

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

DÉBORA SOUZA DOS SANTOS

PROSPECÇÃO *IN SILICO* DE NOVOS LIGANTES CONTRA O SARS-CoV-2

Alfenas/MG

2024

DÉBORA SOUZA DOS SANTOS

PROSPECÇÃO *IN SILICO* DE NOVOS LIGANTES CONTRA O SARS-CoV-2

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Nelson José Freitas da Silveira

Alfenas/MG

2024

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central

Souza dos Santos, Débora.

Prospecção *in silico* de novos ligantes contra o SARS-CoV-2 / Débora
Souza dos Santos. - Alfenas, MG, 2024.

134 f. : il. -

Orientador(a): Nelson José Freitas da Silveira.

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal de
Alfenas, Alfenas, MG, 2024.

Bibliografia.

1. SARS-CoV-2. 2. NSP9. 3. Ácido micofenólico (MPA). 4. Bioisosterismo.
5. Análises farmacocinéticas (ADMET). I. Freitas da Silveira, Nelson José,
orient. II. Título.

PROSPECÇÃO DE MOLÉCULAS ANTIVIRAIS PARA O VÍRUS SARS-CoV-2 PARA FINS FARMACÊUTICOS

O Presidente da banca examinadora abaixo assina a aprovação da Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestra em Biotecnologia pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Biotecnologia

Aprovada em: 23 de agosto de 2024.

Prof. Dr. Nelson José Freitas da Silveira
Presidente da Banca Examinadora
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Prof. Dr. Tiago Henrique
Instituição: Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto

Prof. Dr. José Maurício Schneedorf Ferreira da Silva
Instituição: Universidade Federal de Alfenas



Documento assinado eletronicamente por **Nelson José Freitas da Silveira, Professor do Magistério Superior**, em 25/09/2024, às 14:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1348932** e o código CRC **9EEE5475**.

"Agradeço aos meus pais que lutaram sob o sol para que meu caminho fosse à sombra."

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha imensa gratidão, primeiramente, aos meus pais, Cremilda e Achibaldo, cujo amor incondicional, paciência infinita e acolhimento constante foram fundamentais para minha jornada. Vocês são os pilares da minha vida, nunca desistindo de mim, mesmo nos momentos mais difíceis. Cada conquista que alcancei é um reflexo direto da dedicação e do apoio que sempre me deram.

Aos meus irmãos, Adna, Jalom e Esther, que sempre me encorajaram, incentivaram em cada passo dado. Minhas conquistas são fruto do suporte que me deram. Obrigada por serem não apenas meus irmãos, mas meus amigos mais confiáveis.

Ao meu querido companheiro Danilo, que compartilha a vida comigo e me apoia incondicionalmente. Obrigada por estar ao meu lado em cada etapa, por seu carinho, amizade e confiança. Sua presença tornou cada desafio mais leve e cada conquista mais gratificante. Sou imensamente grata por ter você ao meu lado.

A todos os meus amigos, que foram uma fonte constante de apoio, tanto nos momentos de estudo intenso quanto nos momentos de descontração e diversão, que mantiveram meu equilíbrio durante esta jornada desafiadora. Cada momento foi valioso e significativo para mim.

Ao meu orientador, agradeço imensamente por todo conhecimento compartilhado e apoio ao longo do desenvolvimento deste trabalho. Suas contribuições foram fundamentais para meu crescimento acadêmico e profissional. Agradeço também aos membros da banca de qualificação e defesa, cujos questionamentos e observações aprofundaram e enriqueceram ainda mais este estudo. E ademais, sou grata à instituição (UNIFAL) e à agência de fomento CAPES por investir na formação educacional e viabilizar a produção de conhecimento científico.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Financiamento 001.

E, finalmente, a todos que, de uma forma ou de outra, contribuíram para o meu crescimento e sucesso. Agradeço por cada gesto de apoio, palavra de incentivo e colaboração ao longo desta jornada. Cada um de vocês desempenhou um papel crucial em cada etapa do meu caminho, ajudando-me em minhas realizações. Este

momento de realização não seria possível sem a contribuição generosa de cada um de vocês.

RESUMO

O SARS-CoV-2, inicialmente circulando em ciclos enzoóticos, se disseminou para os humanos, desencadeando uma pandemia global declarada pela OMS em março de 2020. Apesar de apresentar um período de incubação prolongado e uma taxa evolutiva lenta, sua alta capacidade de infecção contribuiu para uma rápida disseminação. Variantes genômicas surgiram ao longo do tempo, exigindo análise contínua devido ao potencial impacto na transmissão e gravidade da doença, refletindo na ocorrência de algumas linhagens do vírus apresentarem certa resistência às vacinas, adicionando novos desafios ao controle da doença. Nesse contexto, ferramentas da bioinformática, como bioisosterismo, *docking molecular* e análises físico-químicas, farmacocinéticas (ADMET) e de drogabilidade têm se mostrado essenciais no desenvolvimento de fármacos, permitindo identificar e otimizar moléculas com potencial antiviral, além de estudo de interações entre complexos para identificação dos energeticamente estáveis. A presente pesquisa aplicou essas técnicas para definir uma molécula alvo e prospecção de ligantes com potencial farmacológico antiviral contra a COVID-19. Os resultados indicaram a NSP9 como receptor com alto nível conservativo e que, apesar de apresentar "limitações de drogabilidade", a interação receptor-ligante com o ácido micofenólico (MPA) apresentou interações energeticamente favoráveis, especialmente o complexo 1b. Além disso, por meio do bioisosterismo, foi gerado o isóster 1c, que demonstrou propriedades físico-químicas e farmacocinéticas superiores aos demais bioisósteros. No entanto, dentre todos, o MPA ainda se mostrou o ligante com maior potencial antiviral. Assim, a pesquisa sugere a continuidade dos estudos com os compostos MPA e 1c, além da exploração de outras técnicas de bioisosterismo, com o objetivo de obter melhores resultados e ampliar o potencial terapêutico contra a COVID-19.

