

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO BIOTECNOLOGIA

Prospecção Virtual de potenciais inibidores da proteína transportadora de serotonina
sódio-dependente humana (SERT)

Ian Faria Paniago

Prof. Dr. Nilson Nicolau Junior
Instituto de Biotecnologia

Uberlândia

Julho/2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO BIOTECNOLOGIA

Prospecção Virtual de potenciais inibidores da proteína transportadora de serotonina sódio-dependente humana (SERT)

Projeto de pesquisa apresentado como requisito para aprovação na disciplina Trabalho de Conclusão de Curso II, do curso de Biotecnologia – Bacharelado da Universidade Federal de Uberlândia, sob a orientação do Prof. Dr. Nilson Nicolau Junior

Homologado pela coordenação do curso de Biotecnologia em ___/___/___

Prof. Dr. Edgar Silveira Campos

Uberlândia

Julho/2018

*Dedico este trabalho a meus pais,
que sempre estão perto
mesmo a 427km de distância*

AGRADECIMENTOS

*Agradeço a todos que estiveram presentes
nessa jornada ao meu lado*

*Em especial, meus pais,
que me deram apoio e carinho
mesmo quando o tempo estava difícil*

*Ao Nilson Nicolau Junior, orientador
amigo, que me guiou nessa jornada*

*A toda a minha família
que está sempre de coração aberto para mim*

*A todos os meus amigos
que me motivaram e estão sempre por perto*

LISTA DE ABREVIATURAS

ADMET – Características Farmacocinéticas envolvidas na absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade

AUC – Área abaixo da curva

CADD – Design de Drogas Auxiliado por Computador

HTS – *High Throughput Screening*

ISRS – Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina

LQTS – Síndrome do QT longo

NSS – Sódio-Simportadores de Neurotransmissores

pkCSM – Programa que avalia as cinco principais classes de propriedades farmacocinéticas (ADMET)

ROC – Características Operacionais do Receptor

ROCS – Técnica rápida e realiza a triagem virtual a uma taxa de 600 – 800 confôrmeros por segundo

SERT – Proteína Transportadora de Serotonina Sódio-Dependente Humana

vHTS – *virtual High Throughput Screening*

vROCS – Programa baseado no método de comparação de forma

1. Introdução

A indústria farmacêutica busca sempre novos compostos químicos com a intenção de lançar novos medicamentos. Para tal, as empresas realizam o chamado *High Throughput Screening* (HTS), em que milhares de moléculas são testadas *in vitro* contra um alvo de interesse médico. Apesar de essa técnica ser usada há anos com efetividade, ela apresenta um baixo rendimento e custos elevados.

O presente trabalho se utiliza da técnica vHTS, sigla para *virtual High Throughput Screening*, ou seja, uma técnica *in silico* para triagem bancos de dados com milhares de moléculas, com o objetivo de selecionar compostos para os posteriores testes experimentais. Esse tipo de abordagem aumenta o rendimento dos testes, porque economiza tempo e recursos. O alvo biológico deste trabalho é a Proteína Transportadora de Serotonina Sódio-Dependente Humana (SERT), que se encontra nos neurônios pré-sinápticos, reciclando a serotonina presente na fenda sináptica. Essa proteína é usada atualmente como alvo de diversos medicamentos antidepressivos.

1.1. Revisão de literatura

1.1.1 Ansiedade e Depressão

A ansiedade constitui de uma reação de comportamentos de defesa, sentimentos ruins e reflexos de alerta, que podem ser causados por diversos gatilhos. O estado patológico identifica-se quando esses sintomas começam a interferir negativamente na vida do paciente (RANG et al., 2015). A depressão é um mal que se constitui principalmente de humor depressivo, apatia, pessimismo, indecisão, anedonia, além dos sintomas biológicos como distúrbios do sono, perda de apetite e perda da libido (RANG

et al., 2015). Os Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina (ISRS) são a principal forma de tratamento por medicamento da depressão. Eles bloqueiam a Proteína Transportadora de Serotonina Sódio-Dependente Humana, impedindo a recepção do neurotransmissor para o neurônio pré-sináptico, aumentando a disponibilidade de serotonina na fenda sináptica (RANG et al., 2015). Os ISRS promovem um efeito terapêutico bem satisfatório, porém, trazem também diversos efeitos colaterais, como anorgasmia, perda da libido, boca seca, diarreia, sonolência, cefaleia e tontura (ZORZETTO, 2010) (BALA; NGUYEN; HELLSTROM, 2017). Todos esses sintomas são uma barreira ao tratamento, visto que alguns pacientes se sentem desencorajados de continuar tomando a medicação. Vê-se, então, a necessidade da busca de novos medicamentos ISRS, que promovam um bom efeito terapêutico com uma menor ocorrência de efeitos colaterais, para que haja uma maior adesão ao tratamento. A Proteína Transportadora de Serotonina Sódio-Dependente Humana é um importante alvo para avaliação de novos possíveis fármacos contra a ansiedade *in silico*, tendo como principal inibidor desenvolvido, a paroxetina.

1.1.2 SERT

A Proteína Transportadora de Serotonina Sódio-Dependente Humana (SERT) é membro da família dos Sódio-Simportadores de Neurotransmissores (NSS). Os NSSs determinam a sinalização de aminas biogênicas, recaptando-as num processo sódio ou cloro-dependentes (COLEMAN; GREEN; GOUAUX, 2016).

A SERT controla a sinalização de serotonina no sistema nervoso central mediando a recaptação de serotonina da fenda sináptica para o neurônio pré sináptico (COLEMAN; GOUAUX, 2018) .

Logo, a SERT é o principal alvo para drogas antidepressivas (COLEMAN; GOUAUX, 2018) e por isso foi escolhida como alvo proteico para esse trabalho.

1.1.3 Design de Drogas Auxiliado por Computador

O Design de Drogas Auxiliado por Computador (CADD, em inglês) é importante para a economia tanto de tempo quanto de recursos financeiros, por encontrar, com maior rapidez e por métodos computacionais, ligantes que são potenciais novos fármacos (SHANMUGAM; JEON, 2017). O CADD vem se mostrando uma ferramenta muito importante na busca de novos fármacos. Recentemente, essa técnica foi utilizada na busca de inibidores da proteína FLT3, importante alvo para leucemias (BHARATE et al., 2018). Uma das principais abordagens em CADD baseado na estrutura do alvo é a chamada ancoragem molecular. A ancoragem molecular é uma técnica destinada a testar ligantes contra um alvo proteico e analisar qual sua posição e orientação ideais (ŚLEDŹ; CAFLISCH, 2018). Esse método analisa quais os principais ligantes que se acoplam ao alvo, mas o grande desafio da técnica é eliminar o maior número de falsos positivos, determinando os melhores ligantes para tal alvo (ŚLEDŹ; CAFLISCH, 2018). Outras abordagens de CADD envolvem a predição de características farmacocinéticas envolvidas na absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade (ADMET). Essas avaliam a capacidade do composto de ser tornar uma droga com biodisponibilidade oral.

Atualmente, muitos grupos de pesquisa têm direcionado seus estudos na busca de novos agentes terapêuticos, que possam ser utilizados na farmacoterapia da ansiedade e da depressão, com ênfase em compostos com menos efeitos colaterais, quando comparado às drogas frequentemente usadas. Uma das estratégias nessa direção é a

busca de potenciais fármacos em bibliotecas de compostos já disponíveis, fornecidos pelas empresas produtoras destas novas moléculas. Essa busca pode ser realizada por meio de triagem virtual de compostos com o auxílio de métodos computacionais, como modelagem baseado na forma do ligante, ancoragem molecular e predição farmacocinética.

2. **Objetivos**

2.1. Objetivo geral

- Buscar potenciais ligantes para a estrutura tridimensional da Proteína Transportadora de Serotonina Sódio-Dependente Humana (PDBid: 5I6X) por meio da construção de modelo baseado em forma, triagem virtual e ancoragem molecular.

2.2. Objetivos específicos

- Construir um modelo, baseado no ligante paroxetina, extraído do complexo com a estrutura da Proteína Transportadora de Serotonina Sódio-Dependente Humana.
- Realizar uma triagem virtual baseada no modelo em bibliotecas de confôrmeros de pequenos ligantes.
- Estudar a interação receptor-ligante, entre a Proteína Transportadora de Serotonina Sódio-Dependente Humana e os compostos selecionados na triagem virtual, por meio da técnica de ancoragem molecular.

- Analisar os resultados da ancoragem molecular por meio de funções de pontuação dos compostos na interação entre a Proteína Transportadora de Serotonina Sódio-Dependente Humana e os ligantes.
- Avaliar as potenciais propriedades farmacocinéticas, *in silico*, dos compostos selecionados.

3. Metodologia

3.1. Geração de modelo baseado na forma do ligante

Visando à triagem virtual em bibliotecas de ligantes, um modelo foi gerado a partir do ligante paroxetina complexado com a Proteína Transportadora de Serotonina Sódio-Dependente Humana (PDB id: 5I6X). Esta etapa foi realizada com ajuda do programa vROCS 3.2.0.4, OpenEye Scientific Software, Santa Fe, NM (HAWKINS; SKILLMAN; NICHOLLS, 2007). vROCS é um programa baseado no método de comparação de forma, com base na ideia de que as moléculas têm forma semelhante se os seus volumes se sobrepõem adequadamente. Embora vROCS seja primariamente um método baseado em forma, o usuário pode definir, para regiões específicas do modelo, características químicas descritas como: doadoras de hidrogênio, aceptoras de hidrogênio, ânions, cátions, hidrofóbicas e regiões de anéis aromáticos. Dessa forma, são formados modelos que, durante processo de sobreposição, facilitam a identificação dos compostos que são semelhantes na forma e na química.

3.2. Geração de banco de dados de confôrmeros de ligantes

O modelo gerado por meio do programa vROCS foi usado na triagem virtual de bibliotecas de compostos originários de dois bancos de dados da Chembridge

Corporation, San Diego, Califórnia, mais especificamente as 2 bibliotecas DIVERSet™ EXP e CL, que foram cuidadosamente selecionadas para proporcionar a mais ampla cobertura do espaço farmacofórico, e totalizam 100.000 compostos de diversas estruturas *druglike*. Foram usados também, na triagem virtual, o banco de dados de moléculas provenientes de produtos naturais brasileiros (NuBBE) com 2.218 compostos e o banco ZINC (IRWIN et al., 2012), mais especificamente a biblioteca DrugsNow com aproximadamente 10 milhões de compostos. Essas bibliotecas de compostos foram submetidas ao programa FILTER do OMEGA 2.5.1.4, OpenEye Scientific Software, Santa Fe, NM (HAWKINS et al., 2010). O FILTER é um programa de rápida filtragem e seleção de compostos, que usa uma combinação de cálculos de propriedades físicas e o conhecimento de grupos funcionais. Ele foi usado antes da análise experimental para remover compostos indesejáveis, como compostos com funções tóxicas, com baixa biodisponibilidade oral, com alta probabilidade de formar ligações covalentes com o alvo proteico e de compostos com probabilidade de interferência no ensaio experimental.

Os compostos da biblioteca filtrada por meio do FILTER foram submetidos ao programa QUACPAC 1.6.3.1, OpenEye Scientific Software, Santa Fe, NM (<http://www.eyesopen.com>), com o intuito de gerar compostos com cargas precisas ou pelo menos representadas de forma consistente. Para tanto, o QUACPAC enumera o pKa e os tautômeros de cada composto, a fim de obter os estados de protonação corretas.

Após a enumeração de pKa e tautômeros, a biblioteca de compostos foi submetida à geração de confôrmeros por meio do programa OMEGA. O OMEGA gera bancos de dados de multi-confôrmeros bioativos de compostos com alta velocidade e confiabilidade. A geração de confôrmeros é um passo essencial para a triagem virtual

utilizando modelos farmacofóricos, pois estes dependem de conformações bioativas para alcançar resultados satisfatórios.

3.3. Triagem virtual em banco de dados de compostos e validação

O modelo previamente gerado serviu de base para triagem nas bibliotecas de ligantes. A triagem virtual foi realizada pelo programa ROCs e consistiu em utilizar o modelo baseado em forma para a sobreposição moléculas advindas de bancos de dados de confôrmeros. O ROCS é uma técnica rápida e realiza a triagem virtual a uma taxa de 600-800 confôrmeros por segundo.

