



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA MEDICINAL E
MODELAGEM MOLECULAR

ALANNA CRYSTINE LIMA FARIAS DE SOUSA

**PLANEJAMENTO E DESENVOLVIMENTO DE DERIVADOS DO
MUSCIMOL COM PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES**

Belém

2020

ALANNA CRYSTINE LIMA FARIAS DE SOUSA

**PLANEJAMENTO E DESENVOLVIMENTO DE DERIVADOS DO
MUSCIMOL COM PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química Medicinal e Modelagem Molecular como requisito para obtenção de Grau de Mestre em Química Medicinal e Modelagem Molecular.

Orientador: Prof. Dr. Rosivaldo dos Santos Borges

Data da Apresentação: 09/12/2019

Conceito: Aprovada

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Rosivaldo dos Santos Borges – UFPA/PPGQMMM – Orientador

Profa. Dra. Karen Renata Matos Oliveira – UFPA/ICB – Avaliador

Profa. Dra. Joyce Karen Lima Vale – UNAMA/Faculdade de Farmácia – Avaliador

Prof. Dr. Anderson Manoel Herculano Oliveira da Silva – UFPA/PPGQMMM –

Suplente

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

S725p Sousa, Alanna Crystine Lima Farias de
PLANEJAMENTO E DESENVOLVIMENTO DE
DERIVADOS DO MUSCIMOL COM PROPRIEDADES
ANTIOXIDANTES / Alanna Crystine Lima Farias de Sousa. —
2019.
77 f. : il. color.

Orientador(a): Prof. Dr. Rosivaldo dos Santos Borges
Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em
Química Medicinal e Modelagem Molecular, Instituto de Ciências
da Saúde, Universidade Federal do Pará, Belém, 2019.

1. muscimol. 2. receptor GABAA. 3. atividade antioxidante.
I. Título.

CDD 615.19

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos que me ajudaram a chegar até aqui com amor e carinho dado a mim, especialmente a Deus pelo dom da vida e a minha família.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela vida e por todas as bênçãos que me deu por toda a minha vida, me protegendo e me dando força para superar todos os obstáculos.

Agradeço a minha mãe Maria Cleonice Lima Farias de Sousa por todo o apoio, força e amor. Sem você não teria chegado até aqui.

Agradeço as minhas irmãs Aline Cristina Lima Farias de Sousa e Alenna Crystiene Lima Farias de Sousa pelo amor, apoio e companheirismo. Amo vocês!

Agradeço a meu pai Raimundo Farias de Sousa por todo o esforço feito durante minha vida acadêmica para que pudesse ter a melhor educação possível.

Agradeço ao meu avô, Domingos Fernandes de Lima pelo amor e carinho e as orações.

Agradeço ao meu orientador Rosivaldo dos Santos Borges por me aceitar no seu núcleo de pesquisa, pela orientação, paciência e pelo conhecimento passado.

Agradeço aos meus colegas de laboratório pelo companheirismo, apoio, ajuda e por todo conhecimento passado.

Aos meus amigos pela compreensão, pelo amor, carinho e apoio nessa jornada.

Agradeço a Universidade Federal do Pará pela oportunidade de estudar e aprender durante esses anos.

Muito obrigada por tudo!

“A imaginação é mais importante que a ciência, porque a ciência é limitada, ao passo que a imaginação abrange o mundo inteiro.”

Albert Einstein

RESUMO

O Muscimol é um composto izoxazol psicoativo extraído de cogumelos do gênero *Amanita muscaria* tem sido estudado como inibidor GABA por possuir efeitos comportamentais, já que sua fórmula estrutural se assemelha aos neurotransmissores dos mamíferos GABA e o ácido glutâmico. Por sua alta seletividade e potente propriedade de inibir atividade neural possui capacidade de atuar como fármaco, já que possui maior afinidade com o receptor GABA_A que o GABA, podendo agir no metabolismo da serotonina, assim como o GABA. Desde a década de 80 há estudos que sugerem que o GABA e o muscimol estão relacionados com a concentração de serotonina, onde se houver aumento na concentração de GABA ou injeção de muscimol, há aumento da concentração de serotonina e diminuição de seu produto inativo após sua oxidação, 5-HIAA. Por esta razão este trabalho objetivou planejar e desenvolver derivados do muscimol como alternativa para o aumento de serotonina através da atividade antioxidante. Para isso, foi-se utilizado o método de planejamento de fármacos conhecido como bioisosterismo, o qual é caracterizado por ser compostos ou subunidades de substâncias bioativas com características estruturais semelhantes, além de propriedades físicas e químicas semelhantes com a capacidade de apresentar propriedades biológicas análogas, podendo ser agonistas ou antagonistas. Primeiramente foi feito um estudo dos grupos que são responsáveis pela atividade biológica através do farmacóforo do muscimol, onde os grupos que fazem interação com o receptor GABA_A são o grupamentos -NH₂, o anel isoxazol, bem como o oxigênio presente a carbonila. Depois foi-se feito modelagem molecular, a qual foi realizada usando a mecânica molecular através do método de PM3 para otimização das estruturas, o método DFT/B3LYP/6-311G (2d,2p) para verificação dos valores de HOMO, LUMO, GAP, potencial de ionização teórico, energia de dissociação de ligação, energia de transferência de hidrogênio e energia de transferência de elétrons, onde verificou-se que o derivado S1 apresentou valores iguais a -7.61 eV, -1.36 eV, -6.25 eV, 205.87.85 kcal/mol, 80.81 kcal/mol, -15.45 kcal/mol e 6.99 kcal/mol, respectivamente. Já o derivado S2 apresentou valores de -6.80 eV, -1.08 eV, 5.72 eV, 198.41 kcal/mol, 77.73 kcal/mol, -18.53 kcal/mol e -0.47 kcal/mol, respectivamente. Ao serem comparados com o GABA, verificou-se que os mesmos são reativos, entre os quais o derivado S2 é mais reativo, apresentando menor valor de GAP, se comparado com o S1, e com os valores de PI, verificou-se que o derivado S1 apresenta menor capacidade doadora de elétrons que o derivado S2, onde a melhor via é pelo mecanismo de doação de hidrogênio. Depois foi realizado a síntese dos derivados regioisômeros com um rendimento para S1 e S2 de 74,08% e 60,42%, respectivamente, além de passarem por caracterização através do ponto de fusão, onde o derivado S1 apresentou ponto de fusão igual a 114,5°C – 115°C e o S2, 182,5°C, mostrando que as moléculas sintetizadas estão puras, já que foram comparados com os dados na literatura. Com esses dados é possível dizer que os derivados do muscimol possuem boa atividade antioxidante por transferência de hidrogênio.

PALAVRAS-CHAVE: muscimol; receptor GABA_A; atividade antioxidante

ABSTRACT

Muscimole is a psychoactive isoxazole compound extracted from mushrooms of the genus *Amanita muscaria* has been studied as a GABA inhibitor due to behavioral genes, since its structural structure is based on mammalian neurotransmitters GABA and glutamic acid. Due to its high selectivity and its own potential for neural activity, it is able to act as a drug, since it has a higher affinity for the GABA_A receptor than GABA. Since the 1980s studies suggesting that GABA and muscimol are related to serotonin concentration, where increased GABA concentration or muscimol injection increases serotonin concentration and decreases inactive product after serotonin. oxidation, 5-HIAA. For this reason, this work aimed to plan and develop muscimol derivatives as an alternative for increase the serotonin using antioxidant activity. For this reason, this work aimed to plan and develop muscimole derivatives as an alternative for the treatment of anxiety and depression. For this, was used the drug planning method known as bioisosterism, which is characterized by being compounds or subunits of bioactive substances with similar structural characteristics, as well as similar physical and chemical properties with the ability to present analogous biological properties, can be agonists or antagonists. Firstly, a study was made of the groups that are responsible for the biological activity through the muscimole pharmacophores, where the groups that interact with the GABA_A receptor are the -NH₂ groupings, the isoxazole ring, as well as the oxygen present in the carbonyl. Then molecular modeling was performed, which was performed using the DFT B3LYP 6-311G (2d, 2p) method to verify the values of HOMO, LUMO, GAP, ionization potential (IP), bond energy dissociation, hydrogen atom transfer and single electron transfer, where it was found that the derivative S1 presented values equal -7.61 eV, -1.36 eV, -6.25 eV, 205.87.85 kcal/mol, 80.81 kcal/mol, -15.45 kcal/mol e -6.99 kcal/mol, respectively. The derivative S2 presented values of -6.80 eV, -1.08 eV, 5.72 eV, 198.41 kcal/mol, 77.73 kcal/mol, -18.53 kcal/mol e -0.47 kcal/mol, respectively. When compared with GABA, it was found that they are reactive, among which derivative S2 is more reactive, presenting lower GAP value compared to S1, and with PI values, it was found that derivative S1 has a lower electron donor capacity than derivative S2, highlighting that the best route is through the hydrogen donation mechanism. Then, the regioisomers derivatives were synthesized with a yield for S1 and S2 of 74,08% and 60,42%, respectively, as well as characterization through the melting point, where the derivative S1 had equal melting point. at 114,5 ° C - 115 ° C and S2, 182,5 ° C, showing that the synthesized molecules are pure, since they were compared with the data in the literature. With these data it is possible to say that muscimol derivatives have high antioxidant activity.

KEYWORDS: muscimole; GABA_A receptor; antioxidant activity

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química do GABA, muscimol e THIP	16
Figura 2: Estrutura química do muscimol e seus derivados regioisômeros	18
Figura 3: Formação do GABA no ciclo de Krebs.....	20
Figura 4: Estrutura do receptor GABA _A	21
Figura 5: Estrutura do receptor GABA _B	21
Figura 6: Estrutura do receptor GABA _C	22
Figura 7: Formação da serotonina.....	24
Figura 8: Oxidação da serotonina.....	24
Figura 9: Estrutura química do baclofeno.....	26
Figura 10: Estrutura química do pregabalina.....	27
Figura 11: Estrutura química do gabapentina.....	27
Figura 12: Estrutura química do vigabatrina.....	28
Figura 13: Estrutura química do fenibut.....	28
Figura 14: Estrutura química do gama-hidroxibutirato.....	29
Figura 15: <i>Amanita Muscaria</i>	29
Figura 16: Descarboxilação do ácido ibotênico.....	29
Figura 17: Estrutura química do THIP.....	30
Figura 18: Estrutura química do isomuscimol.....	31
Figura 19: Estrutura química do dihidromuscimol	31
Figura 20: Estrutura química do homomuscimol.....	31
Figura 21: Estrutura química do tiomuscimol.....	32
Figura 22: Estrutura química da cavalactona e hipericina.....	40
Figura 23: Estruturas químicas das cavalactona.....	40
Figura 24: Estrutura química da edaravona.....	41
Figura 25: Capacidade antioxidante do muscimol e do GABA.....	43
Figura 26: Estrutura química dos derivados análogos do muscimol.....	44
Figura 27: Regioisômeros do muscimol.....	44
Figura 28: Síntese dos derivados regioisômeros do muscimol.....	48
Figura 29: Tautomerismo ceto-enólico do muscimol.....	51
Figura 30: Estruturas otimizadas de tautômeros do muscimol (OH, 2a e C=O, 2b).....	51
Figura 31: HOMO (Abaixo) e LUMO (Acima) para os tautômeros do muscimol.....	51

Figura 32: Estrutura química dos derivados análogos do muscimol.....	53
Figura 33: Seleção de anéis para formação de derivados.....	54
Figura 34: Planejamento dos derivados regioisômeros do muscimol.....	55
Figura 35: Reação de síntese dos derivados do muscimol.....	56
Figura 36: Farmacóforo do GABA.....	57
Figura 37: Farmacóforo do muscimol.....	57
Figura 38: Reação de síntese dos derivados regioisômeros do muscimol.....	59
Figura 39: Reação de síntese dos derivados do muscimol.....	60
Figura 40: HOMO (acima) e LUMO (abaixo) dos derivados S1 e S2, respectivamente.....	62
Figura 41: Estrutura química do GABA, muscimol, derivado S1, derivado S2, cavalactonas, hipericina e edaravona.....	63
Figura 42: Síntese de novos derivados regioisômeros do muscimol.....	67
Figura 43: Síntese de pró-fármacos dos derivados S1 e S2.....	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Propriedades eletrônicas teóricas dos tautômeros do muscimol.....	51
Tabela 2: Propriedades eletrônicas teóricas para derivados análogos do muscimol.....	53
Tabela 3: Propriedades eletrônicas teóricas para seleção de anéis para os derivados....	54
Tabela 4: Propriedades teóricas do GABA, muscimol e dos derivados S1 e S2.....	59
Tabela 5: Propriedades eletrônicas teóricas dos derivados, cavalactonas, hipericina e edaravona.....	64

LISTA DE ABREVIATURAS

5-HT_{3A}: receptores de serotonina tipo 3A/B

GABA: Ácido γ -aminobutírico

GABA_A: Receptor Ionotrópico mais abundante

GABA_B: Receptor metabotrópico

GABA_C: Receptor ionotrópico, assim como o GABA_A

GABA-T: enzima GABA – transaminase

GAD: Ácido Glutâmico

GAT: Transportadores de GABA

GAP: A diferença entre as energias dos orbitais HOMO-LUMO

GHB: gama-hidroxibutirato

HOMO: orbital molecular ocupado de maior energia

LUMO: orbital molecular ocupado de menor energia

MAO-A: Monoamina Oxidase tipo A

nAChR: receptores nicotínicos periféricos e neuronais de acetilcolina

SNC: Sistema Nervoso Central

PI: potencial de ionização

PM3: Parametric Method 3

ROS: espécies reativas de oxigênio

SSA: semi-aldeído succínio

THIP: Gaboxadol

TSER: transportador específico de serotonina

TVMA: transportador vesicular de monoamina

VGAT: The vesicular GABA transporter

MAO: monoamina oxidase

CCA: parte frontal cingulado

LCR: líquido espinhal cerebral humano

TPH: enzima triptofano 5-hidroxilase

5-HIAA: ácido 5-hidroxiindolacético

DSH: dihidromuscimol

BDE: energia de dissociação de ligação/bond dissociation energy

Δ **HAT**: energia de estabilização de transferência de átomo de hidrogênio

Δ **SET**: energia de estabilização de transferência de elétron

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	16
REVISÃO DA BIBLIOGRAFIA.....	19
1. SISTEMA GABAÉRGICO.....	19
2. SISTEMA SEROTONINÉRGICO.....	22
3. RELAÇÃO ENTRE OS SISTEMAS SEROTONINÉRGICOS E GABAÉRGICOS.	24
4. ANÁLOGOS DO GABA.....	26
5. MUSCIMOL.....	29
5.1 THIP.....	30
5.2 Isomuscimol.....	31
5.3 Dihidromuscimol.....	31
5.4 Homomuscimol.....	31
5.5 Tiomuscimol.....	31
6. RELAÇÃO ENTRE O SISTEMA SEROTONINÉRGICO E MUSCIMOL..	32
7. PLANEJAMENTO DE FÁRMACOS.....	32
8. MODELAGEM MOLECULAR.....	34
9. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	37
10. SUBSTANCIAS COM PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES	39
OBJETIVOS.....	42
METODOLOGIA.....	42
11. FARMACÓFORO	42
12. CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO MUSCIMOL COMPARADO COM O GABA.....	43
13. PLANEJAMENTO DE DERIVADOS DO MUSCIMOL.....	43
14. PRÓ-FÁRMACOS.....	45
15. MODELAGEM MOLECULAR.....	45
16. ENERGIA DOS ORBITAIS MOLECULARES DE FRONTEIRA.....	46
17. CÁLCULO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO MUSCIMOL....	47
18. SÍNTESE DE DERIVADOS DO MUSCIMOL.....	48
19. IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DOS DERIVADOS DO MUSCIMOL	49
RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	51
20. TAUTOMERISMO.....	51
21. DERIVADOS ANÁLOGOS DO MUSCIMOL	52

22.	SELEÇÃO DE DERIVADOS	54
23.	PLANEJAMENTO E SÍNTESE.....	55
24.	FARMACÓFORO	56
25.	SÍNTESE.....	58
26.	AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS DERIVADOS DO MUSCIMOL EM COMPARAÇÃO AO GABA	59
27.	CAPACIDADE ANTIOXIDANTE.....	63
	CONCLUSÃO.....	65
	PERSPECTIVAS	67
	SÍNTESE DE PRÓ-FÁRMACOS.....	67
	REFERENCIAS.....	69

INTRODUÇÃO

GABA_A é um receptor presente no sistema nervoso central de mamíferos o qual media a neurotransmissão (JOHNSTON, 2005), é o principal aminoácido inibitório no sistema nervoso central (SNC) é o ácido γ - aminobutírico (GABA), podendo abrir os canais K⁺ ou os de Cl⁻ para efluxo ou influxo dos mesmos no SNC dos mamíferos (FORMAN *et al*, 2009). Ainda segundo o autor, pelo fato dos receptores de GABA_A estarem presentes nos mamíferos, estes influenciam em muitas funções neurais, possibilitando a interação com fármacos reguladores de receptores GABA, os quais atuam no tratamento de doenças como ansiedade, auxiliam na melhora da qualidade do sono, memória, atenção e tônus muscular.

O GABA_A pode ser ativado na presença do GABA (1) ou na presença de análogos do GABA, como, por exemplo, o muscimol (2) e um de seus derivados, Gaboxadol, também conhecido como THIP (3) (MACDONALD, OLSEN, 1994), como mostra a Figura 1.



Figura 1: Estrutura química do GABA, muscimol e THIP. Fonte: Autor.

O ácido gama-aminobutírico (GABA) é um aminoácido produzido pela descarboxilação do ácido L-glutâmico que catalisada pela enzima glutamato descarboxilase. É um neurotransmissor inibitório no sistema simpático sistema nervoso e é amplamente distribuído na natureza, fornecendo muitos efeitos benéficos para saúde, como diminuição da pressão arterial, controle do estresse, efeito diurético, efeito tranquilizante, tendo um efeito sobre a ansiedade e depressão (TIANSAWANG *et al*, 2016).

Além do GABA, outra substância que pode se ligar com o receptor GABA_A é conhecido como muscimol, o qual é uma substancia extraída do cogumelo *Amanita muscaria*, representada na figura 1 (HEISS *et al*, 2018). Ainda segundo o autor, esta substância é similar estruturalmente ao GABA, possibilitando o muscimol de se ligar ao receptor, possuindo maior interação com o receptor, se comparado ao GABA.

A serotonina, também conhecida como 5-HT, é um neurotransmissor excitatório derivado do triptofano, sendo sintetizada no cérebro dos mamíferos e em outros tecidos como no fígado. Ela é encontrada em frutos como abacate, banana, berinjela, maracujá, tomate, abacaxi, e em animais como o veneno de vespas e escorpiões (WINTER, 2007). Ainda segundo o autor, quando seus níveis estão baixos há alterações no comportamento. A serotonina passa por um processo de desaminação oxidativa por peróxido de hidrogênio que é produzido pela enzima monoamina oxidase, MAO (RIDD, CHEN, SHIH, 1999).

Alguns antidepressivos se utilizam da inibição da MAO para tratar a ansiedade e depressão, outros trabalham com a recaptção da serotonina antes de serem oxidadas pela MAO, no entanto, mesmo eficazes, possuem altos efeitos colaterais (PESARICO, 2014). Uma das alternativas é a utilização de fármacos que atuem no sistema GABAérgico, já que o GABA atua no relaxamento, podendo melhorar os sintomas de depressão, além de aumentar os níveis de serotonina através de um processo de atividade antioxidante, podendo aumentar sua quantidade no corpo. A atividade antioxidante é importante por sequestrar os radicais livres, MAO, que atuam na degradação da serotonina, onde esta via pode ser menos danosa para o indivíduo já que é um processo natural do corpo e há melhoria da qualidade de vida, prevenindo ou adiando doenças (GOLDBERG, BELL JR, POLLARD, 2014; OLIVEIRA, 2015).

Há evidências de que o GABA e o muscimol tenham influência sobre a modulação de via da serotonina, onde se houver aumento da concentração de GABA ou injeção de muscimol ocorre o aumento na concentração de serotonina nas regiões cerebrais e a diminuição de seu produto após a oxidação (BERSIN *et al*, 1970; FORCHETTI, MEEK, 1981).

Por esta razão, este trabalho propõe outra rota para a recaptção de serotonina através do planejamento de derivados do muscimol que se liguem ao receptor GABA_A com capacidade antioxidante capaz de sequestrar os radicais livres que atuam na oxidação da serotonina, sendo mais potentes que o GABA. Para aumentar a disponibilidade das substâncias no corpo, desenvolveu-se os derivados na ideia de um pró-fármaco, dessa forma sendo metabolizada no corpo, aumentando sua distribuição, onde o derivado 1, chamado de S1, é adicionado um grupo carbonil e o grupo -CH₂CH₂OH, para aumentar sua interação intermolecular do tipo ligação de hidrogênio, dessa forma aumentando sua lipossolubilidade, permitindo-o ser biotransformado no

organismo, possibilitando que a parte da estrutura responsável pela interação com o GABA_A chegue a ser ligado no receptor. Para o derivado 2, chamado de S2, o anel proposto é equivalente ao do derivado S1, adicionando o grupo carbonil, grupo -CH₂CH₂OH, além de haver a troca de um oxigênio do anel por um nitrogênio, já que estes dois elementos possuem semelhanças eletrônicas por conta do par de elétrons desemparelhados presentes nestes (Figura 2).

