



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
LICENCIATURA EM QUÍMICA

MÍRIAN CHAVES COSTA SILVA

ESTUDO TEÓRICO DA INIBIÇÃO DO TRANSPORTADOR DE DOPAMINA:
COMPARAÇÃO DO EFEITO NARCÓTICO DO AÇÚCAR COM A COCAÍNA

UBERLÂNDIA – MG

2024

MÍRIAN CHAVES COSTA SILVA

ESTUDO TEÓRICO DA INIBIÇÃO DO TRANSPORTADOR DE DOPAMINA:
COMPARAÇÃO DO EFEITO NARCÓTICO DO AÇÚCAR COM A COCAÍNA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia como requisito para obtenção do título de Licenciatura em Química.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo de Faria Franca

UBERLÂNDIA – MG

2024



Documento assinado eletronicamente por **Eduardo de Faria Franca, Professor(a) do Magistério Superior**, em 25/04/2024, às 15:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Welington de Oliveira Cruz, Professor(a) do Magistério Superior**, em 25/04/2024, às 15:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Waleska Renata Pereira Costa, Usuário Externo**, em 19/06/2024, às 16:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **5365788** e o código CRC **5ED7BEE7**.

“Ninguém vai bater tão forte como a vida, mas a questão não é o quão forte você consegue bater. É o quão forte você consegue apanhar e continuar seguindo em frente. É o quanto você consegue aguentar e continuar seguindo em frente.” - Rocky Balboa.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à todas as pessoas que estiveram presente em meus momentos mais difíceis e sombrios e, principalmente, aquelas que não permitiram que eu desistisse desse diploma.

RESUMO

A dopamina é um importante neurotransmissor responsável pelo controle de movimento, motivação e cognição. Estudos recentes mostraram que a glicose em excesso estimula o cérebro de ratos da mesma forma que entorpecentes ilícitos, como cocaína e anfetaminas. O alvo principal dessas substâncias são os neurotransmissores de dopamina, serotonina e noradrenalina. O processo bioquímico resultante do mecanismo de recompensa e dependência química é a inibição do transportador de dopamina (dDAT), cujo papel é remover a dopamina nas sinapses. Esta inibição aumenta a concentração de dopamina no cérebro e, em um estímulo excessivo, pode gerar uma mudança irreversível das funções nativas da dDAT. A cocaína foi o principal alvo de comparação neste trabalho, pois segundo a literatura é um anestésico local e um poderoso estimulante do Sistema Nervoso Central (SNC) com importantes propriedades simpaticomiméticas. Neste estudo, observou-se que a cocaína e a dopamina têm estruturas semelhantes que as fazem competir pelo mesmo local de ligação no transportador de dopamina. Isso significa que a cocaína pode afetar a maneira como a dopamina funciona no cérebro, interferindo na sua sinalização. Entender melhor essas interações pode ajudar no desenvolvimento de tratamentos para distúrbios relacionados ao uso de substâncias e na criação de novos medicamentos que visam o sistema dopaminérgico. No entanto, a simulação do sistema dDAT-glicose não mostrou interações substancialmente similares em comparação com as observadas com a cocaína.

Palavras-Chave: dopamina, cocaína, *docking molecular*, açúcar, energia de interação.

ABSTRACT

Dopamine is an important neurotransmitter responsible for controlling movement, motivation and cognition. Recent studies described that excess glucose stimulates the brains of rats in the same way as illicit drugs such as cocaine and amphetamines. The main targets of these drugs are the neurotransmitters dopamine, serotonin and noradrenaline. The biochemical process resulting from the reward mechanism and drug addiction is the inhibition of the dopamine transporter (dDAT), whose role is to remove dopamine from the synapses. This inhibition increases the concentration of dopamine in the brain and, in an excessive stimulus, can generate an irreversible change in dDAT's native functions. Cocaine is the main target of comparison in this work, because according to the literature it is a local anesthetic and a powerful stimulant of the Central Nervous System (CNS) with important sympathomimetic properties. In this study, we found that cocaine and dopamine have similar structures that make them compete for the same binding site on the dopamine transporter. This suggests that cocaine can affect the way dopamine function in the brain, interfering with its signaling. Understanding these interactions better could help in the development of treatments for substance use disorders and in the creation of new drugs that target the dopaminergic system. However, the simulation of the dDAT-glucose system showed substantially different interactions compared to those observed with cocaine.

Keywords: dopamine, cocaine, molecular docking, sugar, interaction energy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Cadeia de reações químicas da formação do neurotransmissor da DA.	12
Figura 2 – Cadeia de reações químicas da formação do neurotransmissor da DA.	13
Figura 3 - Representação da estrutura molecular da cocaína.	14
Figura 4 – Estrutura cristalográfica do transportador de DA de <i>Drosophila</i> em complexo com cocaína inserida em uma bicamada lipídica. (Código Pdb: 4XP4).	21
Figura 5 - Molécula de glicose ligada ao sítio central de interação da proteína transportadora de DA (representação em Cartoon).	23
Figura 6 - Diagrama 2D do ligante DA no sítio ativo da proteína transportadora de DA. É possível visualizar neste diagrama os pontos de interação entre a molécula (DA) e os resíduos da proteína.	24
Figura 7 - Diagrama 2D do ligante glicose no sítio ativo da proteína transportadora de DA. Observam-se neste diagrama os pontos de interação entre a molécula (glicose) e os resíduos da proteína.	25
Figura 8 – Diagrama 2D do ligante cocaína no sítio ativo da proteína transportadora de DA. Observam-se neste diagrama os pontos de interação entre a molécula (cocaína) e os resíduos da proteína.	26
Figura 9 – (a) Representação dos orbitais HOMO do sistema dDAT-cocaína, com energia igual a -11,3289 eV com dois orbitais ocupados. (b) Representação dos orbitais HOMO do sistema dDAT-dopamina, com energia igual a -11,2011 eV com dois orbitais ocupados. (c) Representação dos orbitais HOMO do sistema dDAT-glicose, com energia igual a -11,3289 eV com dois orbitais ocupados.	28
Figura 10 – (a) Representação dos orbitais LUMO do sistema dDAT-cocaína, com energia igual a -11,3289 eV com dois orbitais ocupados. (b) Representação dos orbitais LUMO do sistema dDAT-dopamina, com energia igual a -11,2011 eV com dois orbitais ocupados. (c) Representação dos orbitais LUMO do sistema dDAT-glicose, com energia igual a -11,3289 eV com dois orbitais ocupados.	29
Figura 11 - RMSD dos sistemas dDAT (em preto) e dDAT-cocaína (em vermelho) obtidos ao longo da simulação.	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Energias de ligação e constantes de inibição de diferentes substâncias no sítio de interação do transportador da dopamina.....	23
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
DA	Dopamina
DAT	Proteína Transportadora de Dopamina
dDAT	<i>Drosophila melanogaster</i> da DAT
LGA	Algoritmo Genético Lamarckiano
MD	Dinâmica Molecular
NET	Noradrenalina
SERT	Serotonina
SNC	Sistema Nervoso Central
TDAH	Transtorno do Déficit de Atenção
UFU	Universidade Federal de Uberlândia

SUMÁRIO

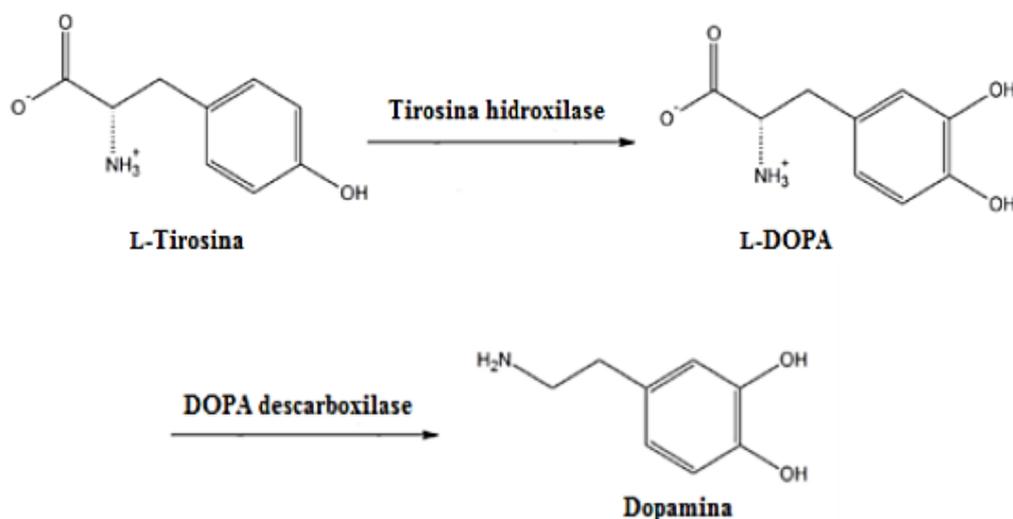
1	Introdução	12
2	Fundamentação Teórica	15
	2.1 Modelagem Molecular.....	15
	2.2 <i>Docking Molecular</i>	16
	2.3 <i>LigPlot+</i>	18
3	Metodologia	18
	3.1 <i>Docking Molecular</i>	18
	3.3 <i>Ligplot+</i>	22
4	Resultados e Discussão	22
5	Conclusão	31
6	Referências	31

1 Introdução

Nos mamíferos, o neurotransmissor da dopamina (DA) é responsável pelo movimento, motivação e cognição. Estudos mostraram que estados funcionais anormais do sistema DA em humanos está ligado às anomalias comportamentais da doença de Parkinson, transtorno do déficit de atenção (TDAH), hiperatividade e esquizofrenia (Mao Z., *et al.*, 2009).

