. Sendo assim, os fármacos podem bloquear os receptores ou inibir a liberação de glutamato para reduzir a excitação neuronal 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  $\gamma$ -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)

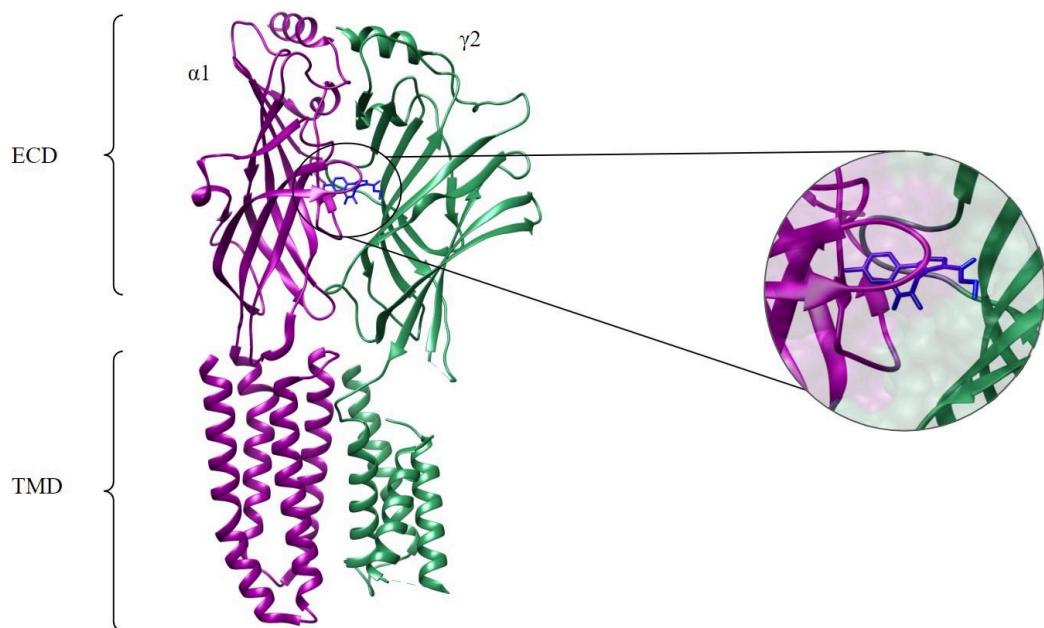


Fonte: Adaptado de ZHU et al. (2018)

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 ( $\text{Cl}^-$ ), 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.



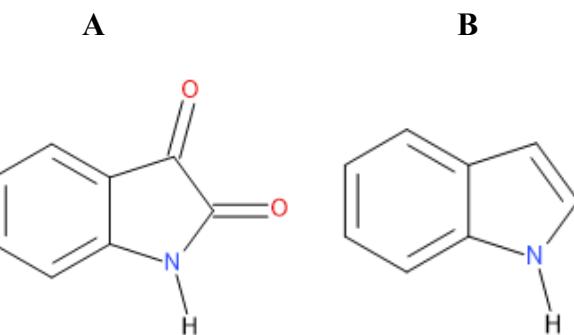
Fonte: Adaptado de SHARMA et al. (2021)

### 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

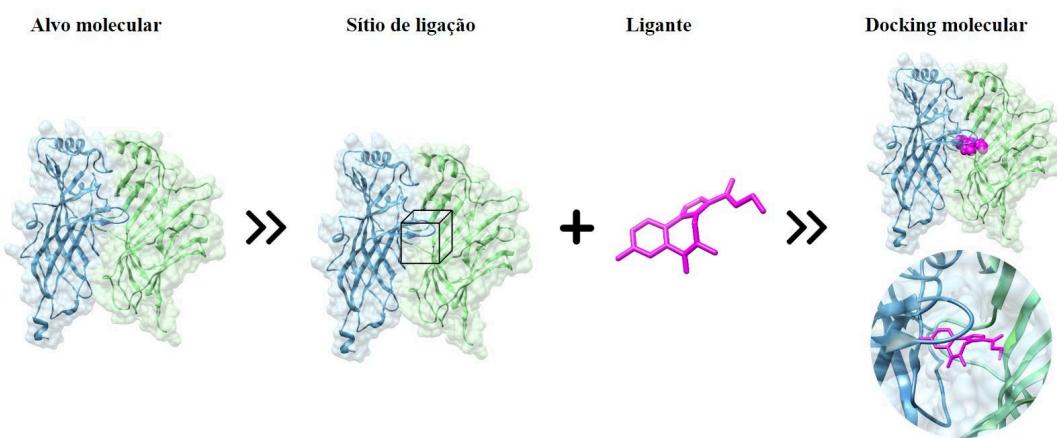
arranjo conformacional mais favorável, correspondente à menor energia livre de interação. Dirigido por uma combinação de efeitos entálpicos e entrópicos, esses efeitos podem ser estimados pela energia livre de ligação de Gibbs ( $\Delta G_{\text{lig}}$ ), que está relacionada, pela Equação 1, à constante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

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

em que  $\Delta H$  é a variação de entalpia,  $T$  é a temperatura absoluta,  $\Delta S$  é a variação de entropia e  $R$  é a constante universal dos gases.

O *docking* molecular tem o objetivo de predizer 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 preditas [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 predizer o modo de ligação de um complexo proteína-ligante é quando 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 acetores 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  $\leq 5$ , Aceitador de ligações de hidrogênio  $\leq 10$ . 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  $\leq 3$  e acceptor de ligação de hidrogênio  $\leq 7$  [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  $\leq 10$  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  $140 \text{ \AA}^2$  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  $\theta$  são os comprimentos e ângulos de ligação,  $r_0$  e  $\theta_0$  correspondem aos valores de equilíbrio e  $K_r$  e  $K_\theta$  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,  $\phi$  é o ângulo diedro e  $\gamma$  é o ângulo de fase [29, 45].

Para  $V_{inter}$ ,

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

onde,

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

$$V_{elet} = \sum_{i,j} \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \quad (9)$$

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  $\epsilon_{ij}$ , a profundidade do potencial entre a barreira atrativa e a repulsiva, e  $\sigma_{ij}$  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,  $q_i$  e  $q_j$  correspondem à magnitude das cargas pontuais de cada átomo,  $r_{ij}$  a distância entre as cargas,  $\epsilon_0$  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].

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

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, obtém-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, obtém-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 equilibração 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  $\Delta G_{bind}$  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 ( $\Delta H$ ) 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 ( $\Delta E_{MM}$ ) e energia livre de solvatação ( $\Delta G_{sol}$ ), 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,  $\Delta E_{MM}$  corresponde às mudanças de energia mecânica molecular na fase gasosa, que inclui  $\Delta E_{bonded}$ , também conhecido como energia interna, e  $\Delta E_{nonbonded}$ , correspondendo às contribuições de van der Waals e eletrostática.  $\Delta G_{sol}$  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 ( $\Delta G_{polar}$ ) 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 antiepilepticos: 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( $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiônico)	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 *Molprobity* [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 equilibração, 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
<b>AMPA</b>	5.487	0.620	0,381	0.680	1306	3.506
<b>GABAA</b>	5.991	1.1401	1.289	0.892	1.306	3.506
<b>GAT-1</b>	1.753	0,644	0.886	1.915	2.892	5.027
<b>NMDA</b>	0.720	0.792	0.563	0.335	0.762	0.421
<b>VGSCs</b>	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.

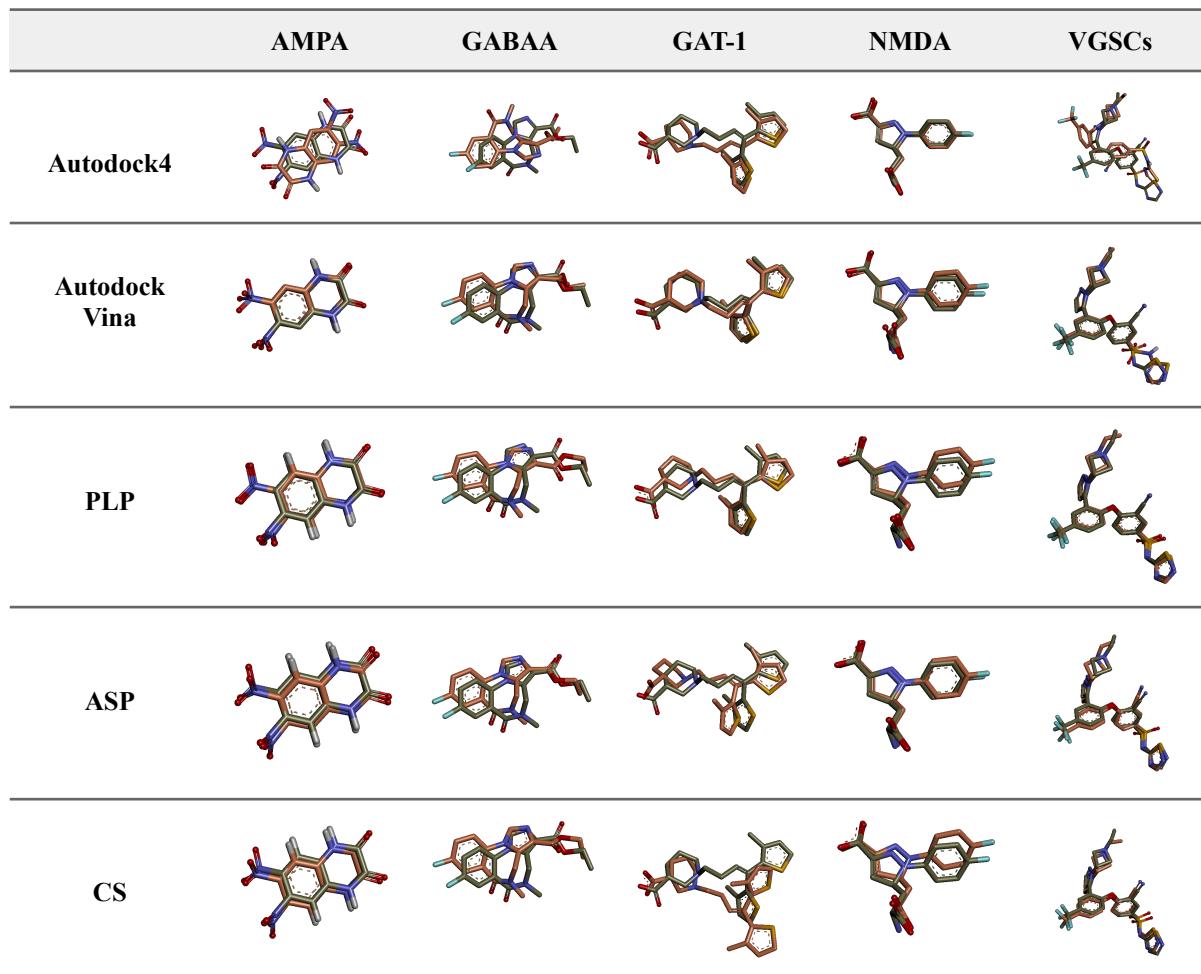
Com relação às energias de interação calculadas e os valores de função de pontuação, apresentados na Tabela 3, é possível observar que o ranqueamento dos alvos estudados é