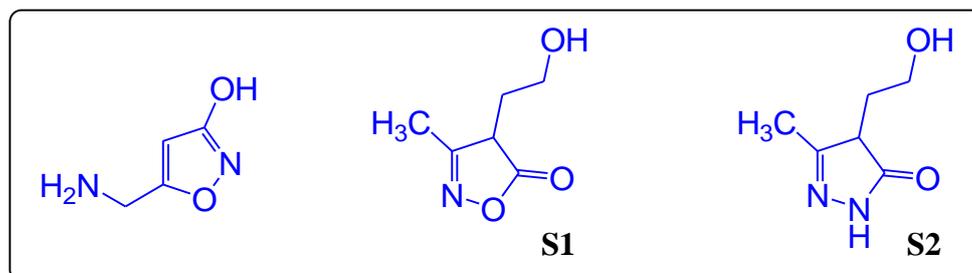


Figura 2: Estrutura química do Muscimol e seus derivados regioisômeros. Fonte: Autor

REVISÃO DA BIBLIOGRAFIA

1. SISTEMA GABAÉRGICO

O GABA, com o nome oficial segundo a IUPAC de ácido 4-hidroxi-aminobutanóico (também é conhecido por ácido γ -aminobutírico) de fórmula molecular igual a $C_4H_9NO_2$, é conhecido por possuir um grupo amina na extremidade da cadeia, atua como principal neurotransmissor inibitório no sistema nervoso central dos mamíferos. O GABA é sintetizado e mediada pela descarboxilação do ácido glutâmico, GAD, (Figura 3) nas terminações nervosas GABAérgicas, dessa forma a quantidade de GABA presente no tecido cerebral correlaciona-se com a quantidade de GAD funcional. GAD necessita de fosfato de piridoxal (vitamina B6) como co-fator (FORMAN *et al*, 2009; GAJCY, LOCHYNSKI, LIBROWSKI, 2010).

O GABA é acondicionado em vesículas pré-sinápticas por um transportador (VGAT), quando necessário, ocorre a liberação de GABA na fenda sináptica por fusão das vesículas contendo GABA com a membrana pré-sináptica. O término da ação do GABA na fenda sináptica depende de sua remoção do espaço extracelular, onde o ácido é captado pelos neurônios e pela glia através e transportadores de GABA, chamados de GAT, específicos. No interior das células a enzima GABA – transaminase (GABA-T) catalisa a conversão de GABA em semi-aldeído succínio (SSA), que é oxidado a ácido succínio pela SSA desidrogenase, entrando em seguida no ciclo de Krebs, onde é transformado em α -cetoglutarato (FORMAN *et al*, 2009). O GABA_A regula a excitabilidade neural sobre a ligação de específicas membranas de proteínas, abrindo o canal iônico, entrando íon cloro hiperpolarizando a célula, como consequência, transmite os impulsos nervosos para outras células (GAJCY, LOCHYNSKI, LIBROWSKI, 2010).

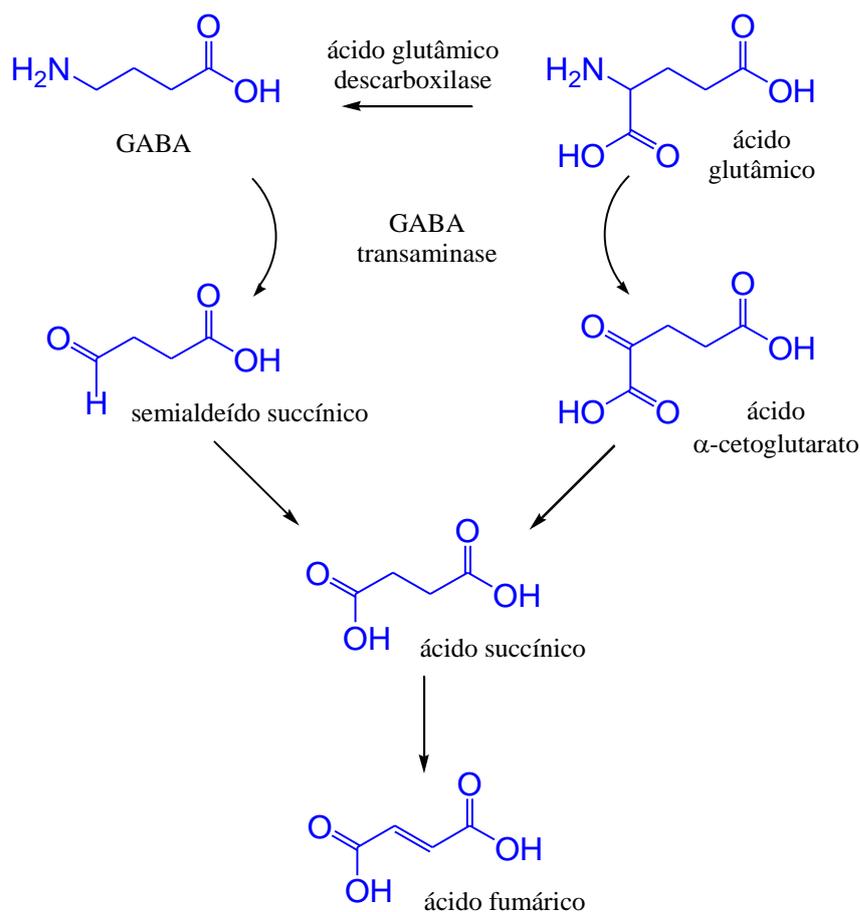


Figura 3: Formação do GABA no ciclo de Krebs. Fonte: Autor

Os efeitos neurofisiológicos do GABA são feitos através de sua ligação com os receptores do mesmo, os quais são divididos em receptores ionotrópicos e metabotrópicos. Os receptores metabotrópicos ($GABA_B$) são receptores heterodiméricos acoplados à proteína G que afeta as correntes iônicas neuronais através de segundos mensageiros, já os receptores ionotrópicos ($GABA_A$ e $GABA_C$) consistem em proteínas de membrana de múltiplas subunidades que se ligam ao GABA e abrem o canal iônico de cloreto (GAJCY, LOCHYNSKI, LIBROWSKI, 2010).

Receptores ionotrópicos são canais para íons ativados por ligantes, onde as transmembranas dos canais iônicos se abrem, permitindo a passagem de íons através da membrana em resposta à acoplação de um mensageiro químico (ligante) com um neurotransmissor (OLIVEIRA, 2015). Ainda segundo a autora, os receptores metabotrópicos que não são canais iônicos, a ligação do neurotransmissor ativa uma via de sinalização, que pode, indiretamente, abrir ou fechar os canais.

Uma classe de receptor ionotrópico é o $GABA_A$ (Figura 4), em especial, é o receptor mais abundante do SNC, membros da supefamília de canais iônicos regulados

na neurotransmissores rápidos, incluindo receptores nicotínicos periféricos e neuronais de acetilcolina (nAChR), os receptores de serotonina tipo 3A/B (5-HT_{3A/B}) e os receptores de glicina (FORMAN *et al*, 2009).

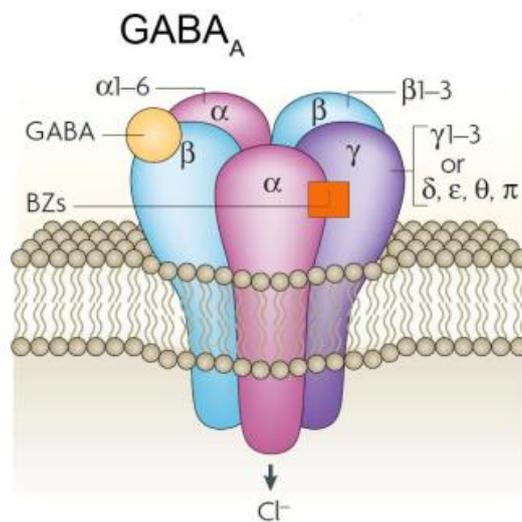


Figura 4: Estrutura do receptor GABA_A. Fonte: JACOB, MOSS, JURD, 2008.

O GABA_B (Figura 5) é um receptor metabotrópico que, ao ser ativado, desencadeia reações intercelulares que ativam os canais iônicos, sendo ligado a uma proteína G (JACOB, MOSS, JURD, 2008). Os receptores GABA_B são heterodímeros compostos por duas subunidades GABA_{B1} e GABA_{B2}, antigamente chamado de GABA_{B1a} e GABA_{B1b}, mostrando uma sequência homóloga com os receptores metabotrópicos do glutamato (GAJCY, LOCHNSKI, LIBROWSKI, 2010).

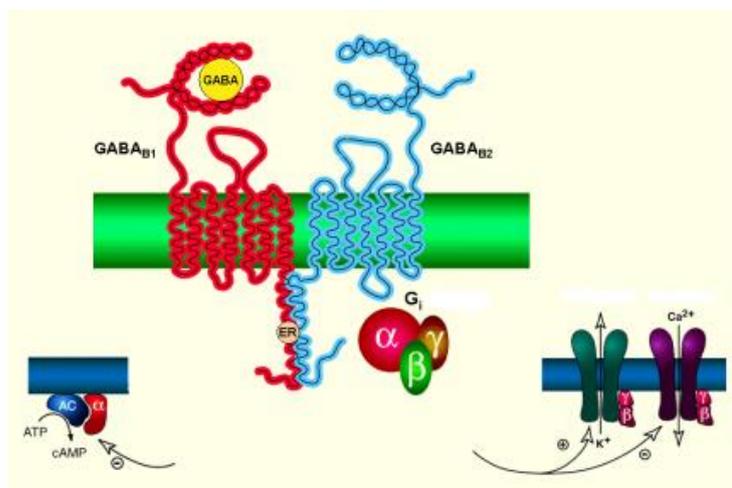


Figura 5: Estrutura do receptor GABA_B. Fonte: JACOB, MOSS, JURD, 2008.

O GABA_C (Figura 6) é um receptor ionotrópico, ou seja, canal iônico controlado por ligantes, que é formado por 3 subunidades, formando um eixo sináptico (JACOB, MOSS, JURD, 2008).

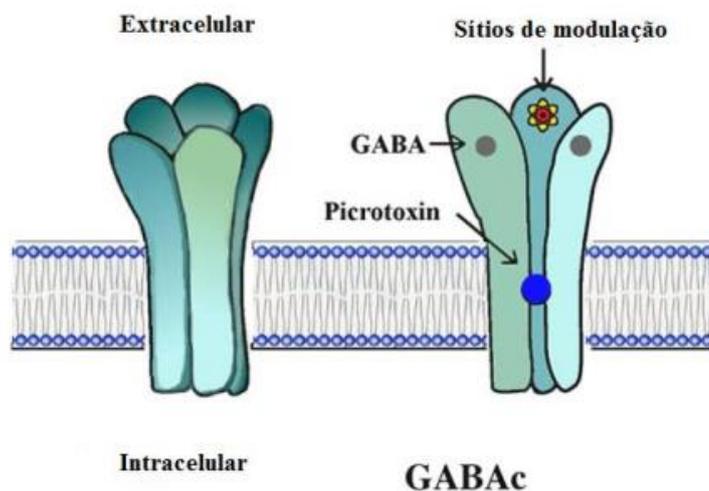


Figura 6: Estrutura do receptor GABA_C. Fonte: JACOB, MOSS, JURD, 2008.

O GABA_A pode ser ativado pelo GABA ou por agonistas, como o muscimol, o qual ativa os receptores GABA_A através de sua ligação direta ao sítio de ligação do GABA, já que possui em sua estrutura os grupos amina e hidroxila em um arranjo espacial quase idêntico ao do GABA, permitindo o reconhecimento do muscimol no local de ligação GABA_A (PUSCHER, 2018).

2. SISTEMA SEROTONINÉRGICO

A serotonina, também conhecida como 5-HT, possui nome oficial pela IUPAC de 5-hidroxitriptamina, com fórmula molecular igual a C₁₀H₁₂N₂O, é um dos principais neurotransmissores do núcleo quiasmático hipotálamo-periférico, sendo classificado como uma indolamina resultado da hidroxilação e carbonilação do aminoácido triptofano, o qual desempenha funções importantes no sistema nervoso, tais como: liberação de alguns hormônios, regulação do sono, apetite, humor, atividade motora e funções cognitivas (FEIJÓ, BRTOLUCI, REIS, 2011). Ainda segundo os autores, este neurotransmissor é produzido nos núcleos da rafe e é levada para todo o cérebro, o qual conduz a transmissão de uma célula nervosa para outro, sendo excretada por neurônios serotoninérgicos e age em receptores de neurônios pós-sinápticos.

A serotonina é sintetizada a partir do aminoácido triptofano, o qual contribui para o crescimento normal e síntese proteica, além de regular importantes mecanismos

fisiológicos, sendo o precursor da serotonina, vitamina B3, além de estimular o funcionamento do sistema GABAérgico (ROSSI, TIRAPEGUI, 2004).

A serotonina possui 15 subtipos de receptores distribuídos em 7 classes, onde o 5-HT₃ é um canal iônico controlado por ligantes e os outros são receptores acoplados à proteína G (RANG; DALE, 2007). O 5-HT₁ é um receptor de serotonina possuindo maior afinidade para serotonina específica para antagonistas, 5-HT_{1A} é um receptor pré-sináptico, o qual está presente no córtex e hipocampo e que possui efeito ansiolítico. O 5-HT_{1B} é um receptor pré-sináptico que atua na liberação e síntese de 5-HT, o 5-HT_{1C} é um receptor pós-sináptico onde há ação de alguns antipsicóticos atípicos, tendo efeito na ansiogênese. O 5-HT_{1D} é um receptor pré-sináptico, atuando na liberação e síntese de 5-HT, 5-HT_{1E} é um receptor pós-sináptico de transição entre o 5-HT₁ e 5-HT₂ (GONÇALVES, 2017).

O 5-HT₂ é um receptor pós-sináptico presente no córtex, plaquetas, músculo liso, com baixa afinidade para agonistas 5-HT inespecíficos e alta afinidade para antagonistas antipsicóticos, o 5-HT₃ é um receptor pós-sináptico presente no músculo liso, o qual atua através do mecanismo de canal iônico, intervindo no mecanismo de náusea e sensopercepção e o 5-HT₄ é um receptor pós-sináptico presente no músculo liso não vascular, atuando através do mecanismo da proteína G (GONÇALVES, 2017; RANG; DALE, 2007).

O 5-HT₆ está presente apenas no SNC, no hipocampo, córtex e sistema límbico, o qual é um possível alvo para fármacos que tratam sintomas de esquizofrenia e podem melhorar a cognição (RANG; DALE, 2007). Ainda segundo os autores, o 5-HT₇, encontrado no hipocampo, córtex, tálamo, hipotálamo, vasos sanguíneos e regulação endócrina, tem uma possível relação com as alterações de humor, sono e função cognitiva.

O triptofano é captado pelos neurônios por um transportador na membrana plasmática e hidroxilado em uma reação catalisada pela enzima triptofano 5 – hidroxilase (TPH), depois, é carregada para as vesículas sinápticas pelo TVMA e transportado pelo transportador específico de serotonina, como mostra a Figura 7 (TSER) (PURVES *et al*, 2005; BRUNTON, L.; CHABNER, B.; KNOLLMAN, 2010).

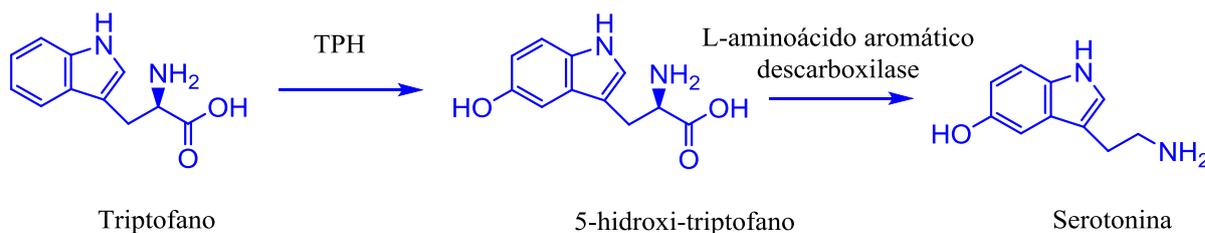


Figura 7: Formação da serotonina. Fonte: Autor

A principal via de metabolismo da serotonina é a desaminação oxidativa, catalisada pela monoamina oxidase, MAO, formando o ácido 5 – hidroxiindolacético, sendo excretado pela urina, como mostra a Figura 8 (BRUNTON, L.; CHABNER, B.; KNOLLMAN, 2010).

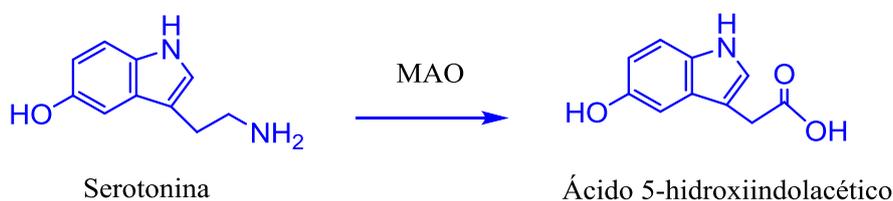


Figura 8: Oxidação da serotonina. Fonte: Autor

Sua oxidação ocorre através da enzima mitocondrial presente em quase todos os tecidos, a monoamina oxidase (MAO), a qual possui dois tipos: MAO do tipo A e MAO do tipo B. MAO-A pode possuir maior afinidade pelos substratos 5-HT e MAO-B possui preferência para a feniletilamina (PESARICO, 2014), onde pode-se afirmar através de estudos que a enzima MAO-A apresenta envolvimento em condições psiquiátricas e depressão, enquanto que a MAO-B apresenta envolvimento em doenças neurodegenerativas (HERRAIZ, GUILLÉN, 2018). A MAO age liberando radicais livres, principalmente o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o qual age oxidando a serotonina. Quando há menor atividade da MAO há maior concentração de serotonina no SNC (MORENO, MORENO, SOARES, 1999).

3. RELAÇÃO ENTRE OS SISTEMAS SEROTONINÉRGICOS E GABAÉRGICOS.

Desde a década de 80, estudos sugerem a hipótese de que o GABA pode atuar como transmissor inibitório no núcleo da rafe do mesencéfalo, onde quando há deficiência de GABA podem contribuir na depressão é uma hipótese proposta a um

tempo, onde tem-se feito uma relação com ele e a liberação das monoaminas nos modelos animais; a espectroscopia de ressonância magnética produz imagens cerebrais, principalmente do osso occipital frontal (osso da nuca) e córtex cingulado anterior (CCA=parte frontal cingulado) dão suporte para esta relação, onde com o aumento da concentração de GABA podem diminuir a depressão; em pesquisas com modelos animais notou-se que com a utilização de inibidores da MAO, como fenelzina, há aumento da concentração de GABA (GOLDBERG, BELL JR, POLLARD, 2014).

Estudos mostram a ação da MAO, a qual se liga, geralmente a substratos lipofílicos (como grupos aromáticos, por exemplo), aminas alifáticas de cadeia linear; além de haver catalisação da desaminação do GABA pelo GABA-T, a MAO pode catalisar a desaminação do mesmo, já que é uma molécula lipofílica, além de catalisar a desaminação de monoaminas, onde há fortes indícios desse fato, já que pode explicar o porquê dos medicamentos IMAO podem ser mais eficazes no tratamento de ansiedade e depressão, em comparação aos outros tratamentos, como os antidepressivos tricíclicos (GOLDBERG, BELL JR, POLLARD, 2014).

No estudo feito por Forchetti e Meek, mostra que as evidências farmacológicas que apoiam essa hipótese dizem que ao colocar-se antagonistas do GABA, aumenta-se a renovação de serotonina e/ou mantem-se o nível de 5-HIAA constante no hipocampo dos ratos, e se colocar-se agonistas do GABA, a concentração do 5-HIAA diminui (FORCHETTI, MEEK, 1981).

Ainda neste estudo de Forchetti e Meek (1981), ao adicionar-se benzodiazepínicos (principal classe de medicamentos que tratam a ansiedade), notou-se que houve uma ação inibitória do GABA aumentando as concentrações de 5-HT, sendo explicada pelo fato dos benzodiazepínicos aumentam a potência do GABA na sua ligação com o seu receptor, aumentando a quantidade de serotonina. Ainda neste estudo, ao adicionar-se o muscimol no núcleo da rafe, percebeu-se que houve diminuição na concentração nos níveis de 5-HIAA.

Esta relação do GABA com a serotonina pode ser explicada pelo fato de que há altos níveis de glutamato descarboxilase no núcleo da rafe, assegurando a evidência de que o GABA atua no controle dos neurônios da serotonina (FORCHETTI, MEEK, 1981).

Ainda segundo os autores descritos acima, uma das formas da MAO desaminar o GABA é o fato de que, em modelos *in vivo*, o ponto isoelétrico (PI) do GABA é

próximo do pH do líquido espinhal cerebral humana (LCR), onde, se ocorrer, as espécies lipofílicas não carregadas podem ser um substrato adequado para a ação da MAO. Há evidências de que o GABA modula atividades de vários neurotransmissores, dentre eles a serotonina, quanto maior for a afinidade do GABA com o seu receptor GABAA, melhor a atividade da serotonina no cérebro (MACHADO-VILIO *et al*, 2005).

4. ANÁLOGOS DO GABA

Por conta do efeito sobre ansiedade e depressão, estudos foram feitos para síntese de análogos de GABA encontrados na literatura: baclofeno, pregabalina, gabapentina, vigabatrin, fenibut e gama-hidroxiбутirato (GHB) (RODRÍGUEZ-LOZADA *et al*, 2018).

4.1 Baclofeno

O baclofeno (Figura 9, estrutura 4), ácido 4-amino-3-(4-clorofenil)butanoico (D'ÓCA, *et al*, 2015), é um análogo p-clorofenol do GABA, agonista com atividade específica no GABA_A, tendo uma meia vida de 2 a 6 horas, possuindo um efeito inibitório no cérebro e na medula espinhal, resultando em relaxamento muscular. É utilizado em pacientes com convulsões, paralisia cerebral e esclerose múltipla (HEARD, *et al*, 2011).

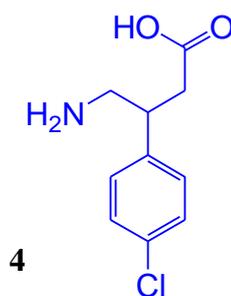


Figura 9: Estrutura química do baclofeno. Fonte: Autor.

O grupo clorofenil dá lipossolubilidade contribuindo na atuação de inibição das vias aferentes polissinápticas dos receptores GABA_B acoplados aos canais de cálcio e potássio a nível pré-sináptico, hiperpolarizando a membrana bloqueando o influxo de cálcio, reduzindo a liberação de neurotransmissão nas vias espinhais excitatórias, e pós sináptico, se ligando às terminações aferentes aumentando a passagem de potássio,

hiperpolarizando as membranas, promovendo a inibição sináptica (VEIROS, MARTINS, MARTINS, 2006).

