

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

MILLENA ALMEIDA RESENDE

PROSPECÇÃO, ANÁLISES E DESIGN *IN SILICO* DE POTENCIAIS INIBIDORES
DA PROTEÍNA NS3 DO VÍRUS ZIKA

UBERLÂNDIA

2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

**PROSPECÇÃO, ANÁLISES E DESIGN *IN SILICO* DE POTENCIAIS INIBIDORES
DA PROTEÍNA NS3 DO VÍRUS ZIKA**

Millena Almeida Resende

Orientador: Matheus de Souza Gomes

Coorientador: Nilson Nicolau Junior

**Dissertação apresentada ao Instituto
Biotecnologia da Universidade Federal de
Uberlândia como requisito parcial para
obtenção do título de Mestre em Genética
e Bioquímica.**

UBERLÂNDIA

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

R433p
2022 Resende, Millena Almeida, 1998-
 Prospecção, análises e design in silico de potenciais inibidores da
 proteína ns3 do vírus Zika [recurso eletrônico] / Millena Almeida
 Resende. - 2022.

Orientador: Matheus de Souza Gomes.

Co-orientador: Nilson Nicolau Junior.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia.

Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2022.5020>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Bioquímica. I. Gomes, Matheus de Souza, 1981-, (Orient.). II. Nicolau Junior, Nilson, 1981-, (Co-orient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica. IV. Título.

CDU: 577.1

André Carlos Francisco
Bibliotecário - CRB-6/3408



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
 Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica
 Av. Pará 1720, Bloco 2E, Sala 244 - Bairro Umuarama, Uberlândia-MG, CEP 38400-902
 Telefone: +55 (34) 3225-8438 - www.ppggb.ibtec.ufu.br - ppggb@ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Genética e Bioquímica				
Defesa de:	Mestrado Acadêmico - PPGGB.				
Data:	Trinta e um de janeiro de dois mil e vinte e dois.	Hora de início:	08:00h	Hora de encerramento:	08:30h
Matrícula do Discente:	11922GBI007				
Nome do Discente:	Millena Almeida Resende				
Título do Trabalho:	Prospecção, análises e design <i>in silico</i> de potenciais inibidores da proteína NS3 em Zika vírus.				
Área de concentração:	Bioquímica.				
Linha de pesquisa:	Biologia Molecular e Celular.				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Aplicação de Métodos moleculares e computacionais para predição de genes codificadores de proteínas e pequenos RNAs.				

Aos trinta e um dias do mês de janeiro de dois mil e vinte e dois, às 08:00 horas, reuniu-se via web conferência pela plataforma *Cisco Webex*, em conformidade com a Portaria nº 36, de 19 de março de 2020 da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES e Resolução de nº 06/2020 do Conselho de Pesquisa e Pós-graduação pela Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Genética e Bioquímica, assim composta: Professores Doutores: Matheus de Souza Gomes (Orientador), Felipe Gomes Naveca e Romualdo Morandi Filho. A participação dos dois últimos se deu por epístola. Iniciando os trabalhos o (a) presidente Dr (a). Matheus de Souza Gomes apresentou a Comissão Examinadora e o candidato(a), agradeceu a presença dos participantes, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa. A seguir o senhor(a) presidente procedeu a leitura das epístolas enviadas pelos membros da banca. Em seguida os membros presentes, passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a leitura das epístolas e a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

(A) PROVADO.

Esta defesa de Dissertação de Mestrado é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU. Nada mais havendo a

tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Matheus de Souza Gomes, Professor(a) do Magistério Superior**, em 03/02/2022, às 16:36, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Romualdo Morandi Filho, Usuário Externo**, em 03/02/2022, às 16:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Felipe Gomes Naveca, Usuário Externo**, em 04/02/2022, às 09:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3281694** e o código CRC **36140089**.

DEDICATÓRIA

Para aqueles que buscam o conhecimento, a
ciência e a tecnologia.

AGRADECIMENTO

Agradeço à Universidade Federal de Uberlândia e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica pelo excelente ensino e apoio oferecido aos estudantes e pesquisadores da instituição.

Agradeço ao Prof. Dr. Matheus de Souza Gomes e o Prof. Dr. Nilson Nicolau Júnior pela orientação durante a pesquisa.

Agradeço também aos membros da banca pelas importantes considerações e sugestões para o trabalho final.

RESUMO

O vírus Zika pertence ao gênero *Flavivirus* e é transmitido, principalmente, pela fêmea do mosquito *Aedes aegypti*. Indivíduos infectados apresentam sintomas variáveis e podem ter complicações neurológicas, sendo algumas irreversíveis, como a microcefalia, em casos de infecção intrauterina. Além disso, ainda não existem medicamentos eficazes para o tratamento desta virose. Por isso, este trabalho teve como objetivo, identificar potenciais compostos com ação antiviral utilizando como alvo terapêutico a protease NS3 do vírus Zika. Para tanto, foram empregados métodos computacionais como a construção de modelo baseado em forma, triagem virtual, *docking* molecular covalente e não covalente, modificação molecular e predição de características farmacológicas. A obtenção da proteína e dos compostos testados se deu através de banco de dados virtuais de compostos, tais como: compostos naturais, *leadlike*, *druglike* e compostos aprovados (Ex: fármacos aprovados pelo FDA). Por meio da triagem virtual e *docking* molecular foi possível selecionar os compostos de cada grupo com maior afinidade à protease NS3: 8D, 1L, 6F e 1N. O composto identificado como 6F refere-se ao fármaco Betrixaban indicando um potencial reposicionamento deste para o uso contra o vírus Zika. O composto 1N refere-se à Criptomoscatoína D1, presente nas plantas *Lauraceae Cryptocarya moschata* e *Lauraceae Cryptocarya mandioccana*. Os compostos 8D e 1N obtiveram os melhores resultados de *docking* e farmacocinética e seriam os mais indicados para análises *in vitro*.

Palavras-chaves: *docking* molecular; antiviral; descobrimento de fármacos.

ABSTRACT

Zika virus belongs to the *Flavivirus* genus and is transmitted, mainly, by the *Aēdēs aegypti* female mosquito. Infected individuals have variable symptoms and may have neurological complications, some of which are irreversible, such as microcephaly, in cases of intrauterine infection. In addition, there are still no effective drugs for the treatment of this viral disease. However, there are still no effective drugs to treat this disease. That's why, this work aimed to identify potential compounds with antiviral action using as a therapeutic target the Zika virus NS3 protease. Therefore, computational methods such as the construction of a shape-based model, virtual screening, covalent and non-covalent molecular docking, molecular modification and prediction of pharmacological characteristics were used. The protein and compounds tested were obtained through a virtual database of compounds, such as: natural compounds, leadlike, druglike and approved compounds (eg, drugs approved by the FDA). Through virtual screening and molecular docking, it was possible to select the compounds from each group with greater affinity to the NS3 protease: 8D, 1L, 6F and 1N. The compound identified as 6F refers to the drug Betrixaban indicating a potential repositioning of it for use against Zika virus. Compound 1N refers to Cryptomoscatone D1, present in *Lauraceae Cryptocarya moschata* and *Lauraceae Cryptocarya mandioccana*. The 8D and 1N compounds obtained the best docking and pharmacokinetic results and would be the most suitable for *in vitro* analysis.

Keywords: molecular *docking*; antiviral; drug discovery.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura do vírus Zika.....	2
Figura 2: Poliproteína do vírus Zika com destaque para as regiões de clivagem.....	4
Figura 3: Mapa mundial com destaque para as regiões em que o <i>Aedes aegypti</i> pode ser encontrado.....	5
Figura 4: Exantema em paciente diagnosticada com vírus Zika.....	6
Figura 5: Microcefalia.....	7
Figura 6: Nervo considerado normal e com a Síndrome de Guillain-Barre.....	9
Figura 7: Estrutura tridimensional da protease NS3.....	11
Figura 8: Esquema da metodologia utilizada no estudo.....	24
Figura 9: Estrutura do complexo NS3, NS2 e inibidor de boronato (PDB: 5LC0) à direita e a NS3 isolada à esquerda ainda em complexo com inibidor.....	25
Figura 10: Inibidor de boronato ocupa o sítio de ligação da proteína NS3, formando o complexo proteína-ligante.....	25
Figura 11: Esquema representando a geração de dados durante a preparação do banco de dados.....	27
Figura 12: Estrutura molecular adicionada às moléculas <i>Leadlike</i> e <i>Druglike</i> . A adição da estrutura se deu em um dos carbonos já presentes na estrutura de cada composto.....	28
Figura 13: Modelo baseado em forma gerado a partir do ligante 6T8.....	30
Figura 14: Estruturas 2D dos compostos selecionados com maior PLP dentro do seu respectivo grupo.....	36
Figura 15: <i>Docking</i> molecular covalente do composto 8D.....	37
Figura 16: <i>Docking</i> molecular não covalente do composto 8D.....	38
Figura 17: <i>Docking</i> molecular covalente do composto 1L.....	49
Figura 18: <i>Docking</i> molecular não covalente do composto 1L.....	40
Figura 19: <i>Docking</i> molecular não covalente do composto 1N.....	41
Figura 20: <i>Docking</i> molecular não covalente do composto 6F.....	42
Figura 21: Gráfico resultante da análise dos dados moleculares, farmacológicos e toxicológicos gerados ao longo do estudo.....	53

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	2
1.1. Características gerais do gênero <i>Flavivirus</i>	2
1.2. Vírus Zika.....	4
1.2.1. Linha do tempo.....	4
1.2.2. A transmissão do vírus Zika e o mosquito	4
1.2.3. Sintomas e consequências	6
1.2.3.1. Microcefalia.....	7
1.2.3.2. Guillain-Barré.....	8
1.2.4. Diagnóstico.....	9
1.3. A protease e a sua importância como alvo terapêutico	10
1.4. A busca por novos fármacos	11
1.4.1. Métodos computacionais e novos fármacos	13
1.4.2. Características importantes em um fármaco	14
1.4.2.1. Farmacocinética.....	14
1.4.2.2. <i>Druglikeness</i>	17
1.4.2.3. Toxicidade	19
1.4.2.3.1. Inibição de hERG	20
1.4.2.3.2. Toxicidade AMES.....	20
1.4.2.3.3. Carcinogenicidade.....	20
1.4.2.4. Acessibilidade sintética	20
1.4.3. Reposicionamento de fármacos	22
2. OBJETIVOS	22
2.1. Objetivo geral.....	22
2.2. Objetivos específicos.....	23

3. MATERIAIS E MÉTODOS	23
3.1. Obtenção da proteína tridimensional NS3 do vírus Zika	24
3.2. Bibliotecas de compostos e suas origens.....	25
3.3. Modelo baseado em forma.....	26
3.4. Geração de banco de dados e confôrmeros de ligantes.....	26
3.5. Triagem virtual e a seleção dos compostos para <i>docking</i> molecular.....	27
3.6. Ligação Covalente e modificação molecular	28
3.7. <i>Docking</i> molecular e visualização das interações proteína-ligante	28
3.8. Características farmacológicas	29
3.9. Comparação dos compostos selecionados com o inibidor de boronato	29
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
4.1. Modelo farmacofórico	30
4.2 Triagem virtual (ROCS).....	30
4.3 Ligação Covalente e edição molecular.....	32
4.4. <i>Docking</i> molecular e visualização das interações proteína-ligante	33
4.5. Características farmacológicas	46
5. CONCLUSÃO	54
6. REFERÊNCIAS.....	55

1. INTRODUÇÃO

1.1. Características gerais do gênero *Flavivirus*

Uma das principais características dos vírus pertencentes a esse gênero é a sua transmissão através da picada de artrópodes hematófagos. Os *Flavivirus* constituem cerca de 70 espécies e 40 delas já foram associadas a doenças humanas. (SILVA, 2010). Estes vírus são capazes de se replicar em vários tipos de células e tecidos, como células do cérebro, fígado, baço, coração e pulmões (CASTILLO-OLIVARES; WOOD, 2004).

Os *Flavivirus* são considerados pequenos vírus envelopados que contém uma fita única de RNA de polaridade positiva (LOPES; NOZAWA; LINHARES, 2014). Seu genoma codifica uma poliproteína, que após clivagem por proteases do vírus e do hospedeiro, dão origem às proteínas estruturais e não estruturais. As proteínas com funções estruturais são: a glicoproteína E, proteína C do capsídeo e proteína do envelope pré-M. Conforme Herazo (2020) cada uma dessas proteínas possui função conhecida:

- Proteína prM: funciona de forma semelhante a uma chaperona, sendo responsável por auxiliar o dobramento da proteína E, além disso, previne a fusão prematura das partículas virais.
- Glicoproteína E: responsável pela ligação à proteínas celulares presentes na superfície celular, às quais são utilizadas como receptores para o vírus.
- Proteína C: constitui o capsídeo e possui 14 kDa, sendo, portanto, considerada pequena. É carregada positivamente e está relacionada ao processo de encapsulamento do genoma viral.

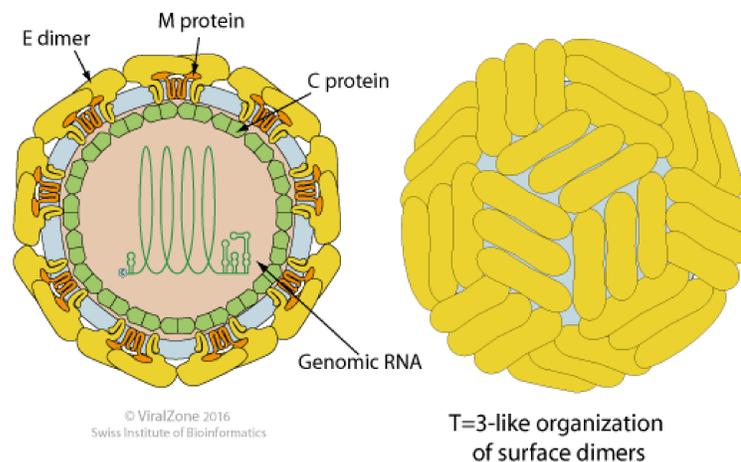


Figura 1: Estrutura do vírus Zika. Fonte: VIRALZONE, 2016.

As proteínas não estruturais desempenham papel importante na replicação do genoma viral e, por isso, são cruciais no processo de replicação e determinantes na virulência e patogenicidade, são: NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5 (KUNO et al., 1998). Como exposto por Herazo (2020) temos que:

- NS1: glicoproteína com 46 kDa que forma um homodímero, cuja função é necessária para a replicação viral.
- NS2A: proteína hidrofóbica com 22 kDa. Exerce função na montagem do vírion e antagoniza a resposta imunológica do hospedeiro
- NS2B: proteína de 14 kDa, cuja função é aumentar a permeabilidade da membrana da célula hospedeira.
- NS3: proteína multifuncional com 70 kDa. Desempenha duas funções distintas, sendo a porção C-terminal atuante como uma RNA helicase e a porção N-terminal atuante como quimotripsina.
- NS4A: proteína hidrofóbica de 16 kDa. Participa do processo de replicação do RNA.
- NS4B: proteína transmembranar, hidrofóbica e homodimérica de 27 kDa. Está relacionada à replicação viral e à evasão da imunidade inata do hospedeiro.
- NS5: possui aproximadamente 100 kDa e desempenha função na replicação do genoma, na supressão de intérféron e faz parte da modulação da atividade do spliceossoma celular.

A entrada de um *Flavivirus* na célula hospedeira tem como requisito a interação da proteína viral com os receptores da superfície celular (HAMEL et al., 2015) com o consequente processo de endocitose. Para isso, no interior da vesícula endocítica há uma alteração conformacional irreversível na proteína E, que de dímero é transformada em trímero. Essa alteração é desencadeada pela diminuição do pH no meio e tem como consequência a fusão do envelope viral com a membrana endossomal da célula. Após esse processo, tem-se a liberação do nucleocapsídeo no citoplasma e a síntese de uma poliproteína que, logo em seguida, é clivada (MUKHOPADHYAY; KUHN; ROSSMANN, 2005).

Nos estágios iniciais da clivagem da poliproteína do vírus Zika tem-se a autoclivagem da protease NS3 com o seu cofator NS2B antes da clivagem da proteína do capsídeo. Além da ação da NS3 também se observa a ação da sinalase da célula hospedeira e da furina celular que cliva a

porção pr da proteína M (BOIGARD et al., 2017).

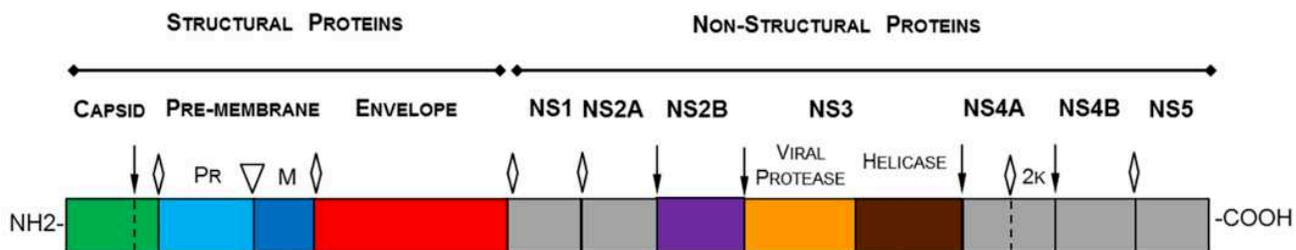


Figura 2: Poliproteína do vírus Zika com destaque para as regiões de clivagem. Adaptado de Boigard et al. (2017). (↓) Sinaliza os locais da autoclivagem da proteína NS3 com a NS2B e posterior clivagem da proteína do capsídeo. (◇) Representa a sinalização da célula do hospedeiro, desempenha função na maturação da poliproteína. (▽) Ilustra o local, em que ocorre a clivagem da porção Pr da proteína M pela furina celular.

1.2. Vírus Zika

1.2.1. Linha do tempo

Possivelmente, o vírus surgiu por volta de 1920 na África e de lá migrou para a Ásia no ano de 1940. Em 1947, o vírus foi isolado, pela primeira vez, em primatas e em 1948 foi encontrado em mosquitos na África. Evidências sorológicas apontam o ano de 1951 como uma provável data para as primeiras contaminações em humanos em países da África, Ásia e Oceania e em 2007 foram registrados os primeiros surtos de vírus Zika na Indonésia e uma epidemia da Micronésia. Já em 2013 e 2014 já havia 32 mil casos de infecções notificadas na Polinésia Francesa. Em 2015 o vírus chegou ao Brasil e os primeiros pacientes começaram a relatar os sintomas característicos da virose. Em 2016, o vírus já estava por toda a América e continuava a se espalhar por diversos países do mundo (JUNIOR, 2015; MUSSO; GUBLER, 2016; OLINDA, 2016; McNEIL JUNIOR, 2016; PETERSEN et al., 2016).

1.2.2. A transmissão do vírus Zika e o mosquito

A transmissão do vírus se dá pelo *Aedes* (*aēdēs* do grego ἀηδής: "odioso" e *egypti* do latim, significando "do Egípto"). Trata-se de um inseto pertencente à ordem Diptera e família Culicidae. É caracterizado por ser menor do que os mosquitos comuns e por sua coloração preta com listras brancas, asas translúcidas e produz um ruído inaudível ao ser humano. Pode ser

encontrado em quase todos os países do mundo, principalmente aqueles que se situam em regiões tropicais e subtropicais (Figura 3). O *Aedes aegypti* possui boa adaptação ao ambiente urbano, onde utiliza recipientes que armazenam água e vasilhames temporários como pneumáticos, latas, vasos de plantas e garrafas, para o desenvolvimento da sua fase larvária. O macho se alimenta exclusivamente de frutas e a fêmea se alimenta de sangue para que seus ovos possam se desenvolver de forma adequada (BRAGA; VALLE, 2007; SESA, 2021; WIKIPEDIA, 2021).

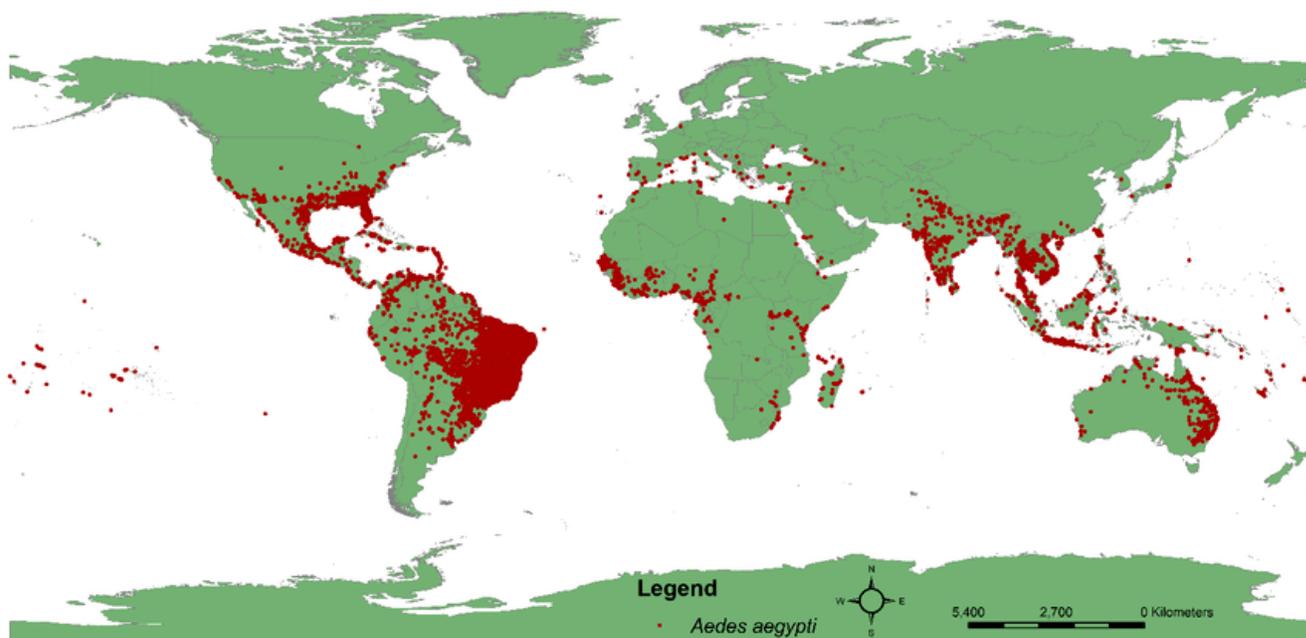


Figura 3: Mapa mundial com destaque para as regiões em que o *Aedes aegypti* pode ser encontrado. Fonte: Trewin (2017)

O ciclo de vida do mosquito envolve a deposição de ovos pela fêmea em algum recipiente que contenha água, após o período de incubação que pode durar meses, os ovos eclodem. As larvas provenientes dos ovos vivem na água por cerca de 5 dias, período gasto para se transformarem em pupas para posteriormente se transformarem em mosquitos adultos capazes de voar. Todo esse período de desenvolvimento do ovo ao mosquito adulto acontece em cerca de 10 dias (FIOCRUZ, 2019).

Na picada, o par de maxilares do mosquito perfura a pele por meio de sucessivos movimentos verticais e alcança o vaso sanguíneo, logo em seguida a hipofaringe do mosquito injeta a saliva, a qual contém substâncias anticoagulantes e anestésicas utilizadas para manter o

fluxo de sangue e inibir a sensação de dor por um curto momento, respectivamente. Muitas das vezes, a saliva está contaminada com o vírus Zika ou outros *flavivirus*. Após a injeção da saliva pela hipofaringe, o sangue é sugado até o estômago por meio do labro. Tanto o labro quanto a hipofaringe pertencem à tromba do mosquito, que por sua vez é denominada probóscide (MASSAO, 2018).

Os indivíduos que são picados pela fêmea do mosquito contaminada, podem ser infectados pelo vírus Zika e apresentar os sintomas relacionados à doença.

1.2.3. Sintomas e consequências

Os sintomas mais comuns são: exantema (Figura 4), febre, cefaleia, mal-estar, dores nas articulações, conjuntivite, edema e mialgia. Em países como a Polinésia Francesa e Brasil também foram relatadas complicações severas relacionadas à síndrome de Guillain-Barré, meningite, mielite transversa, dentre outros possíveis problemas relacionados ao comprometimento do sistema nervoso central (PINTO JÚNIOR et al., 2015; VASCONCELOS, 2015).



Figura 4: Exantema em paciente diagnosticada com vírus Zika. Fonte: Pinto Junior et al. (2015).

Em 2016, a Fundação Oswaldo Cruz comprovou a relação entre a microcefalia e o vírus Zika ao confirmar que de 32 bebês diagnosticados com microcefalia 13 haviam sido infectados

pelo vírus Zika (NOVAES et al., 2020).

1.2.3.1. Microcefalia

Conforme já exposto, uma das complicações ocasionadas pelo vírus Zika é a microcefalia (SOARES et al., 2019), que é malformação congênita caracterizada pelo desenvolvimento inadequado do cérebro e pelo perímetro cefálico menor que dois desvios-padrão abaixo da média em relação ao sexo e idade gestacional do bebê e em casos em que a medida do perímetro cefálico seja menor que três desvios-padrão, a microcefalia é considerada grave (Figura 5) (CABRAL et al., 2017).



Figura 5: Microcefalia. Adaptado de: “Typical Head Size, Microcephaly and Severe Microcephaly Comparison” (CDC; 2018).

Para que ocorra a microcefalia provocada pelo vírus Zika é necessário que a mãe seja primeiramente infectada, geralmente, no primeiro trimestre de gravidez e posteriormente ocorra a transmissão via transplacentária para o feto. Logo em seguida, inicia-se um processo infeccioso, no qual, o vírus infecta as células cerebrais que estão em desenvolvimento e ocasiona processos bioquímicos que acarretarão danos no desenvolvimento fetal. Dentre os processos bioquímicos que ocorrem, pode-se citar a ativação da P53, a inibição da via Akt-mTOR, a diferenciação celular anormal, a inibição do ciclo celular, a morte celular por apoptose e autofagia, a desregulação do ciclo celular e a redução do crescimento celular (PINHEIRO et al., 2019; HERLING et al., 2016; TEIXEIRA et al., 2020; BELTRAME et al., 2018).

Segundo estudos, os danos neurológicos associados ao vírus Zika são problemas no

Sistema Nervoso Central (SNC), como epilepsia, sequelas no sistema osteoarticular, calcificações na junção córtico-subcortical, malformações no desenvolvimento cortical, anormalidades na formação do corpo caloso, calcificações na junção córtico-sucortical, ventriculomegalia, redução do volume cerebral e atraso significativo no desenvolvimento neuropsicomotor que acarreta alterações visuais, sensoriais e auditivas (ALVES et al., 2016; BRUNONI et al., 2016; MELO et al., 2016; FLOR; GUERREIRO; ANJOS, 2017; HAMAD; SOUZA, 2020).

As consequências da epidemia foram devastadoras para muitas famílias e por isso e diversas análises sobre as questões emocionais e a forma com que os pais lidam com as limitações do filho diante das incertezas que enfrentam estão sendo discutidas. Para eles, uma nova rotina foi implementada e diante do abalo emocional, muitos pais também tiveram que enfrentar dificuldades financeiras e fragilidade social (FRANÇA et al., 2018; FÉLIX; FARIAS, 2018; MENEZES et al., 2019; MENDES et al., 2020; AZEVEDO; FREIRE; MOURA, 2021; MOCELIN et al., 2021).

