Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro, v.01, 2025
ISSN 2178-6925
DOI: 10.61164/remunom.v1i1.3334

# DESENVOLVIMENTO IN SILICO DE MOLÉCULAS ANÁLOGAS AO DIAZEPAM E ESTUDO COMPARATIVO DOS PARÂMETROS FARMACOLÓGICOS E TOXICOLÓGICOS

# IN SILICO DEVELOPMENT OF DIAZEPAM ANALOGOUS MOLECULES AND COMPARATIVE STUDY OF PHARMACOLOGICAL AND TOXICOLOGICAL PARAMETERS

**Antônio Uéliton Rodrigues Silva Júnior**
Acadêmico em Farmácia, Centro Universitário Santo Agostinho, Brasil
E-mail: uelitonjrjr@hotmail.com

**Joubert Aires de Sousa**
Docente da Universidade Estadual do Piauí (Centro de Ciências da Saúde) e do Centro Universitário Santo Agostinho de Teresina/PI, Farmacêutico habilitado em análises clínicas pela UFPI, Mestre em farmacologia (UFPI), Especialista em Farmacologia (UFLA-MG), Doutor em Biologia Molecular e Celular na área farmacológica e toxicológica (ULBRAS-RS), Brasil
E-mail: airesjoubert@yahoo.com.br

**RESUMO**

Acredita-se que os benzodiazepínicos estejam entre as classes de medicamentos mais usadas no mundo, o Diazepam faz parte dessa classe de medicamentos a qual é responsável por tratar sintomas de ansiedade, agitação e insônia de grande parte da população. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo de fazer modificações na molécula do Diazepam para se obter moléculas análogas com melhor perfil farmacológico e toxicológico, com intuito de ampliar o arsenal terapêutico para o tratamento da ansiedade. Assim, desenhou-se as moléculas utilizando o software ACD/ChemSketch, onde também foram feitas as modificações moleculares, sendo que as moléculas foram salvas, otimizadas e exportadas no formato 3D e importadas para as plataformas de análise Swiss target Prediction, PreADMET e ProTox-3. As moléculas análogas apresentam uma probabilidade de ligação superior a 50%, contudo inferior ao Diazepam. Também evidenciou-se que as moléculas análogas apresentaram uma pequena diminuição na capacidade de atravessar a barreira hemato encefálica, apresentaram médio risco de causar arritmia, não foram mutagênicas nas cepas TA1535 (exceto as moléculas ACl, AC e AF), já entre os metabolitos de todas as substâncias nenhum apresentou alterações em mutagenicidade, contudo nas cepas de TA100 todas as moléculas apresentaram mutagenicidade. A maioria dos análogos apresentaram uma dose letal superior ao Diazepam, conferindo uma margem de segurança superior ao Diazepam. Foi notado que a maioria das moléculas derivadas do Diazepam possuíram um bom perfil farmacológico e toxicológico, sendo que a molécula ACL2 foi o análogo com melhor perfil.

**palavras chave**: *diazepam; in sílico; ansiedade*.

Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro, v.01, 2025
ISSN 2178-6925
DOI: 10.61164/remunom.v1i1.3334

**ABSTRACT**

Benzodiazepines are believed to be among the most used classes of drugs in the world, Diazepam is part of this class of drugs which is responsible for treating symptoms of anxiety, agitation and insomnia in a large part of the population. In this context, the present study aimed to make modifications in the Diazepam molecule to obtain analogous molecules with a better pharmacological and toxicological profile, in order to expand the therapeutic arsenal for the treatment of anxiety. Thus, the molecules were designed using the ACD/ChemSketch software, where the molecular modifications were also made, and the molecules were saved, optimized and exported in 3D format and imported to the Swiss target Prediction, PreADMET and ProTox-3 analysis platforms. Analogous molecules have a higher than 50% probability of binding, but lower than Diazepam. It was also evidenced that the analogous molecules showed a small decrease in the ability to cross the blood-brain barrier, presented a medium risk of causing arrhythmia, were not mutagenic in the TA1535 strains (except the molecules ACl, AC and AF), while among the metabolites of all substances none showed mutagenicity changes, however in the TA100 strains all molecules showed mutagenicity. Most analogues had a higher lethal dose than Diazepam, giving a higher safety margin than Diazepam. It was noted that most of the molecules derived from Diazepam had a good pharmacological and toxicological profile, and the ACL2 molecule was the analogue with the best profile.

**Key words:** *diazepam; In Silico; Anxiety.*

## 1. INTRODUÇÃO

Compreende-se os benzodiazepínicos (BZDs) como drogas psicotrópicas do subgrupo dos ansiolíticos, ao qual atuam em todo sistema nervoso central (SNC) através da transmissão sináptica inibitória modulando o receptor subtipo A do ácido gama-aminobutírico ($GABA_A$). São classificados quanto sua meia vida plasmática em ação intermediária, curta ação ou longa ação, sendo essa característica de grande valor na escolha individualizada da prescrição médica ao paciente (FARIA, 2019).

Segundo a Diretriz Brasileira de Psiquiatria, cerca de 50% dos indivíduos que recorrem aos fármacos desta classe ao longo de um ano têm risco aumentado de síndrome de abstinência, além de queda da capacidade de trabalho e maior gasto com internações, consultas e exames. A literatura revela que apenas 1,9% das prescrições para adultos e 5,8% para idosos são adequadas, o que chama a atenção tanto para erros relacionados à indicação desses medicamentos, quanto para falta de protocolos que orientem a renovação de receitas, frequência de uso, doses preconizadas, e principalmente, duração do tratamento (CAMARGO, et al 2023).

O medicamento diazepam é um princípio ativo do grupo farmacológico das benzodiapezinas, do qual é o mais representativo, sendo por muitos considerado a molécula modelo deste grupo. É amplamente utilizado no tratamento de transtornos

Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro, v.01, 2025
ISSN 2178-6925
DOI: 10.61164/remunom.v1i1.3334

de ansiedade e outros distúrbios psicológicos e físicos associados às mesmas. A farmacocinética do diazepam vem sendo estuda desde os anos setenta do século XX e tem sido modelada por recurso a vários tipos de modelos farmacocinéticos (SILVA, 2013).

O uso indiscriminado dos BZD's favorece o surgimento de efeitos indesejáveis e nocivos à saúde do paciente como a dependência, tolerância e abstinência. Segundo o Relatório sobre Substâncias Psicotrópicas para 2011, do International Narcotics Control Board (INBC), o Diazepam é o BZD's mais comercializado em todas as regiões do mundo. Ressalta-se também que, o Brasil, é o segundo maior consumidor de Clonazepam do mundo, estando atrás apenas dos EUA (SILVA, et al 2015; SANTOS, 2014).

O uso dessas substâncias sem o devido acompanhamento por profissional habilitado pode resultar em uma série de problemas de saúde como: tolerância, dependência, interações medicamentosas, intoxicação, além de ser fator de risco e via para o uso de outras drogas. Por fim, é importante salientar que o abuso de drogas, incluindo os benzodiazepínicos, é um fenômeno social que nos apresenta um grave problema de saúde pública, podendo se prever que esse consumo irá aumentar com o tempo (SAVALA & JUNIOR 2022).

