



Universidade de Brasília (UnB)
Instituto de Química (IQ)
Bacharelado em Química Tecnológica

Anelisa Granato de Sousa

Design *de novo* em Receptores de Serotonina 5-HT_{2A}, 5-HT₆ e 5-HT₇:
é possível gerar candidatos seletivos?

Brasília – DF

2024

Anelisa Granato de Sousa

Design *de novo* em Receptores de Serotonina 5-HT_{2A}, 5-HT₆ e 5-HT₇:
é possível gerar candidatos seletivos?

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Instituto de Química da Universidade de
Brasília como requisito parcial à obtenção do
grau de Bacharel em Química Tecnológica.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Francisco
Scalabrini Machado

Coorientador: Prof. Dr. Guilherme Duarte
Ramos Matos

Brasília – DF

2024

CIP - Catalogação na Publicação

Gd Granato de Sousa, Anelisa.
Design de novo em Receptores de Serotonina 5-HT_{2A}, 5-HT₆
e 5-HT₇: é possível gerar candidatos seletivos? / Anelisa
Granato de Sousa; orientador Daniel Francisco Scalabrini
Machado; co-orientador Guilherme Duarte Ramos Matos. --
Brasília, 2024.
42 p.

Monografia (Graduação - Química Tecnológica) --
Universidade de Brasília, 2024.

1. Design de novo. 2. Docking. 3. Modelagem Molecular. 4.
Receptores de Serotonina. I. Francisco Scalabrini Machado,
Daniel, orient. II. Duarte Ramos Matos, Guilherme,
co-orient. III. Título.

Dedico este trabalho ao meu filho, Maruan Augusto, que faz minha vida mais feliz desde que eu soube que seria sua mãe, e aos meus pais, Solimar e Antônio Augusto, que são minha base, meus exemplos e sempre estiveram ao meu lado.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente à minha família, por ser minha referência e ter me dado todo apoio durante a minha graduação. Agradeço especialmente aos meus pais, Solimar Gomes e Antônio Augusto, que seguraram na minha mão e estiveram comigo em tudo, todas as minhas conquistas eu devo a eles. Agradeço de todo meu coração ao meu filho Maruan Augusto que desde que nasceu me ensinou a melhor lição da vida que nenhum professor poderia me passar: a experiência de ser mãe. Há cinco anos ele vem me mostrando que a vida é muito mais do que a gente pode planejar ou esperar. A vida é bela sendo mamãe do pequeno Maruan.

Agradeço imensamente aos professores Guilherme Duarte e Daniel Scalabrini que me acolheram desde o primeiro dia no Laboratório de Modelagem de Sistemas Complexos (LMSC). Por serem fontes de inspiração para mim dentro da academia. Cada ensinamento, cada conselho e experiência vivida em laboratório me motivaram a seguir a carreira como pesquisadora, buscando sempre mais conhecimento. Minha gratidão a todos os colegas de laboratório: Sarah, Isaac, Luana, Maria, Kelly, Felipe, Júlio Vinícius e tantos outros que passaram pelo LMSC que compartilharam momentos excepcionais que levarei para a vida. E agradeço de coração ao meu namorado, Pierre Carlos, que, além de parceiro de laboratório, me encorajou por muitas vezes e vibrou comigo nessa fase tão importante.

Meu mais profundo agradecimento à Tereza Pastore, ao professor Jez William e à mestranda Daniele Kunze, que me orientaram no projeto de iniciação científica realizada pelo Laboratório de Produtos Florestais (LPF) do Serviço Florestal Brasileiro em colaboração com o Laboratório de Automação, Quimiometria e Química Ambiental (AQQUA) da Universidade de Brasília. Por meio deste trabalho pude ter contato com o desafio da conservação ambiental e o combate ao comércio ilegal de madeiras com risco em extinção. Isso contribuiu para a minha formação como profissional e como pessoa. Sou grata por cada um dos ensinamentos e conhecimentos passados. Um agradecimento especial ao Hugo Silva amigo que foi presente durante toda a graduação e que sem sua indicação eu não teria conhecido o projeto, e ao Gabriel Calil amigo presente nas aventuras e nos desafios da identificação de madeiras.

Por fim, agradeço demais aos meus amigos e familiares, que não listarei, pois são muitos, mas que todos, sem exceção, são importantes na minha vida e fizeram parte desse momento.

“God is a mathematician of a very high order and he used advanced mathematics in constructing this universe”

Paul Dirac

Resumo

Os receptores de serotonina são uma família de receptores relacionados à transmissão de sinais biológicos no sistema nervoso e em tecidos não neuronais. Dada a associação destes receptores com a cognição, a ansiedade e a depressão, a concepção de novos ligantes deve tentar procurar a seletividade com um receptor de serotonina específico. Utilizando o software DOCK6.9, foram construídas novas moléculas através de design *de novo*, explorando o espaço químico com um acervo de fragmentos moleculares obtidos a partir do banco de dados ZINC15 e considerando os descritores desejados. A construção das moléculas foi efetuada no sítio de ligação de três receptores de serotonina, 5-HT_{2A}, 5-HT₆ e 5-HT₇, e o conjunto de moléculas geradas tinham valores de semelhança com os medicamentos (*Quantitative Estimation of Druglikeness*, QED), acessibilidade sintética (SynthA) e LogP semelhantes aos valores de medicamentos aprovados pela FDA (*Food and Drug Administration*). As moléculas geradas em cada receptor foram submetidas a *cross-docking* à procura de potencial seletividade em cada receptor. Embora não tenham sido identificados candidatos seletivos para o receptor 5-HT₆, foram encontradas opções promissoras para o 5-HT_{2A} e 5-HT₇.

Palavras-Chave: Design de novo, docagem, modelagem molecular, receptores de serotonina, seletividade, triagem virtual.

Abstract

Serotonin receptors are a family of membrane proteins that are related to the transmission of biological signals in the nervous system and in non-neuronal tissues. Given the association of these receptors with cognition, anxiety, and depression the design of new ligands should seek selectivity with specific serotonin receptors. New molecules were built by DOCK6's *de novo* design algorithm by exploring the chemical space with a fragment library made from ZINC15 molecules. Molecule construction was done within the binding site of three serotonin receptors (5-HT_{2A}, 5-HT₆ and 5-HT₇) and the ensembles of the molecules generated had values of “druglikeness,” synthetic accessibility, LogP within the ranges of FDA-approved drugs. Molecules generated in each receptor were subjected to cross-docking – in which the ligands generated in one site were anchored to other receptors – searching for potential selectivity. While selective candidates weren't identified for 5-HT₆, promising options were found for 5-HT_{2A} and 5-HT₇.

Keywords: Design de novo, docking, molecular modelling, serotonin receptors, selectivity, virtual screening.

Lista de Figuras

Figura 1. Esquema de design de drogas auxiliado por computador abordando SBDD e LBDD (Macalino S, 2015).....	1
Figura 2. Ativação da subunidade α de uma GPCR ligada ao seu agonista. (Li J, 2020).....	3
Figura 3. Ilustração da transmissão de sinais celulares por neurotransmissores (serotonina). ..	4
Figura 4. Esquema com a comparação entre as representações das estruturas cristalográficas dos receptores de serotonina (PDB: 7E2Y, 6WHA, 6HIN, 7XT8, 7XTB, 7XTC) e exemplo de sinalização celular mediado pelo receptor 5-HT _{2A}	5
Figura 5. Interação entre o ligante (dietilamida do ácido lisérgico - LSD) e os resíduos da proteína 5-HT _{2A} . As linhas destacadas na cor rosa indicam ligações de hidrogênio com os resíduos aspartato (ASP 82) e glutamato (GLY 158) da proteína.....	10
Figura 6. Resíduos de maior interação do ligante energia de vdW e ES (kcal/mol) no receptor 5HT2a.....	111
Figura 7. Seleção de esferas para caracterização do sítio de ligação da proteína 5-HT _{2A}	144
Figura 8. Fluxograma do algoritmo de crescimento iterativo de novo. (Adaptado de Allen J. W., 2017).....	165
Figura 9. Fragmentos importados da biblioteca do programa DOCK6.9.	156
Figura 10. Conjunto de moléculas geradas no receptor: 7WC.....	199
Figura 11. Conjunto de moléculas geradas no receptor: 7XTB.	20
Figura 12. Conjunto de moléculas geradas no receptor: 7XTC.	1920
Figura 13. Frequência de moléculas por valor de <i>continuous score</i> geradas em cada receptor, 7WC6 (1592), 7XTB (697) e 7XTC (1887), respectivamente.....	22
Figura 14. Gráficos da distribuição de moléculas por valor de <i>druglikeness</i> (QED). Os gráficos se referem às moléculas geradas pelo <i>de novo</i> nos sítios 7WC6, 7XTB e 7XTC, respectivamente.	244
Figura 15. Gráficos da distribuição de moléculas por valor de acessibilidade sintética (SynthA). Os gráficos se referem às moléculas geradas pelo <i>de novo</i> nos sítios 7WC6, 7XTB e 7XTC, respectivamente.	255
Figura 16. Gráficos da distribuição de moléculas por valor de área de superfície polar topológica (TPSA). Os gráficos se referem às moléculas geradas pelo <i>de novo</i> nos sítios 7WC6, 7XTB e 7XTC, respectivamente.	266

Figura 17. Gráficos da distribuição de moléculas por valor de área de coeficiente de partição (log P). Os gráficos se referem às moléculas geradas pelo <i>de novo</i> nos sítios 7WC6, 7XTB e 7XTC, respectivamente.....	277
Figura 18. Distribuição de scores de ΔE de moléculas geradas no receptor 7WC6 e ancoradas nos receptores 7XTB e 7XTC, respectivamente.	288
Figura 19. Distribuição de scores de ΔE de moléculas geradas no receptor 7XTB e ancoradas nos receptores 7WC6 e 7XTC, respectivamente.....	288
Figura 20. Distribuição de scores de ΔE de moléculas geradas no receptor 7XTC e ancoradas nos receptores 7WC6 e 7XTB, respectivamente.....	29
Figura 21. Melhores moléculas geradas no receptor 7WC6 com valores favoráveis de ΔE (kcal/mol) em relação aos outros receptores. a) $\Delta E_{7WC6-7XTB} = -36,17$ kcal/mol, $\Delta E_{7WC6-7XTC} = -19,53$ kcal/mol, e b) $\Delta E_{7WC6-7XTB} = -30,61$ kcal/mol e $\Delta E_{7WC6-7XTC} = -17,77$ kcal/mol;	30
Figura 22. Melhores moléculas geradas no receptor 7XTB com valores favoráveis de ΔE (kcal/mol) em relação aos outros receptores. a) $\Delta E_{7XTB-7WC6} = -7,75$ kcal/mol, $\Delta E_{7XTB-7XTC} = -5,13$ kcal/mol, e b) $\Delta E_{7XTB-7WC6} = -2,55$ kcal/mol e $\Delta E_{7XTB-7XTC} = -1,94$ kcal/mol;.....	30
Figura 23. Melhores moléculas geradas no receptor 7XTC com valores favoráveis de ΔE (kcal/mol) em relação aos outros receptores. a) $\Delta E_{7XTC-7WC6} = -53,60$ kcal/mol, $\Delta E_{7XTC-7XTB} = -44,88$ kcal/mol, e b) $\Delta E_{7XTC-7WC6} = -23,27$ kcal/mol e $\Delta E_{7XTC-7XTB} = -34,17$ kcal/mol;.....	3030

Lista de Símbolos e Abreviações

SBDD – Structure Based Drug Design (design de drogas baseado em estrutura)

LBDD – Ligand Based Drug Design (design de drogas baseado em ligante)

GPCR – G protein-coupled receptor (receptor acoplado à proteína G)

5-HT – 5-hidroxitriptamina (Serotonina)

5-HTR – Receptores de serotonina

5-HT_{2A} – Receptor 2A de 5-hidroxitriptamina

5-HT₆ – Receptor 6 de 5-hidroxitriptamina

5-HT₇ – Receptor 7 de 5-hidroxitriptamina

AMP_c – Monofosfato cíclico de adenosina

MM – Mecânica Molecular

ES – Energia eletrostática

VdW – Energia de Van der Waals

QED – Quantitative Estimate of Druglikeness

Syntha – Synthetic Accessibility

TPSA – Topological Polar Surface Area

Sumário

1. Introdução	1
1.1 Receptores de Serotonina	2
1.2 Docking e Mecânica Molecular.....	5
1.2.1 Campo de Força.....	6
1.2.2 Docking Molecular e Design <i>de novo</i>	8
1.3 Estudo dos sítios de ligação dos receptores 5HT _{2A} , 5HT ₆ e 5HT ₇	10
2.1 Gerais.....	12
2.2 Específicos.....	12
3. Metodologia	13
3.1 Design <i>de novo</i>	14
3.2 Cross Docking	17
4. Resultados e Discussões.....	19
4.1 Design <i>de novo</i>	19
4.2 Cross Docking	28
5. Conclusões	31
6. Referências Bibliográficas	32

1. Introdução

A descoberta de novos fármacos envolve uma série de etapas, desde o desenvolvimento até a aprovação por órgãos reguladores e sua posterior comercialização. A busca por um candidato capaz de interferir nos efeitos de uma doença específica é um processo longo, com duração média de 10 a 15 anos.¹ Desta forma, métodos que utilizam modelagem molecular têm sido amplamente adotados em etapas iniciais desses estudos para o desenvolvimento e otimização desses medicamentos. Dentre eles, destaca-se o design guiado por estrutura (*Structure Based Drug Design*, SBDD) e o design guiado por ligante (*Ligand Based Drug Design*, LBDD) como dois tipos dessa abordagem (Figura 1).^{2,3}