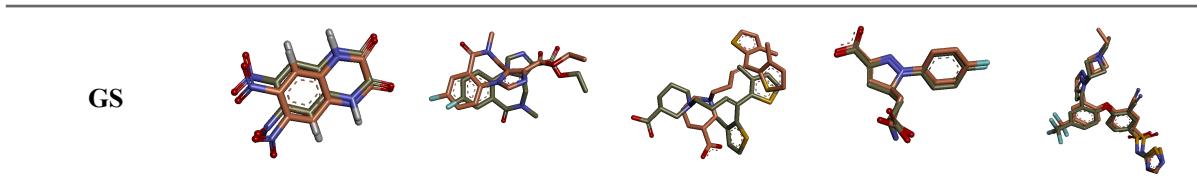
semelhante para os três programas, sendo o VGSCs o que apresentou melhor predição em ambos os programas, exceto para a função ChemScore, que teve melhor score no alvo GABAA. A sobreposição das estruturas docadas e cristalográficas para cada ligante é mostrada na Tabela 4.

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	<b>-9.68</b>	<b>-11.2</b>	<b>116,70</b>	<b>67,13</b>	<b>36,08</b>	<b>114,34</b>

Tabela 4 - Sobreposição das moléculas do *redocking*





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
<b>mol 56</b>	-11,7	1,0000	<b>mol 56</b>	-11,3	1,0000
<b>mol 57</b>	-11,2	0,9573	<b>mol 57</b>	-11,0	0,9735
<b>mol 59</b>	-11,1	0,9487	<b>mol 55</b>	-11,0	0,9735
<b>mol 55</b>	-11,0	0,9402	<b>mol 59</b>	-10,9	0,9646
<b>mol 60</b>	-10,8	0,9231	<b>mol 60</b>	-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
<b>mol 56</b>	89,39	1,0000	<b>mol 56</b>	89,64	1,0000
<b>mol 57</b>	88,78	0,9968	<b>mol 57</b>	89,35	0,9968
<b>mol 55</b>	85,92	0,9847	<b>mol 66</b>	88,27	0,9847
<b>mol 58</b>	80,53	0,9809	<b>mol 65</b>	87,93	0,9809
<b>mol 33</b>	80,11	0,9597	<b>mol 60</b>	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*

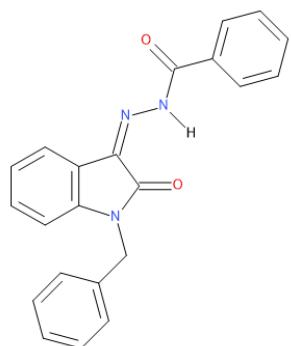
Moléculas	Média do consenso
mol 57	0,9749

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

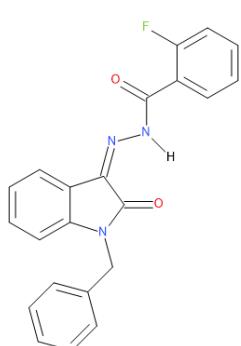
As moléculas que apresentaram melhores desempenhos estão representadas na figura 5. A mol59 e a mol60 possuem um substituinte flúor no anel aromático, apresentam espaçadores N-Acil hidrazona e diferem quanto ao grupo substituinte do anel aromático, sendo fluorado (mol56 e mol59) e clorado (mol57).

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.

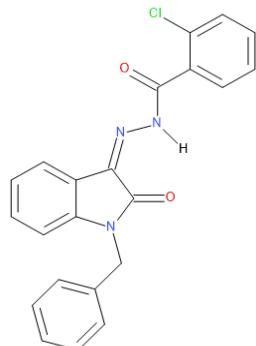
A



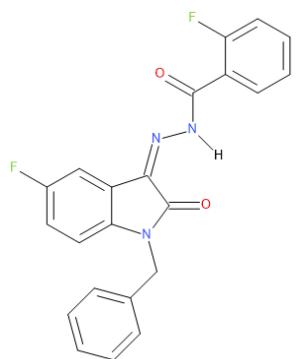
B



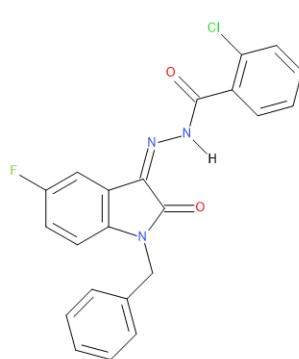
C



D



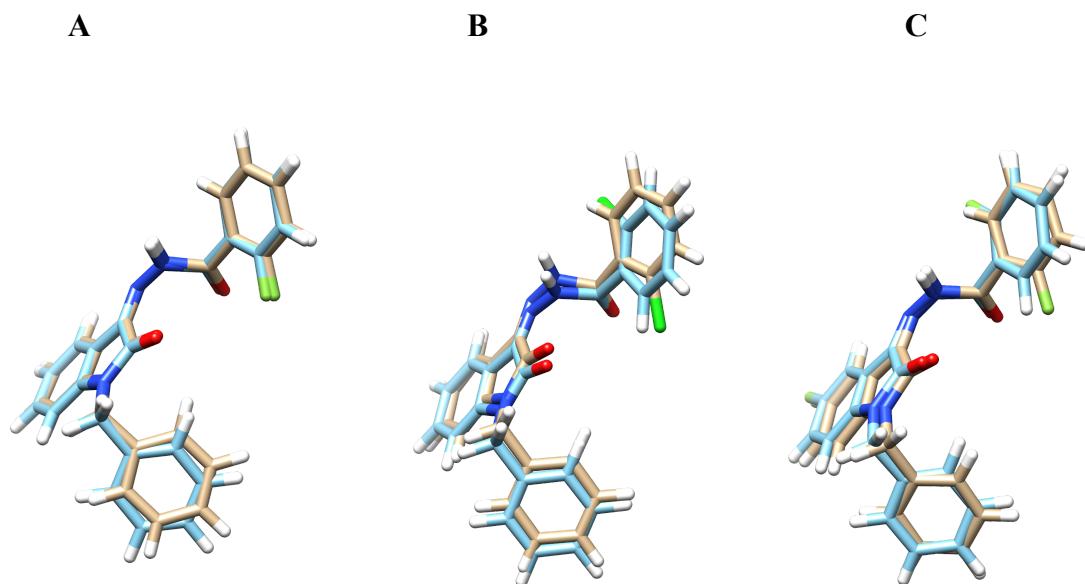
E



Fonte: Autoria própria.

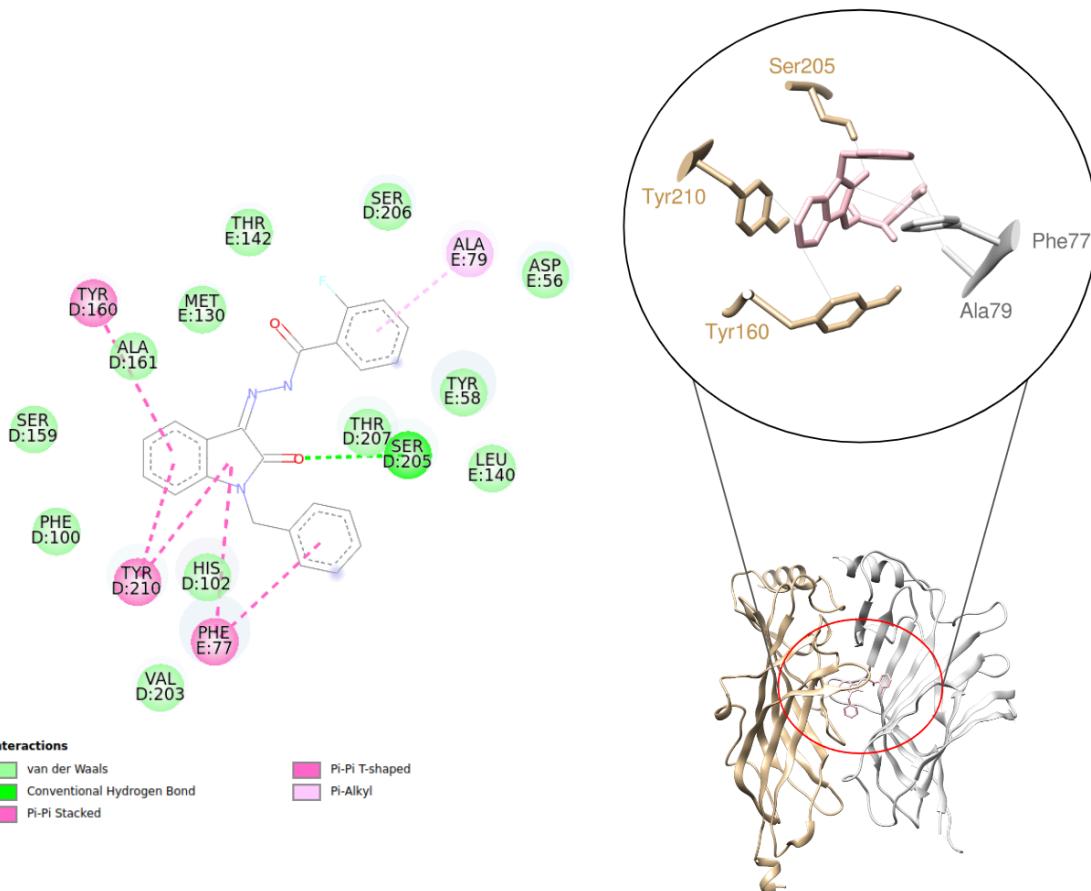
As conformações geradas pelos programas GOLD e Vina são bastante semelhantes, como pode ser observado na sobreposição das estruturas das moléculas melhor pontuadas, mostradas na Figura 6. Assim, as análises subsequentes foram realizadas com os complexos proteína-ligante gerados pelo Vina.

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.