Em meados da década de 1960, foi lançado comercialmente o composto pioneiro dos benzodiazepínicos (BZDs), o clordiazepóxido. Devido à sua baixa aderência comercial, ocorreu a síntese de diversos derivados a partir de 30 modificações estruturais. Desde então, houve novas descobertas de compostos desta classe, incluindo os de ação rápida (ex: midazolam), ação prolongada (ex: lorazepam) e ação intermediária (ex: diazepam). Estima-se que os BZDs são a classe de fármacos mais prescritos e utilizados em todo mundo (MARTINS, 2019).

A inserção de um novo medicamento no mercado pode ser demorada e dispendiosa até que se prove sua segurança e eficácia. O desenvolvimento de abordagens in silico otimiza o tempo e os gastos necessários para trazer um medicamento para o mercado. Tornando os perfis de absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade (ADMET) previsíveis, o qu e resulta em um processo rápido de descoberta de medicamentos (WANG et al., 2015; DIRAR et al., 2016).

Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro, v.01, 2025
ISSN 2178-6925
DOI: 10.61164/remunom.v1i1.3334

O processo de descoberta e desenvolvimento de fármacos é complexo, longo e de alto custo, tendo suas raízes profundamente ligadas às inovações científicas e tecnológicas. Os avanços expressivos da Química, Biologia e a melhor compreensão de vias bioquímicas, alvos moleculares e de mecanismos que levam ao aparecimento e desenvolvimento de doenças, tornaram possível a descoberta de inovações terapêuticas notáveis, proporcionando melhorias significativas na qualidade de vida das diversas populações no mundo (DANIELLA & QUEIROZ, 2022).

Em meio às transformações da sociedade e questionamentos sobre a necessidade do uso de animais em pesquisa, a utilização de métodos alternativos faz-se cada vez mais necessária. Diversos países reavaliaram as regulamentações vigentes a fim de substituir, reduzir ou refinar o uso de métodos in vivo. A abordagem in silico vem desempenhando um papel importante na pesquisa tanto pela questão ética, quanto pelas questões econômica e de logística. Empregando simulações computacionais, é possível prever parâmetros físico-químicos e de absorção, distribuição, metabolização, excreção e toxicidade (ADMET) das substâncias de interesse (PESSÔA, 2021). Esse trabalho tem como objetivo investigar a disponibilidade de novos fármacos a partir de modificações moleculares do diazepam através de plataformas e ferramentas in silico.

## 2. METODOLOGIA

Inicialmente foi pesquisado o modelo da estrutura molecular do diazepam na plataforma ChemSpider, em seguida desenhou-se a molécula estrutural do Diazepam no software ACD/Chemsketch, onde foi realizado a otimização e a exportação da molécula em formato 3D. Na mesma plataforma também foram desenhadas, otimizadas e exportadas as moléculas análogas do Diazepam.

A molécula do Diazepam e as moléculas derivadas da modificação molecular foram importadas para a plataforma Swiss Target Prediction, onde foram analisados os alvos moleculares e avaliado a probabilidade de ligação ao alvo, sendo que apenas as moléculas com mais de 50% de probabilidade de ligação de acordo com a plataforma foram consideradas nesse trabalho e importadas para as plataformas seguintes.

Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro, v.01, 2025
ISSN 2178-6925
DOI: 10.61164/remunom.v1i1.3334

Da mesma forma as moléculas também foram importadas para a plataforma PreADMET a fim da obtenção dos dados relacionadas as propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e toxicológicas. Por fim a molécula o Diazepam e as moléculas derivadas da modificação molecular foram importadas para plataforma ProTox-3 com a finalidade de obtenção de mais informações relacionadas aos parâmetros de toxicidade.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As imagens abaixo são referentes as estruturas moleculares do Diazepam e das modificações realizadas a partir da molécula do Diazepam que foram usadas nesse trabalho.

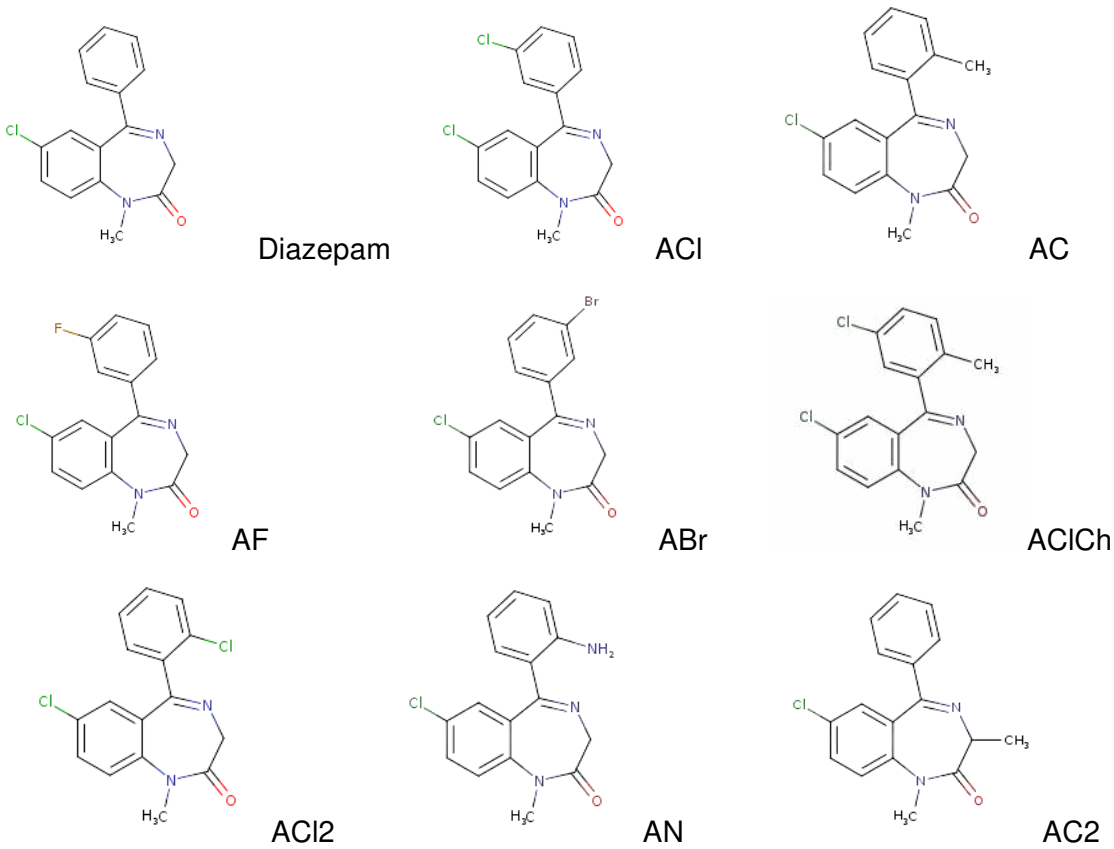


**Figura 1.** Estrutura química do Diazepam e das modificações moleculares realizadas a partir da molécula do Diazepam, desenhado no software ACD/ChemSketck.

Segundo a literatura, a introdução de grupamentos metila geralmente aumenta a hidrofobicidade do composto e reduz a sua solubilidade em água, essa

Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro, v.01, 2025
ISSN 2178-6925
DOI: 10.61164/remunom.v1i1.3334

introdução irá facilitar a absorção de análogos pela membrana biológica. A incorporação de átomo de halogênio num protótipo resulta em análogos que são mais hidrofóbicos, por conseguinte menos solúveis em água, em consequência os átomos de halogênio são usados para melhorar a penetração nas membranas lipídicas. Já a presença de grupos básicos como nitrogênio formara sais nos meios biológicos, a adição desses grupamentos básicos irá resultar em um análogo com baixa hidrofobicidade, porém uma solubilidade em água aumentada. Isso significa que quanto mais básico for um análogo, maior a sua probabilidade de formar sais, e menor a probabilidade de ser transportado através de uma membrana lipídica (THOMAS, 2003).