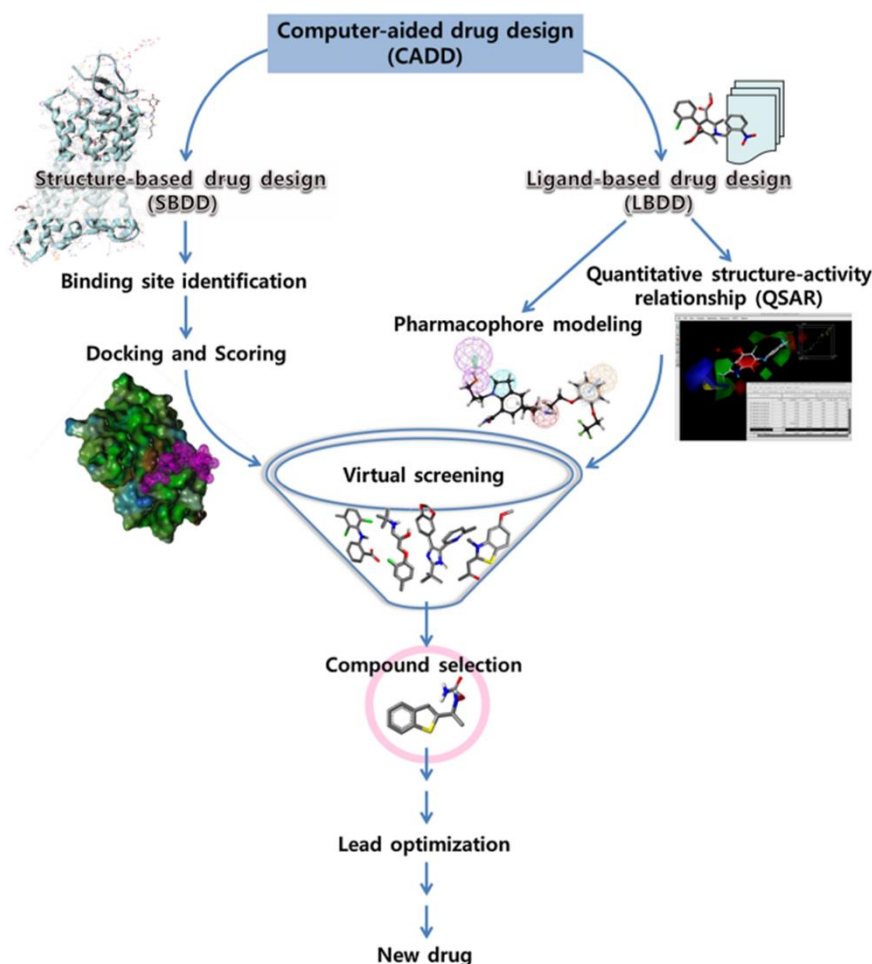


Figura 1. Esquema de design de drogas auxiliado por computador (*Computer-Aided Drug Design*, CADD)

Fonte: Macalino, 2015

Na perspectiva dos métodos baseados em estrutura, o design *de novo*,⁴⁻⁷ foco deste estudo, é um algoritmo computacional usado para construir novas moléculas a partir da

informação sobre o sítio ativo de um receptor envolvido na fisiologia de uma doença. A investigação de potenciais novos fármacos por modelagem molecular inicia-se com a escolha do alvo bioquímico de um medicamento. Estima-se que um terço dos alvos de medicamento^{8,9} atualmente comercializados sejam receptores acoplados à proteína G (GPCR).¹⁰ Alguns exemplos de GPCRs são os receptores de dopamina, relacionados à esquizofrenia e à doença de Parkinson, os receptores opióides relacionados ao efeito analgésico¹¹ e os receptores de serotonina (5-HT₁) relacionados à depressão, ansiedade, esquizofrenia.^{12,13}

Os efeitos terapêuticos em muitas farmacoterapias são associados à eficiência na entrega do fármaco ao seu alvo biológico.¹⁴ Medicamentos com baixa seletividade, no entanto, podem provocar efeitos adversos ao interagir com diferentes receptores.¹⁵ Portanto, estudos que visem maneiras de avaliar a seletividade de moléculas para alvos biológicos específicos são de grande relevância.

1.1 Receptores de Serotonina

Os receptores de serotonina pertencem à classe dos receptores acoplados à proteína G (GPCRs). Esses receptores são caracterizados por possuírem sete alfa-hélices transmembranares, acopladas a uma proteína G, que é composta por três subunidades: α , β e γ . (Figura 2). Estes receptores desempenham um papel essencial na sinalização celular, permitindo um fluxo de informação do meio extracelular para o meio intracelular, o que desencadeia processos fisiológicos em diversos sistemas ao longo do corpo. Os receptores de serotonina são uma família de 14 proteínas mediadoras dos efeitos da serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT), um neurotransmissor fundamental para diversas funções fisiológicas e comportamentais, como humor, sono, apetite e regulação da dor. Estes receptores estão presentes em células de tecidos do sistema nervoso central e do sistema periférico, sendo associados a condições psiquiátricas e neurológicas.¹⁶

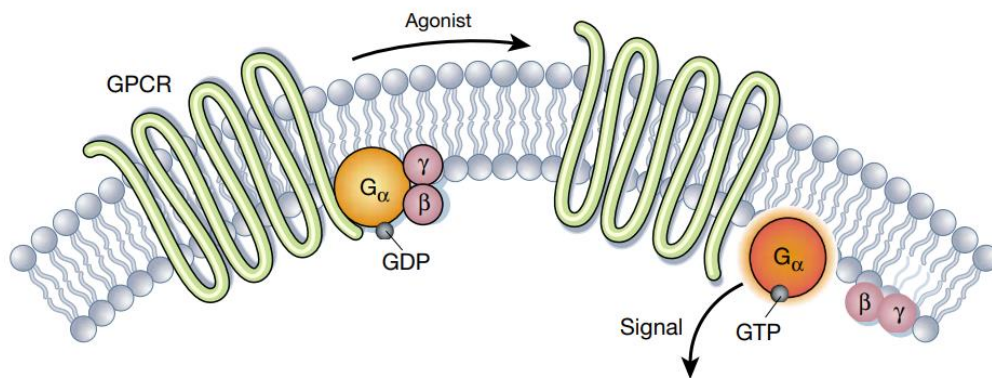


Figura 2. Ativação da subunidade α de uma GPCR ligada ao seu agonista.
Fonte: Li J, 2020.

Os receptores de serotonina se diferenciam com base em sua estrutura, localização e mecanismo de ação. Ademais, são classificados em sete tipos principais 5-HT₁ a 5-HT₇ cada um com subdivisões, como por exemplo 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} e 5-HT_{2C}. Algumas isoformas dos receptores de serotonina já são relatadas, porém suas funções farmacológicas ainda dependem de um maior esclarecimento.¹⁷

A cadeia de eventos ligada aos 5-HTRs inicia-se com a liberação de serotonina nas fendas sinápticas, seguida de sua ligação nos receptores presentes na membrana da célula pós-sináptica, como ilustrado na Figura 3. A ligação da serotonina ao sítio ativo do receptor provoca uma alteração em sua conformação, ativando a proteína G associada, podendo esta ser do tipo G_{i/o}, G_q ou G_s. A ativação da proteína G desencadeia uma série de respostas no meio intracelular envolvendo mudanças na atividade de canais iônicos, modulação da liberação de neurotransmissores e alterações na expressão gênica.

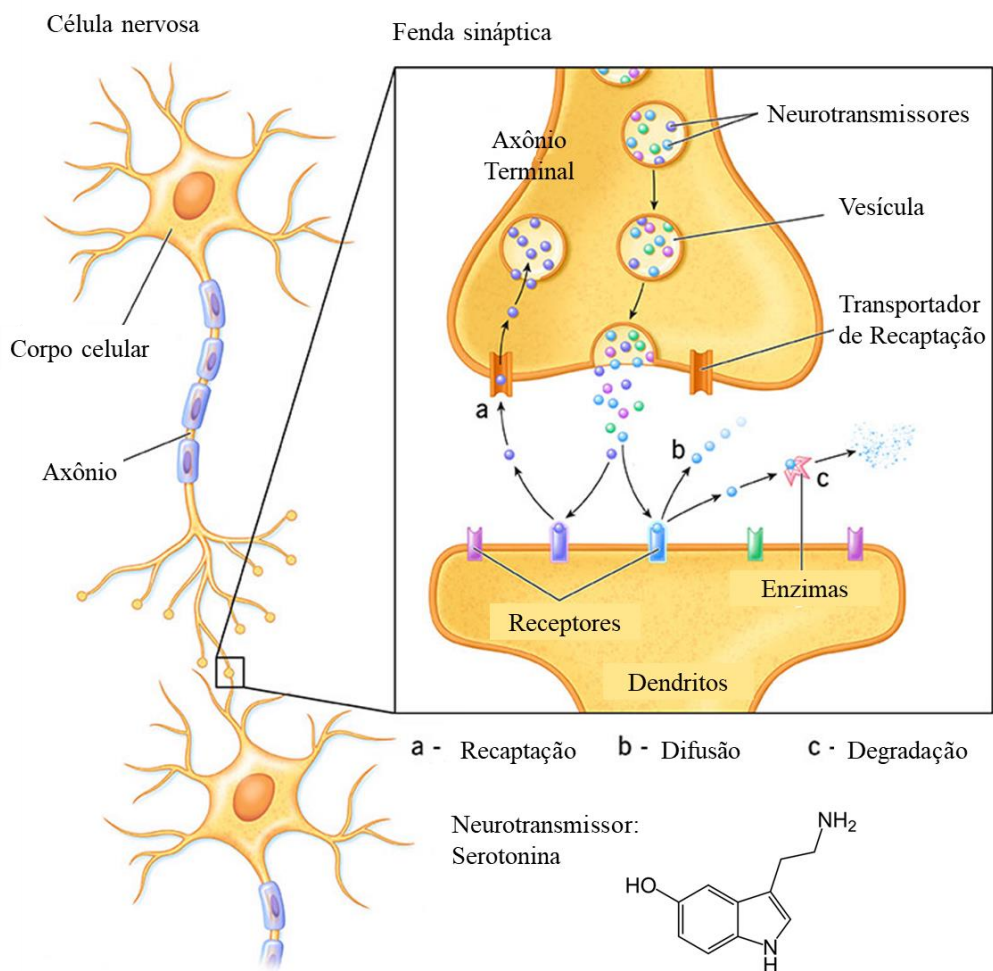


Figura 3. Ilustração da transmissão de sinais celulares por neurotransmissores (serotonina).
Fonte: Adaptado de Neurotransmitters, 2022.

A sinalização dos receptores metabotrópicos, dada a ativação da proteína G, provoca uma cascata de segundos mensageiros como AMP cíclico (cAMP) e cálcio (Ca^{2+}). No entanto, o receptor 5-HT₃ por ser o único receptor ionotrópico da família, em sua sinalização celular permite a passagem direta de íons para o meio intracelular em resposta à ligação com o ligante. Além disso, a sinalização de GPCRs pode ser canônica ou não canônica, onde a última atua de forma independente da ativação da proteína G ou por meio de proteínas G alternativas.¹⁸

Os receptores do tipo 1 e 5, como: 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1e}, 5-HT_{1F}, 5-HT_{5A} e 5-HT_{5b} são acoplados à proteína G_{i/o} que inibe a adenilil ciclase, reduzindo os níveis de AMP cíclico (cAMP) na célula. Esses receptores estão envolvidos na regulação do humor e da ansiedade.¹⁹⁻²¹ Por outro lado, os receptores 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} e 5-HT_{2C} estão acoplados à proteína G_{q/11}, que ativa a fosfolipase C, aumentando a produção de inositol trifosfato (IP3) e diacilglicerol (DAG) (Figura 4). Estes receptores estão associados à regulação do sono e

vasoconstrição.¹⁹⁻²³ Os receptores 5-HT₃ quando ativados pela serotonina, permitem a passagem de íons como sódio e potássio, o que resulta na despolarização da membrana plasmática. Eles têm papel importante na regulação do reflexo de vômito e como modulador da dor.¹⁹⁻²¹ Já os receptores 5-HT₄, 5-HT₆ e 5-HT₇ estão acoplados a proteínas G_s, que estimula a adenilil ciclase, aumentando os níveis de cAMP. Os receptores 5-HT₄ são associados ao movimento dos músculos do trato gastrointestinal e ao controle do humor;^{19,20} os receptores 5-HT₆ influenciam na função cognitiva e na memória;^{19,20,24,25} e os receptores 5-HT₇ desempenham um papel na regulação do sono e do ritmo circadiano.^{19-21,26,27}

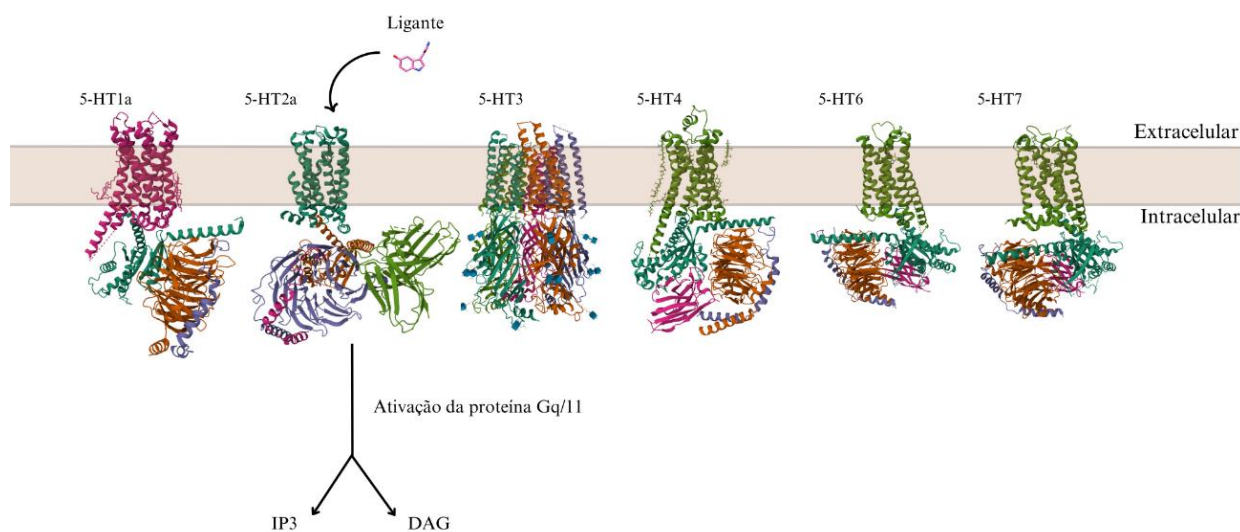


Figura 4. Esquema com a comparação entre as representações das estruturas cristalográficas dos receptores de serotonina (PDB: 7E2Y, 6WHA, 6HIN, 7XT8, 7XTB, 7XTC) e exemplo de sinalização celular mediado pelo receptor 5-HT_{2A}.
Fonte: Autoria própria, estruturas obtidas pelo banco de dados PDB.