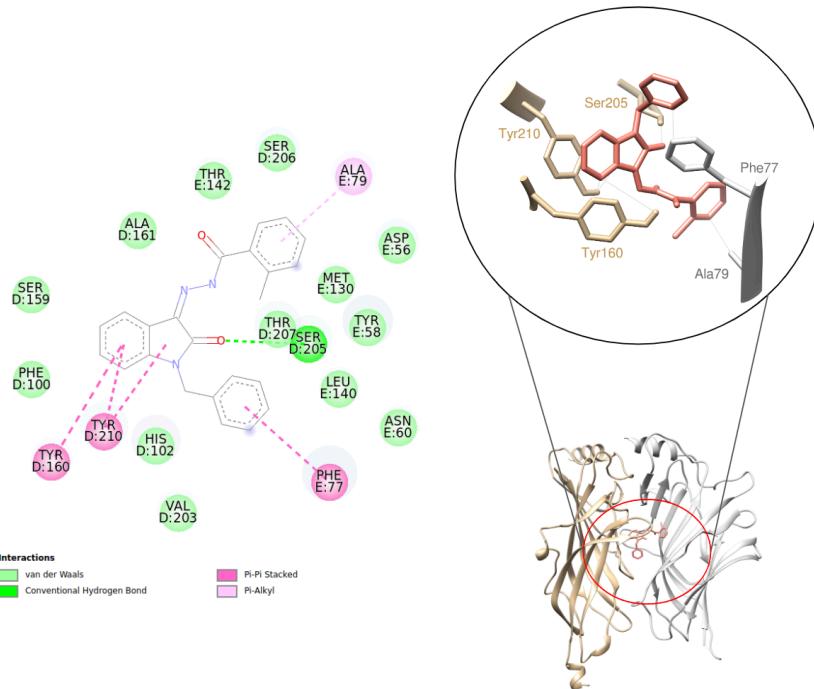
Figura 7 - Mapa de interação 2D para a mol 56



Fonte: Autoria própria.

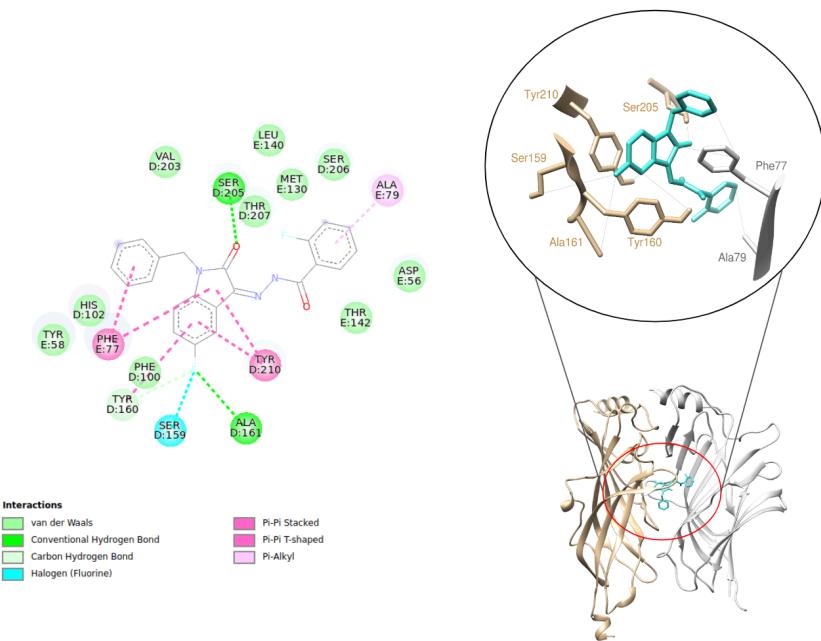
Para a mol57, é possível visualizar uma ligação de hidrogênio com a Ser205, interação pi-pi stacking com os resíduos Tyr160, Tyr210, Phe77, pi alquil com o resíduo Ala79 e interações de Van der Waals com os resíduos Phe100, His102, Val203, Asn60, Leu140, Tyr58, Thr207, Met130, Asp56, Ser206, Thr142, 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 alquil 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

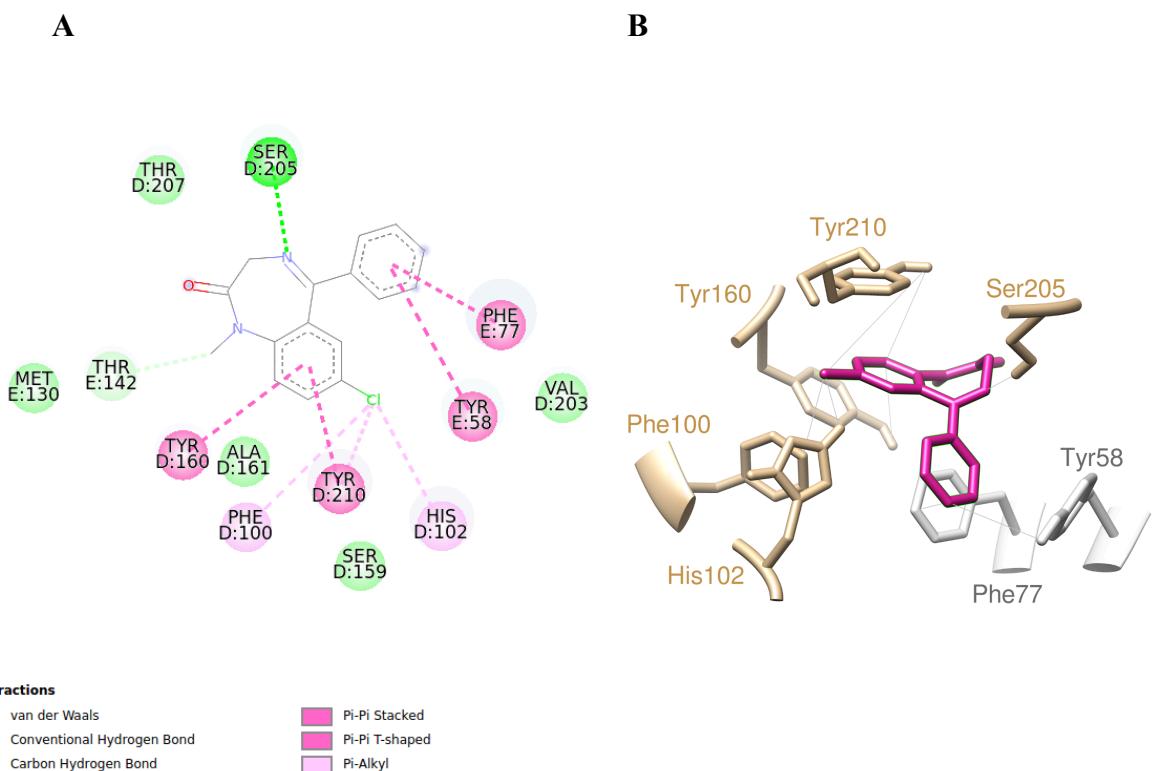


Fonte: Autoria própria.

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-alquil 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 alquil 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 <sup>a</sup> (g/mol)	nALH <sup>b</sup>	DLH <sup>c</sup>	LogP <sup>d</sup>	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

<sup>a</sup> Peso molecular;

<sup>b</sup> Número de aceptores de ligação de hidrogênio;

<sup>c</sup> Doadores de ligação de hidrogênio;

<sup>d</sup>Coeficiente de partição, consenso das cinco predições, LogP<sub>o/w</sub>(iLOGP), LogP<sub>o/w</sub>(XLOGP3), LogP<sub>o/w</sub>(WLOGP), LogP<sub>o/w</sub>(MLOGP), LogP<sub>o/w</sub>(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 ( $\leq 400$ ) 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  $\leq 7$  e Doador de ligação de hidrogênio  $\leq 3$ ) [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 Å<sup>2</sup> 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
<b>TPSA Å<sup>2</sup><sup>a</sup></b>	61,77	61,77	61,77
<b>BHE</b>	Sim	Sim	Sim
<b>AGI</b>	Alta	Alta	Alta
<b>gp-P</b>	Não	Não	Não
<b>CYP1A2</b>	Sim	Sim	Sim
<b>CYP2C19</b>	Sim	Sim	Sim
<b>CYP2C9</b>	Sim	Sim	Sim
<b>CYP2D6</b>	Não	Não	Não
<b>CYP3A4</b>	Não	Não	Não

<sup>a</sup> 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)

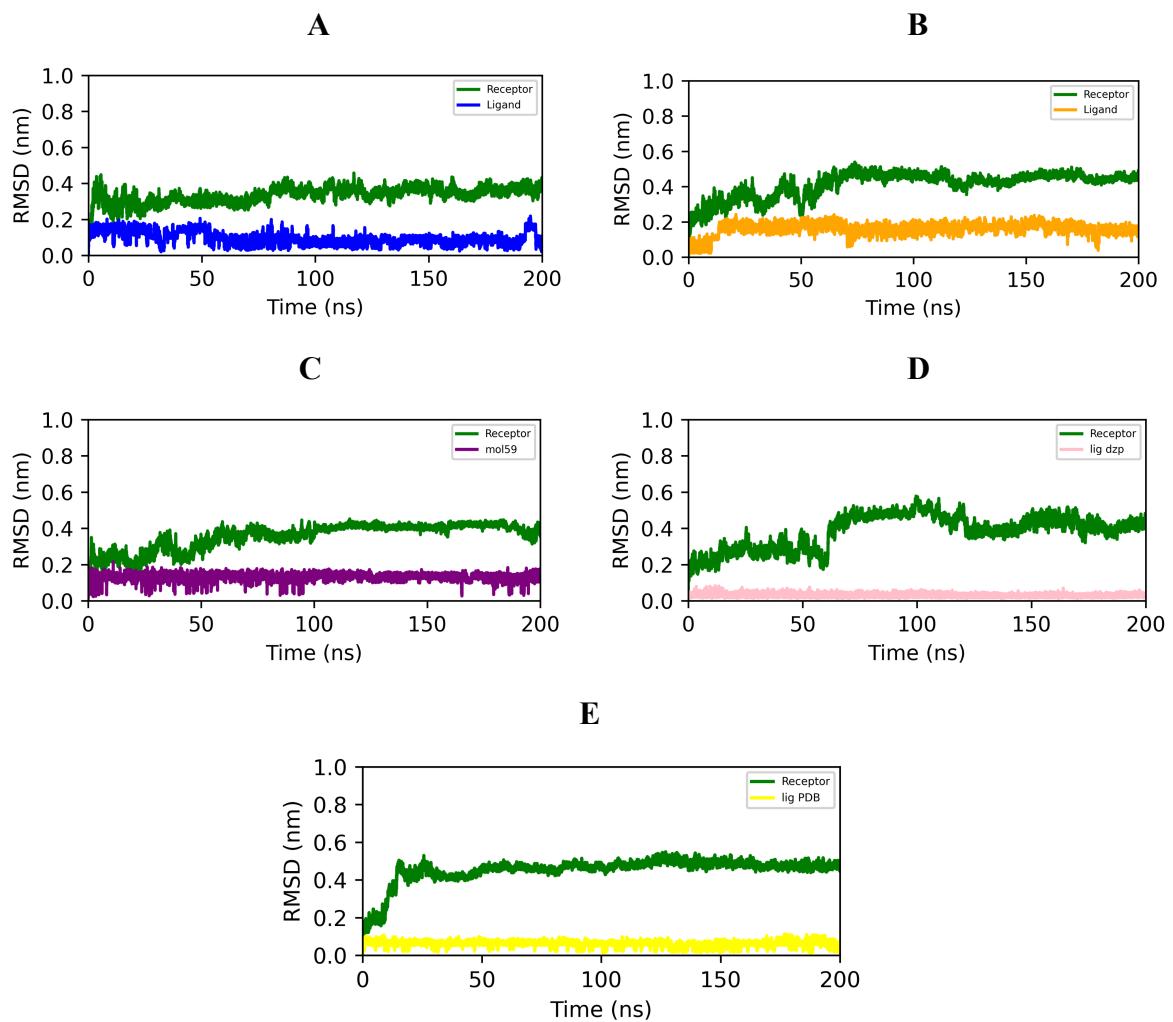
### 5.3. Simulação de Dinâmica Molecular e MM/PBSA

