



**UNIVERSIDADE DA INTEGRAÇÃO INTERNACIONAL DA LUSOFONIA AFRO-
BRASILEIRA**

PRO-REITORIA DE GRADUAÇÃO (PROGRAD)

INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA – ICEN

CURSO DE LICENCIATURA PLENA EM QUÍMICA – LPQ

EDUARDO MENEZES GAIETA

**Abordagem combinada de docking e dinâmica molecular para triagem virtual de
potenciais inibidores do Glicoproteína do Ebolavirus**

REDENÇÃO

2022

EDUARDO MENEZES GAIETA

Abordagem combinada de docking e dinâmica molecular para triagem virtual de potenciais inibidores do Glicoproteína do Ebolavirus

Monografia apresentada ao Curso de Licenciatura plena em Química do Instituto de Ciências Exatas e da Natureza da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, como requisito parcial para obtenção do título de Graduado em Licenciatura plena em Química.

Orientador: Prof. Dr. Aluísio Marques da Fonseca

Coorientador: Neidelenio Baltazar Soares

REDENÇÃO

2022

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
Sistema de Bibliotecas da UNILAB
Catalogação de Publicação na Fonte.

Gaieta, Eduardo Menezes.

G133a

Abordagem combinada de docking e dinâmica molecular para triagem virtual de potenciais inibidores do glicoproteína do ebolavirus / Eduardo Menezes Gaieta. - Redenção, 2022.
53f: il.

Monografia - Curso de Química, Instituto de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Redenção, 2022.

Orientador: Prof. Dr. Aluísio Marques da Fonseca.
Coorientador: Prof. Neidelenio Baltazar Soares.

1. Ebola (Vírus). 2. Inibidores químicos. 3. Dinâmica molecular. I. Título

CE/UF/BSP

CDD 540

UNIVERSIDADE DA INTEGRAÇÃO INTERNACIONAL DA LUSOFONIA AFRO-
BRASILEIRA

EDUARDO MENEZES GAIETA

**Abordagem combinada de docking e dinâmica molecular para triagem virtual de
potenciais inibidores do Glicoproteína do Ebolavirus**

Monografia julgada e aprovada para obtenção do título de Graduado em Licenciatura
plena em Química pela Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-
Brasileira (UNILAB).

Data: ____/____/____

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Aluísio Marques da Fonseca (Orientador)

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira

Prof. Dr. Emmanuel Silva Marinho (avaliador)

Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Mauro Macedo de Oliveira (Avaliador)

Centro Universitário Paraíso

REDENÇÃO

2022

DEDICO

Primeiramente a Ele DEUS. À toda minha família. E em especial ao meu Pai, irmão e amigo, David Roque Gaieta, que nesse momento olhando por mim do céu. (*In memoriam*).

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por toda luz desde o meu primeiro minuto de vida até aqui e mais além. E por garantir saúde e uma família a quem se apoiar. Aos meus amados pais Eleazar Roque e Tunixina Bumbila, palavras não chegam para agradecer e mensurar o que têm feito por mim, tudo que sou hoje devo a vocês. E eu serei eternamente grato por tudo.

A Mãe Palmira por ser nossa Mãe, a matriz da nossa família, a sua determinação transbordou até seus filhos e netos e continuará até ELE permitir. Eu agradeço por tudo Mãe. Aos meus queridos irmãos Rodesio, Flávia, Fofa, Eunice, e Jurema, que por meio com mensagens e ligações sempre me apoiarem e incentivarem nesta jornada obrigado pelo apoio.

A Tia Sara, Tia Joia, Tia Ruth, Tia Marisa, Tio Wagner, Mana Giza, essa caminhada não seria a mesma se vocês não estivessem sempre aqui para mim, eu agradeço por todas coisas que têm feito por mim. Ao meu querido amigo, irmão, Pai, DJ Gai, David Gaieta acredito fortemente que estas olhando de cima e se sentindo orgulhoso do homem que tenho me tornado, serei eternamente grato por tudo que fizeste pela nossa família,

Aos meus familiares próximos e distantes, que nunca esqueceram de entrar em contato durante essa trajetória para demonstrar carinho e apoio, eu agradeço por tudo.

Aos meus queridos amigos e irmãos em todos os momentos como: Wilker Nsamo, Edmilson Mota, Jany Jovete, Laurindo Canga, Magnusson Hucata, Ariclenes Eduardo, Júnior Inácio, Benvindo Timoteo, Vanuza Malungo, Augusto Panzo, Moniz Neves, Neidilenio Soares, Emanuel Cipriano, Nurio Manuel, Luíser Focola, Bento Mateus, Nelson Mendes, Hadil Almeida, a Kassia Leal, aos companheiros da sem rotina do IMPG, e o manos da BZ, os amigos que a UNILAB me deu, Obrigado por permitirem a nossa amizade e com certeza vocês fazem parte dessa caminhada.

Aos meus amigos e companheiros da entrada 2017.1, vocês tornaram essa jornada mais agradável, muito obrigado! Aos meus companheiros da “Parada Química”, obrigado pelos sorrisos e ensinamentos.

Ao Grupo de Pesquisa Interdisciplinar em Química (GIQ), obrigado por me receberem, pela prestatividade, e sobretudo por me terem permitido aprender com vocês.

Ao meu professor e orientador a quem tenho como mestre, Dr. Aluísio Marques Fonseca pela oportunidade de ser membro do GIQ e deixar eu ser seu discípulo, pelos ensinamentos e pela disponibilidade de sempre querer me ajudar a me tornar melhor. O senhor é uma inspiração, muito obrigado.

Aos professores do Instituto de Ciências Exatas e da Natureza (ICEN), que contribuíram ricamente na minha formação e que sempre aconselharam e mostraram o caminho certo a seguir, obrigado.

Aos professores membros da banca que aceitaram participar da avaliação desse trabalho eu agradeço do fundo do coração.

E finalmente, sou grato a mim, por chegar até aqui e não desistir, por sempre buscar excelência nas coisas que faço e manter o foco. Por me esforçar a ser uma pessoa e um estudante melhor todos os dias, mesmo até nos momentos difíceis.

“Eu vos amo mais do que vocês pensam”.

***David Roque
Gaieta.***

RESUMO

A doença do vírus do ebola é bastante preocupante devido a sua alta taxa de letalidade que chega até ao 90%. Foi estimado que até então já provocou mais de 15.000 mortes em todo mundo. Para frear esta doença, vacinas e medicamentos têm sido desenvolvidos com este propósito, mas ainda assim a doença do vírus do ebola não tem cura, o que tem estimulado a investigação de várias estratégias terapêuticas diferentes que tem como alvo específico as estruturas e mecanismos virais do vírus Ebola. Nesta senda, por meio do planejamento de fármacos auxiliado por computador este trabalho buscou identificar pequenas moléculas com capacidade inibir a Glicoproteína do Ebolavirus. No total foram identificadas 73 estruturas antivirais contra o ebola na plataforma ZINC15, e por meio do programa Molegro Virtual Docker os ligantes foram docados com a estrutura cristalina da glicoproteína do EBOV obtida na plataforma PDB (código: 5JQ7). As poses obtidas com o MolDock Score ≤ -100 foram submetidas a regra dos cinco de Lipinski e excluídas aquelas que violaram 2 ou mais das regras de Lipinski. No final, os 6 melhores ligantes tiveram as suas propriedades farmacocinéticas preditas pela plataforma ADMETlab e comparadas com as informações disponíveis no DrugBank. Quando analisadas as poses geradas apenas o ZINC3833846 teve melhor Moldock Score em relação ao ligante nativo, mas por outro lado, os seis ligantes tiveram melhores valores de energia de ligação de hidrogênio em relação ao ligante nativo. O ligante ZINC4016718 foi o único ligante que teve 4 interações de hidrogênio. Com exceção do ZINC2033588 que teve o RMSD de 2,09 Å todos os restantes obtiveram um valor de RMSD abaixo de 2 Å. Por fim, com as simulações de dinâmica molecular do NAMD, foi possível observar uma estabilidade maior do ligante nativo Toremifeno, e logo em seguida o composto ZINC4016718, na qual observou-se também as quatro ligações de hidrogênio formadas por este ligante durante a trajetória da simulação.

Palavras Chaves: vírus do ebola. Docking molecular. Dinâmica molecular. Triagem Virtual.

ABSTRACT

Ebola virus disease is of great concern due to its high fatality rate, which reaches up to 90%. It has been estimated that by then it has caused more than 15,000 deaths worldwide. To stop this disease, vaccines and drugs have been developed for this purpose, but still the Ebola virus disease has no cure, which has stimulated the investigation of several different therapeutic strategies that specifically target viral structures and mechanisms of the Ebola virus. In this way, through computer-aided drug design, this work sought to identify small molecules capable of inhibiting the Ebolavirus Glycoprotein. In total, 73 antiviral structures against Ebola were identified on the ZINC15 platform, and using the Molegro Virtual Docker program, the ligands were docked with the crystalline structure of the EBOV glycoprotein obtained on the PDB platform (code: 5JQ7). The poses obtained with MolDock Score ≤ -100 were submitted to Lipinski's rule of five and those that violated 2 or more of Lipinski's rules were excluded. In the end, the 6 best ligands had their pharmacokinetic properties predicted by the ADMETlab platform and compared with the information available on DrugBank. When analyzing the generated poses, only ZINC3833846 had better Moldock Score than the native ligand, but on the other hand, the six ligands had better values of hydrogen bond energy than the native ligand. The ligand ZINC4016718 was the only ligand that had 4 hydrogen interactions. With the exception of ZINC2033588 which had an RMSD of 2.09 Å, all others had an RMSD value below 2 Å. Finally, with the molecular dynamics simulations of NAMD, it was possible to observe a greater stability of the native ligand Toremifene, and soon after the compound ZINC4016718, in which the four hydrogen bonds formed by this ligand during the trajectory of the simulation.

Key Words: Ebola virus. Molecular docking. Molecular dynamics. Virtual Screening.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Estrutura 3D cristalina da glicoproteína do EBOV. O esqueleto é mostrado como fitas. Em azul a GP2. Em vermelho a GP1. Em destaque em cor amarela, os resíduos do sítio ativo que fazem interação predominante com o ligante nativo, identificadas pelas respectivas cadeias (A ou B) e a sua numeração. 20
- Figura 2.** Visão geral do CADD..... 21
- Figura 3.** Métodos que podem ser empregados em um projeto de design de drogas. ... 22
- Figura 4.** Representação em 3D da formação do complexo proteína-ligante pelo docking molecular. Em violeta esta representada a macromolécula da estrutura alvo (proteína ou enzima) e em amarelo o ligante (pequena molécula)...... 24
- Figura 5.** Detalhes do sítio de ligação do inibidor da GP. O esqueleto é mostrado como fitas, com GP1 em roxo e GP2 em vinho tinto. Os ligantes, incluindo o nativo (verde), foram destacados por uma superfície cinza desfocada e distinguidos por diferentes cores..... 37
- Figura 6.** Visualização 2D entre as interações dos melhores ligantes com os resíduos de aminoácidos da GP do EBOV. a)- Toremifeno; b)- ZINC3833846; c)- ZINC4016718; d)- ZINC602632; e)- ZINC8552019; f)- ZINC2033588; g)- ZINC2566164..... 38
- Figura 7.** Ligações de hidrogênio do ZINC3833846 por 25ns na produção. 42
- Figura 8.** Ligações de hidrogênio do ZINC4016718 por 25ns na produção. 43
- Figura 9.** Análise de RMSD dos três ligantes..... 44

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Resultado do docking e do redocking (toremifene)..... 33
- Tabela 2.** Nesta tabela, o ligante nativo e as poses com MolDock Score ≤ -100 submetidos a regra dos 5 de Lipinski. PM – Peso Molecular; HBDs - hydrogen bond donors; hydrogen bond acceptors -HBAs; Lig. Rot. - ligações rotacionáveis; PSA - Área de superfície polar; VL – violações..... 34
- Tabela 3.** Comparação dos valores de MolDock Score (kcal/mol), Ligação Hidrogênio (kcal/mol) e RMSD (Å) entre as melhores poses e o ligante nativo. 36
- Tabela 4.** Interação das melhores poses de cada ligante com os resíduos do sítio ativo da glicoproteína da EBOV, e suas respectivas distâncias em angstrom (Å). 39

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Å	Angstrom
%	Porcentagem
2d	Duas Dimensões
3d	Três Dimensões
Asp	Aspartato
Asn	Asparagina
ARG	Arginina
ALA	Alanina
ADME-T	Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção E Toxicidade
AIH	Absorção Intestinal Humana
BHE	Barreira Hematoencefálica
BEBOV	Bundibugyo Ebolavirus
CIEBOV	Ebolavírus Da Costa Do Marfim
CADD	Planejamento De Fármacos Auxiliado Por Computador
CACO-2	Celular De Adenocarcinoma De Cólon Humano
CYP450	Citocromos P450
DVE	Doença Do Vírus Do Ebola
DDMR	Dose Diária Máxima Recomendada
EBOV	Vírus Do Ebola
ED	Evolução Diferencial
FDA	Food And Drug Administration
GLN	Glutamina
GLY	Glicina
gp-P	Glicoproteína-P
GLU	Glutamato
GI	Gastrointestinal
GP	Glicoproteína
HBDS	Doadores De Ligação De Hidrogênio

HBAS	Aceitadores De Ligação De Hidrogênio
HTS	Triagem De Alto Rendimento
IUPAC	International Union Of Pure And Applied Chemistry
ILE	Isoleucina
LBDD	Planejamento Baseado Na Estrutura Do Ligante
LBVS	Vs Baseada Em Ligante
LYS	Lisina
LHID	Lesão Hepática Induzida Por Drogas
LD50	Toxicidade Aguda Oral Em Ratos
LEU	Leucina
MW	Peso Molecular
M	Massa Do Solute, Em Gramas
MM	Modelagem Molecular
MLD	Domínio Semelhante A Mucina
MVD	Molegro Virtual Docker
MET	Metionina
NVT	Temperatura Constante
NP	Nucleoproteína
PLP	Piecewise Linear Potential
PRO	Prolina
PDB	Protein Data Bank
P&D	Pesquisa E Desenvolvimento
PSA	Área De Superfície Polar
RMSD	Desvio Quadrado Médio
REBOV	Reston Ebolavirus
RNA	Ácido Ribonucleico
RBD	Domínio De Ligação Ao Receptor
SBDD	Planejamento Baseado Na Estrutura Do Receptor
SEBOV	Sudan Ebolavirus
SBVS	Vs Baseada Em Estrutura

THR	Treonina
T $\frac{1}{2}$	Meia Vida
TYR	Tirosina
UFC	Universidade Federal Do Ceará
UNILAB	Universidade Da Integração Internacional Da Lusofonia Afro-Brasileira
VP	Proteína Viral Matriz
VS	Triagem Virtual
VMD	Visual Molecular Dynamics
VL	Violações.
VD	Distribuição De Volume
VAL	Valina
ZEBOV	Zaire Ebolavirus

Sumário

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	16
2.1. Ebola	16
2.2. Modelagem Molecular	20
2.2.1. Triagem Virtual De Compostos	23
2.2.2. Docking Molecular.....	24
2.2.3. Dinâmica Molecular	25
2.2.4. Regra dos 5 de Lipinski e ADME-T	26
3. OBJETIVO.....	28
3.1. Objetivo específico.....	29
4. METODOLOGIA	29
4.1. Obtenção e preparação do receptor e identificação do sítio de ligação.....	29
4.2. Obtenção dos ligantes e preparação dos ligantes.	29
4.3. Docking molecular	30
4.3.1. Algoritmos de pesquisa de encaixe do MVD e funções de pontuação.....	30
4.3.2. Definição dos parâmetros para o Docking.	31
4.3.3. RMSD	31
4.4. Dinâmica Molecular.....	31
4.5. Predições das propriedades farmacocinéticas e semelhança com droga dos ligantes .	32
5. RESULTADO E DISCUSSÃO	33
5.1. Docking molecular e ADMET	33
5.2. Dinâmica molecular	42
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	45
REFERÊNCIAS	47

1. INTRODUÇÃO

Desde o seu aparecimento, o ebola vem preocupando as unidades de saúde em todo mundo, isso porque a sua taxa de letalidade é bastante alta. O ebola é uma doença provocada pelo ebolavirus, pertencente à família Filoviridae que é bastante frequente nos países da África. Ela é transmitida através do contato direto com tecidos infectados, fluidos corporais de humanos ou animais infectados ou fômites contaminados (JACOB et al., 2020).