Alterações na sinalização dos receptores de serotonina estão associadas a várias condições patológicas, como depressão, ansiedade, esquizofrenia, distúrbios alimentares e enxaquecas.²⁸ Desta forma, a compreensão do funcionamento e interação desses receptores é essencial para o desenvolvimento de tratamentos eficazes para essas e outras desordens associadas.

1.2 Docking e Mecânica Molecular

A mecânica molecular (MM) é um campo da química teórica que emprega modelos matemáticos e computacionais para estudar e prever o comportamento de moléculas em sistemas químicos. As simulações de MM são realizadas por programas que estudam diversos sistemas moleculares, desde pequenos sistemas com poucos átomos até

macromoléculas, como proteínas e ácidos nucleicos. Essas simulações permitem estudar fenômenos como o enovelamento de proteínas,²⁹ a difusão de moléculas em líquidos e sólidos³⁰ e as interações entre fármacos e seus alvos biológicos.³¹

As moléculas são modeladas como conjuntos de átomos conectados por ligações químicas, definidos em um sistema de coordenadas determinadas pelo tipo atômico, comprimento e ângulo da ligação. Cada átomo de uma molécula é modelado como uma esfera, caracterizada pelo raio de Van der Waals, e as interações covalentes e não-covalentes entre eles são definidas por campos de forças, que possuem um conjunto de parâmetros como energia e comprimento de ligação, constante de força das ligações e potenciais de Van der Waals.³²⁻³⁴

Desta forma, o docking molecular é uma técnica computacional útil que utiliza mecânica molecular para previsão de interações entre duas ou mais moléculas, como por exemplo um ligante e um receptor, tipicamente o sítio ativo de uma proteína envolvida na patologia em estudo. Essa abordagem se torna relevante por se tratar de um método *in silico*, que integra as etapas iniciais do desenvolvimento de novos fármacos, facilitando a identificação de moléculas que apresentem interações eficazes com seus alvos biológicos.

1.2.1 Campo de Força

O campo de força é uma ferramenta fundamental para simulações de dinâmica molecular e docking molecular. São descritos como conjuntos de equações matemáticas e parâmetros utilizados para modelar as interações entre os átomos e moléculas de um sistema químico ou biológico. Para isso, o campo de força inclui em sua equação quatro termos de energia intramolecular e intermolecular (Equação 1), que estão em função da posição dos átomos e moléculas envolvidos.³²⁻³⁴

$$V_{total} = V_{ligação}(r) + V_{ângulo}(\theta) + V_{torção}(\omega) + V_{não-ligados}(r) \quad (1)$$

A energia de ligação (Equação 2), derivada da lei de Hooke, considera os estiramentos das ligações como um sistema massa-mola (potencial harmônico), onde, k_i é a constante de força da ligação e $(r_i - r_{i,0})$ é a diferença na distância de equilíbrio da ligação de dois átomos. O termo $r_{i,0}$ é o comprimento de ligação que possui o menor valor de energia, também chamado de comprimento de referência.

$$V_{lig}(r) = \frac{k_i}{2}(r_i - r_{i,0})^2 \quad (2)$$

A energia referente à deformação do ângulo entre ligações (Equação 3) considera a variação do ângulo entre três átomos, em que k_i é a constante de força da ligação e $\theta_{i,0}$ é o ângulo de equilíbrio das ligações.

$$V_{ang}(\theta) = \frac{k_i}{2}(\theta_i - \theta_{i,0})^2 \quad (3)$$

A energia diedral, ou de torção, (Equação 4) representa a barreira na energia associada à rotação do ângulo diedro nas ligações entre quatro átomos. O valor V_n indica uma barreira na rotação, n é a multiplicidade, ω é o ângulo de torção e γ é o fator de fase.

$$V_{tor}(\omega) = \frac{V_n}{2}(1 + \cos(n\omega - \gamma))^2 \quad (4)$$

Além disso, a energia intermolecular, resultante de átomos que não estão ligados covalentemente, está relacionada às interações de van der Waals, sendo esta aproximada pelo potencial de Lennard-Jones (Equação 5), e às interações eletrostáticas, para forças entre átomos que apresentam cargas parciais ou totais (Equação 6).

$$V_{LJ}(r) = 4\epsilon_{ij} \left(\left(\frac{\sigma}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r_{ij}} \right)^6 \right) \quad (5)$$

Os parâmetros ϵ_{ij} e σ_{ij} para diferentes pares de átomos são obtidos de tabelas parametrizadas específicas para o campo de força utilizado. Os índices i e j indicam o par de átomos envolvidos no cálculo e r_{ij} a distância entre eles.

$$V_e(r) = \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \quad (6)$$

O potencial eletrostático, em geral, é uma aproximação dada pelo potencial de Coulomb (Equação 6), em que q_i e q_j são as cargas referentes a cada átomo, molécula ou a diferentes partes de uma mesma molécula que interagem entre si, e ϵ_0 é a permissividade no vácuo.

Cada campo de força utiliza parâmetros que variam a depender do sistema em estudo. Desta forma, vários campos de força são utilizados, tais como: CHARMM,³⁵ usado para

proteínas, ácidos nucleicos e lipídios; GROMOS,³⁶ focado em simulações de biomoléculas; e OPLS,³⁷ utilizado em sistemas orgânicos e biomoleculares. Para simulações de biomoléculas como proteínas e ácidos nucleicos o campo de força AMBER é um dos mais empregados.

O campo de força AMBER (Assisted Model Building with Energy Refinement),³⁸ é uma família de campos de força, que inclui: série ff (ff94, ff96, ff98, ff99), GAFF e GLYCAM. Para cada série de campos existem diferentes parâmetros que são obtidos por dados experimentais e cálculos quânticos. A parametrização é um fator importante para sua precisão, uma vez que depende do meio modelado pelo campo e do tipo de molécula envolvido na simulação. Por ser capaz de modelar sistemas de biomoléculas, ele foi utilizado no trabalho. Este campo é amplamente utilizado na modelagem de biomoléculas, como sequências de DNA e proteínas, foco de interesse deste estudo.

1.2.2 Docking Molecular e Design *de novo*

A interação ligante-receptor pode ocorrer de inúmeras maneiras dentro do sítio de ligação, ao explorar diferentes conformações que interajam com diferentes resíduos de aminoácidos do receptor. Uma das formas de amostragem dos diferentes graus de liberdade do ligante no sítio é dada pelo processo de triagem virtual (*virtual screening*).³⁹ Esse processo, explora as diversas orientações que a molécula pode atingir a fim de encontrar uma conformação mais estável.

Alguns exemplos são o docking rígido ou flexível, dado pelo algoritmo de construção incremental *anchor-and-grow*.⁴⁰ No docking rígido, ligante e receptor são tratados como corpos rígidos. Já o docking flexível considera a flexibilidade do ligante e da proteína receptora. Além disso, é possível calcular docking semi-flexível, onde o ligante é tratado como um corpo flexível e o receptor como um corpo rígido. Esse processo opera comumente nos seguintes passos: (i) identificação de âncora (maior fragmento rígido da molécula); (ii) orientação da âncora; (iii) avaliação da função de *score*; (iv) minimização, (v) orientação dos fragmentos flexíveis, (vi) função de *score*; (vii) minimização.

O cálculo de docking inicia com a identificação da âncora. Em seguida, a orientação da âncora é dada pela definição de esferas localizadas no interior do sítio de ligação. Estas esferas são geradas a partir da informação da superfície da proteína, na qual as coordenadas dos centros

destas esferas orientam o posicionamento dos átomos pesados da âncora (C, O, N, S...). A implementação das esferas limita o enorme número de orientações possíveis dentro do sítio ativo, diminuindo assim tempo e custo computacional do cálculo.

As funções de pontuação (*scoring function*) são avaliadas por meio de cálculos de energia de interação que orientam a conformação do ligante com base no campo de força. Essas funções consideram diversos parâmetros para otimizar a geometria das moléculas. Alguns exemplos destas funções são: **Bump Filter** que remove conformações que possam colidir com o receptor ao sobrepor as duas estruturas; **Contact Score** identifica o número de átomos pesados que têm contato com o ligante, restringindo as distâncias permitidas por parâmetros definidos pelo programa; **Continuous Score** (Meng, E. C. et al, 1993) calcula a interação ligante-receptor utilizando parâmetros de *grid* para o cálculo padrão de energia intermolecular, incluindo interações eletrostáticas (ES) e de van der Waals (vdW); **Footprint Score** utiliza ligações de hidrogênio, *footprint similarity*, e energias (ES e vdW) para avaliar a interação;⁴² **Internal Energy Score** calcula os impedimentos internos da molécula, independentemente da orientação com o receptor, a partir do termo repulsivo do potencial de Lennard-Jones; **Descriptor Score** é uma combinação linear de várias funções de *scoring* implementadas no DOCK6.9, utilizando pesos apropriados para cada função, como *Tanimoto score*,⁴³ *Hungarian matching similarity*,⁴⁴ e *Pharmacophore matching similarity*,⁴⁵ dentre outros.

Ao final desses processos, a molécula passa por um processo de minimização de energia, no qual sua geometria é otimizada para encontrar a conformação de menor energia. Esse ajuste reposiciona os átomos de forma a minimizar a energia total da molécula, resultando em sua estrutura mais estável.

Além do método *anchor-and-grow*, uma alternativa ao *virtual screening* tradicional na triagem de novas drogas é dado pelo método do Design *de novo* (Allen, W. J. et al, 2017). Que explora o espaço químico criando moléculas do início, em dois passos principais (i) geração de biblioteca de fragmentos, e (ii) construção *de novo*. Ele se diferencia pelo método de amostragem, função de score, e critérios de filtragem das moléculas

1.3 Estudo dos sítios de ligação dos receptores 5HT_{2A}, 5HT₆ e 5HT₇

Uma das maneiras de identificar as principais contribuições do sítio ativo de um receptor é pela utilização do *footprint similarity* (FPS)⁴² que é uma função de *score* usada para comparar a afinidade de uma molécula com um ligante de referência em um alvo biológico. Esse método identifica os resíduos de aminoácidos que exibem maior interação com o ligante de referência (geralmente o ligante contido na estrutura cristalográfica), levando em consideração interações eletrostáticas, interações de van der Waals e ligações de hidrogênio (Figura 5). O FPS é particularmente útil para identificar ligantes que, ao interagirem de maneira semelhante com o sítio ativo, podem indicar uma função biológica semelhante ou um potencial terapêutico.

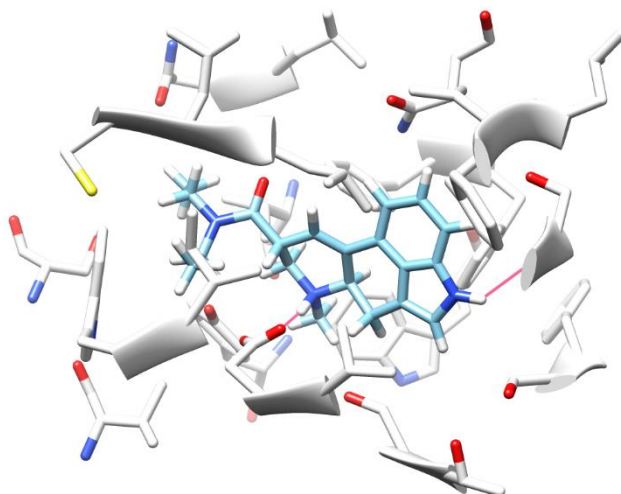


Figura 5. Interação entre o ligante (dietilamida do ácido lisérgico – do inglês, LSD) e os resíduos da proteína 5-HT_{2A}. As linhas destacadas na cor rosa indicam ligações de hidrogênio com os resíduos aspartato (Asp82) e glutamato (Gly158) da proteína.

Fonte: Autoria própria, obtida pelo software Chimera⁴⁶

De forma similar podemos comparar o valor de FPS da molécula referência antes e após a minimização de sua estrutura. A Figura 6 apresenta graficamente os 40 resíduos de maior interação com o receptor 7WC6 e as contribuições de interação de van der Waals (vdW) e eletrostática (ES). Em vermelho é destacado o *score* da molécula referência e em azul a mesma molécula após ter a otimização de sua geometria para pequenas correções estéricas.

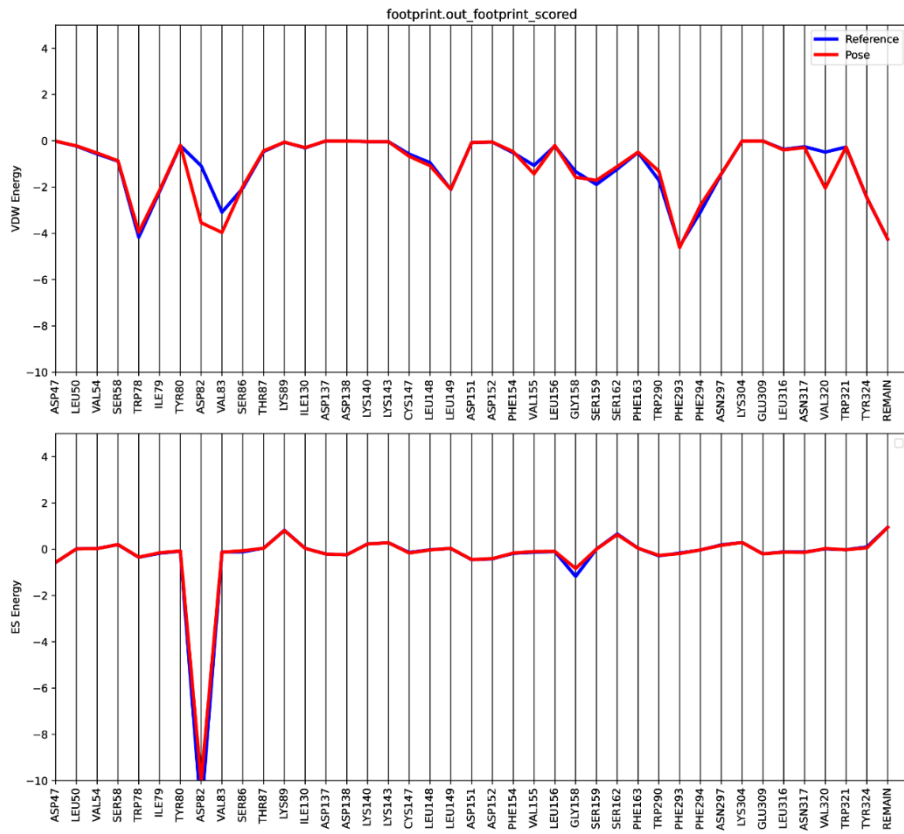


Figura 6. Gráfico de resíduos de maior interação do ligante energia de vdW e ES (kcal/mol) no receptor 5HT2a.