Assim na figura 1 acompanha-se as moléculas AC e AC2 onde foram adicionados um metil em diferentes posições, dessa forma as moléculas apresentam maior hidrofobicidade que a molécula do Diazepam. Na figura 1 as moléculas ACl, ACl2 e AClCh com adição de cloro em diferentes posições, AF onde foi adicionado flúor e ABr a qual foi adicionado Bromo, são todas molécula a qual foram adicionados átomos de halogênio a qual espera-se que os análogos sejam mais hidrofóbicos e com maior penetração de barreiras lipídicas se comparado a molécula do Diazepam.

Ainda na figura 1 encontra-se a molécula NA no qual foi adicionado nitrogênio onde é esperado que a molécula seja menos hidrofóbica e possua uma maior solubilidade em água se comparado ao Diazepam.

**Tabela 1**. Quadro referente a regra de Lipinski aplicada ao Diazepam e nas modificações moleculares de acordo com a plataforma ProTox-3.

| Parâmetros | Log P | Massa molecular | Número de aceitadores de hidrogênio | Número de doadores de hidrogênio | Refratividade molecular | Área de superfície polar topológica |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Moléculas** | | | | | | |
| **Diazepam** | **2.65** | **284,74** | **3** | **0** | **87.95** | **32.67** |
| **ACl** | **3.31** | **319,19** | **3** | **0** | **92.96** | **32.67** |
| **AC** | **2.96** | **298,77** | **3** | **0** | **92.92** | **32.67** |
| **AF** | **2.7** | **302,73** | **3** | **0** | **87.91** | **32.67** |

Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro, v.01, 2025
ISSN 2178-6925
DOI: 10.61164/remunom.v1i1.3334

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **ABr** | **3.49** | **363,64** | **3** | **0** | **95.65** | **32.67** |
| **AClCh** | **3.62** | **333,21** | **3** | **0** | **97.93** | **32.67** |
| **ACl2** | **3.31** | **319,19** | **3** | **0** | **92.96** | **32.67** |
| **AN** | **2.82** | **299,76** | **4** | **1** | **92.36** | **58.69** |
| **AC2** | **3.04** | **298,77** | **3** | **0** | **92.76** | **32.67** |

De acordo com a regra dos 5 de Lipinski são propriedades moleculares relevantes: o log P, o número de doadores de ligações de hidrogênio, o número de aceptores de ligações de hidrogênio, o peso molecular, bem como, os pontos de interação para os principais alvos de fármacos. A regra dos 5 de Lipinski propõe que a má absorção ou permeação é mais provável quando a molécula possui mais que 5 doadores de ligação de hidrogênio, mais que 10 aceptores de ligação de hidrogênio, peso molecular maior do que 500 daltons e log P calculado (Clog P) maior do que 5, sendo todos os parâmetros múltiplos de cinco (SANTOS; GONSALVES; ARAÚJO, 2018). A regra de Lipinski tem como função prever se uma droga possui a capacidade de se tornar um fármaco com boa biodisponibilidade oral, estimando permeabilidade e solubilidade frente ao organismo humano (LIPINSKI et al., 2001).

Na tabela 1 foi avaliado a regra de lipinski, ao qual nota-se tanto o diazepam quanto as demais moléculas atenderam as exigências da regra de lipinski sendo assim um resultado satisfatório onde se pode deduzir que todas as moléculas apresentaram condições adequadas para uso oral. O tamanho da área de superfície polar influencia a absorção intestinal e são considerados ideais os valores de TPSA menores ou iguais a 140 Å2 (VEBER et al, 2002). Na tabela 1 foi avaliado a área de superfície polar topológica e foi notado que todas as moléculas estão abaixo do valor de 140 Å2 que segundo lipinski são resultados favoráveis a uma boa absorção intestinal tanto do diazpam quanto das moléculas derivadas do Diazepam.

A refratividade molecular de uma molécula é a habilidade de uma molécula deslocar sua densidade eletrônica (FRANÇA, 2024). O valor da refratividade molecular ponderada, pode ser um indicador do surgimento de liomesofases

Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro, v.01, 2025
ISSN 2178-6925
DOI: 10.61164/remunom.v1i1.3334

(BARBOSA, 1995). Na tabela 1 também foi avaliado a refratividade molecular comparando-as com a do diazepam e foi encontrado que todas as moléculas possuem uma refratividade molecular superior ao do diazepam, o que torna esse um resultado favorável para as demais moléculas já que possuem uma chance menor de reagir a presença de luz se comparado ao Diazepam, exceto a AF que apresenta o mesmo resultado que o diazepam.

**Tabela 2**. Comparação da probabilidade de ligação ao alvo, do diazepam e das modificações moleculares, segundo a plataforma Swiss Target Prediction.

| Moléculas | Diazepam | ACl (%) | AC (%) | AF (%) | ABr (%) | AClCh (%) | ACl2 (%) | AN (%) | AC2 (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Alvos** | | | | | | | | | |
| **Subunidade alfa 1 do receptor GABA** | **100** | **99** | **60** | **56** | **52** | **55** | **69** | **60** | **53** |
| **Receptor GABA-A alfa-3/ beta-3/ gama 2** | **100** | **99** | **60** | **56** | **52** | **55** | **69** | **63** | **59** |
| **Receptor GABA-A alfa-1/ beta-3 /gama-2** | **100** | **99** | **60** | **56** | **52** | **55** | **69** | **63** | **59** |
| **Receptor GABA-A alfa-5/ beta-3/ gama-2** | **100** | **99** | **60** | **56** | **52** | **55** | **69** | **63** | **59** |
| **Receptor GABA-A alfa-2/ beta-3/ gama-2** | **100** | **99** | **60** | **56** | **52** | **55** | **69** | **63** | **59** |
| **Receptor GABA-A alfa-1/beta-2/ gama-2** | **100** | **99** | **60** | **56** | **52** | **55** | **69** | **60** | **53** |
| **Receptor GABA-A; alfa-3/beta-** | **100** | **99** | **60** | **56** | **52** | **55** | **69** | **60** | **53** |

Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro, v.01, 2025
ISSN 2178-6925
DOI: 10.61164/remunom.v1i1.3334

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **2/gama-2** | | | | | | | | | |
| **Receptor de adenosina A3** | **100** | **99** | **60** | **56** | **52** | **55** | **69** | **60** | **53** |
| **Subunidade alfa-5 do receptor GABA** | **100** | **99** | **60** | **56** | **52** | **55** | **69** | **60** | **53** |
| **Proteína de ligação a ácidos graxos, fígado (por homologia)** | **100** | **99** | **60** | **56** | **52** | **55** | **69** | **60** | **53** |
| **Proteína translocadora (por homologia)** | **100** | **99** | **60** | **56** | **52** | **55** | **69** | **60** | **64** |

O GABA liga-se ao receptor em um sítio de ligação entre as subunidades α e β. Os benzodiazepínicos modulam a função do receptor $GABA_A$ se ligando a um sítio diferente situado entre as subunidades α1 e α2 e a partir dessa ligação ocorrem efeitos conhecidos como atividades ansiolíticas, relaxantes muscular e efeito sedativo (ANDRADE, 2010). Na tabela 2 nota-se que o diazepam possui 100% de probabilidade de ligação ao receptor GABA, e que todas as moléculas análogas ao Diazepam apresentam uma probabilidade de ligação superior a 50% onde ACL teve 99% e ABr 52%.