4.2 Pregabalina

A pregabalina (Figura 10, estrutura 5) é um análogo lipofílico de GABA, utilizado no tratamento de epilepsia, convulsões, neuropática por ser anticonvulsivo, não sendo ainda conhecido seu mecanismo de ação, assim como o baclofeno (D'OCA, *et al*, 2015). É formado por uma molécula de GABA com o isobuteno, (FLYNN, BABI, 2017). Ela é conhecida por seu nome ácido (S)-3-(aminometil)-5-metilhexanóico, foi desenvolvido em 2004 e aprovado para tratamento de fibriologia pela Food and Drug administration em 2007 (JARVIS, 2017).

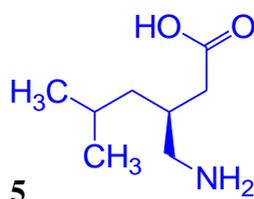


Figura 10: Estrutura química do pregabalina. Fonte: Autor.

4.3 Gabapentina

Gabapentina (Figura 11, estrutura 6) é um composto análogo estrutural ao GABA utilizado no tratamento de convulsões parciais e epilepsia (JOHANNESSEN, 2004). Seu mecanismo de ação é desconhecido, mas há a possibilidade de estar relacionado a eventos de modulação através da inserção com a proteína transportadora de aminoácidos do sistema L, além de aumentar as concentrações de GABA por entrar na barreira hematoencefálica, ao contrário do GABA (RAMSON, RICHERSON, 2009; JOHANNESSEN, 2004).

Conhecido como 2-[1-(aminometil)ciclopentil] ácido acético, se liga as subunidades de canais de cálcio e, dependendo da voltagem regula algumas fases de neurotransmissões excitatórias (JARVIS, DAVIS, 2017).

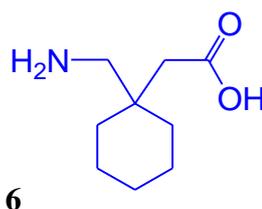


Figura 11: Estrutura química do gabapentina. Fonte: Autor.

4.4 Vigabatrina

A vigabatrina (Figura 12, estrutura 7) é uma droga antiepilética que trabalha indiretamente nos transportadores de GABA, (JOHANNESSEN, 2004). É um inibidor irreversível da maior degradação enzimática para GABA, GABA transaminase, aumentando a concentração de GABA no cérebro, aumentando a atividade inibitória mediada por GABA, favorecendo seus efeitos antiepiléticos no paciente (FLYNN, BABI, 2017).

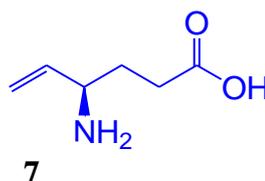


Figura 12: Estrutura química do vigabatrina. Fonte: Autor.

4.5 Fenibut

Fenibut, ácido β-fenil-γ-aminobutírico, ácido 4-amino-3-fenilbutarico-cloridrato ou β-fenil-GABA (Figura 13, estrutura 8) é um agonista do GABA desenvolvido na União Soviética em 1960 e é utilizado como um ansiolítico, reduzindo os níveis de estresse e ansiedade (LAPIM, 2001; SAMOKHVALOV *et al*, 2013). O grupo fenil permite-o passar através da barreira hematoencefálica de maneira mais eficaz em comparação ao GABA, atuando no GABA_A e em algumas subunidades deste receptor (SAMOKHVALOV *et al*, 2013). Ainda segundo os autores, esse análogo é utilizado para aliviar tensões, ansiedade e medo, melhora o sono, fadiga, alcoolismo, batimentos cardíacos irregulares, depressão e transtorno de estresse pós-traumático, além de melhorar a memória e o aprendizado.

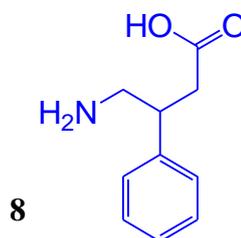
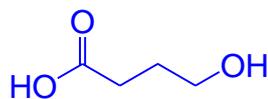


Figura 13: Estrutura química do fenibut. Fonte: Autor.

4.6 Gama-hidroxiбутирато

Gama-hidroxiбутирато, também conhecido como GHB, ácido 4-hidroxiбутанóico, ácido γ-hidroxiбутírico (Figura 14, estrutura 9) (GARCÍA, PEDRAZA, NAVARRO, 2006), é um neuropeptídeo inibitório do sistema nervoso central (SNC) utilizado no

tratamento de fribriologia, insônia, melhora o sono e dor muscular (ALOÉ, AZEVEDO, HASAN, 2005).



9

Figura 14: Estrutura química do gama-hidroxitirato. Fonte: Autor.

O GHB aumenta a transmissão GABAérgica inibindo a transmissão dopaminérgica. Em pessoas normais causa aumento de sono devido a sua afinidade com os receptores GABA_A e GABA_B (ALOÉ, AZEVEDO, HASAN, 2005).

5. MUSCIMOL

O Muscimol, do latim *Morseimolyres psychodemadyos*, é um composto izoxazol psicoativo extraído de cogumelos do gênero *Amanita muscaria* (Figura 15) tem sido estudado como inibidor GABA por possuir efeitos comportamentais, já que sua fórmula estrutural se assemelha aos neurotransmissores dos mamíferos GABA e o ácido glutâmico (GUIDO, ANDREICOPULO, OLIVA, 2010).



Figura 15: *Amanita muscaria*. Fonte: <https://www.wisegeek.com/what-is-muscimol.htm>

Este composto pode ser resultado (estrutura 10), de forma natural, pela descarboxilação ou secagem do ácido ibotênico (estrutura 11), outro composto presente no fungo (MICHELOT, MELENDEZ-HO WELL, 2003), como mostra a Figura 16.

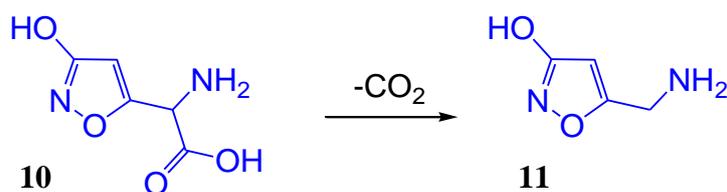


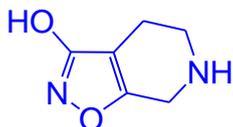
Figura 16: Descarboxilação do ácido ibotênico. Fonte: Autor

O muscimol compete com o GABA na ligação com o receptor GABA_A, não sendo degradado pelas transaminases do mesmo (HEISS *et al.*, 2018). Segundo o autor, por sua alta seletividade e potente propriedade de inibir atividade neural possui capacidade de atuar como fármaco, já que possui maior afinidade com o receptor GABA_A que o GABA.

Na literatura são conhecidos os derivados do muscimol: Gaboxadol (THIP), isomuscimol, dihidromuscimol, homomuscimol e tiomuscimol.

5.1 THIP

THIP ou Gaboxadol (Figura 17, estrutura 12), como nome oficial pela IUPAC 4, 5, 6, 7 – tetra-hidroisoxazol (5,4 – c) – pentadi – 3- ol, é um derivado do muscimol sintetizado pela primeira vez pelo químico dinamarquês Povl Krogsgaard-Larsen em 1977, o qual possui alta afinidade com o GABA_A que o muscimol (WAFFORD, EBERT, 2006). Ainda segundo os autores, este composto foi inicialmente desenvolvido para o tratamento de epilepsia, doença de Huntington, esquizofrenia, dor aguda e ansiedade, onde em estudos clínicos realizados nos anos 80 com doses orais de 60 mg e duas vezes ao dia houveram efeitos colaterais como tonturas, vômitos, sonolência, no entanto houve melhora significativa nessas doenças, já que o seu efeito como agonista no GABA_A no sistema nervoso central foi eficaz, agindo com grande potência.



12

Figura 17: Estrutura química do THIP. Fonte: Autor

Além do THIP também há derivados descritos na literatura: isomuscimol, dihidromuscimol, homomuscimol e tiomuscimol (KROGSGAARD-LORSEN *et al.*, 1979).

5.2 Isomuscimol

O isomuscimol, 3-aminometil-5-isoxazolol-monohidratado, sintetizado como parte de uma investigação de estrutura-atividade de compostos estruturalmente semelhantes ao GABA e ao muscimol (HONORÉ, BREHM, 1978). Ainda segundo o

autor, este composto não inibiu o metabolismo das enzimas GAD e GABA-T e o sistema de absorção dos receptores de GABA, como mostra a Figura 18 (estrutura 13).

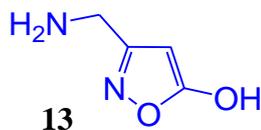


Figura 18: Estrutura química do isomuscimol. Fonte: Autor

5.3 Dihidromuscimol

O dihidromuscimol (Figura 19, estrutura 14), (R,S)-4,5-dihidromuscimol, também conhecido como DSH, como mostra a imagem abaixo, é mais potente que o GABA e equipotente ao muscimol como agonista do receptor GABAA (KROGSGAARD-LORSEN *et al*, 1979).

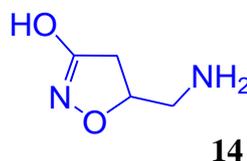


Figura 19: Estrutura química do dihidromuscimol. Fonte: Autor

5.4 Homomuscimol

O homomuscimol, 3-hidroxi-5(2-aminoetil) isoxazol (Figura 20, estrutura 15) abaixo, é uma estrutura análoga ao muscimol e ao ácido valérico com atividade psicológica similar ao GABA (BHREM, KROGSGAARD-LARSEN, HJEDS, 1974).

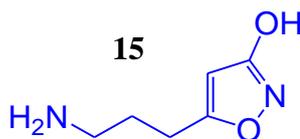


Figura 20: Estrutura química do homomuscimol. Fonte: Autor

5.5 Tiomuscimol

O tiomuscimol, 5-aminometil-3-isotiazolol, é um análogo do muscimol mais potente que o GABA e equipotente ao muscimol como agonista no receptor de GABA_A (NIELSEN, *et al*, 1995). Ainda segundo os autores, é um análogo potente e que apresenta características físico-químicas diferentes do muscimol devido, em grande parte, a substituição do oxigênio do anel isoxazol, pelo enxofre, como mostra a (Figura 21, estrutura 16).

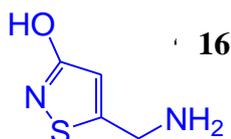


Figura 21: Estrutura química do tiomuscimol. Fonte: Autor

Por conta do muscimol e seus derivados possuem interação maior que o GABA, este trabalho tem o objetivo de sintetizar um análogo do muscimol para aumentar a interação com o GABA_A.

6. RELAÇÃO ENTRE O SISTEMA SEROTONINÉRGICO E MUSCIMOL

Da mesma forma em que há uma relação entre o GABA e serotonina, também há descrição de uma relação entre a serotonina e o muscimol, já que o muscimol possui semelhança estrutural com o GABA, além de se ligar ao receptor GABA_A (HEISS *et al*, 2018).

Em estudos *in vivo* realizados por Bersin *et al* (1970), ao se injetar muscimol, houve aumento da concentração de serotonina e diminuição dos níveis de 5-HIAA nas regiões cerebrais, o que indica que o muscimol está relacionado com o metabolismo da serotonina. Desta forma, derivados do muscimol podem ter efeito modulatório na via serotoninérgica através da ligação dele com o receptor GABA_A.

7. PLANEJAMENTO DE FÁRMACOS

7.1. Estratégias e Aplicações

O planejamento e desenvolvimento de novos fármacos é uma área da química medicinal, compreendendo trabalhos de inovação, descoberta de novos fármacos, síntese e modificação molecular, extração, isolamento e identificação de moléculas bioativas, relacionado sua estrutura química com a atividade biológica (CERA, PANCOTE, 2003). Com o avanço da compreensão química, biológica e vias bioquímicas, alvos moleculares e mecanismos de reação levam ao desenvolvimento de fármacos para o tratamento de doenças, através do desenvolvimento e inovação tecnológica (GUIDO, ANDRICOPULO, OLIVA, 2010).

Para o planejamento e desenvolvimento de fármacos, é necessária uma pesquisa básica, onde há a identificação e otimização de moléculas com potencial biológico, além do desenvolvimento dos mesmos. Estas moléculas bioativas, também chamadas de ligantes, são identificadas através de triagens reais, como vias biológicas e bioquímicas,

ou podem ser virtuais, como nos pacotes computacionais. Estes ligantes podem ser encontrados em produtos naturais, sintéticos, combinações ou planejamento racional, onde deve ser feita a otimização destas com o objetivo de obter-se a conformação molecular mais estável, ou seja, de baixa energia. Para aumentar a capacidade de atuação, minimizando a toxicidade e efeitos adversos, são feitas modificações moleculares, como simplificação molecular, modificação nas funções químicas e/ou modificação nos sistemas anelares homogêneos e heterogêneos (CERA, PANCOTE, 2003).

7.2. Bioisosterismo de anéis

São compostos bioisósteros ou subunidades de substâncias bioativas com características estruturais semelhantes, além de propriedades físicas e químicas semelhantes com a capacidade de apresentar propriedades biológicas análogas, podendo ser agonistas ou antagonistas (VITAL, 2013). É uma técnica que se baseia nos grupamentos isostéros, os quais são classificados como grupamentos que exibem semelhanças nas suas propriedades química e/ou físicas, como as interações intermoleculares, por exemplo, dessa forma há a interação com o receptor biológico, podendo ser descrito como a aplicação do conceito de isosterismo em moléculas com estruturas que apresentavam propriedades biológicas semelhantes (SOUZA, 2012). Ainda segundo o autor, o bioisosterismo pode ser classificado como um método de modificação molecular utilizado no planejamento de novas moléculas bioativas.

O bioisosterismo pode ser classificado como bioisosterismo clássico e não clássico. O bioisosterismo clássico seguem a regra de Grimm, onde há a adição de um átomo de hidrogênio com um par de elétrons (chamado de hidreto) a outro átomo confere a esta estrutura as propriedades físicas daqueles átomos presentes na coluna imediatamente posterior da tabela periódica (VITAL, 2013; SOUZA, 2012). Ainda segundo os autores, o bioisosterismo não clássico são os que não atendem às regras dos bioisósteros clássicos, porém com efeitos terapêuticos semelhantes. Dessa forma, o regioisomerismo, por exemplo é uma técnica não clássica, onde se houver análise deste com a molécula que lhe deu origem, pode-se notar um composto com configuração eletrônica apresenta pequenas ou grandes variações no arranjo estereoquímico que ocorrem, geralmente, através do aumento da distância entre os grupos funcionais, com mudanças nas propriedades de solubilidade, por exemplo, no entanto mantêm

similaridade com relação a reatividade química ao composto proposto, os quais podem ou não apresentar o mesmo número de átomos e as mesmas características estereoquímicas e eletrônicas dos isómeros clássicos, porém produzem atividades biológicas similares (FILHO, 2014).

8. MODELAGEM MOLECULAR

A modelagem molecular é caracterizada por apresentar uma série de técnicas utilizadas como ferramenta para o planejamento de compostos de bioativos, onde são feitos a partir de uma hipótese com relação ao mecanismo de ação desses compostos. Este tipo de modelo computacional permite a compreensão da interação da substância com seu receptor, a nível molecular (LEWARS, 2011; SANT'ANNA, 2009). Existem vários tipos de cálculos computacionais, onde possuem diferentes métodos, níveis de teoria e formas de serem implementados, os quais podem ser classificados em semi-empírico, *Ab initio* e DFT, também chamada de teoria do funcional da densidade (O'BOYLE, TENOLENHOLT, LANGNER, 2008).

O método *ab initio* inclui aproximações e possui um conjunto de base mínima, contendo um número de funções necessárias para acomodar todos os elétrons de um átomo. A desvantagem de se ter um conjunto de base mínima é de não poder expandir ou contrair os orbitais para se ajustarem ao ambiente molecular (SANT'ANNA, 2009). Em contrapartida, a vantagem é que possui maior flexibilidade na descrição dos elétrons é feita por conjuntos de base de valência dividida, onde os elétrons de valência representados por funções são divididos em dois componentes: um compacto e mais interno e um difuso mais externo. Cálculos com funções de número quântico, funções do tipo *p* para átomos de hidrogênio e tipo *d* para outros elementos são possíveis, permitindo pequenos deslocamentos do centro de carga eletrônica em relação a posições nucleares (SANT'ANNA, 2009). Ainda segundo o autor, os conjuntos de base contendo funções difusas representam sistemas aniônicos e excitados, os quais são obtidos a partir da adição de orbitais *s* e *p* muito difusos, melhorando a descrição de pares de elétrons com maior energia.

A mecânica molecular utiliza a ideia de que os átomos estão conectados, onde a energia está em função da distância da ligação. O método semi-empírico caracteriza-se por economizar o tempo de cálculo, utilizando-se de aproximações de um grande número de integrais da equação de Schrödinger (SANT'ANNA, 2009). Este método

resolve a equação de onda Schrödinger e adiciona-se hipóteses (THIEL, 2007). Dentre os métodos mais utilizados estão o AM1 e PM3 (SANT'ANNA, 2009). O AM1 inclui funções gaussianas esféricas nas integrais de repulsão, já o método PM3 realiza caracterização eletrônica e estrutural, apresenta resultados mais próximos aos obtidos experimentalmente por cálculos *ab initio*, com relação à estrutura das ligações de hidrogênio, além de prever a barreira de rotação de anéis, por exemplo (GALVÃO *et al.*, 1993). O PM3 utiliza bases *sp* sem os orbitais *d* em sua implementação original, dessa forma não podem ser aplicados a maioria dos metais de transição (THIEL, 2007).

O método teoria do funcional da densidade é uma ferramenta mais utilizada na química para soluções de problemas nos últimos 20 anos (BURKE, 2012), onde possui grandes vantagens com relação aos outros métodos, pois está relacionado ao ganho em velocidade computacional e espaço de memória (MORGAN, CUSTÓDIO, 1995). Por conta dos erros relacionados à natureza aproximada de energia de troca e correlação, muitos esquemas têm sido desenvolvidos para obterem-se formas aproximadas do funcional para esta energia. Ainda há estudos em busca de funcionais mais precisos, como por exemplo, o funcional LDA (local density approximation), GGA (generalized gradient approximation), B3LYP, PBE1, PBE, dentre outros (PEDROZA, 2016; ATKINS, FRIEDMAN, 2005).

Entre os funcionais citados o mais utilizado na literatura é o funcional híbrido B3LYP, o qual possui os funcionais GGA de troca e correlação e do método HF (Hartree – Fock), o qual é caracterizado por ser um método aproximativo para determinar a função de onda e a energia de um problema de corpos em estado estacionário (ORTOLAN, 2014). Desenvolvido por Beck, a sigla B e LYP por Lee, Yang e Parr, possui qualidade nos resultados em moléculas orgânicas, principalmente (SANT'ANNA, 2009), além de possuir três parâmetros empíricos que otimizam sua performance, indicado pelo número 3 (PEREIRA, 2008).

No método DFT são utilizados um conjunto de bases para representar a função onda, transformando as equações diferenciais parciais do modelo em equações algébricas adequadas para o cálculo eficiente feito pelo computador (TELLO, 2016). Também se utiliza as funções Gaussianas, contraídas para melhorara descrição dos orbitais atômicos externos (AZZOLINE, 2016). Ainda segundo o autor, a precisão dos cálculos da estrutura eletrônica está intimamente relacionada ao conjunto de funções de base para descrever os orbitais moleculares, onde quanto mais completo o conjunto d

funções base, melhor os resultados obtidos. Essa contração tende a elevar a energia orbital, já que reduz o número de coeficiente de expansão a serem otimizados, menor tempo gasto computacional (AZZOLINE, 2016).

Com relação ao conjunto de bases empregadas nos cálculos eletrônicos da estrutura eletrônica, existem a base mínima e estendida. As bases mínimas são conjunto de bases mais simples, conhecidos como single zeta (SZ), onde uma função de base para descrever em cada orbital atômico ocupado, sendo útil para análises qualitativas das estruturas eletrônicas moleculares, exigindo menor esforço computacional (POPLE, FRISCH, BINKLEY, 1984). Ainda segundo os autores, as bases estendidas são chamadas de dupla zeta (DZ), a qual permite que as distribuições eletrônicas em diferentes direções, onde contém duas funções para cada orbital de valência e para os orbitais internos, aumentando o número de funções, obtendo-se os conjuntos de base de valência com qualidade tripla zeta (TZ), quadrupla zeta (QZ), etc.

Para essas funções pode-se adicionar funções de polarização, para elevar a descrição orbitais moleculares levando em conta seus efeitos, o qual pode ser feito de três formas: adição da letra P ao conjunto de base de valência, separado com a qualidade zeta, pode ser feito com a adição entre parênteses e após a letra G, do número e tipo de função de polarização, onde há separação dos átomos pesados de hidrogênio por uma vírgula, como 6-31G, 6-311G, onde os números indicam a quantidade de funções primitivas para cada função, o termo antes do traço refere-se ao orbital interno e os posteriores aos orbitais de valência ou por adição de um asterístico após a letra G, onde o primeiro asterístico indica a função polarização para o átomo diferente de hidrogênio e o segundo, para adição de função “p” para o hidrogênio, como por exemplo 6-31*, onde é importante ressaltar que a notação 6-311G (d,p) é sinônima de 6-311G** (AZZOLINE, 2016). Nas funções, é comum colocar-se as letras d e p, onde “d” corresponde a funções polarizadas em átomos pesados e “p” corresponde a funções polarizadas de átomos de hidrogênio (MARINGOLO, 2014; TELLO, 2016).

Também pode-se adicionar funções difusas, onde confere a capacidade de descrever os orbitais por distancias maiores do núcleo, sendo utilizados para retratar ânions, estados excitados, átomos metálicos e propriedades moleculares dependentes da distribuição de carga em regiões afastadas do núcleo, podendo ser incluídas de três formas: adição do prefixo “aug” ao nome dos conjuntos de base, pode também adicionar a letra “A” em conjuntos de base de valência separados pela qualidade x-zeta com

polarização, ou pode se adicionar o sinal “+” antes da letra G, onde o primeiro indica a adição de funções difusas e se houver um segundo, para o hidrogênio (AZZOLINE, 2016).

Para o cálculo, se faz necessário de pacotes computacionais, onde os mais conhecidos são o Hyperchem e o pacote Gaussview. O Hyperchem é um ambiente de modelagem molecular simples e com flexibilidade, utilizado para desenho de moléculas, visualização em 3D e cálculos quânticos, mecânica e dinâmica molecular. Para o desenho das moléculas, se escolhe o elemento da tabela periódica e adiciona-se na estrutura molecular, podendo substituir os hidrogênios e é possível ver as ligações entre átomos e a estereoquímica da mesma (HYPERCHEM).