2. Objetivos

2.1 Gerais

Avaliar a capacidade do método *de novo* na geração de ligantes seletivos para os receptores de serotonina 5-HT_{2A}, 5-HT₆ e 5-HT₇.

2.2 Específicos

Executar o design de novo de ligantes nos receptores 5-HT_{2A}, 5-HT₆ e 5-HT₇.

- i. Calcular energias das interações ligante-receptor originais por meio de mecânica molecular.
- ii. Executar experimentos computacionais de docking cruzado para verificar a interação de cada receptor com ligantes gerados nos demais receptores.
- iii. Calcular as diferenças de energia de interação e verificar se há indícios de seletividade.

3. Metodologia

Inicialmente, a estrutura das proteínas (5HT_{2A}, 5HT₆ e 5HT₇) e de seus ligantes (dietilamida do ácido lisérgico, serotonina e 5-carboxitriptamina, respectivamente) foram adquiridas no banco de dados **PDB** (*Protein Data Bank*). A estrutura 3D fornece as coordenadas espaciais atômicas e é obtida por meio de técnicas como difração de raio x ou microscopia eletrônica, que é possível a partir da cristalização das proteínas para obter a resolução de uma conformação estável. Porém, regiões intrinsecamente desordenadas (IDRs), como *loops* ou *random coil*, que possuem conformações indefinidas ou transitórias, podem ser fonte de problema para cálculos de docking, necessitando uma verificação de possíveis erros. Para o caso dos sistemas deste trabalho, não foi necessária essa correção. Além disso, as estruturas obtidas pelo **PDB** não contêm hidrogênios em suas moléculas ou cargas parciais de seus átomos.

Inicia-se a preparação dos sistemas com o uso do software Chimera,⁴⁶ onde os arquivos de estrutura 5HT_{2A} (**PDB: 7WC6**),⁴⁷ 5HT₆ (**PDB: 7XTB**)⁴⁷ e 5HT₇ (**PDB: 7XTC**)⁴⁸ foram visualizados e pequenas moléculas presentes como colesteróis, ácidos graxos, água e íons metálicos foram removidos. Em seguida, foram adicionados hidrogênios e cargas parciais aos átomos dos receptores e dos ligantes. Para o cálculo das cargas parciais dos receptores, utilizou-se o campo de força AMBER ff14SB, enquanto o método AM1-BCC foi utilizado para calcular as cargas parciais dos ligantes e os parâmetros de campo de força GAFF dado pelo programa acessório antechamber. Ao final, as estruturas cristalográficas das proteínas passaram pelo processo de dinâmica molecular (298 K, pH = 7 e 1 atm, preparado no Chimera) para relaxar os hidrogênios evitando qualquer impedimento estérico.

A informação sobre a superfície do receptor é obtida pela geração da superfície molecular do receptor, calculada pelo programa dms.⁴⁹ Por meio dela, as esferas que direcionam a orientação do ligante foram geradas ao longo da superfície da proteína pelo programa *sphgen*,^{49,50} definindo um raio mínimo de 1,4 Å e máximo de 4,0 Å. Em seguida, as esferas contidas apenas no sítio de ligação da proteína foram selecionadas com o algoritmo *selected_spheres*. As esferas contidas a uma distância de 10,0 Å da posição do ligante original foram escolhidas para evitar que novos ligantes sejam criados fora do sítio ativo pelo método *de novo*, como ilustra a Figura 7.

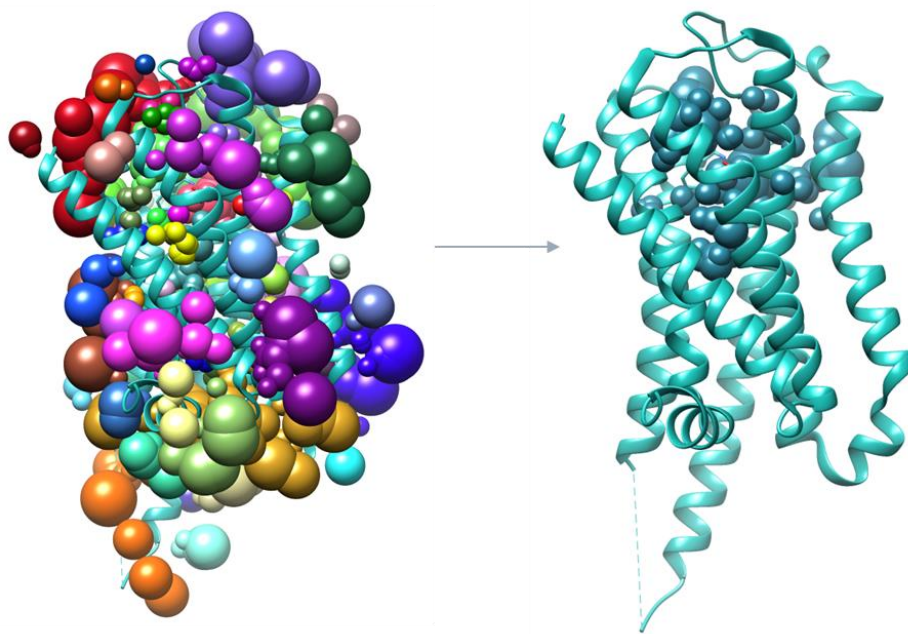


Figura 7. Seleção de esferas para caracterização do sítio de ligação da proteína 5-HT_{2A}.
Fonte: Autoria própria, obtida pelo software Chimera⁴⁶

Em seguida, o grid é calculado em cada receptor. O grid é uma forma de diminuir o tempo de cálculo das próximas etapas de docking, minimização e *cross-docking*, ao computar previamente contribuições da proteína para energia de Van der Waals e energia eletrostática.⁵¹ Após esse processo, o ligante original de cada proteína foi submetido a amostragem de seus graus de liberdade dentro do sítio ativo, seguido da minimização de sua energia.

3.1 Design *de novo*

O algoritmo *de novo* (DOCK_DN), presente no software DOCK6.9 (ALLEN, 2015), é uma abordagem de *drug design* utilizada para gerar novos ligantes a partir de fragmentos no interior do sítio de ligação de determinado receptor. O processo ocorre em duas etapas principais: (i) geração de uma biblioteca de fragmentos; (ii) os ligantes são construídos camada por camada em um processo de crescimento iterativo.

O programa DOCK6.9 contém um acervo de fragmentos oriundos de moléculas do banco de moléculas ZINC15,⁵² mas também permite o uso de fragmentos customizados. O “crescimento” de ligantes ocorre a partir da definição de uma âncora inicial. Essa âncora é um fragmento de molécula, como metileno, cetona ou benzeno, que possui ligações rígidas e *dummies* (Du). *Dummies* demarcam a região no fragmento onde irá ocorrer a conexão de um

novo fragmento da camada seguinte, fazendo o ligante crescer. Tipos distintos de fragmentos podem ser amostrados, sendo diferenciados pelo número de unidades de Du presentes. *Linkers* possuem dois pontos de ligação, *scaffolds* possuem três ou mais pontos de ligação e cadeias laterais possuem apenas um ponto de ligação.

Dessa forma, cinco âncoras foram selecionadas, conforme ilustra a Figura 8. A escolha das âncoras baseou-se em seu tamanho e na frequência com que aparecem em moléculas farmacêuticas. Cada uma dessas âncoras gerou um conjunto de moléculas em cada um dos três receptores.

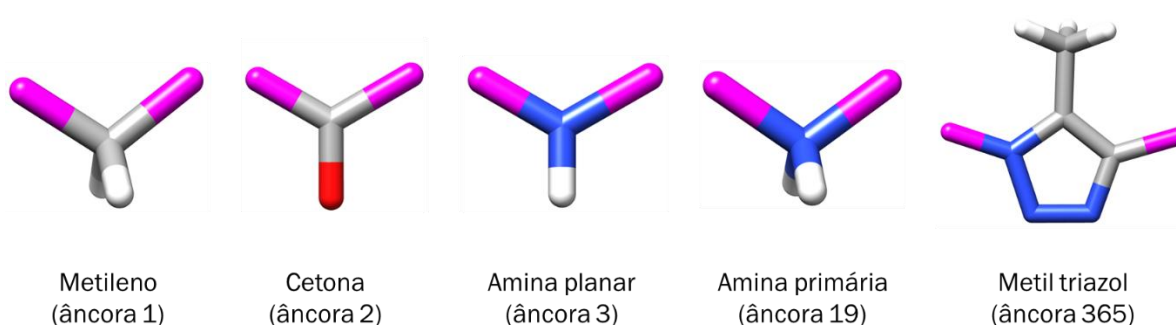


Figura 8. Fragmentos importados da biblioteca do programa DOCK6.9.

Nas etapas do processo de crescimento *de novo*, diversas conformações moleculares são amostradas e minimizadas. A cada camada adicionada, uma função de pontuação (*scoring function*) é estimada, e um conjunto de propriedades moleculares é calculado, incluindo peso molecular, número de ligações rotacionais, carga formal, número de potenciais aceptores de ligação de hidrogênio e número de potenciais doadores de ligação de hidrogênio. Foi definido até 9 camadas de crescimento da molécula. Após o crescimento da molécula ela é armazenada e uma nova molécula é formada até formar um conjunto de moléculas para cada um dos receptores. A Figura 9 indica o fluxograma de operação do design *de novo*.

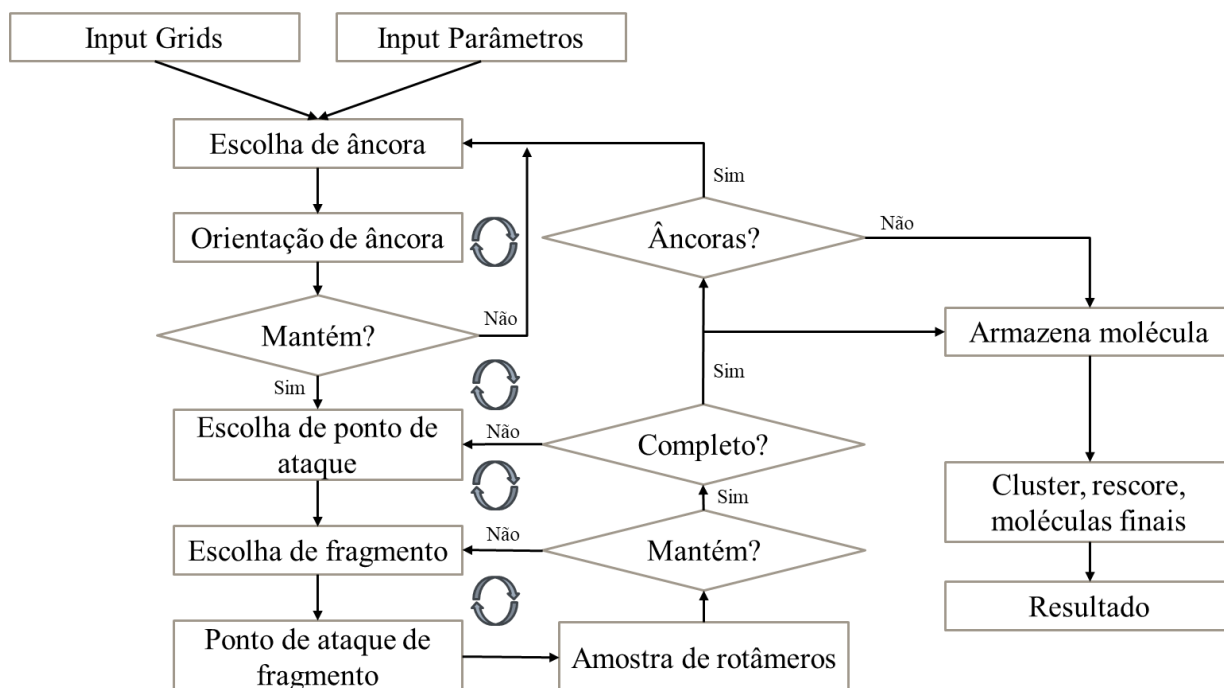


Figura 9. Fluxograma do algoritmo de crescimento iterativo de novo.
Fonte: Adaptado de Allen, 2017.