Na última década a África foi abalada por vários surtos recorrentes da doença do vírus do ebola (DVE) que causou mais de 9.000 mortes em todo mundo. Esse surto deixou evidente que em um contexto de infraestrutura pública com poucos recursos, pode ocorrer uma rápida transição do vírus das vilas rurais afetadas para as áreas urbanas das maiores cidades (KAWUKI; MUSA; YU, 2021; MALVY et al., 2019).

Entre os sintomas da DVE estão: febre alta, dor de cabeça, fraqueza, dor de estômago, falta de apetite e outros. Testes de sangue e tecidos são usados para poder diagnosticar a Ebola (ORGANIZATION, 2021).

A ebola não tem cura, este surto tem estimulado a investigação de várias estratégias terapêuticas diferentes que tem como alvo específico as estruturas e mecanismos virais do vírus Ebola. Até então, existem dois tratamentos medicamentosos que foram aprovados para a DVE: O Inmazeb, uma mistura de três anticorpos monoclonais (atoltivimab, maftivimab e odesivimab-ebgn) e Ansumvimab-zykl (Ebanga) um anticorpo monoclonal (DERSARKISSIAN, 2021). Há vacinas para prevenção do ebola, como por exemplo: Zabdena aprovado em 2020, que é apenas para o Zaire ebola vírus (KILGORE et al., 2015; PISZCZATOSKI; GUMS, 2020).

A busca de novos agentes terapêuticos para combatê-la é incessante. Dessa forma, com o intuito de dar continuidade a busca de novos agentes terapêuticos para a DEV por meio de um estudo *in silico* destacadamente a metodologia de planejamento de fármacos auxiliado por computador, esta pesquisa concentrou-se na identificação de pequenas moléculas com características de inibição para a glicoproteína da doença do vírus ebola.

Para a identificação destas pequenas moléculas foram usadas técnicas de triagem computacional como o dockin, simulação de dinâmica molecular e estudo de predição das propriedades farmacocinéticas (ADMET).

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Ebola

Os primeiros casos da doença do vírus do ebola foram reportados pela primeira vez em 1976. Um caso em Nzara, uma cidade do Sudão, e o outro em uma vila chamada Yambuku, perto do rio Ebola (que deu origem ao nome do vírus), no antigo Zaire, agora conhecido como República Democrática do Congo, chamando assim atenção da comunidade médica devido ao surto de febre hemorrágica detectada em pacientes infectados (BASELER et al., 2017; EMOND et al., 1977).

O maior surto do vírus do ebola aconteceu no período de 2014 a 2016 no continente africano, propriamente nos países Guiné, Libéria e Serra Leoa, foram mais de 28.600 casos e mais de 11.300 mortes. Houve mais casos e mortes neste surto do que nos outros todos combinados. O segundo maior surto também aconteceu no África, especificamente na República Democrática do Congo, no intervalo de 2018-2020 e teve 3.481 casos e 2.299 mortes. Segundo a Organização da Mundial da Saúde (OMS) até então o vírus do ebola já causou mais de 34.000 casos e 15.000 mortes em todo mundo (OMS, 2021).

Acredita-se que os morcegos frugívoros da família *Pteropodidae* sejam hospedeiros naturais do vírus do ebola (EBOV). O ebola chega até a população humana por meio do contato próximo com o sangue, secreções, órgãos ou outros fluidos corporais de animais infectados, como morcegos frugívoros, chimpanzés, gorilas, macacos, antílopes da floresta ou porcos-espinhos encontrados doentes ou mortos, ou na floresta tropical. No entanto, as potenciais rotas de transmissão do EBOV entre humanos são provocados pelo contato direto com uma variedade de fluidos corporais, incluindo saliva, sangue, vômito, leite materno, fezes e sêmen. Esses fluidos infecciosos também podem ser formados em aerossóis e potencialmente infectar outras pessoas. EBOV também foi detectado em sangue seco e persiste em superfícies, portanto, é possível a transmissão por fômites. Um exemplo, são os profissionais de saúde que tratam de pacientes com suspeita ou confirmação de DVE são frequentemente infectados durante o tratamento. Isso ocorre por meio do contato próximo com os pacientes, quando as precauções de controle de infecção não são estritamente praticadas (JUDSON; PRESCOTT; MUNSTER, 2015; OMS, 2021).

Quando o EBOV infecta um ser humano, o paciente é afetado por uma doença aguda grave, e entra em um processo de incubação que varia entre 2 e 21 dias. Na primeira fase, os sintomas que indicam a possível infecção são: febres, dores de cabeça, fadiga, dores musculares, seguida por uma segunda fase na qual vômitos, diarreia, sintomas abdominais e desidratação são proeminentes. Na segunda semana, o paciente pode se recuperar ou piorar, com uma terceira fase da doença avançada caracterizada por hemorragia grave com sangramentos nas mucosas, intestino, útero, sintomas de insuficiência renal e hepática, eventual falência múltipla dos órgãos, que frequentemente leva o indivíduo a morte (BEECHING; FENECH; HOULIHAN, 2014; SAMPAIO; SCHÜTZ, 2016).

Para o tratamento do ebola, a pessoa infectada é reidratada com fluidos orais ou intravenosos. Os sintomas específicos são tratados com fármacos e/ou abordagens específicas. Por exemplo: para febre e dor, o tratamento de primeira linha consiste em paracetamol. Já os analgésicos opioides (e.g., tramadol e morfina) são preferíveis para a dor mais intensa. Para sintomas gastrointestinais, no caso de náuseas/vômitos é recomendado o uso de antieméticos orais ou intravenosos (e.g., ondansetrona, prometazina) (WHO, 2016; WHO, 2019).

Em 2019, a Food and Drug Administration (FDA) aprovou a vacina Ervebo, especificamente para conter o Zaire ebolavirus (ZEBOV), para usar em indivíduos de 18 anos ou mais. Um ano depois a FDA aprovou mais duas novas terapias, trata-se de dois anticorpos monoclonais (Inmazeb e Ebanga) para o tratamento da infecção pelo ZEBOV em adultos e crianças. Em maio de 2020, a agência europeia de medicamento aprovou a segunda vacina administrada em duas doses identificadas como Zabdena (Ad26.ZEBOV) e Mvabea (MVA-BN-Filo) para indivíduos de 1 ano e mais velhos. A zabdeno é aplicada primeiro, e depois de aproximadamente 8 semanas é aplicada a segunda dose, a Mvabea (CHOI et al., 2021; FDA, 2019; WHO, 2021; PISZCZATOSKI; GUMS, 2020).

O gênero ebolavirus pertence à ordem Mononegavirales, da família Filoviridae. Ainda pertencem a esta família os gêneros Cuevavirus e Marburgvirus. O gênero ebolavirus é dividido em cinco diferentes espécies: Zaire ebolavirus (ZEBOV) na qual está relacionada com a maior taxa de fatalidade podendo chegar até o 90 %; enquanto o Sudan ebolavirus (SEBOV) tem uma média de taxa de fatalidade de 55 %; ebolavirus Tai Forest (também conhecido como ebolavirus da Costa do Marfim, CIEBOV); o Bundibugyo ebolavirus (BEBOV) com taxa de fatalidade 35 %; e Reston ebolavirus

(REBOV) (LI et al., 2015; MIRE; GEISBERT, 2015; WEYER; GROBBELAAR; BLUMBERG, 2015).

O EBOV apresenta uma característica pleomórfica, o que quer dizer que pode surgir em diferentes formas: “U”, “6”, circulares ou filamentosas longas. Alguns estudos reportaram que a partícula do vírus apresenta uma estrutura cilíndrica flexível com diâmetro constante de 80 nm e um comprimento de 970 nm. O EBOV caracteriza-se também por ter um envelope lipídico com genoma de ácido ribonucleico (RNA) de cadeia linear simples de aproximadamente 19 kb, não segmentada e de polaridade negativa (BJÖRNDAL; SZEKELY; ELGH, 2003; JACOB et al., 2020; JOHNSON; BELL; HARTY, 2006).

O RNA do genoma do EBOV codifica sete proteínas que se encontram dispostos entre as extremidades 3 e 5, nomeadamente, nucleoproteína (NP), glicoproteína transmembrana trimérica (GP), RNA polimerase dependente de RNA (L), uma proteína viral matriz (VP40) e três proteínas virais do nucleocapsídeo (VP24, VP30, VP35) na ordem: 3'-NP-VP35-VP40-GP-VP30-VP24-L-5'(CANTONI; ROSSMAN, 2018; RAOUFI et al., 2021).

A glicoproteína transmembrana trimérica (GP) é altamente glicosilada, codifica três diferentes produtos devido a edição da transcrição por L: A GP de comprimento total, que consiste nas subunidades GP1 e GP2; a GP solúvel (sGP), que não possui o domínio transmembranar; e a pequena GP solúvel (ssGP) (CANTONI; ROSSMAN, 2018). A subunidade GP1 é responsável pela interação com seu receptor celular, enquanto a subunidade GP2 está envolvida no processo de fusão vírus-membrana da célula hospedeira (JIN et al., 2020).

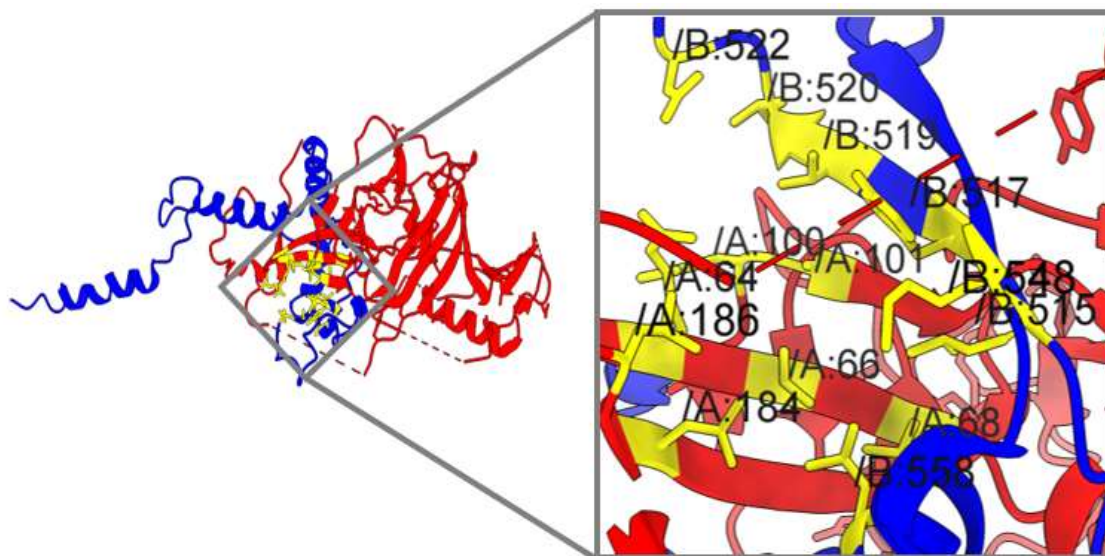
A GP1 tem três domínios distintos responsáveis pela função e pré-fusão da glicoproteína: 1) o domínio de ligação ao receptor (RBD) que é responsável por interagir com um ou mais receptores celulares do hospedeiro; 2) a tampa de glicano na qual pode proteger os locais de ligação do receptor de anticorpos e interagir com o loop de fusão interna da GP2 que é crítico para a fusão de membrana mediada por GP2; e o 3) e domínio semelhante a mucina (MLD) que provavelmente protege os locais de ligação do receptor de GP do reconhecimento imunológico e contribui para a maturação e função de GP (LENNEMANN et al., 2014; YU et al., 2017).

A GP2 é crucial para a fusão da membrana, pois é composta por cinco domínios: 1) um loop de fusão hidrofóbico; 2) uma região de repetição do heptal N-terminal; 3) uma região de repetição do heptal C-terminal; 4) uma região transmembranar; e 5) uma curta cauda citoplasmática. O loop de fusão, que contém uma sequência hidrofóbica central crítica para se inserir nas membranas endossômicas do hospedeiro e iniciar o processo de fusão da membrana (YU et al., 2017).

A infecção do EBOV nas células do hospedeiro é iniciada pela fixação do vírion na membrana plasmática, mediada pela GP1,2 que se ligam aos receptores expostos na superfície da célula hospedeira. A ligação a estes receptores desencadeia um processo de alimentação celular denominado “macropinocitose” nos endossomos. Já na via endossômica / lisossomal, a GP viral sofre clivagem proteolítica e rearranjos estruturais, facilitando as interações com fatores do hospedeiro, incluindo um receptor intracelular essencial. Após essa interação, a subsequente fusão das membranas viral e hospedeira, permite a liberação do núcleo do nucleocapsídeo no citoplasma das células alvos para replicação viral. Uma vez que as novas partículas virais foram montadas, elas brotam continuamente até um ponto em que podem viajar para infectar novas células próximas (ALEKSANDROWICZ et al., 2011; PICAZO; GIORDANETTO, 2015; RHEIN; MAURY, 2015).

Os resíduos TYR517, ARG64, LEU68, LEU515, VAL66, ALA101, LEU184, LEU186, MET548, LEU558, GLU100, THR519, THR520, ASP522 que podem ser vistos na Figura 1, foram identificados por interagirem predominantemente com o ligante complexado na estrutura 3D cristalina da glicoproteína do EBOV, usada neste estudo e depositada no Protein data Bank com o código id: 5JQ7 (ZHAO et al., 2016).

Figura 1. Estrutura 3D cristalina da glicoproteína do EBOV. O esqueleto é mostrado como fitas. Em azul a GP2. Em vermelho a GP1. Em destaque em cor amarela, os resíduos do sítio ativo que fazem interação predominante com o ligante nativo, identificadas pelas respectivas cadeias (A ou B) e a sua numeração.



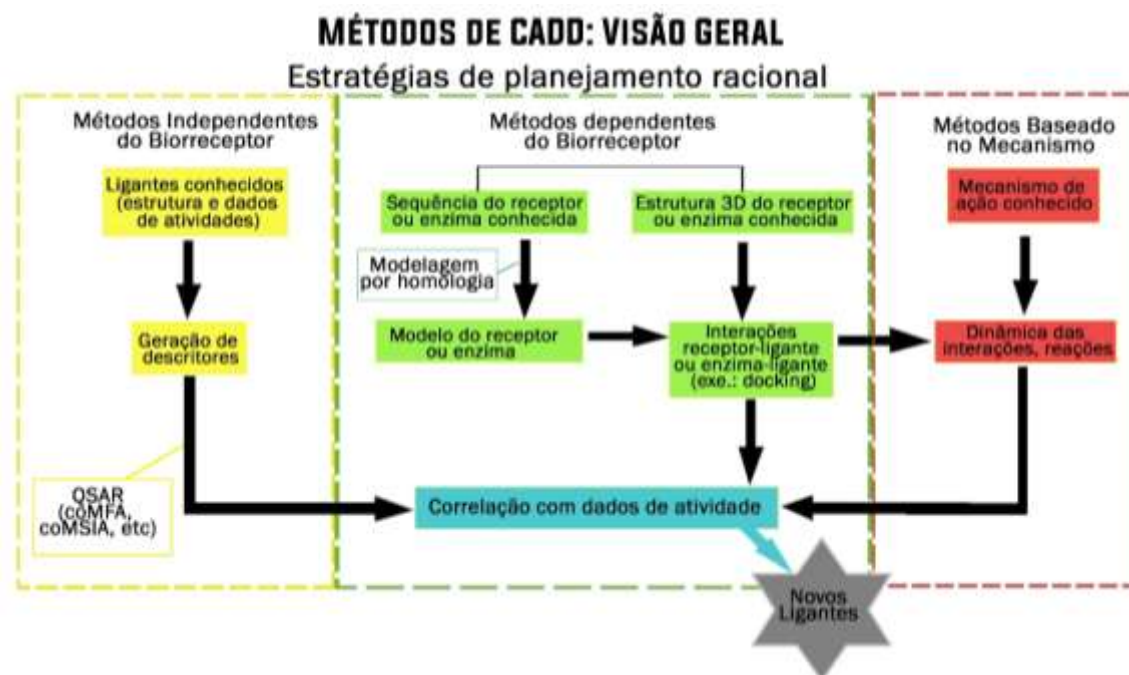
Fonte: Autores (2022).