**Tabela 3**. Comparação dos dados farmacocinéticos da molécula do diazepam e suas modificações de acordo com a plataforma PreADME.

| Parâmetros | BBB | CACO-2 | HIA | PPB | Pgb inibição | MDCK |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Moléculas** | | | | | | |
| **Diazepam** | **2.581** | **47.685** | **99.498** | **98.740** | **-** | **234.33** |
| **ACl** | **1.916** | **53.348** | **99.597** | **96.809** | **+** | **129.40** |
| **AC** | **2.105** | **48.805** | **99.505** | **96.505** | **+** | **184.87** |
| **AF** | **2.397** | **52.015** | **99.499** | **94.633** | **-** | **230.74** |
| **ABr** | **1.822** | **52.804** | **99.653** | **93.548** | **+** | **3.88** |
| **AClCh** | **1.474** | **53.648** | **99.616** | **97.068** | **+** | **111.46** |
| **ACl2** | **1.916** | **51.412** | **99.597** | **97.739** | **+** | **130.81** |
| **AN** | **1.273** | **17.811** | **96.239** | **84.464** | **-** | **221.62** |

ISSN 2178-6925
DOI: 10.61164/remunom.v1i1.3334

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **AC2** | **2.107** | **48.817** | **99.517** | **96.315** | **+** | **212.20** |

(+): Inibe (-): não inibe.

A barreira hematoencefálica (BBB) é um dos fatores limitantes principais na distribuição de medicamentos no sistema nervoso central (SNC), ao se deparar com esta barreira, as moléculas, cujo objetivo é atingir um local específico no encéfalo, encontram dificuldade em atravessá-la, limitação esta que muitos medicamentos cujo alvo é o SNC têm em comum (MARTINS et al., 2021). Um melhor entendimento do funcionamento da BHE é necessário para o desenvolvimento de novas drogas que buscam atravessá-la. Algumas das principais funções da barreira hematoncefálica são: protegê-la da entrada de agentes nocivos, selecionar a entrada do que for necessário, e secretar substâncias. Relacionado ao transporte de drogas através da BBB, ocorre a difusão transmembrana no qual a lipossolubilidade e baixo peso molecular são características que favorecem o transporte através da BBB (BANKS & WILLIAM, 2009).

Ao verificar a Tabela 3 é notado que as moléculas de forma geral apresentaram uma pequena diminuição do BBB que é a capacidade de atravessar a barreira hemato encefálica, sendo que AN e AClCh são as que demonstraram menor capacidade de atravessar a barreira hemato encefálica.

As células CACO-2 são originárias de adenocarcinoma de cólon humano e chamam atenção de cientistas devido às suas semelhanças com os enterócitos encontrados no tecido epitelial saudável. Recentemente, têm-se realizado muitos estudos que correlacionam métodos in vitro e in vivo para a determinação de parâmetros biológicos. Dessa forma, as monocamadas de células Caco-2 são consideradas bons modelos para prevenção da absorção de fármacos (ARTURSSON & KARLSSON, 1991). No decorrer dos anos as células Caco-2 vem sendo amplamente empregadas nos ensaios de análises de absorção e permeabilidade de fármacos, sendo que esse modelo auxilia na identificação de moléculas com potenciais terapêuticos. O mesmo possibilita prever a sua capacidade de absorção in vivo, que é fundamental para as triagens de moléculas em estudos pré-clínicos (SOUSA; FREITAS; STORPIRTIS, 2007). Na Tabela 3 foi verificado que todas as moléculas exceto AN tiveram aumento em CACO-2 o que torna esse um resultado benéfico para essas moléculas já que segundo a literatura é previsível que elas possuam uma maior absorção.

Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro, v.01, 2025
ISSN 2178-6925
DOI: 10.61164/remunom.v1i1.3334

A ligação às proteínas plasmáticas (PPB, do inglês, Plasma Protein Binding) possui papel central no transporte de fármacos no organismo humano, afetando de forma significativa a distribuição, e consequentemente, os efeitos farmacológicos e toxicológicos. A PPB é uma medida da afinidade do fármaco pelas proteínas do plasma, sendo que somente a fração não-ligada possui capacidade de percorrer os diversos compartimentos biológicos e se tornar disponível para interações com o receptor alvo (MODA, 2011).

Na tabela 3 tem-se o PPB (Plasma Protein Binding ou ligação às proteínas plasmáticas) quanto maior o número de moléculas/fármaco se encontrarem ligados às proteínas plasmáticas, maior a capacidade delas de agirem como forma de reservatório aumentando assim a disponibilidade do fármaco no organismo (SANTOS et al., 2018). Notou-se que todas as moléculas apresentaram uma leve diminuição na PPB, que está relacionado a ligação as proteínas plasmáticas, se comparado a molécula do Diazepam, exceto AN, onde entende-se que quanto maior capacidade delas de atuarem como forma de reservatório, maior será a disponibilidade do fármaco no organismo.

A absorção intestinal humana (HIA) indica a somatória da taxa de absorção intestinal com a biodisponibilidade da fração inalterada do análogo que alcança a circulação sistêmica. Importante salientar que ao ser administrado por via oral, a concentração plasmática será sempre inferior a 100% em função da perda no processo de absorção intestinal e pela eliminação do composto relacionado à biotransformação hepática (WANG et al., 2015). Na Tabela 3 repara-se que os valores da HIA apresentados pelas moléculas derivadas do Diazepam são semelhantes aos valores do Diazepam sendo assim um resultado satisfatório favorecendo o uso por via oral.

MDCK são células de origem do rim canino, e são utilizadas para prever a absorção de compostos, através desse parâmetro é possível medir a excreção renal de substâncias (DOLABELA et al., 2018). Analogamente, para fazer uma correlação com os resultados do modelo Caco-2 obtidos na análise in sílico, é realizado o teste de excreção em células MDCK, um parâmetro que mede a taxa de excreção dos fármacos que usa um modelo de células do rim canino. Quando cultivado em membranas semipermeáveis, essas células diferenciam-se em epiteliais colunares apresentando junções o que as caracterizam como semelhante às células Caco-2

Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro, v.01, 2025
ISSN 2178-6925
DOI: 10.61164/remunom.v1i1.3334

(CHONG; DANDO; MORRISON, 1997). Ainda na Tabela 3 foi notado que todas as moléculas possuem um valor de MDCK inferior ao do Diazepam, houve uma diminuição em todos os análogos em relação ao protótipo, o que resulta em uma menor absorção do fármaco.

A inibição da gp-P melhora a absorção intestinal e a distribuição tecidual enquanto reduz o metabolismo do substrato e sua eliminação (VAN & GIFFORD, 2003). Desempenha um papel crucial na absorção, distribuição, metabolização e excreção de muitos fármacos no organismo. Atua na proteção dos tecidos contra xenobióticos tóxicos e metabolitos endógenos, através da excreção destes compostos para o lúmen intestinal, bílis, urina e promovendo também a sua expulsão do sistema nervoso central (ARAÚJO, 2015).