No DOCK_DN, além das propriedades mencionadas, são obtidos valores de alguns descritores quimioinformáticos das moléculas. Eles são utilizados como indicadores para avaliar se os ligantes gerados apresentam propriedades de interesse farmacológico. Entre os descritores comumente empregados estão: QED (*Quantitative Estimate of Druglikeness*), que estima a semelhança da molécula com fármacos comercializados, variando de 0 (propriedades desfavoráveis) a 1 (propriedades favoráveis);⁵³ SynthA (*Synthetic Accessibility*), que avalia a complexidade de síntese de uma molécula, com pontuações de 1 (facilmente sintetizável) a 10 (dificilmente sintetizável);⁵⁴ TPSA (*Topological Polar Surface Area*), que prevê o potencial de transporte de medicamentos através da membrana;⁵⁵ e log P, o coeficiente de partição octanol-água mede a lipofilicidade da molécula e está relacionado à permeabilidade celular.⁵⁶ O uso desses descritores permite ir além do filtro sugerido pelas Regras de Lipinski.⁵⁷

A regra conhecida por *Lipinski's rule of five* – Ro5, propõe que a avaliação da biodisponibilidade oral de moléculas candidatas a fármacos pode ser observada por alguns parâmetros físico-químicos associados a solubilidade e permeabilidade. A regra estabelece valores, tais como: peso molecular < 500 Da; log P < 5; número de doadores de H > 5; número de aceptores de H < 10. Se um ligante não violar mais do que um dos postulados é provável que terá uma boa absorção e permeabilidade como medicamento.^{57,58}

3.2 Cross Docking

A partir do conjunto gerado pelo método *de novo*, as moléculas foram submetidas ao processo de docking cruzado, ou *cross-docking*. Neste processo, as moléculas do receptor 7WC6 foram avaliadas por *cross-docking* nos receptores 7XTB e 7XTC, e o mesmo procedimento foi realizado para os demais receptores. Essa etapa foi adotada com o objetivo de calcular a função de *continuous score* das moléculas nos diferentes receptores, a fim de identificar indícios de seletividade com o receptor. O cálculo dessa energia é dado por:

$$E_{lig-rec} = E_{HB} + E_{vdW} + E_{es} \quad (7)$$

Em que E_{HB} é a energia relacionada à formação de ligações de hidrogênio, E_{vdW} se refere às interações de van der Waals e E_{es} , às interações eletrostáticas.

A Equação 8 indica a diferença de energia de uma molécula gerada no receptor de origem e a energia do receptor em que a molécula foi submetida a *cross-docking*.

$$\Delta E = E_{receptor_original} - E_{receptor_crossdocking} \quad (8)$$

Uma vez que as variações de volume à pressão constante são negligenciáveis na escala da simulação, $E \approx \Delta H$ e a variação de entalpia descreve fielmente as interações entre o ligante e o sítio. Considerando a energia livre de Gibbs, fazemos a aproximação:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (9)$$

$$\Delta\Delta G \approx \Delta E - T\Delta\Delta S \quad (10)$$

e supondo que as variações da entropia entre diferentes ligantes ($\Delta\Delta S$) em água e no sítio de ligação na proteína são aproximadamente iguais, assume-se que a variação da energia (ΔE) é o fator determinante da interação, que experimentalmente é determinada pela constante de equilíbrio:

$$-RT \ln \frac{K_{original}}{K_{crossdocking}} = \Delta\Delta G \approx \Delta E - T\Delta\Delta S \quad (11)$$

$$K_i = \frac{[LR]}{[L][R]} \quad (12)$$

A Equação 11 está relacionada à intensidade da interação entre ligante (L) e receptor (R) em um equilíbrio $[L] + [R] \rightleftharpoons [LR]$. Sendo assim, é possível estimar a seletividade destas moléculas por um receptor ou outro por meio da aproximação da energia de interação das moléculas com diferentes receptores.

4. Resultados e Discussões

4.1 Design *de novo*

O método *de novo* gerou um conjunto de 1.592, 697 e 1.887 moléculas para os receptores 7WC6, 7XTB e 7XTC, respectivamente. A Figura 10 mostra as moléculas geradas em cada um deles. Nota-se que o receptor 7XTB apresentou uma quantidade significativamente menor de moléculas geradas em seu sítio ativo. Uma possível explicação para esse resultado é a influência do volume do sítio pelo tamanho do ligante originalmente obtido pelo **PDB**, onde a serotonina é consideravelmente menor em comparação com as demais moléculas, como D-ácido lisérgico amida (LSD) e 5-carboxitriptamina.

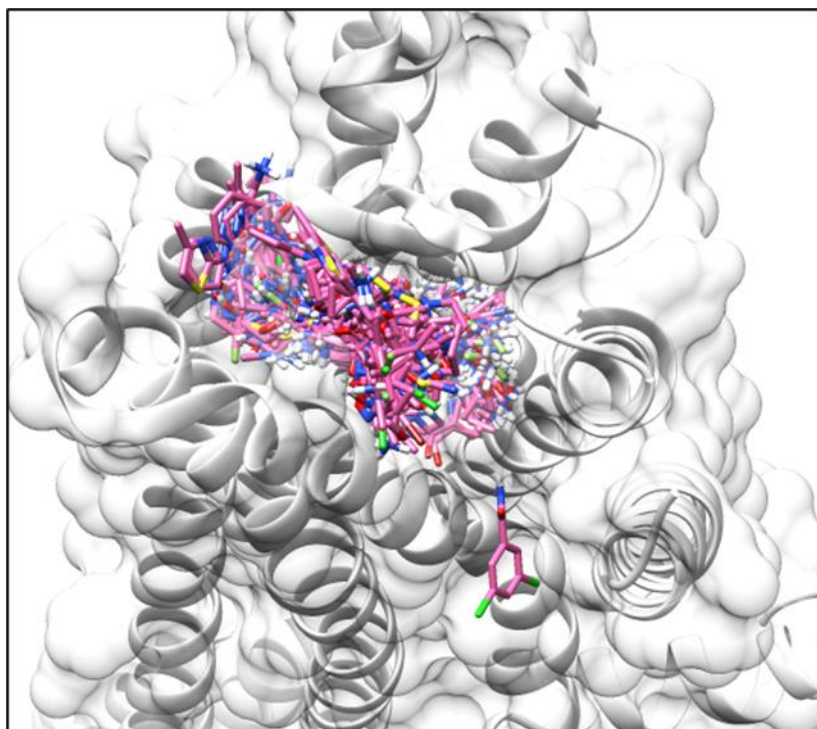


Figura 10. Conjunto de moléculas geradas no receptor 7WC6.

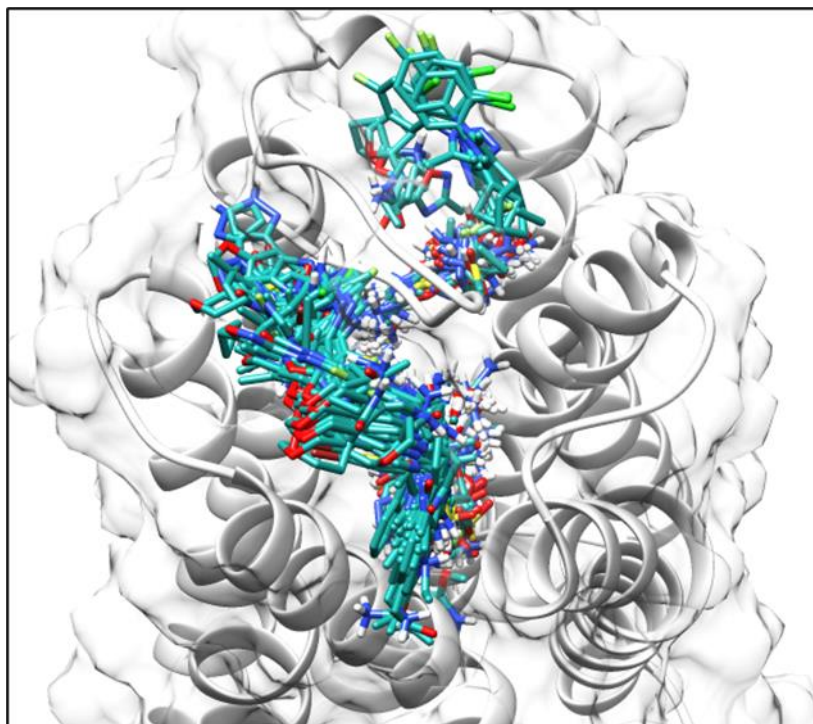


Figura 11. Conjunto de moléculas geradas no receptor 7XTB.

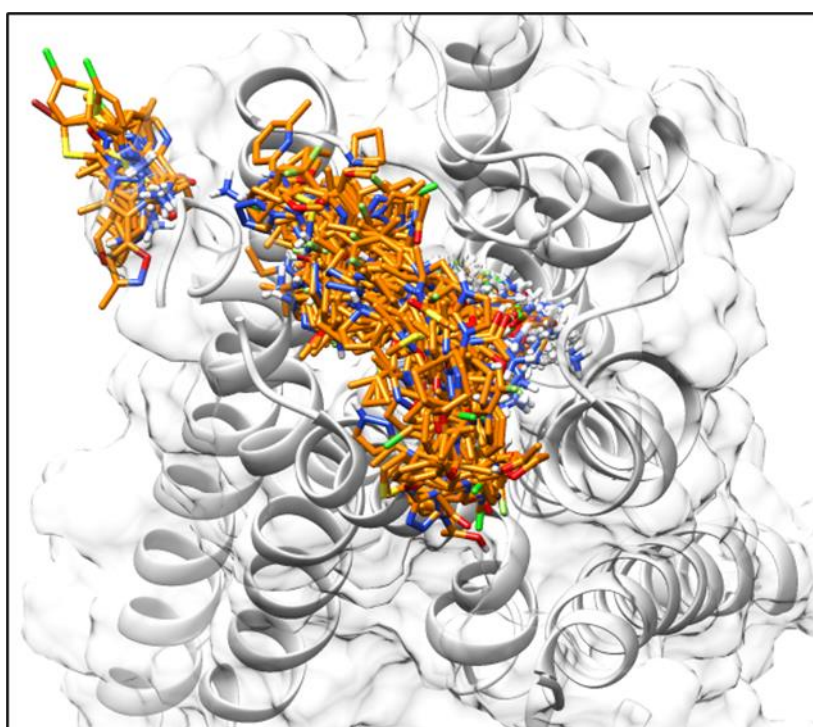


Figura 12. Conjunto de moléculas geradas no receptor 7XTC.

Na Figura 13, os gráficos apresentam a distribuição das moléculas geradas por intervalo de energia de interação (E , em kcal.mol^{-1}). Esses gráficos foram construídos com base nos valores de *continuous score*, resultando em uma média de -36,30 para o receptor 7WC6, -24,28 para o receptor 7XTB e -32,65 para o receptor 7XTC. Os desvios padrão obtidos foram de 10,08, 7,82 e 9,78, respectivamente.

Ademais, observa-se que a maioria das moléculas apresentou valores de $E < 0$. Conforme discutido na metodologia, a aproximação $\Delta E \approx \Delta H$ é válida, o que indica que as interações entre os ligantes e os receptores ocorreram em condições termodinâmicas favoráveis.

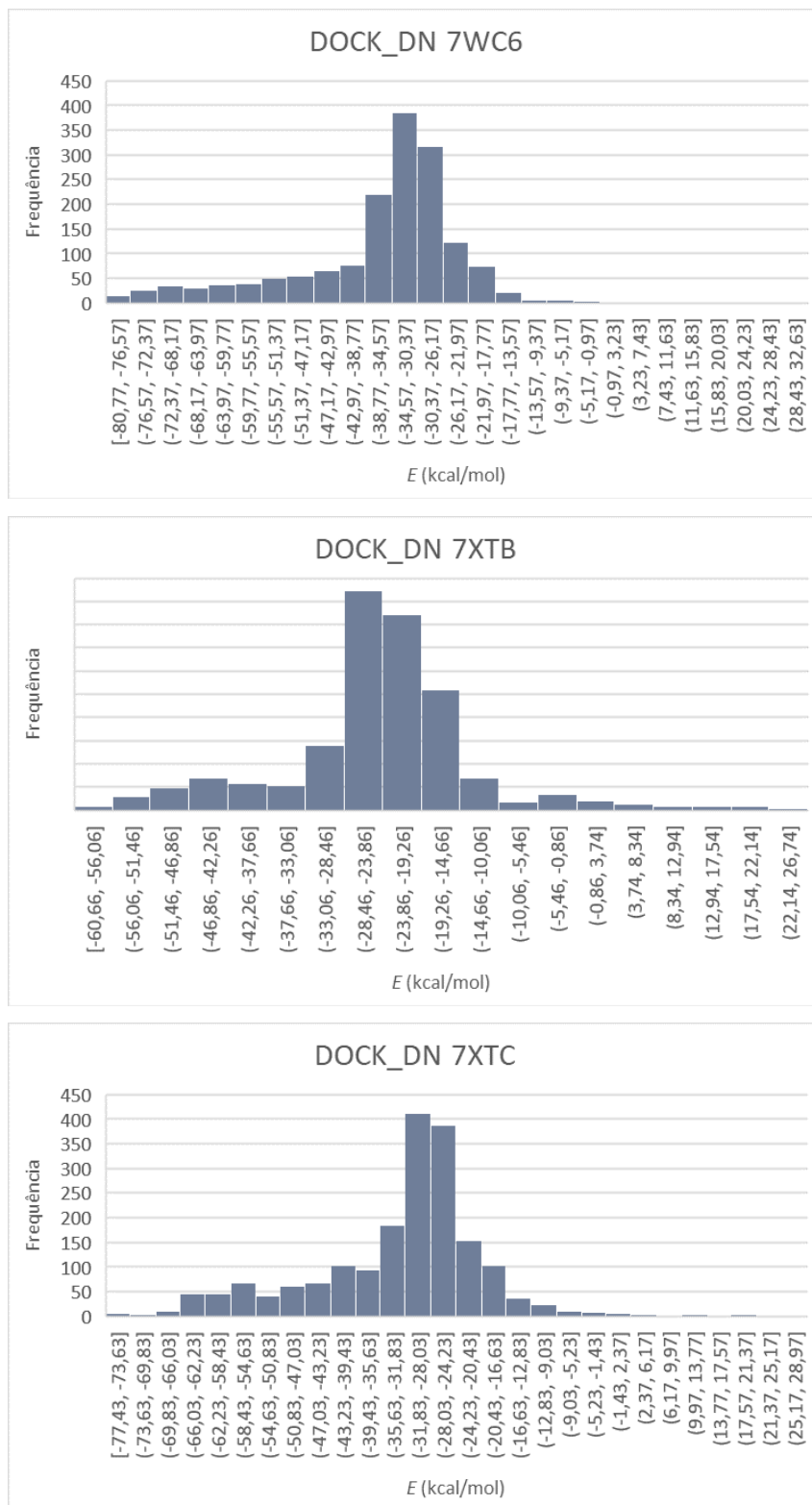


Figura 13. Frequência de moléculas por valor de *continuous score* geradas em cada receptor, 7WC6 (1592), 7XTB (697) e 7XTC (1887), respectivamente.