Diante das dificuldades encontradas e das complicações citadas é que um tratamento eficiente seja aplicado às vítimas do vírus Zika.

1.2.3.2. Guillain-Barré

Outra possível consequência da infecção do vírus Zika é a Síndrome de Guillain-Barré, que por sua vez afeta o sistema neurológico e possui origem autoimune. Na medicina, ela é caracterizada por uma polirradiculoneuropatia desmelinizante inflamatória aguda e ascendente. O diagnóstico é clínico e possui caráter de urgência. O indivíduo diagnosticado com a síndrome pode requerer acompanhamento contínuo, devido à rápida evolução da doença. Em alguns casos, pode haver a necessidade de respiração mecânica (CABRAL et al., 2012; CHAVES FILHO et al., 2016).

Com a evolução da doença, o sistema imunológico passa a produzir anticorpos contra a bainha de mielina dos nervos periféricos, isso faz com que nervos saudáveis sejam reconhecidos como estranhos e sejam atacados (Figura 6). Como a mielina está relacionada à transmissão de impulsos elétricos, ao serem danificadas há uma diminuição em sua atividade que culmina nos sintomas relatados pelos pacientes diagnosticados com a síndrome (PINHEIRO, 2021; TOBIAS, 2018)

Muitos pesquisadores buscaram investigar a relação do vírus Zika em relação à Síndrome de Guillain Barré, inclusive com o intuito de encontrar fatores que desassociassem as duas doenças. Ao fazer esse tipo de investigação, Nóbrega et al. (2018) destaca que nos anos anteriores ao seu estudo não houve aumento de casos de indivíduos com a Síndrome de Guillain Barré, mesmo quando houve epidemias de dengue. Outros estudos e relatos no Brasil e em outros países também reforçam a associação da virose com a síndrome (BRASIL et al., 2016; CAO-LORMEAU et al., 2016; PARRA et al., 2016; WATRIN et al., 2016; BRASIL et al., 2016; SALINAS et al., 2017).

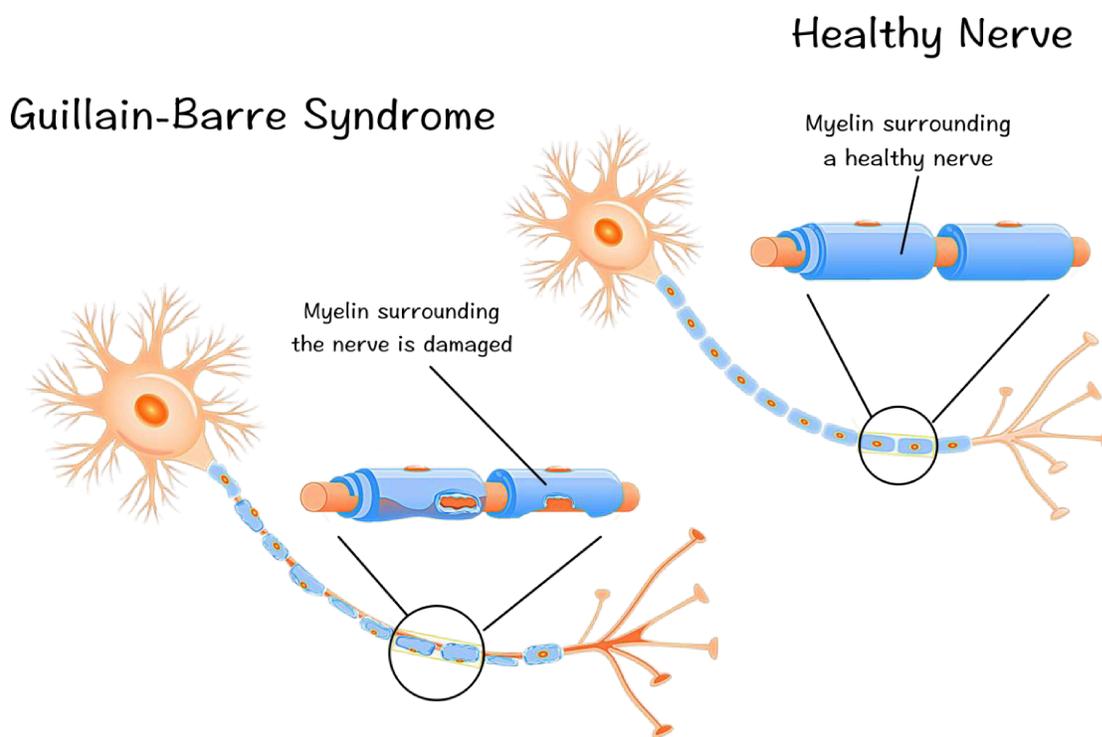


Figura 6: Nervo considerado normal e com a Síndrome de Guillain-Barre. Fonte: Tobias (2018).

1.2.4. Diagnóstico

O diagnóstico laboratorial do indivíduo infectado pelo vírus Zika é indispensável para o tratamento, sendo os testes de biologia molecular referência para a confirmação (CAIXA; SOBRAL; BANDEIRA, 2020).

O RNA viral pode ser encontrado em fluidos corporais como urina, saliva, sêmen, líquido amniótico, leite materno e sangue. Neste último, a detecção do RNA é realizada através da combinação das técnicas de Transcriptase Reversa e Reação em cadeia da polimerase e deve

acontecer em menos de 5 dias após o aparecimento dos primeiros sintomas (IOOS et al., 2014; SHARP et al., 2019).

1.3. A protease e a sua importância como alvo terapêutico

Uma proteína essencial à replicação do vírus Zika é a NS3, uma protease formada por três domínios e caracterizada por possuir uma tríade catalítica bem conservada (H^{51} , D^{75} e S^{135}) (JAIN et al., 2016; LEI et al., 2016).

O seu papel enzimático envolve a clivagem de um substrato e a ativação de um ataque nucleofílico da Serina 135 na carbonila P1 do substrato. Essa ativação é desencadeada pela ação da Histidina 51. Após a estabilização do complexo formado há a composição de um intermediário tetraédrico que posteriormente se decompõe acarretando a liberação de uma amina. A Histidina 51 passa a atuar de forma semelhante à uma base e eleva o caráter nucleofílico de moléculas de água. Por fim, a porção N-terminal da proteína clivada desprende-se em decorrência de uma reprotonação do ácido carboxílico, sendo esse o último acontecimento do ciclo catalítico (JÚNIOR, 2019).

Diante da atividade catalítica essencial da NS3, estudos *in vitro* mostram que a protease NS2B-NS3^{pro} é um alvo promissor para o desenvolvimento de anti-flavivirais (SHIRYAEV et al. 2017), enquanto que outros estudos ressaltam que a triagem de inibidores contra a NS3 possui melhor desempenho quando está não está ligada à NS2B, pois assim, há uma melhor disposição de seus sítios ativos e, por isso, facilita a ação de inibidores (PHOO et al., 2016), sejam eles do tipo reversível (não competitivo, competitivos e incompetitivos) ou irreversível (GUIDO; ANDRICOPULO; OLIVA, 2010).

Para a seleção de inibidores da NS3 é importante considerar a sua estrutura tridimensional (Figura 7), a sua função, as interações feitas entre a protease e os inibidores, as características do sítio de ligação e outros fatores que também podem influenciar o sucesso do estudo (PICCIRILLO; AMARAL, 2018).

Frente à função enzimática fundamental para a replicação do vírus Zika, à sua estrutura bastante conservada e aos conhecimentos de farmacologia, a NS3 é conhecida por ser um importante alvo terapêutico para o desenvolvimento de novos fármacos contra o vírus Zika (LEI et al., 2016; MARTINS, 2018).

Diante disso, e para maior elucidação das interações importantes que um composto

inibidor deve estabelecer com a NS3, nesse estudo, utilizou-se o complexo identificado por 5LC0 no *Protein Data Bank*, que traz em sua estrutura as proteínas NS3 e NS2 e, juntamente com elas, o inibidor de boronato, identificado por 6T8.

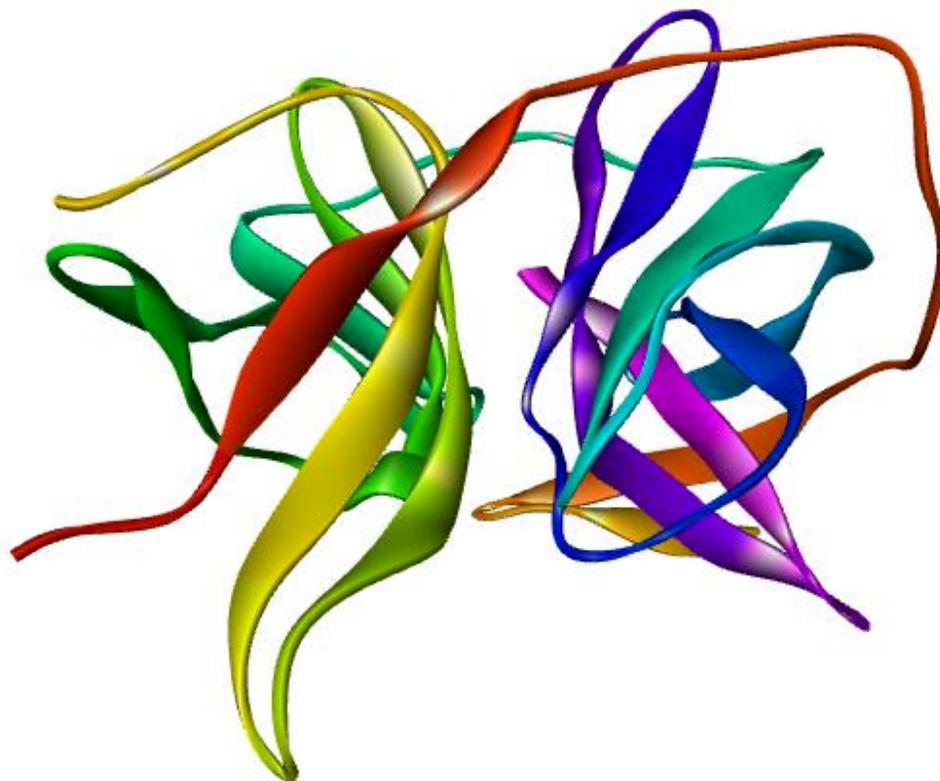


Figura 7: Estrutura tridimensional da protease NS3 isolada, nesse estudo, a partir do complexo PDBid: 5LC0.

1.4. A busca por novos fármacos

Os fármacos podem ter diversas origens naturais ao se considerar os compostos químicos presentes nos mais diversos organismos vivos que compõe a biodiversidade, tais como plantas, insetos, organismos marinhos e bactérias (MONTANARI; BOLZANI, 2001; COSTA NETO; RESENDE, 2004; ALHO, 2012). Como exemplo disso, podemos citar o medicamento Taxol, utilizado no tratamento de tumores sólidos que teve sua origem na planta *Taxus brevifolia* e o medicamento Ziconotide utilizado para o tratamento de dor crônica severa, cujo princípio ativo foi isolado do caracol marinho *Conus magus* (BARREIRO; BOLZANI, 2009; COSTA-LOTUFO et al., 2009). Apesar de ter muitos outros exemplos de fármacos que possuem origens a partir de compostos naturais, a humanidade ainda aproveita apenas de uma fração muito pequena da natureza (PINTO et al., 2002), sendo esta uma fonte sofisticada e rica em muitos compostos que

podem ser utilizados como fármacos, cosméticos e tantos outros bioprodutos úteis aos seres humanos (LOPES; BOLZAN, 2020).

Contudo, além das fontes naturais, os fármacos podem ter uma origem totalmente sintética e desenvolvida de forma racional para determinado alvo, ou ainda podem ser modificados a partir de compostos já existentes. Em virtude disso, processos de modificação molecular, bem como de modelagem molecular são frequentemente empregados no desenvolvimento de novos fármacos (AVER; KREUTZ; SUYENAGA, 2015). Por isso, o descobrimento de fármacos possui caráter multidisciplinar e envolve assuntos relacionados à farmacologia, bioquímica, química orgânica sintética, química computacional, dentre outros (VERLI; BARREIRO, 2005; SANTOS, 2012).

Do ponto de vista bioquímico e molecular no desenvolvimento de fármacos é importante abordar os modelos que nos permitem explicar o seu funcionamento. Um dos modelos mais famosos, popularmente conhecido como modelo chave-fechadura foi proposto por Hermann Ficher e explica a biotividade de diversos compostos, que por sua vez acarretou o descobrimento de diversos fármacos ao longo da história (SILVA, 2013).

O modelo de Ficher foi proposto no ano de 1894 e descreve um substrato e enzima que possuem formas geométricas que se complementam. Dessa forma, segundo o modelo, é possível considerar que o composto farmacológico é a chave e o receptor celular do organismo é a fechadura, como um sistema rígido, que ao se complementarem, provoca um estímulo ou bloqueio de determinada ação biológica. Entretanto, um novo modelo proposto por Koshland, no ano de 1958, considera um aspecto flexível das estruturas químicas e propões que o sítio ativo sofre alterações ao interagir com o substrato, o que ocasionaria uma ação catalítica baseada no rearranjo das cadeias laterais dos aminoácidos (VERLI; BARREIRO, 2005; LOPES, 2011), esse ajuste ficou conhecido como modelo de encaixe induzido e justifica o mecanismo de ação de diversos outros fármacos, os quais o modelo proposto por Ficher não justificaria.

Uma vez conhecida as fontes e as razões do funcionamento molecular dos fármacos é necessário partir para o processo de seu desenvolvimento, que por sua vez é dividido em várias etapas que envolvem essencialmente a descoberta de um composto com atividade terapêutica, estudos pré-clínicos e estudos clínicos. Para todo o desenvolvimento, é gasto em média 12 anos com uma baixa probabilidade de sucesso. Afinal, estima-se que a cada 100.000 novos compostos descobertos, apenas 250 chegam a passar por ensaios pré-clínicos e apenas 5 são testados em

humanos, chegando portanto, na fase de ensaios clínicos. Porém, ao final de todo o processo, apenas 1 composto entra para o mercado farmacêutico (FERREIRA et al., 2009). Dessa forma, o processo de descobrimento e desenvolvimento de medicamentos é dado como longo, difícil e de alto risco (CALIXTO; SIQUEIRA JÚNIOR, 2008).

Entretanto, mesmo frente a tais dificuldades é possível encontrar estratégias capazes de aumentar as chances de sucesso na pesquisa de novos fármacos, tendo em vista, principalmente a redução de riscos e custos (BARBERATO FILHO, 2006). Uma dessas estratégias é o uso dos métodos computacionais.

1.4.1. Métodos computacionais e novos fármacos

A aplicação dos conhecimentos computacionais no desenvolvimento de novos fármacos teve sua origem em sua aplicação nas ciências biológicas que surgiu com objetivo de suprir a necessidade de processar uma grande quantidade de dados clínicos, resolver cálculos estatísticos, validar hipóteses, prever, descrever e prescrever quaisquer processos biológicos (PIQUEIRA, 1996).

Além disso, a aplicação da informática passou a ser uma estratégia importante na química medicinal por permitir a identificação de características estruturais e químicas, facilitar a otimização de propriedades farmacocinéticas e dinâmicas e também favorecer o processo de ensino e aprendizagem dentro das academias em disciplinas que envolvem conhecimentos acerca do mecanismo de ação dos fármacos (CARVALHO et al., 2003; GUIDO; ANDRICOPULO, 2008; ANDRADE; TROSSINI; FERREIRA, 2010; RODRIGUES et al., 2012; PALMEIRA et al., 2019).

Na literatura, existem vários termos que fazem referência à descoberta de novos fármacos através dos métodos computacionais. Muitas das vezes, esses termos são expressos como siglas diferentes, mas que descrevem o mesmo objetivo, que por sua vez é o uso de técnicas computacionais para desenvolver, otimizar e/ou criar fármacos para as diversas doenças dos organismos vivos, como exemplo disso, podemos citar as seguintes siglas e termos: CADD que refere-se ao desenho de fármacos assistidos por computador (*Computer-Aided Drug Design*), CDD que faz referência ao desenho de fármacos por computador (*Computer Drug Design*), CAMM que provém do termo em inglês para modelagem molecular assistida por computador (*Computer-Aided Molecular Modeling*) e CADDD para desenvolvimento e descoberta de

fármacos assistidos por computador (*Computer-Aided Drug Discovery and Development*) (FEDERICO, 2016).

Existem várias softwares e métodos que fazem parte do desenvolvimento de novos fármacos por métodos computacionais. Um desses métodos é o *docking* molecular, que parte da premissa de que conhecendo a estrutura tridimensional de uma enzima, é possível selecionar ou criar ligantes que interajam com o seu sítio ativo (SHOICHET et al., 2002).

Os softwares FlexX, GOLD, AutoDock, DockThor, AutoDock Vina e Docker virtual de Molegro são exemplos de ferramentas que permitem a performance do *docking* molecular (TORRES et al., 2019) e são bastante utilizados no estudo de novos fármacos.

Conhecendo as ferramentas computacionais, a estrutura tridimensional da enzima e a forma de inibição, é preciso selecionar os ligantes corretos para cada sítio ativo (AMARAL; MONTANARI, 2002). A seleção de novos inibidores busca identificar compostos que possuem maior afinidade com o alvo proteico, de modo que este tenha sua função bioquímica comprometida. Além disso, é possível o *design* de novos inibidores a partir de moléculas já conhecidas e depositadas em banco de dados (ROCHA, 2011) comerciais e gratuitos como ZINC, WOMBAT, ChEMBL, PDBbind, PubChem, DrugBank e Nubbe (PICCIRILLO; AMARAL, 2018)

Depois da seleção virtual, os compostos podem ser sintetizados e testados experimentalmente, para que então, o composto possa ser reconhecido como um medicamento (HICKSON, [s.d.]).

1.4.2. Características importantes em um fármaco

1.4.2.1. Farmacocinética

Farmacocinética é o estudo sobre o que o organismo faz em relação à droga e aborda conhecimentos que são fundamentais no tratamento de diversas doenças de forma quantitativa e temporal dos processos que ocorrem desde o momento que o fármaco entra no organismo até a sua excreção (FEDERICO et al., 2017), para isso se baseia em modelos matemáticos (REAL, 2016).

A avaliação de parâmetros farmacocinéticos é de suma importância para o desenvolvimento de fármacos, visto que milhares de compostos são abandonados pela pesquisa de novos fármacos devido a características farmacocinéticas indesejáveis, como a presença de

metabólitos ativos ou tóxicos derivados do metabolismo de certo composto (PEREIRA, 2007). Em virtude disso, estudar o perfil e as características farmacocinéticas que acompanham um composto é uma estratégia que visa diminuir a taxa de insucesso de candidatos a fármacos na fase clínica de desenvolvimento (SOUZA, 2019).

Os fatores que descrevem um perfil farmacocinético estão basicamente divididos em quatro etapas: absorção, distribuição, metabolismo e excreção. A interação dessas quatro etapas determina a concentração plasmática e estabelece a capacidade de determinado fármaco alcançar o seu objetivo em uma concentração efetiva (LEONARDI, 2021), e exerce também, grande importância na posologia de determinada droga (JONES, 2018; RUSCIN; LINNEBUR, 2018).

A etapa de absorção consiste na transferência do fármaco desde o seu local de administração até a corrente sanguínea, trata-se de uma etapa determinante na descoberta de um composto, uma vez que se um fármaco não é absorvido de forma adequada, seus efeitos sistêmicos não existirão (OLIVEIRA, 2021).

Após a entrada do fármaco na circulação sistêmica, o fármaco será distribuído a todos os tecidos de forma desigual. Isso acontece porque existem diferenças na perfusão sanguínea, no pH regional, na permeabilidade das membranas celulares e também na ligação do fármaco aos próprios tecidos, dentre outras características que também influenciam a penetração de um fármaco em um tecido (LE, 2019). Como representante dessa etapa, no presente estudo foi feita a predição sobre a possibilidade de ocorrer a passagem dos compostos pela barreira-hematoencefálica.

A terceira etapa da farmacocinética consiste na metabolização e ocorre, principalmente, no fígado. Nessa etapa, ocorrem as reações de oxidação, redução, conjugação e hidrólise. As reações que caracterizam a oxidação/redução são realizadas pelas enzimas do citocromo P450 e provocam alterações estruturais no fármaco. Através delas, os pró-fármacos são ativados. Já as reações de conjugação/hidrólise tem o objetivo de inativar certos metabólitos ou ainda de aumentar a solubilidade dos compostos resultantes (RANG et al., 2016; LIBERATORI, 2021).

A inibição das enzimas que compõe o citocromo P450 é uma das principais razões pelas quais ocorrem as interações medicamentosas relacionadas à farmacocinética, que por sua vez culminam em efeitos tóxicos e adversos causados pela menor depuração e acúmulo do fármaco ou de seus metabólitos. Frente a isso, a determinação de quais enzimas é afetada por um fármaco ganha elevada relevância (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017).

As principais enzimas que compõe o citocromo P450 são as CYP1A2, CYP3A4, CYP2C9, CYP2C19 e CYP2D6 e possuem grande destaque nas reações da fase I do metabolismo de mais de 75% dos fármacos utilizados atualmente, sendo, portanto recomendado a realização de estudos *in vitro* que descrevam o comportamento metabólico de candidatos a fármaco em relação a essas enzimas (HABENSCHUS, 2016). Por esse motivo, no presente estudo foi feita a predição da capacidade inibitória dos compostos estudados em relação às enzimas citadas.

A avaliação da capacidade de inibição de certo composto pode trazer uma previsão sobre as interações medicamentosas geradas ao se administrar fármacos de forma concomitante. Diante da suma importância dessa análise, é altamente recomendada a realização de estudos *in vitro* que possam avaliar o comportamento metabólico de candidatos a fármaco em relação às essas enzimas (HABENSCHUS, 2016), além da previsão feita *in silico*.

A última etapa da farmacocinética tem-se a excreção, em que os compostos resultantes são removidos do organismo para o meio externo. É um processo que ocorre, principalmente, por meio dos rins e fígado, entretanto, algumas drogas ainda podem ser eliminadas pelos pulmões, pele, leite, suor ou saliva, sendo esses últimos métodos de eliminação menos comuns (ANVISA, 2008).

Outro fator que influencia na farmacocinética e nos efeitos de determinada droga está relacionado à glicoproteína P. O fato de determinado fármaco ser ou não substrato da glicoproteína P influencia os processos de absorção, eliminação e excreção de drogas. É sabido que a glicoproteína P é uma proteína expressa na superfície celular que funciona como uma bomba de efluxo dependente de ATP. Em células hepáticas, a glicoproteína P faz o transporte do composto farmacológico para a bile, promovendo a sua eliminação. Com o mesmo objetivo, em células renais, a glicoproteína P bombeia os compostos para a sua excreção na urina. Já na placenta, ela executa o transporte de fármacos de volta para o sangue materno e reduz a exposição do feto aos fármacos. No intestino, ela atua reduzindo a absorção ao transportar os fármacos para o lúmen intestinal e na barreira hematoencefálica, a glicoproteína P promove o bombeamento dos fármacos de volta ao sangue e assim atua como um protetor cerebral ao limitar o acesso ao cérebro para muitos fármacos, constituindo de um importante mecanismo que evita a penetração de substâncias citotóxicas no cérebro (BEZERRA, 2011; ZIMMERMANN, 2015; DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017; WIKIPÉDIA, 2020).

Diversos fármacos já foram classificados como inibidores ou substratos da glicoproteína

P, entretanto a modulação de sua atividade ainda não está completamente elucidada. Porém, o conhecimento se determinada droga é substrato ou inibidor da glicoproteína P pode fornecer previsões sobre o seu funcionamento e assim, promover uma melhor visão sobre a concentração de fármacos no organismo, aumentar a eficiência do tratamento, influenciar a biodisponibilidade oral e dizer respeito sobre a penetração de fármacos no sistema nervoso central (BEZERRA, 2011).

1.4.2.2. *Druglikeness*

Outras características que auxiliam na busca por novos fármacos podem ser encontradas ao se estudar as propriedades *druglikeness*. Um composto que possui bom potencial *druglikeness* é aquele que apresenta grupos funcionais e propriedades físicas, como lipofilicidade, características de ligação hidrogênio, tamanho, distribuição eletrônica, flexibilidade molecular e características farmacofóricas semelhantes à maioria dos fármacos conhecidos (MARÍÑO, 2014), tendo isso em vista, ao avaliar as propriedades *druglikeness* de determinado composto, estamos verificando a similaridade que ele possui em relação aos fármacos já comercializados (MAXWELL, SN; COSTA, 2015).

Essa avaliação torna-se importante ao possibilitar a predição e exclusão de compostos que, provavelmente, não apresentarão bom perfil farmacocinético (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017) e também pode auxiliar na otimização das propriedades farmacocinéticas e farmacêuticas e exercer um impacto prático na busca por novos compostos que possam funcionar como fármacos (MELLO, 2012).

No presente estudo, foram avaliados 5 tipos diferentes de filtros, disponibilizados pelo SwissADME, que consideram diversas propriedades moleculares como determinantes para que uma molécula seja considerada semelhante a um fármaco ou não. Tais filtros foram desenvolvidos por empresas farmacêuticas com o intuito de melhorar a qualidade de suas buscas por melhores fármacos (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017). Dentre os filtros disponibilizados pelo SwissADME tem-se Lipinski (para Pfizer), Ghose (para Amgen), Veber (para GlaxoSmithKline), Egan (para Pharmacia) e Muegge (para Bayer) (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017; JIA et al., 2019; KADRI; AOUADI, 2020).

Entretanto, o filtro de Lipinski com suas respectivas regras é o mais citado na literatura e foi desenvolvido por Lipinski e seus colaboradores no ano de 1997. Juntos, eles realizaram um

estudo para a empresa farmacêutica Pfizer, cujos resultados apontaram propriedades físico-químicas necessárias para que as drogas apresentassem boa disponibilidade oral. Esse foi um dos trabalhos pioneiros relacionados à disponibilidade oral e como decorrência do estudo foram encontradas algumas regras que poderiam auxiliar os pesquisadores no desenvolvimento de novos fármacos. O conjunto das regras ficou denominado Regra dos Cinco ou em inglês *Rule of Five*. Conforme as regras, as propriedades importantes para uma boa disponibilidade oral são: número de doadores de ligações de hidrogênio, número de aceptores de ligações de hidrogênio, log P, peso molecular e pontos de interação para os principais alvos de fármacos. Dessa forma, a Regra dos Cinco sugere que uma má absorção do fármaco ocorre quando o composto possui mais de 5 doadores de ligação de hidrogênio, mais que 10 aceptores de ligação de hidrogênio, mais que 500 daltons de peso molecular e log P maior do que 5, enquanto que uma boa absorção oral seria exatamente o oposto do descrito. Além disso, cerca de 10% das moléculas estudadas por Lipinski apresentaram 2 parâmetros que não condiziam com uma boa disponibilidade oral e com base nisso, Lipinski sugeriu que compostos que apresentassem 2 ou mais parâmetros fora do esperado para uma boa disponibilidade oral teriam grandes chances de serem pouco permeáveis (LIPINSKI et al., 1997; SANTOS; GONSALVES; ARAÚJO, 2018; PICCIRILLO; AMARAL, 2018; TAVARES, 2020).