A validação do modelo gerado foi feita pelo vROCs. Diferente da triagem, a validação utiliza dois bancos de dados, e tem como objetivo comprovar se o modelo consegue, de fato, distinguir os ligantes ativos em detrimento dos inativos.

Para a validação utiliza-se ligantes inibidores conhecidos, obtidos do trabalho de Tatsumi et al (1997), e, por meio deles, foi gerada uma biblioteca de compostos inativos, os chamados *decoys*, a partir do software DUD-E (<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jm300687e>).

3.4. Ancoragem Molecular e Avaliação

As bibliotecas de compostos geradas a partir da busca pelo modelo foram submetidas à técnica de ancoragem molecular. Para tanto, foi utilizado o programa GOLD (JONES et al., 1997), que calcula a ancoragem flexível entre as proteínas e os ligantes. O programa GOLD usa um algoritmo genético, que busca soluções por meio de ancoragem propagando múltiplas cópias de modelos flexíveis do ligante no sítio ativo do receptor, recombinando segmentos desta cópia aleatoriamente até um conjunto

convergido de estruturas ser gerado. O algoritmo de pontuação e ranqueamento usado foi o CHEMPLP.

3.5. Análise de Propriedades farmacocinéticas *in silico*

Propriedades biológicas dos compostos selecionados após a ancoragem foram avaliadas com auxílio do software online pkCSM (PIRES; BLUNDELL; ASCHER, 2015), que avalia as características das cinco principais classes de propriedades farmacocinéticas (ADMET) para desenvolver modelos de regressão e classificação preditivos. Esta etapa foi fundamental para predizer se os potenciais inibidores, apresentam os parâmetros adequados para a seleção de drogas, visando à administração no organismo humano.

3.6. Geração de diagramas de interação 2D proteína-ligante

Com o auxílio do programa LigPlot+ (LASKOWSKI; SWINDELLS, 2011), foram gerados diagramas 2D da interação ligantes-SERT, a fim de revelar quais tipos de interações intermoleculares resultaram da abordagem da ancoragem.

4. Resultados e Discussão

4.1. Geração do modelo baseado em forma

As interações, intermoleculares de átomos não-ligados, entre a paroxetina e a SERT, obtidas por meio do complexo proteína-ligante (Fig. 1), possibilitaram a construção de um modelo de triagem virtual baseado em forma (Fig.2). É importante

perceber que o modelo possui pontos principais de interação, sendo eles a interação hidrofóbica com os aminoácidos Tirosina 176, Serina 438, Isoleucina 172 e Fenilalanina 335, além da ligação de hidrogênio com a Alanina 96 e com a Asparagina 98. Dessa forma, a avaliação das interações possibilitou a determinação do modelo (Fig. 2), que possui 3 pontos de anel (esferas verdes), representando as interações hidrofóbicas e 1 ponto de doador de hidrogênio (esfera azul), onde ocorre a ligação de hidrogênio.

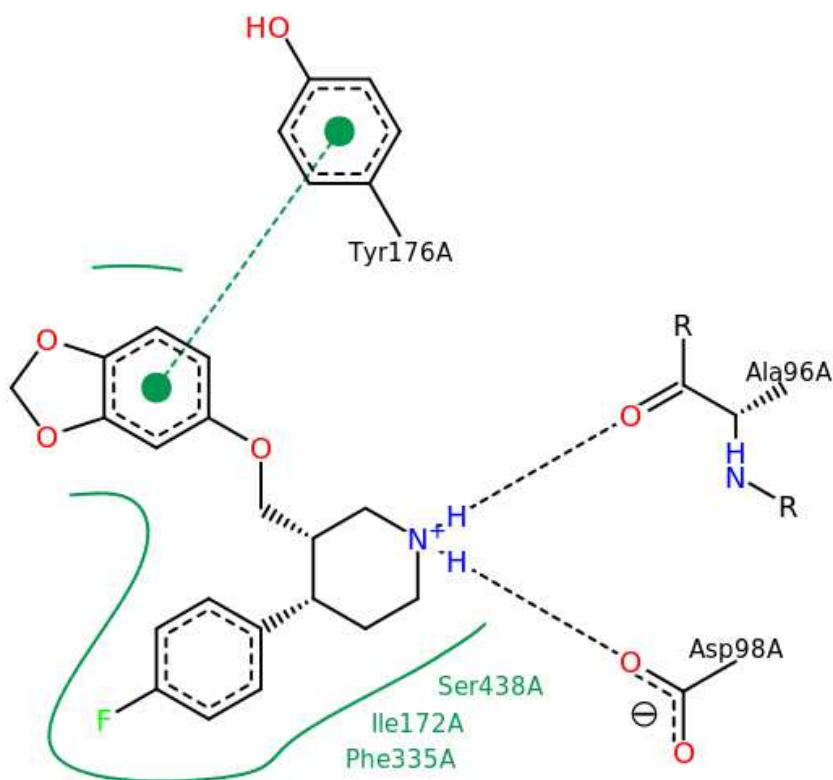


Fig. 1: Interação da Paroxetina com a SERT, as linhas verdes tracejada e contínua representam interações hidrofóbicas. A linha preta tracejada representa ligações de hidrogênio.. Fonte: <http://www.rcsb.org/structure/5I6X>

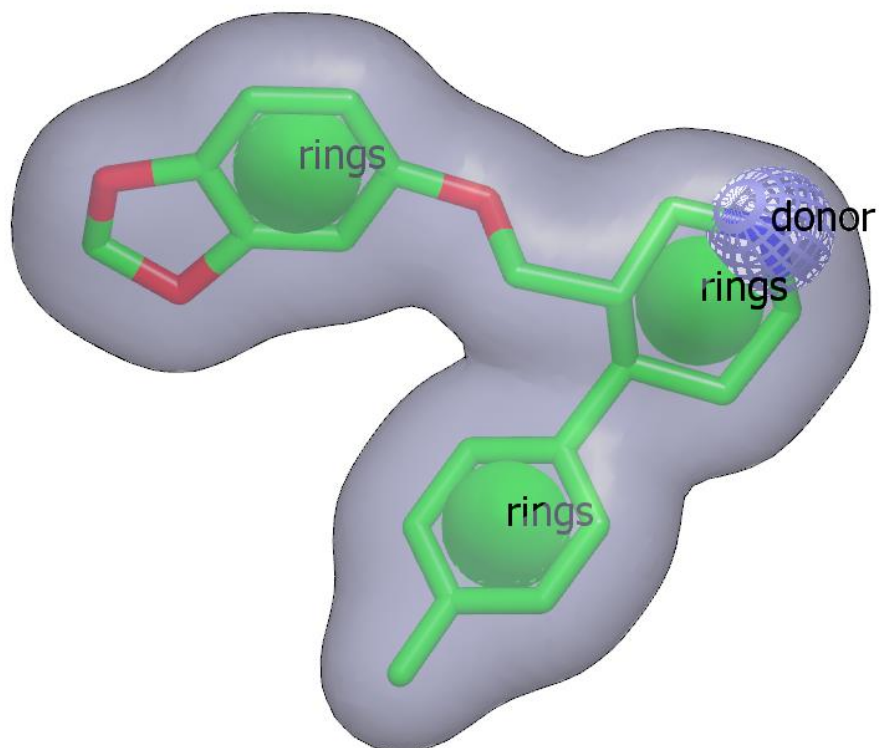


Fig. 2: Forma e pontos no modelo baseado na paroxetina, construído com o programa vROCS. As esferas são chamadas de cores, nesse modelo, temos 4, sendo 3 de anéis (esferas verdes), representando as interações hidrofóbicas e 1 (esfera azul) de doador de elétrons, representando as ligações de hidrogênio. Em cinza a apresenta-se a forma da paroxetina.

4.2. Geração de banco de dados de confôrmeros de ligantes

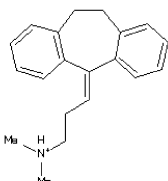
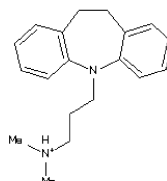
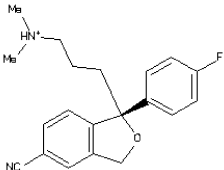
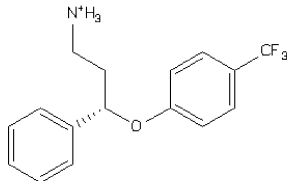
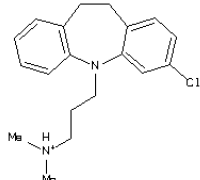
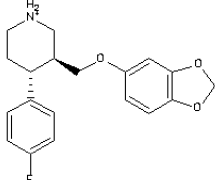
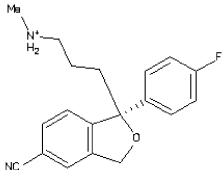
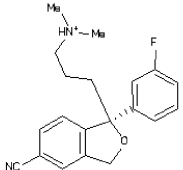
Os bancos de dados DIVERSet™ EXP e CL, NuBBE e ZINC foram devidamente tratados: sendo filtrados para compostos não desejáveis, o estado de protonação e deprotonação ajustado para pH fisiológico e seus tautômeros e confôrmeros gerados. Esta etapa foi fundamental para triagem virtual, pois, *a priori*, apenas compostos com características desejáveis para drogas foram selecionados. As

conformações biotivas foram geradas, pois eram pré-requisitos para a próxima etapa do trabalho.

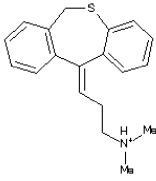
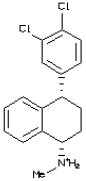
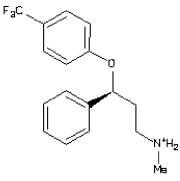
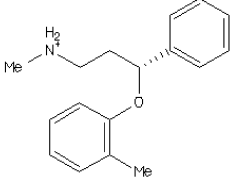
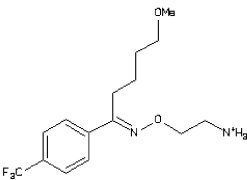
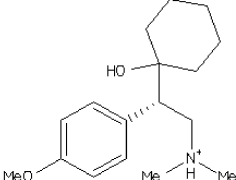
4.3. Validação do modelo farmacofórico

Nesta etapa o modelo baseado na forma da paroxetina gerado foi validado utilizando antidepressivos comerciais inibidores da SERT e moléculas inativas geradas in silico (programa DUD-E). Os antidepressivos foram selecionados a partir do trabalho de Tatsumi et al (1997), (Tabela 1.).

Tabela 1: Drogas comerciais, inibidoras da SERT, selecionadas para a validação e suas estruturas moleculares (2D).

Droga	Estrutura 2D	Droga	Estrutura 2D
Amitriptilina		Imipramina	
Citalopram		Norfluoxetina	
Clomipramina		Paroxetina	
Desmetilcitalopram		S-Citalopram	

Continuação Tabela 1.

Droga	Estrutura 2D	Droga	Estrutura 2D
Dosulepina		Sertralina	
Fluoxetina		Tomoxetina	
Fluvoxamina		Venlafaxina	

Por meio do programa vROCS, foram testadas contra o modelo as bibliotecas de moléculas ativas (inibidores) e inativas (*decoys*). O resultado apresenta um gráfico de curva ROC (Figura 3). O gráfico de curva ROC (Características Operacionais do Receptor, em inglês) é bidimensional, em que a taxa de falsos positivos é plotada no eixo X, ao passo que a taxa de positivos é plotada no eixo Y. Esse gráfico prediz se o modelo está sendo capaz de selecionar os ligantes ativos (positivos), em detrimento dos inativos (falsos positivos). A linha diagonal tracejada amarela no centro é a linha de resultados aleatórios, ou seja, se a curva estiver passando por ela, quer dizer que o modelo está selecionando aleatoriamente entre os ativos e os inativos. Uma ascendente acima da linha tracejada significa que o modelo está sendo capaz de selecionar os ativos em detrimento dos inativos. Foi analisado também a área abaixo da curva (AUC) como

parâmetro para verificar a qualidade do modelo. Um resultado ideal para que o modelo seja considerado bom é de $AUC = 0,8$.