Apenas 8 moléculas apresentaram valores positivos para o receptor 7WC6, 22 para o receptor 7XTB e 19 para o receptor 7XTC. Esse número representa uma fração mínima em comparação à quantidade total de moléculas geradas. Esse resultado pode ser explicado pelo fato de que, em alguns casos, outros fatores, além da energia de ligação, foram considerados mais favoráveis durante o processo de construção molecular.

A Figura 14 apresenta a frequência de moléculas nos três sítios e seus valores de QED. Os valores médios estão destacados pela linha vermelha nos gráficos. O valor médio para o receptor 7WC6 foi de 0,64, 0,59 para o 7XTB e 0,65 para o 7XTC, e desvio padrão de 0,14, 0,12 e 0,12, respectivamente. Segundo Bickerton (2012), o QED médio de alvos de medicamentos humanos é de 0,69. No trabalho de Matos (2023), é proposto um limite inferior de 0,61 para QED. Nessa perspectiva, os valores de QED obtidos pelo método indicam um resultado favorável como novos medicamentos.

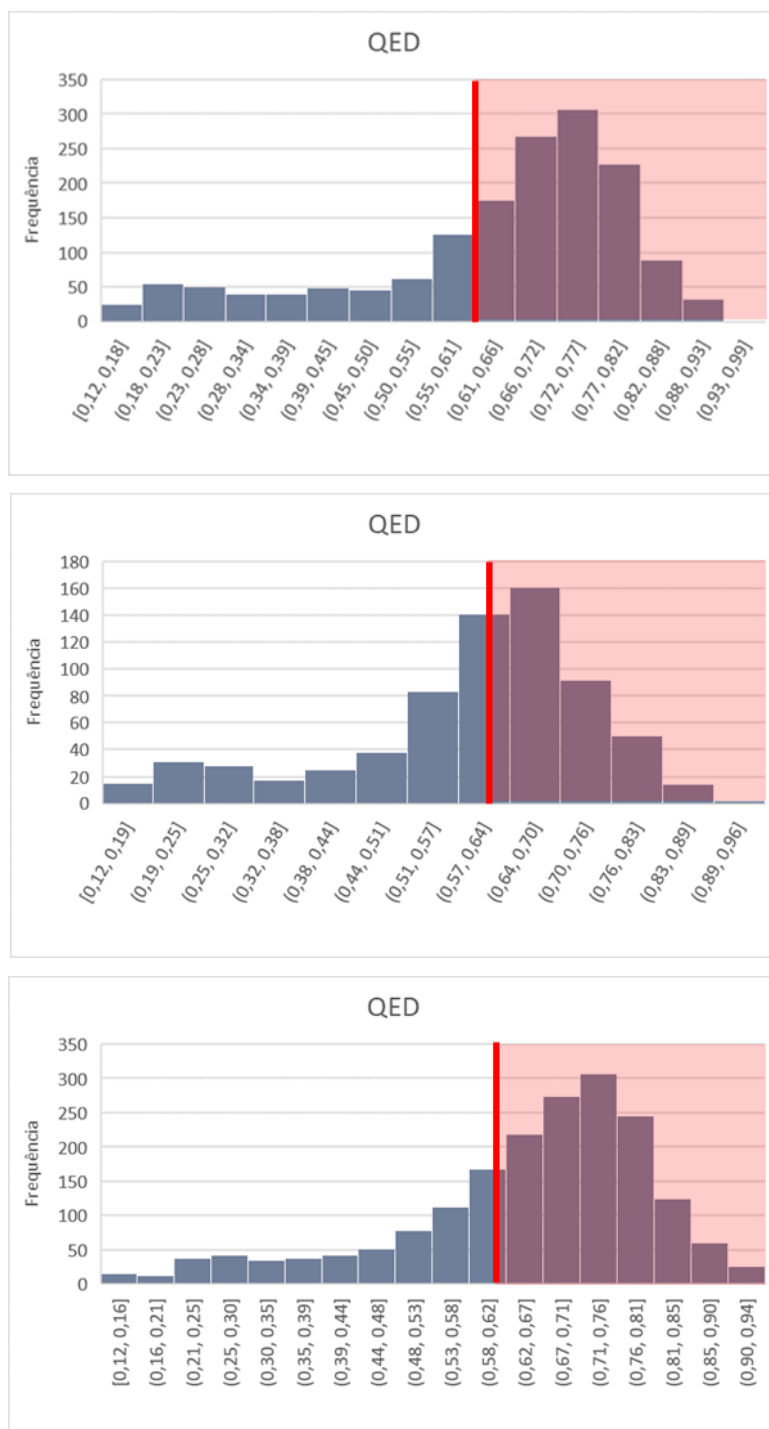


Figura 14. Gráficos da distribuição de moléculas por valor de *druglikeness* (QED). Os gráficos se referem às moléculas geradas pelo *de novo* nos sítios 7WC6, 7XTB e 7XTC, respectivamente.

Outro descritor importante na avaliação de candidato a fármacos é a acessibilidade sintética (SynthA). A Figura 15 apresenta os histogramas de SynthA, onde os valores seguiram uma média de 3,88 para o receptor 7WC6, 3,56 para o 7XTB e 3,74 para o 7XTC e seus desvios padrão de 1,13, 1,03 e 1,11, respectivamente. De acordo com Ertl (2009), o método de classificação do grau de dificuldade de síntese das moléculas apresenta divergência entre

químicos, sendo um parâmetro mais difícil de se determinar. Um valor médio estimado de acessibilidade sintética é de 3,34,⁷ em que valores mais próximos de 1 são considerados mais sinteticamente acessíveis.

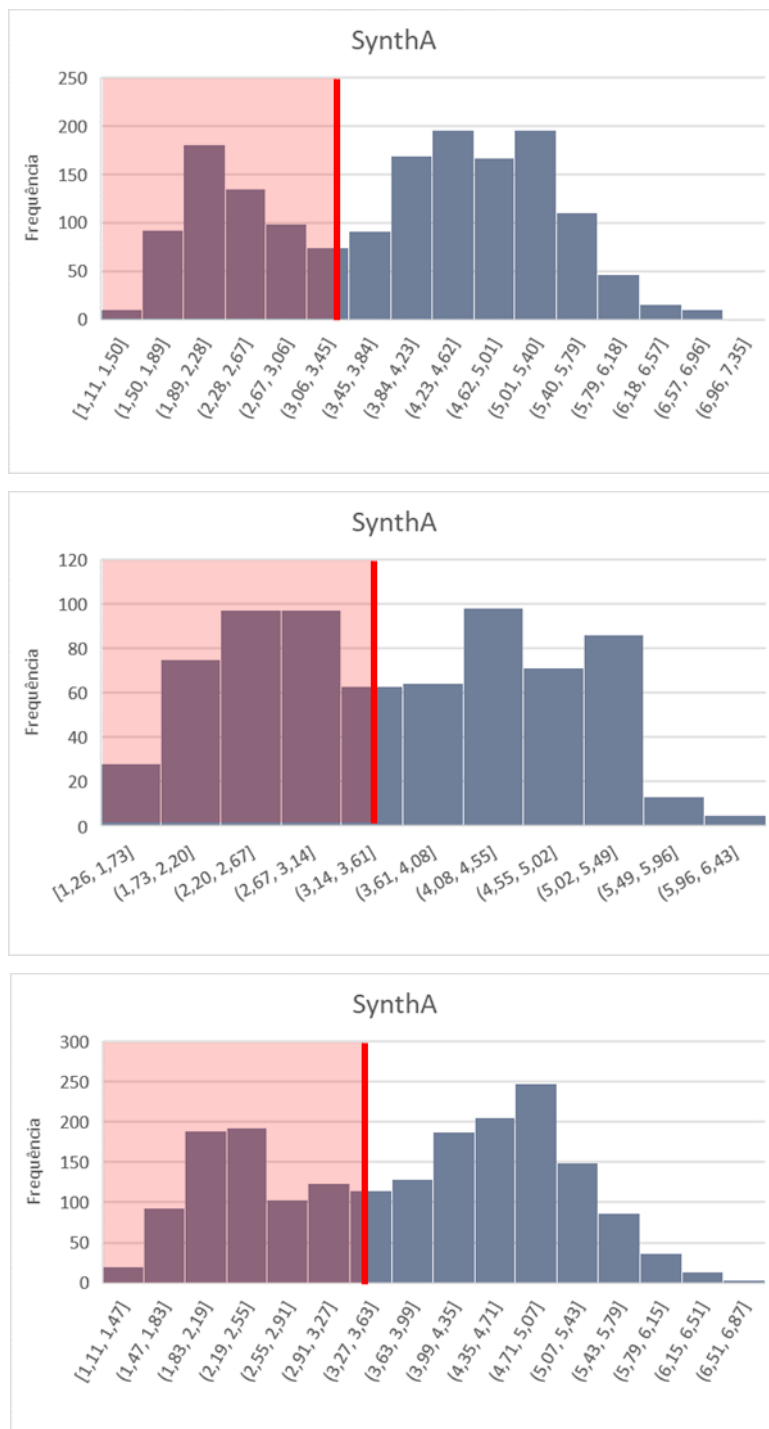


Figura 15. Gráficos da distribuição de moléculas por valor de acessibilidade sintética (SynthA). Os gráficos se referem às moléculas geradas *de novo* nos sítios 7WC6, 7XTB e 7XTC, respectivamente.

Os valores de área de superfície polar topológica (TPSA) que contabilizam a contribuição de átomos polares como N e O, apresentam-se na Figura 16. O TPSA médio obtido em cada receptor foi de 63,81, 74,28 e 62,23 (valores em Å²), e desvios de 36,56, 41,67 e 34,82, respectivamente. Os valores de referência de acordo com Matos (2023) são de um intervalo de 28,53 a 113,20 admitindo um desvio de até 42,33.

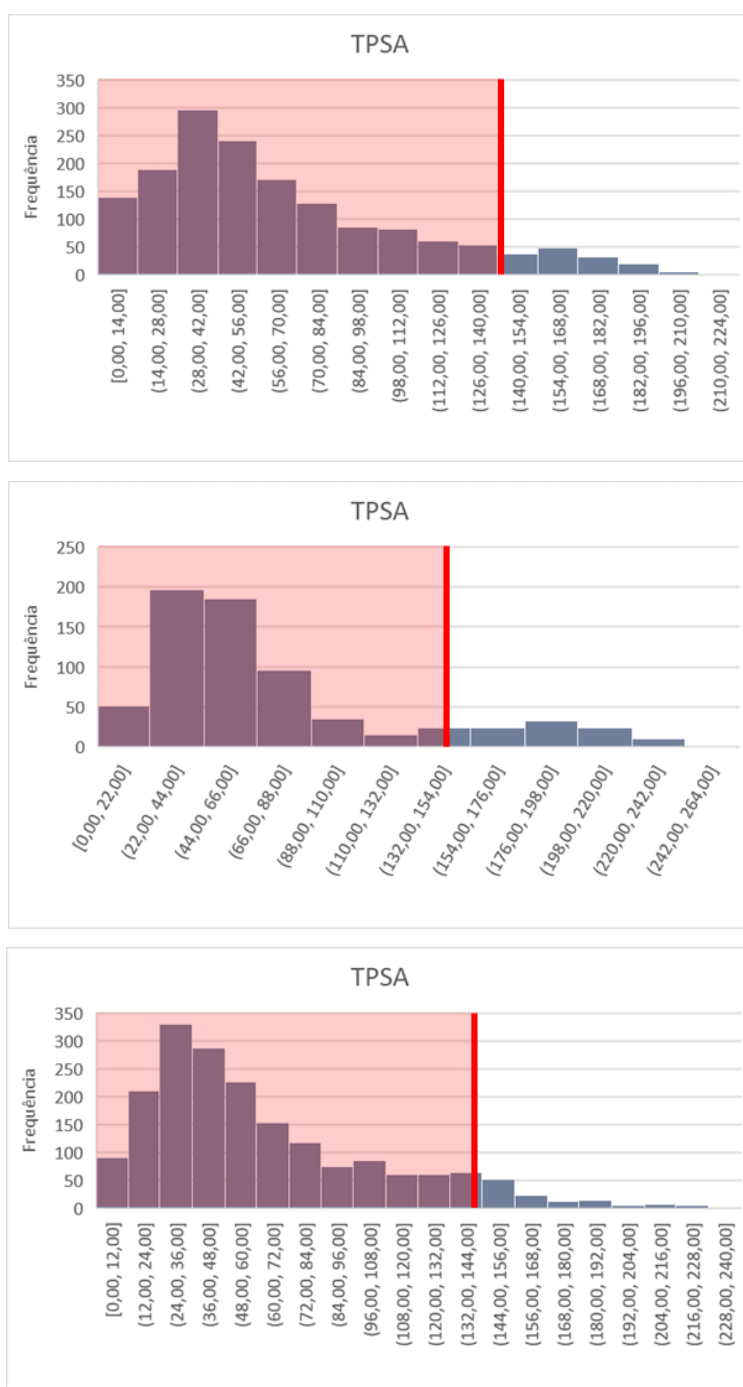


Figura 16. Gráficos da distribuição de moléculas por valor de área de superfície polar topológica (TPSA). Os gráficos se referem às moléculas geradas pelo *de novo* nos sítios 7WC6, 7XTB e 7XTC, respectivamente.

Os valores médios do coeficiente de partição (log P) estão apresentados pelos gráficos da Figura 17. Os valores médios obtidos foram de 0,81 para o receptor 7WC6, 0,11 para o 7XTB e 1,32 para o 7XTC, seus desvios padrões de 1,40, 1,26 e 1,28, respectivamente. Esse descritor é importante por trazer informações físico-químicas associadas a permeabilidade celular. As moléculas obtidas pelo *de novo* apresentaram um valor aceitável de acordo com as regras de Lipinski (2012) e Wildman (1999).