Já com relação aos parâmetros de outros filtros implementados pelo SwissADME, tem-se que a similaridade de certo composto em relação aos fármacos comerciais se dá por meio de regras diferentes daquelas definidas por Lipinski (DAINA; MICHELIN; ZOETE, 2017).

Conforme o filtro de Ghose, para um fármaco ter propriedades druglikeness, é necessário que o composto tenha peso molecular superior ou igual a 160 e inferior ou igual a 480, WLOGP maior ou igual a -0,4 e inferior ou igual a 5,6, Refratividade Molecular maior ou igual a 40 e inferior ou igual a 130 e número de átomos maior ou igual a 20 e menor ou igual a 70 (GHOSE; VISWANADHAN; WENDOLOSKI, 1999).

Entretanto, para o filtro de Veber, é necessário, apenas, que o composto tenha número menor ou igual a 10 ligações giratórias e área de superfície polar topológica inferior ou igual a 140 (VEBER et al., 2002).

Para Egan, já é preciso que o composto tenha WLOGP inferior ou igual a 5,88 e área de superfície polar topológica inferior ou igual a 131,6 (EGAN; MERZ; BALDWIN, 2000).

Conforme descrito por Muegge é necessário que o composto tenha peso molecular maior

ou igual a 200 e menor ou igual a 600, XLOGP maior ou igual a -2 e menor ou igual a 5, área de superfície polar topológica inferior ou igual a 150, número de anéis igual ou inferior a 7, número de carbonos maior do que 4, número de heteroátomos superior a 1, número de ligações giratórias inferior ou igual a 15, número de aceptores de ligação de hidrogênio menor ou igual a 10, número de doadores de ligação de hidrogênio menor ou igual a 5 (MUEGGE; HEALD; BRITTELLI, 2001).

Dessa forma, pode-se concluir que existem diferentes filtros e características que possibilitam a previsão sobre as propriedades *druglikeness* e que tais propriedades são importantes na hora da seleção e estudos de novos fármacos, uma vez que a similaridade de um composto em relação a fármacos comerciais pode ser um indício de que passará pelos sucessivos testes que são realizados durante o desenvolvimento de novos fármacos.

1.4.2.3. Toxicidade

A análise de toxicidade possui grande importância no descobrimento de fármacos, e o aprendizado de máquina está cada vez mais presente nessa análise, a ponto de se tornar uma ferramenta essencial no estudo de novos compostos (UNTERTHINER et al., 2015; MAYR et al. 2016; HESSLER; BARINGHAUS, 2018). Pois, o uso de métodos computacionais além de ter custos operacionais exorbitantemente menores e otimizar o tempo das pesquisas, não exige o uso de animais e apresenta alta exatidão e reprodutibilidade (MEDEIROS, 2019).

Além disso, vale ressaltar que segundo Dearden (2002), a avaliação da toxicidade deve ser realizada o mais cedo possível no processo de desenvolvimento de fármacos, uma vez que agindo assim, os pesquisadores podem minimizar os erros e as falhas ocasionados pela toxicidade nos ensaios clínicos e nas demais fases do processo. Dessa forma, identificar atividade biológica e avaliar parâmetros farmacológicos e toxicológicos pode ser uma estratégia para definir a continuidade do estudo de certo composto, bem como sua rejeição do ponto de vista farmacológico (COCCO et al., 2020).

A avaliação computacional das propriedades toxicológicas é baseada na comparação da estrutura química de determinado composto com outras moléculas presentes em um banco de dados. Então, faz-se a análise que envolve múltiplas características de forma simultânea. A partir daí é possível fazer uma predição abrangente que possibilita conhecer os prováveis efeitos adversos de certa substância (ALVES et al., 2019).

Para as análises de toxicidade dos compostos estudados nesse trabalho foi utilizado a plataforma gratuita admetSAR (CHENG et al., 2012) e foram avaliadas as características de inibição de hERG (human ether-a-go-go related gene), Toxicidade AMES e carcinogenicidade.

1.4.2.3.1. Inibição de hERG

Compostos que inibem a subunidade do canal de potássio codificado pelo gene hERG (human ether-a-go-go related gene) pode levar ao prolongamento do intervalo QT e culminar em uma arritmia cardíaca potencialmente fatal (CYPROTEX, 2021) e por isso são considerados cardiotóxicos, não obstante, muitos fármacos já foram tirados do mercado ou tiveram seu uso limitado devido ao seu efeito inibitório de hERG (ALVES et al., 2014).

1.4.2.3.2. Toxicidade AMES

Identifica as substâncias que são capazes de causar mutações genéticas e acarretar cancro ou mutações em óvulos humanos e no esperma, que possivelmente, culminaria em mutações na prole. As mutações geradas podem afetar apenas uma base do material genético ou provocar mudança e rearranjo de múltiplas bases, podendo ter impacto até, mesmo no número de cromossomos (SHAFER, 2019). Frente à importância dessa característica, torna-se crucial o seu estudo no desenvolvimento de novos fármacos.

1.4.2.3.3. Carcinogenicidade

A carcinogênese é gerada por meio da transformação de células normais em células cancerosas. Decorre de uma cascata de eventos que quando associados produzem alterações nas taxas de morte e crescimento celular, alterações na diferenciação celular ou ainda invasão de tecidos normais. Diante disso, a predição acerca da carcinogenicidade objetiva saber se determinada substância é capaz de induzir câncer ou aumentar a sua chance de ocorrência, seja através da formação de tumores malignos ou benignos (GUERRA, 2016).

1.4.2.4. Acessibilidade sintética

Determinar o quanto uma molécula é difícil ou fácil de ser sintetizada pode ajudar na seleção das moléculas mais promissoras para se tornarem futuros fármacos. A acessibilidade

sintética geralmente é determinada por químicos, entretanto, quando se avalia um grande número de moléculas torna-se impossível, humanamente, aos especialistas realizarem todo o trabalho. Sendo assim, uma estimativa *in silico* pode ser utilizada para uma pré-filtragem que possibilitará a eliminação daqueles compostos que, de acordo com os algoritmos específicos para esse fim, possuem um processo sintético de difícil execução. (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017).

Além disso, existem muitos fatores que influenciam a acessibilidade sintética de determinada molécula e calcular o quanto um composto é acessível sinteticamente não é uma tarefa fácil quando não se usa métodos computacionais, isso acontece devido a ausência de uma definição rigorosa para o termo. Entretanto, de forma simplista, o número de passos que compõe a síntese de qualquer composto é o que determinará a facilidade ou a dificuldade da síntese. Dessa forma, quanto maior for o número de passos requeridos para se chegar à molécula final, menos acessível do ponto de vista sintético é uma molécula para a indústria. Com isso em vista, torna-se possível fazer comparações em relação à complexidade entre vários compostos (OSEDACH; ANDREW; BULOVIĆ, 2013) e assim, gerar *rankings* para compra de amostras e seleção de compostos que passaram pela triagem (ERTL; SCHUFFENHAUER, 2009).

Dada a importância da avaliação da acessibilidade sintética, diversas ferramentas são criadas com o intuito de fazer essa avaliação. Como exemplo, se podem citar as ferramentas: SYBA (VORŠILÁK et al., 2020), RASA (HUANG; LI; YANG, 2011), PhDD (HUANG; LI; YANG, 2010) e SwissADME (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017), dentre outras.

No presente estudo, foi utilizado o SwissADME que segundo Daina, Michielin e Zoete (2017) calcula o valor para a acessibilidade sintética através da suposição de que a frequência de fragmentos moleculares presentes em moléculas que podem ser obtidas se correlaciona com a facilidade de síntese molecular. A pontuação é gerada e normalizada em uma escala de 1 e 10. Quanto maior a pontuação, maior é a dificuldade da síntese molecular, e quanto menor é a pontuação, mais fácil é a síntese molecular (SWISSADME, 2021).

Além disso, para comparação, a pontuação para a acessibilidade sintética, para os químicos, pode ser agrupada em 4 classes diferentes: fácil acessibilidade (pontuação ≤ 3), média-baixa acessibilidade ($3 < \text{pontuação} \leq 5$), média-alta acessibilidade ($5 < \text{pontuação} \leq 7$) e difícil acessibilidade (pontuação > 7) (BONNET, 2012).

1.4.3. Reposicionamento de fármacos

É uma estratégia importante e promissora que possui como intuito encontrar novas indicações e usos para medicamentos que são aprovados e comercializados ou que ainda estão em processo de investigação, mas que tenham um perfil de segurança já demonstrado em ensaios clínicos, ou ainda que sejam moléculas candidatas em fase de desenvolvimento de determinado medicamento, mas que não ofereceram eficácia para determinada doença. Em virtude disso, quando comparado com o desenvolvimento de um medicamento novo, a estratégia de reposicionar um fármaco oferece custos inferiores e conseqüentemente, requer investimentos mais baixos. Além disso, também requer menor tempo de desenvolvimento, uma vez que os testes de segurança já foram realizados na concepção do medicamento original, e por isso agilizam a aprovação de medicamentos que possuem segurança e eficácia (JARDIM, 2013; VILLALBA, 2015, BREDER, 2020; THOMÉ, 2019; VALE, 2019; GRANDO; OLIVEIRA; FIERRO, 2020).

Isso acontece, porque ao se reposicionar um fármaco se evita muitos problemas que impediriam o desenvolvimento de um novo fármaco, como por exemplo, problemas que envolvem a seletividade de alvo, farmacocinética, toxicologia, metabolismo e efeitos adversos que poderiam ocorrer ao testar uma nova molécula. Qualquer falha ou descoberta negativa que envolve os processos citados poderia acabar com as expectativas de um novo fármaco para o tratamento de determinada doença (COELHO, 2019).

Dessa forma, grande parte dos fármacos já foram reposicionados, apenas receberam novos usos e mantêm sua indicação original (SILVA, 2015). Como exemplo de fármaco reposicionado pode-se citar o citrato de sildenafila, desenvolvido pela Pfizer, que inicialmente foi planejado para o tratamento de hipertensão, mas que passou a ser utilizado contra disfunção erétil (KUNUMI, 2020; FARIA; SANTOS, 2020).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Selecionar potenciais ligantes para a estrutura tridimensional da Protease NS3 do vírus Zika (PDBid: 5LC0) com características farmacológicas favoráveis, por meio da construção de modelo baseado em forma, triagem virtual, *docking* molecular não covalente e covalente e predição das características farmacocinéticas.

2.2. Objetivos específicos

- Gerar modelo baseado em forma do composto N-((S)-3-(4-(aminomethyl) phenyl)-1-(((R)-4-guanidino-1-(5-hydroxy-1,3,2-dioxaborinan-2-yl)butyl)amino)-1-oxopropan-2-yl)benzamide (PDB: 6T8)
- Preparar os bancos de dados para a triagem virtual.
- Executar a triagem virtual de compostos *leadlike* e *druglike*, de compostos aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA) e de compostos naturais (NUBBE).
- Modificar estruturalmente os compostos *leadlike* e *druglike* de melhor resultado para realização de *docking* covalente.
- Executar o *docking* molecular covalente com os compostos de origem *leadlike* e *druglike* e não covalente com compostos de origem *druglike*, *leadlike*, NUBBE, FDA.
- Predizer as características farmacológicas e de toxicidade dos compostos selecionados.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia desenvolvida neste projeto está descrita na forma de um fluxograma presente na Figura 8.

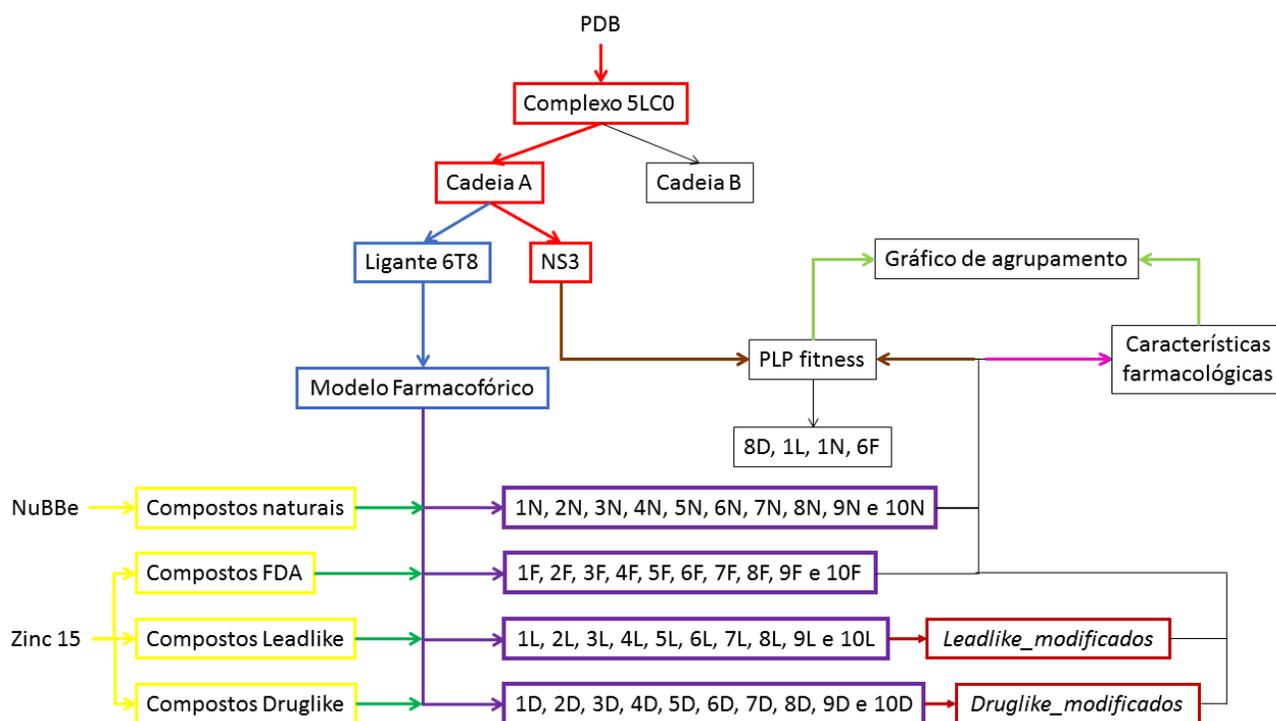


Figura 8: Esquema da metodologia utilizada no estudo. As cores empregadas fazem separação de cada etapa: Elementos na cor vermelha: Processo de obtenção da proteína tridimensional NS3 do vírus Zika; Elementos na cor amarela: Bibliotecas de compostos e suas origens; Elementos na cor azul: Definição do modelo baseado em forma; Elementos na cor verde escura: Geração de banco de dados e conformeros de ligantes; Elementos na cor roxa: Triagem virtual e a seleção dos compostos para *docking* molecular; Elementos na cor vermelha escura: Ligação Covalente e modificação molecular; Elementos na cor marrom: *Docking* molecular; Elementos na cor rosa: Características farmacológicas; Elementos na cor verde clara: Comparação dos compostos selecionados com o inibidor de boronato (ligante 6T8).

3.1. Obtenção da proteína tridimensional NS3 do vírus Zika

Um complexo formado pela proteína NS3, NS2 e o inibidor de boronato (N-((S)-3-(4-(aminomethyl)phenyl)-1-(((R)-4-guanidino-1-(5-hydroxy-1,3,2-dioxaborinan-2-yl)butyl)amino)-1-oxopropan-2-yl)benzamide (ID: 6T8)) (LEI et al., 2016) foi obtido através do banco de dados em 3D de proteínas e ácidos nucleicos *Protein Data Bank* (PDB) (BERMAN et al., 2000).

Para o presente estudo, o inibidor de boronato, foi o escolhido como ideal, porque é um inibidor com estrutura conhecida e está disponibilizado juntamente com a NS3 do vírus Zika (Figuras 9 e 10).

Ademais, o complexo (PDB, 2016) estava identificado pelo código PDB: 5LC0 e a estrutura disponibilizada possui uma resolução de 2.7 angstrom (LEI et al., 2016). O *download*

no formato PDB foi realizado. Após a obtenção do complexo, a preparação para os estudos subsequentes envolveu a exclusão da cadeia referente à NS2 e do inibidor de boronato. Este último foi utilizado para a construção do modelo baseado em forma descrito no tópico 3.4 e a NS2 não fez parte de nenhuma etapa, enquanto que a protease NS3 foi reservada como o alvo proteico do presente estudo.

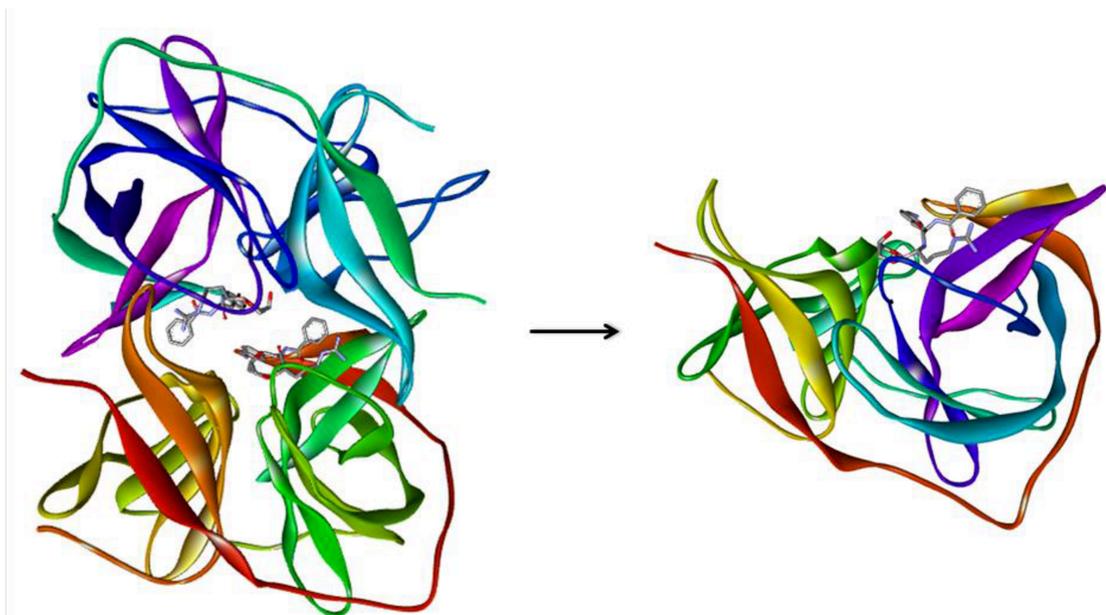


Figura 9: Estrutura do complexo NS3, NS2 e inibidor de boronato (PDB: 5LC0) à direita e a NS3 isolada à esquerda ainda em complexo com inibidor.

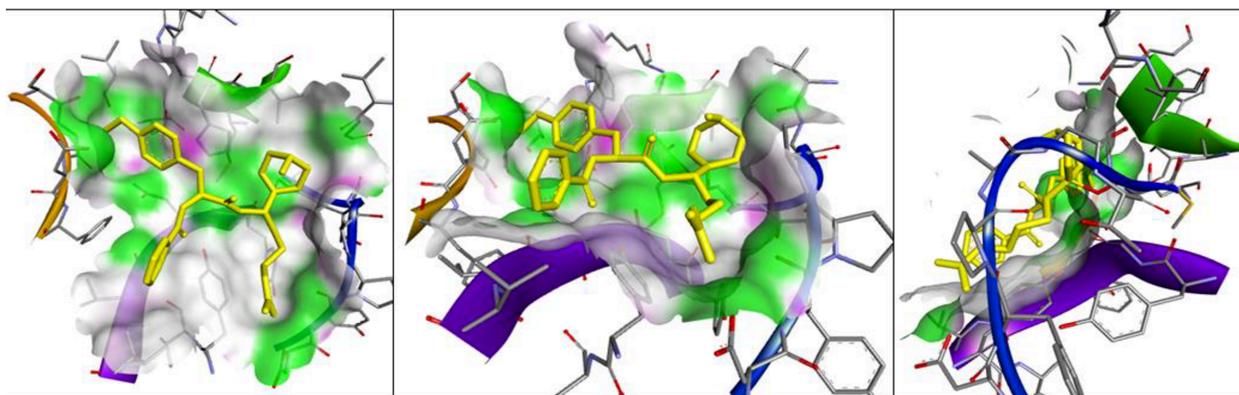


Figura 10: Inibidor de boronato ocupa o sítio de ligação da proteína NS3, formando o complexo proteína-ligante.

3.2. Bibliotecas de compostos e suas origens

Os compostos testados foram adquiridos no banco de dados Zinc 15 (IRWIN, 2008) e

NuBBE (SALDÍVAR-GONZÁLEZ et al., 2018). Não houve motivos específicos para a escolha desses bancos de dados, a não ser a sua segurança e confiabilidade em fornecer informações científicas.

Para a escolha dos compostos do banco de dados Zinc 15 foram selecionados 2.115 compostos que já foram aprovados pelo *Food and Drug Administration* (FDA), 27.802.854 compostos classificados como *druglike* (LIPINSKI, 2004) e 5.289.964 compostos classificados como *leadlike* (RAYMER; BHATTACHARYA, 2018). Já para a escolha dos compostos naturais do NuBBE foram aplicados 2.222 compostos no estudo.

Os downloads de todos os compostos foram realizados no formato SDF e armazenados em pastas separadas para as análises posteriores.

3.3. Modelo baseado em forma

O inibidor de boronato deu origem a um modelo utilizado na seleção dos compostos a partir das bibliotecas geradas e se baseia nos critérios geométricos da interação da proteína e de seu ligante (STIERAND; RAREY, 2010).

Para a construção do modelo foi utilizado o Software ROCS (HAWKINS; SKILLMAN; NICHOLLS, 2007) e as regiões específicas de interação entre proteína e ligante foram mantidas por serem essenciais na estabilização da interação. Dessa forma, foram definidas as regiões aceptoras e doadoras de hidrogênio, cátions, ânions, regiões hidrofóbicas, as regiões de anéis aromáticos, (BORGES, 2019) topologia e por consequência da análise das interações intermoleculares, foi possível definir os pontos farmacofóricos do inibidor.

3.4. Geração de banco de dados e confôrmeros de ligantes

As bibliotecas de compostos selecionadas foram submetidas ao programa FILTER do OMEGA 2.5.1.4, OpenEye Scientific Software, Santa Fe, NM, para que compostos que possuem funções tóxicas, alta probabilidade de formar ligações covalentes com o alvo proteico, alta probabilidade de gerar interferência em ensaios biológicos, baixa disponibilidade oral fossem removidos (FONSECA, 2019).

Os compostos que passaram pelo filtro anterior, foram então, submetidos ao programa QUACPAC, OpenEye Scientific Software, Santa Fe, NM, para que cargas precisas fossem geradas para cada composto. Com esse intuito, o programa enumera o pKa e os tautômeros de

cada molécula e assim obtém o seu estado de protonação (PANIAGO, 2018).

Logo em seguida, os compostos foram submetidos ao programa OMEGA (HAWKINS et al., 2010), com a finalidade de gerar bancos de dados de multi-confôrmeros bioativos com alta velocidade e confiabilidade, sendo, portanto, uma etapa fundamental para a triagem virtual com o uso de modelos farmacofóricos, já que estes dependem de conformações bioativas para a seleção durante a triagem virtual (SILVA, 2017).

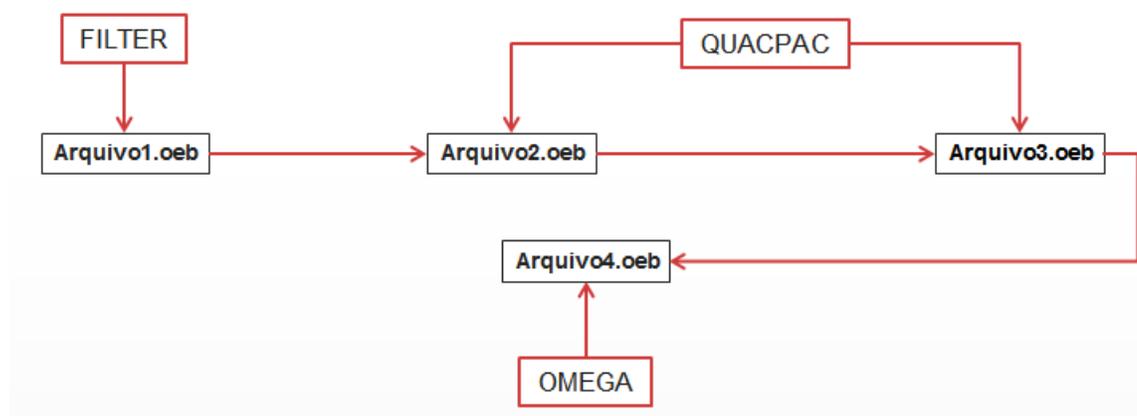


Figura 11: Esquema representando a geração de dados durante a preparação do banco de dados. No processo um arquivo inicial (Arquivo1.oeb) passou pelo filtro do programa FILTER, onde teve compostos indesejáveis eliminados, gerando assim, um segundo arquivo (Arquivo2.oeb). O programa QUACPAC enumerou o pKa dos compostos do Arquivo2.oeb e gerou um terceiro arquivo (Arquivo3.oeb), que por sua vez serviu para a geração de tautômeros, processo que também ocorreu através do programa QUACPAC. Como resultado dessa etapa, foi gerado o quarto arquivo (Arquivo4.oeb) que passou pelo programa OMEGA para a geração de multi-confôrmeros bioativos.

3.5. Triagem virtual e a seleção dos compostos para *docking* molecular

Durante a triagem virtual foram identificados os compostos potencialmente ativos através de comparações moleculares dos compostos preparados na etapa anterior com o modelo baseado em forma. Esse processo foi realizado através do programa ROCS (VENHORST et al., 2008) e resultou em um ranking dos 500 compostos que mais se assemelhavam ao modelo baseado em forma.

A pontuação para o ranking foi estabelecida através da pontuação Tanimoto_Combo, que considera a soma da similaridade da cor e da forma entre o modelo farmacofórico e os outros compostos (OPENEYE, 2021).

3.6. Ligação Covalente e modificação molecular

Os compostos *Leadlike* e *Druglike* selecionados tiveram suas estruturas moleculares modificadas com o objetivo de adicionar a estrutura molecular (Figura 12) presente no ligante original (inibidor de boronato) que é essencial para a ligação covalente do inibidor à proteína NS3 do vírus Zika. A fórmula molecular da estrutura adicionada é $C_3H_6BO_3$, pois se considerou a adição da estrutura diretamente em um dos carbonos que já estavam presentes na molécula do composto a ser modificado.

Após a modificação molecular, os compostos *leadlike* passaram a ser identificados por *leadlike_modificados* e os compostos *druglike* passaram a ser identificados por *druglike_modificados*.

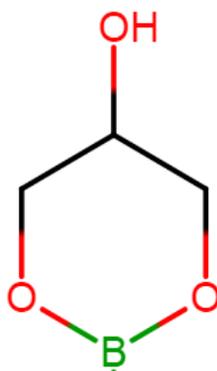


Figura 12: Estrutura molecular adicionada às moléculas *Leadlike* e *Druglike*. A adição da estrutura se deu através da ligação covalente do átomo de Boro em um dos carbonos já presentes na estrutura de cada composto.