Sintetizada a partir do aminoácido tirosina, a cadeia de reações na formação da DA tem a participação de duas proteínas (Björklund A., 2007), como descrito pela Figura 1.

Figura 1 – Cadeia de reações químicas da formação do neurotransmissor da DA.



Fonte: DAUBNER *et al.*, 2011. (ADAPTADA) (Daubner, S., *et al.*, 2011).

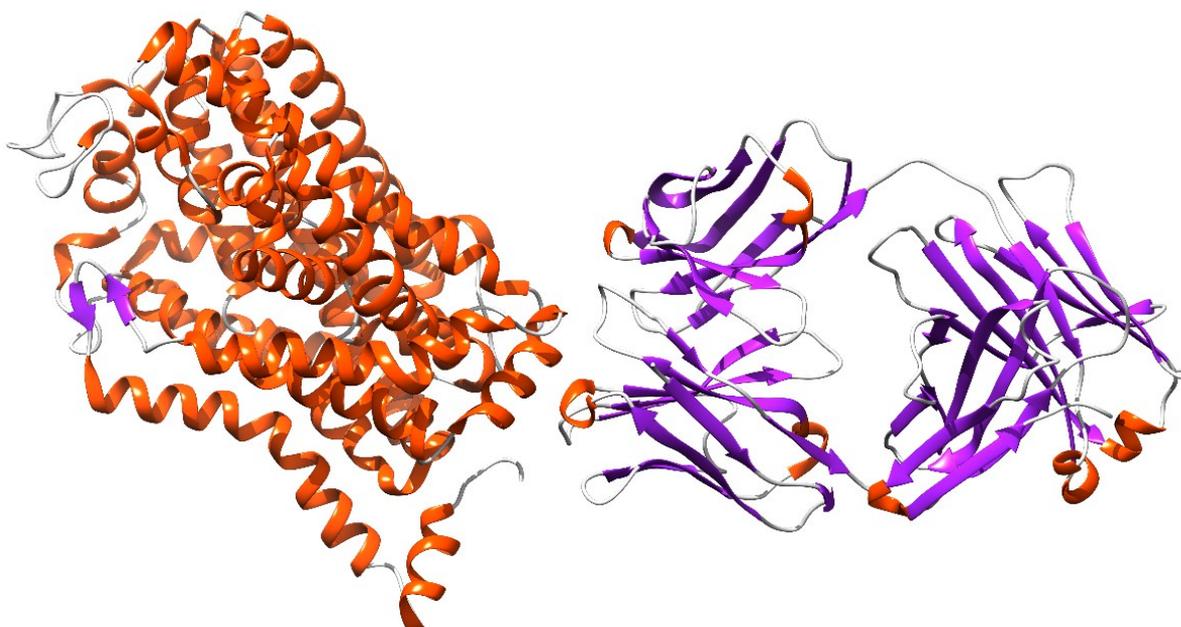
Com isso, uma vez formada no corpo celular do neurônio, a DA é liberada no Sistema Nervoso Central (SNC). Assim, estudos experimentais e computacionais demonstraram que os transportadores de DA, serotonina (SERT) e noradrenalina (NET) possuem uma dobra estrutural conservada, ou seja, é a região em uma molécula biológica que mantém uma estrutura tridimensional semelhante entre diferentes membros de uma família de moléculas. (Penmatsa, A., Wang, K. H. & Gouaux, E., 2013) (KOLDSØ, H., 2012). Dessa forma, para conduzir o movimento vetorial “ascendente” de DA extracelular para as células pré-sinápticas, a proteína transportadora de dopamina (DAT) associa o consumo de substrato a gradientes transmembranares de íons sódio e cloreto pré-existent. Em consonância com os papéis multifacetados da DA no sistema nervoso central, a perturbação da sinalização dopaminérgica através da interrupção da função nativa da DAT tem consequências profundas

(Wang K. H., Penmatsa A., Gouaux E., 2015). Em consequência disso, as anfetaminas, psicoestimulantes potentes e muito utilizados, são substratos da DAT que aumentam os níveis sinápticos de DA, seja em competição com o transporte de DA pela proteína transportadora, seja em indução para liberação de DA das vesículas sinápticas para o citoplasma, de onde a DA é então liberada por meio da DAT para o espaço sináptico (Zaczek, R. *et al.*, 1991) (Wall, S. C., Gu, H. & Rudnick, G., 1995).

Estudos mostraram que psicoestimulantes como a metanfetamina, a cocaína, o álcool, o cigarro e até a maconha aumentam a atividade da DA. Como consequência, proporcionam a sensação de recompensa (Pierce R.C., e Kumaresan V., 2006). Desse modo, a DA está envolvida nos processos de dependência, a partir do momento que a sua produção é coibida.

Assim, de acordo com estudos realizados por Wang (2015) o consumo exacerbado da glicose pode estimular o cérebro da mesma forma que substâncias ilícitas e impedir, em uma inibição competitiva, que a DA liberada na sinapse neural retorne para o citosol e seja reaproveitada para um novo processo de neurotransmissão. Sendo assim, a concentração de DA se eleva na região da sinapse, provocando o mesmo efeito (de dependência química) que a cocaína, porém, de forma mais branda (Bittman, M., 2014). A Figura 2 apresenta de forma ilustrativa a DAT (dDAT) de uma *Drosophila melanogaster* (Wang K. H., *et al.*, 2015).

Figura 2 – Cadeia de reações químicas da formação do neurotransmissor da DA.

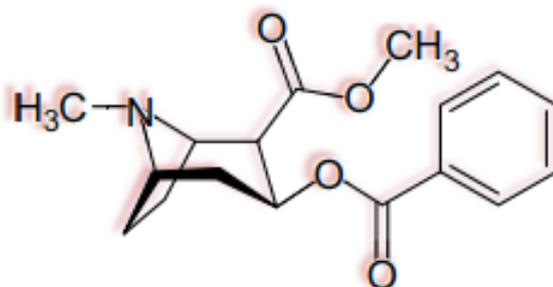


Fonte: Autora, 2021. Programa utilizado: Chimera (UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis. DOI: 10.1002/jcc.20084).

A dependência química configura uma doença descrita na 5ª edição do manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais da associação americana de psiquiatria (DSM-V) (ASSOCIATION A. P., 2003), e apresenta características sindrômicas tendendo a um padrão contínuo (Goldstein R. Z. e Volkow N. D., 2011). Dessa forma, o uso de entorpecentes ilícitos, como a cocaína, faz com que a proteína transportadora de DA seja inibida e, com isso, removida das sinapses. Assim, esta inibição resulta no aumento da concentração de DA no cérebro e o estimula excessivamente, podendo resultar em uma mudança irreversível das funções nativas da DA.

A cocaína, cuja nomenclatura IUPAC (União Internacional de Química Pura e Aplicada) é (1R, 2R, 3S, 5S)-3-(benzoiloxi)-8metil-8azabicyclo-3,2,1-octano-2-carboxilato de metila e de fórmula empírica: C₁₇H₂₁NO₄ (GAY G. R., *et al.*, 1975), é uma substância com propriedades fracamente básicas, com pH de 8,6. Sua estrutura molecular está representada pela Figura 3. Este entorpecente tem suas propriedades anestésicas oriundas de uma inibição de canais de sódio, o que impede a condução do impulsos nervosos (Haim D. Y., *et al.*, 1995).

Figura 3 - Representação da estrutura molecular da cocaína.



Fonte: Adaptado de Patricia, A., Broderick (2015), p. 75.

A potente estimulação do SNC provém da sua propriedade de inibição seletiva dos receptores das catecolaminas: dopamina, noradrenalina e serotonina (Brodie M. S. e Dunwiddie T. V., 1990). Sua ação euforizante deve-se, sobretudo, à liberação de DA nas regiões cerebrais de recompensa (Phillips P. E., *et al.*, 2003).

Foi demonstrado em animais que a cocaína exerce os seus efeitos através da interação com as sinapses dopaminérgicas (Ritz M. C., Kuhar M. J., 1993). É provável que a cocaína interaja com o sistema dopaminérgico ligando-se ao transportador de DA, inibindo assim a recaptação de DA na fenda sináptica para o terminal pré-sináptico (Nielsen E. B., Scheel-

Krüger J., 1988). Este mecanismo conduz a um aumento da DA disponível. A base neural do reforço da cocaína identificada em casos de animais parece envolver um aumento da neurotransmissão dopaminérgica nas células produtoras de DA situadas na zona tegmental ventral (Schlaepfer T. E., *et al.*, 1997).

Estudos recentes mostraram que a glicose em excesso pode, também, estimular o cérebro da mesma forma que a cocaína e as anfetaminas (O'Sullivan, M., 2014), no entanto, com menor intensidade. Apesar das diferenças, a obesidade partilha algumas semelhanças com a perturbação por uso de substâncias ilícitas (Angela J., *et al.*, 2019). A obesidade está associada à dificuldade em controlar a ingestão de alimentos, desejos repetidos, ânsias por comida, tentativas sem sucesso de impedir a ingestão excessiva de alimentos e a continuação excessiva apesar das consequências negativas. (Ifland, J. R. *et al.*, 2009) (Rogers, P. J., 2017).