Na tabela 3 também foi apresentado dados relacionados a inibição da Glicoproteína P, onde foi reparado que as moléculas ACl, AC, ABr, AClCh, ACl2 e AC2 passaram a inibir a glicoproteína P que ao contrário do Diazepam que não inibe, uma vez inibida o fármaco entra no cérebro com maior facilidade, sendo esse um resultado favorável a uma maior permanência da molécula no sistema nervoso central.

**Tabela 4**. Comparação dos dados correspondentes a inibição dos citocromos P450 no diazepam e nas moléculas modificadas de acordo com a plataforma PraADMET.

| Parâmetros | CYP 3A4 | CYP 2D6 | CYP 2C9 | CYP 2C19 | CYP 3A4 | CYP 2D6 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Moléculas** | | | | | | |
| **Diazepam** | - | - | - | - | * | # |
| **ACl** | - | - | - | - | * | # |
| **AC** | - | - | - | - | * | # |
| **AF** | - | - | - | - | * | # |
| **ABr** | - | - | - | - | * | # |
| **AClCh** | - | - | - | - | * | # |
| **ACl2** | - | - | - | - | * | # |
| **AN** | - | - | - | - | * | # |
| **AC2** | - | - | - | - | * | # |

(+): Inibe (-): não inibe (*) substrato (#) não substrato

Dentre essas isoformas, o CYP3A4 está envolvido no metabolismo de mais de 50% dos fármacos e outros xenobióticos (JAYAKANTHAN, 2010). As consequências da inibição dos citocromos incluem aumento da toxicidade do

Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro, v.01, 2025
ISSN 2178-6925
DOI: 10.61164/remunom.v1i1.3334

medicamento afetado pela interação, ou quando for um pró-fármaco ocorre redução da efetividade, quando o medicamento é um pró-fármaco e depende da atividade de enzimas CYP 450, para ativar a CYP2C19 (SILVADO, 2008). A CYP2C19 está localizada, principalmente, no retículo endoplasmático e na membrana celular, sendo responsável por metabolizar inúmeros xenobióticos o diazepam. (LEME, 2021).

A CYP2D6 é responsável por metabolizar cerca de 25% de todas as drogas exógenas (HERTZ et al., 2015). Segundo BASIŃSKA-ZIOBROŃ (2015), A inibição de citocromos como CYP2D6 é a causa mais comum de interações medicamentosas prejudiciais. Na tabela 4 é visto que não houve inibição de nenhum dos citocromos pelo Diazepam e nem pelas demais moléculas, sendo esse um resultado benéfico pois segundo a literatura a inibição desses citocromos poderia dificultar a metabolização de diversos fármacos, podendo causar interações medicamentosas ou toxicidade medicamentosa.

**Tabela 5**. Comparação entre os dados toxicológicos da molécula do diazepam e após sua modificação de acordo com a plataforma PreADMET.

| Métodos | Carcinogenicidade em camundongos | Carcinogenicidade em ratos | Inibição do hERG |
|---|---|---|---|
| **Moléculas** | | | |
| **Diazepam** | **-** | **-** | **** |
| **ACl** | **-** | **-** | **** |
| **AC** | **-** | **-** | **** |
| **AF** | **-** | **+** | **** |
| **ABr** | **-** | **+** | **** |
| **AClCh** | **-** | **-** | **** |
| **ACl2** | **-** | **-** | **** |
| **AN** | **-** | **-** | **** |
| **AC.2** | **-** | **-** | **** |

(+): positivo (-): negativo (**): risco médio

A carcinogenicidade se refere a capacidade de uma substância de ocasionar modificações que possam causar algum tipo de câncer, os ensaios para este parâmetro exigem longos períodos e utiliza-se na metodologia camundongos e ratos (SOUZA, 2005).

Com a utilização do PreADME, foi possível realizar avaliação dos parâmetros toxicológicos em todas as moléculas, onde foi identificado na Tabela 5 que apenas as moléculas AF e ABr apresentaram carcinogenicidade em ratos, as moléculas

Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro, v.01, 2025
ISSN 2178-6925
DOI: 10.61164/remunom.v1i1.3334

modificadas e a molécula do diazepam não apresentaram ação carcinogênica em ratos ou camundongos.

A proteína codificada pelo gene hERG corresponde a um canal de íons cardíacos seletivo de potássio (SANTANA; MIRANDA; SOUSA, 2020). A predição da inibição dos genes humanos éter-a-gogo I e II (hERG I e II), codifica a subunidade formadora de poros dos canais de potássio, apresenta um papel importante na repolarização dos potenciais de ação cardíaca (LAMOTHE et al., 2016). A inibição desses canais é principal causa para o desenvolvimento da síndrome do QT longo, levando à arritmia ventricular fatal (PRIEST; BELL; GARCIA; 2008; MAIOR et al., 2011). Na tabela 5 foi avaliado o risco cardíaco pelo teste de inibição do hERG, onde percebe-se que não houveram alterações nos resultados das moléculas análogas ao diazepam, ou seja, todas as moléculas apresentem o mesmo risco (médio risco) de causar arritmia que o diazepam.

**Tabela 6**. Comparação dos resultados do teste de Ames entre a molécula do diazepam com as moléculas modificadas.

| Parâmetros | TA100 (- S9) | TA100 (+ S9) | TA1535 (-S9) | TA1535 (+ S9) |
|---|---|---|---|---|
| **Moléculas** | | | | |
| **Diazepam** | + | - | + | - |
| **ACl** | + | - | + | - |
| **AC** | + | - | + | - |
| **AF** | + | - | + | - |
| **ABr** | + | - | - | - |
| **AClCh** | + | - | - | - |
| **ACl2** | + | - | - | - |
| **AN** | + | - | - | - |
| **AC2** | + | - | - | - |

(+): positivo (-) negativo (-S9): sem S9 (+S9): com S9

O ensaio de reversão de mutação em *Salmonella typhimurium*, também conhecido como teste de Ames, Teste de Salmonella ou Ensaio do Microssoma, é um ensaio de mutagênese que visa a identificação de substâncias com potencial para induzir mutações génicas de tipo frameshift ou por substituição de pares de bases (MARON & AMES, 1983; MORTELMANS & ZEIGER, 2000). Quanto aos valores preditos, o PreADMET analisa a toxicidade para as cepas TA100 e TA1535 de *Salmonella typhimurium*, que são frequentemente usados no teste de Ames o resultado pode ser calculado levando em consideração o metabolismo (ativação metabólica pelo fígado de rato a 10% de homogenato, + S9) ou sem considerar o

Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro, v.01, 2025
ISSN 2178-6925
DOI: 10.61164/remunom.v1i1.3334

metabolito (Sem ativação metabólica, -S9) (FERREIRA; BRANDÃO; DOLABELA, 2020).

TA1535 detecta mutações por substituição de pares de bases (BERNARDES, 2016). As cepas TA100 são utilizadas para detecção de agentes que possam induzir metilação e causar substituição de pares de bases (G-C) (AIUB & FELZENSZWALB, 2011). Na Tabela 6 foi avaliado o teste de Ames observa-se que a maioria das moléculas derivadas do Diazepam não foram mutagênicas nas cepas TA1535, onde o próprio Diazepam possui mutagenicidade, exceto as moléculas ACl, AC e AF, já entre os metabolitos de todas as substâncias nenhum apresentou alterações em mutagenicidade. Nas cepas de TA100 todas as moléculas apresentaram mutagenicidade, assim como o Diazepam, já os metabolitos de todas as moléculas não apresentaram mutação para essas cepas.