3.7. Docking molecular e visualização das interações proteína-ligante

Foi realizado o *docking* molecular covalente utilizando os compostos *leadlike_modificados* e *druglike_modificados*, enquanto que para o *docking* molecular não covalente utilizou-se os compostos já aprovados pelo FDA, os compostos naturais e também os compostos *leadlike_modificados* e *druglike_modificados*.

Para realizar o *docking* molecular foi utilizado o software GOLD (NURISSO et al., 2012). Foi feita a predição das afinidades de interação entre os compostos e a proteína estudada (VERDONK et al., 2003) e a afinidade de cada interação foi pontuada pelo algoritmo CHEMPLP. Por meio da pontuação atribuída a cada interação, foi possível diferenciar os ligantes promissores para o estudo (RODRIGUES et al., 2012), sendo que os compostos que apresentaram maior PLP, aqueles que possuem maiores chances de sucesso (IBRAHIM et al.,

2019) como inibidores da NS3.

Para cada composto, o *docking* molecular foi realizado 50 vezes, sendo esse número definido durante as configurações de GA runs, para que o experimento trouxesse maior confiabilidade em seus resultados. Os arquivos resultantes foram submetidos ao software LigPlot (WALLACE; LASKOWSKI; THORNTON, 1995) para que os esquemas de interações fossem gerados.

3.8. Características farmacológicas

Foram avaliadas as propriedades de absorção gastrointestinal, avaliação de interação com a glicoproteína P, capacidade de ultrapassagem da barreira hematoencefálica, metabolismo (considerando as enzimas CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 e CYP3A4), toxicidade, por meio da avaliação de inibição de hERG (human ether-a-go-go related gene), Toxicidade AMES e carcinogenicidade. Avaliou-se também as propriedades *druglikeness*, conforme as regras de Lipinski, Ghose, Veber, Egan e Muegge e acessibilidade sintética de cada composto selecionado no item 3.5.

Para a avaliação, foi utilizado duas plataformas, sendo elas o SwissADME (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017) e o admetSAR (CHENG et al., 2012). Os dados de entrada para estas, são os compostos no formato *smiles* (*Simplified Molecular Input Line Entry Specification*). Para a conversão das estruturas tridimensionais em compostos *smiles* utilizou-se o programa OpenBabel (O'Boyle et al., 2011).

3.9. Comparação dos compostos selecionados com o inibidor de boronato

Os dados relacionados as características farmacológicas foram submetidos ao *software* Orange (DEMSAR et al., 2013) que possibilitou a Análise de Componente Principal, na qual os dois principais componentes foram selecionados para explicar a maior parte da variação entre as características farmacocinéticas analisadas por meio de análise de agrupamento. Para tanto, os resultados da análise de componentes principais foram submetidos ao método K-means para definição da quantidade de clusters, conforme o score *Silhouette*. Posteriormente, o output do K-means foi submetido ao *Scatter Plot* para a visualização dos dados.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Modelo farmacofórico

O estudo das interações entre o ligante 6T8 e a proteína NS3 do vírus Zika possibilitou a construção do modelo baseado em forma (Figura 13), que foi construído com base nos principais pontos de interações intermoleculares estabelecidos durante a formação do complexo proteína-ligante e na topologia do ligante. O modelo apresenta como pontos farmacofóricos, dois anéis, dois doadores e um aceitor de hidrogênio.

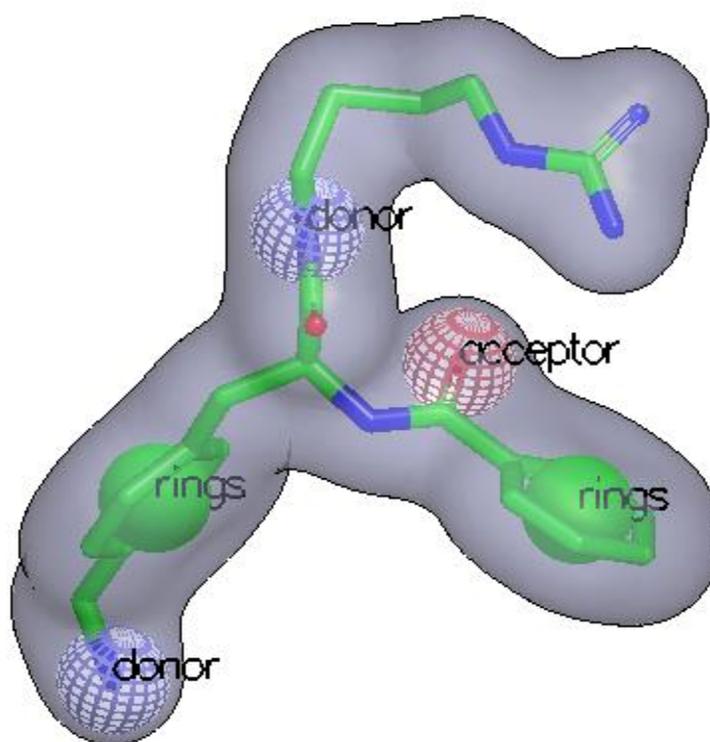


Figura 13: Modelo baseado em forma gerado a partir do ligante 6T8. Esferas azuis representam pontos farmacofóricos doadores de hidrogênio e a esfera vermelha representa um ponto farmacofórico aceitor de hidrogênio. As esferas verdes mostram os pontos farmacofóricos presentes nos anéis da estrutura do ligante.

4.2 Triagem virtual (ROCS)

Após a triagem, houve a seleção de 10 compostos *Druglike*, 7 compostos *Leadlike*, 10 compostos aprovados pelo FDA e 10 compostos naturais que apresentaram maiores valores para o Tanimoto_Combo.

Origem	Identificação	Fórmula Molecular	Tanimoto Combo
<i>Druglike_modificados</i>	1D	$C_{27}H_{30}BN_3O_6$	1,278
	2D	$C_{22}H_{29}BN_2O_5$	1,263
	3D	$C_{21}H_{25}BN_2O_5$	1,238
	4D	$C_{20}H_{22}BNO_5S$	1,235
	5D	$C_{22}H_{29}BN_2O_5$	1,229
	6D	$C_{26}H_{29}BN_2O_5$	1,228
	7D	$C_{25}H_{26}BCIN_2O_5$	1,228
	8D	$C_{25}H_{26}BFN_2O_5$	1,228
	9D	$C_{21}H_{22}BF_3N_2O_5$	1,228
	10D	$C_{21}H_{26}BNO_6$	1,222
<i>Leadlike_modificados</i>	1L	$C_{22}H_{29}BN_2O_5$	1,263
	2L	$C_{21}H_{25}BN_2O_5$	1,238
	3L	$C_{20}H_{22}BNO_5S$	1,235
	4L	$C_{22}H_{29}BN_2O_5$	1,229
	5L	$C_{21}H_{26}BNO_6$	1,222
	6L	$C_{21}H_{28}BNO_6$	1,220
	7L	$C_{20}H_{22}BNO_5$	1,219
Compostos já aprovados pelo FDA	1F	$C_{23}H_{23}ClN_5O_3$	1,046
	2F	$C_{23}H_{23}ClN_5O_3$	1,046
	3F	$C_{23}H_{23}ClN_5O_3$	1,044
	4F	$C_{23}H_{23}ClN_5O_3$	1,044
	5F	$C_{23}H_{23}ClN_5O_3$	1,025
	6F	$C_{23}H_{23}ClN_5O_3$	1,024
	7F	$C_{14}H_{10}O_4$	1,016
	8F	$C_{18}H_{16}Cl_3N_2S$	0,999
	9F	$C_{18}H_{16}Cl_3N_2S$	0,999
	10F	$C_{23}H_{23}ClN_5O_3$	0,995
Compostos naturais	1N	$C_{17}H_{20}O_4$	0,973
	2N	$C_{15}H_{14}O_3$	0,958
	3N	$C_{17}H_{21}NO_3$	0,953
	4N	$C_{16}H_{19}NO_3$	0,943
	5N	$C_{16}H_{19}NO_3$	0,943
	6N	$C_{15}H_{16}O_3$	0,932
	7N	$C_{23}H_{26}O_7$	0,916
	8N	$C_{14}H_{12}O_3$	0,901
	9N	$C_{16}H_{16}O_4$	0,898
	10N	$C_{17}H_{23}NO_3$	0,895

Tabela 1: Fórmulas moleculares e identificação dos compostos selecionados pelo score Tanimoto Combo para o *docking* molecular.

Sabe-se que a pontuação Tanimoto_Combo varia de 0 a 2,0 (LAGOS et al., 2017) e no presente estudo, o valor máximo encontrado foi 1.278 para o composto 1D e o menor valor foi 0.895 para o composto 10N.

Imran et al. (2020) ao fazer a identificação de novos inibidores da urease bacteriana através da forma e estrutura molecular baseadas em abordagens de triagem virtual selecionou 1700 compostos dentro de uma faixa de pontuação de 1.216 e 1.679. Enquanto que Warner et al. (2012) ao executar o experimento para a identificação de drogas já aprovadas pelo FDA que são capazes de se ligar *in silico* ao MDM2 encontrou uma pontuação que varia de 0.142 a 0.802 para o Tanimoto_Combo. Esses valores são inferiores aos valores encontrados para as quatro classes de compostos estudados.

Mandlik (2016), estudando abordagens integrativas para a identificação de inibidores ISCL em Leishmaniose através do ponto de vista computacional da estrutura, determinou o valor 0.7 como *cut off* para o Tanimoto_Combo e obteve 35 compostos com pontuação superior a essa. O valor de *cut off* determinado por Singh é inferior ao menor valor para Tanimoto_Combo encontrado no presente estudo.

4.3 Ligação Covalente e edição molecular

A adição da estrutura responsável pela ligação covalente com o alvo estudado pode ser visualizada no anexo I e II. Além da estrutura $C_3H_6BO_3$ adicionada, teve-se a exclusão de uma dupla ligação presente nos anéis aromáticos dos compostos 1D, 6D, 7D e 8D, tal exclusão aconteceu com o objetivo de se ajustar a quantidade de ligações permitidas ao átomo de carbono conforme a regra do octeto (ARAÚJO, 2021). A exclusão não estava prevista na metodologia, porém tornou-se necessária do ponto de vista químico para que os compostos citados fossem adequados para o estudo.

Segundo Santos et al. (2018), a modificação molecular pode melhorar a utilidade da droga e aumentar a sua especificidade para determinado alvo farmacológico. Com esse intuito, foi que os compostos *Leadlike* e *Druglike* foram modificados. Além disso, segundo o mesmo autor, as modificações moleculares aumentam a potência farmacológica, melhoram a taxa de absorção, reduzem a toxicidade e também altera as propriedades físicas e químicas dos compostos. Tais alterações não foram objetivadas por este estudo, uma vez que as avaliações dessas propriedades foram realizadas somente após à modificação molecular.

Viegas Júnior et al. (2009) mostrou no artigo intitulado “Modificações Estruturais na (-)-Cassina e LASSBio-767: Estratégias para a Descoberta e Otimização de Novos Candidatos a Fármacos” que a simplificação molecular do fármaco Donepezil (inibidor de acetilcolinesterase) bem como a hibridação molecular com o LASSBio-767 (fármaco semi-sintético candidato ao tratamento do Mal de Alzheimer) acarretou a descoberta de LFQM-5, que se caracteriza por ser uma substância anticolinesterásica que possui um padrão estrutural inédito e de fácil acesso sintético, podendo, dessa forma, se tornar um fármaco inovador no tratamento de doenças neurodegenerativas. Ademais, o autor também destaca que a introdução de agrupamentos aromáticos feita na subunidade 3-hidroxi-piperidínica da cassina aumentou a sua atividade antinociceptiva periférica. A partir daí, é possível compreender o impacto, as consequências e a importância que as modificações estruturais podem exercer na farmacologia e na medicina, o que reforça o intuito da adição de $C_4H_9BO_3$ nos compostos estudados para a inibição da NS3 do vírus Zika.

Outrossim, na literatura também há a descrição de outros compostos que foram bem-sucedidos através da modificação molecular, como o Dicloroisoproterenol (betabloqueador) e o Celecoxibe (inibidor seletivo da COX-2) que tiveram sua origem através de um processo de modificação molecular bioisosterismo, e a Meperidina (analgésico do grupo dos opioides) que teve sua origem através de um processo de simplificação molecular (EDISCIPLINAS, 2018). Esses exemplos, assim como o de outros fármacos que passaram pela modificação molecular também fortalece o objetivo da modificação molecular realizada no presente estudo.

4.4. *Docking* molecular e visualização das interações proteína-ligante

Sharma et al. (2021) ao fazer uma triagem de fármacos contra WT e a principal protease mutante de SARS-CoV-2 apresentou uma lista de compostos que apresentaram alta afinidade de ligação com a protease de SARS-CoV-2 e concluiu que a seleção feita pode gerar uma nova opção terapêutica para pacientes diagnosticados com COVID-19. O raciocínio desenvolvido por Sharma et al. (2021) é o mesmo que permeia o presente estudo, uma vez que o objetivo do *docking* molecular foi estimar corretamente a força da ligação entre o ligante e a NS3 (YURIEV; RAMSLAND, 2013), sendo aqueles de maior valor para o *score* PLP os ligantes que interagem mais fortemente, e por isso considerados os melhores para o presente estudo (Tabela 2 e 3).

PLP fitness scores		
Ligante	<i>Docking</i> Molecular Covalente	<i>Docking</i> Molecular não-covalente
1L	107	54
2L	95	50
3L	113	49
4L	105	46
5L	91	49
6L	103	48
7L	106	46
1D	86	51
2D	106	47
3D	101	52
4D	114	52
5D	105	48
6D	84	47
7D	102	52
8D	95	56
9D	95	48
10D	101	45

Tabela 2: PLP fitness resultante de cada *docking* covalente e não covalente para cada ligante *Leadlike* e *Druglike* após edição molecular.

PLP fitness scores	
Composto	<i>Docking</i> Molecular não-covalente
1F	59
2F	59
3F	63
4F	63
5F	63
6F	64
7F	46
8F	64
9F	63
10F	62
1N	54
2N	50
3N	49
4N	46
5N	49
6N	47
7N	49

8N	50
9N	48
10N	50

Tabela 3: PLP fitness resultante do *docking* não covalente para cada ligante provindos da biblioteca de compostos FDA e NUBBE.

Ao analisar os dados referentes ao *docking* molecular covalente e não-covalente dos compostos *Leadlike_modificados* e *Druglike_modificados* nota-se, claramente, a superioridade dos valores encontrados para o *docking* molecular covalente. Essa diferença entre os resultados encontrados já era esperada, uma vez que a ligação covalente é um tipo de interação intramolecular e esta é muito mais forte do que as interações intermoleculares estabelecidas no *docking* não covalente (RODRIGUES, 2013).

Borges (2019) ao realizar o *docking* molecular não-covalente do seu estudo intitulado “Triagem virtual de potenciais ligantes para a oncoproteína E6 do HPV tipo 16”, utilizando os bancos de dados DIVERSet™ EXP e CL, NuBBE e ZINC obteve 74.7040 como maior valor de PLP para o banco de dados EXP, 68.0735 como o maior valor para o banco de dados CL, 78.9559 como maior valor para o banco de dados ZINC e 75.9539 como maior valor de PLP para o banco de dados NuBBE. Os valores superiores encontrados por Borges (2019) se devem à uma maior força de interação entre os compostos estudados por ela e a oncoproteína E6 do HPV.

Paniago (2018) em seu estudo “Prospecção Virtual de potenciais inibidores da proteína transportadora de serotonina sódio-dependente humana (SERT)” também encontrou valores superiores para o PLP em seu estudo envolvendo *docking* molecular não covalente, sendo o maior valor 92.3112 para um composto do banco de dados CL, 87.0431 como maior valor para um composto do banco de dados EXP, 89.4973 como maior valor para um composto do banco de dados NuBBE e 88.5559 como maior valor para um composto do banco de dados ZINC. A mesma justificativa para os valores superiores encontrados por Borges (2019) se aplica a Paniago (2018).

Os compostos 8D, 1L, 6F E 1N (Figura 14) foram aqueles que apresentaram maior PLP fitness dentro do seu respectivo grupo de classificação e por isso foram selecionados para uma análise mais detalhada nas etapas seguintes.

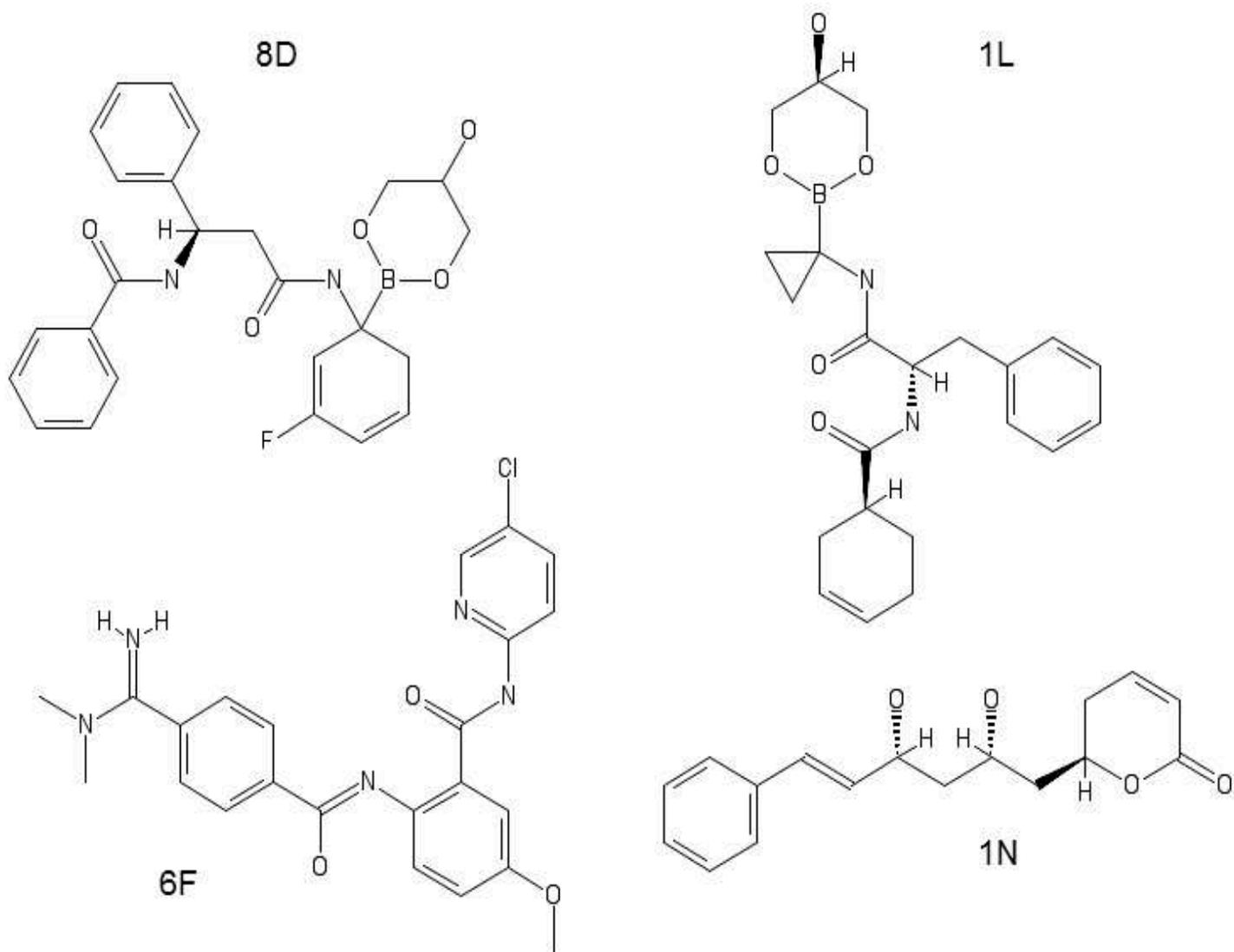


Figura 14: Estruturas moleculares dos compostos selecionados.

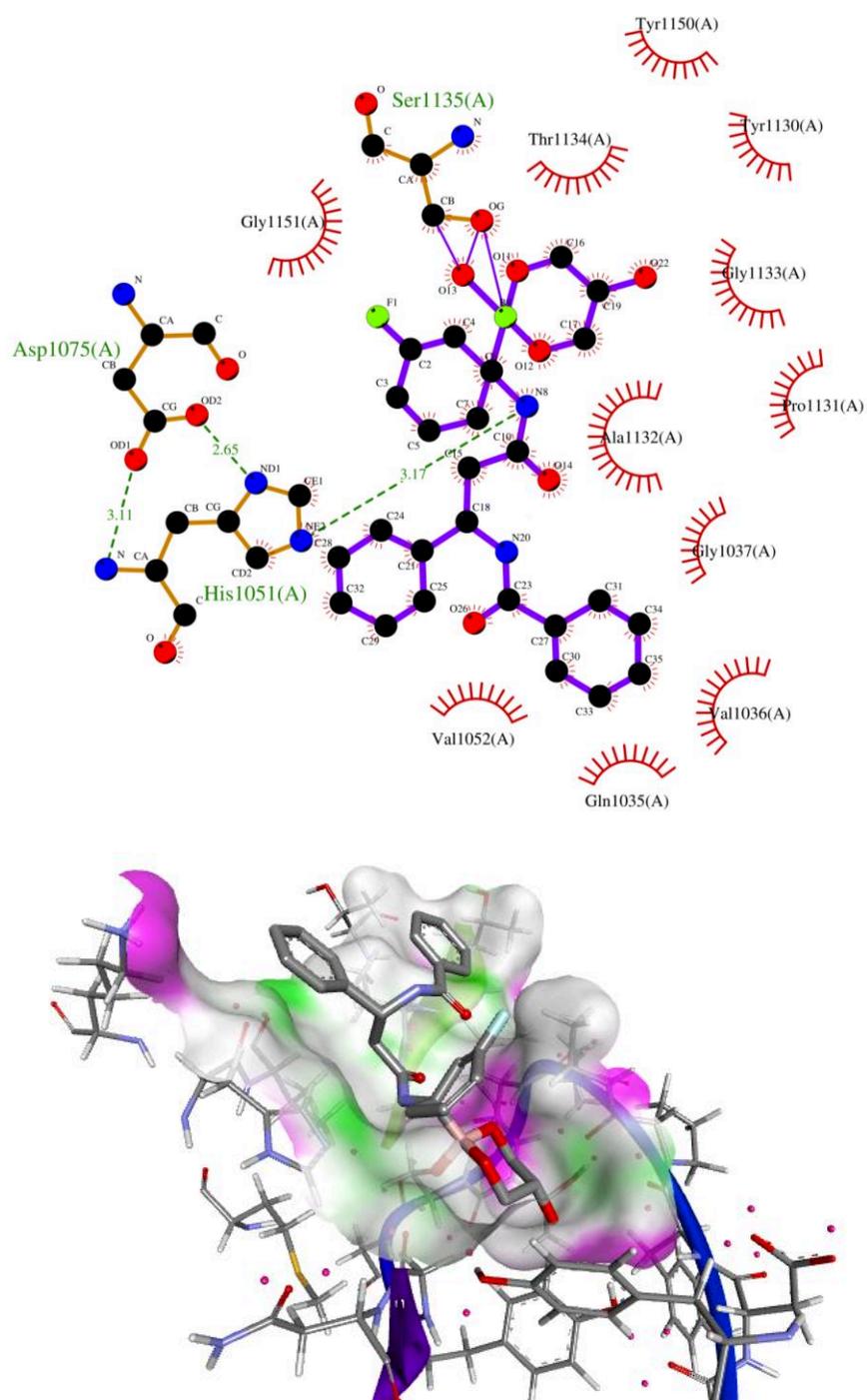


Figura 15: *Docking molecular* covalente do composto 8D: A) Estrutura bidimensional com as interações proteína-ligante. Linhas verdes pontilhadas: ligações de hidrogênio; linhas azuis: ligação entre átomos do ligante; linhas marrons: ligações entre átomos que não pertence ao ligante; estrutura “ciliada”: interações hidrofóbicas. B) Estrutura tridimensional mostrando a posição do composto no sítio ativo da protease NS3.

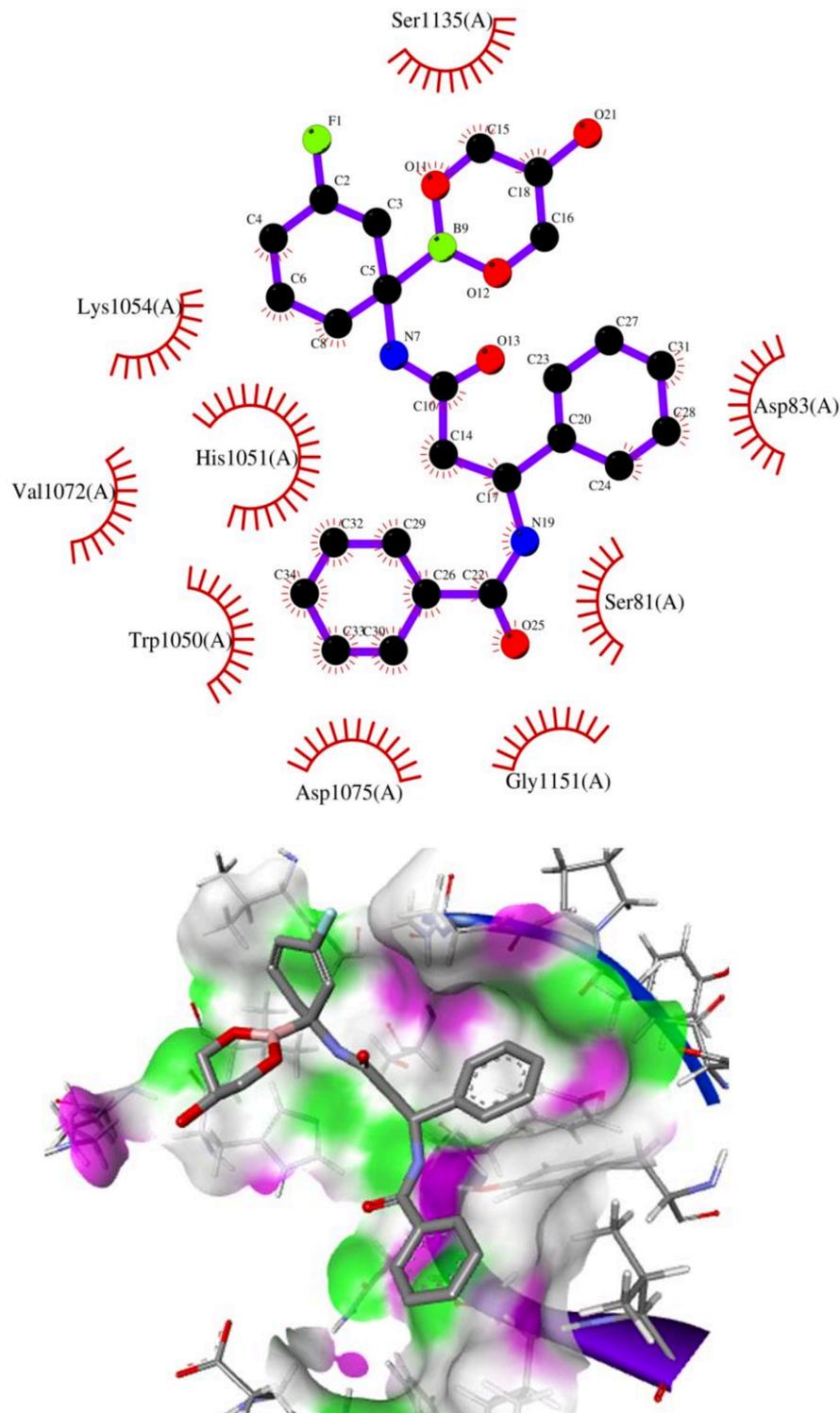


Figura 16: *Docking molecular* não covalente do composto 8D: A) Estrutura bidimensional com as interações proteína-ligante. Linhas verdes pontilhadas: ligações de hidrogênio; linhas azuis: ligação entre átomos do ligante; ligações marrons: ligações entre átomos que não pertence ao ligante; estrutura “ciliada”: interações hidrofóbicas. B) Estrutura tridimensional mostrando a posição do composto no sítio ativo da protease NS3.