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 2 Å. O ligante mol57 também apresentou uma estabilidade e manteve seu RMSD próximo 2 Å (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 2 Å (0,2nm). Enquanto a molécula de diazepam e o ligante cristalográfico apresentaram valores de RMSD menores que 1 Å (0,1nm).

Figura 11 - RMSD do GABA<sub>A</sub> complexado com A) mol56, B) mol57, C) mol59, D) molécula de diazepam, E) ligante cristalográfico.

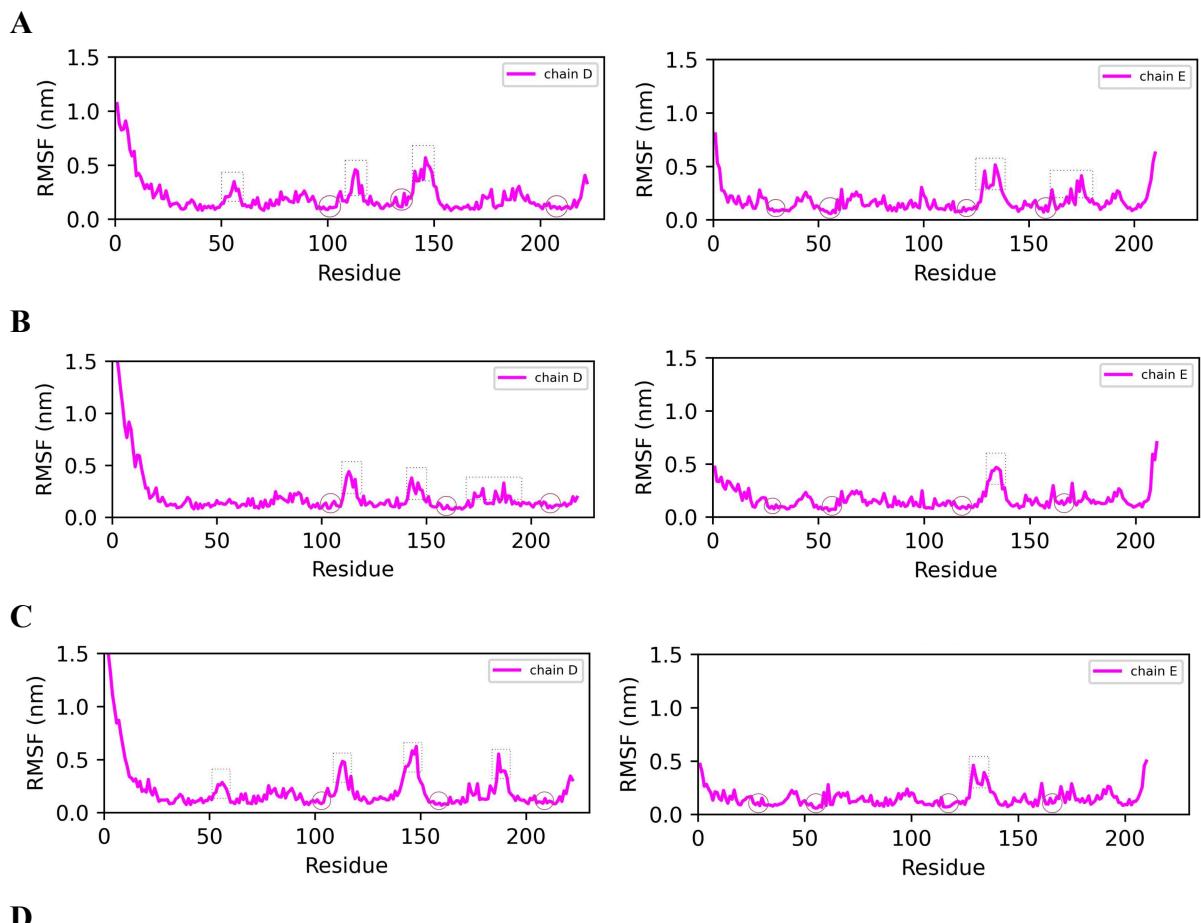


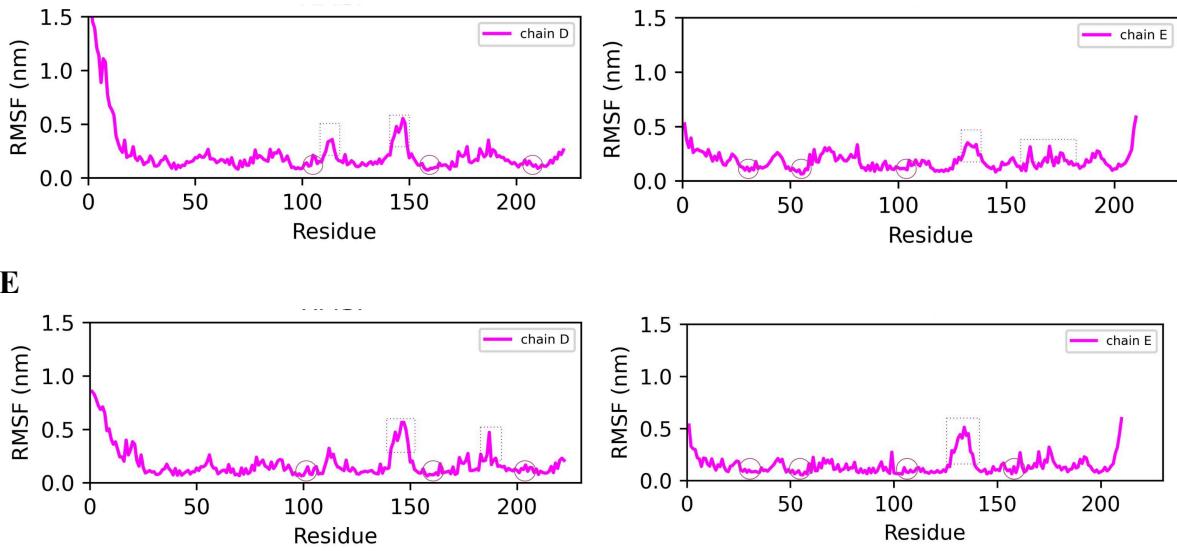
O gráfico do backbone da proteína para o complexo com o ligante cristalográfico apresentou, a partir de 15 ns, valores de RMSD entre 4 e 5 Å. O backbone para o complexo com diazepam apresentou baixos desvios no início da trajetória e a partir de 60 ns o RMSD variou entre 4 e 6 Å. Já para os complexos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