2.2. Modelagem Molecular

Para que um determinado fármaco chegue até um paciente pronto para o uso na qual ele foi desenvolvido, ele passa por um processo de Pesquisa e Desenvolvimento (P&D) que pode variar entre 10 e 13 anos e com um investimento estimado entre 800 milhões e 1,2 bilhões de dólares (AKKARI et al., 2016). É um processo longo, bastante complexo, que demanda elevada quantidade de recursos. Sendo assim, torna-se crucial o auxílio de técnicas e metodologias que proporcionem uma maior eficiência no processo de P&D de novos fármacos.

Logo abaixo se destaca a metodologia de planejamento de fármacos auxiliado por computador (CADD), esquematizado na Figura 2. Quando aplicado, tal método se pode reduzir significativamente os custos de P&D de uma nova droga (BENTES, 2016; SOUZA, 2012).

Figura 2. Visão geral do CADD.



Fonte: Autores (2022).

Na busca de eficácia para o planejamento racional e descoberta de novos fármacos, tem sido recorrente a utilização de técnicas de modelagem molecular (MM). Deste modo, a International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) define a MM como a investigação de estruturas e das propriedades moleculares por meio da química computacional e de técnicas de visualização gráfica que visam fornecer uma representação tridimensional plausível sob um determinado conjunto de circunstâncias (CARVALHO et al., 2003).

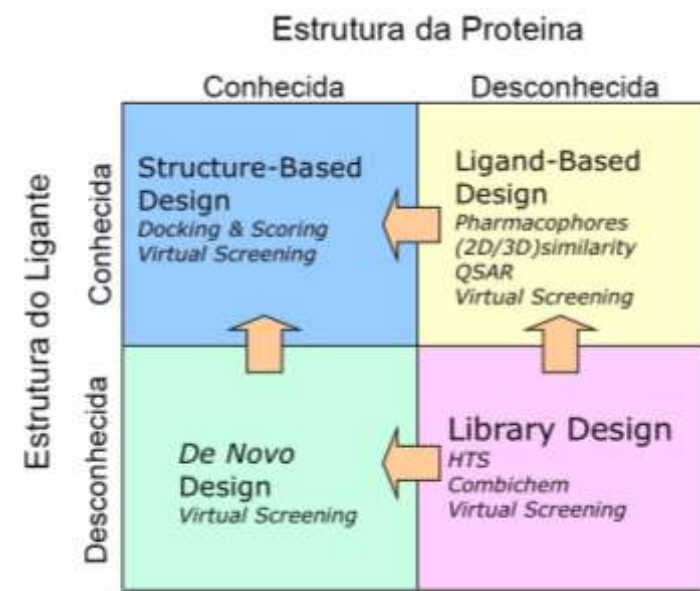
As simulações de MM compreendem de duas classes ou métodos, a saber: mecânica molecular e métodos quânticos. A escolha do uso dentre esses métodos depende do recurso computacional disponível, a natureza das informações que se pretende obter e da precisão desejada. Na mecânica molecular as estruturas moleculares são modeladas baseando-se nas leis da mecânica clássica, não é considerado o comportamento ondulatório dos elétrons, apenas os estados eletrônicos fundamentais, é ótima para simular sistemas macromoleculares e biológicos (OLIVEIRA, 2018). Por outro lado, os métodos quânticos são fundamentados na equação de Schrödinger que considera o comportamento ondulatório de todas as partículas de um sistema, conhecida hoje como a base dos cálculos da energia de átomos e moléculas (SANT'ANNA, 2009).

Existem duas categorias de CADD usadas no planejamento de fármacos que são classificadas com base nas informações disponíveis para o alvo terapêutico. Uma delas é o planejamento baseado na estrutura do ligante (LBDD), na qual seu princípio baseia-se na semelhança estruturais das moléculas, ou seja, moléculas com estruturas semelhantes provavelmente apresentam propriedades semelhantes. Para a aplicação da LBDD não é requerido um conhecimento prévio dos mecanismos de ação e apenas precisa-se das informações estruturais e dados de bioatividade para pequenas moléculas (SHARMA; WAKODE; KUMAR, 2021).

A outra categoria é o planejamento baseado na estrutura do receptor (SBDD), em que o seu princípio se refere ao uso dos dados estruturais dos alvos macromoleculares, os receptores. A ideia é obter ligantes com propriedades eletrostáticas e estereoquímicas específicas para atingir alta afinidade de ligação ao receptor (FERREIRA et al., 2015).

A aplicação deste método in sílico depende da disponibilidade da estrutura 3D do alvo, de preferência complexada com um ligante (Figura 3). Algumas técnicas biológicas são usadas para determinar estruturas 3D das moléculas, como exemplo: cristalografia de raios-X e espectroscopia de ressonância magnética nuclear (LUISE; ROBAA, 2018).

Figura 3. Métodos que podem ser empregados em um projeto de design de drogas.



Fonte: Imagem adaptada pelo autor, disponível em: <https://www.saromics.com/technologies/drug-design/#>

2.2.1. Triagem Virtual De Compostos

A descoberta de compostos leads na fase inicial de pesquisa e desenvolvimento de uma nova droga é de extrema importância, e convencionalmente a indústria farmacêutica obtém esses compostos por meio de triagem de alto rendimento (HTS). Devido ao alto custo e a baixa taxa de assertividade da HTS, os métodos de triagem virtual (VS) *in silico* têm sido alternativas viáveis por serem rápidos, eficientes e baratos (CHENG et al., 2012; KAR; ROY, 2013).

Por definição, a VS é uma análise feita automaticamente em uma biblioteca de compostos químicos usando métodos computacionais. O objetivo da sua aplicação consiste na obtenção de resultados de uma nova estrutura química que produza um perfil farmacológico desejado (MUEGGE; OLOFF, 2006). Dependentemente se o ligante ativo conhecido é usado como modelos de triagem ou informações estrutural alvo 3D, os métodos de triagem virtual são categorizados em VS baseada em estrutura (SBVS), predominantemente docking, e VS baseada em ligante (LBVS), que se baseiam em conceitos de similaridade de ligantes (RIPPHAUSEN et al., 2010; STUMPFE; RIPPHAUSEN; BAJORATH, 2012).

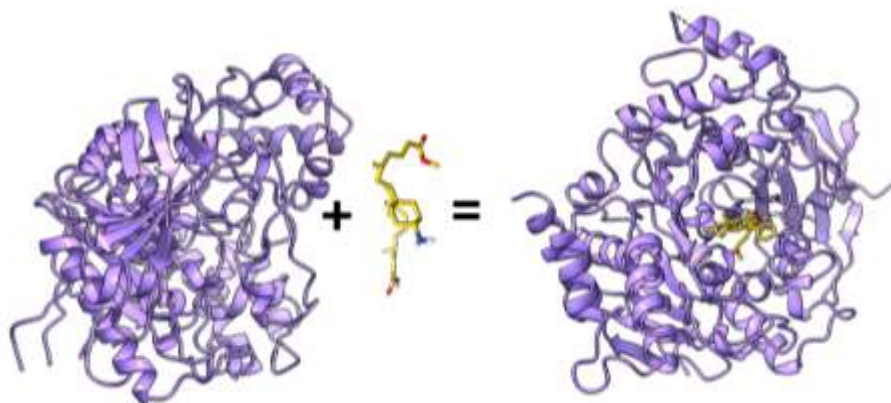
O LBVS visa identificar dentre várias moléculas estruturalmente diferentes de um banco de dados à similaridade bioativa tendo como referência um ligante bioativo conhecido de um alvo em específico. Estas abordagens incluem métodos de busca de similaridade 2D e 3D (incluindo modelos de farmacóforo), técnicas de classificação de compostos e algoritmos de aprendizado de máquina. Por outro lado, a abordagem SBVS visam avaliar o ajuste do ligante no sítio de ligação do alvo como um critério de qualidade, permitindo assim a triagem de compostos considerando as interações moleculares, energéticas de ligação. Essa abordagem requer o conhecimento 3D da estrutura da macromolécula alvo. O docking molecular é um dos métodos SBVS mais empregados, não só estima a pose correta do ligante no sítio de ligação do alvo, mas também estima a afinidade da ligação ligante-receptor (SLATER; KONTOYIANNI, 2019; STUMPFE; RIPPHAUSEN; BAJORATH, 2012; WANG et al., 2020). Um básico requisito para aplicação da VS é a disponibilidade de uma biblioteca de compostos.

2.2.2. Docking Molecular

O docking molecular é um dos mais populares e bem-sucedidos métodos *in silico* baseados na estrutura, que ajudam a prever as interações que ocorrem entre ligantes e alvos biológicos também conhecidos como receptores. Através do docking molecular é possível prever a afinidade de ligação do ligante para formar um complexo estável com o receptor de modo a encontrar possíveis orientações, também conhecidas como poses, na qual são classificadas por funções de pontuação (PINZI; RASTELLI, 2019; TORRES et al., 2019; TRIPATHI; MISRA, 2017).

O docking molecular permite estudar interações entre proteína-proteína, proteína-ligante (pequenas moléculas) e proteína-nucleotídeo (SINGH; BANI BAKER; SINGH, 2022; STRINGER et al., 2021; TRIPATHI; MISRA, 2017). A estabilidade do complexo proteína-ligante formado é resultado de algumas ou de todas as interações não covalentes como: ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas, interações de van Waals, interação eletrostática e pontes de sal, entre os grupos funcionais do ligante e os resíduos do sítio ativo da proteína (ALJOUNDI et al., 2020; BRYLINSKI, 2018).

Figura 4. Representação em 3D da formação do complexo proteína-ligante pelo docking molecular. Em violeta esta representada a macromolécula da estrutura alvo (proteína ou enzima) e em amarelo o ligante (pequena molécula).



Fonte: Autores (2022).

Dois aspectos cruciais do docking são: algoritmos de buscas e funções de pontuações. Os algoritmos de busca são definidos como um conjunto de regra e parâmetros aplicados no docking molecular para encontrar as melhores poses do ligante no local de ligação de um alvo, levando em consideração os graus de liberdade roto-translacionais e internos do ligante (DIAS; DE AZEVEDO JR., 2008; GUEDES; DE MAGALHÃES; DARDENNE, 2014; TORRES et al., 2019).

A qualidade das poses geradas pelos algoritmos de buscas em um docking molecular são avaliadas e classificadas por uma função de pontuação. Ela pode ser baseada em energia de ligação, energia livre ou uma medida numérica qualitativa para aproximar energias de interação (GUEDES; DE MAGALHÃES; DARDENNE, 2014; TORRES et al., 2019). As funções de pontuação podem ser agrupadas aproximadamente em três classes: funções de pontuação de campo de força, empíricas e baseadas no conhecimento (PAGADALA; SYED; TUSZYNSKI, 2017; WANG et al., 2016). Existem três aplicações importantes de funções de pontuação em docking molecular: identificação do modo de ligação do ligante, previsão de afinidade de ligação e triagem virtual (LI; FU; ZHANG, 2019; YADAVA, 2018).

No geral, alguns passos para a realização docking molecular incluem: preparação do ligante; preparação do receptor; identificação do sítio de ligação; docagem; validação e análise dos resultados (STEFANIU, 2019).

2.2.3. Dinâmica Molecular

Apesar do docking molecular predizer as interações que duas moléculas podem formar, esta técnica é limitada pois não contempla todos os aspectos da cinética de formação de um complexo, como por exemplo as mudanças conformacionais que ocorrem durante a sua formação. Assim, para complementar esse estudo, a aplicação de simulações de dinâmica molecular no estudo de docagem proteína-ligante, pode explorar a dinâmica de formação e dissociação de complexos, e quantificar a paisagem energética completa e a cinética desses processos, explorar quais conformações de uma molécula ou complexo proteína-ligante são termicamente acessíveis. A simulação dinâmica molecular fornece médias térmicas de propriedades moleculares. Isso pode ser usado para calcular, por exemplo, as diferenças de energia livre para processos químicos, como ligação ou desligamento de um ligante. (HANSSON; OOSTENBRINK; VAN GUNSTEREN, 2002; KACZOR et al., 2018; ŚLEDŹ; CAFLISCH, 2018).

A técnica de simulação computacional de dinâmica molecular prediz o comportamento cinético de cada átomo em uma proteína ou em um outro sistema molecular em função de uma escala de tempo, tratando todas as entidades (ligante, proteína) em um solvente (que pode ser implícito ou explícito) como flexíveis com base em um modelo geral da física que rege as interações interatômicas, ou seja, pela

integração das equações de movimento de Newton (mecânica clássica) (ANANDAKRISHNAN et al., 2015; HOLLINGSWORTH; DROR, 2018; SALMASO; MORO, 2018).

2.2.4. Regra dos 5 de Lipinski e ADME-T

A capacidade de triagem biológica e síntese química aumentaram drasticamente, e com isso também aumentou a demanda por grandes quantidades de informações prévias sobre a absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade (ADMET), uma vez que fármacos eficazes e seguros exibem uma excelente combinação adequada de farmacodinâmica (PD), e farmacocinética (PK), incluindo alta potência, afinidade e seletividade contra o alvo (FERREIRA; ANDRICOPULO, 2019; VAN DE WATERBEEMD; GIFFORD, 2003). Na última década, a taxa de atrito durante a transição dos ensaios pré-clínicos para os ensaios de comercialização em vigilância ou ensaios clínicos na descoberta de medicamentos atingiu 90%. A falta de eficácia e segurança são as duas principais causas que levam o candidato a droga a não se tornar uma droga, o que significa que as propriedades de ADMET dos produtos químicos desempenham papéis vitais em cada estágio da descoberta e desenvolvimento de um novo medicamento (GUAN et al., 2019; JIA et al., 2020; KAR; LESZCZYNSKI, 2020; LI, 2001).

Atualmente, a maioria dos produtos farmacêuticos usados em todo o mundo são administrados de forma oral, e a mesma tornou-se a via preferida pelos pacientes devido à sua facilidade e adesão do paciente. Para fármacos que projetados para serem administrados pela via oral, a biodisponibilidade é uma das propriedades mais desejáveis, enquanto a determinação da biodisponibilidade oral é muito desafiadora devido ao fato de que a biodisponibilidade é uma função complexa de muitos fatores biológicos e físico-químicos.

Muitos são os fatores relacionados a absorção adequada de uma droga: a solubilidade, permeabilidade às membranas celulares, dissolução em condições gastrointestinais, via de administração, e entre outros aspectos. A linhagem celular de adenocarcinoma de cólon humano (Caco-2) é considerada o padrão ouro para a previsão in vitro da permeabilidade intestinal de drogas e absorção oral (SHIN et al., 2018). Estudos indicam que vários agentes terapêuticos vitais que são substratos para P-gp

apresentam biodisponibilidade reduzida e assim, os inibidores da glicoproteína-P (gp-P) têm sido explorados para superar a resistência a múltiplas drogas e problemas de baixa biodisponibilidade dos substratos terapêuticos da P-gp (SRIVALLI; LAKSHMI, 2012). A inibição da gp-P melhora a absorção intestinal e a distribuição tecidual enquanto reduz o metabolismo do substrato e sua eliminação (VARMA, 2003).