**Tabela 7.** Dados Toxicológicos gerais do Diazepam e das modificações análogas ao Diazepam de acordo com a plataforma ProTox-3.

| Parâmetros | DL50 (mg/kg) | Carcino genicidade (%) | Imuno toxicidade (%) | Muta genicidade (%) | Cito toxicidade (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| **Moléculas** | | | | | |
| **Diazepam** | **48** | **90** | **97** | **93** | **50** |
| **ACl** | **48** | **90** | **96** | **93** | **50** |
| **AC** | **670** | **87** | **85** | **91** | **91** |
| **AF** | **670** | **89** | **76** | **91** | **50** |
| **ABr** | **670** | **89** | **85** | **92** | **51** |
| **AClCh** | **670** | **87** | **82** | **91** | **50** |
| **ACl2** | **940** | **90** | **89** | **93** | **50** |
| **AN** | **48** | **76** | **77** | **78** | **51** |
| **AC2** | **2300** | **79** | **50** | **75** | **64** |

(*) Ativos

A DL50 de uma substância refere-se ao grau de toxicidade aguda de substâncias químicas, correspondendo à dose suficiente para eliminar 50% dos seres vivos expostos (OLIVEIRA & ISABELLE 2022). Segundo BERNIK (1990), drogas como os benzodiazepinicos apresentam uma maior margem de segurança quando o valor da DL 50 está distante da Dose terapêutica apresentando menos efeitos colaterais aumentando o índice de adesão ao tratamento. Na tabela 7, é notado que a maioria dos análogos apresentaram uma dose letal superior ao Diazepam, conferindo uma margem de segurança melhor que a do Diazepam, exceto as moléculas ACl e AN.

Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro, v.01, 2025
ISSN 2178-6925
DOI: 10.61164/remunom.v1i1.3334

Os demais parâmetros analisados na tabela 7 (Carcinogenicidade, Imunotoxicidade, Mutagenicidade e Citotoxicidade) se apresentaram inativos no Diazepam e em todas as moléculas desse trabalho, dessa forma é previsto assim o não surgimento de efeitos toxicos dessas moléculas nesses respectivos parâmetros. Segundo SAKAI (2009), o Diazepam foi classificado como uma substancia com evidencias inadequadas de indução de carcinogênese em humanos e em animais. Em testes in vivo realizados com hamsters o Diazepam não apresentou efeitos mutagênicos (IARC, 1987).

SILVA & PALERMO (1999), detectou a presença de efeitos imonotóxicos e neurotóxicos em ratos expostos ao Diazepam. De acordo com CORREIA (2017), ao realizar uma avaliação do surgimento de atividades citotóxicas detectou que o diazepam não apresentou citotoxicidade. O diazepam não é hepatotóxico nem nefrotóxico (THURMON et al., 1996). Segundo HUGHES (2020), ao realizar uma pesquisa in vivo com 27 ratos avaliando os efeitos cardiovasculares do Diazepam e da cloroquina alegou que não houve surgimento de cardiotoxicidade ou efeitos cardíacos prejudiciais originados do Diazepam, e que o mesmo inibe a PDE4 sugerindo um possível mecanismo de cardioproteção, embora isso ocorra em concentrações mais baixas.

**Tabela 8.** Dados Toxicológicos em órgãos do diazepam e das modificações análogas ao Diazepam de acordo com a plataforma ProTox-3.

| Parâmetros | Hepato Toxicidade (%) | Neuro Toxicidade (%) | Nefro Toxicidade (%) | Toxicidade Respiratória (%) | Cardio Toxicidade (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| **Moléculas** | | | | | |
| **Diazepam** | **72 I** | **99 *** | **86 I** | **84 *** | **86 I** |
| **ACl** | **76 I** | **99 *** | **86 I** | **84 *** | **86 I** |
| **AC** | **75 I** | **98 *** | **85 I** | **84 *** | **86 I** |
| **AF** | **77 I** | **98 *** | **86 I** | **84 *** | **85 I** |
| **ABr** | **75 I** | **99 *** | **86 I** | **84 *** | **86 I** |
| **AClCh** | **75 I** | **98 *** | **85 I** | **84 *** | **86 I** |
| **ACl2** | **76 I** | **99 *** | **86 I** | **84 *** | **86 I** |
| **AN** | **66 I** | **96 *** | **84 I** | **83 *** | **85 I** |

Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro, v.01, 2025
ISSN 2178-6925
DOI: 10.61164/remunom.v1i1.3334

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **AC2** | **54 I** | **96 *** | **82 I** | **82 *** | **88 I** |

(*) Ativos (I) Inativos

A neurotoxicidade ocasionada pela exposição a substancias tóxicas é examinada de acordo com testes, as funções cognitivas, como aprendizagem e memória, têm sido utilizadas em indivíduos expostos a solventes e metais pesados. As comportamentais são: sociabilidade, cooperação, estado emocional, nível de atividade, atenção, irritabilidade e ansiedade (DESPRÉS et al., 2005).

Os fenômenos de neurotoxidade mediada por glutamato, podem estar ligados a outros mecanismos como isquemia pós-traumática, desequilibro iônico, metabólitos, radicais livres e outros neurotransmissores (ácido gama amino butírico – GABA, serotonina) que se assemelham, em determinadas situações experimentais, contribuir para a morte neuronal. (LIMA et al., 2007). Na tabela 8, nota-se que todas as moléculas apresentam um valor de probabilidade do surgimento de efeitos neurotóxicos muito próximo ao do Diazepam.

A toxicidade respiratória é o principal motivo de segurança da retirada das drogas do âmbito farmacológico, esse tipo de toxicidade é geralmente subdiagnosticado, pois pode não necessariamente tem sintomas precoces expressivos e pode ocorrer com morbidade e mortalidade significativas, portanto, é preciso uma vigilância cuidadosa (MORAIS, 2022).

Segundo SANTOS (2011), a toxicidade respiratória pode ocorrer de duas formas, por ligação química covalente entre moléculas tóxicas ou devido a suas interações químicas. As interações químicas são interações covalentes e irreversíveis que podem ocasionar em reações de hipersensibilidade, já as reações físicas seriam interações fracas não covalentes, interações eletrostáticas e interações de Van der Walls que causariam irritação ao trato respiratório.

Na tabela 8, é perceptível que os parâmetros de neurotoxicidade e toxicidade respiratória a qual são ativos não demonstraram alterações significativas se comparado ao Diazepam. Os demais parâmetros analisados na tabela 8 de Hepatotoxicidade, Nefrotoxicidade e Cardiotoxicidade não demonstraram atividade tanto no Diazepam como em todas as moléculas desse trabalho, o que é um resultado favorável pois o surgimento de toxicidade em órgãos seria um grande maleficio ao uso dessas moléculas.

Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro, v.01, 2025
ISSN 2178-6925
DOI: 10.61164/remunom.v1i1.3334

Segundo SARAIVA (2019), o Diazepam de fato não apresenta hepatotoxicidade estando aprovado para o uso clínico e casos de ansiedade, perturbações compulsivas além da capacidade de sedação.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nota-se que todas as moléculas possuem uma probabilidade de ligação ao receptor do GABA superior a 50%, estão dentro dos padrões da regra dos 5 de lipinski, sendo apropriadas para uso oral, apresentaram significativos resultados farmacocinéticos, inclusive todas as moléculas possuem uma melhor absorção intestinal humana quando comparado ao Diazepam e não inibiram os isotipos de citocromos, diminuindo a probabilidade de interações medicamentosas.