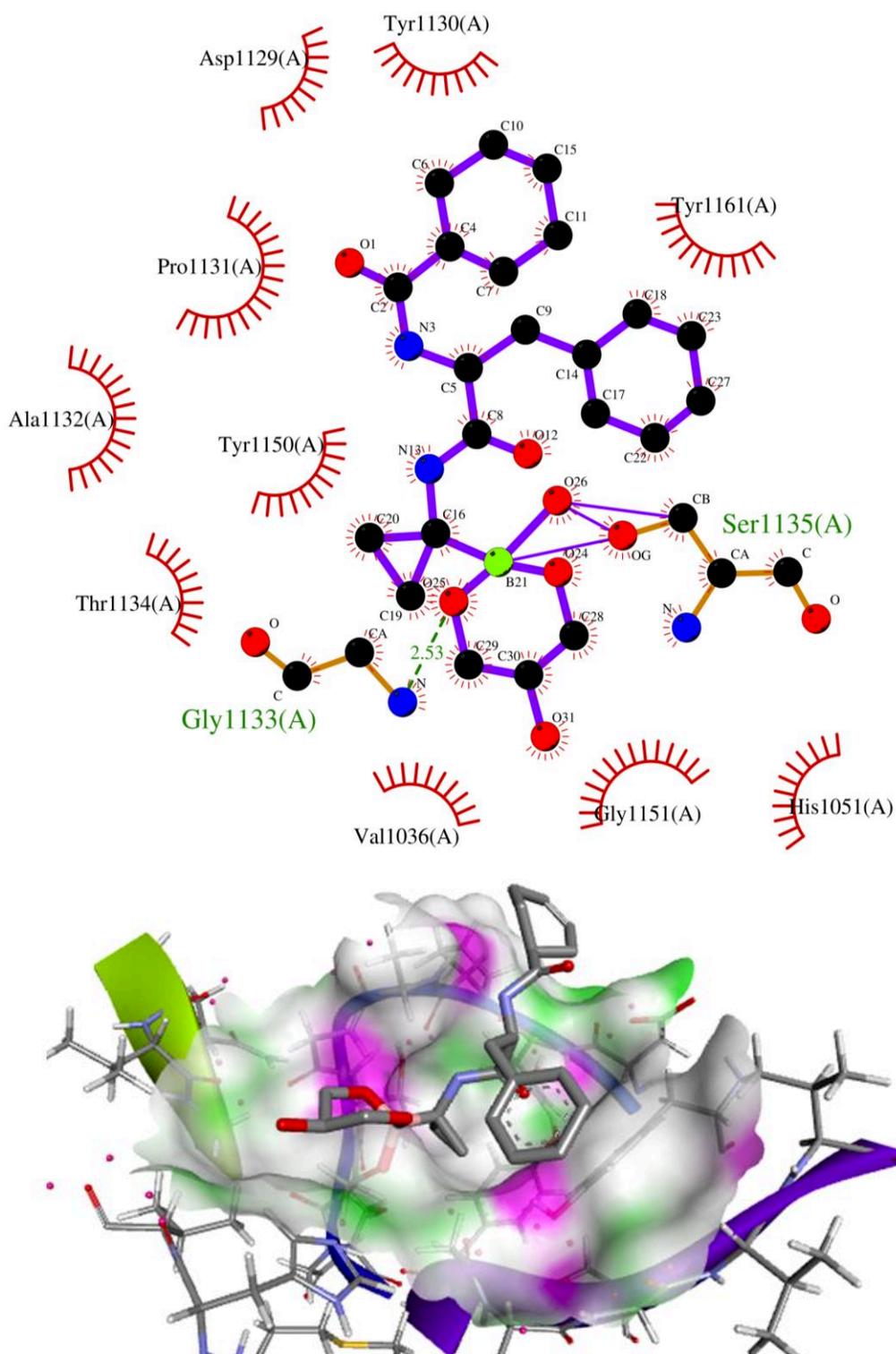


Figura 17: *Docking molecular* covalente do composto 1L: A) Estrutura bidimensional com as interações proteína-ligante. Linhas verdes pontilhadas: ligações de hidrogênio; linhas azuis: ligações entre átomos do ligante; linhas marrons: ligações entre átomos que não pertencem ao ligante; estrutura “ciliada”: interações hidrofóbicas. B) Estrutura tridimensional mostrando a posição do composto no sítio ativo da protease NS3.

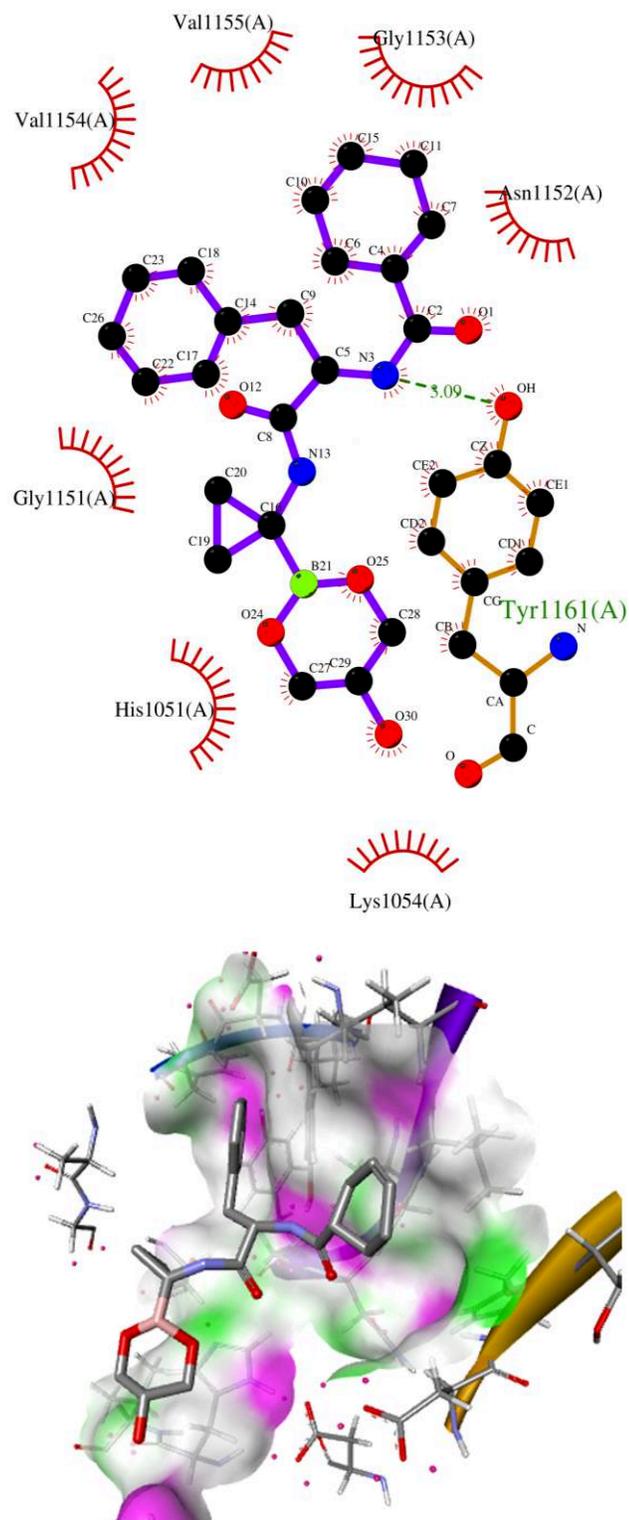


Figura 18: *Docking molecular* não covalente do composto 1L: A) Estrutura bidimensional com as interações proteína-ligante. Linhas verdes pontilhadas: ligações de hidrogênio; linhas azuis: ligação entre átomos do ligante; linhas marrons: ligações entre átomos que não pertencem ao ligante; estrutura “ciliada”: interações hidrofóbicas. B) Estrutura tridimensional mostrando a posição do composto no sítio ativo da protease NS3.

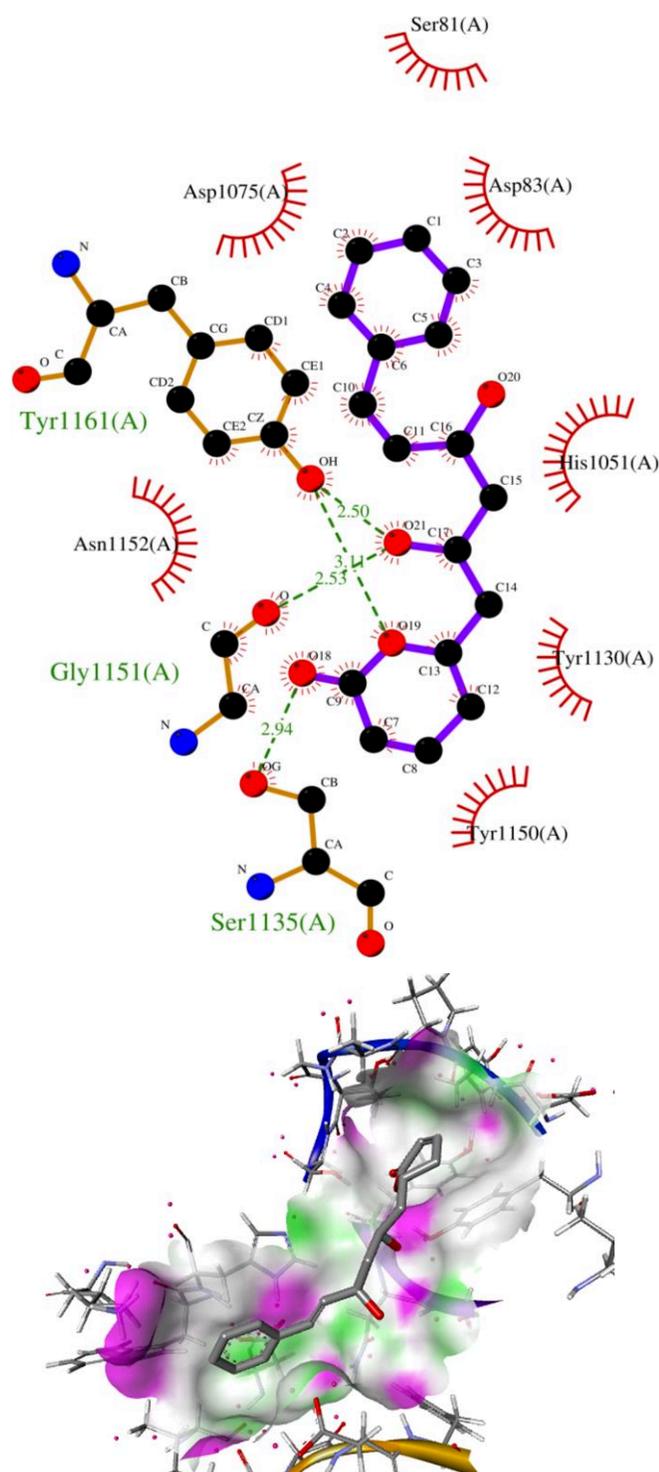


Figura 19: *Docking molecular* não covalente do composto 1N: A) Estrutura bidimensional com as interações proteína-ligante. Linhas verdes pontilhadas: as ligações de hidrogênio; linhas azuis: ligação entre átomos do ligante; linhas marrons: ligações entre átomos que não pertencem ao ligante; estrutura “ciliada”: interações hidrofóbicas. B) Estrutura tridimensional mostrando a posição do composto no sítio ativo da protease NS3.

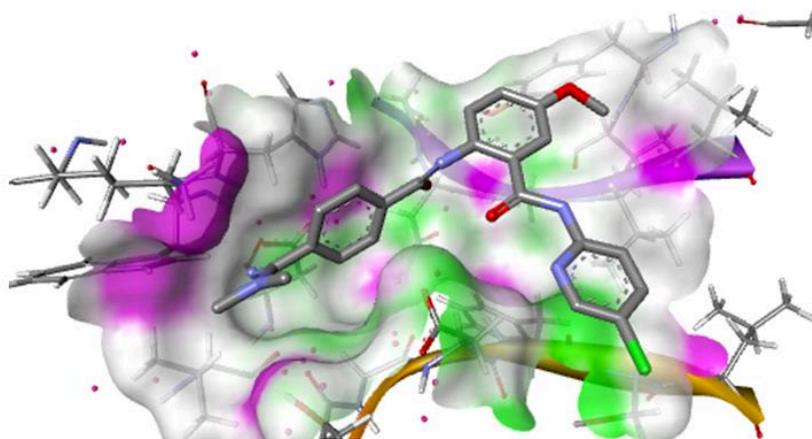
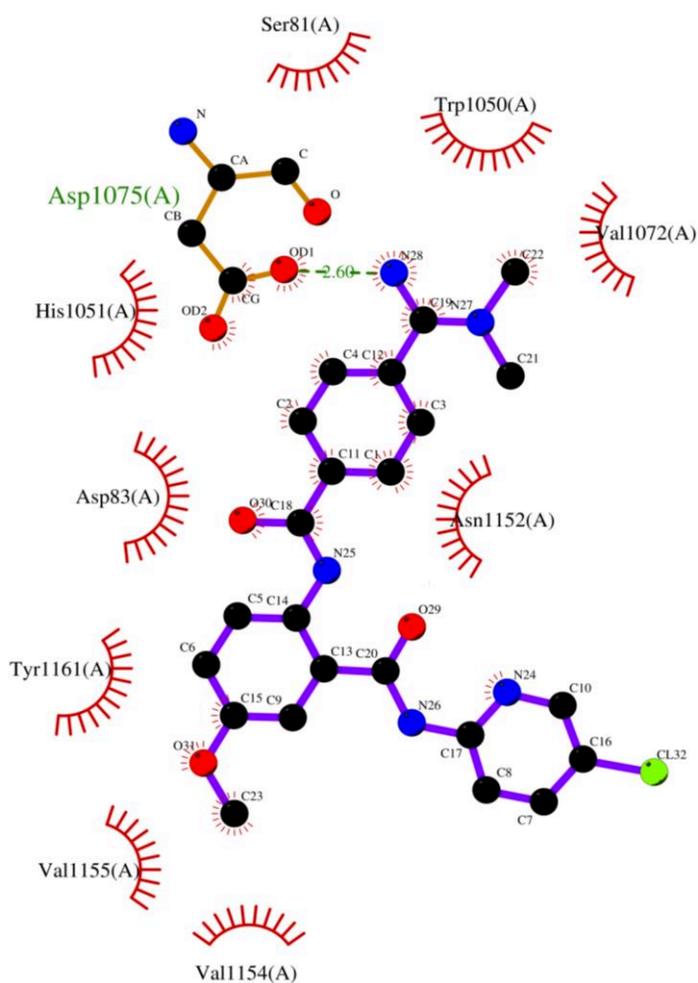


Figura 20: *Docking molecular* não covalente do composto 6F: A) Estrutura bidimensional com as interações feitas entre proteína-ligante. Linhas verdes pontilhadas: ligações de hidrogênio; linhas azuis: ligação entre átomos do ligante; linhas marrons: ligações entre átomos que não pertencem ao ligante; estrutura “ciliada”: interações hidrofóbicas. B) Estrutura tridimensional mostrando a posição do composto no sítio ativo da protease NS3.

Como mostrado na Figura 19, o composto natural 1N foi o que apresentou maior número de ligações de hidrogênio, sendo contabilizadas 4 ligações, em que 2 delas são estabelecidas com o aminoácido Tirosina 1161 (A), 1 com o aminoácido Glicina 1151 e 1 com o aminoácido Serina 1135. Além disso, o composto 1 N também interage formando 7 interações hidrofóbicas com os aminoácidos Serina 81 (A), Ácido Aspártico 1075 (A), Ácido Aspártico 83, Asparagina 1152(A), Tirosina 1130 (A), Histidina 1051 (A), Tirosina 1150(A).

Já o composto 6F (Figura 20) interage formando apenas 1 ligação de hidrogênio com o aminoácido Ácido Aspártico 1075 e 9 interações hidrofóbicas com os aminoácidos Serina 81 (A), Triptofano 1050 (A), Valina 1072 (2), Histidina 1051(A), Ácido Aspártico 83(A), Tirosina 1161 (A), Valina 1155(A), Valina 1154 (A) e Asparagina 1152 (A).

Em relação às interações proteína-ligante do composto 1L no *docking* covalente (Figura 17) destaca-se apenas 1 ligação de hidrogênio com o aminoácido Glicina 1133 e 10 interações hidrofóbicas com os aminoácidos Tirosina 1130, Ácido Aspártico 1129, Prolina 1131, Alanina 1132, Tirosina 1150, Treonina 1134, Valina 1036, Glicina 1151, Histidina 1051 e Tirosina 1161. Além disso, por se tratar de um *docking* covalente também é possível visualizar 1 ligação covalente com o aminoácido Serina 1135.

Em contraste com o desempenho das interações geradas no *docking* covalente, o composto 1L no *docking* não covalente (Figura 18) não estabelece nenhuma ligação covalente, 1 ligação de hidrogênio com o aminoácido Tirosina 1161 e 7 interações hidrofóbicas com os aminoácidos Valina 1154 (A), Valina 1155 (A), Glicina 1153 (2), Asparagina 1152(A), Glicina 1151(A), Histidina 1051 (A), Lisina 1054(A).

Assim como houve alterações no número de no tipo de interações intermoleculares ao se considerar estilos de *docking* diferente para o composto 1L, também houve alterações para o composto 8D.

Dessa forma, ao se considerar o *docking molecular* covalente (Figura 15) pode-se observar 1 ligação de hidrogênio com o aminoácido Histidina 1051, 1 ligação covalente com a Serina 1135 e 11 interações hidrofóbicas com os aminoácidos: Glicina 1151, Treonina 1134, Tirosina 1150, Tirosina 1130, Glicina 1133, Prolina 1131, Alanina 1132, Glicina 1037, Valina 1036, Glutamina 1035 e Valina 1052.

Já considerando o *docking* não covalente para o mesmo composto têm-se apenas 9 interações hidrofóbicas com os aminoácidos: Serina 1135, Lisina 1054, Histidina 1051, Valina

1072, Triptofano 1050, Ácido Aspártico 1075, Glicina 1151, Serina 81 e Ácido Aspártico 83. Para esse composto não se observa nenhuma ligação de hidrogênio.

Frente à descrição das interações que cada composto estabelece com a proteína nota-se a suma importância de tais aminoácidos para a possível inibição da NS3. Um destaque deve ser dado ao aminoácido Serina 1135, pois esse, além de possibilitar a interação covalente, também pode interagir formando ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas, sendo ambas de grande importância para a estabilização do composto no sítio ativo da enzima.

Além de analisar os aminoácidos que interagem com os compostos também é essencial a análise da origem de cada composto. Ao verificar o banco de dados de origem das moléculas selecionadas pode-se constatar que o composto codificado como 6F, pertencente à classe de compostos aprovados pelo FDA e é identificado pelo Zinc através do código ZINC000030691754. Esse composto se refere ao fármaco Betrixaban, aprovado em 2017 nos Estados Unidos para profilaxia de Tromboembolismo Venoso (TEV) em pacientes adultos (FDA, 2017; FÁTIMA et al., 2020; FAHMY, 2021). Essa doença é caracterizada por processo trombótico agudo multifatorial e possui um difícil diagnóstico em razão dos sintomas inespecíficos que muitas das vezes acarretam a morte (ALMEIDA; PEREIRA; ALVIM, 2021).

Diante disso, o fármaco Betrixaban possui um importante papel em pacientes com risco de TEV, uma vez que seu mecanismo de ação baseia-se na inibição direta, específica e reversível do fator Xa, responsável por atuar na conversão da protrombina em trombina, e por isso possui uma ação anti-trombótica, já que inibi a formação de trombina no sangue humano. O Betrixaban possui uma meia-vida de aproximadamente 19 horas. Sua excreção se dá de forma inalterada na biliar e seu metabolismo é predominantemente hepático. Essa última característica, o diferencia de outros fármacos que estão na mesma classe de medicamentos (FRANCO, 2001; FLATO et al., 2011; PINTO; 2016).

Por ser um composto que apresentou boa pontuação na etapa de *Docking* Molecular e por já ser aprovado pelo FDA, o Betrixaban é um forte candidato a fármaco para o tratamento de pacientes com o vírus Zika.

Fátima et al. (2018) ao realizar uma triagem virtual e *docking* molecular, utilizando inibidores alostéricos contra a protease NS2B-NS3 do vírus Zika e o banco de dados de compostos naturais do Zinc, identificou dois compostos potenciais para a inibição, sendo eles ZINC00845171 e ZINC08782519. Os compostos encontrados por ela são diferentes dos

compostos selecionados em nosso estudo. Essa diferença se deve ao fato de que Fátima et al. (2018) buscou inibidores alostéricos, utilizou um banco de dados diferentes e também utilizou a NS3 em complexo com a NS2B. Essas diferenças são responsáveis pelos resultados diversos encontrados.

Sahoo et al. (2016) encontrou o composto ZINC53047591 como o que melhor interage com a NS3 do vírus Zika, enquanto Badshah et al. (2019) em seu estudo envolvendo *Docking Molecular* e a simulação da NS3 do vírus Zika constatou que a classe de compostos dos 1-4 derivados de benzotiazina também pode ser usada como possíveis inibidores da NS3.

Ambos os resultados são divergentes em relação ao presente estudo, fato esse que se deve às diferenças importantes na metodologia empregada por cada um dos autores. A partir dessa divergência podem-se considerar pontos fortes e pontos a serem melhorados no uso de métodos computacionais no descobrimento de fármacos.

Dentre os pontos fortes, está a possibilidade de testar uma grande quantidade de compostos em um curto período de tempo. Além disso, os métodos computacionais exigem um baixo investimento financeiro quando comparado à outras metodologias, o que também é considerado positivo. Entretanto, todo o método se trata de uma predição, não podendo ser considerado definitivo para a descoberta do fármaco. Por isso, metodologias que empregam apenas métodos computacionais podem ser melhoradas ao se empregar também testes biológicos *in vitro* e *in vivo*.

O composto codificado no presente estudo como 1N, é o composto de número 537 do Nubbe e foi encontrado nas espécies de planta *Lauraceae Cryptocarya moschata* e *Lauraceae Cryptocarya mandioccana*, no estado de São Paulo. O nome comum desse composto é Criptomoscatoona D1 e seu nome conforme a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) é *(6R)-6-[(2S,4R,5E)-2,4-dihydroxy-6-phenylhex-5-en-1-yl]-5,6-dihydro-2H-pyran-2-one* (NUBBE, 2021).

A Criptomoscatoona D1 é caracterizada por possuir o fragmento diidropiran-2-ona. Compostos como esse já foram estudados por possuírem propriedades farmacológicas, como atividade antitumoral, antiparasitária e antimicrobial. Em virtude dessas e de outras características, pesquisadores tem demonstrado esforços na tentativa de elucidar a síntese total e estereoquímica de diidropiranonas naturais, como os compostos das famílias das

Criptomoscatonas D (SALVADOR, 2007; DREKENER, 2011; NOVAES, 2015) e de análogos furânicos da goniotalamina (MARQUISSOLO, 2009).

4.5. Características farmacológicas

Para efeito comparativo, todas as moléculas selecionadas passaram pelas análises de características moleculares e farmacológicas. Os compostos convertidos para o formato *smile* estão na tabela 4.