Outro fator importante na fase de descoberta de medicamentos é a identificação inicial de compostos líderes com alta absorção intestinal humana (AIH), porque a absorção intestinal é o primeiro passo após administração oral e afeta amplamente a biodisponibilidade (ESAKI et al., 2019; RADCHENKO et al., 2016). A absorção intestinal de uma substância é geralmente quantificada como uma porção da dose dada que atingiu a veia (sangue circulante) (RADCHENKO et al., 2016). Os autores (EL-KATTAN; VARM, 2012; KIM et al., 2014) descrevem biodisponibilidade oral do fármaco como a fração da dosagem do fármaco que alcança o local terapêutico desejado. Vale ressaltar que fármacos com alta ligação as proteínas plasmáticas podem apresentar baixo índice terapêutico, porque essa ligação afeta fortemente a biodisponibilidade do fármaco, o comportamento farmacocinético e por consequência a ação farmacológica geral (LAMBRINIDIS; VALLIANATOU; TSANTILI-KAKOULIDOU, 2015; WANG et al., 2015).

A barreira hematoencefálica (BHE) desempenha um papel fundamental, protege o sistema nervoso central, separando o tecido cerebral da corrente sanguínea. A predição é necessária para evitar efeitos colaterais e toxicidades ou para melhorar a eficácia de um fármaco cuja atividade farmacologia esta direcionado ao sistema nervoso central (Almutairi et al., 2016; Z. Wang et al., 2018). A taxa de depuração é o parâmetro farmacocinético que limita mais significativamente o tempo de ação do fármaco em seus alvos moleculares, celulares e orgânicos (GOLAN et al., 2009).

No que tange ao metabolismo das drogas, 75% das suas reações enzimáticas estão relacionadas as enzimas citocromos P450 (CYP450), e cinco das isoenzimas das CYP450: CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 e CYP3A4 metabolizam 90% das drogas de pequenas moléculas em uso hoje (Guengerich et al., 2016; Zhang et al., 2019). A CYP2D6 é responsável por cerca de 30% e a CYP3A4 é responsável por cerca de 50% do metabolismo oxidativo das drogas (BARREIRO; FRAGA, 2014). A inibição das CYP450 é caracterizada pela diminuição da atividade catalítica dessas enzimas metabolizadoras, com consequente aumento da meia-vida e da concentração plasmática

do fármaco. O que frequentemente resulta no aumento da incidência de efeitos adversos e/ou tóxicos, E quando atuam como substrato eles comprometendo sua biodisponibilidade oral (BARREIRO; FRAGA, 2014)

Desta forma fica evidente a necessidade da predição *in silico* destas propriedades no estágio inicial de pesquisa e desenvolvimento um medicamento, porque minimiza potencialmente gastos no investimento de tempo, dinheiro e outros recursos.

Durante o estágio inicial da descoberta de drogas, se torna útil a aplicação do conceito de semelhança com drogas (drug-likeness). Lipinski e colaboradores elaboraram a regra dos 5 em 1997 (LIPINSKI et al., 1997) para avaliar a absorção oral de uma molécula (BENET et al., 2016; CHAGAS; MOSS; ALISARAIE, 2018). Assim, baseado nas propriedades físico-química da regra dos cinco, um composto químico pode ser projetado para administração oral se apresentar as seguintes características: peso molecular (MW) ≤ 500 g/mol; coeficiente de partição octanol / água (A log P) ≤ 5 ; número de doadores de ligação de hidrogênio (HBDs) ≤ 5 ; número de aceitadores de ligação de hidrogênio (HBAs) ≤ 10 ; e posteriormente foram adicionadas mais duas condições: número de ligações rotacionáveis ≤ 10 ; área de superfície polar (PSA) < 140 Å (CHAGAS; MOSS; ALISARAIE, 2018; CHIBALE; DAVIES-COLEMAN; MASIMIREMBWA, 2012; LONG et al., 2019).

De acordo com os autores (CHOY; PRAUSNITZ, 2011; NTIE-KANG, 2013; NTIE-KANG et al., 2014; QUINN et al., 2008), compostos químicos que violem 2 ou mais regras dos cinco têm alta chance de apresentar problemas de biodisponibilidade oral.

Os esforços de pesquisa para melhorar a compreensão do processo de absorção gastrointestinal (GI) e a capacidade de prever a taxa e a extensão da absorção são, portanto, altamente priorizados pela indústria farmacêutica.

3. OBJETIVO

❖ O presente trabalho tem como objetivo geral identificar por meio de estudos *in silico* de pequenas moléculas com capacidade inibitória frente a glicoproteína do Ebola vírus.

3.1. Objetivo específico

- Obter em um banco de dados moléculas identificadas como antivirais;
- Acoplar as moléculas na glicoproteína do EBOV;
- Avaliar as moléculas de acordo com a regra dos 5;
- Realizar simulações de dinâmica molecular entre os melhores complexos.

4. METODOLOGIA

4.1. Obtenção e preparação do receptor e identificação do sítio de ligação.

O receptor usado neste estudo foi a estrutura 3D cristalina da glicoproteína do EBOV em complexo com toremifeno obtida na plataforma Protein Data Bank (PDB) (BURLEY et al., 2021) identificada pelo *código PDB: 5JQ7* (ZHAO et al., 2016). A preparação do alvo biológico foi feita com o programa pago Molegro Virtual Docker (MVD). A remoção de todas as moléculas que não fazem parte da estrutura alvo, a atribuição de cargas, a atribuição de ligações de ordens e hibridização, a adição do hidrogênio explícito foram feitas de acordo com as configurações padrão do programa, e foi importada para a dockagem após a remoção da água, cofatores e outras pequenas moléculas. A cavidade do receptor na qual tem o volume de 242.176 Å³ e superfície de 720.64 Å² foi detectada de acordo com o algoritmo de previsão baseado em grade do MVD. O sítio de ligação foi definido dentro de uma esfera restrita a um raio de 15 Å, com o centro X: 44.92; Y: 15.50; Z: -8.40 tendo como referência o ligante nativo.

4.2. Obtenção dos ligantes e preparação dos ligantes.

As estruturas 3D dos 73 ligantes (Tabela-1) usados nesse estudo foram obtidos no banco de dados de acesso público ZINC15 (STERLING; IRWIN, 2015), selecionados de acordo a sua classificação identificada pelo código de busca usado: “*ebola antiviral*”. A estrutura 3D do ligante nativo toremifeno foi extraída de seu respectivo complexo usado estudo, disponível na plataforma PDB (*código PDB: 5JQ7*). De modo a obter ligantes com conformações de energias baixas foi usado o campo de força MMFF94s, um campo de força que fornece uma boa precisão e confiabilidade para moléculas orgânicas ou semelhantes a droga (HALGREN, 1999; O’BOYLE et al., 2011; WAHL et al., 2019). A adição deste campo de força se deu através do programa Avogadro versão 1.2.0.

(HANWELL, MARCUS D; CURTIS, DONALD; LONIE, DAVID C; VANDERMEERSCH, TIM; HUTCHISON, 2012). Posteriormente todos os ligantes foram submetidos ao docking e ao redocking (toremifeno) usando as configurações padrão do MVD.

4.3. Docking molecular

4.3.1. Algoritmos de pesquisa de encaixe do MVD e funções de pontuação

Os ligantes foram acoplados no sítio ativo da glicoproteína do EBOV usando o programa Molegro virtual Docker (MVD) versão 6.0 (THOMSEN; CHRISTENSEN, 2006a), capaz de fornecer 87% de precisão de dockagem que o torna um software eficaz para esta pesquisa em comparação a outros softwares de docking como o Glide e Surflex que fornecem precisões de 82% e 75%, FlexX 58% e GOLD 78% (KAUSHIK et al., 2014). O algoritmo de busca usado para o docking no MVD foi MolDock Optimizer (algoritmo de evolução diferencial guiada) na qual é baseado em um algoritmo evolutivo, que são técnicas de otimização iterativa inspiradas na teoria da evolução darwiniana. O algoritmo de evolução diferencial (ED) foi introduzido por Storn e Price (STORN; PRICE, 1997; THOMSEN; CHRISTENSEN, 2006b).

A função de pontuação escolhida no MVD foi MolDock Score na qual é derivada na função de pontuação PLP que é uma função de pontuação aditiva aos pares, na qual modela a atração, bem como a atribuição dos pares de átomos pesados ligante-proteína a um potencial de ligação de hidrogênio onde se o par for um aceitador-doador, ou um potencial lipofílico esses potenciais de pares são somados para obter a pontuação final da pose (HAWKINS; SKILLMAN; NICHOLLS, 2007; J, SRIKANTH; KAVIMANI ; C, UMA MAHESWARA REDDY; K, 2017). A função de pontuação MolDock melhora ainda mais essas funções de pontuação com um novo termo de ligação de hidrogênio e novos esquemas de carga. A função de pontuação de docking E_{score} é definida pelos seguintes termos de energia:

$$E_{score} = E_{inter} + E_{intra}$$

Onde: E_{inter} é a energia de interação ligante-proteína, e o E_{intra} é a energia interna do ligante.

4.3.2. Definição dos parâmetros para o Docking.

Para o docking, todos os ligantes incluindo o nativo foram importados para o Molegro Virtual Docker 6.0, na qual suas ligações foram definidas como flexíveis. O tamanho da população, máximas interações, scaling factor, crossover rate e RMSD threshold foram definidas respectivamente por: 50; 2000; 0.50; 0.90; 2.00 Å. Foram realizadas 10 execuções em simultâneo com o algoritmo MolDock optimizer na qual 1 pose era retornada em cada execução. As melhores poses foram escolhidas baseada na definição da função de pontuação selecionada. Adicionalmente, os programas Discovery Studio Visualizer (BIOVIA, 2022), PyMOL (LLC, 2015), e ChimeraX (GODDARD et al., 2018; PETERSEN et al., 2021) foram adotados para visualizar e analisar os resultados.

4.3.3. RMSD

A métrica usada neste estudo para avaliar a distância entre as poses preditas e a pose nativa é a raiz do desvio quadrático médio (RMSD), na qual o seu cálculo foi feito através da ferramenta LigRMSD (VELÁZQUEZ-LIBERA et al., 2020). Para entrada de dados todos os ligantes no formato MOL foram carregados na plataforma em uma pasta zipada e submetidas ao cálculo de RMSD.

4.4. Dinâmica Molecular

Para realizar o estudo de dinâmica molecular foi necessário obter as posições atômicas do complexo receptor-ligante após a realização do docking molecular pelo MVD e os arquivos de topologia (extensão PSF). Ambos arquivos foram obtidos usando servidor CHARMM (<https://www.charmm-gui.org/>). O complexo receptor-ligante será inserido em uma caixa cúbica de 40 Å de aresta. O complexo será simulado em meio aquoso. As moléculas de água serão descritas pelo campo de força TIP3P. Íons serão adicionados para garantir a neutralidade do sistema. Condições periódicas de contorno serão utilizadas e a restrição de vibração em ligações covalentes envolvendo átomos de

hidrogênio, ângulo HOH e distância de ligação OH será descrita pelo algoritmo SHAKE. Os passos de integração de cada etapa serão iguais a 2 fs (FIELD et al., 2000).

Houve no processo corte de interação eletrostática de 9,0 Å em todas as etapas da simulação. As geometrias serão otimizadas por estágios sequenciais de minimização. Em seguida, as geometrias serão submetidas a dois estágios de equilíbrio por 10 ns cada, o primeiro com temperatura constante (NVT) de 310K e o segundo com pressão (NPT) constante a 1,0 atm para a produção (entre 100-200ns, dependendo de sua estabilização). As simulações serão realizadas por meio do programa NAMD versão 2.0, e a análise e visualização dos resultados pelo programa VMD (HUMPHREY; DALKE; SCHULTEN, 1996), os gráficos foram gerados utilizando o programa Qtrace (LIMA et al., 2012; PHILLIPS et al., 2005).

4.5. Predições das propriedades farmacocinéticas e semelhança com droga dos ligantes

O estudo preditivo das propriedades farmacocinéticas e drogabilidade dos ligantes foram realizadas através das ferramentas: SwissADME que foi usado para predição das propriedades e Absorção gastrointestinal das moléculas (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017). As restantes propriedades foram preditas usando o ADMETlab 2.0. O ADMETlab é um servidor web amplamente utilizado para as previsões de propriedades farmacocinéticas e de toxicidade de produtos químicos (XIONG et al., 2021). Para interpretação dos resultados, os valores de probabilidade de previsão são transformados em seis símbolos: 0-0,1(——), 0,1-0,3(—), 0,3- 0,5(-), 0,5-0,7(+), 0,7-0,9(++), e 0,9-1,0(+++). Os símbolos '+++' ou '++' indicam a molécula com maior probabilidade de ser tóxica ou defeituosa. Ainda pode indicar que a mesma é um inibidor ou substrato das isoformas das CYP e da glicoproteína-P. Enquanto que '——' ou '—' representa não tóxico ou apropriado, como também indicam que a mesma molécula é um não inibidor ou não substrato das isoenzimas das CYP e da glicoproteína-P. No caso da AIH e da biodisponibilidade oral humana, os símbolos (--) indica excelente, e (++) indica ruim.

Um composto é considerado como tendo uma permeabilidade adequada ao CaCo-2 se tiver valor previsto for $> -5,15 \log \text{ cm/s}$ que é excelente, caso contrário é ruim. Considera-se que um composto possui ligação as proteínas plasmáticas adequado se tiver valor previsto for $\leq 90\%$ na qual é excelente, caso contrário, é pobre. Considera-se que um composto possui um volume de distribuição excelente se tiver valor previsto for 0,04-

20, caso contrário é ruim. Para a meia-vida, moléculas com valores entre 0-0,3 é excelente; valores entre 0,3-0,7 é médio e 0,7-1,0 é ruim. Para a depuração de uma droga, moléculas com valores ≥ 5 é excelente e valores < 5 é ruim. Para a entrada de dados, foram introduzidas o código SMILE de cada ligante nas plataformas web destas ferramentas e submetidos a análise das suas propriedades farmacocinéticas e de ADMET.

5. RESULTADO E DISCUSSÃO

5.1. Docking molecular e ADMET

Após o docking foram retornadas 1 pose para cada dos um dos 73 ligantes (Tabela - 1). Aqueles tiveram uma pontuação do Moldock Score (E_{score}) ≥ -100 foram submetidas a regra dos 5 de Lipinski (Tabela 2), na qual selecionou-se apenas os ligantes que tiveram a violação da regra de Lipinski ≤ 1 , isso porque de acordo com os autores (CHOY; PRAUSNITZ, 2011; NTIE-KANG, 2013; NTIE-KANG et al., 2014; QUINN et al., 2008), compostos químicos que violem 2 ou mais regras dos cinco têm alta chance de apresentar problemas de biodisponibilidade oral.

Tabela 1. Resultado do docking e do redocking (toremifene).