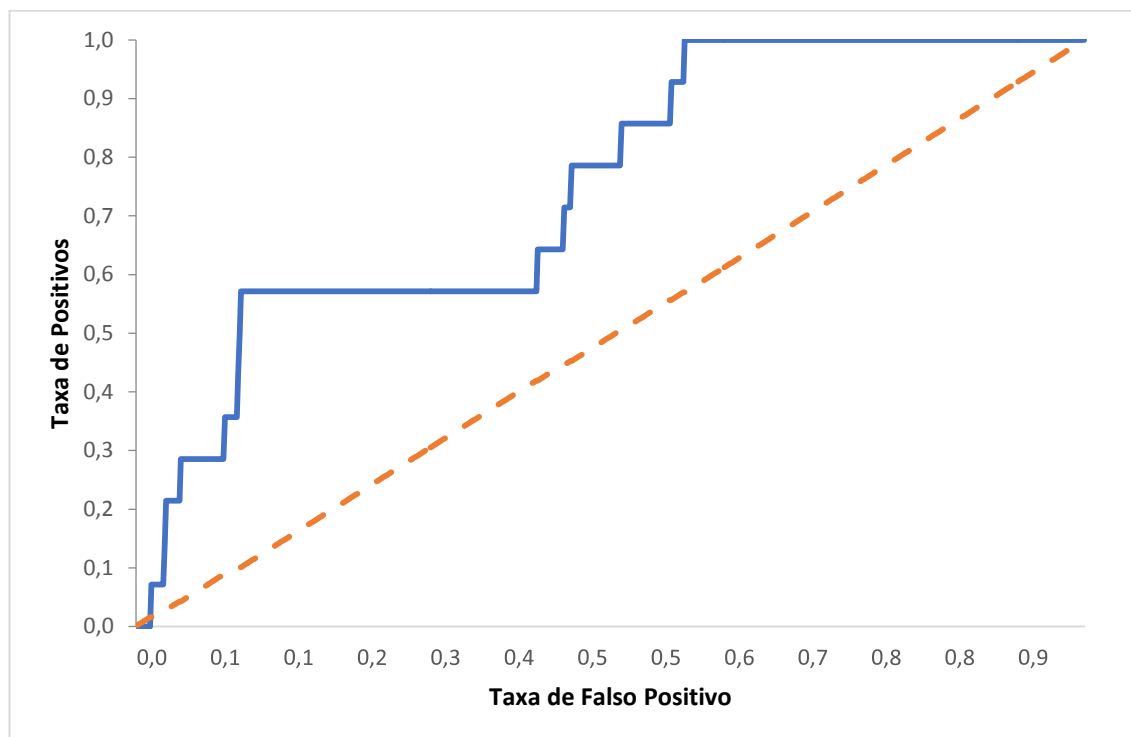


Fig. 3: Curva ROC da validação do modelo da forma da paraxotina testado contra moléculas ativas e inativas na inibição da proteína SERT. A linha contínua indica a curva ROC gerada; a linha tracejada indica a curva de resultados aleatórios. Toda a área abaixo da curva (AUC) indica a qualidade do modelo. Espera-se valores acima de 0,8.

A curva acima está sobre a linha diagonal tracejada amarela, mostrando que o modelo está preferindo os ligantes ativos. A área sob a curva (AUC) foi de 0,751. O resultado da AUC foi um pouco abaixo do ideal. Possivelmente, isso se dá em função de os antidepressivos selecionados para fazer a validação serem de diferentes classes, sendo classificados em grupos diferentes segundo seu mecanismo de ação, formando um grupo heterogêneo, inclusive estruturalmente.

Uma ideia para trabalhos futuros seria de fazer um modelo baseado somente com ISRS, isso levaria a um AUC maior e conseqüentemente, um melhor modelo, contudo este trabalho não se torna inválido, pois aumenta a gama de drogas que passarão pela triagem, aumentando a possibilidade de encontrar drogas que seriam utilizadas de forma off-label, por exemplo.

Quando um medicamento é usado não conforme as orientações da bula, a isso se dá o termo off-label <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003489102012000200026&lng=en&nrm=iso>. Nesse sentido, seria possível encontrar uma droga que não se parecesse com um ISRS, mas que provocasse o efeito desejado

A partir da validação do modelo foi possível seguir para a próxima etapa do projeto, a de triagem virtual baseado na forma da paroxetina.

4.4. Triagem Virtual

Os bancos de dados DIVERSet™ EXP e CL, NuBBE e ZINC foram triados virtualmente através do programa ROCS utilizando o modelo baseado na forma da paroxetina, resultando nas 500 melhores moléculas para cada banco de dados. Estas foram ranqueadas com base na pontuação chamada de TanimotoCombo, que avalia quanto o ligante se encaixa no modelo, seja em sua conformação, seja nos pontos de interação definidos. Na Figura 4, apresenta-se os melhores ligantes para a pontuação TanimotoCombo de cada biblioteca após a triagem virtual. O ligante do banco de dados CL apresenta de valor 1.4020 (Figura 4-A); o ligante do banco de dados EXP (Figura 4-B), 1.6250; o ligante do banco de dados NuBBE (Figura 4-C), 1.1320; e o ligante do banco de dados ZINC (Figura 4-D), 1.7250. Sendo assim, o ligante de maior pontuação obtido, foi o do banco de dados DrugsNow do ZINC, sendo assim, o mais parecido

estruturalmente com o modelo gerado. Porém, todos os ligantes selecionados durante a triagem apresentaram boa similaridade com o modelo, ressaltando assim a qualidade e consistência da triagem realizada.

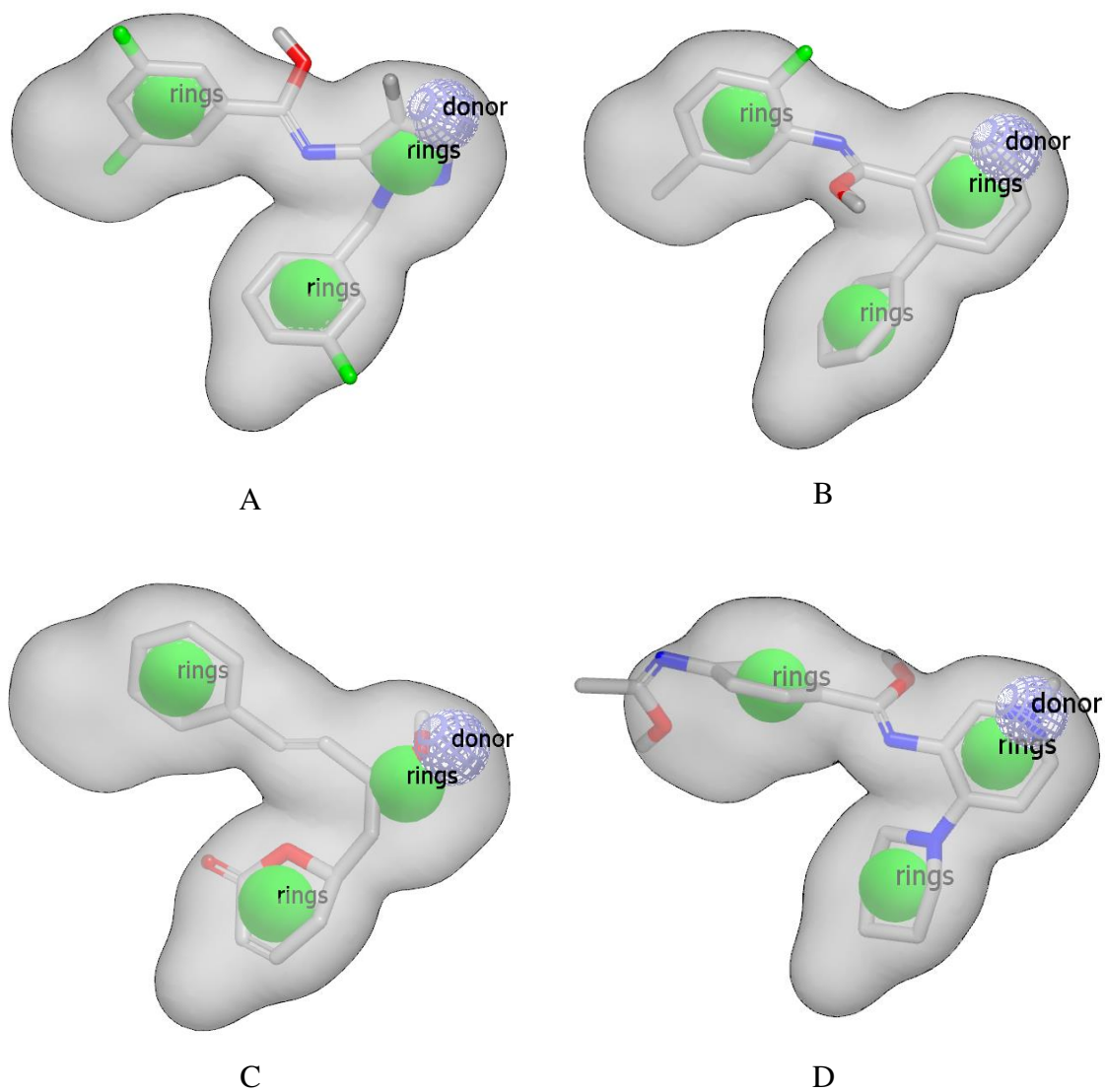


Fig. 4: Ligantes de melhor pontuação TanimotoCombo do banco de dados CL (A), EXP (B), NuBBE (C) e ZINC (D), respectivamente, alinhados ao modelo após a triagem.

Verificando-se, visualmente e quantitativamente, que o modelo foi capaz de triar moléculas parecidas com a paroxetina, foi possível prosseguir para a próxima etapa da pesquisa: a ancoragem molecular.

4.5. Ancoragem Molecular e Avaliação

As 500 melhores moléculas ranqueadas de cada banco de dados após a triagem, foram submetidas à ancoragem molecular contra a SERT, através do programa GOLD e pontuadas segundo o algoritmo CHEMPLP. As 10 moléculas de cada banco de dados com melhor pontuação CHEMPLP com redundância, ou seja, cujo resultado apresentou mais de um confômero por ligante, foram selecionadas para a etapa seguinte. (Tabelas 2, 3, 4 e 5). As imagens das interações proteína-ligante com maior valor de CHEMPLP de cada banco de dados ancorados no sítio ativo da SERT são mostradas nas Figuras 5, 6, 7 e 8.

Tabela 2: Ranking de moléculas com melhor pontuação CHEMPLP na ancoragem molecular do banco de dados CL

Ranking	Código do ligante e confômero	CHEMPLP
1.	33499 conf. 118	92.3112
2.	33499 conf. 78	91.3999
3.	33499 conf. 111	90.8769
4.	33499 conf. 115	90.1136
5.	33499 conf. 65	89.0942
6.	33499 conf. 108	88.9989
7.	8534 conf. 1	88.4540
8.	30408 conf. 1	87.6654
9.	33499 conf. 16	87.6237
10.	34124 conf. 2	87.4744