Composto	Smile
1F	<chem>C1=CC(=CC=C1/C(=N/C1=C(C=C(C=C1)OC)C(=O)/[NH]=C\1/C=CC(=CN1)Cl)/[O-])C(=[N](C)C)N</chem>
2F	<chem>C1=CC(=CC=C1/C(=N/C1=C(C=C(C=C1)OC)C(=O)/[NH]=C\1/C=CC(=CN1)Cl)/[O-])C(=[NH2])N(C)C</chem>
3F	<chem>C1=CC(=CC=C1/C(=N/C1=C(C=C(C=C1)OC)C(=O)NC1=[NH]C=C(C=C1)Cl)/[O-])C(=[N](C)C)N</chem>
4F	<chem>C1=CC(=CC=C1/C(=N/C1=C(C=C(C=C1)OC)C(=O)NC1=NC=C(C=C1)Cl)/[O-])C(=[N](C)C)[NH3+]</chem>
5F	<chem>C1=CC(=CC=C1/C(=N/C1=C(C=C(C=C1)OC)C(=O)NC1=NC=C(C=C1)Cl)/O)C(=[N](C)C)N</chem>
6F	<chem>C1=CC(=CC=C1/C(=N/C1=C(C=C(C=C1)OC)C(=O)NC1=NC=C(C=C1)Cl)/O)C(=[NH2])N(C)C</chem>
7F	<chem>C1=CC=C(C=C1)C(=O)OOC(=O)C1=CC=CC=C1</chem>
8F	<chem>C1=CC(=CC=C1CS[C@H](C1=C(C=C(C=C1)Cl)Cl)C[N]1=CNC=C1)Cl</chem>
9F	<chem>C1=CC(=CC=C1CS[C@H](C1=C(C=C(C=C1)Cl)Cl)C[N]1=CNC=C1)Cl</chem>
10F	<chem>C1=CC(=CC=C1/C(=N/C1=C(C=C(C=C1)OC)C(=O)NC1=[NH]C=C(C=C1)Cl)/[O-])C(=[NH2])N(C)C</chem>
1N	<chem>C1=CC=C(C=C1)/C=C/[C@@H](C[C@@H](C[C@@H]1CC=CC(=O)O1)O)O</chem>
2N	<chem>C1=CC=C(C=C1)COC(=O)C1=C(C=CC=C1)OC</chem>
3N	<chem>C1=CC2=C(C=C1CC/C=C/C(=O)N1CCCC1)OCO2</chem>
4N	<chem>C1=CC2=C(C=C1CC/C=C/C(=O)N1CCCC1)OCO2</chem>
5N	<chem>C1=CC2=C(C=C1CC/C=C/C(=O)N1CCCC1)OCO2</chem>
6N	<chem>C1=CC=C(C=C1)/C=C/[C@H](C[C@H]1CC=CC(=O)O1)O</chem>
7N	<chem>C1=CC=C(C=C1)/C=C/[C@@H]1[C@H]([C@@H](C[C@@H](C[C@@H]2CC=CC(=O)O2)O1)OC(=O)C)OC(=O)C</chem>
8N	<chem>C1=CC=C(C=C1)COC(=O)C1=CC=CC=C1O</chem>
9N	<chem>C1=CC=C(C=C1)COC(=O)C1=C(C=CC=C1)OC</chem>
10N	<chem>C1=CC2=C(C=C1CCCC(=O)N1CCCC1)OCO2</chem>
1D	<chem>O=C(N[C@H](c1cccc1)CC(=O)NC1(C=CC=C(C1)/N=C(\O)/C)B1OCC(CO1)O)c1cccc1</chem>
2D	<chem>O=C(N[C@H](C(=O)NC1(CC1)B1OC[C@H](CO1)O)CC1=CC=CC=C1)[C@@H]1CC=CCC1</chem>
3D	<chem>O=C(N[C@@H](C1=CC=CC=C1)CC(=O)N[C@@H](C)B1OC[C@@H](CO1)O)C1=CC=CC=C1</chem>
4D	<chem>S([C@H](/N=C(\O)/CB1OC[C@@H](CO1)O)C(=O)C1=CC=CC=C1)CC1=CC=CC=C1</chem>
5D	<chem>O=C(N[C@H](C(=O)NC1(CC1)B1OC[C@H](CO1)O)CC1=CC=CC=C1)[C@H]1CC=CCC1</chem>
6D	<chem>O=C(N[C@@H](c1cccc1)CC(=O)NC1(C=CC=C(C1)C)B1OCC(CO1)O)c1cccc1</chem>
7D	<chem>ClC1=CC(CC=C1)(NC(=O)C[C@@H](NC(=O)c1cccc1)c1cccc1)B1OCC(CO1)O</chem>
8D	<chem>FC1=CC(CC=C1)(NC(=O)C[C@@H](NC(=O)c1cccc1)c1cccc1)B1OCC(CO1)O</chem>
9D	<chem>FC(F)(F)[C@@H](NC(=O)C[C@@H](NC(=O)C1=CC=CC=C1)C1=CC=CC=C1)B1OC[C@H](CO1)O</chem>
10D	<chem>O=C(O[C@H](C1=CC=CC=C1)/C(=N/[C@H]1[C@@H](C1)B1OC[C@@H](CO1)O)/O)[C@@H]1CC=CCC1</chem>
1L	<chem>O=C(N[C@H](C(=O)NC1(CC1)B1OC[C@H](CO1)O)CC1=CC=CC=C1)[C@@H]1CC=CCC1</chem>
2L	<chem>O=C(N[C@H](C1=CC=CC=C1)CC(=O)N(CC)B1OC[C@H](CO1)O)C1=CC=CC=C1</chem>
3L	<chem>S([C@H](/N=C(\O)/CB1OC[C@@H](CO1)O)C(=O)C1=CC=CC=C1)CC1=CC=CC=C1</chem>
4L	<chem>O=C(N[C@@H](C(=O)NC1(CC1)B1OC[C@@H](CO1)O)CC1=CC=CC=C1)[C@@H]1CC=CCC1</chem>

5L	<chem>O=C(O[C@H](C1=CC=CC=C1)/C(=N/C1(CC1)B1OC[C@H](CO1)O)/O)[C@@H]1CC=CCC1</chem>
6L	<chem>O=C(O[C@H](C1=CC=CC=C1)/C(=N/C1(CC1)B1OC[C@H](CO1)O)/O)C1CCCCC1</chem>
7L	<chem>O=C(C1=CC=CC=C1)C[C@H](/N=C(\O)/CB1OC[C@H](CO1)O)C1=CC=CC=C1</chem>

Tabela 4: Compostos no formato smiles obtidos com o intuito de gerar os dados farmacológicos

4.5.1. Farmacocinética

Com relação às propriedades de absorção gastrointestinal e distribuição, todos os compostos analisados apresentaram alta absorção, com exceção dos compostos 1F e 3F, cuja predição resultou em baixa absorção. Nenhum dos dois compostos está entre os selecionados na etapa anterior e os 4 compostos selecionados apresentam alta absorção gastrointestinal. Essa característica é importante, pois uma baixa absorção limita a biodisponibilidade da droga no organismo (PEREIRA, 2007).

Em relação à passagem pela barreira hematoencefálica, apenas o composto 7F dos compostos já aprovados pelo FDA e quase todos os compostos naturais apresentaram a possibilidade de ultrapassagem, a exceção do composto 7N que apresentou resultado negativo para o teste.

Tendo em vista a capacidade do vírus Zika de atravessar a barreira hematoencefálica e causar danos neurológicos, é interessante que a seleção de inibidores virais considere a capacidade do composto de atravessar a barreira hematoencefálica, sendo essa uma estratégia inteligente para a escolha de novos candidatos a fármacos (ARAÚJO, 2017). Sendo assim, apenas o composto 1N selecionado nesse estudo estaria com vantagem sobre essa característica.

Na literatura pode ser encontrada a informação que diz respeito ao comportamento de vários compostos farmacológicos em relação à glicoproteína P, podendo o fármaco ser caracterizados como substrato ou não. Alguns substratos ainda podem agir como indutores (melhorando a atividade de pg-P) ou inibidores (inibe o uptake ou o efluxo mediado pela pg-P). Compostos como a Eritromicina, Ivermectina, Lidocaína e Propranolol são classificados como substrato da glicoproteína P (OLIVERIA, 2013) e no presente estudo, com exceção dos compostos naturais, 7F e 10F, todos os outros compostos são substratos para pg-P.

Para Araújo (2015), o desenvolvimento racional de novos fármacos necessita ter especial atenção à relação de cada composto com a glicoproteína P, uma vez que novos candidatos a

fármacos podem ter sua absorção aumentada ou diminuída dependendo do tipo de interação com essa glicoproteína.

Além disso, sabendo que Glicoproteína P reduz a absorção intestinal ao executar o transporte do fármaco para o lúmen intestinal e na barreira hematoencefálica limita o acesso ao cérebro para muitos fármacos, pode-se concluir que para a seleção de fármacos antivirais que necessitam atravessar a barreira hematoencefálica são ideais compostos que não são substratos da glicoproteína P, o que caracteriza os compostos naturais do presente estudo, 7F e 10F como melhores em relação à essa característica. Sendo assim, dentre os compostos selecionados, apenas o composto 1N se destaca por possuir essa característica.

Em relação ao metabolismo dos compostos (Tabela 5) observa-se que poucos compostos inibem alguma enzima do complexo P450 e que a maioria deles não exerce atividade inibitória em relação às enzimas.

Possibilidade de inibição					
Composto	CYP1A2	CYP2C19	CYP2C9	CYP2D6	CYP3A4
1D	Não	Não	Não	Não	Não
2D	Não	Não	Não	Não	Não
3D	Não	Não	Não	Sim	Sim
4D	Não	Não	Não	Não	Não
5D	Não	Não	Não	Não	Não
6D	Não	Não	Não	Não	Não
7D	Não	Não	Não	Não	Sim
8D	Não	Não	Não	Não	Não
9D	Não	Não	Não	Sim	Sim
10D	Não	Não	Não	Não	Não
1L	Não	Não	Não	Não	Não
2L	Não	Não	Não	Não	Não
3L	Não	Não	Não	Não	Não
4L	Não	Não	Não	Não	Não
5L	Não	Não	Não	Não	Não
6L	Não	Não	Não	Não	Não
7L	Não	Não	Não	Não	Não
1F	Sim	Não	Não	Não	Não
2F	Sim	Não	Não	Não	Não
3F	Não	Não	Não	Não	Não
4F	Não	Não	Não	Não	Não
5F	Não	Não	Não	Não	Não

6F	Não	Sim	Não	Não	Não
7F	Sim	Sim	Não	Não	Não
8F	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
9F	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
10F	Não	Sim	Não	Não	Não
1N	Sim	Não	Não	Não	Não
2N	Sim	Sim	Não	Sim	Não
3N	Sim	Sim	Não	Sim	Não
4N	Sim	Sim	Não	Sim	Não
5N	Sim	Sim	Não	Sim	Não
6N	Não	Não	Não	Não	Não
7N	Não	Não	Sim	Não	Sim
8N	Sim	Sim	Não	Não	Não
9N	Sim	Sim	Não	Sim	Não
10N	Sim	Sim	Não	Sim	Não

Tabela 5: Possibilidade de inibição das enzimas do metabolismo de fármacos.

Nota-se que segundo as predições os compostos 8D e 1L não inibem nenhuma enzima, enquanto que o composto 6F inibi a enzima CYP2C19 e o composto 1N inibi a enzima CYP1A2 (Tabela 5). Diante disso, a predição resultante pode ser interpretada com base na enzima inibida por cada composto (HABENSCHUS, 2016).

Caso a inibição enzimática seja comprovada por estudos biológicos, pode-se dizer que se o composto 6F for administrado juntamente com algum fármaco que é metabolizado pela CYP2C19, possivelmente, ocorrerá uma diminuição na concentração desse fármaco no organismo e uma conseqüente diminuição do efeito esperado ou ainda culminará no aumento de determinado metabólito, que por sua vez poderá ter efeitos tóxicos no organismo. Do mesmo modo, esperam-se os mesmos efeitos para a administração simultânea do composto 1N e fármacos que são metabolizados por CYP1A2.

Frente à característica de inibição das isoenzimas do citocromo P450, os compostos 8D e 1L parecem ser mais seguros para a continuação dos estudos.

4.5.2. Druglikeness

Regras de propriedades <i>druglikeness</i>					
Composto	Lipinski	Ghose	Veber	Egan	Muegge
1D	Sim; 1 violação: MM>500	Não	Sim	Sim	Sim
2D	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim
3D	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim

4D	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim
5D	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim
6D	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim
7D	Sim; 0 violação	Não	Sim	Sim	Sim
8D	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim
9D	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim
10	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim
1L	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim
2L	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim
3L	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim
4L	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim
5L	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim
6L	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim
7L	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim
1F	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Não	Sim
2F	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim
3F	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim
4F	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim
5F	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim
6F	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim
7F	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim
8F	Sim; 1 violação: MLOGP>4.15	Não	Sim	Não	Não
9F	Sim; 1 violação: MLOGP>4.16	Não	Sim	Não	Não
10F	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim
1N	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim
2N	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim
3N	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim
4N	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim
5N	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim
6N	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim
7N	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim
8N	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim
9N	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim
10N	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim

Tabela 7: Predição de características druglikeness. MM = Massa Molecular, MLOGP = Coeficiente de Partição.

Observa-se que os 4 compostos seleccionados (8D, 1L, 6F e 1N) atendem aos requisitos necessários para serem classificados como compostos semelhantes à drogas conforme às regras

de Limpiski, Veber, Ghose e Egan. Esse resultado reforça as expectativas de que tais compostos possam se tornar fármacos comerciais.

4.5.3. Toxicidade

Com relação à toxicidade, nenhum dos compostos apresentou características de carcinogenicidade e todos os compostos foram preditos como inibidores fracos de hHERG I, enquanto que os compostos 1F, 2F, 3F,4F, 5F, 6F, 8F, 9F e 10F foram classificados como inibidores de hHERG II. Em relação à toxicidade AMES, apenas os compostos 1D, 2L e 7L foram preditos como tóxicos.

Diante disso, os compostos 1N, 8D e 1 L são considerados melhores perante aos outros compostos selecionados, uma vez que o composto 6F foi classificado como inibidor de hHERG II.

4.5.4. Acessibilidade Sintética

Conforme a classificação da acessibilidade sintética, 22% dos compostos estudados são de fácil acessibilidade sintética (pontuação ≤ 3), 62% são de média-baixa acessibilidade ($3 < \text{pontuação} \leq 5$), 16% são de média-alta acessibilidade ($5 < \text{pontuação} \leq 7$) e 0% é de difícil acessibilidade (pontuação > 7).

Considerando os 4 compostos selecionados, nota-se que o composto 8D é de média-alta acessibilidade e os compostos 1L, 6F e 1N são de média-baixa acessibilidade.

4.5.5. Comparação dos compostos estudados com o inibidor de boronato

Na Análise de Componente Principal realizada, foram selecionados 2 componentes que explicam cerca de 52% de variação entre os compostos estudados para serem os eixos do gráfico (Figura 21). Através do teste realizado pelo K-means foi possível definir 4 grupos com base no score *Silhouette* gerado durante a análise. O *output* do K-means foi submetido para a análise do Scatter Plot (Figura 21):.

O grupo representado pela cor azul apresenta em sua maioria os compostos naturais, com exceção do composto 7F. Enquanto isso, o grupo “verde” ficou com apenas dois compostos sendo ambos compostos já aprovados pelo FDA e o grupo “vermelho” apresentou a maioria dos compostos estudados.

Em relação aos 4 compostos, anteriormente selecionados, observa-se que 8D, 1L e 6F fazem parte do grupo vermelho e apenas o composto 1N pertence ao grupo “azul”. Nenhum dos compostos estudados e testados fizeram parte do grupo “laranja”, sendo ele constituído apenas pelo modelo 6T8.

Vale ressaltar que compostos presentes em um mesmo grupo possuem maior similaridade entre si, em relação aos aspectos farmacocinéticos, do que compostos de grupos diferentes. Dessa forma, é esperado que a seleção de compostos pertencentes ao mesmo grupo do modelo 6T8 possa aumentar as chances de uma seleção de potenciais inibidores bem sucedida (DINIZ, 2017).

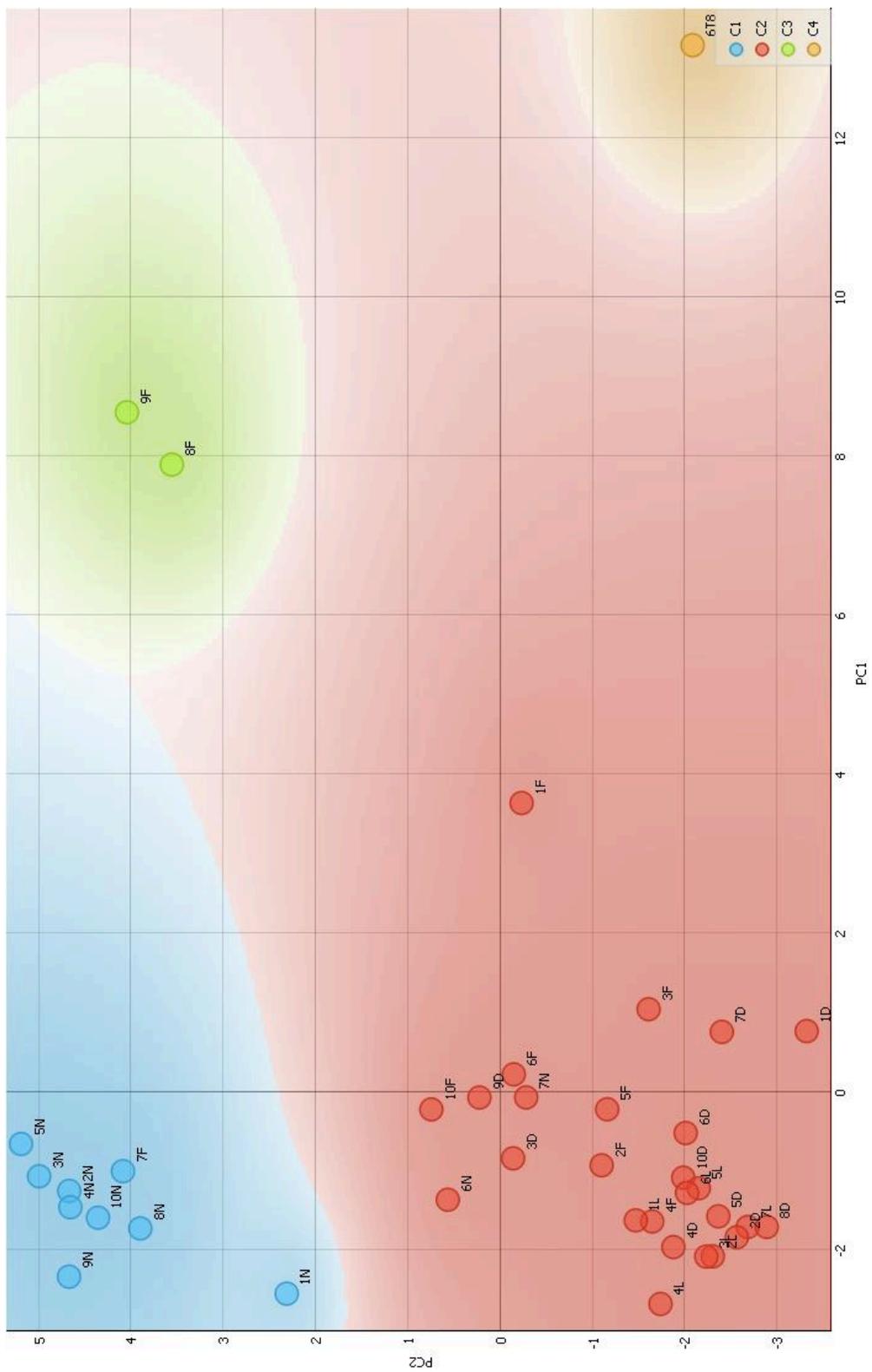


Figura 21: Gráfico resultante da análise dos dados moleculares, farmacológicos e toxicológicos gerados ao longo do estudo.

5. CONCLUSÃO

- Foi possível selecionar potenciais inibidores para a NS3, com especificidade, características moleculares favoráveis, bom perfil farmacocinético e com acessibilidade sintética aceitável.
- As modificações moleculares feitas nas moléculas *druglike* e *leadlike* aumentaram a sua especificidade ao alvo molecular, devido à possibilidade de haver interação intermolecular covalente entre o composto e a NS3 do vírus Zika.
- Os compostos 8D, 1L, 6F e 1N são os compostos que possuem maior afinidade em suas respectivas classes e todos eles, foram preditos como compostos de alta absorção gastrointestinal e quimicamente semelhantes à drogas comerciais, devido ao cumprimento das regras de Lipinski, Veber, Ghose e Egan.
- O fármaco Betrixaban, identificado por 6F no presente estudo, é um candidato ao reposicionamento de fármaco para o tratamento de indivíduos infectados com o vírus Zika, desde que tenha sua eficácia comprovada.
- O composto 1N é caracterizado por ser uma Criptomoscatoona D1 e pode ser encontrado nas plantas *Lauraceae Cryptocarya moschata* e *Lauraceae Cryptocarya mandioccana*. Testes de segurança, eficácia biológica e outras análises farmacológicas são requeridos para que seu emprego no tratamento do vírus Zika seja aceito. A possibilidade de ultrapassar a barreira hematoencefálica aumenta as chances de sucesso para o emprego desse composto no tratamento de pacientes infectados com o vírus Zika.
- Testes *in vitro* e *in vivo* são fundamentais para o uso dos compostos identificados a partir deste estudo, com o objetivo de ter a eficácia comprovada e uso seguro. Além disso, a busca por novos fármacos e tratamentos para esta e outras viroses continua sendo importante para a saúde, principalmente em países tropicais, e deve continuar sendo realizada.

6. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, N. R.; PEREIRA, L. D. L.; ALVIM, H. G. O. Fatores desencadeadores de tromboembolismo venoso. **Revista JRG de Estudos Acadêmicos**, v. 4, n. 8, p. 213-221, 2021.

ALHO, C. J. R. Importância da biodiversidade para a saúde humana: uma perspectiva ecológica. **Estudos Avançados**, v. 26, n. 74, p. 151-165, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0103-40142012000100011>

ALVES, M. F. V.; CRUZ, J. H. A.; MOREIRA, I. C. S.; GUÊNES, G. M. T.; PENHA, E. S.; OLIVEIRA FILHO, A. A.; OLIVEIRA, H. M. B. F.; ANJOS, R. M.; SATYRO, M. A. S. A.; ALVES, M. A. S. G. Análise da atividade farmacológica e toxicológica do monoterpene borneol com finalidade odontológica: um estudo *in silico*. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, v. 27, n. 3, p. 12-17, 2019.

ALVES, V. L.; CRUZ, D. D. C. S.; LINDEN, A. M. C. V. D.; FALBO, A. R.; MELLO, M. J. G.; PAREDES, C. E.; SILVA, G. V. C.; FIGUEIROA, J. N.; BEZERRA, P. G. M. Crises epiléticas em crianças com síndrome congênita do Zika vírus. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v. 16, n. 1, p. 33-37, 2016.

ALVES, V. M.; BRAGA, R. C.; SILVA, M. F. B.; MURATOV, E.; FOURCHES, D.; TROPSHA, A.; ANDRADE, C. H. Pred-hERG: uma nova ferramenta para rápida identificação de potenciais compostos cardiotoxicos. In: 37ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2014, Natal. **Reunião**. Natal, 2014.

AMARAL, A. T.; MONTANARI, C. A. Química Medicinal: 25 anos de planejamento racional de fármacos. **Revista Química Nova**, v. 25, n. 1, p. 39-44, 2002. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000800008>

ANDRADE, C. H.; TROSSINI, G. H. G.; FERREIRA, E. I. Modelagem molecular no ensino de química farmacêutica. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 7, n. 1, p. 1-23, 2010. <https://doi.org/10.5216/ref.v7i1.9603>

ANVISA. **Tratamento das principais infecções comunitárias e relacionadas à assistência à saúde e a profilaxia antimicrobiana em cirurgia**; Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

2008. Disponível em:

http://anvisa.gov.br/servicos/controle/rede_rm/cursos/atm_racional/modulo3/farmacocinetica2.htm. Acesso em 13 de Junho de 2021.

ARAÚJO, A. P. L. M. G. **O papel da glicoproteína-P nas interações fármaco-fármaco**. 2015. 60 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2015.

ARAÚJO, G. S. **Identificação de potenciais inibidores do complexo proteolítico ns2b-ns3 do Zika vírus através de triagem virtual**. 2017. 59 f. Monografia – Curso de Farmácia, Faculdade Maria Milza, Governador Mangabeira, 2017.

ARAÚJO, L. B. M. **Teoria do octeto**; Brasil Escola. [s.d.]. Disponível em:

<https://brasilecola.uol.com.br/quimica/teoria-octeto.htm>. Acesso em 15 de agosto de 2021.

AVER, G. M.; KREUTZ, O. C.; SUYENAGA, E. S. Métodos de obtenção de fármacos sob a óptica da química medicinal. **Revista Conhecimento Online**, v. 2, p. 63-73, 2015.

AZEVEDO, C. S.; FREIRE, I. M.; MOURA, L. N. F. Reorganizações familiares no contexto do cuidado ao bebê com Síndrome Congênita do Zika Vírus. **Interface (Botucatu)**, v. 25, p. 1-17, 2021. <https://doi.org/10.1590/interface.190888>

BADSHAH, S. L.; AHMAD, N.; REHMAN, A. U.; KHAN, K.; ULLAH, A.; ABDULRHMAN, A.; MUHSINAH, A. B.; MABKHOT, Y. N. Molecular *docking* and simulation of Zika virus NS3 helicase. **Chemistry Central Journal**, v. 13, n. 67, p. 1-8, 2019. <https://doi.org/10.1186/s13065-019-0582-y>

BARBERATO FILHO, S. **Pesquisa e desenvolvimento de fármacos no Brasil**: estratégias de fomento. 2006. 192 f. Tese (Doutorado) – Curso de Fármaco e Medicamentos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Revista Química Nova**, v. 32, n. 32, p. 679-688, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000300012>

BELTRAME, G. F.; DIEFENBACH, C. F.; BRANCO, J. C. B.; MARTINS, J. S. Patogênese da microcefalia induzida pelo vírus Zika: uma revisão de literatura. **Revista Inspirar movimento & saúde**, v. 18, n. 4, 2018.

BERMAN, H. M.; WESTBROOK, J.; FENG, Z.; GILLILAND, G.; BHAT, T. N.; WEISSIG, H.; SHINDYALOV, I. N.; BOURNE, P. E. The Protein Data Bank. **Nucleic Acids Research**, v. 28, n. 1, p. 235–242, 2000. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>

BEZERRA, D. P. **A glicoproteína P e o gene MDR1**. 2011. 32 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Curso de Medicina Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

BOIGARD, H.; ALIMOVA, A.; MARTIN, G. R.; KATZ, A.; GOTTLIEB, P.; GALARZA, J. M. Zika virus-like particle (VLP) based vaccine. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 5, p. 1-20, 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005608>

BONNET, P. Is chemical synthetic accessibility computationally predictable for drug and lead-like molecules? A comparative assessment between medicinal and computational chemists. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 54, p. 679– 689, ago. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2012.06.024>

BORGES, A. **Triagem Virtual de Potenciais Ligantes para a Oncoproteína E6 do HPV tipo 16**. 2019. 32 f. TCC (Graduação) - Curso de Biotecnologia, Instituto de Biotecnologia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019.

BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Revista Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 16, n. 4, p. 279-293, 2007. <https://doi.org/10.5123/S1679-49742007000400006>

BRASIL, P.; SEQUEIRA, P. C.; FREITAS, A. D. A.; ZOGBI, H. E.; CALVET, G. A.; SOUZA, R. V.; SIQUEIRA, A. M.; MENDONCA, M. C. L.; NOGUEIRA, R. M. R.; FILIPPIS, A. M. B.; SOLOMON, T. Guillain-Barré syndrome associated with Zika virus infection. **The Lancet**, v. 387, p. 1482, 2016. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30058-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30058-7)

- BREDER, N. **Reposicionamento de medicamentos para tratamento da covid-19**; Secretaria de Estado de Saúde. 2020. Disponível em:
<https://www.saude.mg.gov.br/component/gmg/story/13520-reposicionamento-de-medicamentos-para-tratamento-da-covid-19>. Acesso em 24 de maio de 2021.
- BRUNONI, D. BLASCOVI-ASSIS, S. M.; OSÓRIO, A. A. C.; SEABRA, A. G.; AMATO, C. A. H.; TEIXEIRA, M. C. T. V.; ROCHA, M. M.; CARREIRO, L. R. R. Microcefalia e outras manifestações relacionadas ao vírus Zika: impacto nas crianças, nas famílias e nas equipes de saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 21, n. 10, p. 3297-3302, 2016.
<https://doi.org/10.1590/1413-812320152110.16832016>
- CABRAL, E. K. F.; GOMES, G. C.; SANTOS, H. H.; MACIEL, S. S. Efeito ventilatório da fisioterapia intensiva na Síndrome de Guillain-Barré sob ventilação mecânica. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 16, s. 2, p. 11-16, 2012.
- CABRAL, M. C.; NÓBREGA, M. E. B.; LEITE, P. L.; SOUZA, M. S. F.; TEIXEIRA, D. C. P.; CAVALCANTE, T. F.; LIMA, R. G. S.; TAVARES, L. M. S. A.; SOUZA, P. B. S.; SAAD, E. Descrição clínico-epidemiológica dos nascidos vivos com microcefalia no estado de Sergipe, 2015. **Revista Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 26, n. 2, p. 245-254, 2017.
- CAIXA, A. C. S.; SOBRAL, M. M. R.; BANDEIRA, D. M. Diagnóstico Clínico, Bioquímico, Hematológico, Sorológico e Molecular das Infecções por Zika Vírus. **Revista Digital Simonsen**, v. 5, n. 12, p. 8-24, 2020.
- CALIXTO, J. B.; SIQUEIRA JÚNIOR, J. M. Desenvolvimento de medicamento no Brasil: desafios. **Gazeta Médica da Bahia**, v. 78, n. 1, p. 98-106, 2008.
- CAO-LORMEAU, V-M.; BLAKE, A.; MONS, S.; PHARM, S. L.; ROCHE, C.; VANHOMWEGEN, J.; DUB, T.; BAUDOUIN, L.; TEISSIER, A.; LARRE, P.; VIAL, A-L.; DECAM, C.; CHOUMET, V.; HALSTEAD, S. K.; WILLISON, H. J.; MUSSET, L.; MANUGUERRA, J-C.; DESPRES, P.; FOURNIER, E.; MALLET, H-P.; MUSSO, D.; FONTANET, A.; NEIL, J.; GHAWCHÉ, F. Guillain-Barré Syndrome outbreak associated with Zika virus infection in French Polynesia: a case-control study. **The Lancet**, v. 387, p. 1531-1539, 2016. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00562-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00562-6)

CARVALHO, I.; PUPO, M. T.; BORGES, A. D. L.; BERNARDES, L. S. C. Introdução a modelagem molecular de fármacos no curso experimental de química farmacêutica. **Revista Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 428-438, 2003. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422003000300023>

CASTILLO-OLIVARES, J.; WOOD, J. West Nile virus infection of horses. **Veterinary Research**, v. 35, p. 467–483, 2004. <https://doi.org/10.1051/vetres:2004022>

CDC. **Facts about Microcephaly**; Centers for Disease Control and Prevention, National Center on Birth Defects and Developmental Disabilities. 2020. Disponível em: <https://www.cdc.gov/ncbddd/birthdefects/microcephaly.html#:~:text=Microcephaly%20is%20defined%20as%20a,less%20than%20the%203rd%20percentile>. Acesso em 07 de fevereiro de 2021.