ZINC ID	E_{score} (kcal/mol)	ZINC ID	E_{score} (kcal/mol)
ZINC3779042	-86,7348	ZINC2020233	-87,2042
ZINC13597823	-79,6819	ZINC1035331	-109,909
ZINC896625	-49,7508	ZINC3944422	-169,845
ZINC896626	-49,7235	ZINC3951740	-155,149
ZINC1531529	-93,6524	ZINC100016058	-131,764
ZINC100780293	-112,748	ZINC1505	-91,5239
ZINC100780297	-118,975	ZINC1543916	-114,619
ZINC100780298	-104,848	ZINC1995484	-120,595
ZINC100780300	-99,8443	ZINC169746649	-120,100
ZINC169384269	-118,955	ZINC1484	-79,4706
ZINC169384271	-120,636	ZINC3802690	-97,0956
ZINC169384273	-103,472	ZINC3920719	-144,306
ZINC169384276	-117,291	ZINC1530555	-96,198
ZINC12346	-75,4474	ZINC6920384	-84,8561
ZINC137884	-86,7348	ZINC1530713	-117,500
ZINC4778	-67,2125	ZINC2159	-79,3624
ZINC3833846	-143,172	ZINC1532728	-59,4113
ZINC2015928	-111,929	ZINC100003902	-122,470
ZINC13550868	-58,135	ZINC21297308	-91,3315
ZINC20244	-92,0534	ZINC3930376	-153,497
ZINC22448696	-158,185	ZINC602632	-114,015

ZINC20250	-89,8032	ZINC2033588	-113,140
ZINC39906	-77,3892	ZINC2033589	-142,551
ZINC3809192	-127,76	ZINC2566164	-103,273
ZINC89763	-92,9508	ZINC4016718	-126,865
ZINC155694	-76,1336	ZINC4016719	-135,369
ZINC3795098	-88,0233	ZINC8552019	-113,324
ZINC3875357	-112,602	ZINC1543475	-91,0268
ZINC3918087	-158,77	ZINC3629271	-82,2436
ZINC3920020	-157,727	ZINC1554274	-126,493
ZINC3938684	-187,575	ZINC100373348	-96,2149
ZINC6627681	-87,9514	ZINC1530706	-103,013
ZINC9212427	-121,716	ZINC1530707	-103,823
ZINC85432549	-203,648	ZINC3955219	-138,405
ZINC100008275	-84,5704	ZINC3929508	-107,469
ZINC1673	-87,8585	ZINC968256	-27,7224
ZINC1530600	-90,8087	Toremifene	-141,354

Fonte: Autores (2022).

Tabela 2. Nesta tabela, o ligante nativo e as poses com MolDock Score ≤ -100 submetidos a regra dos 5 de Lipinski. PM – Peso Molecular; HBDS - hydrogen bond donors; hydrogen bond acceptors -HBAs; Lig. Rot. - ligações rotacionáveis; PSA - Área de superfície polar; VL – violações.

Ligantes	Regra dos 5 de Lipinski						VL
	(PM) \leq 500 g/mol	(A log P) \leq 5;	(HBD s) \leq 5	(HBAs) \leq 10;	Lig. Rot. \leq 10	(PSA) \leq 140 Å	
ZINC602632	435.285	4.7174	2	7	4	170.101	1
ZINC1035331	244.207	-3.0115	4	8	3	95.440	0
ZINC1530706	309.453	4.292	0	2	7	139.694	0
ZINC1530707	309.453	4.292	0	2	7	139.694	0
ZINC1530713	324.341	-0.7976	3	9	7	131.341	0
ZINC1543916	354.367	-1.4367	4	10	8	142.500	0
ZINC1554274	366.428	4.9891	2	6	5	163.370	1
ZINC2015928	286.339	1.0923	3	7	4	121.458	0
ZINC2033588	482.441	2.3627	5	10	4	198.675	1
ZINC2033589	482.441	2.3627	5	10	4	198.675	1
ZINC2566164	482.441	2.3627	5	10	4	198.675	1
ZINC3809192	505.637	2.4028	3	7	11	206.820	3
ZINC3833846	567.796	4.74762	4	6	9	242.670	1
ZINC3875357	358.434	1.7658	2	5	2	152.709	1
ZINC3918087	543.525	0.0013	6	12	5	222.081	3
ZINC3920020	668.541	1.1045	4	14	7	261.687	3
ZINC3920719	558.65	6.3136	4	5	12	238.457	4
ZINC3929508	312.41	1.2854	2	5	7	131.958	0
ZINC3930376	501.477	2.7025	1	13	11	197.359	4
ZINC3938684	588.562	1.3386	3	13	5	240.229	3
ZINC3944422	720.962	5.9052	4	9	17	302.058	4
ZINC3951740	628.814	4.32814	4	5	15	272.275	3
ZINC3955219	547.674	2.3753	3	8	11	223.658	3
ZINC4016718	482.441	2.3627	5	10	4	198.675	1
ZINC4016719	482.441	2.3627	5	10	4	198.675	1

ZINC8552019	482.441	2.3627	5	10	4	198.675	1
ZINC9212427	473.446	-0.7311	7	9	10	191.717	2
ZINC22448696	613.803	2.8669	4	7	11	266.218	3
ZINC85432549	824.972	3.5175	3	12	8	349.301	3
ZINC100003902	513.677	5.95092	1	5	8	218.764	3
ZINC100016058	602.675	7.3255	2	6	11	243.056	4
ZINC100780293	468.766	8.5956	0	2	1	209.609	2
ZINC100780297	468.766	8.5956	0	2	1	209.609	2
ZINC100780298	468.766	8.5956	0	2	1	209.609	2
ZINC169384269	468.766	8.5956	0	2	1	209.609	2
ZINC169384273	468.766	8.5956	0	2	1	209.609	2
ZINC1995484	354.367	-1.436	4	10	8	142.500	1
ZINC169384271	468.766	8.5956	0	2	1	209.609	2
ZINC169384276	468.766	8.5956	0	2	1	209.609	2
ZINC169746649	384.245	0.3606	4	6	9	164.116	1
Toremifeno	405.969	6.215	0	2	9	178.952	1

Fonte: Autores (2022).

Na Figura 5 é possível observar que todos os melhores ligantes foram acoplados no sítio ativo do receptor, estes foram ranqueados na ordem dos complexos gerados como evidenciado na Tabela 3. A partir destes resultados, foi possível observar que dos seis melhores complexos formados, o complexo formado com o ligante ZINC3833846 teve a melhor energia de ligação e melhor pontuação de ligação de hidrogênio quando comparado ao ligante nativo Toremifeno, na verdade todos os ligantes restantes tiveram melhores valores de ligação de hidrogênio quando comparado ao ligante nativo.

Vale ressaltar também que, com exceção do ZINC2033588 e ZINC602632, os demais ligantes tiveram os valores de RMSD de até 1,50 Å. Isso não só significa que a metodologia do docking usado foi validada, mas também, estes resultados indicam que a abordagem de docking usada neste estudo foi capaz de reproduzir poses bastante semelhantes ou próximas em relação a configuração biológica do mesmo ligante complexado com a estrutura cristalina da glicoproteína Ebola usado como alvo biológico nesta pesquisa.

De acordo com os pesquisadores Bulusu e Desiraju, a ligação de hidrogênio desempenha um papel significativo em muitos processos químicos e biológicos, incluindo ligação de ligantes e catálise enzimática. Interações mais fracas podem ser feitas e quebradas mais facilmente do que interações mais fortes, e as ligações de hidrogênio forma interações fortes. Muitas das vezes, a presença ou ausência de uma única ligação de hidrogênio pode determinar as propriedades farmacológicas dos ligantes quando ligados a seus receptores (BULUSU; DESIRAJU, 2020).

Tabela 3. Comparação dos valores de MolDock Score (kcal/mol), Ligação Hidrogênio (kcal/mol) e RMSD (Å) entre as melhores poses e o ligante nativo.

Ligantes	E _{score} (kcal/mol)	Ligação de Hidrogênio (Kcal/mol)	RMSD (Å)
ZINC3833846	-143,172	-3,61655	1,50
Toremifeno	-141,354	0	1,04
ZINC4016718	-126,865	-4,15393	1,41
ZINC602632	-114,015	-2,53218	1,67
ZINC8552019	-113,324	-5,0000	1,37
ZINC2033588	-113,140	-2,92532	2,09
ZINC2566164	-103,273	-6,69352	1,17

Fonte: Autores (2022).

Na Figura 6 é possível observar que dentre os resíduos identificados na literatura por interagirem predominantemente com o ligante nativo complexada na estrutura 3D cristalina da glicoproteína do EBOV: TYR517, ARG64, LEU68, LEU515, VAL66, ALA101, LEU184, LEU186, MET548, LEU558, GLU100, THR519, THR520, ASP522, os resíduos que mais formaram ligações hidrogênio forte (N–H...O, O–H...O) (BULUSU; DESIRAJU, 2020) com os ligantes no docking foram: THR520 com 4 ligantes, e ARG64 e GLU100 com 2 ligantes cada.

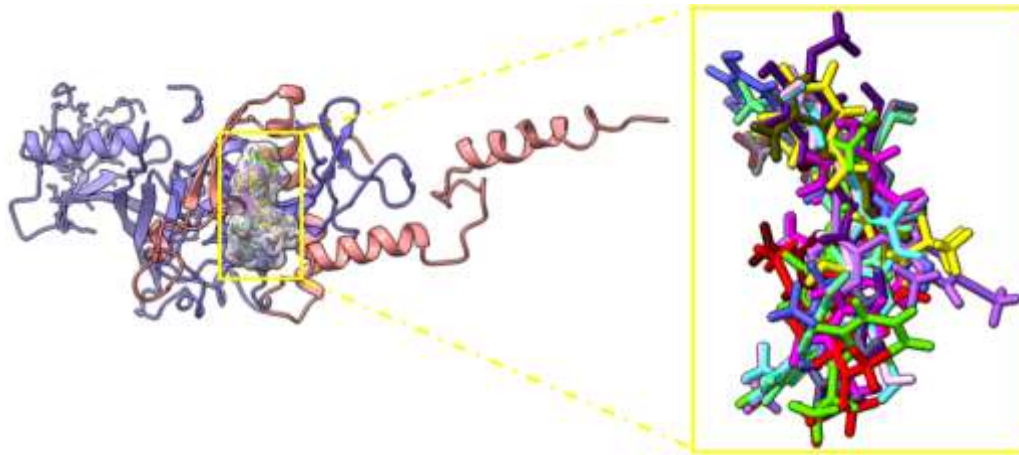
Vale destacar que todos os ligantes formaram ao menos 3 ligações de hidrogênio, com exceção ao ZINC4016718 que teve apenas duas ligações de hidrogênio, e dessas ligações, ao menos uma foram com resíduos de cada uma das cadeias da glicoproteína, como exemplo: pode ser observado na Tabela 4 e na Figura 5 que o ligante ZINC4016718 interage através de ligação de hidrogênio com os resíduos THR520 e THR519 da cadeia B, e os resíduos GLY67 e ASN61 da cadeia A.

De acordo com a Tabela 4, o resíduo GLU100, juntamente com o resíduo ALA101, foram os resíduos que interagiram com a maior dos ligantes. Sendo que o ALA101 interagiu com todos os ligantes e o GLU100 apenas com 5 deles. É importante salientar que o ligante nativo não formou ligações de hidrogênio.

Na mesma Tabela 4, o ligante ZINC4016718; foi o que interagiu diretamente com o maior número de resíduos de aminoácidos, no total foram 10 interações, na qual 8 destes resíduos foram descritos na literatura como importantes e indispensáveis para a inibição desse alvo biológico (ZHAO et al., 2016), e como já mencionado acima, duas destas ligações foram de hidrogênio. O ligante ZINC2033588 chegou a interagir com 10 resíduos de aminoácidos. Os ligantes ZINC3833846 e ZINC2033588 interagiram com 9

resíduos de aminoácidos da glicoproteína ebola e os restantes fizeram ao mínimo 6 interações.

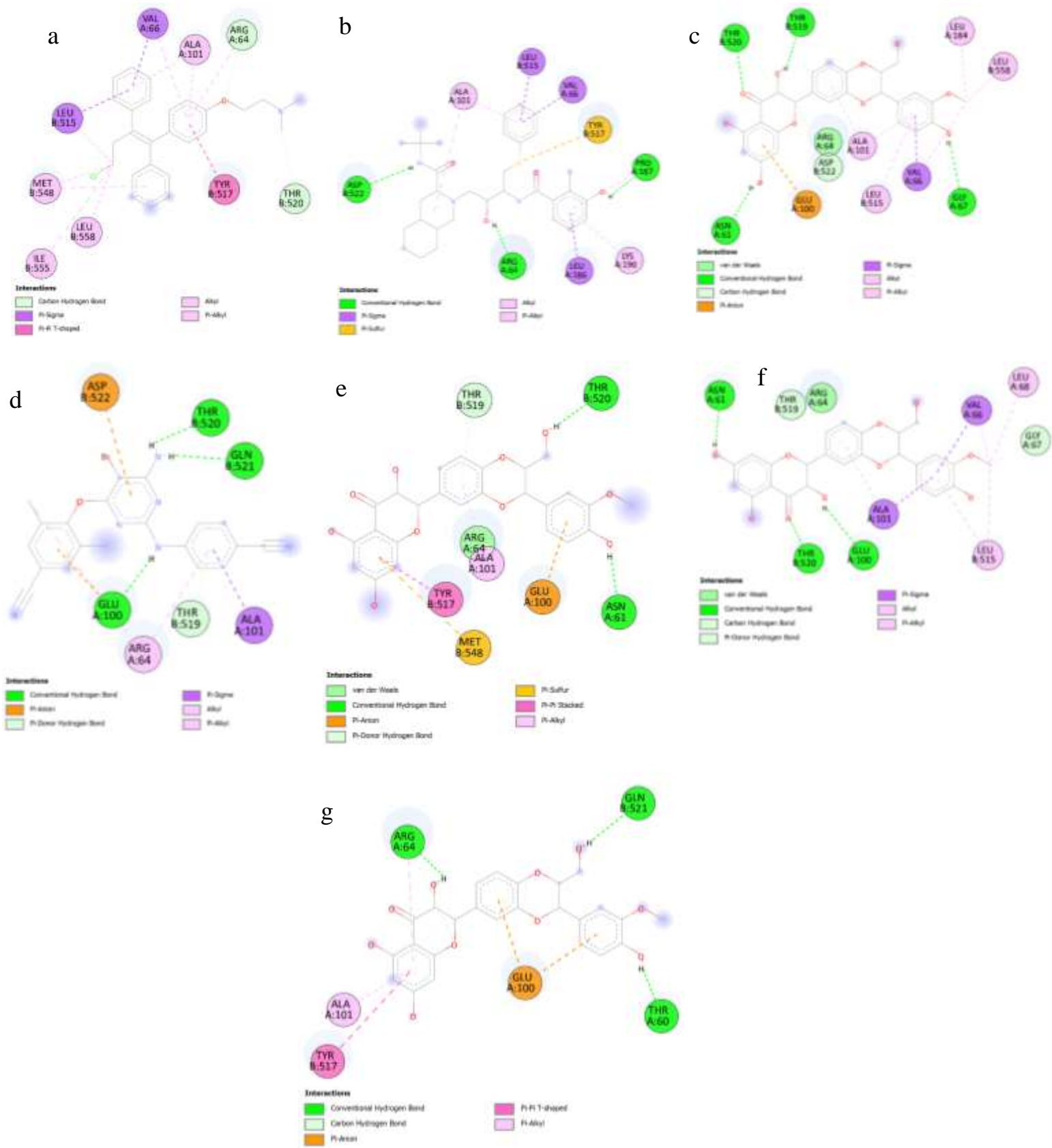
Figura 5. Detalhes do sítio de ligação do inibidor da GP. O esqueleto é mostrado como fitas, com GP1 em roxo e GP2 em vinho parede. Os ligantes, incluindo o nativo (verde), foram destacados por uma superfície cinza desfocado e distinguidas por diferentes cores.



Fonte: Autores (2022).

De acordo com a Tabela 2, em comparação com restantes ligantes, o Toremifeno é o ligante que apresenta o menor número de doadores de ligações de hidrogênio (tem 0), e menor número de aceptores de ligações de hidrogênio (tem 2), o que se acredita relacionado com sua deficiência em formar ligações de hidrogênios com a proteína alvo, isso porque segundo os autores Abranches et al., e Guevara-Vela et al., a ocorrência de doadores e aceitadores de ligação de hidrogênio em uma molécula permitem aumentar o número de interações intermoleculares de ligações de hidrogênio (ABRANCHES et al., 2019; GUEVARA-VELA et al., 2016).

Figura 6. Visualização 2D entre as interações dos melhores ligantes com os resíduos de aminoácidos da GP do EBOV. a)- Toremifeno; b)- ZINC3833846; c)- ZINC4016718; d)- ZINC602632; e)- ZINC8552019; f)- ZINC2033588; g)- ZINC2566164.



Fonte: Autores (2022).