As tentativas de perder peso por meio de dietas podem, também, fazer lembrar as tentativas de deixar de consumir substâncias de abuso, visto que ambas partilham um padrão em que os indivíduos se abstêm da substância durante um período de tempo seguido de uma recaída. (Davis C., *et al.*, 2011) E, embora, haja desacordo sobre se a obesidade deve ser classificada como um estado de dependência, (Finlayson, G., 2017) existem características neurais comuns às perturbações associadas ao consumo de substâncias ilícitas e da obesidade. (Kenny, P. J., Voren G., Johnson P. M., 2013). O consumo de alimentos ricos em gordura ativa o sistema dopaminérgico mesolímbico (Valdivia, S., *et al.*, 2014) (Liu S., *et al.*, 2016), o mesmo circuito que é ativado pelos entorpecentes de abuso (Sulzer, D., 2011) (Avena, N. M., *et al.*, 2011).

Os animais expostos a alimentos palatáveis podem, também, tornar-se resistentes à desvalorização dos resultados, sugerindo que os alimentos palatáveis podem facilitar os comportamentos habituais (Furlong, T. M., *et al.*, 2014) (Pitman, K. A., Borgland S. L., 2015).

Dessa forma, por meio de cálculos quânticos e mecânica molecular, este trabalho, objetivou criar um modelo capaz de verificar e reforçar a hipótese de que a glicose é capaz de inibir a proteína transportadora de DA e possivelmente causar dependência similar à cocaína.

2 Fundamentação Teórica

2.1 Modelagem Molecular

A simulação de sistemas moleculares requer a geração de conformações estatisticamente representativas (Frenkel, D. e Smit B., 2001). Dessa forma, o século XX

testemunhou dois avanços cruciais. Por meio do desenvolvimento da técnica de difração de Raios-X, tornou-se possível determinar a organização dos átomos com precisão métrica. Dependendo das características da molécula, da qualidade do cristal e da precisão do experimento, foi possível estabelecer com exatidão os comprimentos das ligações, os ângulos de valência, os torcionais e até mesmo os contatos não-ligados. Outro marco de grande significado foi a formulação da equação de Schrödinger, cujas consequências perduram até os dias de hoje.

Assim, de acordo com Comba *et al.* (2001) surge a modelagem molecular como uma ferramenta que abre novos caminhos para a exploração sistemática de padrões estruturais, dinâmicos e termodinâmicos. Ela possibilita testar e desenvolver hipóteses, interpretar e expandir dados experimentais, além de contribuir para uma melhor compreensão e ampliação das leis fundamentais que regem a flexibilidade, função e estrutura molecular. Dessa forma, se conseguirmos criar algoritmos capazes de calcular estruturas com uma determinada composição e conectividade, poderemos desenvolver algoritmos para calcular propriedades moleculares com base na estrutura calculada e vice-versa. Entretanto, antes de qualquer estudo computacional sobre propriedades moleculares, é necessário estabelecer um modelo molecular (Schlick, T., 2010).

Existem duas abordagens predominantes na modelagem molecular: a abordagem clássica, que inclui os métodos de *docking molecular*, e da dinâmica molecular, por exemplo. Enquanto isso, a abordagem quântica, que engloba os métodos *ab initio*, DFT e semi-empíricos. A escolha entre essas abordagens depende das propriedades a serem avaliadas, da precisão desejada e da capacidade computacional disponível para realizar os cálculos (Sant'Anna C. M. R., 2009).

Os princípios fundamentais da mecânica quântica afirmam que sistemas microscópicos são descritos por funções de onda que caracterizam completamente todas as propriedades físicas do sistema. Em particular, existem operadores mecânico-quânticos correspondentes a cada observável físico, que, quando aplicados à função de onda, permitem prever a probabilidade de um sistema apresentar um valor ou intervalo de valores (sejam eles escalares, vetoriais ou de outra natureza) para aquela observação (Cramer C. J., 2004).

2.2 Docking Molecular

Nas estratégias de modelagem molecular, esta ferramenta é um método que prevê a orientação preferencial de uma espécie química ou molécula com relação à outra, quando

ambas formam complexos ou interações estáveis. O conhecimento da orientação preferencial é usado para prever a força de associação ou a afinidade de ligação (Morris, G.M. *et al.*, 1998).

É uma técnica computacional amplamente utilizada na área de química medicinal e bioinformática para prever como moléculas, fármacos ou compostos químicos, interagem com proteínas ou outros alvos biológicos em nível molecular. Essa técnica é indispensável no processo de desenvolvimento de medicamentos, uma vez que permite a triagem virtual de compostos para identificar candidatos promissores que podem se ligar e afetar o alvo de interesse.

Com os avanços nos algoritmos de *docking molecular* e o aumento da informação de acesso livre sobre ligantes e alvos, as aplicações dessa ferramenta na descoberta de medicamentos estão crescendo de forma acelerada (Torres, P. H. M. *et al.*, 2019). Nos primeiros anos, era utilizado principalmente na investigação das interações moleculares entre ligantes e alvos. No entanto, atualmente, o âmbito de aplicação é mais vasto e há uma certa mudança na área de aplicação. Dessa forma, têm aplicações no rastreamento virtual, na descoberta e caracterização de alvos, na previsão de efeitos secundários de medicamentos e na reorientação de medicamentos (Hecht, D.; Fogel, G.B., 2009) (Muhammed, M. T.; Aki-Yalcin, E., 2022).

Esse processo implica em duas etapas distintas: a primeira é a predição da conformação, posição e orientação do ligante dentro dos sítios, seguida pela segunda etapa, que envolve a avaliação da afinidade de ligação (Meng X., *et al.*, 2011). Além disso, o *docking* pode ser empregado para conduzir uma triagem virtual em extensas bibliotecas de compostos, classificar os resultados e propor hipóteses estruturais sobre como os ligantes se associam aos alvos.

Esses cálculos têm o potencial de aumentar significativamente a probabilidade de descobrir novos inibidores para proteínas-chave em patógenos, permitindo a previsão da capacidade de um composto em se ligar ao alvo, a localização preferencial de ligação e os tipos de interações que poderiam ocorrer no sítio de ligação. Essa abordagem também pode identificar candidatos promissores para ensaios laboratoriais (Cosconati, S., 2010) (Perryman, A. L., 2015).

2.3 *LigPlot+*

O *LigPlot+* é uma reformulação completa do *LigPlot* original (Laskowski, R. e Swindells, M., 2011). Dessa forma, o *LigPlot+* é um programa de computador amplamente utilizado para analisar e visualizar interações entre moléculas, especialmente interações entre proteínas e seus ligantes (pequenas moléculas que se ligam às proteínas). Dessa forma, para avaliar e visualizar as interações entre as moléculas (proteínas e seus ligantes), este programa utiliza informações de estrutura tridimensional.

Com isso, é possível visualizar em formato 2D as ligações de Hidrogênio, interações de Van der Waals e interações iônicas e, assim, facilitar as interpretações de resultados das interações que ocorrem entre a proteína e o ligante. Além disso, o *LigPlot+* demonstra como as ligações ocorrem, tornando a interpretação da afinidade e da seletividade dessas ligações o mais claro possível.

Na representação em 2D, ligações de Hidrogênio são representadas por linhas tracejadas entre dois átomos. Já os resíduos que estão envolvidos em interações hidrofóbicas são representados por um arco com pequenas linhas apontando em direção ao átomo do ligante com o qual ele estabelece a interação. O átomo do ligante, por sua vez, também possui um arco com linhas apontando em direção ao resíduo com o qual a interação hidrofóbica foi estabelecida.

Esse programa é uma ferramenta que representa ligações de Hidrogênio e interações hidrofóbicas em detalhes. Com isso, pode ser utilizado para qualquer complexo proteína-ligante de forma automática, o que permite adicionar informações de acessibilidade ao solvente, moléculas de água e resíduos que não interagem diretamente com o ligante (Fassio, A. e Napoli, V., 2015).

3 Metodologia

3.1 *Docking Molecular*

A busca pela orientação preferencial dos sistemas em questão (ligante-receptor) proporcionado pelo *docking* foi realizado dividindo-se o problema da interação proteína-ligante em dois subproblemas:

- A utilização de um algoritmo capaz de prever a conformação e a orientação de uma molécula ligante relativa ao sítio ativo do receptor;

- Predição da afinidade de ligação de um complexo receptor-ligante. Além disso, existem situações em que a posição dos sítios de ligação é duvidosa. Para resolver esse problema, uma metodologia chamada *blind docking* (BD), a qual realiza uma busca de potenciais sítios ativos em toda a superfície molecular de interesse (Morris, G.M. *et al.*, 1998).

Dessa forma, as estruturas moleculares da cocaína (C₇H₂₁NO₄) e da glicose (C₆H₁₂O₆) foram otimizadas quanticamente à nível semiempírico, por meio do método *Parametric Method 7* (PM7).

Esse método semiempírico de mecânica quântica foi usado para calcular as propriedades moleculares que inclui ajustes adicionais para melhorar a precisão e a aplicabilidade nos sistemas químicos (Stewart, J. J. P., 2016). Dessa forma, os ajustes paramétricos específicos foram refinados para reproduzir melhor dados experimentais e teóricos, permitindo uma descrição mais precisa das interações atômicas e moleculares. Porém, como os métodos semiempíricos apresentam algumas limitações, foi utilizado o método DFT (B3LYP/6-311G(2d,2p)) para obter uma melhor conformação espacial.