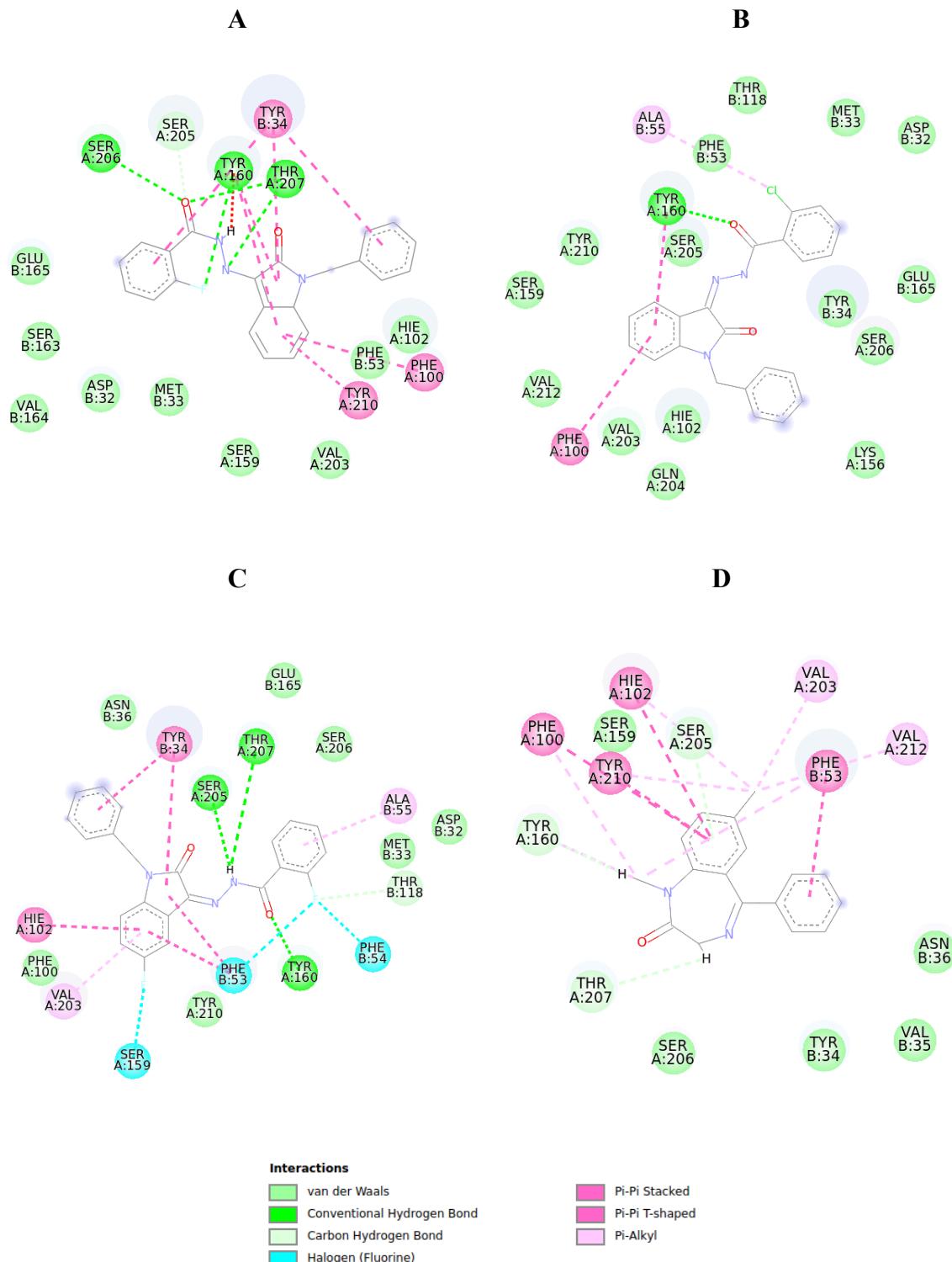




As regiões com maiores flutuações atômicas estão identificadas com retângulos pontilhados e representam as regiões de alças (*loops*). Essas regiões são conhecidas por sua alta flexibilidade conformacional, por isso tendem a apresentar os maiores valores de flutuação. Já os círculos nos gráficos estão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

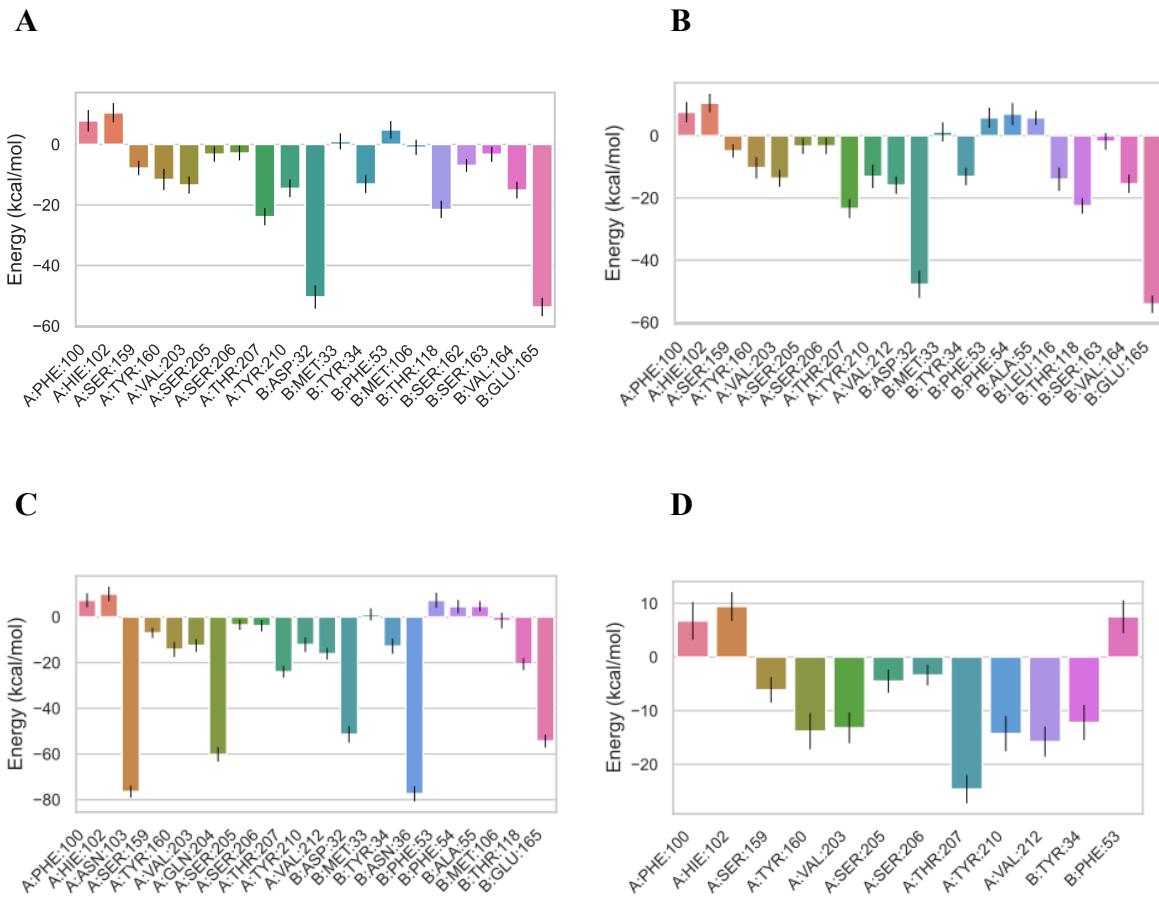
As trajetórias obtidas a partir das simulações de DM foram utilizadas para análise do MM/PBSA (Mecânica Molecular/Área de Superfície de Poisson-Boltzmann). Empregando a ferramenta gmx\_MMPSA, e o método MM/PBSA com o objetivo de calcular a energia livre de ligação dos complexos simulados. Na tabela 11,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

Tabela 11 - Resultados do cálculo do MM/PBSA

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

É possível visualizar que o  $\Delta G_{total}$  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  $\Delta G_{total}$  é decomposto no  $\Delta G_{gas}$ , que incluem as contribuições de van der Waals e eletrostática descritas na tabela, e  $\Delta G_{solv}$ , 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 GABA<sub>A</sub> 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 GABA<sub>A</sub> 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 Sodré. **Avaliação in silico da interação entre o receptor GABA<sub>A</sub> 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 arylhydrazones 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

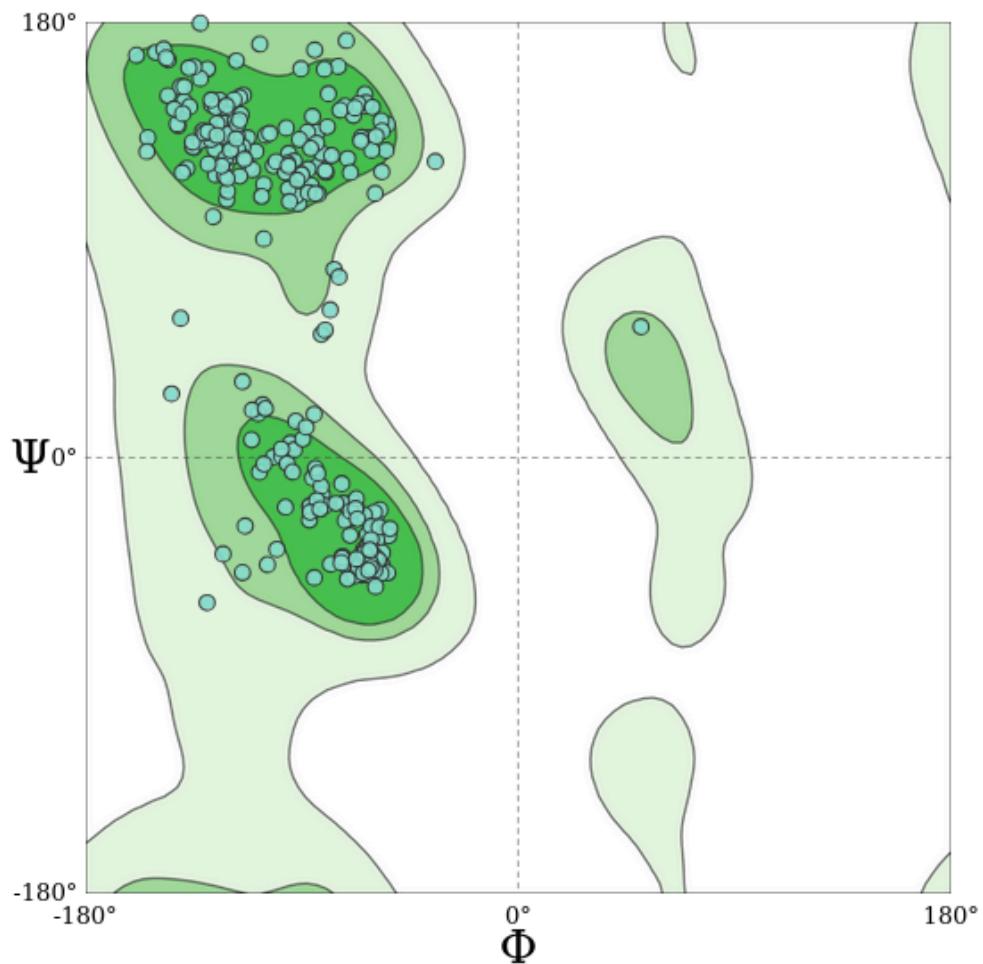
- [27] NGUYEN, Nguyen Thanh et al. Autodock vina adopts more accurate binding poses but autodock4 forms better binding affinity. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 60, n. 1, p. 204-211, 2019. DOI: 10.1021/acs.jcim.9b00778
- [28] SOUZA, Raphael Lopes. **Aplicação da técnica de ancoragem 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; MICHELIN, 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 *Mellissa 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 GABA<sub>A</sub> receptor via in silico model. **NeuroToxicology**, v. 95, p. 136-143, 2023. DOI: 10.1016/j.neuro.2023.01.012
- [45] NAMBA, Adriana Mieco; 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  $\gamma$ -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								
<b>mol 01</b>	-10	0,8547	-9,8	0,8673	-8,7	0,8788	-8,9	0,8165	-8,90	0,9889
<b>mol 02</b>	-10	0,8547	-10	0,8850	-8,5	0,8586	-9	0,8257	-8,20	0,9111
<b>mol 03</b>	-9,9	0,8462	-10,1	0,8938	-8,3	0,8384	-8,9	0,8165	-8,10	0,9000
<b>mol 04</b>	-9,2	0,7863	-9,7	0,8584	-9	0,9091	-9,2	0,8440	-8,60	0,9556
<b>mol 05</b>	-9,3	0,7949	-9,6	0,8496	-8,1	0,8182	-9,2	0,8440	-8,40	0,9333
<b>mol 06</b>	-9,5	0,8120	-9,4	0,8319	-8,1	0,8182	-9,1	0,8349	-7,80	0,8667
<b>mol 07</b>	-9,4	0,8034	-10	0,8850	-8,8	0,8889	-9,1	0,8349	-8,70	0,9667
<b>mol 08</b>	-9,2	0,7863	-9,7	0,8584	-8,3	0,8384	-9,1	0,8349	-8,70	0,9667
<b>mol 09</b>	-9,3	0,7949	-9,4	0,8319	-8,1	0,8182	-9,1	0,8349	-8,80	0,9778
<b>mol 10</b>	-9,4	0,8034	-9,7	0,8584	-9,5	0,9596	-9,6	0,8807	-8,70	0,9667
<b>mol 11</b>	-9,5	0,8120	-9,5	0,8407	-8,6	0,8687	-10,1	0,9266	-8,60	0,9556
<b>mol 12</b>	-9,8	0,8376	-9,3	0,8230	-8,5	0,8586	-10,2	0,9358	-8,80	0,9778
<b>mol 13</b>	-9,5	0,8120	-9,7	0,8584	-9	0,9091	-9,2	0,8440	-8,60	0,9556
<b>mol 14</b>	-9,6	0,8205	-9,9	0,8761	-8,7	0,8788	-9,3	0,8532	-8,40	0,9333
<b>mol 15</b>	-9,8	0,8376	-9,8	0,8673	-8,3	0,8384	-9,1	0,8349	-8,30	0,9222
<b>mol 16</b>	-9	0,7692	-9,7	0,8584	-8,9	0,8990	-9	0,8257	-8,20	0,9111
<b>mol 17</b>	-9,3	0,7949	-9,3	0,8230	-8,1	0,8182	-8,9	0,8165	-8,20	0,9111
<b>mol 18</b>	-9,4	0,8034	-9,1	0,8053	-8,1	0,8182	-9,1	0,8349	-8,20	0,9111
<b>mol 19</b>	-9,4	0,8034	-9,9	0,8761	-9,2	0,9293	-9,3	0,8532	-8,20	0,9111
<b>mol 20</b>	-9,5	0,8120	-9,7	0,8584	-8,2	0,8283	-9,3	0,8532	-8,50	0,9444
<b>mol 21</b>	-10	0,8547	-9,6	0,8496	-8,1	0,8182	-9	0,8257	-8,90	0,9889
<b>mol 22</b>	-9,7	0,8291	-9,9	0,8761	-9,2	0,9293	-9,7	0,8899	-8,40	0,9333
<b>mol 23</b>	-9,5	0,8120	-10	0,8850	-7,8	0,7879	-9,5	0,8716	-8,20	0,9111
<b>mol 24</b>	-10	0,8547	-10,2	0,9027	-7,7	0,7778	-9,3	0,8532	-7,80	0,8667
<b>mol 25</b>	-9,3	0,7949	-9,6	0,8496	-9	0,9091	-9	0,8257	-8,00	0,8889
<b>mol 26</b>	-9,5	0,8120	-9,4	0,8319	-7,8	0,7879	-9,3	0,8532	-7,90	0,8778
<b>mol 27</b>	-9,6	0,8205	-9,4	0,8319	-7,8	0,7879	-9,2	0,8440	-8,00	0,8889
<b>mol 28</b>	-9,5	0,8120	-9,8	0,8673	-9,3	0,9394	-9,6	0,8807	-8,10	0,9000
<b>mol 29</b>	-9,6	0,8205	-9,8	0,8673	-7,8	0,7879	-9,4	0,8624	-7,80	0,8667
<b>mol 30</b>	-10,1	0,8632	-9,8	0,8673	-7,9	0,7980	-9,4	0,8624	-7,80	0,8667
<b>mol 31</b>	-10,4	0,8889	-10	0,8850	-8,9	0,8990	-9,1	0,8349	-8,60	0,9556
<b>mol 32</b>	-9,9	0,8462	-10,3	0,9115	-7,8	0,7879	-9,5	0,8716	-7,90	0,8778
<b>mol 33</b>	-10,2	0,8718	-10,3	0,9115	-7,9	0,7980	-9,3	0,8532	-7,50	0,8333
<b>mol 34</b>	-9,2	0,7863	-9,5	0,8407	-9,2	0,9293	-9,5	0,8716	-8,00	0,8889