No Gaussview, a molécula é salva em um arquivo com extensão gif, chamado de *input*, onde contém todas as informações sobre o composto, futuros cálculos a serem realizados, já que pode ser aberto em um programa de editor de texto, como o bloco de notas por exemplo, colocando os parâmetros para o cálculo computacional, o qual é feito no programa Gaussian. O tempo de cálculo depende da molécula, método e bases das funções escolhidas. É neste programa que os cálculos de propriedades eletrônicas como o orbital molecular ocupado de maior energia (HOMO), orbital molecular desocupado de menor energia (LUMO), potencial de ionização (PI) são feitos e ao final do cálculo o programa salva as informações da molécula (FORESMAN, FRICH, 1996).

9. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Para aumentar-se a concentração de serotonina no cérebro, foram planejados fármacos que atuassem na recaptção da mesma, dentre os quais os de maior efeito farmacológico foram os de inibidores seletivos de recaptção da serotonina e os inibidores de monoamina oxidase, porém estas duas classes produzem efeitos colaterais elevados (PESARICO, 2014; MORENO, MORENO, SOARES, 1999), desta forma necessita-se outra via de atuação para aumentar a serotonina no cérebro produzindo menor efeito colateral possível. Neste sentido, levando-se em consideração que a serotonina é degradada por espécies reativas de oxigênio, substâncias com atividade antioxidante podem agir a fim de atingir este objetivo.

A oxidação consiste na transferência de elétrons entre moléculas com um agente oxidante, gerando fragmentos de moléculas que contém um ou mais elétrons desemparelhados, possuindo alta reatividade. Estes fragmentos são chamados de

radicais livres, os quais, geralmente, são espécies reativas de oxigênio (ROS) (MARTIM, 2008). Os radicais livres podem ser gerados no citoplasma, nas mitocôndrias ou por proteínas, enzimas, lipídeos, por exemplo (VASCONCELOS, *et al*, 2014). Quanto maior a concentração de radicais livres, maior o estresse oxidativo, maior dano celular (MARTIM, 2008).

Para evitar o estresse oxidativo é necessário substâncias que inativem os radicais livres e sua ação, pra isso há presença de mecanismos de defesa capazes de diminuir estes danos celulares, os quais são chamados de antioxidantes (VASCONCELOS, *et al*, 2014).

A atividade antioxidante é importante por estar presente nos sistemas biológicos, onde tem a capacidade de proteger o organismo dos danos produzidos pelos radicais livres, podendo prevenir, adiar e tratar doenças neurodegenerativas, cardiovasculares, por exemplo (OLIVEIRA, 2015). O sistema de defesa contra radicais livres é classificado em enzimático (contém proteínas e enzimas que detoxificam os radicais livres) e antioxidantes de baixo peso molecular ou ABPM (substâncias não enzimáticas que captam os radicais livres, prevenindo danos oxidativos), onde os ABPM mais conhecidos são vitamina C, carotenoides, por exemplo (HIDRATA, SATO, SANTOS, 2004). Além disso, espécies reativas do oxigênio podem ser facilmente destruídas por substâncias antioxidantes formando espécies estáveis, como por exemplo o peróxido de oxigênio (VIZZOTTO, 2017).

A atividade antioxidante possui relação com o grupo hidroxila (OH) pois podem eliminar os radicais livres que são produzidos nos seres vivos. Estudos experimentais apontam que as moléculas que possuem OH passa por um processo de substituição da hidroxila ou o hidrogênio da hidroxila, apenas, pelo grupo metila, dessa forma, pode-se dizer que está relacionada à capacidade da molécula de doar elétrons. A etapa de transferência do hidrogênio é importante, porém a atividade antioxidante não depende apenas da força de energia da ligação O - H, a estabilização das espécies cátion-radicalar formadas também devem ser consideradas (WRIGHT, JOHNSON, DILABIO, 2001; QUEIROZ *et al*, 2009).

Para essa reação pode-se fazer um cálculo teórico para definir a capacidade antioxidante das moléculas através da utilização de parâmetros termodinâmicos como a entalpia de formação, podendo utilizar os principais mecanismos em que ocorre a atividade antioxidante, sendo conhecidos como transferência de átomo de hidrogênio

(HAT) e transferência de elétron (SET), os quais são classificados como uma transformação química que se concentra em duas partículas elementares (próton e elétrons), já que possui aplicação em várias reações químicas, como combustão de hidrocarbonetos, além de destruir espécies oxidativas do oxigênio- ROS (CAPALDO, RAVELLI, 2017). O mecanismo HAT é caracterizado pelo fato de que o radical livre se liga a um hidrogênio da molécula com a capacidade antioxidante e o mecanismo SET é caracterizado pelo fato de que o radical livre recebe elétron, se estabilizando (McMILLEN; GOLDEN, 1982; QUEIROZ *et al*, 2009).

O mecanismo HAT é descrito através do mecanismo EDL ou BDE, o qual determina a influência do grupo hidroxila na estrutura molecular, no entanto não e pode determinar o grupo farmacóforo (grupo que produz a atividade molecular), sendo necessário utilizar outro método. Para descrever a capacidade antioxidante dos derivados do muscimol em comparação ao GABA e muscimol, utilizou-se o método DFT, já que descreve melhor a energia e propriedades da geometria, transferência de prótons e reações íon-molécula (QUEIROZ *et al*, 2009).

10. SUBSTANCIAS COM PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES

O fitoterápico kava-kava, cujo nome científico *Piper methysticum*, tem sido utilizado em estudos clínicos controlados, mostrando a eficácia no tratamento dos sintomas de ansiedade, porém possui restrições metodológicas que ocorrem em vários fitoterápicos (ANDREATINI, LACERDA, ZAZETTO, 2001). Este fitoterápico é formado por várias substâncias como taminos, ácido benzoico, ácido cinâmico, açúcares, barnil-cinamato, estigmasterol, flavocaínas, mucilagens, pironas, tetrahydroangoninas e alguns sais minerais, principalmente o potássio (BARBOSA, 2013). Para o autor, o α -pironas, também chamadas de cavalactonas ou cavapironas, são apontados como os responsáveis pela atividade farmacológica, como é mostrada na Figura 22 (estrutura 17). Seu efeito ansiolítico ocorre pela ação facilitadora da inibição GABAérgica, a qual inibe atividade excitatória glutamatérgica, inibidora da atividade dopaminérgica, redutora da concentração de serotonina ou bloqueadora nos canais de sódio-voltagem dependentes (ANDREATINI, LACERDA, ZAZETTO, 2001).

Além da kava-kava, outro fitoterápico é utilizado no estudo da depressão, o qual é conhecido como erva de São João, também conhecido como *Hypericum perforatum*, é uma erva de flores amarelas de origem luso asiática que floresce no dia 24 de junho,

sendo utilizada por gregos e romanos para afastar espíritos malignos (CHIOVATTO *et al.*, 2011). Mesmo sendo utilizada como fitoterápico, não há como explicar seu mecanismo de ação de forma efetiva, porém existe um consenso que a hipericina seria a substância mais importante para o tratamento da depressão, possuindo eficácia curativa equivalente a medicamentos sintéticos, porém seu uso indiscriminado pode causar efeito hepatotóxico (ARNCKEN, 2000). Ainda segundo o autor, sua interação molecular ocorre na interação da erva com o sistema nervoso central, porém ainda não elucidados. Sua estrutura está representada na Figura 22 (estrutura 18).

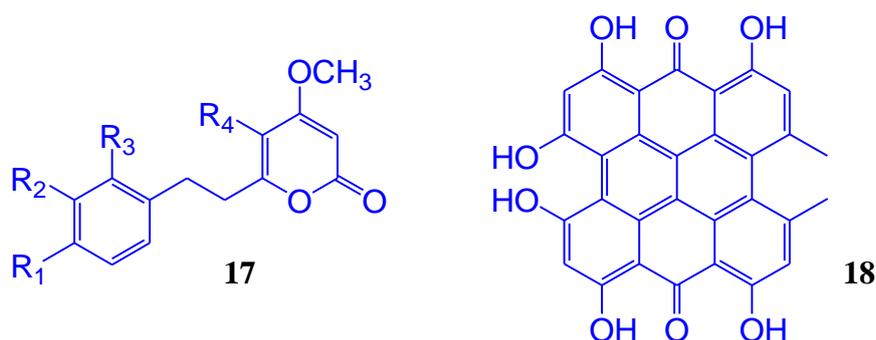


Figura 22: Estruturas químicas da cavactona e hipericina, respectivamente. Fonte: Autor

Existem 18 cavactonas foram isoladas e identificadas de estratos de kava-kava, onde seis deles são as mais promissoras: Kavaina (5a), 7,8-dihidro kavaina (5b), metisticina (5c), 7,8-dihidrometisticina (5d), desmetoxi-yangonina (5e) e yangonina (5f) (TANG *et al.*, 2011), sendo apresentadas na Figura 23.

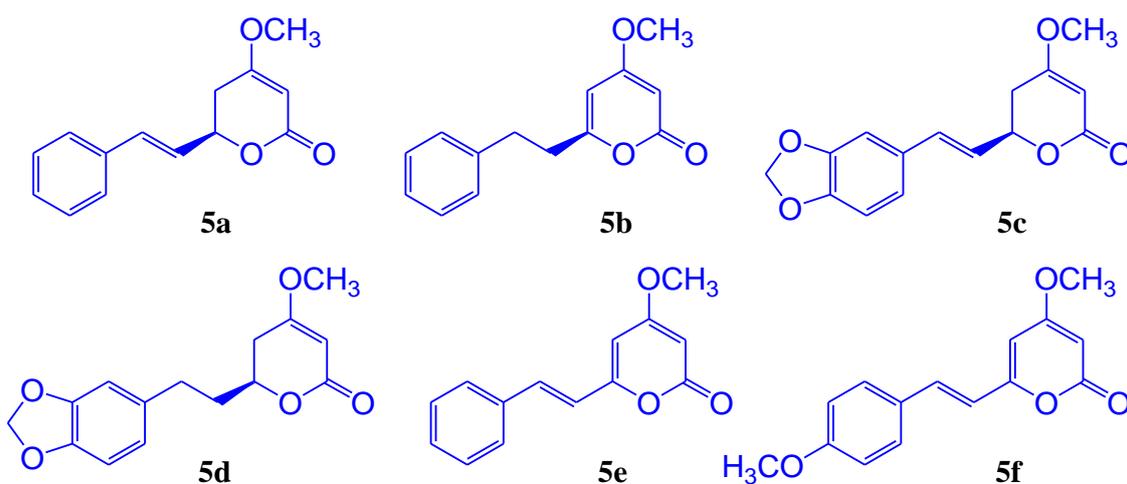


Figura 23: Estruturas químicas das cavactona. Fonte: Autor

Os primeiros relatos sobre a toxicidade de cavalactonas foi em 2002, onde houve três casos na Alemanha e Suíça por hepatite colestática, danos irreversíveis no fígado, por exemplo. São previstos dois mecanismos de hepatotoxicidade para a metabolização das cavalactonas: direta e indireta. O mecanismo direto proposto para a toxicidade das substancias é por cascatas inflamatórias produzidas pela ativação macrófago hepática, contribuindo para a reação idiossincráticas, permitindo anos oxidativos no fígado, além dos substratos de cavalactonas podem aumentar a toxicidade por se ligar ao DNA e proteínas celulares (TANG *et al*, 2011). O mecanismo indireto propõe que ocorre a inibição da enzima metabólica e do sistema protetor, como a isoenzima do citocromo P450, causando lesão hepática.

A edaravona (figura 24), também conhecida como resveratrol (nome oficial segundo a IUPAC: 3,5,4'-trihidroxi-droxiestilbeno) é um composto fenólico encontrado em uvas, frutas vermelhas, amendoim e vinho tinto, possui propriedades farmacológicas por apresentar características antioxidantes, anti-inflamatórias, cardioprotetoras, anti-diabetes, anti-câncer, quimiopreventivas e neuroprotetoras (ALBERTONI, SCHOE, 2015).

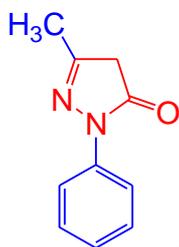


Figura 24: Estrutura química da edaravona. Fonte: Autor

É descrito na literatura e comprovado em procedimentos experimentais como um potente antioxidante, podendo atuar como quelante de espécies reativas de oxigênio (EROs) e de ferro, tornando-o uma substancia padrão para comparações com outras que possam ter atividade antioxidante (ALBERTONI, SCHOE, 2015).

Diante das técnicas apresentadas, este trabalho teve por finalidade desenvolver derivados do muscimol, que tenha afinidade com o receptor GABA_A e que apresentem capacidade antioxidante capaz de sequestrar os radicais livres que atuam na oxidação da serotonina, apresentando bons valores teóricos para atividade antioxidante, baseando-se na comparação de valores descritos na literatura e em comparação com o GABA e com as substancias kava-kava, hipericina e edaravona.

OBJETIVOS

1. Objetivo Geral

Planejar, sintetizar e desenvolver derivados regioisômeros do muscimol capazes de se ligar no receptor $GABA_A$ que podem agir como sequestrantes de radicais livres que oxidam a serotonina através do mecanismo antioxidante.

2. Objetivos Específicos:

- Identificar o farmacóforo do muscimol e $GABA$;
- Planejar e sintetizar derivados regioisômeros do muscimol;
- Realizar e analisar os resultados obtidos da modelagem molecular;
- Comparar as propriedades antioxidantes dos derivados do muscimol com o $GABA$, muscimol.
- Analisar os valores teóricos de propriedade antioxidante dos derivados do muscimol e compara-los a substâncias com esta propriedade, como a hipericina, cavalactonas e edaravona.

METODOLOGIA

11. FARMACÓFORO

É o estudo de um conjunto de características eletrônicas de um ou mais grupos da estrutura química que é responsável pela atividade biológica de interesse (MODESTIA, 2014). Para a construção de um farmacóforo é a sobreposição da estrutura compostas com o mesmo mecanismo de ação e alvo na macromolécula e derivados deste composto, onde ocorre a definição das regiões que interagem e contribuem para a ação do fármaco ou possível fármaco no corpo dos seres vivos, sendo importantes para a definição das atividades e potência farmacológicas (NEQUIMED, 2012).

Para atestar os grupos da estrutura química do muscimol e $GABA$ responsável pelas suas interações com o $GABA_A$, utilizou-se a estrutura cristalográfica do muscimol e o desenho dos derivados já conhecidos no Chemdrawn, colocados no programa Discovery studio 2019 para alinhamento das moléculas, depois no Pharmagist para gerar o arquivo que gera scores. Depois foi-se escolhido o arquivo com maior score, gerando um arquivo que foi colocado no programa Pharmit, onde, ao final do processo, gerou uma imagem 3D com os grupos que interagem com o $GABA_A$. Também se fez

um estudo com o farmacóforo da serotonina dos grupos que são importantes para seu efeito.

12. CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO MUSCIMOL COMPARADO COM O GABA

O GABA (Figura 25, estrutura 1) pode se rearranjar alternando a ligação do hidrogênio com o oxigênio do grupamento hidroxil com a carbonila. Comparado ao muscimol, por possuir um anel isoxazol, possui um átomo de azoto na posição 2 e na posição 1, um oxigênio do tipo furano, além do grupo hidroxila na posição 3 (Figura 24, estrutura 2a), este apresenta capacidade de rearranjar o hidrogênio, fazendo ligação com o nitrogênio, provocando a formação de um grupamento carboxila na posição 3 do anel heterocíclico, onde sua formação é favorecida pelo fato de apresentar grupamento carbônico na posição 4, como mostra a estrutura 2b, abaixo:

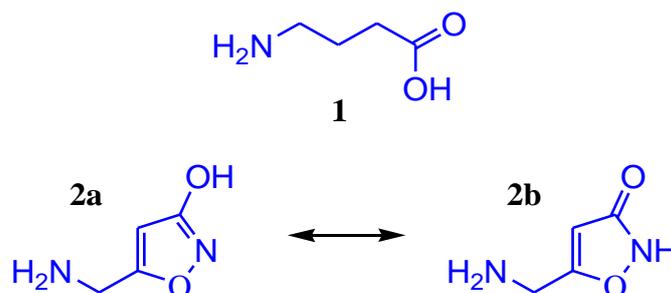


Figura 25: Capacidade antioxidante do muscimol e do GABA. Fonte: Autor

Com o mecanismo de ação antioxidante, o muscimol apresenta capacidade de sequestrar os radicais livres que oxidam a serotonina, evitando a desaminação da mesma, assim aumentando o nível de serotonina no SNC.

13. PLANEJAMENTO DE DERIVADOS DO MUSCIMOL

13.1. Derivados análogos do muscimol

Derivados análogos são estratégias para o planejamento de fármacos que possuem baixo risco de insucessos, já que a estrutura do fármaco e seu derivado são semelhantes. Estes derivados são classificados em três tipos: análogos estruturais, análogos farmacológicos e análogos estruturais e farmacológicos. Os análogos estruturais e farmacológicos possuem estrutura química e atividade farmacológica semelhantes. Os análogos estruturais possuem estrutura química semelhante, porém atividade farmacológica diferente, já os análogos farmacológicos apresentam estrutura

química e atividade farmacológica diferentes (SILVA, 2013). A Figura 26 abaixo mostra os análogos do muscimol planejados, onde foi-se feito mudanças nas estruturas químicas, objetivando ação mais eficiente em comparação ao muscimol, além dos mecanismos de ação antioxidante.

Nos derivados análogos planejados mostrados acima, foi feito modificações no anel isoxazol, onde o derivado 3a foi modificado o anel heterocíclico para pirrol, onde por ressonância forma-se 1H-pirrol-2(5H)-one (estrutura 3b). No derivado 4a foi modificado o anel para piridazina, que por ressonância formar o anel heterocíclico piridazina (estrutura 4b). No derivado 5a foi modificado o anel para hidroxipiridina, que por ressonância formar um anel piridona (estrutura 5b). Foram calculadas as energias de HOMO, LUMO, GAP, PI, EDL de transferência de hidrogênio ou grupo amina nos três derivados análogos, a fim de se analisar suas atividades antioxidantes.

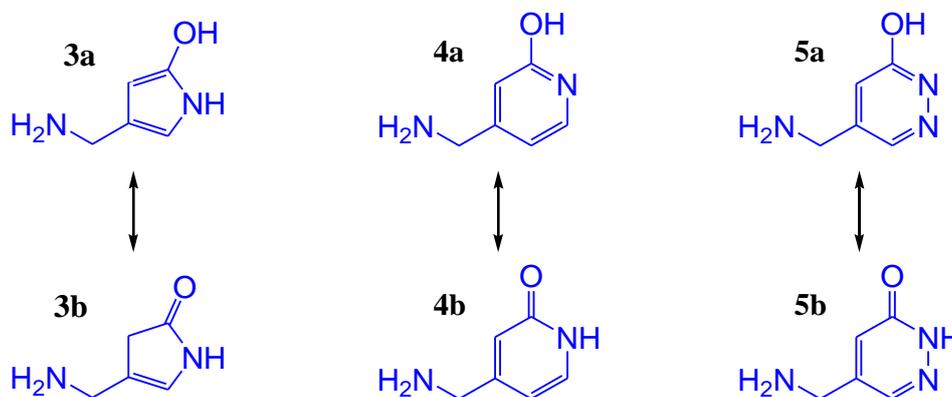


Figura 26: Estrutura química dos derivados análogos do muscimol Fonte: Autor.

13.2. Derivados RegioIsômeros do Muscimol

Regioisomêros ou congêneres são classificadas como técnicas para planejamento de derivados, onde são produzidos a partir de modificações moleculares em fármacos que são classificados como isômeros posicionais, já que possuem os mesmos grupos funcionais, alterando a interação com o receptor (BORGES, 2017). Na Figura 27 abaixo mostra os quatro regioisômeros do muscimol planejados para a síntese:

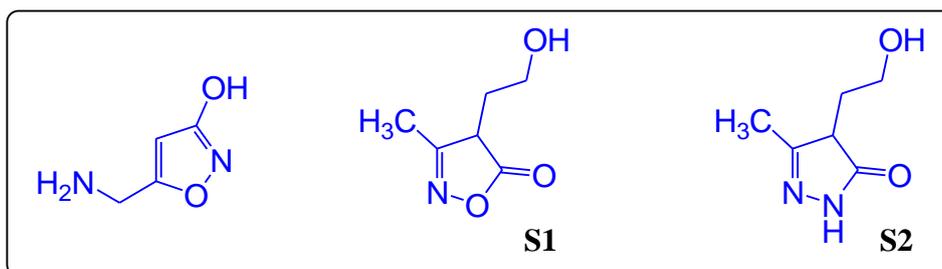


Figura 27: Regioisômeros do muscimol. Fonte: Autor

Para o derivado S1, foi feito bioisosterismo de anéis, onde se modificou o anel para isoxazolona, adicionando um radical $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ e um radical metil, e para o segundo derivado, mudou-se o anel para pirazolona, adicionando um radical $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ e um radical metil, a fim de aumentar a interação com o receptor GABA_A . A substituição do átomo de oxigênio pelo nitrogênio no derivado S2 é explicada pelo fato dos dois átomos apresentarem propriedades eletrônicas semelhantes (VITAL, 2013).

14. PRÓ-FÁRMACOS

Na modificação molecular existe um processo em que há ação no corpo para a produção do fármaco com atividade farmacológica, o qual é chamado de latenciação. Na latenciação utiliza-se a ideia de um pró-fármaco. O pró-fármaco pode ser definido como fármaco inativo farmacologicamente que, ao ser absorvido pelo corpo, ocorre a biotransformação enzimática ou química, formando o fármaco ativo farmacologicamente com a capacidade de se ligar a seus sítios farmacológicos (AVER, KREUTZ, SUYENAGA, 2015).