As estruturas de menor energia foram utilizadas como input para cálculos de *docking molecular*, utilizando o software AutoDock 4.0, e a busca pela menor energia de interação foi realizada utilizando-se o algoritmo genético Lamarckiano (LGA).

A eficiência e a validação da metodologia de *docking molecular* realizado foram realizadas comparando a constante de inibição enzimática experimental (0,2μM), com o valor obtido teoricamente (0,3μM).

3.2 Amostragem do espaço conformacional utilizando simulações de Dinâmica Molecular

Neste trabalho foi utilizado o método de Dinâmica Molecular (MD), o qual recorre à integração das equações clássicas de movimento, em que determinou a velocidade e a aceleração das partículas do sistema em um dado instante de tempo. Isto permitiu obter informações sobre o comportamento dinâmico, dependente do tempo, assim como, os átomos individuais que compõem o sistema.

As propriedades macroscópicas de interesse (como a pressão, o volume, a temperatura, entre outros) foram obtidas aplicando-se técnicas de mecânica estatística a partir dos dados microscópicos providos da simulação (Van der Spoel, D., *et al.*, 2015).

Assim, o sistema dDAT-cocaína foi solvatado com moléculas de água. Logo, condições periódicas de contorno foram adicionadas, e um raio de corte de 1,0 nm foi utilizado para as

interações de Coulomb e Van der Waals. O conjunto NpT (número de átomos, pressão e temperatura constantes) foi utilizado. A pressão e a temperatura do sistema adotadas foram de 1 bar e 310 K, respectivamente, com constantes de tempo de 2,0 os e 0,1 os, respectivamente, utilizadas no algoritmo termostato V-Rescale e barostato Parrinello-Rahman.

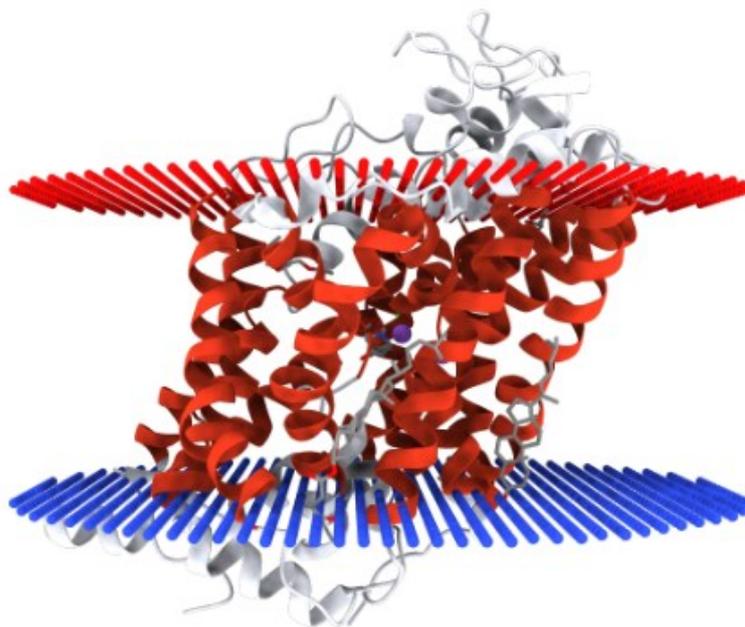
Todos os sistemas de interesse foram solvatados por moléculas de água explícita (Berendsen, H. J. C., 1987), do tipo TIP4P (Transferable Intermolecular Potential 4 Points), em que descreve a água com quatro pontos de carga, o que reproduz as propriedades termodinâmicas da mesma, incluindo a estrutura de hidrogênio ligada. Assim, foram considerados parâmetros do campo de força OPLS-AA (Damm, W., *et al.*, 1955).

Para minimizar o efeito de contato ou da sobreposição de átomos entre as moléculas, foi realizada a minimização da energia do sistema em 5 passos através do algoritmo steepest-descent, como se segue: o primeiro passo consiste na inicialização do sistema, em que são definidas as posições atômicas (ou coordenadas) inicial do sistema, logo, no segundo passo é realizado o cálculo do gradiente de energia. O terceiro passo é o movimento na direção do gradiente negativo, em que o movimento e a posição atômica é direcionado de forma oposta ao gradiente de energia para obtenção de uma nova energia. Por conseguinte, as posições atômicas são atualizadas de acordo com o movimento calculado na etapa anterior. Por fim, o quinto passo consiste na convergência, em que processo é repetido iterativamente até que a região de mínimo local ou global seja alcançada. Dessa forma, o sistema foi extensivamente relaxado com dinâmica molecular com o objetivo de se atingir o equilíbrio termodinâmico.

Por fim, esses 5 passos foram reproduzidos em mil vezes para a minimização utilizados pelo algoritmo. Após essa etapa, uma trajetória no tempo de 500 ps foi gerada, restringindo os movimentos internos na proteína com constantes de força de $1.000 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ nm}^{-2}$. O objetivo dessa etapa foi relaxar e termalizar o solvente na temperatura desejada. Finalizada essa etapa, gerou-se uma trajetória no tempo de 10,0 ns de simulação, e o mesmo procedimento foi feito para a proteína na forma APO. Dentre os pacotes computacionais de dinâmica molecular, aqui foi utilizado o GROMACS (Van der Spoel, D., *et al.*, 2005).

Além disso, íons sódio e cloreto foram utilizados para uniformizar e atingir uma requerida força iônica de 0,105 molar. A trajetória obtida a partir da MD foi comparada com as propriedades obtidas dos resultados experimentais. A Figura 4 apresenta a estrutura cristalográfica do sistema dDAT-cocaína obtida pelo banco de dados de *Protein Data Bank* PDB.

Figura 4 – Estrutura cristalográfica do transportador de DA de *Drosophila* em complexo com cocaína inserida em uma bicamada lipídica. (Código Pdb: 4XP4).



Fonte: <www.pdb.org> Acesso em 01 de fevereiro de 2024.

A estrutura apresentada pela Figura 4 é o sistema do transportador de DA de *Drosophila* em complexo com cocaína, em que foi cristalizada pelo método de vapor de difusão e gota em suspensão, com valor de pH igual a 6,8 e temperatura de 277 K. Obtida por meio do Protein Data Bank, com código PDB 4XP4, a estabilidade deste sistema foi verificada pelas interações entre a proteína (dDAT) e o ligante (cocaína). As hélices alfa representam os segmentos estruturais da proteína que atravessam a bicamada lipídica da membrana celular, desempenhando um papel importante na função e na interação da proteína com seu ambiente celular.

Para a simulação do sistema cocaína-dDAT na forma APO, o mesmo foi inserido em uma caixa cúbica contendo água explícita do tipo TIP4P.

Para a simulação, por Dinâmica Molecular, do sistema na forma HOLO, a cocaína foi parametrizada e inserida no sítio ativo da dDAT. Com isso, o sistema dDAT-cocaína também foi inserido em uma caixa contendo água do tipo TIP4P.

Todas as simulações realizadas neste projeto se deram utilizando-se os campos de força GROMOS (Oostenbrink, C., *et al.*, 2004) ou OPLS-AA (Damm, W., *et al.*, 1955). Para a realização desses cálculos foram utilizados programas gratuitos e de domínio público, como o pacote computacional GROMACS 5.0.7 (Van der Spoel, D., *et al.*, 2005).

3.3 Ligplot+

Neste caso, ele foi utilizado para gerar representações 2D das interações entre a proteína e os ligantes. Com isso, transformou automaticamente os complexos proteína-ligantes de uma representação tridimensional para uma representação em apenas 2 dimensões. Nesse processo, o *LigPlot+* posicionou os átomos ou resíduos de forma que não houve sobreposição, prezando, portanto, pela legibilidade da imagem.

Com isso, foi possível identificar as ligações de Hidrogênio e as interações hidrofóbicas através do software HBPLUS (McDonald, I. K. e Thornton, J. M., 1994). Para calcular as ligações de Hidrogênio, foram utilizados critérios de distância e angulação entre os átomos envolvidos. O critério definiu a distância entre o hidrogênio e o átomo aceptor, utilizando o regulamento do programa, que deve ser menor que 2,7Å; a distância entre o átomo doador e o átomo aceptor deve ser menor que 3,3Å; o ângulo entre esses três átomos deve ser maior que 90°; e o ângulo entre o hidrogênio, o átomo aceptor e um átomo ligado ao átomo aceptor deve ser maior que 90°. Assim como, o critério utilizado para mapear interações hidrofóbicas obedeceu ao procedimento em que a distância entre dois átomos de carbono deve ser menor que 3,9Å (Fassio, A. e Napoli, V., 2015).

Para complementar, foi incluído o ambiente químico local das interações, abrangendo a presença de solventes e a geometria das moléculas. Isso permitiu uma representação mais precisa das interações biológicas e forneceu informações úteis para a compreensão das propriedades funcionais das proteínas e dos ligantes.

4 Resultados e Discussão

Os modelos tridimensionais da cocaína e da glicose foram otimizados em duas etapas. Inicialmente à nível semi-empírico pelo método Parametric Method 7 (PM7) através do programa MOPAC2016 (Dewar M.; Dewar J., 2016).