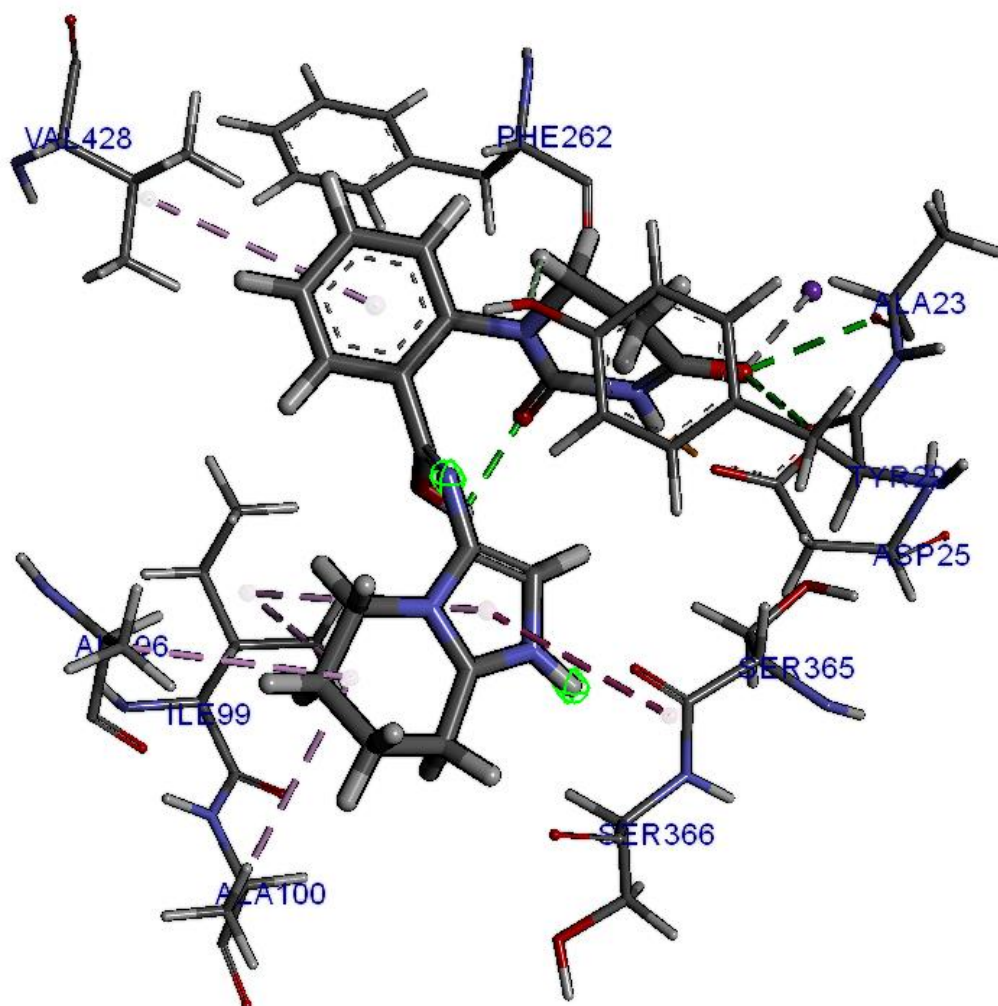


Figura 5. Ligante 33499 em sua conformação 118 do banco de dados CL ancorado no sítio ativo da SERT. Os bastões mais grossos representam o ligante, ao passo que os mais finos representam os resíduos de aminoácidos que interagem com o ligante no sítio ativo. As linhas tracejadas rosa e roxa representam interações hidrofóbicas; as verdes, ligações de hidrogênio; as cinzas, ligações metálicas; enquanto as azuis, ligações de halogênios.

Tabela 3: Ranking de moléculas com melhor pontuação CHEMPLP na ancoragem molecular do banco de dados EXP

Ranking	Código do ligante e confômero	CHEMPLP
1.	17217 conf. 3	87.0431
2.	12459 conf. 2	86.9623
3.	18227 conf. 4	84.7437
4.	18565 conf. 5	83.7549
5.	8970 conf. 3	83.0221
6.	16383 conf. 2	82.5051
7.	17240 conf. 5	82.4440
8.	16109 conf.2	81.8986
9.	4125 conf.3	81.3677
10.	9280 conf. 2	81.2830

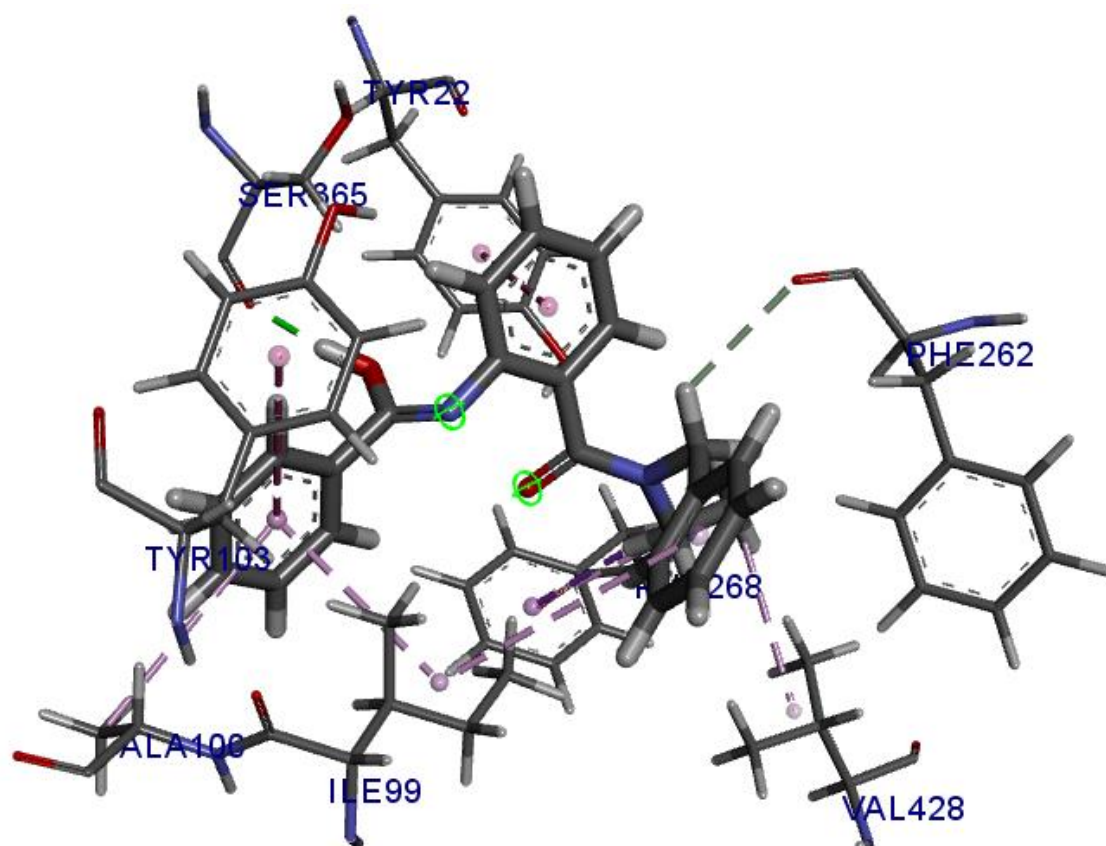


Figura 6. Ligante 17217 em sua conformação 3 do banco de dados EXP ancorado no sítio ativo da SERT. Os bastões mais grossos são o ligante, ao passo que os mais finos são os resíduos de aminoácidos que interagem com o ligante no sítio ativo. As linhas tracejadas rosa e roxa representam interações hidrofóbicas; as verdes, ligações de hidrogênio; as cinzas, ligações metálicas; enquanto as azuis, ligações de halogênios.

Tabela 4: Ranking de moléculas com melhor pontuação CHEMPLP na ancoragem molecular do banco de dados NuBBE

Ranking	Código do ligante e confômero	CHEMPLP
1.	284 conf. 9	89.4973
2.	583 conf. 1	89.2894
3.	2162 conf. 2	87.8150
4.	2162 conf. 1	86.9319
5.	284 conf. 7	86.7067
6.	585 conf. 1	85.8291
7.	284 conf. 12	85.6507
8.	582 conf. 1	84.9306
9.	581 conf. 1	84.6842
10.	9 conf. 8	83.5976

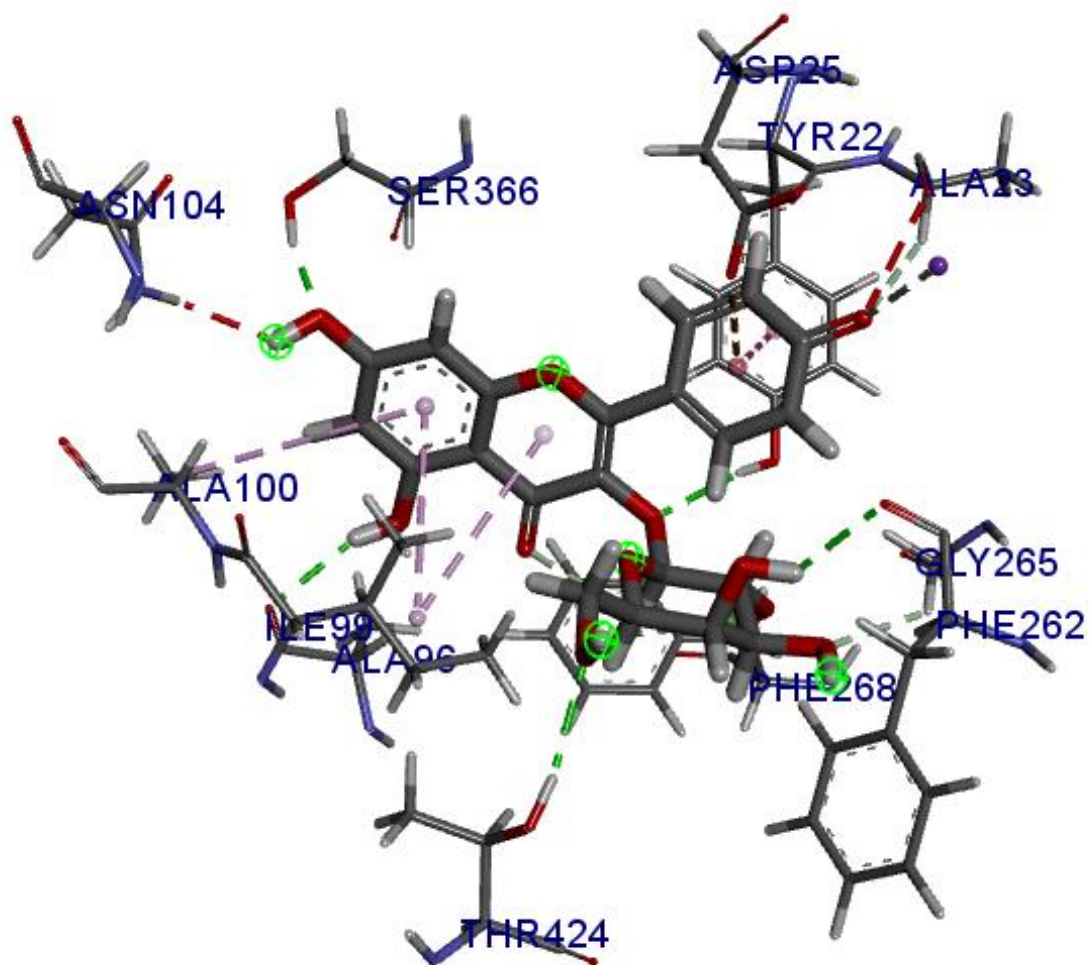


Figura 7. Ligante 284 em sua conformação 9 do banco de dados NuBBE ancorado no sítio ativo da SERT. Os bastões mais grossos são o ligante, ao passo que os mais finos são os resíduos de aminoácidos que interagem com o ligante no sítio ativo. As linhas tracejadas rosa e roxa representam interações hidrofóbicas; as verdes, ligações de hidrogênio; as cinzas, ligações metálicas; enquanto as azuis, ligações de halogênios.

Tabela 5: Ranking de moléculas com melhor pontuação CHEMPLP na ancoragem molecular do banco de dados ZINC

Ranking	Código do ligante e confômero	CHEMPLP
1.	10491598 conf. 2	88.5559
2.	25153361 conf. 2	87.6107
3.	25153337 conf. 2	87.5140
4.	79041112 conf. 3	86.9015
5.	72287409 conf. 4	86.0256
6.	72281676 conf. 13	85.5344
7.	03226340 conf. 2	85.4708
8.	01390134 conf. 2	85.2869
9.	79041096 conf. 3	84.7978
10.	15005452 conf. 2	84.6683