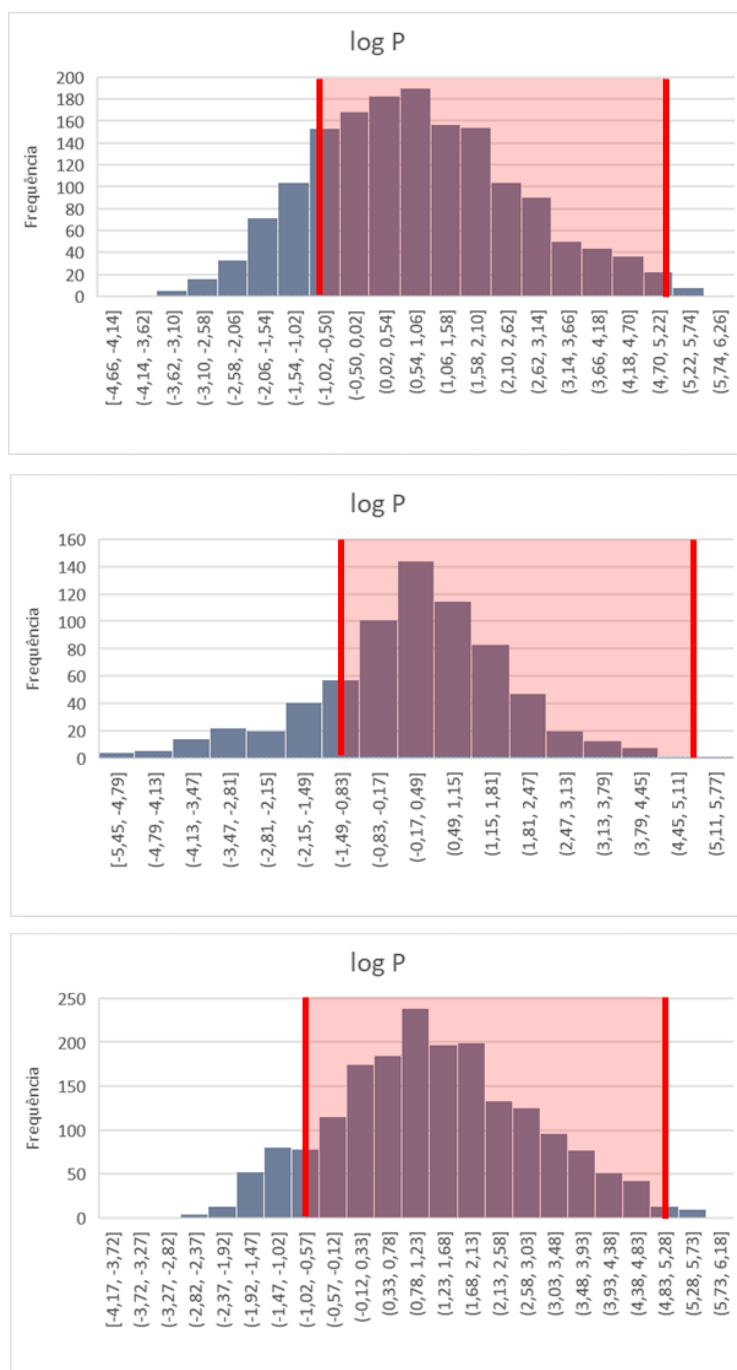


Figura 17. Gráficos da distribuição de moléculas por valor de área de coeficiente de partição (log P). Os gráficos se referem às moléculas geradas pelo *de novo* nos sítios 7WC6, 7XTB e 7XTC, respectivamente

4.2 Cross Docking

As moléculas geradas pelo *de novo* e submetidas a *cross-docking* foram avaliadas conforme o valor de diferença de energia em relação ao sítio do receptor de origem. Desta forma, as Figuras 18,19 e 20 apresentam histogramas com as frequências de moléculas pela diferença de energia (ΔE , em kcal.mol⁻¹).

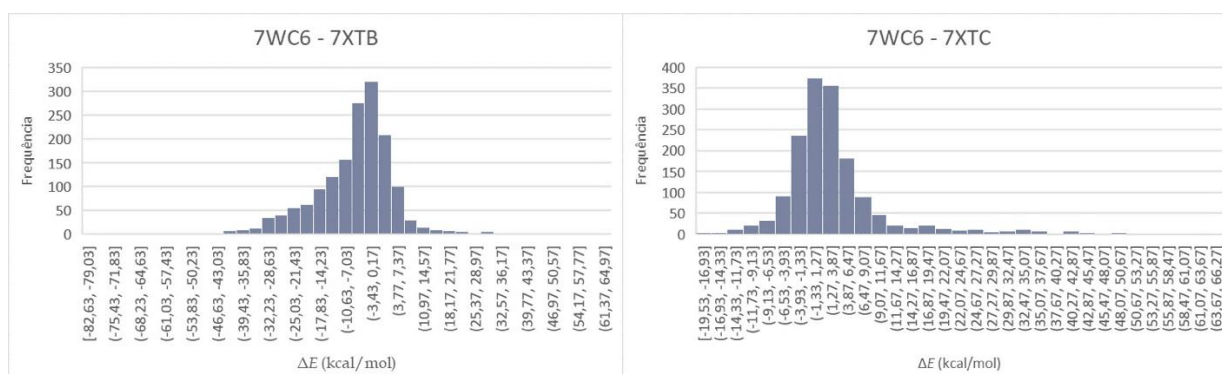


Figura 18. Distribuição de scores de ΔE de moléculas geradas no receptor 7WC6 e ancoradas nos receptores 7XTB e 7XTC, respectivamente.

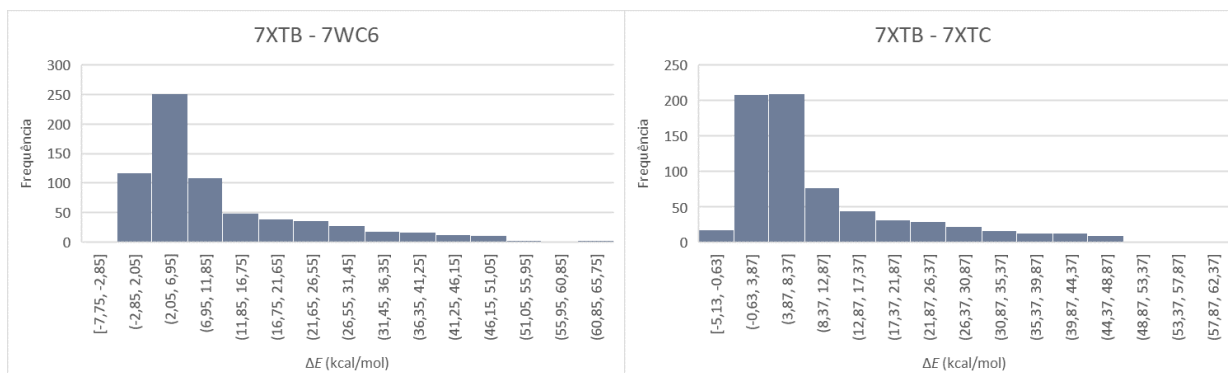


Figura 19. Distribuição de scores de ΔE de moléculas geradas no receptor 7XTB e ancoradas nos receptores 7WC6 e 7XTC, respectivamente.

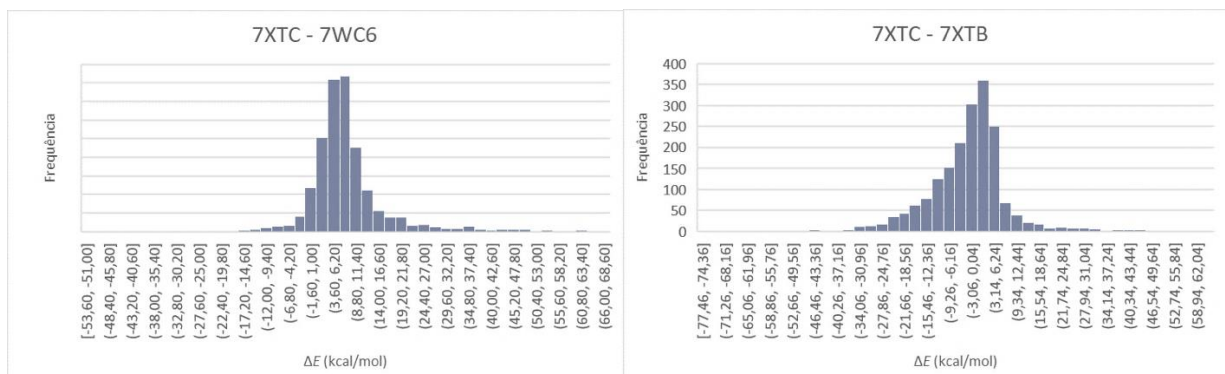


Figura 20. Distribuição de scores de ΔE de moléculas geradas no receptor 7XTC e ancoradas nos receptores 7WC6 e 7XTB, respectivamente.

Entre os ligantes gerados para o receptor 7WC6, 74,2% apresentaram $\Delta E < 0$ em relação ao receptor 7XTB, e 17,1% em relação ao receptor 7XTC, indicando uma interação mais favorável com o receptor de origem. No entanto, apenas 202 ligantes tiveram $\Delta E \leq -20,0$ kcal/mol em relação ao receptor 7XTB, o que pode sugerir indícios de seletividade dessas moléculas. A Figura 19, 20 e 21 apresentam duas moléculas de melhor interação com o receptor 7WC6, 7XTB e 7XTC, respectivamente.

Por outro lado, dentre os ligantes gerados para o receptor 7XTB, 3,4% apresentaram $\Delta E < 0$ tanto em relação ao receptor 7WC6 quanto ao 7XTC, sugerindo que essas moléculas interagiram de forma mais favorável com os outros receptores. É importante destacar que o sítio de ligação do receptor 7XTB era menor em comparação aos outros, o que resultou na construção de moléculas menores, facilitando a exploração do espaço conformacional nos outros sítios, em busca de resíduos com melhor interação.

Por fim, para os ligantes gerados no receptor 7XTC, 7,9% apresentaram $\Delta E < 0$ em relação ao receptor 7WC6, enquanto 56,2% o fizeram em relação ao receptor 7XTB. Apenas duas moléculas demonstraram maior afinidade ($\Delta E \leq -20,0$ kcal/mol) em relação ao receptor 7WC6, enquanto 110 moléculas apresentaram afinidade semelhante com o receptor 7XTB.

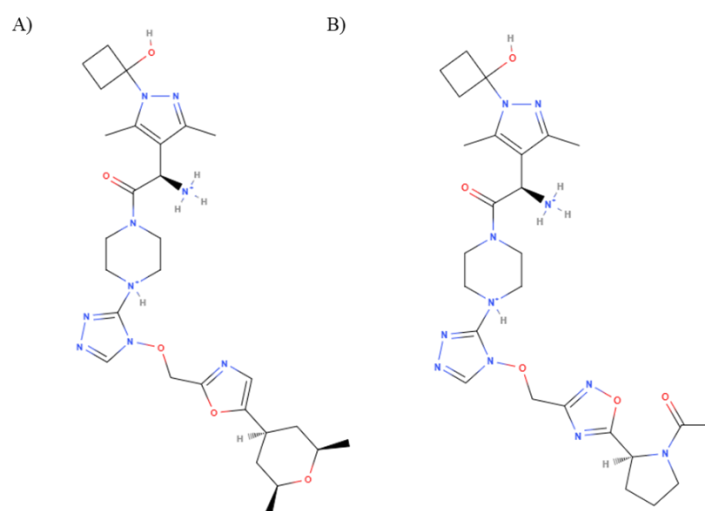


Figura 21. Melhores moléculas geradas no receptor 7WC6 com valores favoráveis de ΔE (kcal/mol) em relação aos outros receptores. a) $\Delta E_{7WC6-7XTB} = -36,17$ kcal/mol, $\Delta E_{7WC6-7XTC} = -19,53$ kcal/mol, e b) $\Delta E_{7WC6-7XTB} = -30,61$ kcal/mol e $\Delta E_{7WC6-7XTC} = -17,77$ kcal/mol;

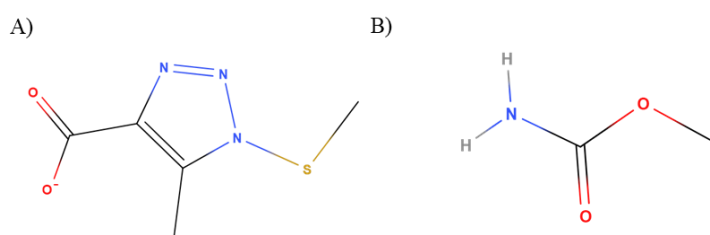


Figura 22. Melhores moléculas geradas no receptor 7XTB com valores favoráveis de ΔE (kcal/mol) em relação aos outros receptores. a) $\Delta E_{7XTB-7WC6} = -7,75$ kcal/mol, $\Delta E_{7XTB-7XTC} = -5,13$ kcal/mol, e b) $\Delta E_{7XTB-7WC6} = -2,55$ kcal/mol e $\Delta E_{7XTB-7XTC} = -1,94$ kcal/mol;

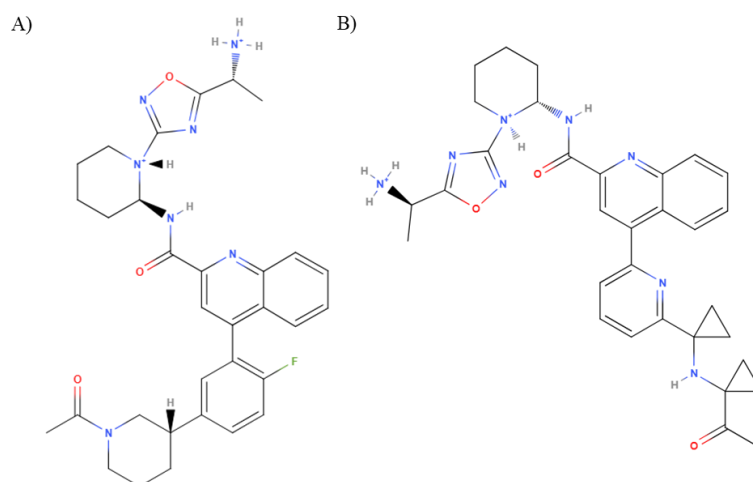


Figura 23. Melhores moléculas geradas no receptor 7XTC com valores favoráveis de ΔE (kcal/mol) em relação aos outros receptores. a) $\Delta E_{7XTC-7WC6} = -53,60$ kcal/mol, $\Delta E_{7XTC-7XTB} = -44,88$ kcal/mol, e b) $\Delta E_{7XTC-7WC6} = -23,27$ kcal/mol e $\Delta E_{7XTC-7XTB} = -34,17$ kcal/mol;

5. Conclusões

O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia do método *de novo* na geração de ligantes seletivos. Este método, dentro da abordagem SBDD, buscou por meio da informação dos sítios de ligação das proteínas 5HT_{2A}, 5HT₆ e 5HT₇, obter novos ligantes como potenciais fármacos. O trabalho realizou dois processos: (i) geração de ligantes pelo método *de novo* e avaliação das funções de *scoring* e (ii) verificação de seletividade por *cross-docking*. A análise dos resultados obtidos pelo *de novo* revelou um conjunto de moléculas com afinidade significativamente boa com o receptor, além de apresentarem valores favoráveis para os descritores quimioinformáticos (QED, SynthA, TPSA e log P), ainda que alguns valores tenham excedido alguns limites aceitos. No entanto, os resultados do *cross-docking* indicaram que apenas poucas moléculas geradas nos sítios das proteínas 5-HT_{2A} (**PDB: 7WC6**) e 5HT₇ (**PDB: 7XTC**) demonstraram um potencial indício de seletividade em relação aos demais receptores. O sítio 5HT₆ (**PDB: 7XTB**) apresentou um número de moléculas bastante inferior aos outros sítios, além de uma baixa afinidade com o próprio receptor.