A partir da otimização da geometria, as estruturas de menor energia foram utilizadas como input para o *docking molecular* com os pares ligante-dDAT. Nesse caso, foi utilizado o programa AutoDock 4.0. O programa avaliou as dez melhores conformações para cada substância de acordo com a energia livre de ligação, e com isso, através do algoritmo genético lamarckiano (LGA) foi realizada a busca pela menor energia de ligação.

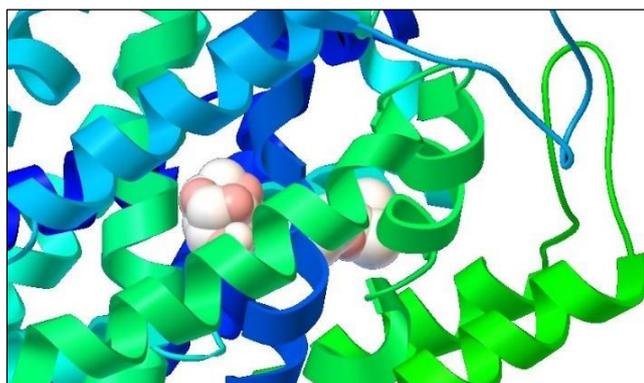
A Tabela 1 mostra os valores das energias livres de ligação e constantes de inibição dos ligantes para os cálculos de *docking*.

Tabela 1 – Energias de ligação e constantes de inibição de diferentes substâncias no sítio de interação do transportador da DA.

Substância	Energia de ligação (kcal mol ⁻¹)	Constante de inibição K _i (μM)
Dopamina	- 5,30	131,0
Glicose	- 2,61	12,2 10 ³
Cocaína	- 8,81	0,349

A Tabela 1 mostra os valores que a interação do sistema cocaína-dDAT é consideravelmente mais pronunciada que a interação do sistema glicose-dDAT, como era de se esperar; entretanto, o monossacarídeo apresentou uma energia de interação favorável e significativa, resultando em uma interação efetiva como ilustrado pela Figura 5. Isto confirma a hipótese da literatura (Mckay, T., 2014), que a glicose é capaz de estimular o sistema nervoso central na mesma região que a cocaína.

Figura 5 - Molécula de glicose ligada ao sítio central de interação da proteína transportadora de DA (representação em Cartoon).

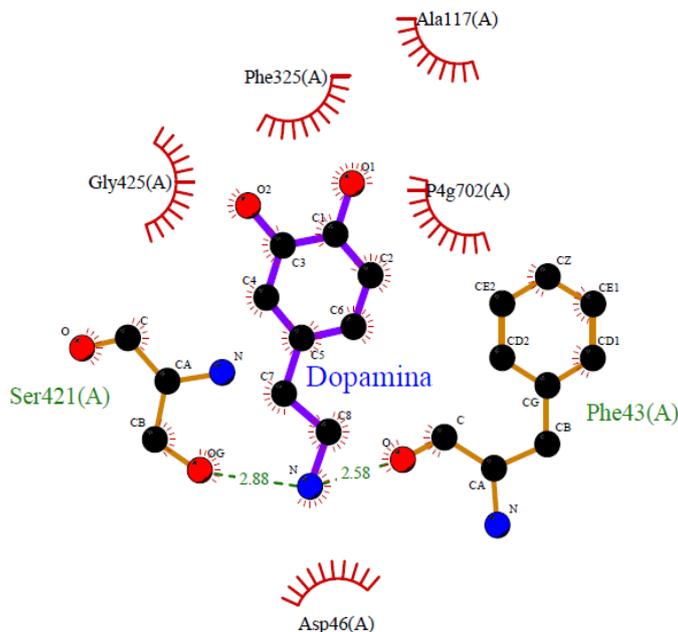


Fonte: Programa utilizado: VMD (Visual Molecular Dynamics) (2021).

A eficiência e a validação da metodologia de *docking molecular* foram realizadas comparando a constante de inibição enzimática experimental (0,2 μM) (MCKAY, T., 2014) com o valor obtido teoricamente (0,3 μM). Assim, devido a diferença de apenas 0,1 μM na previsão da inibição enzimática, pode-se considerar a metodologia para previsão da energia de interação da cocaína e glicose.

Para que a descrição do ambiente de interação dos sistemas deste trabalho fosse melhor visualizado, foi utilizado o software LigPlot+ (Laskowski, R. e Swindells, M., 2011), em que os arquivos PDBs dos sistemas glicose-dDAT; cocaína-dDAT e dopamina-dDAT foram utilizados no programa. Neste caso, as imagens geradas pelo programa, representadas pelas Figuras 6, 7 e 8, demonstram as interações dos resíduos não-ligantes que ocorrem entre os ligantes e o neurotransmissor da proteína transportadora de DA.

Figura 6 - Diagrama 2D do ligante DA no sítio ativo da proteína transportadora de DA. É possível visualizar neste diagrama os pontos de interação entre a molécula (DA) e os resíduos da proteína.



Fonte: Programa utilizado: Ligplot+ (2011).

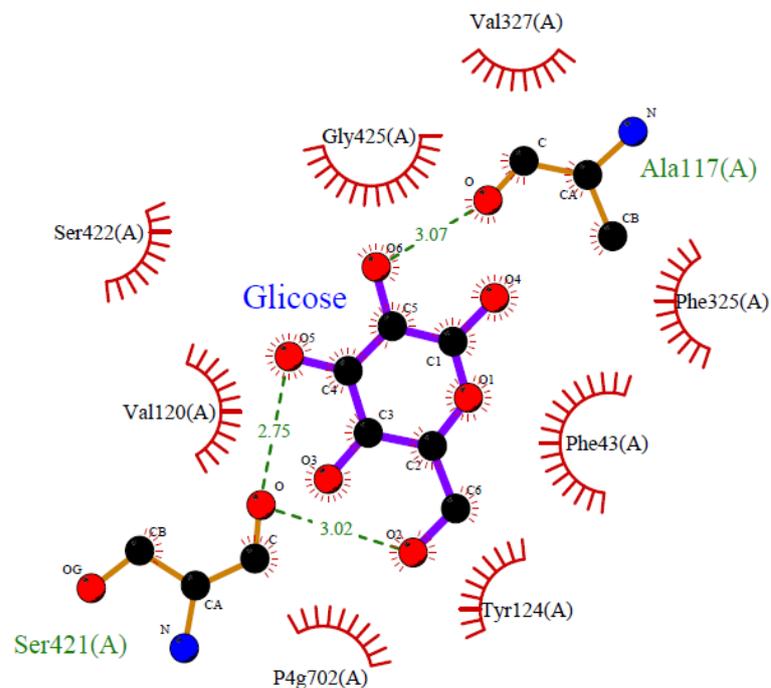
Os itens que aparecem no gráfico demonstram:

- Ligação do ligante
- Ligação do não-ligante
- Ligação do Hidrogênio e distância
- Resíduos não-ligantes na interação hidrofóbica
- Correspondentes átomos na interação hidrofóbica

Este diagrama indica os pontos de interação entre a DA e os resíduos da macromolécula (dDAT), em que os resíduos não-ligantes Ala117(A), Phe325(A), Gly425(A), Asp46(A) e P4g702(A) fazem parte da interação hidrofóbica, assim como os cofatores Ser421(A) e Phe43(A) estão interagindo por meio da ligação de Hidrogênio, com distâncias de 2,88Å e 2,58Å, respectivamente, indicando com número, seu sítio de ligação. Com isso, é possível visualizar que há uma predominância das interações hidrofóbicas entre o ligante DA e os resíduos presentes da dDAT.

Dessa forma, a predominância de ligações hidrofóbicas indica uma certa dificuldade ou impedimento que a DA se ligue adequadamente à proteína, reduzindo assim sua afinidade ou eficácia. Outra consequência dessa predominância está relacionada em influenciar a seletividade do ligante para a proteína, favorecendo a ligação de certos ligantes hidrofóbicos em detrimento de outros, por esse motivo, após a DA ter sido transportada para o interior da célula pré-sináptica, ela é então liberada para o citoplasma, onde pode ser reciclada para uso posterior ou metabolizada (Narayana P. A., *et al.*, 2010).

Figura 7 - Diagrama 2D do ligante glicose no sítio ativo da proteína transportadora de DA. Observam-se neste diagrama os pontos de interação entre a molécula (glicose) e os resíduos da proteína.