Na análise toxicológica, a maioria das moléculas análogas não foram carcinogênicas, não foram mutagênicas nas cepas TA1535, já entre os metabolitos de todas as substâncias nenhum apresentou alterações em mutagenicidade, contudo nas cepas de TA100 todas as moléculas apresentaram mutagenicidade, já os metabolitos não apresentaram mutagenicidade para essas cepas. A maioria dos análogos apresentaram uma dose letal superior ao Diazepam, conferindo uma margem de segurança, principalmente a molécula AC.2, que apresentou uma DL50 de 2300 mg/kg.

Foi notado que a maioria das moléculas derivadas do Diazepam possuíram um bom perfil farmacológico e toxicológico, sendo que a molécula ACL2 foi o análogo com melhor perfil, inclusive com probabilidade de ligação ao receptor do GABA de 69%, sendo então a molécula com melhores condições para desenvolvimento.

Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro, v.01, 2025
ISSN 2178-6925
DOI: 10.61164/remunom.v1i1.3334

**REFERÊNCIAS**

AIUB CAF, FELZENSZWALB I. OS PRINCÍPIOS DO TESTE DE AMES (SALMONELLA/MICROSOMO) E SUA APLICABILIDADE. **Genética Na Escola**, v.6, p.16, 2011.

ANDRADE S. **Efeitos da progesterona sobre o comportamento tipo depressivo e sobre a expressão das subunidades do receptor GABA A de ratos Wistar machos e fêmeas**. 2010. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

ARAÚJO APLMG. **O papel da glicoproteína P nas interações fármaco-fármaco**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2015.

ARTURSSON P, KARLSSON J, Correlation between oral drug absorption in humans and apparent drug penneability coefficients in human intestinal ephitelial (Caco-2) cells. **Blochem Biophys Res Commun** v.175, p. 5-880, 1991.

BANKS, WILLIAM, Characteristics of compounds that cross the blood-brain barrier. **BMC Neurology**, v.3, p.1-5, 2009.

BARBOSA AA. **"Preparação de Anfifílicos potencialmente' Geradores. de Mesomorfismos e estudo de suas propriedades físico-químicas"**. 1995. Tese (Doutorado em Química) - Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1995.

BASIŃSKA-ZIOBROŃ A, DANIEL WA, WÓJCIKOWSKI J. Inhibition of human cytochrome P450 isoenzymes by a phenothiazine neuroleptic levomepromazine: An in vitro study. **Pharmacol Rep,** v.67, p.1178-1182, 2015.

BERNARDES MFF. **Avaliação da citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade dos herbicidas tebutiurom e trifluralina e de seus efeitos na expressão de genes de resposta ao estresse celular**. 2016. Tese (Doutorado em Toxicologia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

BERNIK, MA. **Benzodiazepinicos quatro décadas de experiencia**, 1.ed. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1990.

CAMARGO BMO, PEREIRA KLA, FILHO JEP, SILVA FMB, CASTELLANI C. Uso de benzodiazepínicos na Atenção Primária à Saúde. **Ver. De Medicina**. v.102, p.1-3, 2023.

CHONG S, DANDO AS, MORRISON RA, Avaliação do Ambiente de Diferenciação do Epitélio Intestinal Biocoat (Células Caco-2 Cultivadas de 3 Dias) como Modelo de Triagem de Absorção com Melhoria da Produtividade. **Pharm Res.** v.14 p.1835-1837, 1997.

CORREIA WBZGB. **Síntese, caracterização e avaliação das propriedades antiepilépticas de Complexos de Paládio (II) derivados do Diazepam**. 2017. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Química e Biotecnologia, Programa de Pós Graduação em Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2017.

SILVA DS, PADILHA IQM, Avaliação in silico das propriedades farmacocinéticas de compostos antileucêmicos publicados em periódicos científicos. **Arquivos Ciências da Saúde**, v.30, p.1-4, 2022.

DESPRÉS C, RICHER F, ROBERGE MC, LAMOUREX D, BEUTER A, Standardization of quantitative tests for preclinical detection of neuromotor dysfunctions in pediatric neurotoxicology. **Neurotoxicology,** v.26, p.385-395, 2005.

DIRAR AI, WADDAD AY, MOHAMED MA, MOHAMED MS, OSMAN WJ, MOHAMMED MS, ELBADAWI MAA, & HAMDOUN S. In silico pharmacokinetics and

molecular docking of three leads isolated from tarconanthus camphoratus L. **International J. of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v.8 p.71-77. 2016.

DOLABELA MF, SILVA ARP, OHASHI LH, BASTOS MLC, SILVA MCM, & VALE VV. Estudo in silico das atividades de triterpenos e iridoides isolados de Himatanthus articulatus (Vahl) Woodson. **Revista Fitos**, v.12 p.227-242, 2018.

FARIA JSS, Benzodiazepínicos: revendo o uso para o desuso. **Ver. De Medicina**. v.98, p.423-426, 2019.

FERREIRA GG, BRANDÃO DLN, DOLABELA MF, Predição do comportamento farmacocinético, toxicidade e atividades biológicas de alcaloides isolados de Geissospermum laeve (Vell.) Miers. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento** v.9 p.23, 2020.

FRANÇA IV. **Desenho racional e triagem virtual de bases de Schiff derivadas de isatina como potenciais fármacos inibidores da acetilcolinesterase para o tratamento da doença de Alzheimer**. 2014. Dissertação, (Mestrado em Nanociência). UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA, Blumenau, 2024.

HERTZ DL, SNAVELY AC, MCLEOD HL, WALKO CM, IBRAHIM JG, ANDERSON S, WECK KE, MAGRINAT G, OLAJIDE O, MOORE S, RAAB R, CARRIZOSA DR, CORSO S, SCHWARTZ G, PEPPERCORN JM, EVANS JP, JONES DR, DESTA Z, FLOCKHART DA, CAREY LA, IRVIN WJ JR. Avaliação in vivo da atividade metabólica de diplótipos e alelos do CYP2D6. **Br J Clin Pharmacol,** v.80 p.1122-1130, 2015.

HUGHES DA. Acute chloroquine poisoning: A comprehensive experimental toxicology assessment of the role of diazepam. **Br J Pharmacol,** v.177, p.4975-4989, 2020.

IARC, Overall Evaluations of Carcinogenicity. **International Agency for Research on Cancer** v.42, p.90-440,1987.

JAYAKANTHAN M, CHANDRASEKAR S, MUTHUKUMARAN, MORAES PP, Análise de interações medicamentosas proteases CYP3A4-HIV-1 por métodos computacionais para Terapia Antirretroviral de Alta Atividade em HIV/AIDS, **J. Mol. Graphics Modell** v.28, p.455-463, 2010.

LAMOTHE SM, GUO J, LI W, YANG T, ZHANG S. O canal de potássio do gene humano relacionado ao éter-a-go-go (hERG) representa um alvo incomum para danos mediados por proteases. **J Biol Chem** v.291, p.20387-20401, 2016.

LEME LM. **CYP3A65 de Danio rerio como responsável pela metabolização de escitalopram: uma abordagem por biologia computacional**. Monografia (Bacharel em Ciências Biológicas), Universidade Federal de Uberlândia, Ituiutaba, 2021.

LIMA RR, COSTA AMR, SOUZA RD, LEAL WG. Degeneração neuronal secundária e excitotoxicidade. **Ver. Para. Med**, Belém, v.21 p.27-31, 2007.