Os pró-fármacos foram classificados em quatro tipos por Wermuth, em 1984, em: clássicos, bioprecusores, mistos e fármacos dirigidos. Os pró-fármacos clássicos são os inativos que ao entrar no corpo, sofrem o processo de biotransformação, formando um fármaco ativo (AVER, KREUTZ, SUYENAGA, 2015). Ainda segundo os autores, o fármaco bioprecursor ocorre a recuperação da molécula ativa e há atividade farmacológica de seus produtos após a biotransformação. O fármaco misto possui características dos pró-fármacos clássicos e dos bioprecusores. Já os pró-fármacos dirigidos possuem macromoléculas transportadoras que possui a função de transportá-los aos seus sítios específicos.

Por conta disso, os derivados planejados foram feitos no formato de pró-fármacos para que os derivados sofressem reação dentro do corpo, sendo formados seus compostos bioativos, aumentando sua biodisponibilidade no corpo.

15. MODELAGEM MOLECULAR

Para este trabalho utilizou-se os softwares Hyperchem, Gaussview e Gaussian para os cálculos. Para a otimização das moléculas utilizou-se a mecânica molecular através do método semi-empírico PM3, para caracterização eletrônica e estrutural das

substâncias (TIRADO-RIVES, JORGENSEN, 2008). A modelagem molecular foi realizada usando os métodos DFT/B3LYP/6-31G (p,d) para os cálculos eletrônicos teóricos dos tautômeros do muscimol e DFT/B3LYP/6-311G (2p,2d) para os derivados regioisômeros do muscimol propostos a fim de estabelecer a relação entre a estrutura química e as propriedades eletrônicas teóricas relacionadas à atividade antioxidante, onde o método DFT foi utilizado para se ter valores de cálculo mais precisos permitindo o detalhamento das propriedades moleculares (LIMA *et al*, 2018), o funcional B3LYP foi utilizado para otimização da geometria e cálculo de frequências vibracionais harmônicas usando os conjuntos 6-31G e 6-311G (XUE *et al*, 2014; TIRADO-RIVES, JORGENSEN, 2008).

Foi feito os cálculos de HOMO e LUMO, GAP, potencial de ionização (PI), energia de dissociação de ligação (BDE_{XH}), energia de transferência de átomo de hidrogênio (ΔHAT) e energia de transferência de elétron (ΔSET). Após isso, os derivados do muscimol foram sintetizados e caracterizados estruturalmente.

16. ENERGIA DOS ORBITAIS MOLECULARES DE FRONTEIRA

A atividade antioxidante está relacionada às propriedades eletrônicas das substâncias: energia dos orbitais moleculares de fronteira (HOMO, LUMO, GAP) (LOBATO *et al*, 2012).

O orbital molecular ocupado de maior energia, HOMO, mede o caráter elétron-doador de um composto e o orbital molecular desocupado de menor energia, LUMO, mede o caráter elétron-receptor. Quanto maior a energia de HOMO maior será a capacidade de doar elétrons, quanto menor a energia de LUMO menor será a resistência para aceitar elétrons. As energias do HOMO e LUMO são utilizadas como índices de reatividade química e estão relacionadas com a afinidade eletrônica e o potencial de ionização (LOBATO *et al*, 2012). A diferença matemática entre o HOMO e LUMO é chamada de GAP, o qual é um indicador de estabilidade molecular, quanto maior o valor de gap, mais estável a molécula é, quanto menor, mais reativa, possibilitando agir como antioxidante, os quais são medidos pela unidade de elétron-volt, eV (ZHANG; MUSGRAVE, 2007), o qual pode ser encontrado através da equação 1 abaixo:

$$GAP = LUMO - HOMO \quad (\text{Eq. 1})$$

17. CÁLCULO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO MUSCIMOL

Para os cálculos de capacidade antioxidante e estabilidade química do cátion e ânion radicalar utilizou-se os mecanismos de HAT (energia de transferência de átomo de hidrogênio) e SET (energia de transferência de elétron), onde se fez necessário a realização de cálculos teóricos dos valores de potencial de ionização (IP), energia de dissociação de ligação da hidroxila (ED_{LOH}), onde se utiliza os métodos ΔHAT e ΔSET (BORGES *et al.*, 2015; MILENKOVIĆ *et al.*, 2018).

O potencial de ionização é a energia necessária para se retirar um elétron da camada de valência, dessa forma ionizando o átomo ou molécula em estudo, o qual é medido na unidade kcal/mol. Para seu cálculo computacional é necessário ter a energia do último orbital (cátion) presente nos cálculos Gaussian subtraída da energia do último orbital da molécula neutra (CUSTÓDIO, 2017), como mostra a equação 2:

$$IP = E_{\text{cátion}} - E_{\text{neutro}} \quad (\text{Eq. 2})$$

A energia de dissociação de ligação (EDL), também conhecida como bond dissociation energy (BDE), é a energia necessária para remover um hidrogênio radicalar da estrutura molecular a qual é medido na unidade kcal/mol. Para seu cálculo utiliza-se a energia da semiquinona somada a energia do hidrogênio radical, subtraída pela energia de sua respectiva molécula neutra (McMILLEN; GOLDEN, 1982), como mostra a equação 3:

$$BDE_{XH} = (E_{\text{semiquinona}} + E_{\text{hidrogênio}}) - E_{\text{neutro}} \quad (\text{Eq. 3})$$

A energia de estabilização do radical formado a partir da energia de transferência de átomo de hidrogênio (que chamaremos de ΔHAT) é um parâmetro importante para prever a estabilidade da semiquinona após a transferência de um átomo de hidrogênio, sendo utilizada a unidade kcal/mol, onde seu cálculo é feito a partir dos valores de BDE_{XH} dos derivados e da substância padrão que está sendo analisada (BORGES *et al.*, 2012) conforme a equação 4 abaixo:

$$\Delta HAT = E_{\text{semiquinona derivado}} - E_{\text{semiquinona padrão}} \quad (\text{Eq. 4})$$

A energia de estabilização do radical formado a partir da energia de transferência de elétron (que chamaremos de ΔSET) é um parâmetro importante para prever a estabilidade da estrutura após a doação de elétrons, sendo utilizada a unidade kcal/mol,

onde seu cálculo está baseado nos valores de PI, onde subtrai-se o valor de PI dos derivados com o da substância padrão (LUO *et al*, 2017; BORGES *et al*, 2012) que neste caso é o GABA, como mostra a equação 5 abaixo:

$$\Delta\text{SET} = E_{\text{PI derivado}} - E_{\text{PI padrão}} \quad (\text{Eq. 5})$$

18. SÍNTESE DE DERIVADOS DO MUSCIMOL

Para a síntese derivados do muscimol (Figura 28), foi feita a síntese do derivado S1 baseado no trabalho de Wamhoff e Korte (1966), onde utilizou-se 13 mL de α -acetilbutirolactona (estrutura R1), 15 mL de etanol, 8g de cloridrato de hidroxilamina e 9,5g de acetado de sódio. Inicialmente foi-se colocado, em um balão de fundo redondo, o cloridrato de hidroxilamina, o acetato de sódio e o etanol e depois adicionando-se a α -acetilbutirolactona e agitou-se por 1 hora com o auxílio do agitador magnético. Após esse processo, aqueceu-se a 100°C, com o auxílio de um agitador magnético com aquecimento, e foi colocado em refluxo por 1 hora. O derivado S1 foi colocado em uma placa de Petri para reduzir e depois foi filtrado, pesado e retirado o ponto de fusão.

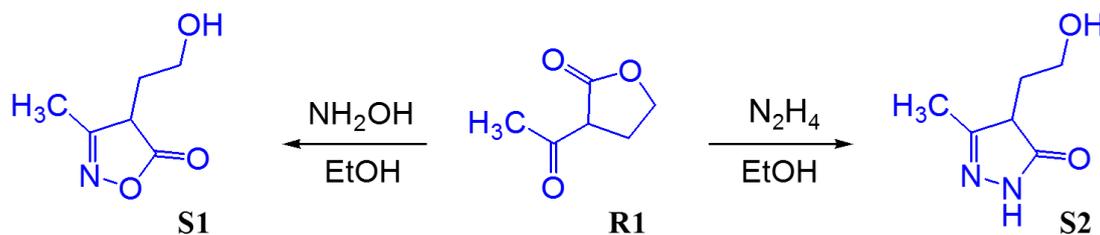


Figura 28: Síntese dos derivados régioisômeros do muscimol. Fonte: Autor

Para síntese do derivado 2, baseou-se nos trabalhos de Wamhoff e Korte (1966), onde utilizou-se 13 mL de α -acetilbutirolactona (estrutura R1), 11g de cloridrato de hidrazina, 11g de carbonato de sódio, 30 mL de etanol e 10 mL de água destilada. Inicialmente adicionou-se, em um balão de fundo redondo, o cloridrato de hidrazina, carbonato de sódio e água, solubilizando-os, depois adicionou-se o etanol e α -acetilbutirolactona. Após esse processo, aqueceu-se a 100°C, com o auxílio de um agitador magnético com aquecimento, e foi colocado em refluxo por 4 horas. O derivado S2 foi colocado em uma placa de Petri para reduzir e depois foi filtrado, pesado e retirado o ponto de fusão (reação está descrita na figura 27).

19. IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DOS DERIVADOS DO MUSCIMOL

19.1. Determinação do ponto de fusão

É uma das técnicas mais antigas de determinação da pureza de substâncias orgânicas. O ponto de fusão de uma substância é definido como a temperatura em que esta passa do estado sólido para o estado líquido (SZPOGANICZ, DEBACHER, STADLER, 2001). Ainda segundo os autores, a determinação do ponto de fusão é um método simples e rápido usado nas diversas áreas da Química para obter-se uma primeira impressão da pureza de uma dada substância, isto porque mesmo pequenas quantidades de impurezas influenciam o ponto de fusão ou, pelo menos, aumentam o intervalo de valores do ponto de fusão.

O ponto de fusão das substâncias varia de acordo com a pureza do composto, ou seja, a presença de impurezas interfere com a malha cristalina, tornando-se mais fácil a quebra das forças de interação entre moléculas (GURGEL, 2016). De acordo com o autor, como é necessário menos calor para quebrar essas interações entre intermoleculares, o ponto de fusão da mistura é inferior ao da substância quando pura, além disso, o intervalo de valores é também expandido pois diferentes regiões do sólido possuem diferentes quantidades de impurezas. Pode-se dizer que uma substância pura funde a uma temperatura bem definida, sendo essa uma característica de qualquer substância cristalina que é apenas dependente da pressão (embora esta dependência da pressão é geralmente considerada insignificante).

Um composto sólido de alto grau de pureza funde-se a uma temperatura bem definida, onde o intervalo de fusão não passa de 0,5 a 1,0 °C, enquanto que se houver a presença de pequenas quantidades de impurezas, miscíveis ou parcialmente miscíveis, há a produção de um aumento considerável na faixa de fusão, provocando o início da fusão a uma temperatura inferior à de fusão da amostra pura, variando de 2 a 5°C. Se o material for uma mistura, a diferença entre as duas temperaturas é superior a 5°C (GURGEL, 2016).

Neste processo de ponto de fusão é feita quando uma substância sólida pura é aquecida, o calor fornecido é convertido em energia cinética e à medida que o movimento das moléculas vai aumentando, as forças atrativas intermoleculares são superadas, perdendo-se progressivamente o estado ordenado das moléculas em estrutura cristalina (GURGEL, 2016; SZPOGANICZ, DEBACHER, STADLER, 2001). Segundo os autores, as moléculas passam então para um estado de maior liberdade de

movimento, transitando a substância do estado sólido para o estado líquido. Durante o processo de fusão, toda a energia fornecida é consumida, pelo que a temperatura permanece constante, onde o valor do ponto de fusão da amostra pode ser comparado com o valor do ponto de fusão encontrado na literatura.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

20. TAUTOMERISMO

O muscimol (estrutura 2a) apresenta uma capacidade de tautomerismo devido a possibilidade do anel hidroxi-isoxazólico aromático funcionar também como uma isoxazolona (estrutura 2b). Estas estruturas tautoméricas estão mostradas na Figura 29.

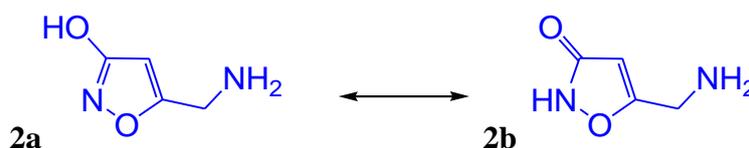


Figura 29: Tautomerismo ceto-enólico do muscimol. Fonte: Autor

As estruturas otimizadas dos tautômeros usando o método DFT/B3LYP/6-31G(d,p) estão representadas na Figura 30. O valor da barreira de energia entre as duas formas tautoméricas do muscimol é de 2,00 kcal/mol, mais favorável para a forma hidroxílica (2a) comparada com a forma carbonila (2b).

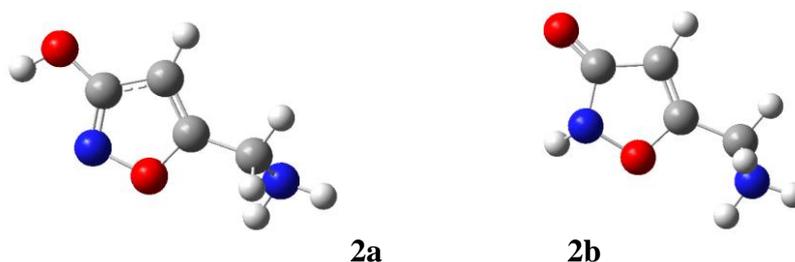


Figura 30: Estruturas otimizadas de tautômeros do muscimol (OH, 2a e C=O, 2b). Fonte: Autor

Os cálculos das propriedades eletrônicas para os tautômeros do muscimol (Tabela 1), mostrou que os compostos apresentam baixo potencial antioxidante, embora eles tenham apresentados altos valores de HOMO de -6,65 e -6,45 eV para os tautômeros 2a e 2b, respectivamente, demonstrando um alto valor de nucleofilicidade.

Tabela 1. Propriedades eletrônicas teóricas dos tautômeros do muscimol.

Derivatives	HOMO (eV)	LUMO (eV)	GAP (eV)	IP (kcal/mol)	BDE _{XH} (kcal/mol)
2a	-6.65	-0.03	6.62	193.09	94.12
2b	-6.45	-0.60	5.84	195.68	92.11

No entanto, os altos valores da energia de transição HOMO para LUMO (Gap) de 6,62 e 5,84 eV, assim como para o potencial de ionização (PI) de 193,09 e 195,68 kcal/mol mostram a baixa capacidade antioxidante por transferência de elétrons (CUSTÓDIO, 2017). Do mesmo modo, os altos valores de energia de dissociação de ligação do grupo hidroxila ou amida de 94,12 e 92,11 kcal/mol indicam também um baixo potencial antioxidante por transferência de hidrogênio.

As diferenças entre as energias de transferência por elétron ou hidrogênio é de 2 kcal/mol. Na Figura 31, podemos observar que os grupos estão contribuindo para a nucleofilicidade.

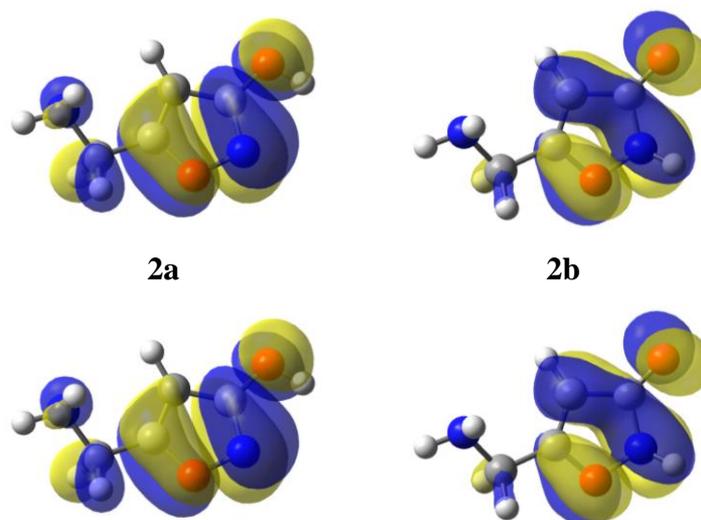


Figura 31: HOMO (Abaixo) e LUMO (Acima) para os tautômeros do muscimol. Fonte: Autor

21. DERIVADOS ANÁLOGOS DO MUSCIMOL

Pelo fato de que não houve melhora nos valores de atividade antioxidante nos tautômeros, planejou-se derivados análogos do muscimol (Figura 32), fez-se os cálculos teóricos dos mesmos, os quais são mostradas na Tabela 2.

Tabela 2. Propriedades eletrônicas teóricas dos derivados análogos do muscimol.

Derivatives	HOMO (eV)	LUMO (eV)	GAP (eV)	IP (kcal/mol)	Δ SET (kcal/mol)
muscimol	-7.07	-0.54	6.53	219.85	0
3a	-5.36	-0.37	4.99	163.90	-55.95
3b	-6.14	-0.68	5.46	181.57	-38.28
4a	-6.72	-1.65	5.07	190.23	-29.62
4b	-6.82	-2.01	4.81	200.09	19.76
5a	-6.66	-1.00	5.66	192.77	-27.08
5b	-6.17	-1.39	4.78	184.48	-35.37

Para os derivados do muscimol (Figura 32), os cálculos teóricos, demonstrados na tabela 2, mostrou que os compostos apresentam baixo potencial antioxidante, por apresentarem altos valores de PI, embora eles tenham apresentados altos valores de HOMO de -5.36 eV, -6.14 eV, -6.72 eV, -6.82 eV, -6.66 eV e -6.17 eV para os análogos 3a, 3b, 4a, 4b, 5a e 5b, respectivamente, demonstrando um alto valor de nucleofilicidade. Altos valores de PI significam que é necessário alta quantidade de energia para se retirar um elétron da molécula em questão, não favorecendo a atividade antioxidante.

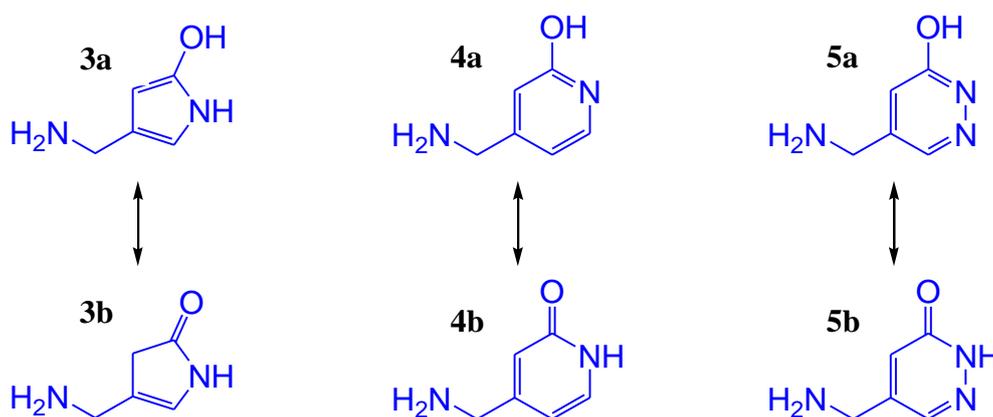


Figura 32: Estrutura química dos derivados análogos do muscimol Fonte: Autor.

Pode-se perceber que o derivado análogo 3a possuiu melhores valores em comparação aos outros derivados e muscimol, demonstrando que o anel heterocíclico que favorece a ação antioxidante e o que possui 5 membros, dessa forma a atividade antioxidante não foi favorecida com a formação de um anel heterocíclico de 6 membros,

por esses derivados não foram utilizados para este trabalho, sendo necessário a seleção de outros derivados que possuam anel heterocíclico com 5 membros, já que estes apresentaram melhores valores para atividade antioxidante.

22. SELEÇÃO DE DERIVADOS

Para o planejamento dos derivados do muscimol com propriedades antioxidantes, fez-se um estudo teórico das propriedades eletrônicas para a escolha dos anéis heterocíclicos semelhantes ao anel heterocíclico isoxazol a fim de serem utilizados como anel heterocíclico para os derivados (Figura 33).

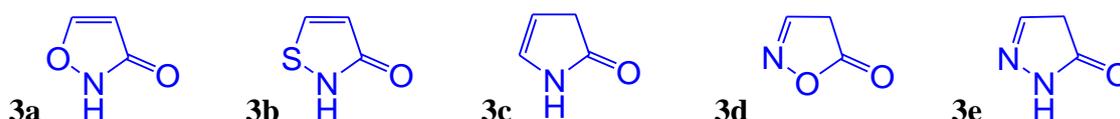


Figura 33: Seleção de anéis para formação de derivados. Fonte: Autor

O método utilizado foi o DFT/B3LYP 6-31G (d,p), onde os valores das propriedades eletrônicas teóricas obtidos estão representados na Tabela 3. Com os dados obtidos, pode-se dizer que os anéis heterocíclicos 3c, 3d e 3e são aqueles que possuem melhores valores de energia de dissociação por possuírem menores valores de EDL, tendo maior caráter doador, podendo agir como antioxidantes (XUE *et al*, 2014). No entanto, pelo fato de que o anel heterocíclico 3c ser mais instável, em comparação aos anéis 3d e 3e, já que é classificado como um intermediário para a formação de pirrolidinas por sofrerem facilmente adição de hidrogênios em suas estruturas (ALVES, 2007), por isso utilizou-se como anéis heterocíclicos para os derivados do muscimol os anéis 3d e 3e.

Tabela 3. Propriedades eletrônicas teóricas para seleção de anéis para os derivados.

Derivatives	HOMO (eV)	LUMO (eV)	GAP (eV)	IP (kcal/mol)	BDE _{XH} (kcal/mol)	ΔHAT (kcal/mol)
3a	-6.71	-0.85	5.86	208.16	92.69	0
3b	-6.12	-0.98	5.14	193.11	92.46	-0.23
3c	-5.90	-0.06	5.83	185.79	79.02	-13.67
3d	-6.64	-0.96	5.67	198.99	85.51	-7.17
3e	-6.11	-0.51	5.60	184.20	81.11	-11.09

Ao se analisar os valores de ΔHAT , percebeu-se que os anéis mais promissores foram os anéis 3c, 3d e 3e por conta dos seus baixos valores, já que baixos valores de energia de transferência de átomo de hidrogênio, melhor a sua capacidade antioxidante (MILENKOVIĆ *et al*, 2018), porém o anel 3c é caracterizado por possuir uma reação em condições específicas, inviabilizando sua síntese neste momento (ALVES, 2007), dessa forma o ΔHAT reforçou o que EDL já havia mostrado, o que, por esta razão, optou-se pelos anéis 3d e 3e para o planejamento dos derivados do muscimol.