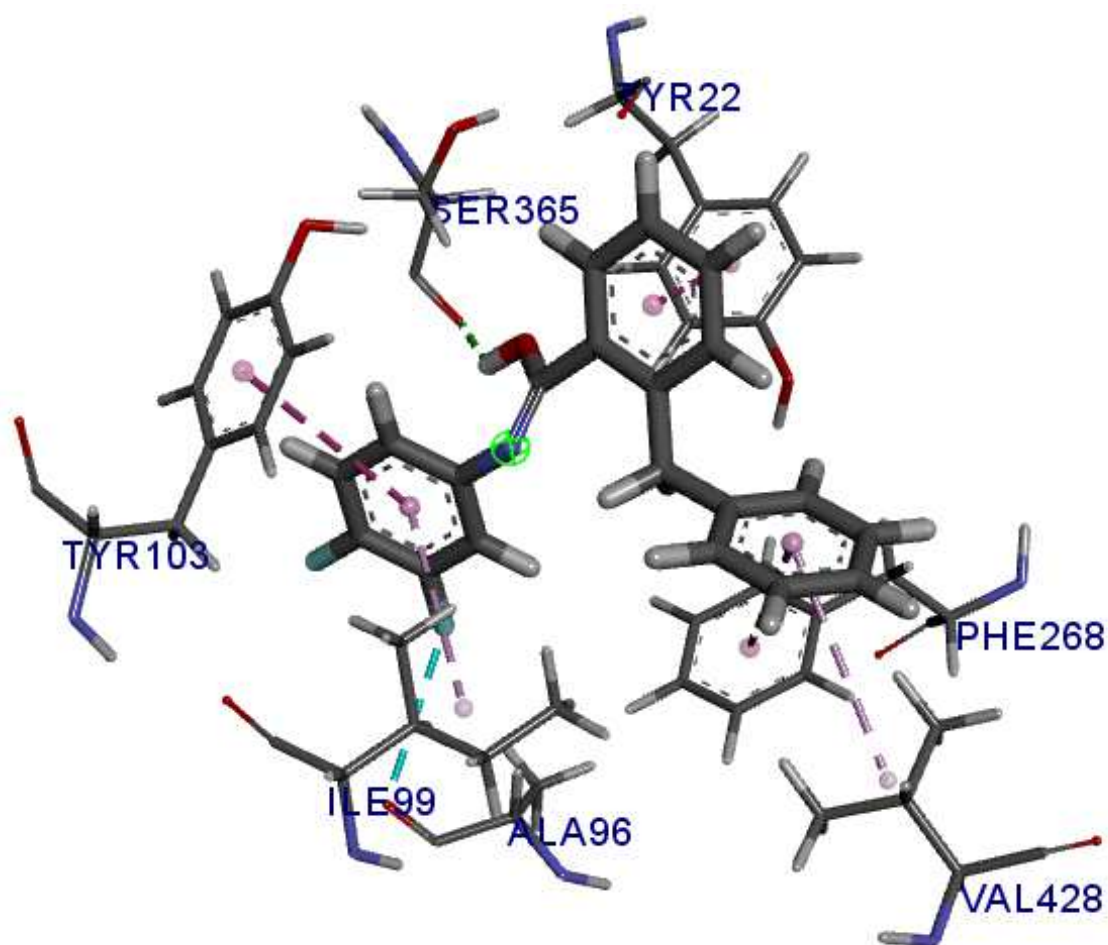


Figura 8. Ligante 10491598 em sua conformação 2 do banco de dados ZINC ancorado no sítio ativo da SERT. Os bastões mais grossos são o ligante, ao passo que os mais finos são os resíduos de aminoácidos que interagem com o ligante no sítio ativo. As linhas tracejadas rosa e roxa representam interações hidrofóbicas; as verdes, ligações de hidrogênio; as cinzas, ligações metálicas; enquanto as azuis, ligações de halogênios.

Visualmente, os ligantes possuem formas parecidas e interagem com aminoácidos comuns, como a Serina 365, Alanina 96, Tirosina 22, Fenilalanina 262 e a Alanina 23. Os valores de CHEMPLP variaram de 81.2830 até 92.3112, sendo que os melhores resultados foram do banco de dados CL.

Organizando os ligantes com melhores pontuações, foi possível prosseguir para a próxima fase da pesquisa, em que suas propriedades foram analisadas.

4.6. Análise de propriedades farmacocinéticas *in silico*

As 10 moléculas com melhor pontuação de cada banco de dados foram submetidas a uma análise das propriedades ADMET e seus resultados foram julgados por suas características farmacocinéticas positivas e negativas. Foi estabelecido que resultados positivos seriam pontuados com 1, ao passo que resultados intermediários seriam pontuados com 0,5 e resultados negativos não pontuariam; isso gerou um score final para cada molécula. O melhor ligante de cada um dos bancos para as características farmacocinéticas foi selecionado com base no score, resultado que pode ser visto nas Tabelas 6 a 9 nos ANEXOS. A interpretação de cada item das tabelas está disponível em (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsn/theory>). Foram selecionados os ligantes 33499 em sua conformação 16 do banco de dados CL; o ligante 16383 em sua conformação 2 do banco de dados EXP; os ligantes 284 em sua conformação 9 e 9 em sua conformação 8 do banco de dados NuBBE e o ligante 25153337 em sua conformação 2 do banco de dados ZINC; pois apresentavam mais valores positivos em sua avaliação, portanto, possivelmente mais apropriados para administração como droga oral. Destacaram-se os 2 ligantes advindos do banco de dados NuBBE, pois não são hepatotóxicos, não são mutagênicos, têm uma máxima dose tolerada razoável e não são inibidoras dos canais de sódio hERG I e II.

Os canais hERG podem mediar a chamada Síndrome do QT longo (LQTS). Polimorfismos na proteína hERG podem levar a prolongações anormais do tempo da onda Q e da onda T do ciclo elétrico do coração, resultando em risco de morte súbita. É conhecido que medicamentos, inclusive antidepressivos, podem levar a uma LQTS adquirida. Portanto, o bloqueio desses canais são evitados na busca de uma nova droga (Gualdani, Roberta et al., 2018).

Os ligantes selecionados nessa etapa por causa de seus scores foram para a próxima etapa, em que foi plotada a interação deles com a SERT.

4.7. Geração de diagramas da interação 2D proteína-ligante

O programa LigPlot+ foi usado para gerar diagramas de interação 2D proteína-ligante dos ligantes com melhores características farmacocinéticas. Nos diagramas é possível visualizar o ligante (roxo) no sítio ativo da proteína. As formas vermelho-tijolo representam resíduos de aminoácidos envolvidos em interações hidrofóbicas, ao passo que as linhas tracejadas verdes representam ligações de hidrogênio

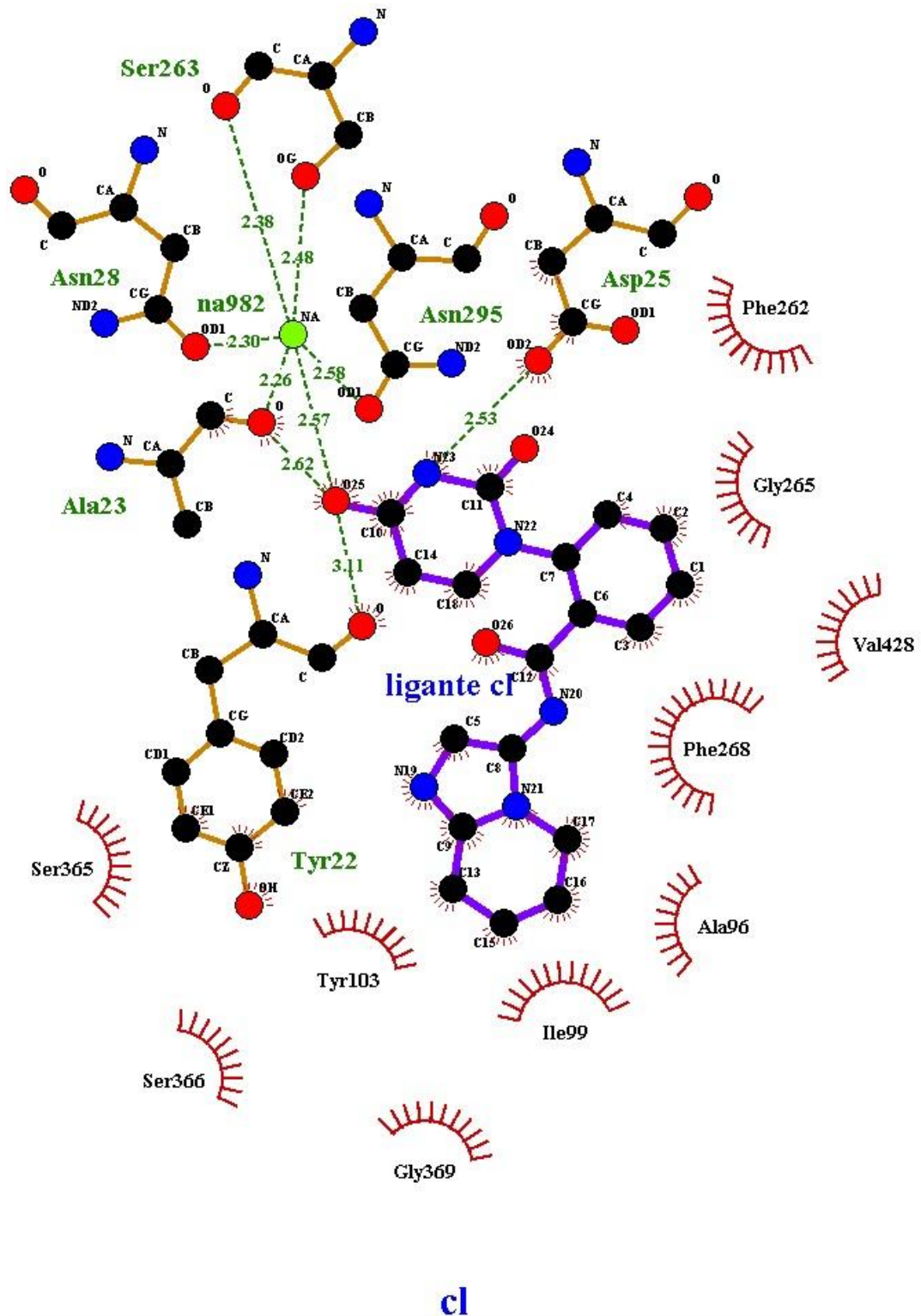


Figura 9. Interação do ligante escolhido do banco de dados CL com a SERT. O ligante, em roxo, no sítio ativo da proteína. A cor marrom representa os aminoácidos; as formas vermelho tijolo, as interações hidrofóbicas e as linhas tracejadas verdes representam as ligações de hidrogênio.

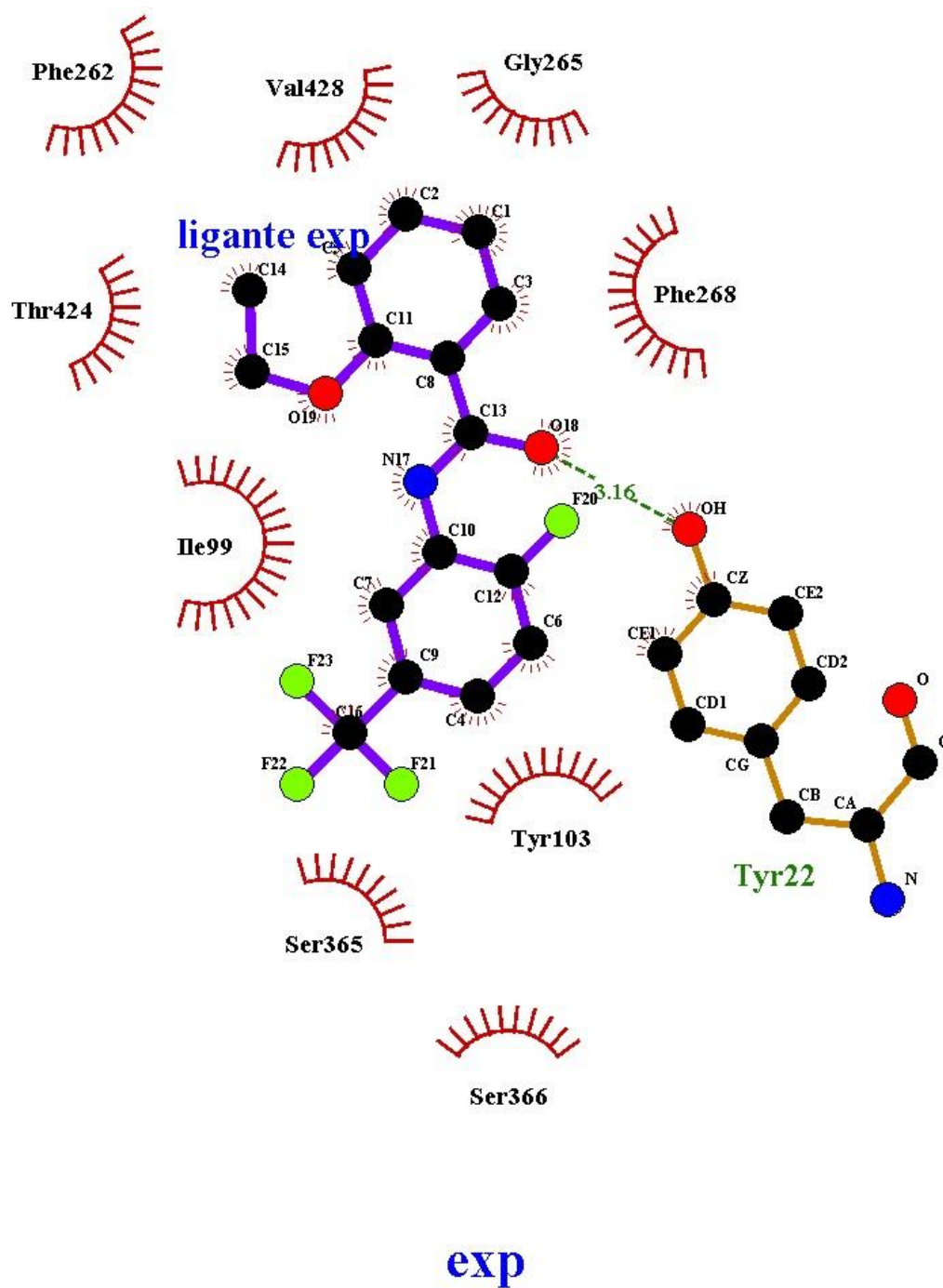


Figura 10. Interação do ligante escolhido do banco de dados EXP com a SERT. O ligante, em roxo, no sítio ativo da proteína. A cor marrom representa os aminoácidos; as formas vermelhas tijolo, as interações hidrofóbicas e as linhas tracejadas verdes representam as ligações de hidrogênio.