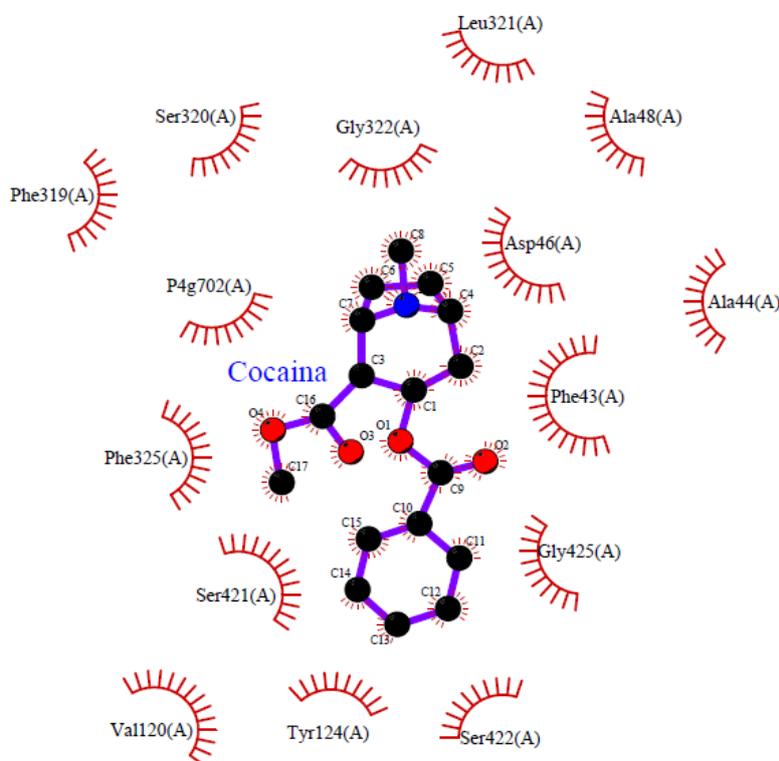


Fonte: Programa utilizado: Ligplot+ (2011).

A glicose apresenta um número de ligações hidrofóbicas mais acentuado que a DA, assim como, há uma mudança nos resíduos que estão participando dessas interações. Assim, o resíduos Gly(A), Phe325(A) e P4g(A) continuam com interações hidrofóbicas, porém, o resíduo Phe43(A), que estava interagindo como ligação de Hidrogênio, neste sistema está de forma hidrofóbica. De maneira análoga, o resíduo Ala117(A) neste sistema participa como ligação de Hidrogênio, no sistema anterior participa das interações hidrofóbicas. Por fim, o resíduo Ser412(A) continua nas ligações de Hidrogênio, porém, com uma interação a mais do que o sistema anterior, medindo 3,02Å e 2,75Å.

De maneira similar, é esperado que a glicose apresente mais interações hidrofóbicas, já que sua estrutura interage de maneira reversível, podendo assim, ser retirada do sítio de ligação do transportador de DA.

Figura 8 – Diagrama 2D do ligante cocaína no sítio ativo da proteína transportadora de DA. Observam-se neste diagrama os pontos de interação entre a molécula (cocaína) e os resíduos da proteína.



Fonte: Programa utilizado: Ligplot+ (2011).

Por outro lado, a Figura 7 demonstra que a cocaína neste sítio ativo é totalmente hidrofóbica em relação aos resíduos.

As poses de menor energia livre obtidas após o atracamento pelo programa AutoDock foram analisadas no programa LigPlot+ com a finalidade de predizer os possíveis tipos de interações presentes entre ligante-receptor. Para a cocaína, somente interações hidrofóbicas foram identificadas, sendo estas resultantes das partes apolares do ligante e seções hidrofóbicas dos aminoácidos DA, glicose e cocaína (Figuras 6, 7 e 8). Desta forma, a especificidade da manutenção da cocaína no sítio ativo da proteína transportadora da DA pode ser atribuída somente a este tipo de interação.

A quantidade de ligações hidrofóbicas dos resíduos do transportador de DA ligados à cocaína apresentou-se maior em comparação à DA devido as diferenças na estrutura e propriedades dessas moléculas.

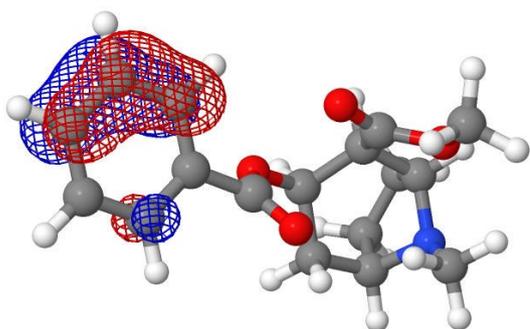
Assim, como a cocaína e a DA têm estruturas moleculares distintas, a cocaína é uma molécula maior e mais complexa, com uma cadeia alifática relativamente longa e grupos funcionais variados, enquanto a DA é uma molécula neurotransmissora relativamente pequena e mais simples.

A presença de uma cadeia alifática longa na cocaína pode aumentar a área de interação com os resíduos hidrofóbicos do transportador de DA, proporcionando assim mais oportunidades para a formação de ligações hidrofóbicas em comparação com a DA.

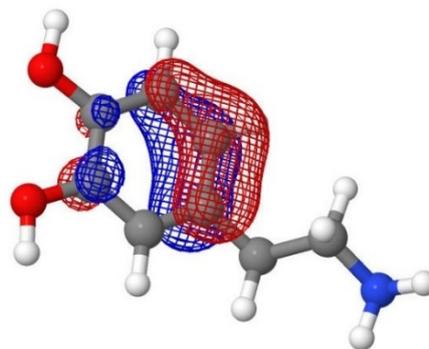
Portanto, visando entender o comportamento estrutural dos sistemas dDAT-cocaína, dDAT-glicose e dDAT-dopamina foi realizada, através do programa ORCA (2012), a busca da localização dos orbitais HOMO e LUMO, assim como seus valores energéticos. As Figuras 9 e 10 apresentam os sistemas de interesse, assim como a localização dos orbitais e seus valores energéticos.

Figura 9 – (a) Representação dos orbitais HOMO do sistema dDAT-cocaína, com energia igual a -11,3289 eV com dois orbitais ocupados. (b) Representação dos orbitais HOMO do sistema dDAT-dopamina, com energia igual a -11,2011 eV com dois orbitais ocupados. (c) Representação dos orbitais HOMO do sistema dDAT-glicose, com energia igual a -11,3289 eV com dois orbitais ocupados.

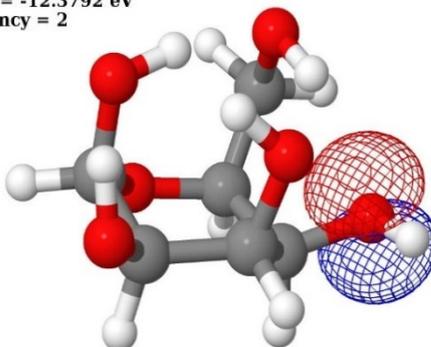
(a) cocaine.mgf
Model 1.1 MO 59/109
Energy = -11.3289 eV
Occupancy = 2



(b) dopamine.mgf
Model 1.1 MO 30/55
Energy = -11.2011 eV
Occupancy = 2



(c) glucose.mgf
Model 1.1 MO 36/60
Energy = -12.3792 eV
Occupancy = 2



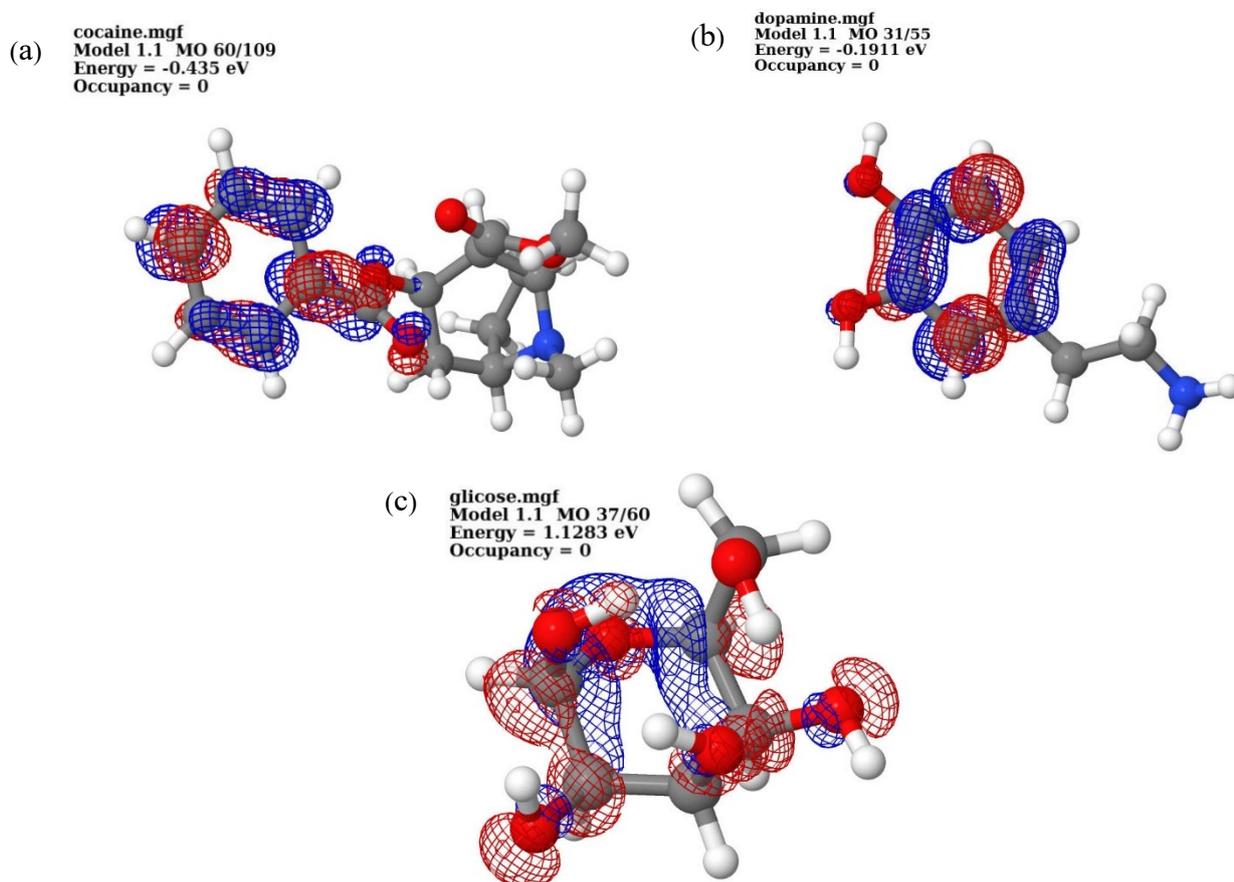
Fonte: Programa utilizado: ORCA (2012).