23. PLANEJAMENTO E SÍNTESE

Para a síntese dos derivados, planejou-se a formação dos mesmos com os anéis oxazolona e pirazolona (Figura 34).

O anel utilizado para planejamento do derivado S1 é de um análogo do muscimol que possui o anel oxazolona (4a), onde verificou-se bons resultados por transferência de hidrogênio na tabela 2, onde adicionou-se os grupos metil. Para continuar este planejamento, utilizou-se o etil retirado da estrutura do gama-hidroxitirato, o qual apresenta similaridade estrutural com o GABA e alta afinidade com o receptor GABA_A , formando o derivado S1. Para o derivado S2, houve apenas a substituiu-se o anel heterocíclico oxazolona pela pirazolona (4b), já que este apresentou melhor valor para transferência de hidrogênio, vista na tabela 2, conservando a estrutura já formada, originando o derivado S2.

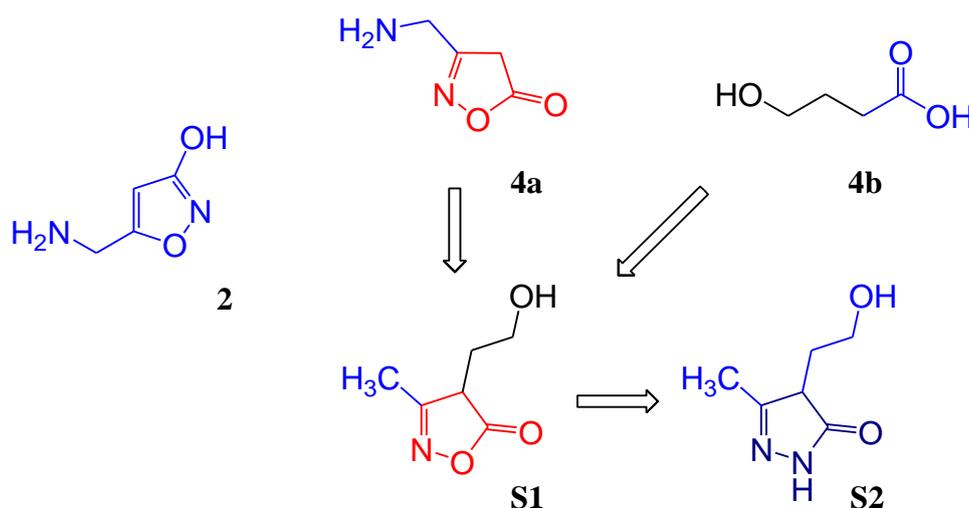


Figura 34: Planejamento dos derivados regioisômeros do muscimol. Fonte: Autor

O radical metil foi colocado nos derivados regioisômeros do muscimol para lhes conferir característica lipofílica, a qual é importante para um fármaco já que facilita sua absorção, distribuição, potência e eliminação do organismo (BARREIRO, FRAGA, 2015).

Com a etapa de planejamento dos derivados concluída, partiu-se para a síntese dos derivados (Figura 35).

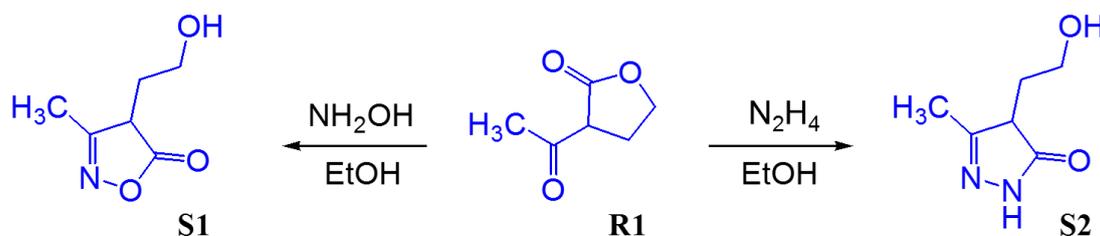


Figura 35: Reação de síntese dos derivados regioisômeros do muscimol. Fonte: Autor

Para a síntese dos derivados, baseou-se nos trabalhos de Wanhoff e Korte (1966) utilizou-se o α -acetilbutirolactona, visto que era necessário um composto químico com semelhança estrutural e que apresente uma facilidade sintética. Na descrição da reação acima, os autores utilizaram hidroxilamina e hidrazina como fonte de oxigênio e nitrogênio para a formação dos anéis, sendo facilitada por adição de etanol e água, onde este último foi colocado na apenas na reação do derivado S2. Para se fazer a reação, além e se utilizar os reagentes já citados, utilizou-se acetato de sódio na reação de síntese do derivado S1 e carbonato de sódio na reação de síntese do derivado S2. Estes reagentes foram utilizados para neutralizar a hidrazina e a hidroxilamina, pois estes foram utilizados na forma de cloreto.

24. FARMACÓFORO

Na realização do farmacóforo do GABA e muscimol, verificou-se os grupos responsáveis pela interação com seus receptores, bem como a ação de cada grupo durante a interação. Ao se analisar o farmacóforo do GABA, observa-se que os grupos responsáveis por fazer a ligação com o GABA_A são o grupo carboxil e o grupo amina (Figura 36).

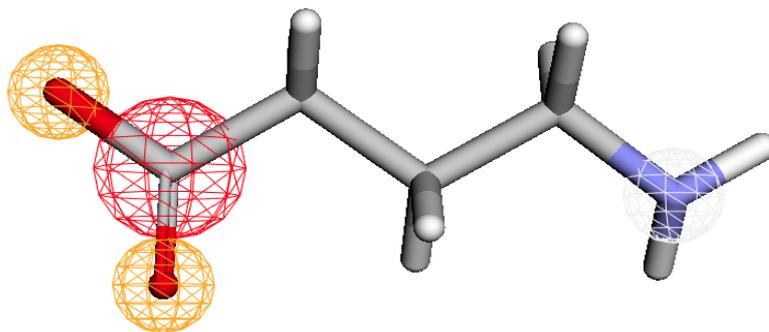


Figura 36: Farmacóforo do GABA. Fonte: Autor

Percebeu-se que no GABA há atividade aceptora de elétrons (cor amarela) nos oxigênios presentes na estrutura. O grupo -NH_2 possui característica de doadora de elétrons e o carbono presente no grupo carboxil (cor vermelha) corresponde a íon negativo (ganha elétrons durante a reação) da estrutura.

A partir desta informação, as substâncias que possuem semelhante estrutura ao GABA poderão se ligar ao seu receptor, podendo ter os mesmos ligantes ou ligantes que sejam similares poderão ter ação sobre o mesmo. Além disso percebe-se que o GABA possui atividade antioxidante, já que possui característica doadora de elétrons com o grupo amina.

Para os derivados do muscimol serem eficazes quanto a ligação com os receptores, é necessário que haja similaridade estrutural com o GABA, por isso o farmacóforo do muscimol foi gerado para se averiguar uma possível ligação com o receptor GABA_A , como está representado na (Figura 37).

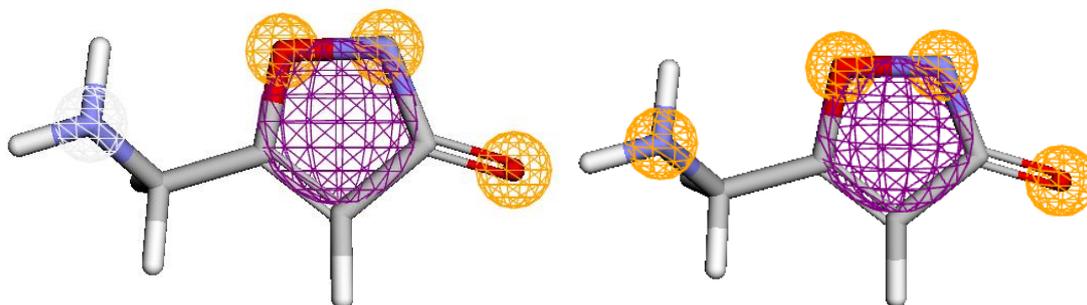


Figura 37: Farmacóforo do muscimol. Fonte: Autor

Os grupos que fazem interação com o receptor GABA_A são o grupamentos -NH_2 , o anel isoxazol, bem como o oxigênio presente a carbonila e o anel heterocíclico, os quais asseguram a semelhança estrutural com o GABA, onde as duas estruturas

apresentam alinhamento semelhante entre seus átomos, comprovando que há uma relação estereoquímica de bioisómero análogo entre o muscimol e GABA, permitem que tenham afinidade similar para os receptores GABA_A (HEISS *et al*, 2018).

O grupo -NH₂ possui característica doadora de elétrons (cor branca) e acceptora de hidrogênio (cor amarela), o oxigênio do anel e da carbonila possui caráter aceitador de hidrogênio (cor amarela) e o anel heterocíclico é um anel aromático (cor lilás).

Com a imagem dos grupos responsáveis pela farmacologia do GABA, os derivados propostos apresentam semelhança estrutural com o mesmo, onde o receptor GABA_A pode reconhecer o radical -CH₂CH₂OH como o grupo amina, além de apresentar o anel heterocíclico do muscimol é reconhecido pelo receptor GABA_A, onde os derivados, por terem semelhança com o GABA e muscimol, podem se ligar a este receptor, além disso o muscimol apresenta capacidade doadora de elétrons, o que nos permite afirmar que possui atividade antioxidante.

Com a imagem dos grupos responsáveis pela farmacologia do muscimol, o bioisosterismo de anéis, propostos neste trabalho, podem ser eficazes para aumentar a interação dos derivados do muscimol com o receptor GABA_A, já que os dois apresentam o oxigênio da carbonila, anel heterocíclico, onde no derivado S1 há a presença do nitrogênio e oxigênio, formando um anel heterocíclico isoxazolona e no derivado S2 dois nitrogênios, formando um anel heterocíclico pirozolona, havendo equivalência nos anéis, além da presença de uma hidroxila, a qual é equivalente ao grupamento NH₂, permitindo que o receptor GABA_A reconheça a estrutura dos mesmos, já que possuem semelhança com o GABA, aumentando capacidade antioxidante dos derivados tornando-os potentes substâncias antioxidantes.

25. SÍNTESE

Na síntese do derivado S1 (Figura 38), conhecido como 4-(2-hydroxyethyl)-3-methyl-5(4H)-isoxazolone, de fórmula molecular e peso igual C₆H₉NO₃ e 143,14 g/mol, respectivamente (WAMHOFF; KORTE, 1966). O rendimento da reação de síntese foi de 74,08% (rendimento da literatura: 70%). Os cristais formados possuem cristas com faces imperfeitas de cor amarelo claro, com ponto de fusão igual a 114,5°C – 115°C. Na comparação do valor do ponto de fusão da literatura, o qual é igual a 113 -114°C (WAMHOFF; KORTE, 1966), com dos cristais sintetizados, percebe-se que estes possuem cerca de 0,5 a 1°C de diferença, pode-se afirmar que a molécula está pura.

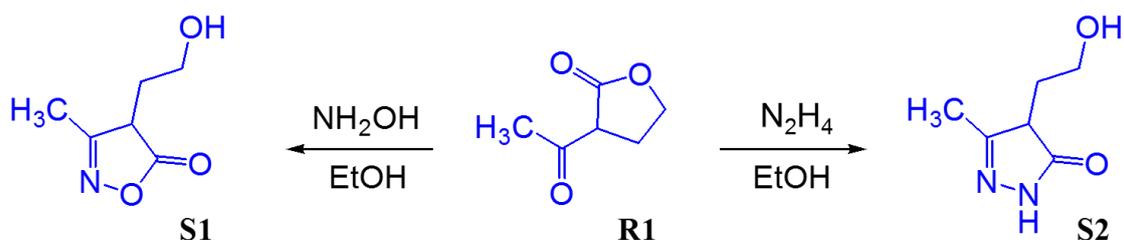


Figura 38: Reação de síntese dos derivados regioisômeros do muscimol. Fonte: Autor

Para o derivado S2 (Figura 38), também chamado de 2,4-dihydro-4-(2-hydroxyethyl)-5-methyl-3H-pyrazol-3-one, de fórmula molecular e peso igual $C_6H_{10}N_2O_2$ e 142,16g/mol, respectivamente (WAMHOFF; KORTE, 1966). O rendimento da reação de síntese foi de 60,42% (rendimento da literatura: 60%). Os cristais formados possuem cristais de faces imperfeitas de cor amarelo claro (tom pastel) com ponto de fusão igual a 182,5°C. Na comparação do valor do ponto de fusão da literatura, o qual é igual a 182°C (WAMHOFF; KORTE, 1966), percebe-se que estes possuem cerca de 0,5°C de diferença, pode-se afirmar que a molécula está pura.

26. AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS DERIVADOS DO MUSCIMOL EM COMPARAÇÃO AO GABA

Para a avaliação da capacidade antioxidante dos derivados do muscimol em comparação ao GABA (Figura 39), os cálculos de HOMO, LUMO, GAP, IP, BDE_{XH} , ΔSET e ΔHAT foram feitos para definir a capacidade antioxidante dos derivados propostos e comparando-os com o GABA (Tabela 4).

Tabela 4. Propriedades teóricas do GABA, muscimol e dos derivados S1 e S2. Fonte: Autor

Compounds	HOMO (eV)	LUMO (eV)	GAP (eV)	IP (kcal/mol)	ΔSET (kcal/mol)	BDE_{XH} (kcal/mol)	ΔHAT (kcal/mol)
GABA	-6.80	-0.27	-6.53	198.88	0	96.26	0
Muscimol	-7.07	-0.54	-6.53	219.85	20.97	95.18	-1.08
Derivado S1	-7.61	-1.36	-6.25	205.87	6.99	80.81	-15.45
Derivado S2	-6.80	-1.08	-5.72	198.41	-0.47	77.73	-18.53

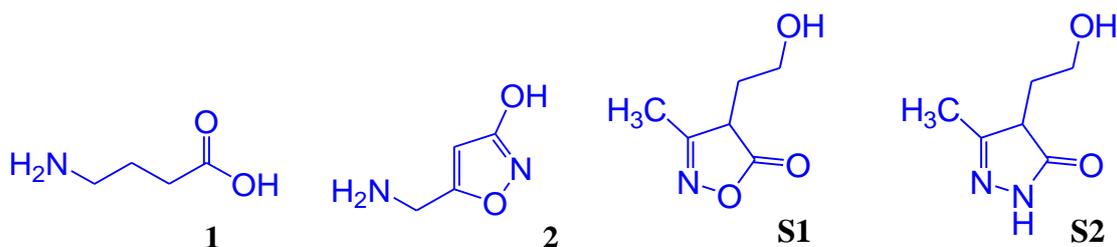


Figura 39: Estrutura química do GABA, Muscimol e seus derivados regioisômero, respectivamente.

Fonte: Autor

O HOMO é um importante parâmetro eletrônico da estrutura molecular, seus altos valores demonstram alta capacidade doadora de elétrons (ARROIO, HONÓRIO, SILVA, 2010), onde é evidenciado no derivado S2, o qual possui HOMO igual a -6.80 eV, bem como o GABA, e o derivado S1 apresenta valor igual a -7.61 eV, sendo o derivado S2 mais nucleofílico, ou seja, com alta capacidade doadora de elétrons. Com este dado é possível afirmar que a substituição do anel isoxazol pelo anel oxazolona diminuiu a capacidade doadora de elétrons no derivado S1 e que a substituição do anel isoxazol pelo anel pirozolona aumentou a capacidade doadora de elétrons no derivado S2, favorecendo o derivado S2, já que aumentou sua capacidade nucleofílica, a qual é maior que a do GABA.

O valor de LUMO está relacionado a capacidade receptora de elétrons, quanto menor seu valor, menor a resistência de aceitar elétrons, sendo mais eletrofílico (ARROIO, HONÓRIO, SILVA, 2010), assim, o derivado S1 apresenta LUMO igual a -1.36 eV, o qual é menor que o derivado S2 (-1.08 eV) e o GABA (-0.27 eV), evidenciando que este derivado é o mais eletrofílico que o S2. Também é possível dizer que o derivado S2 é mais reativo que o GABA e muscimol.

O valor de GAP é um parâmetro importante para definição de estabilidade e reatividade das moléculas, onde altos valores de GAP indicam maior estabilidade e baixa reatividade em reações (LOBATO *et al*, 2012). Neste aspecto, o derivado S2 apresenta menor valor de GAP (5.72 eV) se comparado com o derivado S1 (6.25 eV), demonstrando que o derivado S2 é mais reativo que o derivado S1. Ambos os derivados apresentam menores valores de GAP se comparados ao GABA e muscimol, ambos com valores iguais a 6.53 eV, demonstrando serem mais reativos que estas substâncias.

O PI é uma propriedade relacionada com as energias de orbital molecular de fronteira, a qual está relacionada com a energia necessária para se retirar ou doar um elétron, onde altos valores de PI indicam baixa capacidade antioxidante (ARROIO,

HONÓRIO, SILVA, 2010). Através da Tabela 4 acima, é possível dizer que o derivado S1 apresenta maior valor de IP, 205.87 kcal/mol, se comparado com o derivado S2 (198.41 kcal/mol) e GABA (198.88 kcal/mol), o que pode-se afirmar que o derivado S1 apresenta menor capacidade doadora de elétrons que o derivado S2. Com estes valores, podemos afirmar que o mecanismo de doação de elétrons não é viável para os derivados S1 e S2.

O Δ SET é um parâmetro importante para a capacidade antioxidante por avaliar a capacidade de transferência de elétrons através dos valores de PI, onde mede a estabilidade da substância após a doação de elétrons (LUO *et al*, 2017; BORGES *et al*, 2012). O derivado S1 apresentou valor de 6.99 kcal/mol e o derivado S2 o de -0.47 kcal/mol, indicando que o mecanismo por transferência de elétrons não seja mais adequado para o derivado S1, quando comparado ao GABA, comprovando o que já havia sido evidenciado nos valores de PI.

Com os valores de BDE é possível dizer teoricamente se os derivados são mais promissores que os compostos que são comparados. Altos valores de BDE mostram baixa capacidade antioxidante (SZYMUSIAK, ZIELIŃSKI, 2003), como no caso do muscimol, o qual apresenta valor igual a 95.18 kcal/mol. Já os derivados S1 (80.81 kcal/mol) e S2 (77.3 kcal/mol) apresentam boa capacidade de doação de hidrogênio em comparação ao GABA (96.26 kcal/mol). O muscimol também apresentou bons valores teóricos para capacidade antioxidante, porém por ter valores de PI altos há uma barreira energética, dificultando a doação de hidrogênio.

O Δ HAT indica os melhores compostos, teoricamente, para a avaliação antioxidante, onde mede a capacidade de estabilização da semiquinona após a doação de hidrogênio. Os baixos valores indicam boa capacidade antioxidante por transferência de hidrogênio (BORGES *et al*, 2012; MILENKOVIĆ *et al*, 2018), onde o derivado S1 (-15.45 kcal/mol) e derivado S2 (-18.53 kcal/mol) apresentam baixos valores, apresentando boa estabilização após a abstração de hidrogênio.

O HOMO (acima) e LUMO (abaixo) dos derivados estão apresentados na Figura 40, onde a cor azul mostra as regiões ricas em elétrons (região negativa) e a cor bege mostra as regiões deficientes de elétrons (região positiva)

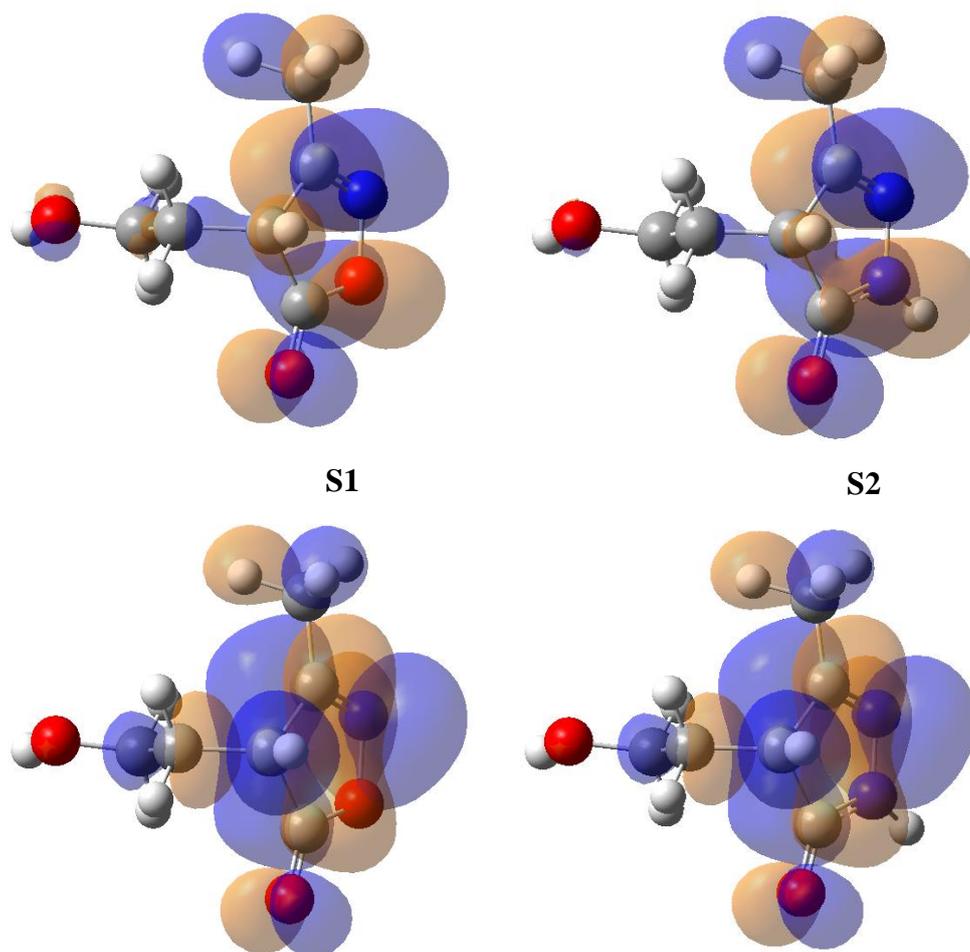


Figura 40: HOMO (acima) e LUMO (abaixo) dos derivados S1 e S2, respectivamente. Fonte: Autor

A disposição do HOMO nas moléculas indica qualitativamente os grupos nucleofílicos através da reação de doação a de elétrons (PEREIRA *et al*, 2016), onde utiliza-se as representações gráficas dos coeficientes dos orbitais moleculares do HOMO (Figura 40). Os valores de HOMO para os derivados S1 e S2 são diferentes, logo as contribuições apresentadas na figura acima são diferentes, onde o valor do derivado S1 é menor que o S2, demonstrando que o anel heterocíclico oxazolona tem menor efeito indutivo que o anel heterocíclico pirozolona, dessa forma a carga parcial negativa é maior no derivado S2 já que este apresenta dois nitrogênios no anel heterocíclico sendo evidenciado pela nuvem eletrônica dispostas nos gráficos dos coeficientes dos orbitais moleculares do HOMO na Figura 40.