CHAVES FILHO, J. I. G.; REIS, I. L. A.; FRANÇA, A. S.; CORTELA, D. C. B. Revisão da literatura: a relação entre Zika virus e Síndrome de Guillain-Barré. **Revista Ciência e Estudos Acadêmicos de Medicina**, n. 5, p. 22-29, 2016.

CHENG, F.; LI, W.; ZHOU, Y.; SHEN, J.; WU, Z.; LIU, G.; LEE, P. W.; TANG, Y. admetSAR: A Comprehensive Source and Free Tool for Assessment of Chemical ADMET Properties. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 52, p. 3099–3105, 2012. <https://doi.org/10.1021/ci300367a>

COCCO, D. R.; SOUZA, M. R.; ALARCON, S. P.; KURITA, V. R. Uso de métodos computacionais para análise farmacológica e toxicológica do velutin. **Journal of Medicine and Health Promotion**, v. 5, n. 2, p. 88-89, 2020.

COELHO, B. P. **Reposicionamento de fármacos**: avaliação pré-clínica do uso da doxazosina no combate à tumores pediátricos e na neuroproteção em um modelo da doença de Alzheimer. 2019. 95 f. Tese (Doutorado) – Curso de Ciências Biológicas: Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2019.

COSTA, F. G. **Prospecção de inibidores para a enzima malato sintase do *Paracoccidioides brasiliensis***: uma avaliação por triagem virtual e dinâmica molecular. 2015. 143 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Ciências Aplicadas à Saúde, Universidade Federal de Goiás, Jataí, 2015.

COSTA-LOTUFO, L. V.; WILKE, D. V.; JIMENEZ, P. C.; EPIFANIO, R. A. Organismos marinhos como fonte de novos fármacos: histórico & perspectivas. **Revista Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 703-716, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000300014>

COSTA NETO, E. M.; RESENDE, J. J. A percepção de animais como “insetos” e sua utilização como recursos medicinais na cidade de Feira de Santana, Estado da Bahia, Brasil. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 26, n. 2, p. 143-149, 2004. <https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v26i2.1612>

CYPROTEX. **hERG Safety**, Cyprotex. [s.d.]. Disponível em: <https://www.cyprotex.com/toxicology/cardiotoxicity/hergsafety/>. Acesso em 15 de agosto de 2021.

DAINA, A.; MICHELIN, O.; ZOETE, V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. **Scientific Reports**, v. 7, n. 42717, p. 1-13, 2017. <https://doi.org/10.1038/srep42717>

DEARDEN, J. C. *In silico* prediction of drug toxicity. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, v. 17, p. 119-127, 2003. <https://doi.org/10.1023/A:1025361621494>

DEMSAR, J.; CURK, T.; ERJAVEC, A.; GORUP, C.; HOCEVAR, T.; MILUTINOVIC, M.; MOZINA, M.; POLAJNAR, M.; TOPLAK, M.; STARIC, A.; STAJDOHAR, M.; UMEK, L.; ZAGAR, L.; ZBONTAR, J.; ZITNIK, M.; ZUPAN, B. Orange : Data Mining Toolbox in Python. **Journal of Machine Learning Research**, v. 14, p. 2349–2353, 2013.

DINIZ, A. S. **Virtual screening aplicado na busca de potenciais inibidores da proteína lanosterol 14-alfa demetilase (CYP51) em Trypanosoma cruzi**. 2017. 32 f. TCC (Graduação) - Curso de Biotecnologia, Instituto de Biotecnologia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017.

DREKENER, R. L. **Estudos sintéticos visando à elucidação da estereoquímica de compostos da família das *Criptomoscatonas D***. 2011. 200 f. Tese (Doutorado) – Curso de Química, Departamento de Química Orgânica, da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

EDISCIPLINAS. **Estratégias de desenvolvimento de fármacos**; Edisciplinas. [s.d.]. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/992018/mod_resource/content/1/Estratégias.pdf. Acesso em 15 de agosto de 2021.

EGAN, W. J.; MERZ, K. M.; BALDWIN, J. J. Prediction of drug absorption using multivariate statistics. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, n. 21, p. 3867-3877, 2000. <https://doi.org/10.1021/jm000292e>

ERTL, P.; SCHUFFENHAUER, A. Estimation of synthetic accessibility score of drug-like molecules based on molecular complexity and fragment contributions. **Journal of Cheminformatics**, v. 1, n. 8, p. 1-11, 2009. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-1-8>

FAHMY, M.; SYLVESTER, K. W.; MIGLIORE, M.; EGUALE, T.; FANIKOS, J.; CONNORS, J. M.; GOLDHABER, S. Z.. Extended duration venous thromboembolism prophylaxis with betrixaban for patients re-admitted with venous thromboembolism. **Springer**, v. 52, p. 22-29, 2021. <https://doi.org/10.1007/s11239-021-02376-9>

FARIA, J. H. S.; SANTOS, R. C. A. **Reposicionamento de fármacos para o combate à covid-19**. 2020. 26 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Técnico) – Curso de Química, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia, Itaperuma, 2020.

FATIMA, M.; KHAN, M. S.; RASHID, H.; MEHMOOD, A.; KANWAL, S.; RASHEED, M. A.; JAMIL, F. Structure Based Virtual Screening and Molecular *Docking* Studies for Identification of Allosteric Inhibitors against Zika Virus Protease NS2B-NS3. **Pakistan Journal of Zoology**, v. 50, n. 5, p. 1709-1715, 2018. <https://doi.org/10.17582/journal.pjz/2018.50.5.1709.1715>

FDA. **FDA approved betrixaban (BEVYXXA, Portola) for the prophylaxis of venous thromboembolism (VTE) in adult patients**; Food and Drug Administration. 2017.

Disponível em: [FDA approved betrixaban \(BEVYXXA, Portola\) for the prophylaxis of venous thromboembolism \(VTE\) in adult patients | FDA](#). Acesso em 03 de Maio de 2021.

FEDERICO, L. B. **Planejamento e validação anti-proliferativa e anti-leishmania, de novos híbridos tri-funcionalizados unidos através do anel 1,2,3-triazol e compostos similares**. 2016. 168 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Departamento de Química, da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

FEDERICO, M. P.; SAKATA, R. A. P.; PINTO, P. F. C.; FURTADO, G. H. C. Noções sobre parâmetros farmacocinéticos/farmacodinâmicos e sua utilização na prática médica. **Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica**, v. 15, n.3, p. 201-205, 2017.

FÉLIX, V. P. S. R.; FARIAS, A. M. Microcefalia e dinâmica familiar: a percepção do pai frente à deficiência do filho. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 34, n. 12, p. 1-11, 2018.

<https://doi.org/10.1590/0102-311x00220316>

FERREIRA, F. G.; POLLI, M. C.; OSHIMA-FRANCO, Y.; FRACETO, L. F. Fármacos: do desenvolvimento à retirada do mercado. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 6, n. 1, p. 14-24, 2009. <https://doi.org/10.5216/ref.v6i1.5857>

FIOCRUZ. Como é o ciclo de vida do mosquito “Aedes aegypti”? , Fundação Oswaldo Cruz. 2019. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/pergunta/como-e-o-ciclo-de-vida-do-mosquito-aedes-aegypti#:~:text=O%20Aedes%20aegypti%20passa%20por%20quatro%20etapas%20at%C3%A9, adulta%20podem%20ocorrer%20de%207%20a%2010%20dias>. Acesso em 10 de maio de 2021.

FLATO, U.; ADRIAN, P.; BUHATEM, T.; MERLUZZI, T.; BIANCO, A. C. M. Novos anticoagulantes em cuidados intensivos. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 23, n. 1, p. 68-77, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0103-507X2011000100012>

FLOR, C. J. D. R. V.; GUERREIRO, C. F.; ANJOS, J. L. M. Desenvolvimento neuropsicomotor em crianças com microcefalia associado ao Zika vírus. **Revista Pesquisa em Fisioterapia**, v. 7, n. 3, p. 313-318, 2017. <https://doi.org/10.17267/2238-2704rpf.v7i3.1386>

FONSECA, N. **Triagem virtual de ligantes para a proteína lanosterol 14 alfa-desmetilase de *Leishmania infantum***. 2019. 14 f. TCC (Graduação) - Curso de Fisioterapia, Faculdade de Educação Física, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019.

FRANÇA, T. L. B.; MEDEIROS, W. R.; SOUZA, N. L.; LONGO, E.; PEREIRA, S. A.; FRANÇA, T. B. O.; SOUSA, K. G. Growth and Development of Children with Microcephaly Associated with Congenital Zika Virus Syndrome in Brazil. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 15, p. 1-11, 2018.

<https://doi.org/10.3390/ijerph15091990>

FRANCO, R. F. Fisiologia da coagulação, anticoagulação e fibrinólise. In: Hemostasia e Trombose, 2001, Ribeirão Preto. **Simpósio**. Ribeirão Preto, 2001.

<https://doi.org/10.11606/issn.2176-7262.v34i3/4p229-237>

GHOSE, A. K.; VISWANADHAN, V. N.; WENDOLOSKI, J. J. A Knowledge-Based Approach in Designing Combinatorial or Medicinal Chemistry Libraries for Drug Discovery. 1. A Qualitative and Quantitative Characterization of Known Drug Databases. **Journal of combinatorial chemistry**, v. 1, n. 1, p. 55-68, 1999. <https://doi.org/10.1021/cc9800071>

GRANDO, R. L.; OLIVEIRA, A. C. D.; FIERRO, I. M. **O reposicionamento de fármacos como uma potencial estratégia para o tratamento da COVID-19**; Observatório da Fiocruz. 2020. Disponível em: <http://observatorio.fiocruz.br/estudos/o-reposicionamento-de-farmacos-como-uma-potencial-estrategia-para-o-tratamento-da-covid-19>. Acesso em 19 de maio de 2021.

GUERRA, L. R. **Avaliação da capacidade preditiva de carcinogenicidade e mutagenicidade de modelos *in silico* gratuitos para compostos orgânicos voláteis**. 2016. 263 f. Tese (Doutorado) – Curso de Ciências e Biotecnologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2016.

GUIDO, R.; ANDRICOPULO, A. D.; OLIVA, G. Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas. **Estudos Avançados**, v. 24, n. 70, p. 81–98, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0103-40142010000300006>

GUIDO, R. V.C.; ANDRICOPULO, A. D. Modelagem Molecular de Fármacos. **Revistas Processos Químicos**, p. 24-36, 2008. <https://doi.org/10.19142/rpq.v2i4.66>

HABENSCHYS, M. D. **Estudos de inibição das enzimas do citocromo P450 pelo produto natural (-)-grandisina utilizando microsomas hepáticos de humanos**. 2016. 59 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

HAMAD, G. B. N. Z.; SOUZA, K. V. Síndrome congênita do Zika vírus: conhecimento e forma da comunicação do diagnóstico. **Texto & Contexto Enfermagem**, v. 29, p. 1-14, 2020.

HAMEL, R.; DEJARNAC, O.; WICHIT, S.; EKCHARIYAWAT, P.; NEYRET, A.;

LUPLERTLOP, N.; PERERA-LECOIN, M.; SURASOMBATPATTANA, P.; TALIGNANI, L.; THOMAS, F.; CAO-LORMEAU, V.; CHOUMET, L. B.; DESPRÈS, P.; AMARA, A.; YSSEL, H.; MISSÉ, D. Biology of Zika Virus Infection in Human Skin Cells. **Journal of Virology**, v. 89, n. 17, p. 8880–8896, 2015. <https://doi.org/10.1128/JVI.00354-15>

HAWKINS, P.; SKILLMAN, G.; WARREN, G. L.; ELLINGSON, B. A.; STAHL, M. T. Conformer Generation with OMEGA: Algorithm and Validation Using High Quality Structures from the Protein Databank and Cambridge Structural Database. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 11, p. 572–584, 2010. <https://doi.org/10.1021/ci100031x>

HAWKINS, P. C. D.; SKILLMAN, A. G.; NICHOLLS, A. Comparison of Shape-Matching and *Docking* as Virtual Screening Tools. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 50, p. 74–82, 2007. <https://doi.org/10.1021/jm0603365>

HERAZO, M. A. M. **Uso de plantas como biorreatores para a produção heteróloga da proteína NS2B do Zika vírus como insumo para diagnóstico**. 2020. 104 f. Tese (Doutorado) – Curso de Biotecnologia, Rede Nordeste de Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2020.

HERLING, J. D.; VIEIRA, R. G.; BECKER, T. O. F.; SOUZA, V.A. I.; CORTELA, D. C. B. Infecção por Zika vírus e nascimento de crianças com microcefalia: revisão de literatura. **Revista Ciência e Estudos Acadêmicos de Medicina**, n.5, p. 59-75, 2016.

HESSLER, G.; BARINGHAUS, K-H. Artificial Intelligence in Drug Design. **Molecules**, v. 23, n. 2520, p. 1-13, 2018. <https://doi.org/10.3390/molecules23102520>

HICKSON, R. Uso da bioinformática para determinação de substâncias candidatas a fármacos para *Schistosoma mansoni*. **Revista Pensar**, [s.d.].

HUANG, Q.; LI, L-L.; YANG, S. Y. PhDD: a new pharmacophore-based *de novo* design method of drug-like molecules combined with assessment of synthetic accessibility. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 28, n. 8, p. 775-787, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.jmgm.2010.02.002>

HUANG, Q.; LI, L-L.; YANG, S-Y. RASA: a rapid retrosynthesis-based scoring method for the assessment of synthetic accessibility of drug-like molecules. **Journal of Chemical Information and Modelling**, v. 51, n. 10, p. 2768-2777, 2011. <https://doi.org/10.1021/ci100216g>

IBRAHIM, Y.; MAHDI, M. F.; OMAR, T. N. A.; AUDAY, O.; SABAH, N. Synthesis, characterization and preliminary anti-inflammatory evaluation of 5-benzylidene thiazolidine-4-one derivatives. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 11, n. 4, p. 1287–1290, 2019.

IMRAN, M.; WAQAR, S.; OGATA, K.; AHMED, M.; NOREEN, Z.; JAVED, S.; BIBI, N.; BOKHARI, H.; AMJAD, A.; MUDDASSAR, M. Identification of novel bacterial urease inhibitors through molecular shape and structure based virtual screening approaches. **The Royal Society of Chemistry**, v. 10, p 16061-16070, 2020. <https://doi.org/10.1039/D0RA02363A>

IOOS, S.; MALLET, H. P.; GOFFART, I. L.; GAUTHIER, V.; CARDOSO, T. HERIDA, M.. Current Zika virus epidemiology and recent epidemics. **Medecine et Maladies Infectieuses**, v. 44, n. 7, p. 302–307, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2014.04.008>

IRWIN, J. J. Using ZINC to Acquire a Virtual Screening Library. **Current Protocols in Bioinformatics**, v. 14, n. 6, p. 1–23, 2008. <https://doi.org/10.1002/0471250953.bi1406s22>

JAIN, R.; COLOMA, J.; GARCÍA-SASTRE, A.; AGGARWAL, A. K. Structure of the NS3 helicase from Zika virus. **Nature**, v. 23, n. 8, p. 752–754, 2016. <https://doi.org/10.1038/nsmb.3258>

JARDIM, R. **Estudo de reposicionamento de fármacos para doenças negligenciadas causadas por protozoários através da integração de bases de dados biológicas usando Web Semântica**. 2013. 176 f. Tese (Doutorado) – Curso de Biologia Computacional de Sistemas, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2013.

JIA, C-Y.; LI, J-Y.; HAO, G-F.; YANG, G-F. A drug-likeness toolbox facilitates ADMET study in drug discovery. **Drug Discovery Today**, v. 25, n. 1, p. 248-258, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.10.014>

JONES, B. L. **Farmacocinética em crianças**; Manual MSD. 2018. Disponível em: <https://www.msdmanuals.com/pt/profissional/pediatria/princípios-do-tratamento-medicamentoso-em-crianças/farmacocinética-em-crianças>. Acesso em 07 de junho de 2021.

JÚNIOR, E. **Síntese e avaliação biológica de compostos duais frente às enzimas NS2B-NS3 dos vírus Dengue e Zika e NSP2 do vírus Chikungunya**. 2019. 235 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química e Biotecnologia, Instituto de Química e Biotecnologia, da Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2019.

JUNIOR, V. Vírus Zika: revisão para clínicos. **Revista Científica da Ordem dos Médicos**, v. 28, n. 6, p. 760–765, 2015.

KADRI, A.; AOUADI, K. In vitro antimicrobial and α -glucosidase inhibitory potential of enantiopure cycloalkylglycine derivatives: Insights into their in silico pharmacokinetic, druglikeness, and medicinal chemistry properties. **Journal of Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 10, n. 6, p. 107-115, 2020. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2020.10614>

KUNUMI. **Inteligência Artificial para reposicionamento de drogas**; Medium. 2020. Disponível em: <https://medium.com/kunumi/inteligência-artificial-para-reposicionamento-de-drogas-1221805b607a>. Acesso em 24 de maio de 2021.

KUNO, G.; CHANG, G. J. J., TSUCHIYA, K. R.; KARABATSOS, N., CROPP, C. B. Phylogeny of the Genus Flavivirus. **Journal of Virology**, v. 72, n. 1, p. 73–83, 1998. <https://doi.org/10.1128/JVI.72.1.73-83.1998>

LAGOS, C. F.; SEGOVIA, G. F.; NUÑEZ-NAVARRO, N.; FAÚNDEZ, M. A. ZACCONI, F. C. Novel FXa Inhibitor Identification through Integration of Ligand- and Structure-Based Approaches. **Molecules**, v. 22, n. 1558, p. 1-16, 2017. <https://doi.org/10.3390/molecules22101588>

LEI, J., HANSEN, C.; NITSCHKE, C.; KLEIN, C. D.; ZHANG, L. HILGENFELD, R. Crystal structure of Zika virus NS2B-NS3 protease in complex with a boronate inhibitor. **Science**, v. 353, n. 6298, p. 503–505, 2016. <https://doi.org/10.1126/science.aag2419>

LE, J. **Distribuição dos fármacos aos tecidos**; Manual MSD. 2021. Disponível em: <https://www.msdmanuals.com/pt-br/profissional/farmacologia-clinica/farmacocinetica/distribuição-do-fármaco-aos-tecidos>. Acesso em 07 de junho de 2021.

LEONARDI, E. **Farmacocinética clínica e farmacodinâmica**; Instituto de Ciência, Tecnologia e Qualidade. 2021. Disponível em: <https://www.ictq.com.br/varejo-farmaceutico/838-farmacocinetica-clinica-e-farmacodinamica>. Acesso em 07 de junho de 2021.

LIBERATORI, S. **Farmacocinética: descomplicando conceitos da farmacologia**; SanarMed. 2021. Disponível em: <https://www.sanarmed.com/farmacocinetica-descomplicando-conceitos-da-farmacologia-colunistas>. Acesso em 07 de junho de 2021.

LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W.; FEENEY, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 23, p. 3-25, 1997. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(96\)00423-1](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(96)00423-1)

LIPINSKI, C. Lead profiling Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. **Drug discovery today**, v. 1, n. 4, p. 337–341, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2004.11.007>

LOPES, N.; NOZAWA, C.; LINHARES, R. Características gerais e epidemiologia dos arbovírus emergentes no Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 55, n. 3, p. 55–64, 2014. <https://doi.org/10.5123/S2176-62232014000300007>

LOPES, N. P.; BOLZAN, V. S. **Bioprospecção, uma abordagem racional para garimpar modelos de fármacos da rica biodiversidade nacional**; Nexo Políticas Públicas. 2020. Disponível em: <https://pp.nexojornal.com.br/opiniao/2020/Bioprospecção-uma-abordagem-racional-para-garimpar-modelos-de-fármacos-da-rica-biodiversidade-nacional>. Acesso em 24 de maio de 2021.

LOPES, R. O. M. **Aspirina: aspectos culturais, históricos e científicos**. 2011. 47 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Curso em Ensino de Química, Instituto de Química da Universidade de Brasília, Brasília, 2011.

MANDLIK, V.; SINGH, S. Integrative approaches for identification of novel ISCL inhibitors in Leishmaniasis: A computational insight into the structure. **Gene Reports**, v. 4, p. 162-168, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2016.05.002>

MARIÑO, P. A. **Estudo de chalconas como antibacterianos potenciais: síntese, avaliação da ação antibacteriana e das propriedades físico-químicas**. 2014. 98 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana, 2014.

MARQUISSOLO, C. **Síntese e atividade biológica de análogos furânicos da goniotalamina**. 2009. 111 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Química, Instituto de Química, da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

MARTINS, R. **Desenvolvimento de ensaios in vitro para prospecção e avaliação de compostos com atividade citoprotetora ou inibitória do vírus zika**. 2018. 83 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências, Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2018.

MASSAO, L. Como é a anatomia do mosquito da dengue?, Super Interessante. 2018. Disponível em: <https://super.abril.com.br/mundo-estranho/como-e-a-anatomia-do-mosquito-da-dengue/#:~:text=Ele%20tem%20olhos%20e%20gl%C3%A2ndulas,um%20agente%20de%20infec%C3%A7%C3%A3o%20perfeito&text=1ILUSTRAS%3A%20Erika%20Ondera-.Ele%20tem%20olhos%20e%20gl%C3%A2ndulas%20salivares%20especiais%20para%20detectar%20humanos,um%20agente%20de%20infec%C3%A7%C3%A3o%20perfeito>. Acesso em 10 de maio de 2021.

MAXWELL. Metodologia; Maxwell. Disponível em: https://www.maxwell.vrac.puc-rio.br/19561/19561_4.PDF. Acesso em 24 de maio de 2021.

MAYR, A.; KLAMBAUER, G.; UNTERTHINER, T.; HOCHREITER, S. DeepTox: toxicity prediction using deep learning. **Frontiers in Environmental Science**, v. 3, n. 80, p. 1-15, 2016. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2015.00080>

McNEIL JUNIOR, D. G. **Zika: a epidemia emergente**. Tradução: Rosaura Eichenberg. 1. Ed. São Paulo: Planeta, 2016. 223 p.

MEDEIROS, H. I. R. **Desenvolvimento racional de um candidato a fármaco: estudos *in silico*, síntese, caracterização e avaliação biológica de um composto contendo o grupamento farmacofórico acceptor de Michael**. 2019. 77 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Curso de Farmácia, Centro de Educação e Saúde, Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, 2019.

MELLO, J. F. R. **Estudos de relação estrutura atividade e *docking* molecular de derivados benzoxazinonas com HSV-1 protease visando o planejamento de novos antivirais**. 2012. 120 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

MELO, A. S. O.; AGUIAR, R. S.; AMORIM, M. M. R.; ARRUDA, M. B.; MELO, F. O.; RIBEIRO, S. T. C.; BATISTA, A. G.M.; FERREIRA, T.; SANTOS, M. P.; SAMPAIO, V. V.; MOURA, S. R. M.; RABELLO, L. P.; GONZAGA, C. E.; MALINGER, G.; XIMENES, R.; OLIVEIRA-SZEJNFELD, P. S.; TOVAR-MOLL, F.; CHIMELLI, L.; SILVEIRA, P. P.; DELVECHIO, R.; HIGA, L.; CAMPANATI, L. NOGUEIRA, R. M. R.; FILIPPIS, A. M. B.; SZEJNFELD, J.; VOLOCH, C. M.; FERREIRA JR, O. C.; BRINDEIRO, R. M.; TANURI, A. T. Congenital Zika Virus Infection Beyond Neonatal Microcephaly. **Journal of the American Medical Association**, v. 73, n. 12, p. 1407-1416, 2016.

<https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2016.3720>

MENDES, A. G.; CAMPOS, D. S.; SILVA, L. B.; MOREIRA, M. E. L.; ARRUDA, L. O. Enfrentando uma nova realidade a partir da síndrome congênita do vírus zika: a perspectiva das famílias. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 25, n. 10, p. 3785-3794, 2020.