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

<b>mol 75</b>	-9,2	0,7863	-9	0,7965	-7,6	0,7677	-8,8	0,8073	-8,60	0,9556
<b>mol 76</b>	-9,3	0,7949	-9,2	0,8142	-8,3	0,8384	-8,6	0,7890	-8,40	0,9333
<b>mol 77</b>	-9,3	0,7949	-8,9	0,7876	-7,5	0,7576	-8,8	0,8073	-8,70	0,9667
<b>mol 78</b>	-9	0,7692	-8,9	0,7876	-7,5	0,7576	-9	0,8257	-8,60	0,9556
<b>mol 79</b>	-9,2	0,7863	-9	0,7965	-8,3	0,8384	-8,9	0,8165	-8,60	0,9556
<b>mol 80</b>	-9,5	0,8120	-9,1	0,8053	-7,8	0,7879	-9,2	0,8440	-8,80	0,9778
<b>mol 81</b>	-9	0,7692	-9,1	0,8053	-7,6	0,7677	-9	0,8257	-8,60	0,9556
<b>mol 82</b>	-9,1	0,7778	-9,2	0,8142	-8,4	0,8485	-8,5	0,7798	-8,30	0,9222
<b>mol 83</b>	-9	0,7692	-8,9	0,7876	-7,5	0,7576	-8,9	0,8165	-8,50	0,9444
<b>mol 84</b>	-8,7	0,7436	-8,9	0,7876	-7,6	0,7677	-9,1	0,8349	-8,50	0,9444
<b>mol 85</b>	-9,5	0,8120	-9,3	0,8230	-8,7	0,8788	-9,3	0,8532	-8,80	0,9778
<b>mol 86</b>	-9,7	0,8291	-8,9	0,7876	-8,5	0,8586	-9,7	0,8899	-8,80	0,9778
<b>mol 87</b>	-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
<b>mol 1</b>	67,06	0,7502	39,55	0,7469	36,30	0,8108	57,04	0,7495
<b>mol 2</b>	71,11	0,7955	42,74	0,8072	36,87	0,8235	61,13	0,8033
<b>mol 3</b>	74,21	0,8302	43,27	0,8172	35,55	0,7941	62,46	0,8208
<b>mol 4</b>	65,13	0,7286	41	0,7743	36,83	0,8227	59,66	0,7840
<b>mol 5</b>	65,53	0,7331	41,73	0,7881	36,62	0,8180	64,46	0,8470
<b>mol 6</b>	66,90	0,7484	39,9	0,7535	33,92	0,7577	63,62	0,8360
<b>mol 7</b>	57,16	0,6395	38,82	0,7331	35,47	0,7923	58,83	0,7731
<b>mol 8</b>	64,34	0,7198	40,87	0,7719	35,81	0,7999	63,26	0,8313
<b>mol 9</b>	66,65	0,7456	42,38	0,8004	34,34	0,7670	65,53	0,8611
<b>mol 10</b>	66,06	0,7390	42,7	0,8064	31,31	0,6994	61	0,8016
<b>mol 11</b>	58,29	0,6521	44,83	0,8467	30,50	0,6813	65,33	0,8585
<b>mol 12</b>	69,49	0,7774	48,12	0,9088	32,55	0,7271	60,45	0,7944
<b>mol 13</b>	65,05	0,7277	42,44	0,8015	35,09	0,7838	56,34	0,7403
<b>mol 14</b>	67,93	0,7599	43,6	0,8234	36,05	0,8052	61,93	0,8138
<b>mol 15</b>	68,30	0,7641	43,42	0,8200	32,98	0,7367	63,51	0,8346
<b>mol 16</b>	65,11	0,7284	39,66	0,7490	37,07	0,8280	60,17	0,7907
<b>mol 17</b>	65,70	0,7350	40,78	0,7702	36,83	0,8227	65,52	0,8610
<b>mol 18</b>	66,65	0,7456	40,21	0,7594	33,92	0,7577	66,38	0,8723
<b>mol 19</b>	65,64	0,7343	41,55	0,7847	36,93	0,8249	59,79	0,7857
<b>mol 20</b>	66,71	0,7463	41,93	0,7919	37,11	0,8289	65,74	0,8639
<b>mol 21</b>	69,07	0,7727	41,71	0,7877	33,97	0,7588	65,37	0,8590
<b>mol 22</b>	71,66	0,8017	41,13	0,7768	36,28	0,8104	59,3	0,7792
<b>mol 23</b>	68,30	0,7641	44,48	0,8400	35,80	0,7996	62,15	0,8167
<b>mol 24</b>	70,13	0,7845	44,21	0,8349	35,73	0,7981	63,32	0,8321
<b>mol 25</b>	65,78	0,7359	39,65	0,7488	37,93	0,8472	63,15	0,8298
<b>mol 26</b>	63,58	0,7113	43,48	0,8212	36,79	0,8218	66,67	0,8761
<b>mol 27</b>	67,99	0,7606	41,24	0,7789	34,95	0,7807	66,78	0,8775
<b>mol 28</b>	68,90	0,7708	40,66	0,7679	38,25	0,8544	62,43	0,8204
<b>mol 29</b>	65,86	0,7368	42,35	0,7998	38,86	0,8680	66,71	0,8766
<b>mol 30</b>	69,12	0,7732	42,63	0,8051	36,31	0,8110	62,36	0,8195
<b>mol 31</b>	68,05	0,7613	41,85	0,7904	39,24	0,8765	58,76	0,7721
<b>mol 32</b>	70,22	0,7856	42,06	0,7943	38,97	0,8705	62,89	0,8264
<b>mol 33</b>	80,11	0,8962	43,12	0,8144	39,20	0,8756	63,27	0,8314
<b>mol 34</b>	67,36	0,7536	39,94	0,7543	38,26	0,8546	60,53	0,7954
<b>mol 35</b>	65,03	0,7275	42,05	0,7942	36,42	0,8135	66,06	0,8681
<b>mol 36</b>	67,18	0,7515	41,45	0,7828	33,74	0,7536	66,93	0,8795