Com relação aos valores de LUMO, tanto o derivado S1 e S2 possuem grupos em suas estruturas que contribuem com a eletrofilicidade (PEREIRA *et al*, 2016), onde o derivado S1 possui menor valor de LUMO que o derivado S2 como mostra a figura 40.

27. CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

Para avaliação da capacidade antioxidante dos derivados S1 e S2, comparou-se as suas propriedades eletrônicas teóricas com as do GABA (estrutura 1), muscimol (estrutura 2) e de algumas substâncias já descritas que possuem atividade antioxidante, tais como: Kavaina (estrutura 5a), 7,8-dihidro-kavaina (estrutura 5b), metisticina (estrutura 5c), 7,8-dihidrometisticina (estrutura 5d), desmetoxi-yangonina (estrutura 5e), yangonina (estrutura 5f), hipericina (estrutura 5g) e edaravona (estrutura 5h), como mostra a Figura 41.

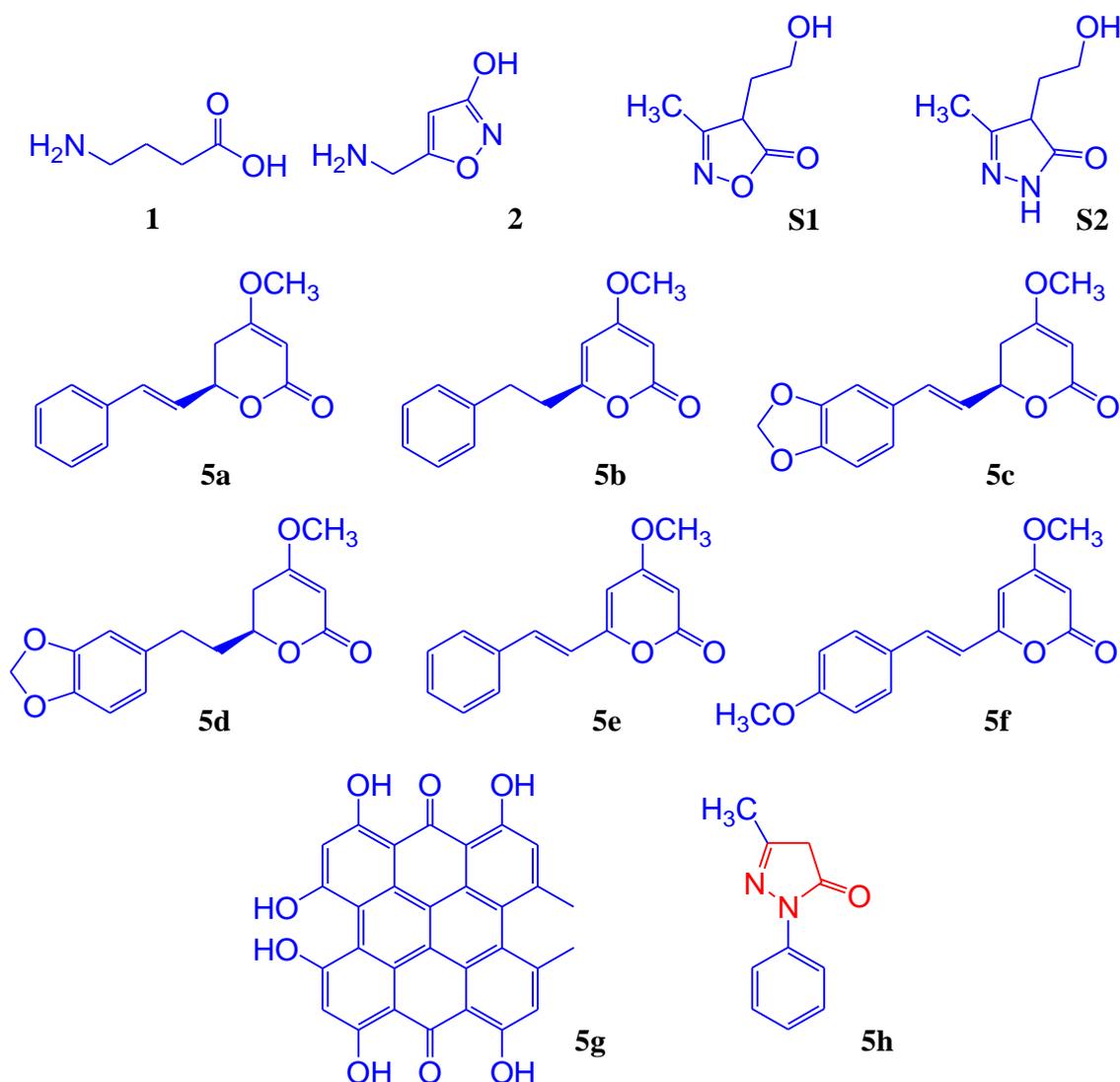


Figura 41: Estrutura química do GABA, muscimol, derivado S1, derivado S2, cavactonas, hipericina e edaravona. Fonte: Autor

As cavactonas são caracterizadas por terem efeito sobre a ansiedade, onde possui seis exemplos mais importantes de cavactonas como Kavaina, 7,8-dihidro-kavaina, metisticina, 7,8-dihidrometisticina, desmetoxi-yangonina e yangonina

sendo rapidamente absorvido pelos organismos, os quais possuem, no entanto, possuem participação hepatotóxica quando ocorre sua degradação pela lactona hidroxilase, uma das hipóteses é que seus substratos possuem relação com citocromo P450 (WANG *et al*, 2015; TESCHKE, LEBOT, 2011). A hipericina (estrutura 5g) é descrita como uma substância com propriedades de ação sobre a ansiedade e depressão muito utilizada, no entanto altas doses podem intoxicar nos organismos, gerando hepatotoxicidade (ARNCKEN, 2000). Já a edaravona (estrutura 5h) é utilizada como antioxidante para reduzir os efeitos de estresse oxidativo, atuando na remoção dos radicais livres em doenças como o acidente vascular cerebral pós-isquêmico, sendo rapidamente metabolizado pelo citocromo P450 (MINELLI *et al*, 2019).

As estruturas mencionadas acima são descritas na literatura como boa capacidade antioxidantes, onde fez-se o cálculo das propriedades teóricas com o método DFT/B3LYP 6-311G (2p, 2d) dos derivados, GABA, muscimol e das outras substâncias, onde seus valores estão dispostos na Tabela 5.

Tabela 5. Propriedades eletrônicas teóricas dos derivados, cavalactonas, hipericina e edaravona.

Derivatives	HOMO (eV)	LUMO (eV)	GAP (eV)	IP (kcal/mol)	BDE_{XH} (kcal/mol)
1	-6.80	-0.27	6.53	198.88	96.26
2	-7.07	-0.54	6.53	219.85	95.18
S1	-7.61	-1.36	6.25	205.87	80.77
S2	-6.80	-1.08	5.72	198.41	77.73
5a	-6.25	-1.36	5.89	195.68	-
5b	-6.25	-1.36	4.89	183.38	-
5c	-5.98	-0.81	5.17	175.08	-
5d	-7.07	-0.81	6.26	195.68	-
5e	-5.98	-2.17	3.81	170.58	-
5f	-5.71	-2.17	3.54	161.48	-
5g	-5.71	-2.99	2.72	157.32	120.18
5h	-6.25	-1.08	5.17	175.03	81.9

Os resultados das propriedades teóricas de HOMO, LUMO e GAP dos derivados S1 e S2 em comparação as cavalactonas mencionadas mostram que não há grandes variações entre eles. Ao se comparar aos valores teóricos da estrutura 5g, observa-se que possuem bons valores teóricos, onde podem ter uma resposta melhor no organismo em comparação a hipericina, já que a mesma apresenta hepatotoxicidade, além da mesma apresentar valores de BDE muito altos, indicando que não possuem boa capacidade antioxidante por meio da doação de hidrogênio, o que já é descrita na literatura (ARNCKEN, 2000). Os valores de BDE para as cavalactonas (5a, 5b, 5c, 5d, 5e, 5f) não foram realizados pois as suas estruturas não possuem hidrogênio para ser transferido, dessa forma não possuindo valor teórico para capacidade antioxidante por transferência de hidrogênio.

A estrutura 5h, edaravona, é um importante parâmetro por se tratar de uma substância com excelente capacidade antioxidante, tanto por transferência de elétron (kcal/mol) quanto por transferência de hidrogênio (kcal/mol). Neste sentido, pode-se dizer que os derivados propostos apresentam valores próximos a edaravona, sendo substâncias, teoricamente, com boa capacidade antioxidante.

CONCLUSÃO

O planejamento de fármacos é fundamental para o desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento de doenças, onde se utiliza a química medicinal para planejar moléculas bioativas que são modificadas para diminuir a toxicidade e aumentar seu efeito terapêutico. Neste trabalho utilizou-se o muscimol, composto izoxazol psicoativo extraído de cogumelos do gênero *Amanita muscaria*, como inibidor GABA por possuir efeitos comportamentais, além de apresenta fórmula estrutural semelhante aos neurotransmissores dos mamíferos GABA, o qual possui alta seletividade e potente propriedade de inibir atividade neural, podendo ser utilizado como fármaco, já que possui maior afinidade com o receptor GABA_A que o GABA.

Pelo fato do GABA apresentar relação com a concentração de serotonina, onde estudos apontam que se houver aumento na concentração de GABA há aumento na concentração serotonina, o que ocorre com o muscimol, já que em estudos mostram que este composto aumenta a concentração de serotonina, sendo evidenciada por haver diminuição do ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA), o qual não possui a atividade sobre a ansiedade e depressão. Por conta disso planejou-se derivados do muscimol para

umentar a concentração da serotonina, onde utilizou-se o método antioxidante. Ao se analisar as estruturas com tautomerismo, estas apresentaram baixa capacidade antioxidante, por isso para desenvolver os derivados do muscimol utilizou-se o método de bioisosterismo, onde planejou-se compostos ou subunidades de substâncias bioativas com características estruturais semelhantes, além disso, com o estudo dos grupos que são responsáveis pela atividade biológica através do farmacóforo do muscimol, verificou-se que o grupamentos $-NH_2$, o anel isoxazol, bem como o oxigênio presente a carbonila são os grupos responsáveis por isso.

Na modelagem molecular, com o método DFT/B3LYP/6-311G (2p,2d), verificou-se que os valores de HOMO, LUMO, GAP, potencial de ionização, energia de dissociação de ligação, energia de transferência de hidrogênio e energia de transferência de elétron para o derivado S1 apresentou valores iguais a -7.61 eV, -1.36 eV, -6.25 eV, 205.87 kcal/mol, 80.81 kcal/mol, -15.45 kcal/mol e 6.99 kcal/mol, respectivamente e o derivado S2 apresentou valores de -6.80 eV, -1.08 eV, -5.2 eV, 198.41 kcal/mol, 77.73 kcal/mol, -18.53 kcal/mol e -0.47 kcal/mol, respectivamente e que ao serem comparados com o GABA, verificou-se que os mesmos possuem boa capacidade doadora de hidrogênio, onde o derivado S2 é nucleofílico, o derivado S1 apresenta menor valor de GAP, se comparado com o derivado S2, sendo mais reativo. No entanto, o derivado S1 apresenta baixa capacidade antioxidante por transferência de elétrons por seu alto valor de potencial de ionização.

Na síntese dos derivados regioisômeros do muscimol, estes possuíram rendimento para S1 de 74,08% e para S2 60,42% e que ao passarem por caracterização através do ponto de fusão, o derivado S1 apresentou ponto de fusão igual a 114,5°C – 115°C e o S2, 182,5°C e ao serem comparados com a literatura, verificou-se que o derivado S1 possui ponto de fusão igual a 114°C e o derivado S2 igual a 181-182°C, podendo afirmar que as moléculas estão puras, já que os pontos de fusão dos derivados estão bem próximos da literatura.

Com estes dados, pode-se afirmar que os derivados regioisômeros do muscimol propostos se tornam promissores, uma vez que ainda apresentam semelhança estrutural com o GABA, além dos baixos valores de energia de dissociação de ligação, baixos valores de GAP e LUMO e altos valores de HOMO, onde esses valores são pouco variáveis, demonstrando que ambos são reativos e de valores teóricos aproximados ao GABA, permitindo-os ter boa interação com o $GABA_A$, podendo atuarem como

sequestrantes de espécies oxidativas de oxigênio que promovem a oxidação da serotonina.

PERSPECTIVAS

Para projetos futuros serão propostos derivados regioisômeros do muscimol, onde a representação da reação futura está demonstrada na Figura 42.

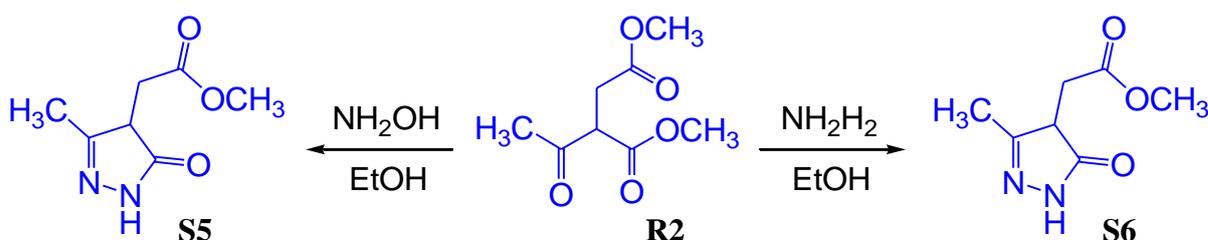


Figura 42: Síntese de novos derivados regioisômeros do muscimol. Fonte: Autor

Para estes derivados, se utilizará o dimetil-acetilsuccinato (estrutura R2) que, em contato com hidroxilamina na presença de etanol formará o derivado S5, e em contato com a hidrazina na presença de etanol formará o derivado S6. Pelo fato do anel pirazolona ser mais promissor, os derivados S5 e S6 o apresente na sua estrutura, onde se tem o radical metil para facilitar a absorção, distribuição destes nos organismos pelo fato de lhes conferir lipofilicidade.

Também é proposto a utilização da ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN) para melhor caracterização dos derivados, além dos testes *in vivo* em ratos e peixes para analisar se os efeitos terapêuticos comprovem os dados teóricos apresentados neste trabalho.

SÍNTESE DE PRÓ-FÁRMACOS

Os derivados propostos neste trabalho são classificados como pró-fármacos clássicos, já que apresentam atividade farmacológica inativa, porém ao entrar em contato com o organismo *in vivo*, haverá o processo de biotransformação enzimática ou química, transformando-os em fármacos farmacologicamente ativos.

No organismo *in vivo* haverá biotransformação (figura 43), onde os derivados vão sofrer oxidação enzimática, formando um grupo aldeído e, posteriormente, formando o composto farmacologicamente ativo com o grupo ácido carboxílico dispostos no carbono da posição 10 nos dois derivados (carbono em vermelho, Figura 42), dessa forma aumentando a sua biodisponibilidade no organismo, podendo agir

como um antioxidante capaz de sequestrar as espécies oxidativas de oxigênio que oxidam a serotonina.

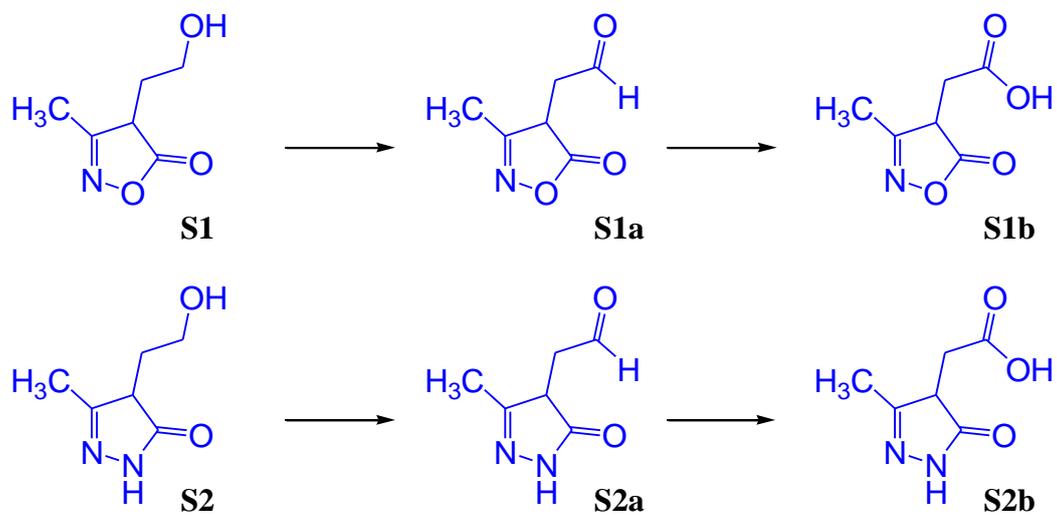


Figura 43: Síntese de pró-fármacos dos derivados S1 e S2, respectivamente. Fonte: Autor

REFERENCIAS

ALBERTONI, G.; SCHOR, N. Resveratrol desempenha importante papel no mecanismo de proteção na doença renal - mini-revisão. *Brazilian Journal of Nephrology*, vol. 37, n.1, p. 106-114, 2015.

ALÓE, F.; AZEVESO, A. P.; HASAN, R. Mecanismo do ciclo sono-vigília. *Revista Brasileira Psiquiátrica*, vol. 27, p. 33 – 39, 2005.

ALVES, J. C. F. Preliminary Studies towards the Preparation of Reactive 3-Pyrrolin-2-ones in Conjugate Addition Reactions for the Syntheses of Potentially Bioactive 2-Pyrrolidinones and Pyrrolidines. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, vol. 18, n. 4, 2007.

ANDREATINI, R.; LACERDA, R. B.; ZAZETTO, D. F. Tratamento farmacológico do transtorno de ansiedade generalizada: perspectivas futuras. *Revista Brasileira psiquiátrica*, vo. 4, n° 23, p. 233 – 242, 2001.

APÓSTOLO, J. L. A.; FIGUEIREDO, M. M.; MENDES, A. C.; RODRIGUES, M. A. Depressão, Ansiedade e Estresse em usuários de cuidados primários de saúde. *Revista latino – americana de enfermagem*, vol. 2, n° 19, p. 1 – 6, 2011.

ARROIO, A.; HONÓRIO, K. M.; SILVA, A. B. F. Propriedades Químico-Quânticas Empregadas em Estudos das Relações Estrutura-Atividade. *Química Nova*, vol. 33, n. 3, p. 694 – 699, 2010.

ARNCKEN, T. Johanniskraut (*Hypericum perforatum* L.) als lebendige Imagination der Depression. *Elemente der Naturwissenschaft*, n.73, p.43-74, 2000.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PSIQUIATRIA. *Transtornos de Ansiedade: Diagnóstico e Tratamento*, 2008.

ATKINS, P.; FRIEDMAN, R. *Molecular Quantum Mechanics*, 4th edition. Editora Oxford University Press Inc, 2005.

AVER, G. M.; KREUTZ, O. C.; SUYENAGA, E. S. Métodos de Obtenção de Fármacos Sob a Óptica da Química Medicinal. *Revista Conhecimento Online*, vol. 2, 2015.

AZZOLINE, N. Estudo dos efeitos dos conjuntos de base sobre a descrição da estrutura eletrônica molecular e do espalhamento elétron-molécula: H₂, N₂ e O₂. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Trabalho de conclusão de curso, Departamento acadêmico de química, 2016.

BARBOSA, D. R.; LENARDAN, L.; PARTATA, A. K. Kava-Kava (*Piper methysticum*): Uma revisão geral. *Revista Científica do ITPAC*, vol. 6, n. 3, p. 1 – 19, 2013.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. *Química Medicinal: As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos*. Artmed Editora S. A, 2015.

BERSIN, P. K.; WASER, P. G.; LANGEMANN, H.; LICHTENSTEIGER, W. Monoamines in the brain under the influence of muscimol and Ibotenic acid, two psychoactive principles of Amanita Muscaria. *Psychopharmacologic*, p. 1 – 10, vol. 18, 1970.

BORGES, R. S.; QUEIROZ, A. N.; MENDES, A. P. S.; ARAÚJO, S. C.; FRANÇA, L. C. S.; FRANCO, E. C. S.; LEAL, W. G.; SILVA, A. B. F. Density Functional Theory (DFT) Study of Edaravone Derivatives as Antioxidants. *International Journal of Molecular Science*, vol. 13, p. 7594-7606, 2012.

BORGES, R. S. *Química Farmacêutica Fundamental*, 1^o edição, 2017.

BORGES, R. S.; CASTLE, S. The antioxidant properties of salicylate derivatives: A possible new mechanism of anti-inflammatory activity. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, p. 1 – 4, 2015.

BRAGA, J. E. F.; PORDEUS, L. C.; SILVA, A. T. M. C.; PIMENTA, F. C. F.; M. F. F. M. DINIZ; ALMEIDA, R. N. Ansiedade patológica: bases neurais e avanços na abordagem psicofarmacológica. *Revista de Ciências da Saúde*, vol. 14, n^o2, 93 – 100, 2010.

BHREM, L.; KROGSGAARD-LARSEN, P.; HJEDS, H. Organic hydroxylane derivatives. IX* Structural analogues of GABA of the isoxzole enol-betaine type. Improved synthesis and the crystal structure of 3hydroxy-5-(2-aminoethyl)isoxazole zwitteron (Homomuscimol). *Acta Chemica Scandinavica B*, vol. 28, p. 308-316, 1974.