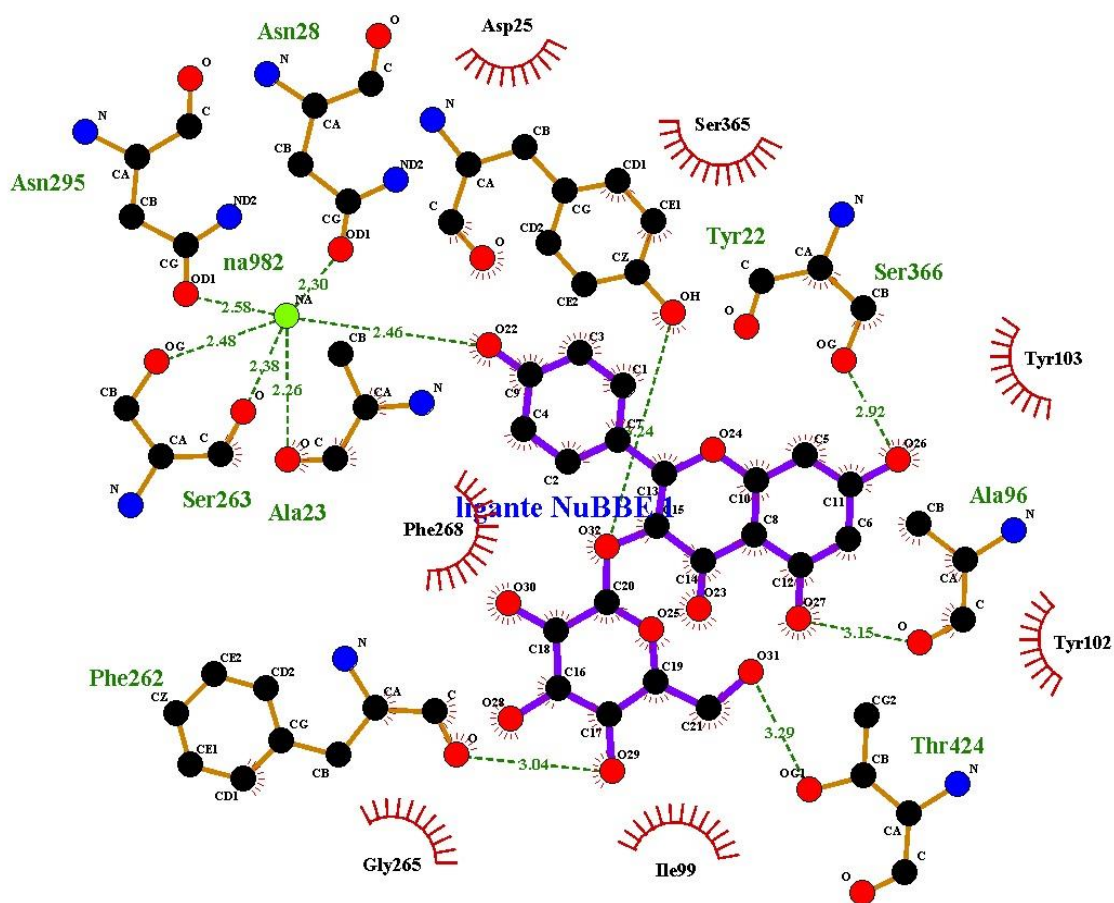


Figura 11. Interação do primeiro ligante escolhido do banco de dados NuBBE com a SERT. O ligante, em roxo, no sítio ativo da proteína. A cor marrom representa os aminoácidos; as formas vermelhas tijolo, as interações hidrofóbicas e as linhas tracejadas verdes representam as ligações de hidrogênio.

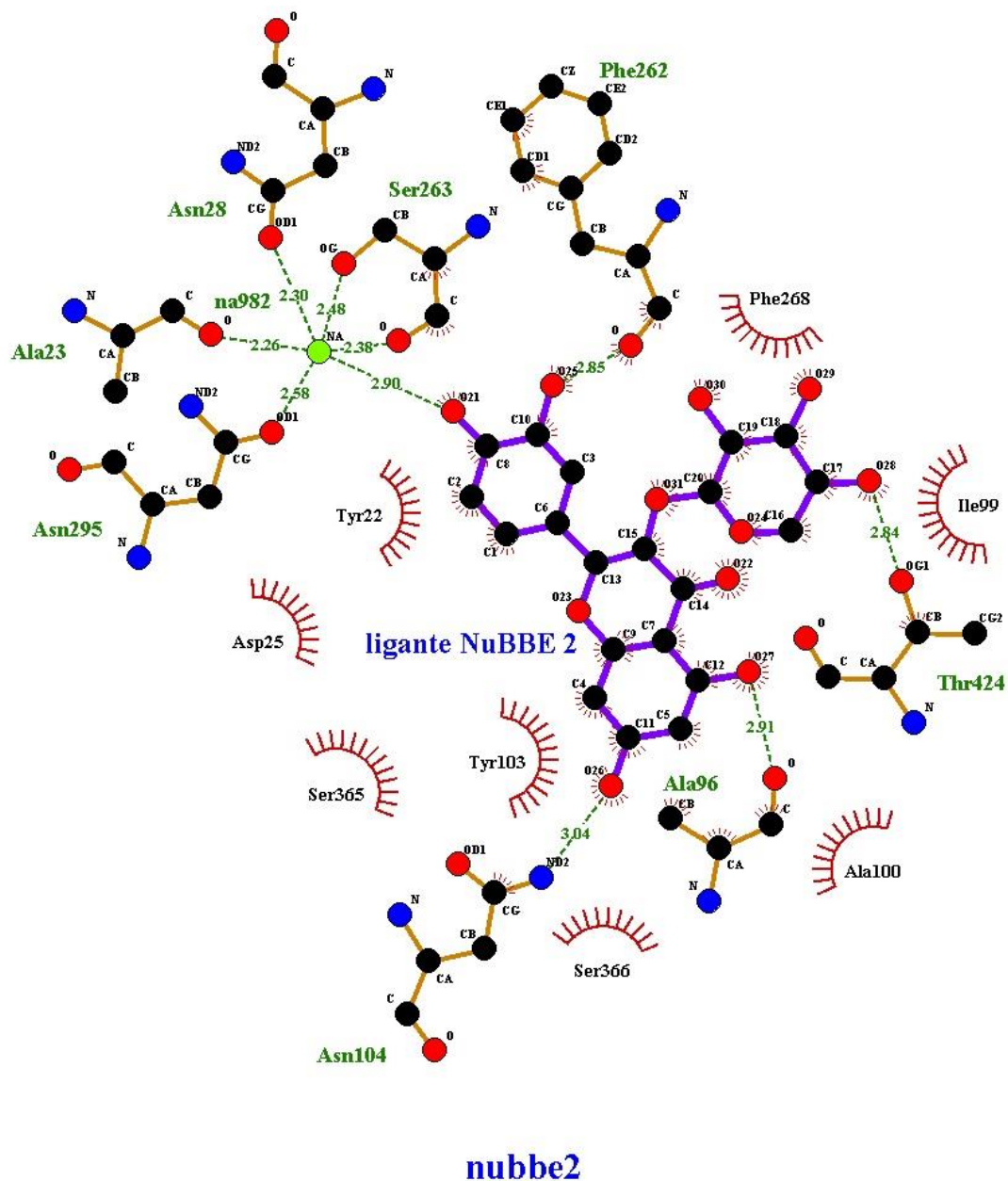


Figura 12. Interação do segundo ligante escolhido do banco de dados NuBBE com a SERT. O ligante, em roxo, no sítio ativo da proteína. A cor marrom representa os aminoácidos; as formas vermelhas tijolo, as interações hidrofóbicas e as linhas tracejadas verdes representam as ligações de hidrogênio.

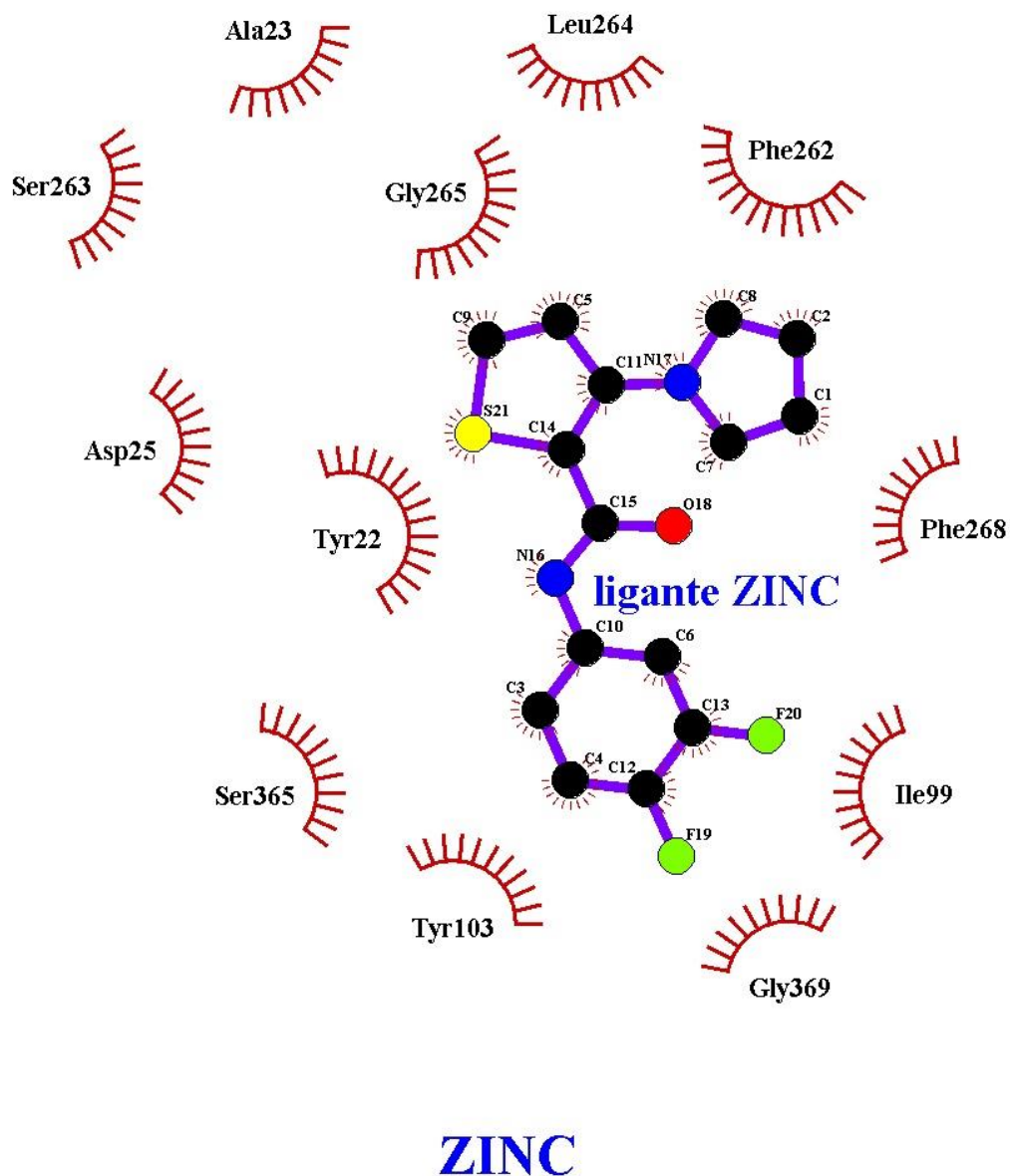


Figura 13. Interação do ligante escolhido do banco de dados ZINC com a SERT. O ligante, em roxo, no sítio ativo da proteína. A cor marrom representa os aminoácidos; as formas vermelhas tijolo, as interações hidrofóbicas.