Tabela 4. Interação das melhores poses de cada ligante com os resíduos do sítio ativo da glicoproteína da EBOV, e suas respectivas distâncias em angstrom (Å). AA – Resíduos de Aminoácido. As letras **A** e **B** em negrito itálico antes dos resíduos representam as cadeias da proteína, sendo **A**: GP1 e **B**:GP2. Cada ligante está representado por uma letra minúscula, respectivamente: a- Toremifeno; b- ZINC3833846; c- ZINC4016718; d- ZINC602632; e- ZINC8552019; f- ZINC2033588; g- ZINC2566164.

AA	POSES						
	a	b	c	d	e	f	g
	Distância em angstrom (Å)						
B : TYR517	5,68	5,55			4,07		5,26
A : ARG64	3,40 / 4,64	1,86 / 2,06		4,81 / 4,86	3,09		1,65/3,51/5,09
A : LEU68						3,76	
B : LEU515	4,60 / 3,25	3,40	5,01			5,39 / 5,01	
A : VAL66	5,38 / 3,61	3,44	3,61 / 3,41			3,65 / 3,08	
A : ALA101	3,73 / 4,46	4,36/5,49	5,32 / 3,47	3,65	5,18	4,67 / 3,20	4,79
A : LEU184			4,49				
A : LEU186		3,45					
B : MET548	3,85 / 5,33				5,15		
B : LEU558			4,26				
A : GLU100	2,39 / 3,86		4,12	2,03 / 3,76	3,61	2,29	4,21 / 3,62
B : THR519	2,24		1,85	3,82	3,65	2,73 / 3,93	
B : THR520	3,02 / 2,69		3,11 / 2,63	1,86	1,73 / 3,43	3,04	
B : ASP522		2,88		4,74			
A : THR60							1,67
A : ASN61			2,39		1,82	1,74	
B : GLN521				2,11			2,26
B : ILE555	5,45						
A : GLY67			2,92			2,49	
A : PRO187		2,55 / 5,50					
A : LYS190		5,23					

Fonte: Autores (2022).

Tabela 5. Resultados da predição das propriedades de ADMET dos ligantes. Onde: A - Absorção; D - Distribuição; M – Metabolismo; E - Excreção; T - Toxicidade; LPP - Ligação às proteínas plasmáticas; AIH - Absorção intestinal humana; (Inib./Subs.) de gp-p - (inibidor/substrato) da glicoproteína-P; P. CACO-2 - Permeabilidade em Caco-2; BOH - biodisponibilidade oral humana; Abs. Gast - Absorção gastrointestinal; P. BHE - Permeabilidade Em barreira hematoencefálica (BHE); VD - Distribuição de Volume; T_{1/2} - MEIA VIDA; DD. - depuração de uma droga ; (Inib / Subs) - Inibidor / Substrato; Blo. hERG - Bloqueadores hERG; t. Ames - teste de ames; HT-H - hepatotoxicidade humana; LHID - lesão hepática induzida por drogas; LD50 - Toxicidade Aguda Oral em Ratos; Cargin. - Carcinogenicidade; T. Resp. - Toxicidade respiratória; DDMR - dose diária máxima recomendada; S. Pele - Sensibilização da pele. a- Toremifeno; b- ZINC3833846; c- ZINC4016718; d- ZINC602632; e- ZINC8552019; f- ZINC2033588; g- ZINC2566164.

ADMET	Propriedades	a	b	c	d	e	f	g
A	P. Caco-2 (cm/s)	-4.499	-5.489	-6.198	-4.658	-6.264	-6.264	-6.400
	Inib. de gp-p	+++	+++	++	---	++	++	+++
	Subs.de gp-p	---	+++	---	---	---	---	---
	AIH	---	--	--	+++	---	---	--
	BOH 20% / 30%	--- / ---	-- / ---	--- / ++	--- / ---	--- / ++	--- / ++	--- / ++
	Abs. Gast.	baixa	baixa	baixa	Baixa	Baixa	Baixa	Baixa
D	LPP (%)	97.260	97.692	95.867	98.238	95.151	95.151	97.035
	P. BHE	+	--	---	--	---	---	---
	VD (L/kg)	1.891	1.318	0.646	0.189	0.647	0.647	0.636
M	CYP	1A2	+ / +++	-- / --	--- / ---	++ / +++	--- / --	--- / --
	(Inib.	2C19	- / +++	++ / ++	-- / ---	+ / ---	--- / ---	-- / ---
	/Subs.)	2C9	-- / ---	+++ / +++	+ / ++	+ / ---	++ / ++	++ / ++
		2D6	+++ / -	+++ / ++	- / -	--- / ---	-- / -	-- / -

	3A4	--/ +++	+++ /++	++ / --	- / +++	++ / --	++ / --	++ / --
E	T _{1/2}	0.050	0.295	0.331	0.740	0.303	0.303	0.336
	DD. (ml/min/kg)	8.715	2.969	5.498	4.478	6.991	6.991	3.536
T	Blo. hERG:	+++	-	---	+++	---	---	---
	t. Ames	+	---	-	-	--	--	-
	HT-H	+++	+	-	+++	--	--	--
	LHID	+++	++	+++	+++	+++	+++	++
	LD ₅₀	--	--	--	+++	--	--	--
	DDMR	++	++	---	+++	---	---	---
	S. Pele	--	+	-	++	--	--	--
	Cargin.	-	--	+	++	-	-	+
	T. Resp.	+++	++	---	+++	---	---	---

Fonte: Autores (2022).

De acordo com a literatura o ligante ZINC602632 é metabolizado pelas enzimas hepáticas CYP450, ele atua como substrato e inibidor das CYP2C9 e CYP2C19, e somente inibidor da CYP3A4. De acordo com os resultados da predição encontrados na Tabela-5, há possibilidade deste ligante atuar apenas como substrato da CYP3A4 e CYP1A2, e que não inibe a CYP3A4, mas inibe fortemente a CYP1A2 e tem média possibilidade de inibir a CYP2C9 e CYP2C19 (KAKUDA; SCHÖLLER-GYÜRE; HOETELMANS, 2011; PÉREZ; SÁNCHEZ-PARRA; VILLAR, 2009). Neste caso notou-se que há algumas concordâncias e discordâncias entre o valor predito e o valor encontrado na literatura. Quanto a ligação as proteínas plasmáticas, foi constatado no DrugBank (DB06414) um percentual de 99% que é um valor corrobora com o predito neste estudo que é de 98.238%. foi previsto ainda que há altas probabilidades deste composto induzir a lesão hepática (hepatotoxicidade), o que corrobora com a literatura que diz que há possível uma causa de lesão hepática clinicamente provocada por esse composto este composto (NATIONAL INSTITUTE OF DIABETES AND DIGESTIVE AND KIDNEY DISEASES, 2018).

Os dados do ligante ZINC3833846 obtidos no DrugBank (DB00220) indicam que este ligante apresenta > 98% de ligação as proteínas plasmáticas, na qual é um valor muito próximo ao da Tabela 5: 97.692%. Foi observado ainda no DrugBank que o ligante ZINC383384 é bem absorvido após administração oral, e os valores preditos ilustrados na tabela apontam a probabilidade deste ligante ter excelente biodisponibilidade oral, ser bem absorvido pelos intestinos humanos, oralmente, e de ser um substrato da gp-P, mas em contrapartida também há probabilidades de ele atuar como inibidor da mesma (condiz com a informação disponível no DrugBank), ou seja, tende a melhorar a biodisponibilidade deste substrato.

Pelo DrugBank foi observado um LD₅₀ muito acima de 500 mg/kg, na qual corresponde com o valor predito na tabela 5, que indica baixa toxicidade em relação ao LD₅₀. Observou-se também este ligante ZINC3833846 apenas inibe a CYP3A4, CYP2C19 e CYP2D6 e atua como substrato apenas da CYP3A4 e CYP2C19. Por um lado, essa informação converge e por outro lado esta informação diverge, porque os resultados da predição ilustrado na tabela 5 indicam a probabilidade deste ligante atuar como substrato e inibidor de 4 isoformas das CYP450 exceto a CYP1A2. A predição do DrugBank indica a probabilidade deste ligante ser negativo a carcinogenicidade e ao teste de ames, e de ser um fraco inibidor de hERG, e de igual modo o faz o resultado da tabela 5.

Os resultados deste da Tabela 5 demonstraram que o Toremifeno é uma molécula com propriedades de ser bem absorvido, o que condiz com a literatura. E a mesma literatura também indicou que o este ligante faz ligação a mais de 99% das proteínas plasmáticas, resultado este que próximo do que foi exibido na tabela 2: 97,260%. Os resultados mostram também a probabilidade de o Toremifeno ser substrato da CYP2C19, CYP1A2 e CYP3A4, o que corrobora com os resultados encontrados na literatura, que diz que esta molécula é extensamente metabolizada, principalmente pelo CYP3A4 (ORGANIZATION, 1996).

Os resultados sugeriram ainda que o Toremifeno tem probabilidades positivas para lesão provocar lesão hepática induzida por droga, já nos dados disponíveis no PubChem (KIM et al., 2016) verificou-se uma atribuição de grau de gravidade 3 na escala de 1 a 8 no grau de gravidade da lesão hepática definido na plataforma. Segundo o PubChem esta molécula não é classificável à sua carcinogenicidade para humanos, o que vai de acordo com o resultado previsto neste estudo que indica baixa propensão deste ligante de induzir a Carcinogenicidade. A predição do LD₅₀ foi de um valor acima de 500 mg/kg e o encontrado na literatura é 1700 mg/kg, o que mostra mais uma vez que a concordância entre os valores preditos e os encontrados no banco de dados PubChem.

Quando se comparou os resultados da tabela 5 deste ligante com a predição encontrada no banco de dados DrugBank (DB00539) (WISHART et al., 2018), foi constatado também que algumas predições correspondem e/ou são bastante aproximados. Como por exemplo, o resultado da predição desta molécula indicou que o Toremifeno tem probabilidades de inibir o hERG, que são permeáveis em Caco-2 e têm altas probabilidades de absorção intestinal humana, e essas dados correspondem com os encontrados no DrugBank. Embora o DrugBank apontou que ela não é uma substancia

tóxica ao teste de Ames, os dados da tabela 5 apontam para uma probabilidade média de não ser tóxica, que vai de encontro com o valor do DrugBank.

Em relação à inibição, foi previsto que o Toremifeno tem altas probabilidades de inibir a CYP2D6 e baixa de inibir a CYP1A2, que são as mesmas CYPs que o DrugBank identifica como sendo inibidas por este ligante. O Toremifeno apresentou médias probabilidades de atravessar a barreira hematoencefálica, dados próximos ao encontrado no DrugBank, que informa que esta molécula é absorvida pela barreira hematoencefálica.

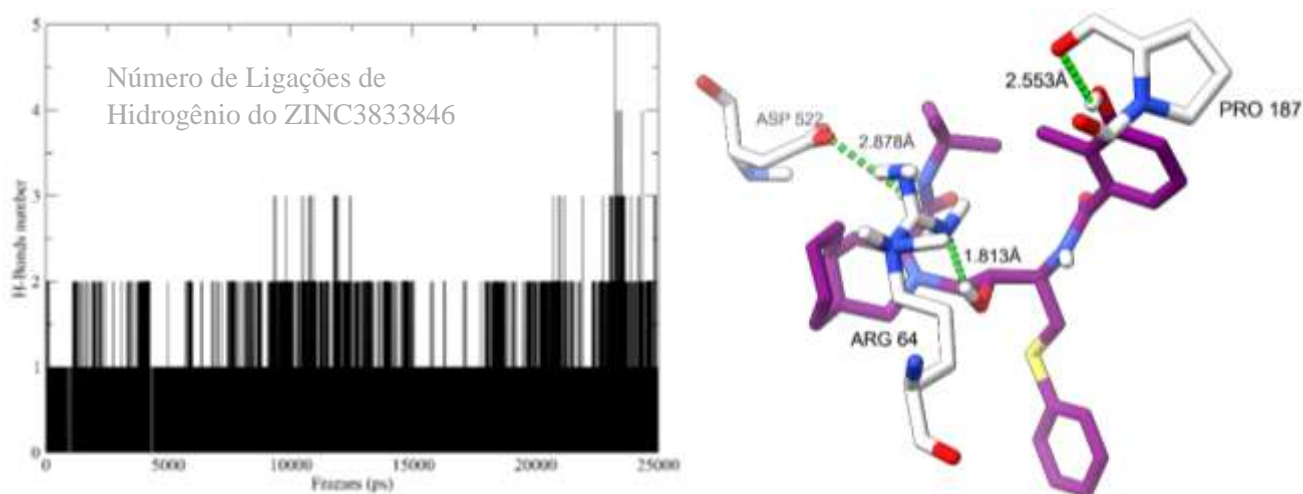
Os ligantes que não tiveram seus dados de predição de ADMET correlacionados com os dados do DrugBank não dispunham desta informação na plataforma ZINC15.

5.2. Dinâmica molecular

O custo computacional e os resultados do docking, foram os critérios usados para selecionar apenas os dois melhores ligantes e o ligante nativo para a simulação de dinâmica molecular.

Através de cálculos de dinâmica molecular utilizando o método mecânico molecular do NAMD na produção, um gráfico foi gerado para um tempo de simulação de 25×10^3 ps (25 ns). O vínculo de hidrogênio entre ZINC3833846 e a proteína viral foram forjadas em muitas simulações com apenas 3 resíduos. O acoplamento molecular evidencia os resíduos ASP B:522, ARG A:64 e PRO A:187 como os principais aminoácidos, como mostrado na Figura 6.

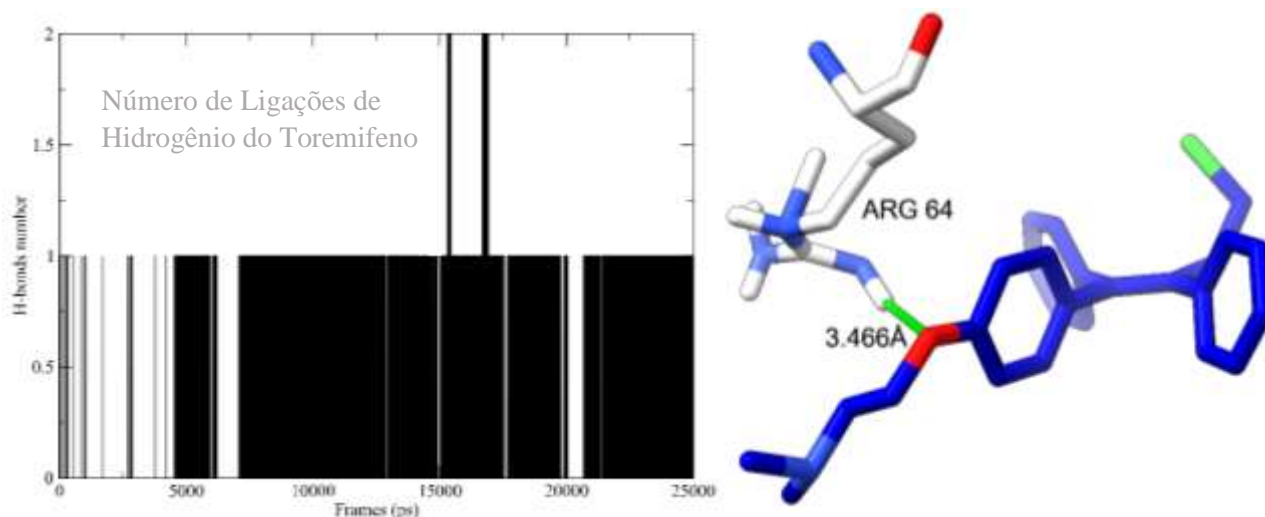
Figura 7. Ligações de hidrogênio do ZINC3833846 por 25 ns na produção.



Fonte: Autores (2022).

O ligante complexado com a estrutura alvo, toremifeno, utilizando também o método mecânico molecular do NAMD, na produção, gerou um gráfico no tempo de 25×10^3 ps (25ns). O vínculo de H entre o composto e a proteína interagiram com apenas 1 resíduo. Porém não foi possível ser observado no docking molecular, o resíduo ARG A:64 foi o único aminoácido que realizou esta ligação polar, como mostrado na Figura 7.