<https://doi.org/10.1590/1413-812320202510.00962019>

MENEZES, A. S. S.; ALVES, M. J. S.; GOMES, T. P.; PEREIRA, J. A. Microcefalia relacionada ao vírus Zika e dinâmica familiar: perspectiva da mãe. **Avances en Enfermería**, v. 37, n. 1, p. 38-46, 2019. <https://doi.org/10.15446/av.enferm.v37n1.72008>

MOCELIN, H. J. S.; FREITAS, P. S. S.; LAMONATO, L. C. X. L.; MASCARELLO, K. C.; MACIEL, E. L. N. Abordagem profissional em tempos de pandemia: o que aprendemos com o Zika vírus?. **Interface (Botucatu)**, v. 25, p. 1-16, 2021. <https://doi.org/10.1590/interface.200427>

MONTANARI, C. A.; BOLZANI, V. S. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. **Revista Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 105-111, 2001. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422001000100018>

MUEGGE, I.; HEALD, S. L.; BRITTELLI, D. Simple selection criteria for drug-like chemical matter. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, n. 12, p. 1841-1846, 2001. <https://doi.org/10.1021/jm015507e>

MUKHOPADHYAY, S.; KUHN, R. J.; ROSSMANN, M. G. A structural perspective of the flavivirus life cycle. **Nature Reviews**, v. 3, p. 13–22, 2005. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1067>

MUSSO, D.; GUBLER, D. J. Zika Virus. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 29, n. 3, p. 487–524, 2016. <https://doi.org/10.1128/CMR.00072-15>

NÓBREGA, M. E. B.; ARAÚJO, E. L. L.; WADA, M. Y.; LEITE, P. L.; DIMECH, G. S.; PÉRCIO, J. Surto de Síndrome de Guillain-Barré possivelmente relacionado à infecção prévia pelo vírus Zika, Região Metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil, 2015. **Revista Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v.27, n. 2, p. 1-12, 2018. <https://doi.org/10.5123/S1679-49742018000200016>

NOVAES, L. E. S.; PINHO, K. C. Q.; LIMA, C. C. C.; IMBIRIBA, M. M. B. G.; OLIVEIRA, R. S. R. Q.; SOARES, T. N.; GUIMARÃES, M. M. B.; BITTENCOURT, M. C.; RODRIGUES, G. K. S.; COSTA, K. T. Estudo relacionado ao Zika Vírus e a Microcefalia: evidências científicas. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, n. 38, p. 1-9, 2020. <https://doi.org/10.25248/reas.e1705.2020>

NOVAES, L. F. T. **Síntese total de diidropiran-2-onas naturais: tarchonantuslactona, criptolatifoliona, criptomoscatonas D1, D2 e E3**. 2015. 215 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Química, Instituto de Química, da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2015.

NUBBE. **Cryptomoscatone D1**; NuBBE. 2021. Disponível em: <https://nubbe.iq.unesp.br/portal/nubbe-search.html>. Acesso em 07 de outubro de 2021.

NURISSO, A.; BRAVO, J.; CARRUPT, P. A.; DAINA, A. Molecular *Docking* using the Molecular Lipophilicity Potential as Hydrophobic Descriptor: Impact on GOLD *Docking* Performance. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 52, p. 1–9, 2012.

<https://doi.org/10.1021/ci200515g>

O'BOYLE, N. M.; BANCK, M.; JAMES, C. A.; MORLEY, C.; VANDERMEERSCH, T.; HUTCHISON, G. R. Open Babel: An open chemical toolbox. **Journal of Cheminformatics**, v. 3, n. 33, p. 1- 14, 2011. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-3-33>

OLINDA, C. **Confira uma linha do tempo de como o zika vírus se espalha pelo mundo**; Gazeta do Povo. 2016. Disponível em: <https://www.gazetadopovo.com.br/vida-e-cidadania/confira-uma-linha-do-tempo-de-como-o-zika-virus-se-espalha-pelo-mundo-dg6484b8v0r7ajh150o2up8oz/>. Acesso em 03 de fevereiro de 2021.

OLIVEIRA, J. **Farmacocinética: absorção, distribuição e destino das drogas**; OdontoUp. 2021. Disponível em: <https://www.odontoup.com.br/farmacocinetica-absorcao-distribuicao-e-destino-das-drogas/>. Acesso em 07 de junho de 2021.

OLIVEIRA, R. D. **Resistência a múltiplos fármacos e interações medicamentosas mediadas pela glicoproteína P**. 2013. 41 f. Monografia – Curso de Farmácia, Faculdade de Ceilândia da Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

OPENEYE. **OECalculateETComboBelief**; OpenEye Scientific Software. 2021. Disponível em: <https://docs.eyesopen.com/toolkits/python/medchemtk/OEMedChemFunctions/OECalculateETCComboBelief.html>. Acesso em 09 de agosto de 2021.

OSDACH, T. P.; ANDREW, T. L.; BULOVIĆ, V. Effect of synthetic accessibility on the commercial viability of organic photovoltaics. **Energy & Environmental Science**, v. 6, n. 3, p. 711-718, 2013. <https://doi.org/10.1039/c3ee24138f>

PALMEIRA, J. T.; CRUZ, J. H. A.; OLIVEIRA, H. M. B. F.; GUÊNES, G. M. T.; MEDEIROS, C. I. S.; OLIVEIRA FILHO, A. A. Análise farmacológica e toxicológica *in silico* do ácido undecilênico aplicada a odontologia. **Jornal of Medicine and Health Promotion**, v. 4, n. 3, p. 1219-1230, 2019.

PANIAGO, I. **Prospecção Virtual de potenciais inibidores da proteína transportadora de serotonina sódio-dependente humana (SERT)**. 2018. 44 f. TCC (Graduação) - Curso de Biotecnologia, Instituto de Biotecnologia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019.

PARRA, B.; LIZARAZO, J.; JIMÉNEZ-ARANGO, J. A.; ZEA-VERA, A. F.; GONZÁLES-MANRIQUE, G.; VARGAS, J.; ANGARITA, J. A.; ZUÑIGA, G.; LOPEZ-GONZALEZ, R.; BELTRAN, C. L.; RIZCALA, K. H.; MORALES, M. T.; PACHECO, O.; OSPINA, M. L.; KUMAR, A.; CORNBLATH, D. R.; MUÑOZ, L. S.; OSORIO, L.; BARRERAS, P.; PARDO, C. A. Guillain-Barré Syndrome associated with Zika virus infection in Colombia. **The New England Journal of Medicine**, v. 375, n. 16, p. 1513-1523, 2016.

<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1605564>

PDB. **5LC0**: Crystal structure of Zika vírus NS2B-NS3 protease in complex with a boronate inhibitor, Protein Data Bank. 2016. Disponível em: <https://www.rcsb.org/structure/5LC0>. Acesso em 10 de maio de 2021.

PEREIRA, D. G. Importância do metabolismo no planejamento de fármacos. **Revista Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 171-177, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000100029>

PETERSEN, L. R.; JAMIESON, D. J.; POWERS, A. M.; HONEIN, M. A. Zika Virus. **The New England Journal of Medicine**, v. 374, n. 16, p. 1552-1563, 2016.

<https://doi.org/10.1056/NEJMra1602113>

PHOO, W. W.; LI, Y.; ZHANG, Z.; LEE, M. Y.; LOH, Y. R.; TAN, Y. B.; NG, E. Y.; LESCAR, J.; KANG, C.; LUO, D. Structure of the NS2B-NS3 protease from Zika virus after self-cleavage. **Nature Communications**, v. 7, p. 1–8, 2016. <https://doi.org/10.1038/ncomms13410>

PICCIRILLO, E.; AMARAL, A. T. Busca virtual de compostos bioativos: conceitos e aplicações. **Revista Química Nova**, v. 41, n. 6, p. 662-677, 2018. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170210>

PINHEIRO, P. **O que é Síndrome de Guillain-Barré?**; MD.Saúde. 2021. Disponível em: <https://www.mdsaude.com/neurologia/sindrome-de-guillain-barre/>. Acesso em 17 de maio de 2021.

PINHEIRO, Y. G. A.; MONTEIRO, A. G. R.; ABREU, F. R.; SOUZA, L. S.; MANDACARU, S. C. Eventos moleculares e fisiopatologia da infecção por Zika vírus. **Revista Ciências da Saúde e Educação**, v. 1, n. 2, p. 1-12, 2019.

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Revista Química Nova**, v. 25, n. 1, p. 45-61, 2002. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000800009>

PINTO JUNIOR, V. L.; LUZ, K.; PARREIRA, R.; FERRINHO, P. Zika virus: A review to clinicians. **Acta Médica Portuguesa**, v. 28, n. 6, p. 760-765, 2015. <https://doi.org/10.20344/amp.6929>

PINTO, P. D. B. **Anticoagulação Oral**: foco nos novos anticoagulantes orais. 2016. 71 f. Relatório (Mestrado) – Curso de Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências da Saúde, da Universidade da Beira Interior, Covilhã, 2016.

PIQUEIRA, J. Biomatemática: métodos e limitações. **Trans/Form/Ação**, v. 19, p. 141–149, 1996. <https://doi.org/10.1590/S0101-31731996000100009>

RANG, H. P.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J.; HENDERSON, G. **Rang & Dale: Farmacologia**. 8ª edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

RAYMER, B.; BHATTACHARYA, S. K. Lead-like Drugs: A Perspective. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 14, p. 1-10, 2018.

REAL, I. M. R. S. **A importância dos parâmetros farmacocinéticos na terapêutica individualizada**. 2016. 71 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Ciências Farmacêuticas, Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, Almada, 2016.

ROCHA, B. K. **Virtual Screening e Dinâmica Molecular para identificação de inibidores da enzima corismato sintase de *Mycobacterium tuberculosis***. 2011. 123 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Biologia Molecular e Celular, Faculdade de Biociências, da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

RODRIGUES, L. Forças intermoleculares; Química Suprema. 2013. Disponível em: <https://www.quimicasuprema.com/2013/10/forcas-intermoleculares.html>. Acesso em 15 de agosto de 2021.

RODRIGUES, R. P.; MANTOANI, S. P.; ALMEIDA, J. R.; PINSETTA, F. R.; SEMIGHINI, E. P.; SILVA, V. B.; SILVA, C. H. P. Estratégias de triagem virtual no planejamento de fármacos.

Revista Virtual de Química, v. 4, n. 6, p. 739-776, 2012. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20120055>

RUSCIN, J. M.; LINNEBUR, S. A. **Farmacocinética no envelhecimento**; Manual MSD. 2018. Disponível em: <https://www.msmanuals.com/pt-br/profissional/geriatria/terapia-medicamentosa-em-idosos/farmacocinética-no-envelhecimento>. Acesso em 07 de junho de 2021.

SAHOO, M.; JENA, L.; DAF, S.; KUMAR, S. Virtual Screening for Potential Inhibitors of NS3 Protein of Zika Virus. **Genomics & Informatics**, v. 14, n. 3, p. 104-111, 2016. <https://doi.org/10.5808/GI.2016.14.3.104>

SALDÍVAR-GONZÁLEZ, F.; VALLI, M.; DEFINI, A.; BOLZANI, V. S.; MEDINA-FRANCO, J. L. Chemical Space and Diversity of NuBBE Database: A Chemoinformatic Characterization **Journal of Chemical Information and Modeling**, p. 1–28, 2018. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.8b00619>

SALINAS, J. L.; WALTEROS, D. M.; STYCZYNSKI, A.; GARZÓN, F.; QUIJADA, H.; BRAVO, E.; CHAPARRO, P. C.; MADERO, J. ACOSTA-REYES, J.; LEDERMANN, J.; ARTETA, Z.; BORLAND, E.; BURNS, P.; GONZALES, M.; POWERS, A. M.; MERCADO, M.; SOLANO, A.; SEJVAR, J. J.; OSPINA, M. L. Zika virus disease-associated Guillain-Barré Syndrome – Barranquilla, Colombia 2015-2016. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 381, n. 15, p. 272-277, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2017.09.001>

SALVADOR, M. B. **Estudos visando a elucidação estrutural de uma diidro-2H-piranona natural**. 2007. 122 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Química, Instituto de Química, da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

SANDER, T.; FREYS, J.; KORF, M.; REICH, J. R.; RUFENER, C. OSIRIS, an Entirely in-House Developed Drug Discovery Informatics System. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 49, p. 232–246, 2009. <https://doi.org/10.1021/ci800305f>

SANDER, T.; FREYSS, J., KORFF, M., RUFENER, C. DataWarrior: An Open-Source Program For Chemistry Aware Data Visualization And Analysis. **Journal of Chemical Information and Modeling**, p. 1–14, 2014.

SANTOS, J. R. P. **Evolução histórica da química medicinal**: uma abordagem teórica. 2012. 46 f. Monografia (Graduação) – Curso de Farmácia, Faculdade de Educação e Meio Ambiente, Ariquemes, 2012.

SANTOS, R. C.; DANIEL, I. C.; PRÓSPERO, D. F. A.; COSTA, C. L. S. Modificação molecular incremental: análise de parâmetros físico-químicos, farmacocinéticos e toxicológicos *in silico* de fármacos inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRSs). **Boletim Informativo Geum**, v. 9, n. 2, p. 31-38, 2018.

SANTOS, V. L. A.; GONSALVES, A. A.; ARAÚJO, C. R. M. Abordagem didática para o desenvolvimento de moléculas bioativas: regra dos cinco de Lipinski e preparação de heterociclo 1,3,4-oxadiazol em forno de micro-ondas doméstico. **Revista Química Nova**, v. 41, n. 1, p. 110-115, 2018. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170135>

SESA. **Mosquito *Aedes aegypti***; Secretaria de Estado da Saúde. 2021. Disponível em: <https://mosquito.saude.es.gov.br/aedes-aedypti>. Acesso em 10 de maio de 2021.

SILVA, G. C. **Estratégias em reposicionamento de fármacos**. 2015. 76 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Curso de Farmácia, Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

SILVA, T. F. Abordagens da química medicinal para o planejamento de protótipos de fármacos. **Revista Virtual de Química**, v. 5., n. 5, p. 921-933, 2013. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20130066>

SHAFFER, C. S. O teste de Ames; News Medical. 2019. Disponível em: [https://www.news-medical.net/life-sciences/The-Ames-Test-\(Portuguese\).aspx](https://www.news-medical.net/life-sciences/The-Ames-Test-(Portuguese).aspx). Acesso em 15 de agosto de 2021.

SHARMA, T.; ABOHASHRH, M.; BAIG, M. H.; DONG, J-J.; ALAM, M. M.; AHMAD, I.; IRFAN, S. Screening of drug databank against WT and mutant main protease of SARS-CoV-2: Towards finding potential compound for repurposing against COVID-19. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, p. 3152–3159, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.02.059>

SHARP, T. M.; FISCHER, M.; MUÑOZ-JORDÁN, PAZ-BAILEZ, G.; STABLES, J. E. Dengue and Zika Virus Diagnostic Testing for Patients with a Clinically Compatible Illness and Risk for

Infection with Both Viruses. **U.S. Department of Health and Human Services**, v. 68, n. 1, 2019. <https://doi.org/10.15585/mmwr.rr6801a1>

SHIRYAEV, S. A.; FARHY, C.; PINTO, A.; HUANG, C. T.; SIMONETTI, N.; NGONO, A. E.; DEWING, A.; SHRESTA, S.; PINKERTON, A. B.; CIEPLAK, P. STRONGIN, A. Y.; TERSKIKH, A. V. Characterization of the Zika virus two-component NS2B-NS3 protease and structure-assisted identification of allosteric small-molecule antagonists. **Antiviral Research**, p. 218–229, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2017.04.015>

SHOICHET, B.; MCGOVEN, S.L.; WEI, B.; IRWIN, J. J. Lead discovery using molecular *docking*. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 6, p. 439–446, 2002. [https://doi.org/10.1016/S1367-5931\(02\)00339-3](https://doi.org/10.1016/S1367-5931(02)00339-3)

SILVA, H. **Triagem virtual de compostos provenientes de plantas da biodiversidade brasileira, com potencial atividade inibitória das enzimas alfa-amilase, alfa-glicosidase humanas**. 2017. 33 f. TCC (Graduação) - Curso de Biotecnologia, Instituto de Biotecnologia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017.

SILVA, J. R. **Pesquisa de infecções por Flavivírus da encefalite de Saint Louis, Rocio e Oeste do Nilo em cavalos, por inquérito sorológico e isolamento viral Pesquisa de infecções por Flavivírus da encefalite de Saint Louis, Rocio e Oeste do Nilo em cavalos, por inquérito sorológico e isolamento viral**. 2010. 149 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

SOARES, A.; SANTOS, F. R.; MELO, L. M.; NEGREIROS, N. F.; SILVA, A. C. R. A. Associação do Zika Vírus com os casos de microcefalia no Brasil. **Revista Eletrônica do Centro Universitário Católico Salesiano Auxilium**, n. 4, 2019.

SOUZA, A. S. **Estudos em quimioinformática baseados na estrutura do ligante e do receptor de candidatos a agentes antichagásicos**. 2019. 198 f. Tese (Doutorado) – Curso de Ciências, Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2019.

STIERAND, K.; RAREY, K. Drawing the PDB: Protein-Ligand Complexes in Two Dimensions. **ACS Medical Chemistry Letters**, v. 1, p. 540–545, 2010. <https://doi.org/10.1021/ml100164p>

SWISSADME. **Frequently Asked Questions**: General, scientific and technical questions; Swiss Institute of Bioinformatics. 2021. Disponível em: www.swissadme.ch/faq.php. Acesso em **13 de Junho de 2021**.

TAVARES, F. M. **Estudos *in silico* aplicados na busca de Inibidores da tirosina quinase para o tratamento de tumores do estroma gastrointestinal (GIST)**. 2020. 40 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Ciências da Saúde, Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, 2020.

TEIXEIRA, G. A.; DANTAS, D. N. A.; CARVALHO, G. A. F. L., SILVA, A. N.; LIRA, A. L. B. C.; ENDERS, B. C. Análise do conceito síndrome congênita pelo Zika vírus. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 25, n. 2, p. 567–574, 2020. <https://doi.org/10.1590/1413-81232020252.30002017>

THOMÉ, M. P. **Atividade antiviral e antitumoral do Dipiridamol: uma abordagem de reposicionamento de fármaco**. 2019. 129 f. Tese (Doutorado) – Curso de Biologia Celular e Molecular, Centro de Biotecnologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2019.

TOBIAS, T. **Guillain Barre Syndrome**: Can exercise delay recovery?; Orlando Neuro Therapy. 2018. Disponível em: <https://orlandoneurotherapy.com/guillain-barre-syndrome/guillain-barre-syndrome-exercise/>. Acesso em 17 de maio de 2021.

TORRES, P. H. M.; SODERO, A. C. R.; JOFILY, P.; SILVA-JR, F. P. Key Topics in Molecular *Docking* for Drug Design. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, p. 1–29, 2019. <https://doi.org/10.3390/ijms20184574>

TREWIN, B. J. **Assessing the risk of establishment by the dengue vector, *Aedes aegypti* (L.)(Diptera: Culicidae), through rainwater tanks in Queensland: back to the future**. 2017. 273 f. Tese (Doutorado) - Curso de Filosofia, Escola de Ciências Biológicas, Universidade de Queensland, Brisbane, 2017.

UNTERTHINER, T.; MAYR, A.; KLAMBAUER, G.; HOCHREITER, S. Toxicity Prediction using Deep Learning. **ArXiv preprint arXiv**, 2015.

VALE, C. D. P. **Relatório de Estágio Curricular em Farmácia Comunitária e Monografia intitulada “Velhas terapêuticas para novas aplicações: o reposicionamento de fármacos como estratégias de desenvolvimento”**. 2019. 56 f. Relatório e Monografia (Mestrado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, Coimbra, 2019.

VASCONCELOS, P. F. C. Doença pelo vírus Zika: um novo problema emergente nas Américas? **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 6, n. 2, p. 9–10, 2015. <https://doi.org/10.5123/S2176-62232015000200001>

VEBER, D. F.; JOHNSON, S. R.; CHENG, H-Y.; SMITH, B. R.; WARD, K. W.; KOPPLE, K. D. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 12, p. 2615-2623, 2002. <https://doi.org/10.1021/jm020017n>

VENHORST, J.; NÚÑEZ, S.; TERPSTRA, J. W.; KRUSE, C. G. Assessment of Scaffold Hopping Efficiency by Use of Molecular Interaction Fingerprin. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 51, p. 3222–3229, 2008. <https://doi.org/10.1021/jm8001058>

VERDONK, M. L.; COLE, J. C.; HARTSHORN, M. J.; MURRAY, C. W.; TAYLOR, R. D. Improved Protein – Ligand *Docking* Using GOLD. **PROTEINS, Structure, Function, and Genetics**, v. 52, p. 609–623, 2003. <https://doi.org/10.1002/prot.10465>

VERLI, H.; BARREIRO, E. J. Um paradigma da química medicinal: a flexibilidade dos ligantes e receptores. **Revista Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 95-102, 2005. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000100018>

VIEGAS JR., C.; NICASTRO, P. C.; FOSSALUZZA, P. C.; GOMES, C. P.; SANTOS, L. A.; BOLZANI, V. S.; PIVATTO, M.; DA SILVA, D. J. C.; MELO, G. M. A.; DA SILVA, Y. K. C.; ALEXANDRE-MOREIRA, M. S.; DA COSTA, R. S.; AREAS, T. F. M.; CASTRO, N. G. Modificações Estruturais na (-)-Cassina e LASSBio-767: Estratégias para a Descoberta e Otimização de Novos Candidatos a Fármacos. **Revista Virtual de Química**, v. 1, n. 2, p. 117-127, 2009. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20090014>

VILLALBA, M. A. **Reposicionamento de fármacos para tratamento de doenças infecciosas bacteriana**. 2015. 40 f. Monografia (Especialização) – Curso de Farmacologia, Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.

VIRALZONE. **Zika vírus**, Swiss Institute of Bioinformatics. 2016. Disponível em:

<https://viralzone.expasy.org/6756>. Acesso em 10 de maio de 2021.

VORŠILÁK, M.; KOLÁR, M.; ČMELO, I.; SVOZIL, D. SYBA: Bayesian estimation of synthetic accessibility of organic compounds. **Journal of Cheminformatics**, v. 12, n. 35, p. 1-13, 2020. <https://doi.org/10.1186/s13321-020-00439-2>

WALLACE, A. C.; LASKOWSKI, R. A.; THORNTON, J. M. LIGPLOT: a program to generate schematic diagrams of protein-ligand interactions. **Protein Engineering, Design and Selection**, v. 8, n. 2, p. 127–134, 1995. <https://doi.org/10.1093/protein/8.2.127>

WARNER, W. A.; SANCHEZ, R.; DAWOODIAN, A.; LI, E.; MOMAND, J. Identification of FDA-approved Drugs that Computationally Bind to MDM2. **Chemical Biology & Drug Design**, v. 80, p. 631-637, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0285.2012.01428.x>

WATRIN, L.; GHAWCHÉ, F.; LARRE, P.; NEAU, J-P.; MATHIS, S.; FOURNIER, E. Guillain-Barré Syndrome (42 cases) occurring during a Zika virus outbreak in French Polynesia. **Medicine**, v. 95, n. 14, p. 1-8, 2016. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000003257>

WIKIPÉDIA. *Aedes aegypti*; Wikipédia. 2021. Disponível em:

https://pt.wikipedia.org/wiki/Aedes_aegypti. Acesso em 10 de maio de 2021.

WIKIPÉDIA. **Glicoproteína-P**; Wikipédia. 2020. Disponível em:

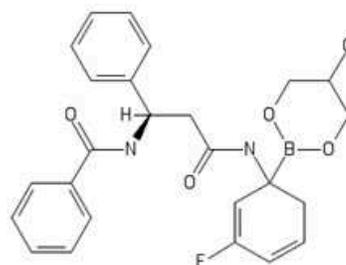
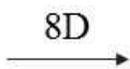
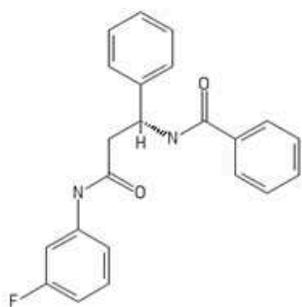
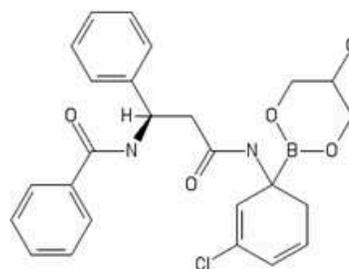
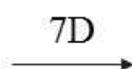
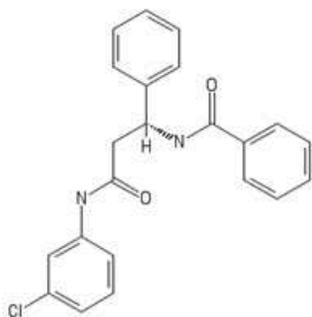
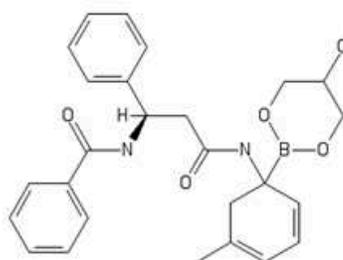
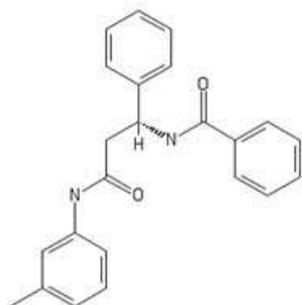
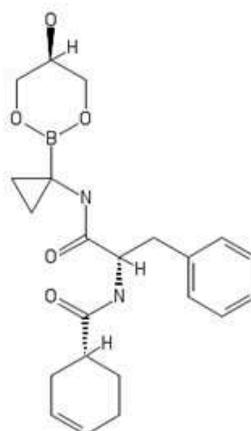
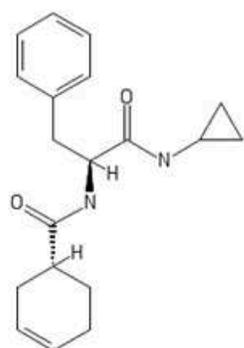
<https://pt.wikipedia.org/wiki/Glicoproteína-P#:~:text=A%20glicoproteína-P%20%28gpP%29%20é%20uma%20proteína%20expressa%20na,o%20tratamento%20de%20alguns%20tipos%20de%20tumores%20.> Acesso em 13 de Junho de 2021.

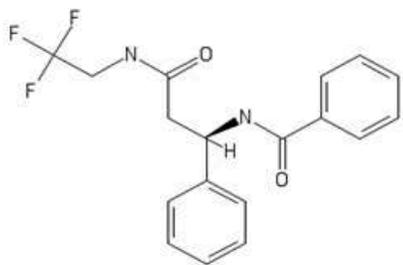
YURIEV, E.; RAMSLAND, P. A. Latest developments in molecular *docking*: 2010-2011 in review. **Journal of Molecular Recognition**, v. 26, n. 5, p. 215-239, 2013.

<https://doi.org/10.1002/jmr.2266>

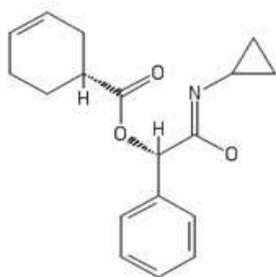
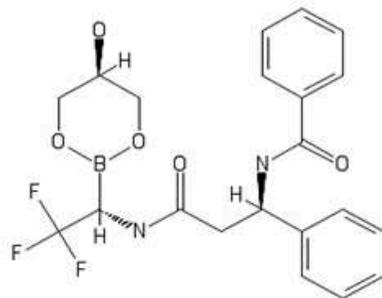
ZIMMERMANN, E. S. **Modelagem Farmacocinética Populacional na Avaliação do Papel da Glicoproteína-P na Penetração Tecidual de Fluoroquinolonas**. 2015. 75 f. Tese (Doutorado) – Curso de Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

ANEXO I

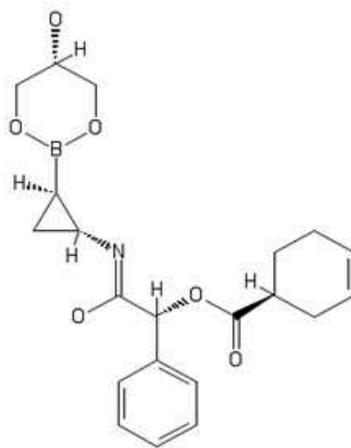




9D



10D



ANEXO II