Os ligantes que se destacam são provenientes do banco de dados do NuBBE (Figuras 11 e 12). O primeiro ligante realiza 6 ligações de hidrogênio com a SERT; o segundo, 5 ligações; isso demonstra que há estabilidade na interação entre as duas moléculas (proteína-ligante). O ligante advindo do banco de dados ZINC interage com o

alvo somente a partir de interações hidrofóbicas, mostrando que este composto liga-se mais fracamente ao alvo do que os outros resultados apresentados.

Sabe-se que a paroxetina, embora seja uma das mais drogas ISRS com maior força de ligação, não é a mais específica para a SERT (TATSUMI et al., 1997). Este trabalho buscou a prospecção de novas moléculas com intuito de sugerir novas alternativas a droga paroxetina. Para tanto, torna-se necessário a análise *in vitro* e *in vivo* das moléculas selecionadas para que estas sejam de fato validadas como inibidores. Uma outra abordagem alternativa a realizada neste trabalho seria a de fazer um alinhamento entre a paroxetina e o S-citalopram gerando um modelo baseado na forma de ambas. Um modelo com características das duas drogas parece promissor, uma vez que o S-citalopram foi relatado em estudos como sendo tanto mais tolerado quanto mais eficiente que a paroxetina (SANCHEZ; REINES; MONTGOMERY, 2014). O alinhamento entre mais de dois fármacos ISRS seria, também, uma importante alternativa, visto que esses possuem vantagem em relação a outras classes de antidepressivos quando se trata de efeitos adversos (THASE et al., 2002).

O objetivo final deste projeto é o de buscar moléculas com uma especificidade maior, diminuindo efeitos adversos, o que aumentaria a adesão ao tratamento. Neste sentido, a presença de compostos naturais com resultados positivos durante a triagem, talvez indiquem uma novidade em relação ao tratamento da ansiedade e da depressão.

5. Conclusão

Foi possível construir um modelo baseado em forma com base no ligante paroxetina e assim como validá-lo usando inibidores conhecidos e moléculas biologicamente inativas.

Usando o modelo, foi feita a triagem virtual em 4 bibliotecas de moléculas com características de drogas, sendo possível, a seleção dos 500 melhores compostos com potencial a ligar-se a SERT.

Foi realizada a ancoragem molecular dessas 500 moléculas, sendo possível assim o estudo da interação receptor-ligante entre a SERT e os compostos selecionados.

As 10 melhores moléculas de cada banco de dados, em relação a ancoragem, tiveram suas potenciais propriedades ADMET analisadas *in silico* e foram gerados diagramas 2D da interação das mais bem pontuadas com a SERT.

Obtivemos, ao fim, 5 ligantes incluindo 2 compostos naturais que são potenciais inibidores da SERT. Estes por sua vez serão estudados em experimentos de inibição em trabalhos futuros.

O NuBBE é uma fonte de informação muito importante na área de química medicinal e produtos naturais, contendo grande material para triagem virtual. Dessa forma, esse banco de dados mostrou-se muito importante para esse trabalho, resultando no achado de duas moléculas com potencial para a pesquisa de antidepressivos no futuro, exaltando a importância da biodiversidade brasileira na busca de novos medicamentos.

6. Referências bibliográficas

- BALA, A.; NGUYEN, H.; HELLSTROM, W. Post-SSRI Sexual Dysfunction: A Literature Review. **Sexual Medicine Reviews**, 2017.
- BHARATE, J. B. et al. Rational Design, Synthesis and Biological Evaluation of Pyrimidine-4,6-diamine derivatives as Type-II inhibitors of FLT3 Selective Against c-KIT. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 3722, 2 fev. 2018.
- COLEMAN, J. A.; GOUAUX, E. Structural basis for recognition of diverse antidepressants by the human serotonin transporter. **Nature structural & molecular biology**, v. 25, n. 2, p. 170-175, 4 fev. 2018.
- COLEMAN, J. A.; GREEN, E. M.; GOUAUX, E. X-ray structures and mechanism of the human serotonin transporter. **Nature**, v. 532, n. 7599, p. 334-9, 4 abr. 2016.
- Galdani, Roberta et al. "Inhibition of hERG Potassium Channel by the Antiarrhythmic Agent Mexiletine and Its Metabolite M-Hydroxymexiletine." *Pharmacology Research & Perspectives* 3.5 (2015): e00160. PMC. Web. 27 Sept. 2018.
- HAWKINS, P. C. D.; SKILLMAN, A. G.; NICHOLLS, A. Comparison of Shape-Matching and Docking as Virtual Screening Tools. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 50, n. 1, p. 74-82, 1 jan. 2007.
- HAWKINS, P. C. D. et al. Conformer generation with OMEGA: Algorithm and validation using high quality structures from the protein databank and cambridge structural database. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 50, n. 4, p. 572-584, 2010.
- IRWIN, J. et al. ZINC: A Free Tool to Discover Chemistry for Biology. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 52, n. 7, p. 1757-1768, 2012.
- JONES, G. et al. Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking. **Journal of molecular biology**, v. 267, n. 3, p. 727-48, 5 abr. 1997.
- LAGUNIN, A. et al. PASS: prediction of activity spectra for biologically active substances. **Bioinformatics**, v. 16, n. 8, p. 747-748, 2000.
- LASKOWSKI, R. A.; SWINDELLS, M. B. LigPlot+: multiple ligand-protein interaction diagrams for drug discovery. **Journal of chemical information and modeling**, v. 51, n. 10, p. 2778-86, 1 out. 2011.
- MCGANN, M. FRED Pose Prediction and Virtual Screening Accuracy. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 51, n. 3, p. 578-596, 28 mar. 2011.
- NEUDERT, G.; KLEBE, G. DSX: a knowledge-based scoring function for the assessment of protein-ligand complexes. **Journal of chemical information and modeling**, v. 51, n. 10, p. 2731-45, 24 out. 2011.

PIRES, D. E.; BLUNDELL, T. L.; ASCHER, D. B. pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. **Journal of medicinal chemistry**, v. 58, n. 9, p. 4066-72, 4 maio 2015.

RANG, R et al. Rang & Dale Farmacologia. 2015.

SANCHEZ, C.; REINES, E. H.; MONTGOMERY, S. A. A comparative review of escitalopram, paroxetine, and sertraline: Are they all alike? **International clinical psychopharmacology**, v. 29, n. 4, p. 185-96, 2 jul. 2014.

ŚLEDŹ, P.; CAFLISCH, A. Protein structure-based drug design: from docking to molecular dynamics. **Current Opinion in Structural Biology**, v. 48, p. 93-102, 2018.

SHANMUGAM, G.; JEON, J. Computer-Aided Drug Discovery in Plant Pathology. **The plant pathology journal**, v. 33, n. 6, p. 529-542, 5 dez. 2017.

TATSUMI, M. et al. Pharmacological profile of antidepressants and related compounds at human monoamine transporters. **European Journal of Pharmacology**, v. 340, n. 2-3, p. 249-258, 1997.

THASE, M. E. et al. Citalopram treatment of paroxetine-intolerant depressed patients. **Depression and anxiety**, v. 16, n. 3, p. 128-33, 2 jan. 2002.

Uso off label: erro ou necessidade?. *Rev. Saúde Pública, São Paulo*, v. 46, n. 2, p. 395-397, Apr. 2012. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89102012000200026&lng=en&nrm=iso>. access on 27 Sept. 2018. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-89102012000200026>.

Valli, M.; dos Santos, R.N.; Figueira, L.D.; Nakajima, C.H.; Castro-Gamboa, I.; Andricopulo, A.D.; Bolzani, V.S. Development of a Natural Products Database from the Biodiversity of Brazil. *J. Nat. Prod.*, 2013, 76 (3), pp 439-444. DOI: 10.1021/np3006875

ZORZETTO, Dirceu. Psicofármacos: consulta rápida. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, São Paulo, v. 32, n. 4, p. 471, Dec. 2010.

ANEXOS

Tabela 1: Tabela das propriedades e score das moléculas do banco de dados CL.

SMILES	output_33499@115_10	output_33499@118_10	output_33499@78_20	output_33499@111_22	output_33499@108_22	output_33499@16_7	output_33499@65_4	output_8534@1_21	output_34124@2_4	output_30408@1_6
MOL_WEIGHT	354.39	354.39	354.39	354.39	354.39	354.39	354.39	344.393	391.902	317.392
LOGP	-2.1218	-2.1218	-2.1218	-2.1218	-2.1218	1.2229	-0.3432	4.1389	5.83442	3.3161
#ROTATABLE_BONDS	3	3	3	3	3	3	3	3	5	3
#ACCEPTORS	3	4	4	4	3	4	4	4	2	2
#DONORS	3	2	2	2	3	3	3	0	2	1
SURFACE_AREA	149.679	149.679	149.679	149.679	149.679	149.701	149.679	150.069	168.673	140.715
Water solubility	-2.857	-2.849	-2.844	-2.85	-2.853	-2.629	-2.843	-4.584	-5.416	-2.875
Caco2 permeability	-0.002	0.098	0.097	0.126	0.033	0	0.061	1.107	0.958	1.271
Intestinal absorption (human)	60.789	64.775	64.769	64.929	60.942	76.554	71.039	97.77	90.529	85.391
Skin Permeability	-2.735	-2.735	-2.735	-2.735	-2.735	-2.742	-2.737	-2.536	-2.735	-2.735
P-glycoprotein substrate	Yes	No	No	No	No	Yes	Yes	No	Yes	Yes
P-glycoprotein I inhibitor	No	No	No	No	No	No	No	Yes	Yes	Yes
P-glycoprotein II inhibitor	No	No	No	No	No	No	No	Yes	Yes	Yes
VDss (human)	0.543	0.237	0.181	0.203	0.52	0.501	0.233	0.156	0.097	0.072
Fraction unbound (human)	0.198	0.186	0.182	0.189	0.2	0.336	0.218	0.146	0.029	0.034
BBB permeability	-0.47	-0.164	-0.159	-0.166	-0.326	-0.315	-0.839	0.263	0.192	0.355
CNS permeability	-3.848	-3.445	-3.085	-3.445	-3.848	-3.044	-3.44	-1.376	-1.509	-0.813
CYP2D6 substrate	No	No	No	No	No	No	No	No	Yes	No
CYP3A4 substrate	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	Yes	Yes	Yes
CYP1A2 inhibitor	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Yes	Yes
CYP2C19 inhibitor	No	No	No	No	No	No	No	Yes	Yes	Yes
CYP2C9 inhibitor	No	No	No	No	No	No	No	Yes	Yes	Yes
CYP2D6 inhibitor	No	No	No	No	No	No	No	No	No	Yes
CYP3A4 inhibitor	No	No	No	No	No	No	No	No	Yes	Yes
Total Clearance	1.007	1.118	1.059	1.117	1.111	0.887	0.825	0.274	0.187	0.954
Renal OCT2 substrate	No	Yes	Yes	No	No	No	No	Yes	No	Yes
AMES toxicity	No	No	No	No	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes
Max. tolerated dose (human)	0.497	0.409	0.323	0.372	0.441	0.544	0.4	-0.183	0.083	0.08
HERG I inhibitor	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No
HERG II inhibitor	No	No	No	No	No	No	No	No	Yes	Yes
Oral Rat Acute Toxicity (LD50)	2.621	2.659	2.631	2.628	2.636	2.637	2.652	2.178	2.285	2.59
Oral Rat Chronic Toxicity (LOAEL)	2.282	2.056	2.354	1.872	2.005	1.773	2.014	1.219	1.439	0.492
Hepatotoxicity	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Yes	No
Skin Sensitisation	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No
<i>T.Pyriiformis</i> toxicity	0.285	0.285	0.285	0.285	0.285	0.285	0.285	0.371	0.406	0.285
Minnow toxicity	4.194	3.956	3.956	3.956	4.194	3.358	3.74	-0.225	-1.323	1.063
VERDE	15	13	13	12	13	16	11	15	13	11
AMARELO	4	6	7	8	2	3	4	0	1	3
SCORE	17	16	16.5	16	14	17.5	13	15	13.5	12.5