Portanto, novos estudos podem ser conduzidos a fim de aumentar o número de receptores da família 5-HTR para investigar a relação entre os receptores. Além disso, cálculos alquímicos de energia livre de Gibbs e dinâmica molecular são ferramentas importantes que acrescentariam ao trabalho maior informação sobre a afinidade e estabilidade ligante-receptor.

6. Referências Bibliográficas

- (1) MACALINO, Stephani Joy Y. et al. Role of computer-aided drug design in modern drug discovery. *Archives of pharmacal research*, v. 38, p. 1686-1701, 2015.
- (2) YU, Wenbo; MACKERELL, Alexander D. Computer-aided drug design methods. **Antibiotics: methods and protocols**, p. 85-106, 2017.
- (3) DE VIVO, Marco et al. Role of molecular dynamics and related methods in drug discovery. **Journal of medicinal chemistry**, v. 59, n. 9, p. 4035-4061, 2016.
- (4) MENG, Elaine C.; SHOICHET, Brian K.; KUNTZ, Irwin D. Automated docking with grid-based energy evaluation. **Journal of computational chemistry**, v. 13, n. 4, p. 505-524, 1992.
- (5) ALLEN, William J. et al. DOCK 6: Impact of new features and current docking performance. **Journal of computational chemistry**, v. 36, n. 15, p. 1132-1156, 2015.
- (6) ALLEN, William J. et al. Customizable de novo design strategies for DOCK: Application to HIVgp41 and other therapeutic targets. **Journal of computational chemistry**, v. 38, n. 30, p. 2641-2663, 2017.
- (7) MATOS, Guilherme D. R.; PAK, Steven; RIZZO, Robert C. Descriptor-Driven de Novo Design Algorithms for DOCK6 Using RDKit. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 63, n. 18, p. 5803-5822, 2023.
- (8) LI, Joshua et al. The molecule pages database. **Nature**, v. 420, n. 6916, p. 716-717, 2002.
- (9) FLOWER, Darren R. Modelling G-protein-coupled receptors for drug design. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Biomembranes**, v. 1422, n. 3, p. 207-234, 1999.
- (10) MANTAS, Ioannis et al. Update on GPCR-based targets for the development of novel antidepressants. **Molecular psychiatry**, v. 27, n. 1, p. 534-558, 2022.
- (11) MANGLIK, Aashish et al. Structure-based discovery of opioid analgesics with reduced side effects. **Nature**, v. 537, n. 7619, p. 185-190, 2016.
- (12) CAO, Dongmei et al. Structure-based discovery of nonhallucinogenic psychedelic analogs. **Science**, v. 375, n. 6579, p. 403-411, 2022.
- (13) BHATNAGAR, Anushree et al. The Dynamin-dependent, Arrestin-independent Internalization of 5-Hydroxytryptamine 2A (5-HT_{2A}) Serotonin Receptors Reveals Differential Sorting of Arrestins and 5-HT_{2A} Receptors during Endocytosis. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 11, p. 8269-8277, 2001.
- (14) LI, Helin et al. Advancements of prodrug technologies for enhanced drug selectivity in pharmacotherapies. **Investigational New Drugs**, p. 1-11, 2024.
- (15) GYANANI, Vijay; HALEY, Jeffrey C.; GOSWAMI, Roshan. Challenges of current anticancer treatment approaches with focus on liposomal drug delivery systems. **Pharmaceuticals**, v. 14, n. 9, p. 835, 2021.
- (16) HANNON, Jason; HOYER, Daniel. Molecular biology of 5-HT receptors. **Behavioural brain research**, v. 195, n. 1, p. 198-213, 2008.

- (17) SHARP, Trevor; BARNES, Nicholas M. Central 5-HT receptors and their function; present and future. **Neuropharmacology**, v. 177, p. 108155, 2020.
- (18) NEUROTRANSMITTERS. **Cleveland Clinical**, 2022. Disponível em: <<https://my.clevelandclinic.org/health/articles/22513-neurotransmitters>>. Acesso em: 10 out. 2024.
- (19) BERGER, Miles; GRAY, John A.; ROTH, Bryan L. The expanded biology of serotonin. **Annual review of medicine**, v. 60, n. 1, p. 355-366, 2009.
- (20) NICHOLS, David E.; NICHOLS, Charles D. Serotonin receptors. **Chemical reviews**, v. 108, n. 5, p. 1614-1641, 2008.
- (21) CORTES-ALTAMIRANO, Jose L. et al. Review: 5-HT1, 5-HT2, 5-HT3 and 5-HT7 receptors and their role in the modulation of pain response in the central nervous system. **Current neuropharmacology**, v. 16, n. 2, p. 210-221, 2018.
- (22) POPOVA, Nina K.; AMSTISLAVSKAYA, Tamara G. 5-HT2A and 5-HT2C serotonin receptors differentially modulate mouse sexual arousal and the hypothalamo-pituitary-testicular response to the presence of a female. **Neuroendocrinology**, v. 76, n. 1, p. 28-34, 2002.
- (23) POPA, Daniela et al. Contribution of 5-HT2 receptor subtypes to sleep-wakefulness and respiratory control, and functional adaptations in knock-out mice lacking 5-HT2A receptors. **Journal of Neuroscience**, v. 25, n. 49, p. 11231-11238, 2005.
- (24) HIRST, Warren D. et al. SB-399885 is a potent, selective 5-HT6 receptor antagonist with cognitive enhancing properties in aged rat water maze and novel object recognition models. **European journal of pharmacology**, v. 553, n. 1-3, p. 109-119, 2006.
- (25) PEREZ-GARCÍA, Georgina; MENESES, Alfredo. Oral administration of the 5-HT6 receptor antagonists SB-357134 and SB-399885 improves memory formation in an autoshaping learning task. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 81, n. 3, p. 673-682, 2005.
- (26) WESOŁOWSKA, Anna et al. Effect of the selective 5-HT7 receptor antagonist SB 269970 in animal models of anxiety and depression. **Neuropharmacology**, v. 51, n. 3, p. 578-586, 2006.
- (27) HEDLUND, Peter B. et al. 5-HT7 receptor inhibition and inactivation induce antidepressantlike behavior and sleep pattern. **Biological psychiatry**, v. 58, n. 10, p. 831-837, 2005.
- (28) AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION et al. **DSM-5: Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais**. Artmed Editora, 2014. p. 155-234.
- (29) GALANO-FRUTOS, Juan J.; NERÍN-FONZ, Francho; SANCHO, Javier. Calculation of protein folding thermodynamics using molecular dynamics simulations. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 63, n. 24, p. 7791-7806, 2023.
- (30) KHARLAMOV, G. V. Molecular diffusion in gases and liquids. In: **Journal of Physics: Conference Series**. IOP Publishing, 2021. p. 012122.
- (31) VANOMMESLAEGHE, Kenno et al. Molecular mechanics. **Current pharmaceutical design**, v. 20, n. 20, p. 3281-3292, 2014.
- (32) LEACH, Andrew R. **Molecular modelling: principles and applications**. Pearson education, 2001.

- (33) CONNOLLY, Michael L. Solvent-accessible surfaces of proteins and nucleic acids. **Science**, v. 221, n. 4612, p. 709-713, 1983.
- (34) CONNOLLY, Michael L. Analytical molecular surface calculation. **Journal of applied crystallography**, v. 16, n. 5, p. 548-558, 1983.
- (35) VANOMMESLAEGHE, Kenno et al. CHARMM general force field: A force field for drug-like molecules compatible with the CHARMM all-atom additive biological force fields. **Journal of computational chemistry**, v. 31, n. 4, p. 671-690, 2010.
- (36) SCOTT, Walter RP et al. The GROMOS biomolecular simulation program package. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 103, n. 19, p. 3596-3607, 1999.
- (37) JORGENSEN, William L.; MAXWELL, David S.; TIRADO-RIVES, Julian. Development and testing of the OPLS all-atom force field on conformational energetics and properties of organic liquids. **Journal of the american chemical society**, v. 118, n. 45, p. 11225-11236, 1996.
- (38) PEARLMAN, David A. et al. AMBER, a package of computer programs for applying molecular mechanics, normal mode analysis, molecular dynamics and free energy calculations to simulate the structural and energetic properties of molecules. **Computer Physics Communications**, v. 91, n. 1-3, p. 1-41, 1995.
- (39) ALVAREZ, Juan; SHOICHET, Brian. **Virtual screening in drug discovery**. CRC press, 2005.
- (40) EWING, Todd JA et al. DOCK 4.0: search strategies for automated molecular docking of flexible molecule databases. **Journal of computer-aided molecular design**, v. 15, p. 411-428, 2001.
- (41) ALLEN, William Joseph et al. DOCK 6.10 Users Manual. Disponível em: https://dock.compbio.ucsf.edu/DOCK_6/dock6_manual.htm#GeneralOverview. Acesso em: 06 set. 2024.
- (42) BALIUS, Trent E. et al. Grid-based molecular footprint comparison method for docking and de novo design: Application to HIVgp41. **Journal of computational chemistry**, v. 34, n. 14, p. 1226-1240, 2013.
- (43) BENDER, Andreas et al. Similarity searching of chemical databases using atom environment descriptors (MOLPRINT 2D): evaluation of performance. **Journal of chemical information and computer sciences**, v. 44, n. 5, p. 1708-1718, 2004.
- (44) KUHN, Harold W. The Hungarian method for the assignment problem. **Naval research logistics quarterly**, v. 2, n. 1-2, p. 83-97, 1955.
- (45) JIANG, Lingling; RIZZO, Robert C. Pharmacophore-based similarity scoring for DOCK. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 119, n. 3, p. 1083-1102, 2015.
- (46) PETERSEN, Eric F. et al. UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis. **Journal of computational chemistry**, v. 25, n. 13, p. 1605-1612, 2004.
- (47) HUANG, Sijie et al. GPCRs steer Gi and Gs selectivity via TM5-TM6 switches as revealed by structures of serotonin receptors. **Molecular cell**, v. 82, n. 14, p. 2681-2695. e6, 2022.
- (48) HUANG, Sijie et al. GPCRs steer Gi and Gs selectivity via TM5-TM6 switches as revealed by structures of serotonin receptors. **Molecular cell**, v. 82, n. 14, p. 2681-2695. e6, 2022.
- (49) KUNTZ, Irwin D. et al. A geometric approach to macromolecule-ligand

interactions. **Journal of molecular biology**, v. 161, n. 2, p. 269-288, 1982.

- (50) SHOICHET, Brian K.; KUNTZ, Irwin D.; BODIAN, Dale L. Molecular docking using shape descriptors. **Journal of computational chemistry**, v. 13, n. 3, p. 380-397, 1992.
- (51) NELDER, John A.; MEAD, Roger. A simplex method for function minimization. **The computer journal**, v. 7, n. 4, p. 308-313, 1965.
- (52) IRWIN, John 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.
- (53) BICKERTON, G. Richard et al. Quantifying the chemical beauty of drugs. **Nature chemistry**, v. 4, n. 2, p. 90-98, 2012.
- (54) ERTL, Peter; SCHUFFENHAUER, Ansgar. Estimation of synthetic accessibility score of drug-like molecules based on molecular complexity and fragment contributions. **Journal of cheminformatics**, v. 1, p. 1-11, 2009.
- (55) ERTL, Peter; ROHDE, Bernhard; SELZER, Paul. Fast calculation of molecular polar surface area as a sum of fragment-based contributions and its application to the prediction of drug transport properties. **Journal of medicinal chemistry**, v. 43, n. 20, p. 3714-3717, 2000.
- (56) WILDMAN, Scott A.; CRIPPEN, Gordon M. Prediction of physicochemical parameters by atomic contributions. **Journal of chemical information and computer sciences**, v. 39, n. 5, p. 868-873, 1999.
- (57) LIPINSKI, Christopher A. et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced drug delivery reviews**, v. 64, p. 4-17, 2012.
- (58) PILLAI, Omathanu; DHANIKULA, Anand Babu; PANCHAGNULA, Ramesh. Drug delivery: an odyssey of 100 years. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 5, n. 4, p. 439-446, 2001.