Figura 7. Ligações de hidrogênio do Toremifeno por 25ns na produção.

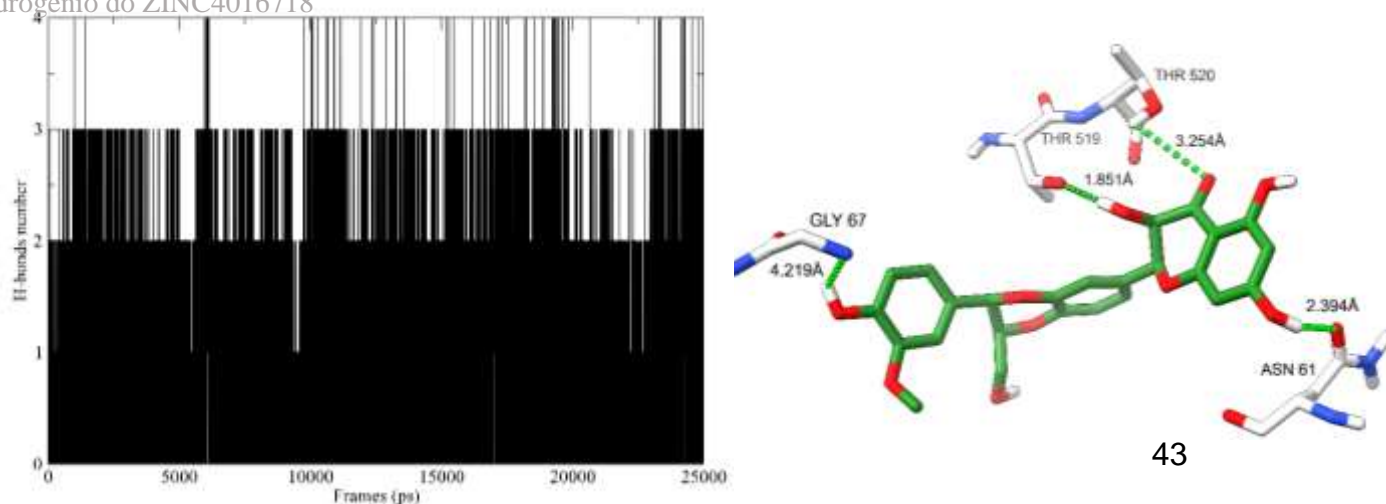


Fonte: Autores (2022).

Por fim, utilizando o método mecânico molecular do NAMD, na produção, um gráfico foi gerado para um tempo de simulação de 25×10^3 ps (25ns). O vínculo de H entre ZINC4016718 e a proteína viral foram forjadas em muitas simulações com até 4 resíduos. O acoplamento molecular evidenciou os resíduos THR B:519, THR B:520, GLY A:67 e ASN A:61 como os principais aminoácidos das interações registradas pela dinâmica molecular, como mostrado na Figura 8.

Figura 8. Ligações de hidrogênio do ZINC4016718 por 25ns na produção.

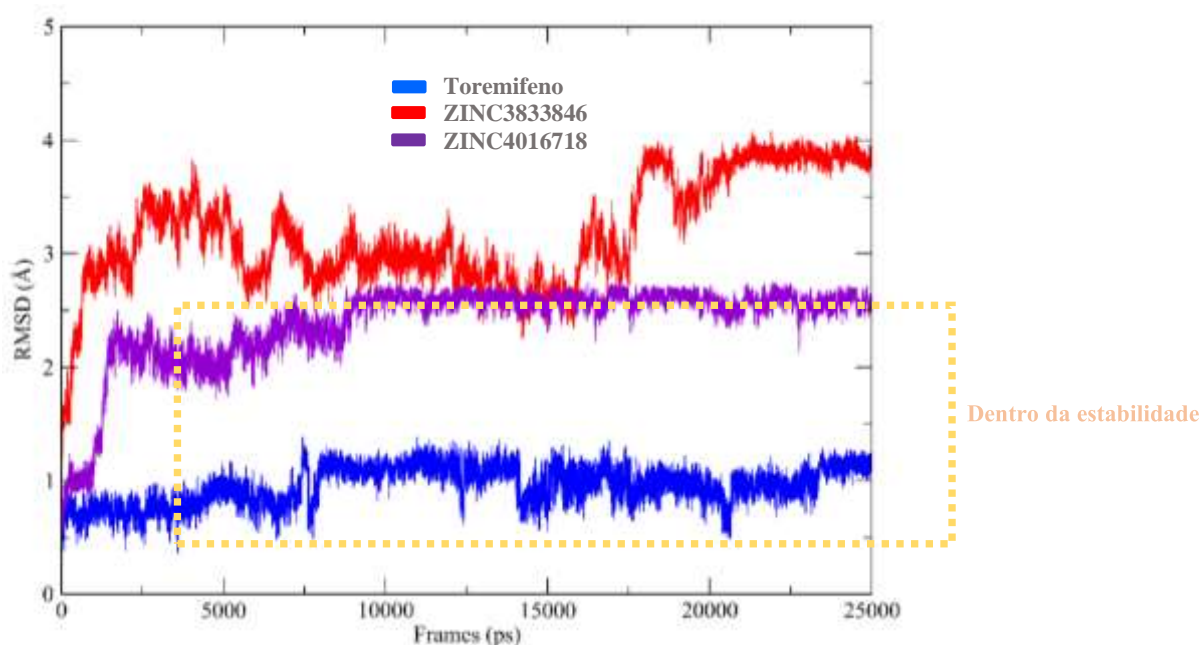
Número de Ligações de Hidrogênio do ZINC4016718



Fonte: Autores (2022).

Na análise da RMSD, foi possível verificar que os complexos permaneceram estáveis durante o balanço/estabilização na trajetória (Figura 9). No entanto, neste estudo, foi observada uma compreensão clara da permanência da estabilidade maior do ligante nativo Toremifeno, e logo em seguida o composto ZINC4016718, se apresentou melhor. Já o composto ZINC3833846, que durante o acoplamento apresentou uma melhor energia de afinidade, demonstrou instabilidade após na simulação de dinâmica molecular, pois se verificou que se despreendeu da proteína durante uma parte da trajetória.

Figura 9. Análise de RMSD dos três ligantes.



Fonte: Autores (2022).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Todos os objetivos propostos inicialmente neste trabalho foram alcançados. Pela metodologia utilizada no docking molecular identificou-se compostos com valores de energias favoráveis, mas de certa forma muitos destes compostos foram excluídos de nossas análises por violarem duas ou mais das regras de cinco de Lipinski, e por final restaram apenas 6 ligantes que foram analisados. Destes 6 ligantes, todos eles formaram ao menos duas ligações de hidrogênio com o alvo, e ao menos uma ligação de hidrogênio com um dos resíduos primordiais para a inibição da glicoproteína ebola vírus.

Pelo resultado do docking constatou-se que o ligante ZINC4016718 é o ligante mais promissor deste estudo, teve um valor de RMSD excelente de 1,41 Å, e apesar de ter o E_{score} igual a -126,865 kcal/mol, e o ligante nativo um valor de RMSD de 1,04 Å e um E_{score} igual a -141,354 kcal/mol, este ligante nativo Toremifeno não efetuou nenhuma ligação de hidrogênio e teve sua energia de ligação de hidrogênio igual a 0, enquanto que o ligante ZINC4016718 efetuou quatro ligações de hidrogênio, portanto a sua energia de ligação de hidrogênio é de -4,15393 kcal/mol. E estas interações foram com os resíduos THR520, THR519, GLY67 e ASN61 na qual os dois primeiros são resíduos importantes para a inibição da glicoproteína. Outro ligante que se destacou como promissor durante o docking foi o ZINC3833846, teve um E_{score} de -143,172 kcal/mol, maior pontuação em relação a todos os seis melhores ligantes. Formou três ligações de hidrogênio com os resíduos ASP522, ARG64 e PRO187, na qual os dois primeiros são resíduos identificados como indispensáveis para a inibição da estrutura alvo. O seu valor de energia de ligação de hidrogênio foi de -3,61655 kcal/mol e o seu RMSD foi de 1,50 Å.

No que tange as propriedades farmacocinéticas, tanto o Toremifeno como o ligante ZINC3833846 (conhecido como Nelfinavir) já são medicamentos aprovados, portanto já têm as propriedades desejada para um fármaco. Mas pela predição das propriedades de ADMET do ligante ZINC4016718, foi constatado que inicialmente este ligante tem excelentes probabilidades de ser bem administrado oralmente, bem distribuído no organismo e de causar poucos riscos tóxicos.

Os de cálculos de dinâmica molecular demonstraram as 4 ligações (do ligante ZINC4016718) e as 3 ligações (do ligante ZINC3833846) de hidrogênio formadas no acoplamento com a glicoproteína do ebola vírus. Um caso interessante é que o ligante

nativo formou uma ligação de hidrogênio durante a simulação de dinâmica, mas durante o docking nenhuma ligação de hidrogênio foi observada.

Mas no que diz respeito a estabilidade dos complexos formados, foi observado que ligante nativo apresentou uma maior e melhor estabilidade durante a simulação, seguido do complexo formado pelo ligante ZINC4016718 que também se apresentou sendo estável. Por outro lado, o composto ZINC3833846 demonstrou instabilidade durante a trajetória da simulação.

Dessa forma, de acordo com os resultados encontrados, o composto ZINC4016718 é o que demonstra ter maior potencial de um inibidor promissor da glicoproteína do ebola vírus. Mas, entende-se necessários estudos adicionais como parte da identificação de um composto líder.

REFERÊNCIAS

- ABRANCHES, D. O. et al. Phenolic hydrogen bond donors in the formation of non-ionic deep eutectic solvents: the quest for type V DES. **Chemical communications (Cambridge, England)**, v. 55, n. 69, p. 10253–10256, 22 ago. 2019.
- AKKARI, A. C. S. et al. Inovação tecnológica na indústria farmacêutica: diferenças entre a Europa, os EUA e os países farmaemergentes. **Gestão & Produção**, v. 23, n. 2, p. 365–380, 14 jun. 2016.
- ALEKSANDROWICZ, P. et al. Ebola Virus Enters Host Cells by Macropinocytosis and Clathrin-Mediated Endocytosis. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 204, n. suppl_3, p. S957–S967, nov. 2011.
- ALJOUNDI, A. et al. Covalent Versus Non-covalent Enzyme Inhibition: Which Route Should We Take? A Justification of the Good and Bad from Molecular Modelling Perspective. **The Protein Journal**, v. 39, n. 2, p. 97–105, 18 abr. 2020.
- ANANDAKRISHNAN, R. et al. Speed of Conformational Change: Comparing Explicit and Implicit Solvent Molecular Dynamics Simulations. **Biophysical Journal**, v. 108, n. 5, p. 1153–1164, mar. 2015.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química Medicinal:- As bases moleculares da ação dos fármacos**. 3. ed. orto Alegre: Artmed Editora, 2014.
- BASELER, L. et al. The Pathogenesis of Ebola Virus Disease. **Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease**, v. 12, n. 1, p. 387–418, 24 jan. 2017.
- BEECHING, N. J.; FENECH, M.; HOULIHAN, C. F. Ebola virus disease. **BMJ**, v. 349, n. dec10 28, p. g7348–g7348, 10 dez. 2014.
- BENET, L. Z. et al. BDDCS, the Rule of 5 and drugability. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 101, p. 89–98, jun. 2016.
- BENTES, H. M. M. **Desenho de fármacos assistido por computador : aplicação à permeação através da barreira hematoencefálica**. [s.l.] Universidade de Coimbra, 2016.
- BIOVIA, D. S. **Discovery Studio Visualizer** San Diego, 2022. Disponível em: <<https://3ds.com/products-services/biovia/products>>
- BJÖRNDAL, A. S.; SZEKELY, L.; ELGH, F. Ebola virus infection inversely correlates with the overall expression levels of promyelocytic leukaemia (PML) protein in cultured cells. **BMC microbiology**, v. 3, p. 6, 4 abr. 2003.
- BRYLINSKI, M. Aromatic interactions at the ligand-protein interface: Implications for the development of docking scoring functions. **Chemical Biology & Drug Design**, v. 91, n. 2, p. 380–390, fev. 2018.
- BULUSU, G.; DESIRAJU, G. R. Strong and Weak Hydrogen Bonds in Protein–Ligand Recognition. **Journal of the Indian Institute of Science**, v. 100, n. 1, p. 31–41, 14 jan. 2020.
- BURLEY, S. K. et al. RCSB Protein Data Bank: powerful new tools for exploring 3D structures of biological macromolecules for basic and applied research and education in fundamental

biology, biomedicine, biotechnology, bioengineering and energy sciences. **Nucleic Acids Research**, v. 49, n. D1, p. D437–D451, 8 jan. 2021.

CANTONI, D.; ROSSMAN, J. S. Ebolaviruses: New roles for old proteins. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 5, p. e0006349, 3 maio 2018.

CARVALHO, I. et al. Introdução a modelagem molecular de fármacos no curso experimental de química farmacêutica. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 428–438, 2003.

CHAGAS, C. M.; MOSS, S.; ALISARAIE, L. Drug metabolites and their effects on the development of adverse reactions: Revisiting Lipinski's Rule of Five. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 549, n. 1–2, p. 133–149, out. 2018.

CHENG, T. et al. Structure-Based Virtual Screening for Drug Discovery: a Problem-Centric Review. **The AAPS Journal**, v. 14, n. 1, p. 133–141, 27 mar. 2012.

CHIBALE, K.; DAVIES-COLEMAN, M.; MASIMIREMBWA, C. Application of in silico, in vitro and in vivo ADMET/PK platforms in drug discovery. **Drug Discovery in Africa: Impacts of Genomics, Natural Products, Traditional Medicines, Insights into Medicinal Chemistry, and Technology Platforms in Pursuit of New Drugs**, v. 9783642281, n. August, p. 1–438, 2012.

CHOI, M. J. et al. Use of Ebola Vaccine: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices, United States, 2020. **MMWR Recommendations and Reports**, v. 70, n. 1, p. 1, 2021.

CHOY, Y. BIN; PRAUSNITZ, M. R. The Rule of Five for Non-Oral Routes of Drug Delivery: Ophthalmic, Inhalation and Transdermal. **Pharmaceutical Research**, v. 28, n. 5, p. 943–948, 22 maio 2011.

DAINA, A.; MICHIELIN, 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. 1, p. 42717, 3 maio 2017.

DERSARKISSIAN, C. **Ebola Virus Infection**. Disponível em: <<https://www.webmd.com/a-to-z-guides/ebola-fever-virus-infection>>.

DIAS, R.; DE AZEVEDO JR., W. Molecular Docking Algorithms. **Current Drug Targets**, v. 9, n. 12, p. 1040–1047, 1 dez. 2008.

EMOND, R. T. et al. A case of Ebola virus infection. **BMJ**, v. 2, n. 6086, p. 541–544, 27 ago. 1977.

FERREIRA, L. et al. Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies. **Molecules**, v. 20, n. 7, p. 13384–13421, 22 jul. 2015.

FERREIRA, L. L. G.; ANDRICOPULO, A. D. ADMET modeling approaches in drug discovery. **Drug Discovery Today**, v. 24, n. 5, p. 1157–1165, 2019.

FIELD, M. J. et al. The Dynamo Library for Molecular Simulations Using Hybrid Quantum Mechanical and Molecular Mechanical Potentials. **Journal of Computational Chemistry**, v. 21, n. 12, p. 1088–1100, 2000.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). **Primeira vacina aprovada pela FDA para a prevenção da doença do vírus Ebola, marcando um marco crítico na preparação e resposta da saúde pública | FDA**. Disponível em: <<https://www.fda.gov/news-events/press->

announcements/first-fda-approved-vaccine-prevention-ebola-virus-disease-marking-critical-milestone-public-health>. Acesso em: 11 ago. 2021.