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

<b>mol 77</b>	60,80	0,6802	40,8700	0,7719	35,42	0,7912	69,51	0,9134
<b>mol 78</b>	68,36	0,7647	41,3800	0,7815	34,30	0,7661	74,76	0,9824
<b>mol 79</b>	58,82	0,6580	39,6800	0,7494	33,32	0,7443	62,02	0,8150
<b>mol 80</b>	62,64	0,7008	39,5400	0,7467	36,04	0,8050	66,49	0,8737
<b>mol 81</b>	70,13	0,7845	41,8400	0,7902	35,61	0,7954	71,41	0,9384
<b>mol 82</b>	54,42	0,6088	41,8700	0,7908	34,19	0,7637	65,11	0,8556
<b>mol 83</b>	61,10	0,6835	40,4400	0,7637	33,56	0,7496	69,48	0,9130
<b>mol 84</b>	66,39	0,7427	41,3000	0,7800	34,59	0,7726	75,29	0,9894
<b>mol 85</b>	64,00	0,7160	44,2700	0,8361	36,64	0,8184	64,95	0,8535
<b>mol 86</b>	64,11	0,7172	46,0000	0,8687	38,21	0,8535	68,92	0,9057
<b>mol 87</b>	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
<b>mol 1</b>	61,97	0,6913	30,87	0,6923	25,8	0,7100	48,51	0,6528
<b>mol 2</b>	69,26	0,7726	34,52	0,7742	27,15	0,7471	52,34	0,7043
<b>mol 3</b>	74,76	0,8340	34,61	0,7762	26,93	0,7411	56,69	0,7629
<b>mol 4</b>	61,17	0,6824	31,36	0,7033	26,38	0,7259	53,03	0,7136
<b>mol 5</b>	63,67	0,7103	34,56	0,7751	26,43	0,7273	54,36	0,7315
<b>mol 6</b>	71,14	0,7936	34,48	0,7733	27,13	0,7466	59,03	0,7944
<b>mol 7</b>	65,18	0,7271	31,72	0,7114	26,4	0,7265	53,21	0,7161
<b>mol 8</b>	66,64	0,7434	33	0,7401	27,95	0,7691	55,15	0,7422
<b>mol 9</b>	74,11	0,8268	35,18	0,7890	27,7	0,7622	60,95	0,8202
<b>mol 10</b>	62,15	0,6933	36,66	0,8222	29,36	0,8079	56,95	0,7664
<b>mol 11</b>	63,88	0,7126	35,35	0,7928	28,69	0,7895	53,2	0,7159
<b>mol 12</b>	69,59	0,7763	35,98	0,8069	26,75	0,7361	56,81	0,7645
<b>mol 13</b>	63,42	0,7075	32,97	0,7394	26,14	0,7193	48,97	0,6590
<b>mol 14</b>	67,79	0,7562	35,87	0,8044	25,83	0,7108	51,66	0,6952
<b>mol 15</b>	74,51	0,8312	35,62	0,7988	25,34	0,6973	56,45	0,7597
<b>mol 16</b>	60,71	0,6773	31,12	0,6979	25,72	0,7078	52,98	0,7130
<b>mol 17</b>	62,33	0,6953	33,47	0,7506	26,54	0,7303	54,09	0,7279
<b>mol 18</b>	71,5	0,7976	33,76	0,7571	26,53	0,7300	59,02	0,7942
<b>mol 19</b>	62,03	0,6920	31,57	0,7080	26,8	0,7375	51,78	0,6968
<b>mol 20</b>	65,01	0,7252	33,94	0,7612	26,65	0,7334	54,53	0,7338
<b>mol 21</b>	73,77	0,8230	34,54	0,7746	27,26	0,7501	58,01	0,7806
<b>mol 22</b>	67,41	0,7520	35,29	0,7914	27,1	0,7457	52,17	0,7021
<b>mol 23</b>	71,14	0,7936	38,77	0,8695	28,73	0,7906	53,49	0,7198
<b>mol 24</b>	78,29	0,8734	38,86	0,8715	29,05	0,7994	59,82	0,8050
<b>mol 25</b>	64,59	0,7205	34,06	0,7638	27,8	0,7650	56,35	0,7583
<b>mol 26</b>	68,19	0,7607	34,11	0,7650	29,6	0,8145	55,35	0,7449
<b>mol 27</b>	76,42	0,8525	36,36	0,8154	30,12	0,8288	60,67	0,8164
<b>mol 28</b>	65,88	0,7349	34,56	0,7751	27,96	0,7694	52,27	0,7034
<b>mol 29</b>	69,21	0,7721	36,97	0,8291	29,63	0,8154	55,16	0,7423
<b>mol 30</b>	77,94	0,8695	36,68	0,8226	30,02	0,8261	60,13	0,8092
<b>mol 31</b>	65,22	0,7276	34,63	0,7766	27,5	0,7567	51,66	0,6952
<b>mol 32</b>	71,84	0,8014	36,8	0,8253	29,06	0,7997	54,59	0,7346
<b>mol 33</b>	80,92	0,9027	37,86	0,8491	28,95	0,7966	61,5	0,8276
<b>mol 34</b>	64,44	0,7189	35,03	0,7856	27,81	0,7653	55,36	0,7450
<b>mol 35</b>	68,76	0,7671	34,41	0,7717	29,83	0,8209	54,35	0,7314
<b>mol 36</b>	77,13	0,8604	36,14	0,8105	29,58	0,8140	60,66	0,8163

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

<b>mol 77</b>	65,08	0,7260	33,99	0,7623	26,52	0,7298	64,06	0,8621
<b>mol 78</b>	64,25	0,7168	34,02	0,7630	25,99	0,7152	69,62	0,9369
<b>mol 79</b>	51,42	0,5736	33,68	0,7553	27,62	0,7600	58,16	0,7827
<b>mol 80</b>	58,07	0,6478	33,94	0,7612	27,17	0,7477	60,33	0,8119
<b>mol 81</b>	63,52	0,7086	35,13	0,7878	25,97	0,7146	71,59	0,9634
<b>mol 82</b>	62,36	0,6957	33,04	0,7410	26,48	0,7287	60,91	0,8197
<b>mol 83</b>	62,57	0,6980	34,03	0,7632	25,56	0,7034	64,2	0,8639
<b>mol 84</b>	63,5	0,7084	33,72	0,7562	25,2	0,6935	70,27	0,9456
<b>mol 85</b>	64,38	0,7182	34,1	0,7647	28,2	0,7760	63,59	0,8557
<b>mol 86</b>	68,1	0,7597	36,94	0,8284	29,02	0,7986	66,91	0,9004
<b>mol 87</b>	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
<b>mol 1</b>	68,63	0,8647	35,8	0,8402	36,68	0,9008	55,74	0,7712
<b>mol 2</b>	58,36	0,7353	32,63	0,7658	30,5	0,7490	51,23	0,7088
<b>mol 3</b>	64,89	0,8176	32,1	0,7533	28,15	0,6913	58,66	0,8116
<b>mol 4</b>	71,94	0,9064	36,99	0,8681	38,03	0,9339	61,24	0,8473
<b>mol 5</b>	57,92	0,7298	30,8	0,7228	29,86	0,7333	52,36	0,7244
<b>mol 6</b>	66,62	0,8394	33,36	0,7829	28,7	0,7048	56,57	0,7827
<b>mol 7</b>	64,83	0,8168	36,25	0,8507	39,3	0,9651	59,81	0,8275
<b>mol 8</b>	57,78	0,7280	30,94	0,7261	31,55	0,7748	54,45	0,7533
<b>mol 9</b>	62,77	0,7909	33,95	0,7968	30,85	0,7576	59,25	0,8197
<b>mol 10</b>	77,54	0,9769	39,68	0,9312	39,34	0,9661	61,07	0,8449
<b>mol 11</b>	64,63	0,8143	33,96	0,7970	30,85	0,7576	58,61	0,8109
<b>mol 12</b>	70,31	0,8859	36,35	0,8531	31,32	0,7692	60,65	0,8391
<b>mol 13</b>	72,86	0,9180	37,03	0,8690	36,72	0,9018	57,98	0,8022
<b>mol 14</b>	58,3	0,7345	32,18	0,7552	29,74	0,7304	53,96	0,7465
<b>mol 15</b>	66,78	0,8414	33,22	0,7796	27,57	0,6771	57,27	0,7923
<b>mol 16</b>	71,53	0,9012	37,44	0,8787	37,86	0,9298	61,78	0,8547
<b>mol 17</b>	58,17	0,7329	30,48	0,7153	29,62	0,7274	53,45	0,7395
<b>mol 18</b>	66,12	0,8331	31,88	0,7482	28,88	0,7092	58,92	0,8152
<b>mol 19</b>	72,13	0,9088	37,05	0,8695	38,06	0,9347	61,76	0,8545
<b>mol 20</b>	58,7	0,7396	30,46	0,7149	29,99	0,7365	52,69	0,7290
<b>mol 21</b>	65,62	0,8268	32,29	0,7578	28,7	0,7048	59,26	0,8199
<b>mol 22</b>	73,64	0,9278	38,13	0,8949	37,81	0,9285	58,01	0,8026
<b>mol 23</b>	61,08	0,7696	32,99	0,7742	30,54	0,7500	54,34	0,7518
<b>mol 24</b>	68,43	0,8622	34,09	0,8001	30,01	0,7370	58,37	0,8076
<b>mol 25</b>	72,62	0,9150	38,18	0,8960	38,71	0,9506	62,75	0,8682
<b>mol 26</b>	61,21	0,7712	30,26	0,7102	31,03	0,7620	55,22	0,7640
<b>mol 27</b>	67,98	0,8565	31	0,7275	30,78	0,7559	59,42	0,8221
<b>mol 28</b>	74,14	0,9341	38,52	0,9040	39,1	0,9602	62,52	0,8650
<b>mol 29</b>	60,37	0,7606	30,15	0,7076	31	0,7613	55,01	0,7611
<b>mol 30</b>	67,93	0,8559	32,98	0,7740	30,38	0,7461	59,63	0,8250
<b>mol 31</b>	70,8	0,8920	37,68	0,8843	37,93	0,9315	58,66	0,8116
<b>mol 32</b>	60,87	0,7669	30,76	0,7219	31,33	0,7694	55,27	0,7647
<b>mol 33</b>	64,69	0,8150	31,28	0,7341	30,04	0,7377	60,31	0,8344
<b>mol 34</b>	73,19	0,9221	39,06	0,9167	39,01	0,9580	61,93	0,8568
<b>mol 35</b>	58,76	0,7403	30,51	0,7160	30,61	0,7517	55,94	0,7739
<b>mol 36</b>	67,44	0,8497	32,03	0,7517	29,35	0,7208	58,74	0,8127