Tabela 2: Tabela das propriedades e score das moléculas do banco de dados EXP

MOLÉCULAS	output_8970@3_19	output_18565@5_16	output_16109@2_1	output_4125@3_5	output_16383@2_16	output_12459@2_15	output_18227@4_21	output_9280@2_25	output_17217@3_40	output_17240@5_32
MOL_WEIGHT	356,491	362,404	420,34	349,817	327,277	318,445	324,424	339,826	358,441	314,36
LOGP	4,87334	5,60112	4,99672	5,51572	4,8795	5,69142	5,71794	4,39802	4,9852	4,5667
#ROTATABLE_BONDS	3	5	4	4	4	3	6	5	6	6
#ACCEPTORS	3	2	3	2	2	1	2	3	2	2
#DONORS	1	2	1	1	1	2	2	1	1	2
SURFACE_AREA	152,383	156,55	174,744	150,795	129,414	141,876	142,787	145,605	158,981	134,223
Water solubility	-4,53	-5,359	-5,774	-5,88	-5,528	-5,037	-4,616	-4,734	-5,145	-4,218
Caco2 permeability	1,098	0,372	1,118	1,257	1,915	1,588	0,473	1,41	1,025	0,622
Intestinal absorption (human)	88,295	88,066	88,551	93,674	88,743	87,859	88,76	91,623	90,821	89,786
Skin Permeability	-2,755	-2,747	-2,785	-2,704	-2,554	-2,735	-2,724	-2,635	-2,751	-2,74
P-glycoprotein substrate	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Yes
P-glycoprotein I inhibitor	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	No
P-glycoprotein II inhibitor	No	Yes	Yes	Yes	No	Yes	No	No	Yes	No
VDss (human)	0,573	-0,139	0,465	0,06	0,039	-0,149	0,686	-0,062	0,046	0,418
Fraction unbound (human)	0,051	0	0	0	0	0	0	0,005	0	0,074
BBB permeability	0,043	-0,162	0,017	-0,122	-0,042	0,884	-0,206	0,091	-0,048	0,125
CNS permeability	-1,664	-1,595	-1,761	-1,482	-1,695	-1,208	-1,719	-1,774	-1,753	-2,022
CYP2D6 substrate	No	No	No	No	No	Yes	No	No	Yes	No
CYP3A4 substrate	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
CYP1A2 inhibitor	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
CYP2C19 inhibitor	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
CYP2C9 inhibitor	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
CYP2D6 inhibitor	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No
CYP3A4 inhibitor	Yes	No	Yes	No	No	Yes	No	No	Yes	No
Total Clearance	0,111	-0,03	0,274	0,073	-0,171	0,038	0,336	0,357	0,594	0,276
Renal OCT2 substrate	Yes	No	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
AMES toxicity	No	No	No	Yes	No	Yes	No	No	Yes	No
Max. tolerated dose (human)	-0,049	0,516	0,102	0,315	0,701	0,325	0,74	0,436	0,135	0,785
hERG I inhibitor	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No
hERG II inhibitor	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	Yes
Oral Rat Acute Toxicity (LD50)	2,361	2,243	2,468	2,287	2,674	2,161	2,315	2,457	2,356	2,274
Oral Rat Chronic Toxicity (LOAEL)	0,954	2,009	0,876	0,931	1,084	0,376	0,898	1,578	0,997	0,864
Hepatotoxicity	Yes	No	Yes	No	No	No	Yes	Yes	Yes	No
Skin Sensitisation	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No
<i>T.Pyriformis</i> toxicity	1,407	0,528	1,727	0,613	1,888	0,508	1,215	1,891	0,584	1,06
Minnow toxicity	1,006	-0,563	0,954	-0,742	0,276	0,903	-0,062	0,081	0,106	0,304
VERDE	13	11	12	12	17	13	12	15	7	15
AMARELO	5	1	4	3	4	2	3	4	4	2
SCORE	15,5	11,5	14,5	13,5	19	14	13,5	17	9	16

Tabela 3: Tabela das propriedades e score das moléculas do banco de dados NuBBE

SMILES	NuBBE_583_1_137	NuBBE_585_1_117	NuBBE_581_1_128	NuBBE_2162_2_146	NuBBE_582_1_82	NuBBE_284_7_21	NuBBE_284_12_21	NuBBE_284_9_20	NuBBE_2162_1_57	NuBBE_9_8_55
MOL_WEIGHT	330,38	330,38	356,418	354,49	440,492	447,372	447,372	447,372	354,49	433,345
LOGP	1,8409	1,8409	2,3971	6,1329	3,5387	-0,8765	-0,8765	-0,8765	6,0341	-0,5318
#ROTATABLE_BONDS	4	4	5	11	7	4	4	4	12	3
#ACCEPTORS	5	5	5	3	7	11	11	11	3	11
#DONORS	2	2	2	2	0	6	6	6	2	6
SURFACE_AREA	140,762	140,762	152,802	156,311	187,224	179,107	179,107	179,107	156,253	172,742
Water solubility	-2,827	-2,827	-3,294	-6,158	-4,874	-2,627	-2,51	-2,859	-5,1	-2,945
Caco2 permeability	1,068	1,068	0,96	1,057	1,408	0,378	0,351	0,354	1,573	0,308
Intestinal absorption (human)	93,783	93,783	91,987	87,219	97,511	50,269	49,425	43,567	87,889	45,406
Skin Permeability	-3,557	-3,557	-3,71	-2,806	-2,926	-2,735	-2,735	-2,735	-2,751	-2,735
P-glycoprotein substrate	Yes	Yes	Yes	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
P-glycoprotein I inhibitor	No	No	Yes	Yes	Yes	No	No	No	Yes	No
P-glycoprotein II inhibitor	No	No	No	Yes	Yes	No	No	No	Yes	No
VDss (human)	0,139	0,139	0,037	0,449	-0,08	0,858	0,261	1,131	0,256	1,556
Fraction unbound (human)	0,278	0,278	0,186	0	0,029	0,212	0,206	0,215	0	0,176
BBB permeability	0,053	0,053	-0,011	0,117	-0,858	-1,318	-1,4	-1,295	0,075	-1,492
CNS permeability	-2,565	-2,565	-2,51	-2,246	-2,777	-3,906	-3,917	-3,917	-2,305	-3,746
CYP2D6 substrate	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No
CYP3A4 substrate	No	No	Yes	Yes	Yes	No	No	No	Yes	No
CYP1A2 inhibitor	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No
CYP2C19 inhibitor	No	No	No	Yes	No	No	No	No	Yes	No
CYP2C9 inhibitor	No	No	No	No	No	No	No	No	Yes	No
CYP2D6 inhibitor	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No
CYP3A4 inhibitor	No	No	No	No	No	No	No	No	Yes	No
Total Clearance	1,358	1,358	1,448	1,474	1,579	0,196	0,51	0,284	1,256	0,208
Renal OCT2 substrate	No	No	No	No	Yes	No	No	No	No	No
AMES toxicity	Yes	Yes	Yes	No	No	No	No	No	No	No
Max. tolerated dose (human)	0,246	0,246	0,05	0,639	0,024	0,544	0,53	0,487	0,656	0,627
hERG I inhibitor	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No
hERG II inhibitor	No	No	No	Yes	No	No	No	No	Yes	No
Oral Rat Acute Toxicity (LD50)	2,132	2,132	2,155	2,317	2,61	2,548	2,578	2,509	1,813	2,527
Oral Rat Chronic Toxicity (LOAEL)	2,353	2,353	2,317	2,676	1,979	4,493	4,574	3,983	2,785	3,796
Hepatotoxicity	No	No	No	No	Yes	No	No	No	No	No
Skin Sensitisation	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No
<i>T.Pyriformis</i> toxicity	0,568	0,568	0,673	0,812	0,348	0,285	0,285	0,285	0,46	0,285
Minnow toxicity	1,889	1,889	1,348	-1,635	-0,748	5,772	5,772	5,772	-1,97	6,32
VERDE	17	17	17	12	15	18	17	19	13	19
AMARELO	1	1	2	4	1	0	3	1	5	1
SCORE	17,5	17,5	19	14	15,5	18	18,5	19,5	15,5	19,5

Tabela 4: Tabela das propriedades e score das moléculas do banco de dados ZINC

MOLÉCULA	ZINC79041096_3_114	ZINC79041112_3_75	ZINC72287409_4_26	ZINC25153337_2_6	ZINC25153361_2_5	ZINC72281676_13_22	ZINC10491598_2_28	ZINC01390134_2_7	ZINC03226340_2_148	ZINC15005452_2_26
MOL_WEIGHT	321,404	329,424	346,789	304,321	320,776	327,408	323,342	296,395	323,342	323,342
LOGP	2,67318	1,5697	4,6439	4,4533	4,9676	0,6953	5,1919	4,79194	5,1919	5,1919
#ROTATABLE_BONDS	3	3	3	3	3	2	4	3	4	4
#ACCEPTORS	2	2	2	3	3	3	1	3	1	1
#DONORS	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1
SURFACE_AREA	140,809	141,094	143,52	122,991	129,128	140,106	138,296	127,389	138,296	138,296
Water solubility	-2,95	-3,056	-4,495	-4,637	-5,056	-1,909	-6,104	-4,894	-6,104	-6,119
Caco2 permeability	0,988	0,733	0,539	2,075	1,943	0,798	2,019	1,733	2,019	2,02
Intestinal absorption (human)	94,301	93,026	85,845	89,644	88,901	74,15	90,881	92,217	90,881	91,095
Skin Permeability	-2,784	-3,225	-2,801	-2,576	-2,511	-2,838	-2,703	-2,566	-2,703	-2,704
P-glycoprotein substrate	Yes	No	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Yes	Yes
P-glycoprotein I inhibitor	No	No	Yes	No	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes
P-glycoprotein II inhibitor	No	No	No	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Yes	Yes
VDss (human)	0,301	0,233	0,095	-0,151	0,007	0,502	-0,212	0,329	-0,212	-0,208
Fraction unbound (human)	0,483	0,726	0,044	0,1	0,065	0,618	0	0,096	0	0
BBB permeability	-0,163	-0,453	0,114	0,829	0,511	-0,205	0,711	0,457	0,429	0,155
CNS permeability	-2,761	-3,036	-1,737	-1,657	-1,662	-2,819	-1,247	-1,7	-1,247	-1,262
CYP2D6 substrate	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No
CYP3A4 substrate	Yes	No	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
CYP1A2 inhibitor	Yes	No	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
CYP2C19 inhibitor	No	No	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Yes	Yes
CYP2C9 inhibitor	No	No	No	Yes	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes
CYP2D6 inhibitor	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No
CYP3A4 inhibitor	No	No	Yes	No	Yes	No	No	No	No	No
Total Clearance	0,8	1,007	0,283	0,156	0,197	0,973	0,021	0,085	-0,004	0,041
Renal OCT2 substrate	No	No	No	No	No	Yes	No	No	No	No
AMES toxicity	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes	Yes	Yes
Max. tolerated dose (human)	-0,435	-0,419	0,12	0,44	0,382	-0,689	0,474	-0,172	0,567	0,551
hERG I inhibitor	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No
hERG II inhibitor	Yes	No	No	No	No	Yes	Yes	No	Yes	Yes
Oral Rat Acute Toxicity (LD50)	2,634	2,525	2,49	2,162	2,114	2,597	2,133	2,017	2,073	2,02
Oral Rat Chronic Toxicity (LOAEL)	0,939	1,048	1,039	0,877	0,746	1,431	1,636	0,622	1,411	1,167
Hepatotoxicity	Yes	Yes	No	No	No	Yes	No	No	No	No
Skin Sensitisation	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No
<i>T.Pyiformis</i> toxicity	0,319	0,315	1,665	1,216	1,55	0,3	0,607	1,105	0,607	0,63
Minnow toxicity	1,999	2,544	1,027	0,279	0,032	2,959	-0,057	0,849	-0,057	-0,057
VERDE	16	16	12	16	15	14	13	17	12	11
AMARELO	1	1	5	5	1	0	4	2	3	3
SCORE	16,5	16,5	14,5	18,5	15,5	14	15	18	13,5	12,5