LIPINSKI CA, LOMBARDO F, DOMINY BW, FEENEY PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Adv. Drug Deliv. Ver** v.3 p.3-26, 2001.

MAIOR, AS, BARBOSA PRB, NETO OB, MOTA GR, JÚNIOR MM, Canais iônicos de potássio associados à síndrome do QT longo adquirido. **Ver Bras Cardiol** v.24 p.42-51, 2011.

MARON DM, AMES BN, Métodos revisados para o teste de mutagenicidade de Salmonella. **Mutat Res**, v.113 p.173-215, 1983.

MARTINS RS, **Avaliação in silico da interação entre o receptor GABAA e metalocompostos derivados de benzodiazepínicos**. 2019. Dissertação (Mestrado em biologia computacional e sistemas), Programa de Pós-Graduação Biologia Computacional e Sistemas, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2019.

MARTINS AC, TEIXEIRA GM, OSHIRO MY, SANTOS BS, REVISÃO DA LITERATURA: AVANÇOS E PERSPECTIVAS NO TRATAMENTO DE ALZHEIMER EM IDOSOS COM ÊNFASE NA BARREIRA HEMATOENCEFÁLICA. **Rev. Ibero-Americana De Humanidades, Ciências E Educação**, v.7 p.624–642, 2021.

MODA TL. **Modelagem In silico de propriedades farmacocinéticas para a avaliação de candidatos a novos fármacos**. 2011. Tese (Doutorado em Física), Programa de Pós-graduação do instituto de Física de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

MORAIS GCF. **Modelagem Molecular e Predição das Propriedades Físico-químicas, Farmacocinéticas e de Toxicidade de Substâncias Bioativas no Combate do Transtorno do Déficit de Atenção com Hiperatividade (TDAH)**, 2022, Monografia (Bacharel em Biomedicina), CENTRO DE BIOCIÊNCIA, UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE, Natal, Rio Grande do Norte, 2022.

MORTELMANS K, ZEIGER E, The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. **Mutat Res**, v.455 p.29-60, 2000.

OLIVEIRA, IL. **"Toxicidade para as abelhas Apis mellifera L. de um produto comercial de inseticida".** 2022. Monografia (Graduação em Engenharia Agrônoma), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2022.

OLIVEIRA ERS, PENHA LRLN, DINIZ DM, REGO RML, PEREIRA MS, MARANHÃO TTGF, HORA AFLT, BARROS PTS. O efeito de medicamentos inibidores da cyp2d6 sobre a eficácia terapêutica do tamoxifeno: revisão de literatura, **Rev. Foco,** v.17, p.1-17, 2024.

PESSÔA GG, **Abordagem in silico na avaliação da relação entre permeabilidade e sensibilização cutânea**. 2021. Monografia (Graduação de Farmácia), Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2021.

PRIEST B, BELL IM, GARCIA M, Role of hERG potassium channel assays in drug development. **Channels,** v.2, p.87-93, 2008.

SAKAI M. **Efeitos do diazepam sobre o crescimento do tumor ascítico de Ehrlich: envolvimento do Receptor Periférico para Benzodiazepínico (PBR) ou Proteína Translocadora (TSPO)**. 2009. Tese (Doutorado em Patologia Experimental e Comparada), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

SANTANA LEG, MIRANDA IKI, SOUSA JA. Análise in silico da farmacocinética, da farmacodinâmica e da toxicidade de dois compostos isolados da Moringa oleífera. **Res, Society and Development**, v.9, p.10-18, 2020.

SANTOS CAG, **Descontinuação do uso indiscriminado de benzodiazepínicos entre os usuários da UBS Rasa em Ponte Nova,** 2014. Monografia (Especialização em Estratégia Saúde da Família). Universidade Federal de Minas Gerais. Ponte Nova, 2014.

SANTOS RC, DANIEL IC, PRÓSPERO DFA, COSTA LS, Modificação molecular incremental: análise de parâmetros físico-químicos, farmacocinéticos e toxicológicos in sílico de fármacos inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRSs). **Boletim Informativo Geum,** v.9, p.31-38, 2018.

SANTOS TC, Modelagem in chemico: as bases mecanísticas entre a reatividade e a toxicidade. **Rev. Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v.4, p.114-136, 2011.

SANTOS VLA, GONSALVES A, ARAÚJO CRM, ABORDAGEM DIDÁTICA PARA O DESENVOLVIMENTO DE MOLÉCULAS BIOATIVAS: REGRA DOS CINCO DE LI-PINSKI E PREPARAÇÃO DE HETEROCICLO 1,3,4-OXADIAZOL EM FORNO DE MICRO-ONDAS DOMÉSTICO. **Química Nova**, v.41, p.110-115, 2018.

SARAIVA HDS. **Farmacorresistência a antiepiléticos e novas abordagens de tratamento**. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universi-dade do Algarve, Faro, 2019.

SAVALA JL, JUNIOR OMR, Dependence on long-term use of benzodiazepines in the treatment of anxiety in elderly patients: clonazepam versus diazepam. **Res. Society and Development**, v.11, p.9-10, 2022.

SILVA SRF. **Farmacocinética do Diazepam**. 2013. Monografia (mestrado em Ciências Farmacêuticas), Faculdade de Ciências da Saúde, Porto, 2013.

SILVA VP, BOTTI NCL, OLIVIRA VC, GUIMARÃES EAA, Perfil epidemiológico dos usuários de benzodiazepínicos na atenção primária à saúde. **Rev. de Enfermagem do Centro Oeste Mineiro**, v.5, p.2-8, 2015.

SILVA FR, PALERMO NJ. Developmental, Neuro and Immunotoxic Effects of Perinatal Diazepam Treatment in Rats. **Immunopharmacology and Immunotoxicology,** v.21, p.247-265, 1999.

SILVADO C, “Farmacogenética e antiepilépticos (farmacologia das drogas antiepilépticas: da teoria à prática)”. **J. of Epilepsy and Clinical Neurophysiology**, v.14, p.51-56, 2008.

SOUSA J, FREITAS ZMF, STORPIRTIS S, Modelos in vitro para determinação da absorção de fármacos e previsão da relação dissolução/absorção. **Rev. Brasileira de Ciências Farmacêuticas***,* v.43, p.516-527, 2007.

SOUZA MVN, Fármacos Inibidores de Fusão: uma Nova Estratégia no Combate à Replicação do Vírus VIH. **Acta Farm. Bonaerense***,* v.24, p.291-299, 2005.

THOMAS G. **Química Medicinal**, 1.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

THURMON JC. TRANQUILLI WJ, BENSON GJ. **Preanesthetics and anesthetic adjuncts. Veterinary anesthesia**, 3.ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996.

VAN WH, GIFFORD E, ADMET in silico modeling: towards prediction paradise? **Nature reviews. Drug discovery,** v.*2*, p.192–204, 2003.

VEBER DF, JOHNSON SR, CHENG HY, SMITH BR, WARD KW, KOPPLE KD, Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. **J. of Medicinal Chemistry,** v.45, p.2615–2623, 2002.

WANG Y, XING J, XU Y, ZHOU N, PENG J, XIONG Z, LIU X, LUO X, LUO C, CHENG L, CHEN K, ZHENG M, JIANG H, In silico ADME/T modelling for rational drug design. **Quarterly reviews of biophysics***,* v.48, p.488-515, 2015.