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

<b>mol 77</b>	57,94	0,7300	31,83	0,7470	31,23	0,7669	60,88	0,8423
<b>mol 78</b>	59,82	0,7537	33,09	0,7766	29,56	0,7259	65,31	0,9036
<b>mol 79</b>	63,55	0,8007	36,58	0,8585	38,23	0,9389	63,88	0,8838
<b>mol 80</b>	56,25	0,7087	30,73	0,7212	31,53	0,7743	63,29	0,8756
<b>mol 81</b>	65	0,8190	32,72	0,7679	30,27	0,7434	67,15	0,9290
<b>mol 82</b>	66,31	0,8355	35,72	0,8383	35,86	0,8807	66,76	0,9236
<b>mol 83</b>	57,47	0,7241	32,29	0,7578	30,13	0,7399	60,41	0,8358
<b>mol 84</b>	60,98	0,7683	31,65	0,7428	29,85	0,7331	65,44	0,9054
<b>mol 85</b>	72,63	0,9151	37,96	0,8909	37,78	0,9278	66,02	0,9134
<b>mol 86</b>	72,38	0,9119	34,92	0,8195	35,89	0,8814	64,82	0,8968
<b>mol 87</b>	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
<b>mol 1</b>	58,09	0,6310	31,14	0,7018	32,59	0,8221	51,91	0,7111
<b>mol 2</b>	65,56	0,7121	33,2	0,7483	31,13	0,7853	54,18	0,7422
<b>mol 3</b>	73,32	0,7964	36,04	0,8123	33,64	0,8486	62,36	0,8542
<b>mol 4</b>	60,74	0,6598	31,13	0,7016	31,74	0,8007	58,33	0,7990
<b>mol 5</b>	66,9	0,7267	34,03	0,7670	32,92	0,8305	54,98	0,7532
<b>mol 6</b>	72,27	0,7850	35,14	0,7920	33,25	0,8388	61,85	0,8473
<b>mol 7</b>	64,28	0,6982	32,67	0,7363	31,79	0,8020	55,4	0,7589
<b>mol 8</b>	68,78	0,7471	35,27	0,7949	33,57	0,8469	55,27	0,7571
<b>mol 9</b>	71,91	0,7811	31,14	0,7018	33,62	0,8481	64,46	0,8830
<b>mol 10</b>	61,26	0,6654	33,03	0,7444	31,95	0,8060	52,96	0,7255
<b>mol 11</b>	63,27	0,6873	36,45	0,8215	33,39	0,8423	57,42	0,7866
<b>mol 12</b>	72,21	0,7844	37,43	0,8436	34,76	0,8769	65,92	0,9030
<b>mol 13</b>	60,99	0,6625	32,64	0,7356	30,77	0,7762	51,46	0,7049
<b>mol 14</b>	65,9	0,7158	34,48	0,7771	31,56	0,7962	57,06	0,7816
<b>mol 15</b>	73,51	0,7985	37,13	0,8368	31,79	0,8020	58,92	0,8071
<b>mol 16</b>	60,48	0,6570	30,74	0,6928	31,63	0,7979	51,4	0,7041
<b>mol 17</b>	64,59	0,7016	33,32	0,7510	32,12	0,8103	53,77	0,7366
<b>mol 18</b>	72,91	0,7920	34,38	0,7748	33,36	0,8416	61,31	0,8399
<b>mol 19</b>	60,78	0,6602	30,75	0,6930	31,35	0,7909	51,5	0,7055
<b>mol 20</b>	65,13	0,7075	33,62	0,7577	32,38	0,8169	54,84	0,7512
<b>mol 21</b>	74,61	0,8104	35,45	0,7990	34,12	0,8607	60,43	0,8278
<b>mol 22</b>	63,58	0,6906	33,43	0,7534	31,03	0,7828	55,72	0,7633
<b>mol 23</b>	68,62	0,7454	36,22	0,8163	32,58	0,8219	56	0,7671
<b>mol 24</b>	76,94	0,8358	37,26	0,8398	33,61	0,8479	61,66	0,8447
<b>mol 25</b>	63,06	0,6850	31,78	0,7162	33,12	0,8355	54,12	0,7414
<b>mol 26</b>	67,87	0,7372	34,55	0,7787	34,1	0,8602	60,57	0,8297
<b>mol 27</b>	76	0,8255	36,58	0,8244	34,58	0,8724	64,68	0,8860
<b>mol 28</b>	63,72	0,6922	32,4	0,7302	31,66	0,7987	59,86	0,8200
<b>mol 29</b>	68,65	0,7457	34,88	0,7861	34,74	0,8764	56,89	0,7793
<b>mol 30</b>	76,83	0,8346	37,08	0,8357	35,66	0,8996	63,61	0,8714
<b>mol 31</b>	60,56	0,6578	31,6	0,7122	33,32	0,8406	57,35	0,7856
<b>mol 32</b>	66,31	0,7203	34,24	0,7717	32,61	0,8227	58,98	0,8079
<b>mol 33</b>	73,84	0,8021	35,55	0,8012	34,44	0,8688	63,24	0,8663
<b>mol 34</b>	63,08	0,6852	33,01	0,7440	32,91	0,8302	52,84	0,7238
<b>mol 35</b>	68	0,7386	36,11	0,8138	34,27	0,8645	55,53	0,7607
<b>mol 36</b>	76,1	0,8266	35,86	0,8082	34,99	0,8827	60,28	0,8258
<b>mol 37</b>	69,16	0,7512	34,36	0,7744	32,76	0,8264	54,99	0,7533
<b>mol 38</b>	70,38	0,7645	35,28	0,7951	33,62	0,8481	57,59	0,7889

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

<b>mol 81</b>	75,56	0,8208	31,48	0,7095	34,6	0,8729	66,01	0,9042
<b>mol 82</b>	61,67	0,6699	29,78	0,6712	32,42	0,8179	59,58	0,8162
<b>mol 83</b>	64,75	0,7033	33,45	0,7539	33,53	0,8459	64,88	0,8888
<b>mol 84</b>	66,67	0,7242	32,01	0,7214	33,68	0,8496	64,15	0,8788
<b>mol 85</b>	63,52	0,6900	31,44	0,7086	33,32	0,8406	60,68	0,8312
<b>mol 86</b>	68,45	0,7435	33,29	0,7503	31,02	0,7825	63,82	0,8742
<b>mol 87</b>	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
<b>mol 1</b>	64,29	0,7836	31,11	0,7870	32,59	0,8859	55,83	0,7569
<b>mol 2</b>	64,98	0,7921	30,42	0,7695	31,13	0,8822	55,81	0,7566
<b>mol 3</b>	71,64	0,8732	29,88	0,7559	33,64	0,8750	62,17	0,8429
<b>mol 4</b>	63,27	0,7712	29,26	0,7402	31,74	0,8900	57,83	0,7840
<b>mol 5</b>	63,71	0,7766	31,26	0,7908	32,92	0,8978	58,19	0,7889
<b>mol 6</b>	71,87	0,8760	30,31	0,7668	33,25	0,8810	64,2	0,8704
<b>mol 7</b>	70,04	0,8537	30,81	0,7794	31,79	0,9199	60,62	0,8219
<b>mol 8</b>	66,55	0,8112	31,66	0,8009	33,57	0,8914	60,78	0,8240
<b>mol 9</b>	76,12	0,9278	32,71	0,8275	33,62	0,9260	67,53	0,9155
<b>mol 10</b>	67,49	0,8226	30,23	0,7647	31,95	0,9070	57,53	0,7800
<b>mol 11</b>	67,12	0,8181	32,67	0,8265	33,39	0,9084	57,99	0,7862
<b>mol 12</b>	78,29	0,9543	34,08	0,8621	34,76	0,9493	61,97	0,8402
<b>mol 13</b>	63,12	0,7694	32,55	0,8234	30,77	0,8825	60,41	0,8190
<b>mol 14</b>	64,17	0,7822	31,01	0,7845	31,56	0,8704	56,17	0,7615
<b>mol 15</b>	74,05	0,9026	31,91	0,8072	31,79	0,8721	63,55	0,8616
<b>mol 16</b>	63,71	0,7766	28,91	0,7313	31,63	0,8744	61,9	0,8392
<b>mol 17</b>	62	0,7557	29,93	0,7571	32,12	0,9090	58,3	0,7904
<b>mol 18</b>	73,72	0,8986	30,86	0,7807	33,36	0,8931	65,01	0,8814
<b>mol 19</b>	64,73	0,7890	30,57	0,7733	31,35	0,8857	57,49	0,7794
<b>mol 20</b>	64,94	0,7916	31,35	0,7931	32,38	0,8767	58,54	0,7937
<b>mol 21</b>	77,64	0,9464	33,22	0,8404	34,12	0,9418	66,18	0,8972
<b>mol 22</b>	66,65	0,8124	32,2	0,8146	31,03	0,8785	57,37	0,7778
<b>mol 23</b>	65,76	0,8016	31,42	0,7948	32,58	0,8456	56,41	0,7648
<b>mol 24</b>	75,84	0,9244	30,31	0,7668	33,61	0,8787	63,89	0,8662
<b>mol 25</b>	65,59	0,7995	30,05	0,7602	33,12	0,8865	59,72	0,8097
<b>mol 26</b>	64,24	0,7830	27,48	0,6952	34,10	0,8773	58,8	0,7972
<b>mol 27</b>	74,13	0,9036	29,78	0,7534	34,58	0,9003	65,26	0,8848
<b>mol 28</b>	66,78	0,8140	31,46	0,7959	31,66	0,9050	63,51	0,8610
<b>mol 29</b>	64,24	0,7830	29,46	0,7453	34,74	0,8695	58,47	0,7927
<b>mol 30</b>	74,21	0,9046	30,13	0,7622	35,66	0,8851	65,38	0,8864
<b>mol 31</b>	68,27	0,8322	31,49	0,7966	33,32	0,9113	56,37	0,7642
<b>mol 32</b>	65,71	0,8010	30,3	0,7665	32,61	0,8499	56,74	0,7693
<b>mol 33</b>	75,19	0,9165	29,09	0,7359	34,44	0,8842	63,4	0,8595
<b>mol 34</b>	67,69	0,8251	29,79	0,7536	32,91	0,9280	58,66	0,7953
<b>mol 35</b>	64	0,7801	29,51	0,7465	34,27	0,8767	59,62	0,8083
<b>mol 36</b>	70,12	0,8547	32,12	0,8125	34,99	0,8764	65,07	0,8822
<b>mol 37</b>	70,14	0,8549	28,86	0,7301	32,76	0,9289	62,31	0,8448
<b>mol 38</b>	66,34	0,8086	29,92	0,7569	33,62	0,9349	61,59	0,8350

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

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