BRUNTON, L.; CHABNER, B.; KNOLLMAN, B. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 12th edition, Medical, 2010.

BRYK, F. R. Síntese Regiosseletiva de Cristais Líquidos Contendo o Heterociclo Isoxazol. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, 2008.

BURKE, K. Perspective on density functional theory. *The Journal of Chemistry Physics*, vol. 136, n^o15, 2012.

CAPALDO, L.; RAVELLI, D. Hydrogen atom transfer (HAT): A versatile strategy for substrate activation in photocatalyzed organic synthesis. *European Journal of Organic Chemistry*, p. 2056 – 2071, 2017.

CASTILHO, A. R. G. L.; RECONDO, R.; ASBAHR, F. R.; MANFRO, G. G. Transtornos de ansiedade. *Revista Brasileira Psiquiátrica*, vol. 22, n^o 2, São Paulo, 2000.

CERA, T. P.; PANCOTE, C. G. Planejamento de fármacos. *Revista Científica Unilago*, p. 137 – 148, 2003.

CHIAVATTO, R. D.; FUKUDO, E. Y.; FEDER, D.; NASSIS, C. Z. Fluoxetina ou *Hypericum perforatum* no tratamento de pacientes portadores de transtorno depressivo

mais leve ou moderada? Uma revisão. *Arquivo Brasileiro de Ciencia da Saúde*, vol. 36, n. 3, p. 168-175, 2011.

CUSTÓDIO, V. S. Métodos de química computacional aplicados ao estudo da estrutura eletrônica e propriedades espectroscópicas. Universidade Federal do ABC, projeto de iniciação científica, Santo André, 2017.

D'OCA, C. R. M.; MORO, C. C.; RUSSOWSKY, D.; SILVA, J. C.; D'OCA, M. G. M. Processo multicomponente para síntese de derivados graxos do ácido γ -aminobutírico (GABA) para fins farmacológicos e produtos. Universidade Federal do Rio Grande, República Federativa do Brasil, 2015.

FEITOSA, M. P.; BOHRY, S.; MACHADO, E. R. Depressão: Família e seu papel no tratamento do paciente. *Revista de Psicologia*, vol. 14, n° 21, 2001.

FILHO, R. F. G. P. B. Síntese, Capacidade Antioxidante e Estudo Comparativo entre Fenilhidrazonas e Chalconas como Derivados do Paracetamol. Universidade Federal do Pará, Dissertação de Mestrado, p. 1 – 69, 2014.

FLYNN, S.; BABI, M. A. Anticonvulsants. Chapter 12, p. 176 – 192 in *Pharmacology and Therapeutics for Dentistry*, 7th edition, 2017.

FORCHETTI, C. M.; MEEK, J. L. Evidence for a tonic GABAergic control of serotonin neurons in the median raphe nucleus. *Brain Research*, vol. 206, n.1, p. 208-212, 1981.

FORESMAN, J.B.; FRICH, A. *Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods*, 2° edition, 1996.

FORMAN, A. S.; CHOU J.; STRICHARTZ, G. R.; LO, E. H. Farmacologia da Neurotransmissão GABAérgica e Glutamatérgica in *Princípio de Farmacologia do Sistema Nervoso Central*. Editora Guanabara Koogan, 146-165, 2 ed, 2009.

GAJCY, L.; LOCHYNSKI, S.; LIBROWSKI, T. A. A role of GABA analogues in the treatment of neurological diseases. *Current Medicinal Chemistry*, vol. 17, n°22, p. 2338 – 2347, 2010.

GALVÃO, D. S.; SOOS, Z. G.; RAMASESHA, S.; ETEMAD, S. A parametric method 3 (PM3) study of trans-stilbene. *The Journal of Chemical Physics*, n°4, vol. 98, 3016-3021, 1993.

GARCÍA, F. B.; PEDROZA, C.; NAVARRO, J. F. Actualización del ácido gamma-hidroxi-butírico. *Revista de neurologia*, vol. 43, n° 1, p. 39 – 48, 2006.

GOLDBERG, J. S.; BELL JR, C. E.; POLLARD, D. A. Revisiting the monoamine hypothesis of depression: A new perspective. *Perspectives in Medicinal Chemistry*, vol. 6, p. 1-8, 2014.

GONÇALES, C. A. V.; MACHADO, A. L. Depressão, o mal do século: de que século? *Revista Enfermagem UERJ*, vol. 1, p. 298 – 304, 2007.

GONÇALVES, M. Revisão da correlação entre serotonina e interleucinas em pacientes acometidas com patologia oncológica da mama e transtornos depressivos. *Psychiatry online Brasil*, vol. 22, n. 10, 2017.

GUIDO, R. V.; ANDREICOPULO, A.D.; OLIVA, G., Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas. *Revista Estudos Avancados*. Vol. 24, n. 70, p.81-98, 2010.

GURGEL, L. V. A. Práticas de Química Orgânica. Universidade Federal de Ouro Preto, Instituto de Ciências Exatas e Biológicas, p. 1 -37, 2016. Disponível em : <http://professor.ufop.br/sites/default/files/legurgel/files/apostila_de_praticas_qui-703_2016_1.pdf>. Acesso: 09/06/2019.

HEARD, C. M. B.; FLETCHEN, J. E. Sedation and analgesia. Chapter 123 in *Pediatric Critical Care*, 4th edition, p. 1654-1681, 2011.

HEISS, J. D.; WALBRIDGE, S.; ARGERSINGER, D. P.; HONG, C.S.; RAY-CHAUDHURY, A.; LONSER, R. R.; ELIAS, W. J.; ZAGHLOUL, K. A. Convection-Enhanced Delivery of Muscimol Into the Bilateral Subthalamic Nuclei of Nonhuman Primates. *Neurosurgery*, p. 1-10, 2018.

HERRAIZ, T.; GUILLÉN, H. Monoamine Oxidase-A Inhibition and Associated Antioxidant Activity in Plant Extracts with Potential Antidepressant Actions. *BioMed Research International*, vol. 1, p. 1- 10, 2018.

HIDRATA, L. L.; SATO, M. E. O.; SANTOS, C. A. M. Radicais livres e o envelhecimento cutâneo. *Acta Farmacéutica Bonaerense*, vol. 23, n. 3, p. 418-424, 2004.

HYPERCHEM 8. Feature Summary: The First Choice for PC-based Molecular Modeling.

HONORÉ, T.; BREHM, L. 3-aminomethyl-5-isoxazolol monohydrate (Isomuscimol). *Acta Crystallographica Section B*, vol. 34, p. 3417-3419, 1978.

JACOB, T. C.; MOSS, S. J.; JURD, R. GABAA receptor trafficking and its role in the dynamic modulation of neuronal inhibition. *Nature*, vol. 9, p. 331 – 343, 2008.

JARVIS, M. F. Pregabalina. Elsevier, p. 1 – 4, 2017.

JARVIS, M. T.; DAVIS, I. Gabapentina. Elsevier, 2017.

JOHANNESSEN, S. I. Therapeutic drug monitoring of antiepileptic drugs. Capítulo 9, p. 221 – 253 in *Drug Monitoring and Clinical Chemistry Handbook of Analytical Separation*, Henpel G., vol. 5, 2004.

JOHNSTON, G. A. R. GABAA Receptor Channel Pharmacology. *Current Pharmaceutical Design*. 11, 1867-1885, 2005.

KALUEFF, A. V.; NUTT, D. J. Role of GABA in anxiety and depression. *Depression and Anxiety*, vol. 24, 495 – 517, 2007.

KROGSGAARD-LARSEN, P.; HJEID, H.; CURTIS, D. R.; LODGE, D.; JOHNSTON, G. A. R. Dihydromuscimol, thiomuscimol and related heterocyclic compounds as GABA analogues. *Journal of Neurochemistry*, vol. 32, p. 1717-1724, 1979.

LAPIM, I. Phanibut (β – Phenyl – GABA): A tranquilizer a nootropic drug. *CNS drug reviews*, vol. 7, n. 4, p. 471 – 481, 2001.

LEVITON, M. N.; CHAGAS, M. H. N.; CRIPPA, I. A. S. MATO, G. G.; HETEM, L. A. B.; ANDRADE, N. C.; SALUM, C. A.; ISOLAN, L.; FERRARI, M. C.; NARD, A. E. Diretrizes da Associação Médica Brasileira para o tratamento do transtorno de ansiedade social. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, vol. 33, n° 31, 2011.

LEWARS, E. G. *Computational Chemistry: Introduction to the Theory and Applications of Molecular and Quantum Mechanics*. 2° edition, Editora New York, Springer, 2011.

LIMA, N. H. Q.; OLIVEIRA, L. V.; COELHO, A. L.; DANTAS, C. Estudo Teórico da Atividade Antioxidante de Compostos Fenólicos do Buriti (*Mauritia Flexuosa* L. F.) por Diferentes Mecanismos Vista por DFT. 58° Congresso Brasileiro de Química, São Luís, 2018. Disponível em: < <http://www.abq.org.br/cbq/2018/trabalhos/3/1738-26800.html> > Acessado em: 30/10/2019.

LOBATO, C. C.; SILVA, E. H.; VIEIRA, J. B.; MACEDO, W. J. C.; COSTA, E. V. M; CARVALHO, J. C. T; SANTOS, C. B. R. Estudo computacional da reatividade dos produtos isoméricos em reações de halidrificação através da análise dos orbitais de fronteira-HOMO E LUMO . 52° Congresso Brasileiro de Química, Recife, 2012.

LUO, S.; WEI, Z.; DIONYSIOU, D. D.; SPINNEY, R.; HU, W. P.; CHAI, L.; YANG, Z.; YE, T.; XIAO, R. Mechanistic insight into reactivity of sulfate radical with aromatic contaminants through singe-electron transfer pathway. *Chemical Engineering Journal*, vol. 327, p. 1056 – 1065, 2017.

MACDONALD, R. L.; OLSEN, R. W. GABAA Receptor Channels. *Annual Reviews Neuroscience*. 17, 569-602, 1994.

MACHADO-VILIO, R.; BRESAN, R. A.; FREY, B.; SOARES, J. C. As bases neurobiológicas do transtorno bipolar. *Revista de Psiquiatria Clínica*, vol. 32, p. 28 – 33, 2005.

MARINGOLO, M. P. Um estudo sobre o emprego de funções de base Guassianas geradas pelo método da coordenada geradora em cálculos de propriedades eletrônicas de átomos e moléculas. Universidade de São Paulo, 2014.

MARTIM, D. M. Ação Antioxidante e Neuroprotetora de Compostos Pirazolínicos Inéditos. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Maria, 2008.

McMILLEN, D. F.; GOLDEN, D. M. Hydrocarbon Bond Dissociation Energies. *Annual Review of Physical Chemistry*, n°1, vol. 33, 493-532, 1982.

MICHELOT, D.; MELENDEZ – HO WELL, L. M. *Amanita muscaria: Chemistry, biology, toxicology and ethnomycology*. The British mycological society, vol. 107, n° 2, 131 – 146, 2003.

MINNELLI, C.; LAUDADIO, E.; GALEAZZI, R.; RUSCIANO, D.; ARMENI, T.; STIPA, P.; CANTARINI, P.; MOBBILI, G. Synthesis, Characterization and Antioxidant Properties of a New Lipophilic Derivative of Edaravone. *Antioxidants*, vol. 8, n. 8, 2019.

MORENO, R. A.; MORENO, D. H.; SOARES, M. B. M. Psicofarmacologia de Antidepressivos. *Revista Brasileira Psiquiátrica*, vol. 21, p. 24 - 40, 1999.

MORGAN, N. H. CUSTÓDIO, R. Teoria do funcional de densidade. *Química Nova na Escola*, vol. 18, n° 1, p. 44 – 55, 1995.

MILENKOVIĆ, D.; ĐOROVIĆ, J.; PETROVIĆ, V.; AVDOVIĆ, E.; MARKOVIĆ, Z. Hydrogen atom transfer versus proton coupled electron transfer mechanism of gallic acid with different peroxy radicals. *Reaction Kinetics, Mechanisms and Catalysis*, vol. 123, issue 1, p. 215 – 230, 2018.

MODESTIA, S. M. Construção de farmacóforo para o receptor AT1 baseado em agonistas enviesados, um estudo de modelagem molecular. Trabalho de Conclusão de Curso da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, 2014.

NEQUIMED. Grupo de estudos em Química Medicinal, 2012. Disponível em: <<http://nequimed.iqsc.usp.br/blogs-medchem/verbetes-em-planejamento-molecular/f/>>

NIELSEN, M.; WITT, M. R.; EBERT, B.; KROGSGAARD-LARSEN, P. Thiomuscimol, a new photoaffinity label for the GABAA receptor. *European Journal of Pharmacology, Molecular Pharmacology Section*, vol. 289, p. 109-112, 1995.

OLIVEIRA, A. S. Síntese de derivados da lausona, carvacrol, 1 – hidroxipirazol e suas atividades biológicas. Tese de doutorado, Universidade Federal d Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Florianópolis, 2014.

OLIVEIRA, D. A. A. P.; GOMES, L.; OLIVEIRA, R. F. Prevalência de depressão em idosos que frequentam centros de convivência. *Revista de Saúde Pública*, vol. 40, n° 4, 734 – 736, 2006.

OLIVEIRA, G. L. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH•: estudo de revisão. *Revista Brasileira de plantas medicinais*, vol. 17, n. 1, p. 36-46, 2015.

O'BOYLE, N.M.; TENOLENHOLT, A. L.; LANGNER, K. M. Software News and Updates Cclib: A Library for Package – Independent Computational Chemistry, vol. 29, n° 5, p. 839 – 845, 2008.

ORTOLAN, A. O. Apostila de práticas de química computacional. Trabalho de Conclusão de Curso. Curso de licenciatura em Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2014.

PAULINO, C. A.; PREZOTTO, A. O.; CALIXTO, R. F. Associação entre estresse, depressão e tontura: uma breve revisão. *Revista Equilíbrio Corporal e Saúde*, vol. 1, 33 – 45, 2009.

PEDROZA, A. C. Teoria do funcional da densidade: Uma possível solução para o problema de muitos elétrons da mecânica quântica. *Physical Organum*, vol. 2, nº 1, 2016.

PEREIRA, A. M. Estudo AB-INITIO e DFT das nitrosaminas. Universidade Federal da Paraíba, 2008.

PEREIRA, D. H.; LA PORTA, F. A.; SANTIAGO, R. T.; GARCIA, D. R.; RAMALHO, T. C. Novas Perspectivas sobre o Papel dos Orbitais Moleculares de Fronteira no Estudo Da Reatividade Química: Uma Revisão. *Revista Virtual de Química*, vol. 8, n. 2, 425 – 453, 2016.

PESARICO, A. P. Envolvimento dos sistemas serotoninérgico e dopaminérgico na ação do tipo antidepressiva do 7-flúor-1,3-difenilisoquinolina-1-amino em camundongos. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Maria, 2014.

POPLE, J. A.; FRISCH; BINKLEY, J. S. Self-consistent molecular orbital methods 25. Supplementary mentions for Gaussian basis sets. *The Journey of Chemical Physics*, vol. 80, n. 7, p. 3265-3269, 1984.

PURVES, D.; AUGUSTINE, G. J.; FRITZPATRICK, D.; HALL, W. C.; LAMANTIA, A. S.; MCNAMARA, J. O.; WHITE, L. E. *Neurociências*, 4º edição, 2005.
PUSCHER, B. *Mushroom Toxins. Veterinary Toxicology*, 3rd edition, p. 955-966, 2018.

RAMSOM, C. B.; RICHERSON, G. B. GABA transporters as targets of antiepileptic drugs, p. 66 – 73 in *Encyclopedia of Basic Epilepsy Research*, 2009.

QUEIROZ, A. N.; GOMES, B. A. Q.; MORAES, W. M.; BORGES, R. S. A theoretical antioxidante pharmacophore for resveratrol. *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 44, p. 1644 – 1649, 2009.

RANG, H. P.; DALE, M. M. *Farmacologia*. Elsevier Editora, 6º edição, 2007.

RODRÍGUEZ-LOZADA, J.; TOVAR-GUDIÑO, E.; GUEVARA-SALAZAR, J. A.; RAZO-HERNÁNDEZ, R. S.; SANTIAGO, A.; PASTOR, N.; FERNÁNDEZ-ZERTUCHE, M. QSAR and Molecular Docking Studies of the Inhibitory Activity of Novel Heterocyclic GABA Analogues over GABA-AT. *Molecules*, vol. 23, p. 1-31, 2018.

RIDD, M. J.; CHEN, K.; SHIH, J. Monoamine oxidase: From genes to behavior. *Annual review neuroscience*, vol. 22, p. 197-217, 1999.

ROSSI, L.; TIRAPEGUI, J. Implicações do sistema serotoninérgico no exercício físico. *Arquivo Brasileiro de Endocrinologia metabólica*, vol. 48, n. 2, p. 227-233, 2004.

SAMOKHVALOV, A. V.; PATON – GAY, C. L.; BALCHAND, K.; REHM, J. Phenibut dependence. Case report, p. 1 – 3, 2013.

SANT'ANNA, C. M. R. Métodos de Modelagem Molecular para estudo e planejamento de compostos bioativos: Uma introdução. *Revista Virtual de Química*, vol. 1, nº1, p. 49 – 57, 2009.

SILVA, T. F. Abordagens da Química Medicinal para o Planejamento de Protótipos de Fármacos. *Revista Virtual de Química*, vol. 5, nº 5, p. 921 – 933, 2013.

SOUZA, R. Química VII – UFRJ. Fundação CECIERJ, vol. 1, Rio de Janeiro, 2012.

SZPOGANICZ, B.; DEBACHER, N. A.; STADLER, E. Experiências de Química Geral. *Fundação do Ensino da Engenharia em Santa Catarina*: p.151, 2001.

SZYMUSIAK, H.; ZIELIŃSKI, R. Bond Dissociation Enthalpy of Phenolic Antioxidants. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, vol. 12, p. 129 – 135, 2003.

TANG, J.; DUNLOP, R. A.; ROWE, A.; RODGENS, K. J.; RAMZER, I. Kavalactones yanonin and methysticin induce apoptosis in human hepatocytes (Hep G2) in vitro. *Phytotherapy research*, vol. 25, p. 417 – 423, 2011.

TELLO, A. C. M. Geração de conjuntos de funções de base gaussiana para metais de transição do Sc-Zn a partir do método de coordenada geradora Polinomial. *Instituto de São Carlos*, 2016.

TESCHKE, R.; LEBOT, V. Proposal for a Kava Quality Standardization Code. *Food and Chemical Toxicology*, vol. 49, p. 2503 – 2516, 2011.

TIANSAWANG, K.; LUANGPITUKSA, P.; VARANYANDND, W.; HANSAWASDI, C. GABA (γ -aminobutyric acid) production, antioxidant activity in some germinated dietary seeds and the effect of cooking on their GABA content. *Food Science Technology*, vol. 36, n. 2, p. 313-321, 2016.

TIRADO-RIVES, J.; JORGENSEN, W. L. Performance of B3LYP Density Functional Methods for a Large Set of Organic Molecules. *Journal of Chemical Theory and Computation*, vol. 4, p. 297 - 306, 2008.

THIEL, W. Perspectives on semi-empirical molecular orbital theory. *Theoretical Advances in Chemical Physics in Advances in Chemical Physics: New Methods in Computacional Quantum Mechanics*, 703-757, vol. 93, 2007.

VASCONCELOS, T. B.; CARDOSO, A. R. N. R.; JOSINA, J. B.; MACENA, R. M. M.; BASTOS, V. P. D. Radicais Livres e Antioxidantes: Proteção ou Perigo. UNOPAR Cient. Ciênc. Biol. Saúde, vol. 16, n° 3, p. 213 – 219, 2014.

VEIROS, I.; MARTINS, L.; MARTINS, F. O baclofeno intratecal no tratamento da espasticidade. Acta médica portuguesa, n°19, p. 217-224, 2006.

VIANA, M. B. FREUD e DARWIN: ansiedade como sinal, uma resposta adaptativa ao perigo. Revista Natureza Humana, vol. 12, n. 1, p. 163 – 196, 2010.

VITAL, D. G. Planejamento, síntese e avaliação biológica de análogos bioisostéricos da nitrofurazona: variações de anéis (pirrol e 4-dimetilaminobenzil) e cadeias laterais (semicarbazona, tiossemicarbazona e aminoguanidina). Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, dissertação de mestrado, 2013.

VIZZOTO, E. Radicais livres e mecanismo de proteção antioxidante. Disciplina de Fundamentos Bioquímicos dos transtornos metabólicos. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p. 1 – 10, 2017.

XUE, Y.; ZHENG, Y.; AN, L.; DOU, Y.; LIU, Y. Density functional theory study of the structure–antioxidant activity of polyphenolic deoxybenzoins. Food Chemistry, vol. 151, p. 198 – 206, 2014.

ZHANG, G.; MUSGRAVE, C. B. Comparison of DFT methods for molecular orbital eigenvalue calculations. Journal of Physical Chemistry A, n°8, vol. 111, 1554-1561, 2007.

WANG, J.; QU, W.; BITTENBENDER, H. C.; LI, Q. X. Kavalactone content and chemotype of kava beverages prepared from roots and rhizomes of Isa and Mahakea varieties and extraction efficiency of kavalactones using different solvents. Journal of Food Science and Technology, vol. 52, n. 2, 2015.

WAMHOFF, H.; KORTE, F. Heterocycles by capture reactions of opened acyl lactones. II. 4,4-Ethylene-5-pyrazolones and 3-methyl-4,4-ethylene-5-isoxazolones by cyclization of 4-(2-hydroxyethyl)-5-pyrazolones and 3-methyl-4-(2-hydroxyethyl)-5-isoxazolones. Chemische Berichte, vol. 99, n. 9, p. 2962-2970, 1966. Disponível em: <scifinder.cas.org/scifinder/view/scifinderExplore.jsf>

WINTER, E. Influência de compostos carboxílicos e íons metálicos na degradação de neurotransmissores. Tese de doutorado, UNICAMP, 2007.

WRIGHT, J. S.; JOHNSON, E. R.; DILABIO, G.A. Predicting the activity of phenolic antioxidants: theoretical method. analysis of substituent effects. and application to major families of antioxidants. J. Am. Chem. Soc., vol.123. n° 6, p.1173-1183, 2001