GODDARD, T. D. et al. **UCSF ChimeraX: Meeting modern challenges in visualization and analysis** *Protein Science*, jan. 2018. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28710774>>

GUAN, L. et al. ADMET-score-a comprehensive scoring function for evaluation of chemical drug-likeness. **MedChemComm**, v. 10, n. 1, p. 148–157, 2019.

GUEDES, I. A.; DE MAGALHÃES, C. S.; DARDENNE, L. E. Receptor–ligand molecular docking. **Biophysical Reviews**, v. 6, n. 1, p. 75–87, 21 mar. 2014.

GUEVARA-VELA, J. M. et al. Hydrogen bond cooperativity and anticooperativity within the water hexamer. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 18, n. 29, p. 19557–19566, 2016.

HALGREN, T. A. MMFF VII. Characterization of MMFF94, MMFF94s, and other widely available force fields for conformational energies and for intermolecular-interaction energies and geometries. **Journal of Computational Chemistry**, v. 20, n. 7, p. 730–748, maio 1999.

HANSSON, T.; OOSTENBRINK, C.; VAN GUNSTEREN, W. Molecular dynamics simulations. **Current Opinion in Structural Biology**, v. 12, n. 2, p. 190–196, abr. 2002.

HANWELL, MARCUS D; CURTIS, DONALD ; LONIE, DAVID C; VANDERMEERSCH, TIM; HUTCHISON, E. Z. AND G. R. **Avogadro: an open-source molecular builder and visualization tool**, 2012. Disponível em: <<http://avogadro.cc/>>

HAWKINS, P. C. D.; SKILLMAN, A. G.; NICHOLLS, A. Comparison of shape-matching and docking as virtual screening tools. **Journal of Medicinal Chemistry**, 2007.

HOLLINGSWORTH, S. A.; DROR, R. O. Molecular Dynamics Simulation for All. **Neuron**, v. 99, n. 6, p. 1129–1143, set. 2018.

HUMPHREY, W.; DALKE, A.; SCHULTEN, K. VMD: Visual molecular dynamics. **Journal of Molecular Graphics**, v. 14, n. 1, p. 33–38, 1996.

J, SRIKANTH; KAVIMANI ; C, UMA MAHESWARA REDDY; K, C. Comparative Molecular Docking Study of Phytoconstituents Identified in *Morinda Citrifolia* Linn on Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, p. 1–5, 2017.

JACOB, S. T. et al. Ebola virus disease. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 6, n. 1, p. 13, 20 dez. 2020.

JIA, C.-Y. et al. A drug-likeness toolbox facilitates ADMET study in drug discovery. **Drug Discovery Today**, v. 25, n. 1, p. 248–258, jan. 2020.

JIN, C. et al. Single virus tracking of Ebola virus entry through lipid rafts in living host cells. **Biosafety and Health**, v. 2, n. 1, p. 25–31, 2020.

JOHNSON, R. F.; BELL, P.; HARTY, R. N. Effect of Ebola virus proteins GP, NP and VP35 on VP40 VLP morphology. 2006.

JUDSON, S.; PRESCOTT, J.; MUNSTER, V. Understanding Ebola virus transmission. **Viruses**, v. 7, n. 2, p. 511–521, 2015.

- KACZOR, A. A. et al. Protein–protein docking in drug design and discovery. **Methods in Molecular Biology**, v. 1762, p. 285–305, 2018.
- KAKUDA, T. N.; SCHÖLLER-GYÜRE, M.; HOETELMANS, R. M. W. Pharmacokinetic Interactions between Etravirine and Non-Antiretroviral Drugs. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 50, n. 1, p. 25–39, jan. 2011.
- KAR, S.; LESZCZYNSKI, J. Open access in silico tools to predict the ADMET profiling of drug candidates. **Expert Opinion on Drug Discovery**, v. 15, n. 12, p. 1473–1487, 1 dez. 2020.
- KAR, S.; ROY, K. How far can virtual screening take us in drug discovery? **Expert Opinion on Drug Discovery**, v. 8, n. 3, p. 245–261, 21 mar. 2013.
- KAUSHIK, P. et al. Pharmacophore modeling and molecular docking studies on pinus roxburghii as a target for diabetes mellitus. **Advances in Bioinformatics**, 2014.
- KAWUKI, J.; MUSA, T. H.; YU, X. Impact of recurrent outbreaks of Ebola virus disease in Africa: a meta-analysis of case fatality rates. **Public Health**, v. 195, p. 89–97, jun. 2021.
- KILGORE, P. E. et al. Treatment of Ebola Virus Disease. **Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy**, v. 35, n. 1, p. 43–53, jan. 2015.
- LENNEMANN, N. J. et al. Comprehensive Functional Analysis of N-Linked Glycans on Ebola Virus GP1. **mBio**, v. 5, n. 1, 28 fev. 2014.
- LI, A. P. Screening for human ADME/Tox drug properties in drug discovery. **Drug Discovery Today**, v. 6, n. 7, p. 357–366, abr. 2001.
- LI, H. et al. Development of therapeutics for treatment of Ebola virus infection. **Microbes and Infection**, v. 17, n. 2, p. 109–117, 2015.
- LI, J.; FU, A.; ZHANG, L. An Overview of Scoring Functions Used for Protein–Ligand Interactions in Molecular Docking. **Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences**, v. 11, n. 2, p. 320–328, 15 jun. 2019.
- LIMA, A. H. et al. Molecular Modeling of T. rangeli, T. brucei gambiense, and T. evansi Sialidases in Complex with the DANA Inhibitor. **Chemical Biology and Drug Design**, v. 80, n. 1, p. 114–120, 2012.
- LIPINSKI, C. A. et al. **Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings** *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1997.
- LLC, S. **The PyMOL Molecular Graphics System**, 2015.
- LONG, K. et al. Do Zebrafish Obey Lipinski Rules? **ACS Medicinal Chemistry Letters**, v. 10, n. 6, p. 1002–1006, 13 jun. 2019.
- LUISE, C.; ROBAA, D. Application of Virtual Screening Approaches for the Identification of Small Molecule Inhibitors of the Methyllysine Reader Protein Spindlin1. In: MAVROMOUSTAKOS, T.; KELLICI, T. F. (Eds.). **Rational Drug Design**. 1. ed. New York, NY: Humana Press, New York, NY, 2018. p. 347–370.
- MALVY, D. et al. Ebola virus disease. **The Lancet**, v. 393, n. 10174, p. 936–948, mar. 2019.

- MIRE, C. E.; GEISBERT, T. W. VACCINES AND ANTIVIRALS FOR FILOVIRUSES. In: **Biology and Pathogenesis of Rhabdo- and Filoviruses**. [s.l.] WORLD SCIENTIFIC, 2015. p. 587–620.
- MOSSÉ, Y. P. et al. Identification of ALK as a major familial neuroblastoma predisposition gene. **Nature**, v. 455, n. 7215, p. 930–935, 24 out. 2008.
- MUEGGE, I.; OLOFF, S. Advances in virtual screening. **Drug Discovery Today: Technologies**, v. 3, n. 4, p. 405–411, dez. 2006.
- NATIONAL INSTITUTE OF DIABETES AND DIGESTIVE AND KIDNEY DISEASES. **Etravirine**. [s.l.: s.n.].
- NTIE-KANG, F. An in silico evaluation of the ADMET profile of the StreptomeDB database. **SpringerPlus**, v. 2, n. 1, p. 1–11, 2013.
- NTIE-KANG, F. et al. The potential of anti-malarial compounds derived from African medicinal plants, part II: a pharmacological evaluation of non-alkaloids and non-terpenoids. **Malaria Journal**, v. 13, n. 1, p. 81, 6 dez. 2014.
- O'BOYLE, N. M. et al. Open Babel: An open chemical toolbox. **Journal of Cheminformatics**, v. 3, n. 1, p. 33, 7 dez. 2011.
- OLIVEIRA, A. M. DE. **Introdução à modelagem molecular para química, engenharia e biomédicas: fundamentos e exercícios**. 1ª ed. Curitiba: Appris, 2018.
- ORGANIZATION, W. H. **Ebola virus disease**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ebola-virus-disease>>. Acesso em: 6 ago. 2021.
- PAGADALA, N. S.; SYED, K.; TUSZYNSKI, J. Software for molecular docking: a review. **Biophysical Reviews**, v. 9, n. 2, p. 91–102, 16 abr. 2017.
- PÉREZ, V. E.; SÁNCHEZ-PARRA, C.; VILLAR, S. S. Interacciones medicamentosas de etravirina. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 27, p. 27–31, dez. 2009.
- PETTERSEN, E. F. et al. **UCSF ChimeraX: Structure visualization for researchers, educators, and developers**. *Protein science : a publication of the Protein Society*, 22 jan. 2021. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/pro.3943>>
- PHILLIPS, J. C. et al. **Scalable molecular dynamics with NAMD** *Journal of Computational Chemistry*, 2005.
- PICAZO, E.; GIORDANETTO, F. Small molecule inhibitors of ebola virus infection. **Drug Discovery Today**, v. 20, n. 2, p. 277–286, fev. 2015.
- PINZI, L.; RASTELLI, G. Molecular docking: Shifting paradigms in drug discovery. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 18, 2019.
- PISZCZATOSKI, C. R.; GUMS, J. G. Ervebo (Ebola Zaire Vaccine, Live/rVSVΔG-ZEBOV-GP): The First Licensed Vaccine for the Prevention of Ebola Virus Disease. **Journal of Pharmacy Technology**, v. 36, n. 6, p. 243–250, 14 dez. 2020.
- QUINN, R. J. et al. Developing a Drug-like Natural Product Library. **Journal of Natural Products**, v. 71, n. 3, p. 464–468, 1 mar. 2008.

RAOUFI, E. et al. Docking-Based Screening of Cell-Penetrating Peptides with Antiviral Features and Ebola Virus Proteins as a Drug Discovery Approach to Develop a Treatment for Ebola Virus Disease. In: **Viral Outbreaks [Working Title]**. [s.l.] IntechOpen, 2021.

RHEIN, B. A.; MAURY, W. J. Ebola Virus Entry into Host Cells: Identifying Therapeutic Strategies. **Current Clinical Microbiology Reports**, v. 2, n. 3, p. 115–124, 1 set. 2015.

RIPPHAUSEN, P. et al. Quo Vadis, Virtual Screening? A Comprehensive Survey of Prospective Applications. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 53, n. 24, p. 8461–8467, 23 dez. 2010.

SALMASO, V.; MORO, S. Bridging Molecular Docking to Molecular Dynamics in Exploring Ligand-Protein Recognition Process: An Overview. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, 22 ago. 2018.

SAMPAIO, J. R. C.; SCHÜTZ, G. E. A epidemia de doença pelo vírus Ebola de 2014: o Regulamento Sanitário Internacional na perspectiva da Declaração Universal dos Direitos Humanos. **Cadernos Saúde Coletiva**, v. 24, n. 2, p. 242–247, 7 jul. 2016.

SANT’ANNA, C. M. R. Molecular modeling methods in the study and design of bioactive compounds: An introduction. **Revista Virtual de Química**, v. 1, n. 1, 2009.

SHARMA, V.; WAKODE, S.; KUMAR, H. Structure- and ligand-based drug design. **Chemoinformatics and Bioinformatics in the Pharmaceutical Sciences**, p. 27–53, 2021.

SINGH, S.; BANI BAKER, Q.; SINGH, D. B. Molecular docking and molecular dynamics simulation. In: TEIXEIRA, R. E. (Ed.). **Bioinformatics**. Chennai, China: Elsevier, 2022. p. 291–304.

SLATER, O.; KONTOYIANNI, M. The compromise of virtual screening and its impact on drug discovery. **Expert Opinion on Drug Discovery**, v. 14, n. 7, p. 619–637, 3 jul. 2019.

ŚLEDŹ, P.; CAFLISCH, A. Protein structure-based drug design: from docking to molecular dynamics. **Current Opinion in Structural Biology**, v. 48, p. 93–102, 2018.

SOUZA, S. D. DE. **ESTUDO DE INIBIDORES DE COLINESTERASES APLICANDO TÉCNICAS DE QSAR-2D (HQ SAR) E DOCKING MOLECULAR**. [s.l.] FACULDADE DE FARMÁCIA, 2012.

STEFANIU, A. Introductory Chapter: Molecular Docking and Molecular Dynamics Techniques to Achieve Rational Drug Design. In: **Molecular Docking and Molecular Dynamics**. [s.l.] IntechOpen, 2019. v. ip. 13.

STERLING, T.; IRWIN, J. J. ZINC 15 – Ligand Discovery for Everyone. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 55, n. 11, p. 2324–2337, 23 nov. 2015.

STORN, R.; PRICE, K. Differential Evolution – A Simple and Efficient Heuristic for global Optimization over Continuous Spaces. **Journal of Global Optimization**, v. 11, n. 4, p. 341–359, 1997.

STRINGER, B. et al. PIPENN: Protein Interface Prediction with an Ensemble of Neural Nets. **bioRxiv**, v. 718, p. 2021.09.03.458832, 2021.

STUMPFE, D.; RIPPHAUSEN, P.; BAJORATH, J. Virtual compound screening in drug discovery. **Future Medicinal Chemistry**, v. 4, n. 5, p. 593–602, abr. 2012.

THOMSEN, R.; CHRISTENSEN, M. H. MolDock: A new technique for high-accuracy molecular docking. **Journal of Medicinal Chemistry**, 2006a.

- THOMSEN, R.; CHRISTENSEN, M. H. MolDock: A new technique for high-accuracy molecular docking. **Journal of Medicinal Chemistry**, 2006b.
- TORRES, P. H. M. et al. Key Topics in Molecular Docking for Drug Design. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 18, p. 4574, 15 set. 2019.
- TRIPATHI, A.; MISRA, K. Molecular Docking: A structure-based drug designing approach. **J Bioinform, Genomics, Proteomics**, v. 2, n. 1, p. 1015, 2017.
- VAN DE WATERBEEMD, H.; GIFFORD, E. ADMET in silico modelling: Towards prediction paradise? **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 2, n. 3, p. 192–204, 2003.
- VELÁZQUEZ-LIBERA, J. L. et al. LigRMSD: a web server for automatic structure matching and RMSD calculations among identical and similar compounds in protein-ligand docking. **Bioinformatics**, v. 36, n. 9, p. 2912–2914, 1 maio 2020.
- WAHL, J. et al. Accuracy evaluation and addition of improved dihedral parameters for the MMFF94s. **Journal of Cheminformatics**, v. 11, n. 1, p. 53, 7 dez. 2019.
- WANG, Z. et al. Comprehensive evaluation of ten docking programs on a diverse set of protein–ligand complexes: the prediction accuracy of sampling power and scoring power. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 18, n. 18, p. 12964–12975, 2016.
- WANG, Z. et al. Combined strategies in structure-based virtual screening. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 22, n. 6, p. 3149–3159, 2020.
- WEYER, J.; GROBBELAAR, A.; BLUMBERG, L. Ebola Virus Disease: History, Epidemiology and Outbreaks. **Current Infectious Disease Reports**, v. 17, n. 5, p. 21, 21 maio 2015.
- WHO. **Clinical Management of Patients with Viral Haemorrhagic Fever: A Pocket Guide for the Front-line Health Worker**. [s.l.: s.n.].
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Optimized supportive care for ebola virus disease: clinical management standard operating procedures**. [s.l.: s.n.].
- XIONG, G. et al. ADMETlab 2.0: an integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties. **Nucleic Acids Research**, v. 49, n. W1, p. W5–W14, 2 jul. 2021.
- YADAVA, U. Search algorithms and scoring methods in protein-ligand docking. **Endocrinology&Metabolism International Journal**, v. 6, n. 6, 13 nov. 2018.
- YU, D.-S. et al. The lifecycle of the Ebola virus in host cells. **Oncotarget**, v. 8, n. 33, p. 55750–55759, 15 ago. 2017.
- ZHAO, Y. et al. Toremifene interacts with and destabilizes the Ebola virus glycoprotein. **Nature**, v. 535, n. 7610, p. 169–172, 2016.