É possível visualizar a semelhança dos orbitais HOMO da cocaína e da DA, assim como seus valores energéticos são mais próximos, porém, não há semelhança entre os orbitais da DA com a glicose.

Dessa forma, o HOMO mostra, em termos de valores energéticos, que a cocaína se liga no sítio ativo com maior intensidade, já que a DA tem valor energético mais próximo, comparado à glicose. Com isso, evidencia a competição pelo sítio ativo e o motivo pelo qual a cocaína se liga de forma irreversível.

No caso da glicose, como o valor energético é menor, assim como a diferença entre os orbitais da cocaína e da DA, é evidenciado que a glicose interage no sítio ativo, porém, com menor intensidade energética comparada à cocaína e a DA.

Figura 10 – (a) Representação dos orbitais LUMO do sistema dDAT-cocaína, com energia igual a -11,3289 eV com dois orbitais ocupados. (b) Representação dos orbitais LUMO do sistema dDAT-dopamina, com energia igual a -11,2011 eV com dois orbitais ocupados. (c) Representação dos orbitais LUMO do sistema dDAT-glicose, com energia igual a -11,3289 eV com dois orbitais ocupados.



Fonte: Programa utilizado: ORCA (2012).

A Figura 10 apresenta a semelhança dos orbitais LUMO entre a cocaína e a DA continuam, assim como a pequena diferença energética. Porém, a glicose possui energia maior, comparado às três moléculas, o que explica uma maior disponibilidade para que ocupem o orbital LUMO. Dessa forma, as interações com os receptores de DA tornam-se uma possibilidade, já que os orbitais HOMO dos mesmos podem reagir com o LUMO da glicose.

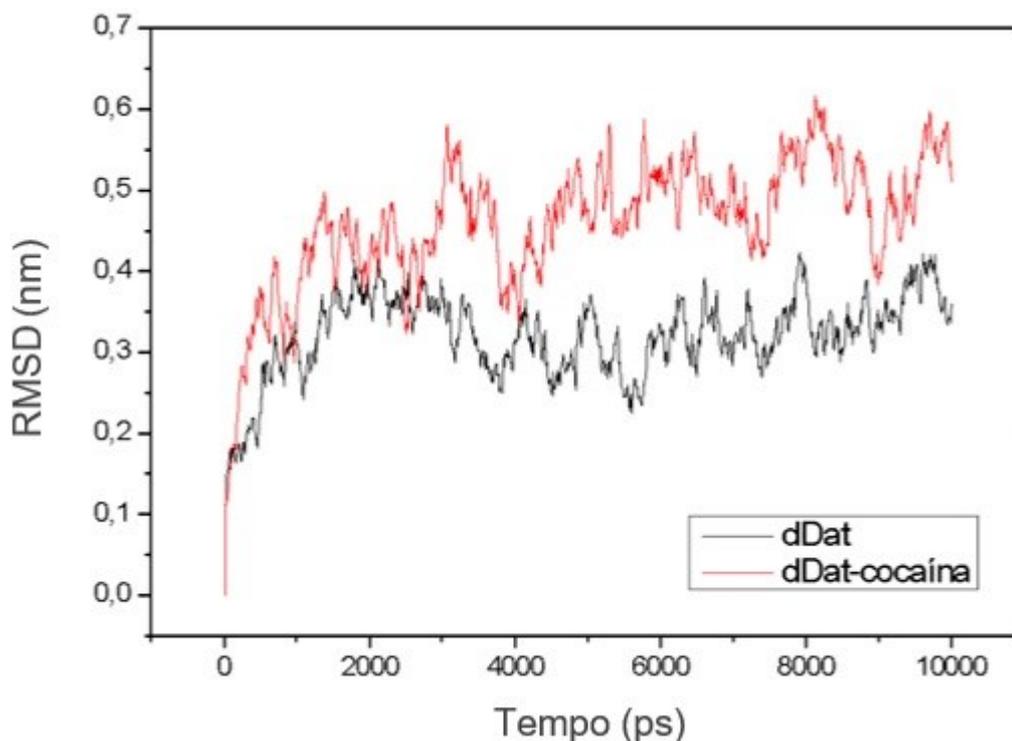
As vantagens do HOMO e do LUMO da glicose possuírem valor energético mais baixo está no envolvimento em reações de transferência de elétrons, como a respiração celular e a fermentação. Quando o LUMO está a uma energia mais baixa, facilita a transferência de elétrons da glicose para outras moléculas.

Dessa forma, para avaliar a conformação e a sobreposição espacial da cocaína no sítio de ligação da DA, foi realizado um cálculo de RMSD (*Root Mean Square Deviation*) para obter a medida do desvio da estrutura dos dois sistemas ao longo do tempo. Para isso, cada intervalo de tempo, executou-se uma sobreposição da estrutura atual com a inicial para obter o desvio entre ambas, o qual é mostrado na Equação 1.

$$\text{RMSD}(t_i, t_0) = \left[\frac{1}{N} \sum_{i=0}^n ||r_i(t_i) - r_0(t_0)||^2 \right]^{\frac{1}{2}} \quad (1)$$

em que r_i e t_i representam a posição do átomo i no tempo: t_i e t_0 se referem a estrutura da molécula no tempo zero. A Figura 11 mostra a representação gráfica da evolução estrutural dos dois sistemas dDAT e dDAT-cocaína em RMSD.

Figura 11 - RMSD dos sistemas dDAT (em preto) e dDAT-cocaína (em vermelho) obtidos ao longo da simulação.



Fonte: Programa utilizado: GROMACS (2023).

A Figura 11 mostra que os valores de RMSD aumentam até 0,4 nm de simulação de 0 a 2.000 ps para as formas HOLO (dDAT) e APO (dDAT-cocaína), respectivamente. Isso mostra que a dDAT perde sua conformação inicial.

Por conseguinte, o RMSD mantém média de 0,3 nm ao longo do tempo, para a forma HOLO. Porém, para a forma APO, o RMSD mantém média de 0,5 nm. Com isso, o baixo valor do RMSD na forma HOLO mostra que a estrutura da dDAT não apresenta mudanças significativas ao longo da trajetória da simulação. Ao contrário da forma HOLO, os valores relativamente altos de RMSD da forma APO mostram que a proteína apresenta mudanças conformacionais significativas. Esses dados revelam que a presença da cocaína na região do sítio ativo da dDAT estabiliza sua estrutura.

5 Conclusão

No contexto das ferramentas utilizadas neste trabalho, podemos concluir que a cocaína e a DA compartilham semelhanças estruturais em relação ao sítio ativo do transportador de DA. Essas semelhanças podem ser evidenciadas pela sobreposição das conformações moleculares, pelas interações específicas identificadas pelo LigPlot e pelo baixo valor de RMSD, indicando uma conformação semelhante das moléculas no sítio de ligação.

Esses resultados indicam que a cocaína pode interagir com a dDAT de maneira semelhante à DA, competindo pelo mesmo sítio de ligação e afetando a sinalização dopaminérgica no cérebro. Uma compreensão mais detalhada das interações moleculares entre a cocaína e a dDAT pode ter implicações significativas no desenvolvimento de tratamentos para transtornos relacionados ao uso de substâncias e no design de novos medicamentos direcionados ao sistema dopaminérgico.

A simulação computacional do sistema dDAT-glicose não foi realizada devido a sua energia de interação ser discrepante em comparação com a cocaína.

6 Referências

Angela, J., Nicholas, Chaaya., Kate, B., Syed, Abid, Ali., Arnauld, Belmer., Selena, E., Bartlett., Selena, E., Bartlett. - The impact of sugar consumption on stress driven, emotional and addictive behaviors. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 103:178-199., 2019.

Avena N. M., Bocarsly M. E., Hoebel B. G. & Gold M. S., - Overlaps in the nosology of substance abuse and overeating: the translational implications of “food addiction”. *Curr. Drug Abuse Rev.* 4, 133–139., 2011.

BERENDSEN, H. J. C.; GRIGERA, J. R.; STRAATSMA, T. P., The missing term in effective pair potentials. *J. Phys. Chem.*, [s. l.], p. 6269–6271, 1 nov. 1987. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/j100308a038>. Acesso em: 20 set. 2023.

FED Up. Direção: Stephanie Soechtig. [S. l.: s. n.], 2014. Disponível em: <https://vimeo.com/739070808>. Acesso em: 1 out. 2023.

Berendsen, H. J. C., Grigera, J. R. & Straatsma, T. P., - The missing term in effective pair potentials, *Journal of Physical Chemistry*, vol. 91, no. 24, pp. 6269-6271., 1987.

Bittman, M., "An Inconvenient Truth About Our Food". *The New York Times*. Retrieved Apr 13, 2014.

Björklund A, Dunnett SB. Dopamine neuron systems in the brain: an update. *Trends Neurosci.* 2007 May;30(5):194-202., 2007.

CRAMER, Christopher J. *Essentials of Computational Chemistry: Theories and Models*. 2^a ed. [S. l.]: Wiley, 2004.

COMBA, Peter; HAMBLEY, Trevor W. *Molecular Modeling of Inorganic Compounds*, 2nd, Completely Revised and Enlarged Edition. [S. l.]: Wiley-VCH. 337 p. ISBN 978-3-527-61299-4. E-book, 2008.

Cosconati S., Forli S., Perryman A. L., Harris R., Goodsell D. S., and Olson A. J., Virtual Screening with AutoDock: Theory and Practice. *Expert Opin Drug Discov.* 5(6): 597-607., 2010.

Damm, W.; Frontera, A.; Tirado-Rives, J.; Jorgensen, W. L. J. - *Comput Chem.* 1997, 18, 1955.

Daubner S. C., Le T., Wang S., Tyrosine hydroxylase and regulation of dopamine synthesis. *Arch Biochem Biophys.* Apr 1;508(1):1-12, 2011.

Davis C., Curtis C., Levitan R. D., Carter J. C., Kaplan A. S., Kennedy J. L., Evidence that 'food addiction' is a valid phenotype of obesity. *Appetite.* Dec;57(3):711-7., 2011.

FASSIO, Alexandre Victor. NAPOLI: UMA FERRAMENTA WEB PARA ANÁLISE DE INTERAÇÕES PROTEÍNA-LIGANTE. 2015. Dissertação (Mestrado em Bioinformática) - Universidade Federal de Minas Gerais, [S. l.], 2015.

FRENKEL, Daan; SMIT, Berend. *Understanding Molecular Simulation: From Algorithms to Applications.* Sea Harbor Drive Orlando, FL, United States: Academic Press, 638 p., 2001.

Finlayson G., Food addiction and obesity: unnecessary medicalization of hedonic overeating. *Nat Rev Endocrinol.* Aug;13(8):493-498, 2017.

Furlong T. M., Jayaweera H. K., Balleine B.W. & Corbit L. H., - Binge-like consumption of a palatable food accelerates habitual control of behavior and is dependent on activation of the dorsolateral striatum. *J. Neurosci.* 34:5012–5022., 2014.

Hecht D., Fogel G. B., Computational intelligence methods for docking scores. *Curr. Comput. Aided Drug Des.*, 2009.

Ifland, J. R. et al., Refined food addiction: a classic substance use disorder. *Med. Hypotheses* 72: 518–526, 2009.

Kenny P. J., Voren G. & Johnson P. M., DopamineD2 receptors and striatopallidal transmission in addiction and obesity. *Curr. Opin. Neurobiol.* 23: 535–538., 2013.

KOLDSØ, Heidi; CHRISTIANSEN, Anja B.; SINNING, Steffen; SCHIØTT, Birgit. Comparative modeling of the human monoamine transporters: similarities in substrate binding. *ACS Chemical Neuroscience*, [s. l.], 2012.

Laskowski, R. e Swindells, M. - Ligplot+: Multiple ligand-protein interaction diagrams for drug discovery. *Journal of Chemical Information and Modeling*. - 51(10):2778–2786, 2011.

Liu, S. et al. - Consumption of palatable food primes food approach behavior by rapidly increasing synaptic density in the VTA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 113: 2520–2525., 2016.

Mao Z., Davis R. L., Eight Different Types of Dopaminergic Neurons Innervate the Drosophila Mushroom Body Neuropil: Anatomical and Physiological Heterogeneity. *Frontiers in Neural Circuits*., 2009.

McDonald I. K., Thornton J. M. - Satisfying hydrogen bonding potential in proteins. *J Mol Biol*. May 20;238(5):777-93, 1994.

MCKAY, Tom. What Happens to Your Brain on Sugar, Explained by Science. **MIC**, [S. 1.], p. 1-10, 21 abr. 2014. Disponível em: <https://www.mic.com/articles/88015/what-happens-to-your-brain-on-sugar-explained-by-science>. Acesso em: 9 set., 2023.

Meng, X.; Zhang H., Mezei M., Cui M., *Molecular Docking: A powerful approach for structure-based drug discovery*, *Curr Comput Aided Drug Des*. - 7(2): 146–157, 2011.

MOPAC: Stewart Computational Available. In: MOPAC: Stewart Computational Available. 2016. [S. 1.]: Michael Dewar; James Stewart, 2016. Disponível em: http://openmopac.net/Download_MOPAC_Executable_Step2.html. Acesso em: 9 nov., 2023.

Morris G., Goodsell D., Olson A., Automated *docking* using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *Journal of Computational Chemistry*, [s. 1.], 1998.

MUHAMMED, Muhammed Tilahun; AKI-YALCIN, Esin. - *Molecular Docking: Principles, Advances, and Its Applications in Drug Discovery*. Bentham Science Publishers: Letters in Drug Design & Discovery, [s. 1.], 2022.

Narayana P. A., Datta S., Tao G., Steinberg J. L., Moeller F.G., - Effect of cocaine on structural changes in brain: MRI volumetry using tensor-based morphometry. *Drug Alcohol Depend.* 111(3):191-199, 2010.

Nesse, F. - The ORCA program system. *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.* 2, 73-78, 2012.

Nielsen E. B., Scheel-Krüger J., Central nervous system stimulants: neuropharmacological mechanisms. *Psychopharmacol Ser.*, 1988.

Oostenbrink, C., et al. - A biomolecular force field based on the free enthalpy of hydration and solvation: The GROMOS force-field parameter sets 53A5 and 53A6. *Journal of Computational Chemistry*, - 25(13): p. 1656-1676, 2004.

Patricia, A., Broderick. - Cocaine and Neuromolecular Imaging of Neurotransmitters in the Brain: BRODERICK PROBE® Laurate Nanobiosensors in Mesocorticolimbic Neurons and the Nucleus Accumbens: *Sex and Genes*, 2015.

Penmatsa, A., Wang, K. H. & Gouaux, E., X-ray structure of dopamine transporter elucidates antidepressant mechanism. *Nature.* 503, 85–90, 2013.

Perryman, A. L., Yu W., Wang X., Ekins S., Forli S., Li S. G., Freundlich J.S., Tonge P.J., and Olson A. J., A Virtual Screen Discovers Novel, Fragment-sized Inhibitors of Mycobacterium Tuberculosis InhA. *J Chem Inf Model*, 2015.

Pitman K. A., Borgland S. L., Changes in mu-opioid receptor expression and function in the mesolimbic system after long-term access to a palatable diet. *Pharmacol Ther.* Oct;154:110-9, 2015.

Ritz M. C., Kuhar M. J., Psychostimulant drugs and a dopamine hypothesis regarding addiction: update on recent research. *Biochem Soc Symp.* 59:51-64. PMID: 7910741, 1993.

Rogers P. J., Food and drug addictions: Similarities and differences. *Pharmacol Biochem Behav.*, Feb;153:182-190, 2017.

SANT'ANNA, Carlos Mauricio R. Molecular modeling methods in the study and design of bioactive compounds: An introduction. Molecular modeling, [s. l.], 2009.

Schlaepfer T. E., Pearlson G. D., Wong D. F., Marengo S., Dannals R. F. PET study of competition between intravenous cocaine and [¹¹C]raclopride at dopamine receptors in human subjects. *Am J Psychiatry*. Sep;154(9):1209-13, 1997.

SCHLICK, Tamar. Molecular Modeling and Simulation: An Interdisciplinary Guide: An Interdisciplinary Guide. 2^a. ed. rev. Textbook: Springer, 2010. 723 p. v. 1. Disponível em: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-1-4419-6351-2>. Acesso em: 6 dez., 2023.

Stewart, J. J. P., Optimization of parameters for semiempirical methods VI: more modifications to the NDDO approximations and re-optimization of parameters. *Journal of Molecular Modeling*, 22(8), 1-15, 2016.

Sulzer D., How addictive drugs disrupt presynaptic dopamine neurotransmission. *Neuron*. Feb 24;69(4):628-49, 2011.

Torres P. H. M.; Sodero A. C. R.; Jofily P.; Silva-Jr F. P. - Key topics in molecular docking for drug design. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019.

Valdivia S., Patrone A., Reynaldo M. & Perello M. - Acute high fat diet consumption activates the mesolimbic circuit and requires orexin signaling in a mouse model. *PLoS One* 9: e87478., 2014.

Van der Spoel D., GROMACS: Fast, flexible, and free. In: GROMACS: Fast, flexible, and free. 2015. *Journal of Computational Chemistry*, 2015. Available at: <https://docs.csc.fi/apps/gromacs/>. Accessed on: September 13, 2023.

Wall S. C., Gu H. & Rudnick G., Biogenic amine flux mediated by cloned transporters stably expressed in cultured cell lines: amphetamine specificity for inhibition and efflux. *Mol. Pharmacol.* 47, 544–550, 1995.

Wang K. H., Penmatsa A., Gouaux E., Neurotransmitter and psychostimulant recognition by the dopamine transporter. *Nature*. May 21;521(7552):322-7, 2015.

Zaczek R., Culp S., Goldberg H., McCann D. J. & De Souza E. B., Interactions of [3H]amphetamine with rat brain synaptosomes. I. Saturable sequestration. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 257, 820–829, 1991.