Palavras-chave: SARS-CoV-2; NSP9; ácido micofenólico (MPA); bioisosterismo; análises farmacocinéticas (ADMET).

ABSTRACT

SARS-CoV-2, initially circulating in enzootic cycles, eventually spread to humans, triggering a global pandemic declared by the WHO in March 2020. Despite having a prolonged incubation period and a relatively slow evolutionary rate, the virus's high infectious capacity contributed to its rapid transmission worldwide. Over time, new genomic variants emerged, highlighting the need for continuous monitoring to assess their impact on transmission rates and disease severity. Certain strains have shown partial resistance to vaccines, introducing additional challenges for disease control. In this context, bioinformatics tools, including bioisosterism, molecular docking, and analyses of physicochemical, pharmacokinetic (ADMET), and druggability properties, have become essential in antiviral drug development. These techniques support the identification and optimization of antiviral molecules, as well as the study of molecular interactions to identify energetically stable complexes. This research applied these bioinformatics approaches to define a target molecule and screen ligands with antiviral pharmacological potential against COVID-19. The findings highlighted NSP9 as a receptor with a high degree of conservation. Although it exhibited some "druggability limitations," the receptor-ligand interaction with mycophenolic acid (MPA) showed energetically favorable binding, especially in complex 1b. Additionally, through bioisosterism, an isoster called 1c was generated, demonstrating superior physicochemical and pharmacokinetic properties compared to other bioisosteres. Nevertheless, MPA remained the ligand with the highest antiviral potential among those evaluated. Thus, the research suggests continued investigation of the MPA and 1c compounds, alongside further exploration of additional bioisosterism techniques, with the aim of achieving improved therapeutic outcomes and enhancing the potential for effective treatments against COVID-19.

Keywords: SARS-CoV-2; NSP9; mycophenolic acid (MPA); bioisosterism; pharmacokinetic analyses (ADMET).

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Sintomas e evolução da COVID-19.	22
Figura 2 -	Estrutura viral do SARS-CoV-2.	23
Figura 3 -	Genoma do SARS-CoV-2.	24
Figura 4 -	Ciclo viral em esquema ilustrativo.	25
Figura 5 -	Estrutura das proteínas não estruturais (NSPs) de SARS-CoV-2. ...	26
Figura 6 -	Estrutura das proteínas estruturais e acessórias do SARS-CoV-2. .	27
Figura 7 -	Variantes de SARS-CoV-2 e a localização das mutações na proteína.	35
Figura 8 -	Detecção de linhagens relevantes de SARS-CoV-2 no Brasil entre 2020 a 2024.	36
Figura 9 -	Distribuição temporal das variantes de SARS-CoV-2 no Brasil, indicando presença de subvariantes da Ômicron.	41
Figura 10 -	Fórmula estrutural do Remdesivir.	43
Figura 11 -	Mecanismo de ação do Remdesivir.	44
Figura 12 -	Fórmula estrutural do Baricitinibe.	45
Figura 13 -	Fórmula estrutural do Plaxlovid.	46
Figura 14 -	Fórmula estrutural do Molnupiravir.	46
Figura 15 -	Mecanismo de ação do Molnupiravir.	48
Figura 16 -	Representação das classes de proteínas.	50
Figura 17 -	Modelos de reconhecimento molecular conhecidos.	55
Figura 18 -	Classificação das vertentes da bioinformática.	56
Figura 19 -	Níveis ômicos alvo de estudos <i>in silico</i> por ferramentas computacionais da bioinformática.	57
Figura 20 -	Fluxograma dos passos de estudo <i>in silico</i> de alvo biológico.	59
Figura 21 -	Aplicações do docking molecular.	62

Figura 22 - Representação esquemática dos tipos de bioisosterismo.	63
Figura 23 - Classes de drogas em que o bioisosterismo pode ser aplicado.	65
Figura 24 - Ordem das análises no projeto.	66
Figura 25 - Análises de drogabilidade e hidrofobicidade do receptor, a NSP9. .	73
Figura 26 - Visualização das interações receptor-ligante do complexo 1a.	76
Figura 27 - Visualização das interações receptor-ligante do complexo 1b.	78
Figura 28 - Características da molécula ácido micofenólico e potencial de drogabilidade.	82
Figura 29 - Representação gráfica da interação entre o receptor-ligante, dos dois complexos (1a, 1b).	91
Figura 30 - Regiões selecionada para realização do bioisosterismo.	93
Figura 31 - Estrutura química do ácido micofenólico e bioisósteros gerados no primeiro ponto analisado.	93
Figura 32 - Estrutura química do ácido micofenólico e bioisósteros gerados no segundo ponto analisado.	94
Figura 33 - Grupos substituintes dos dois compostos mais ajustados aos parâmetros das análises pós bioisosterismo.	95

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Compilação das funções das proteínas não estruturais (NSPs) do SARS-CoV-2.	32
Quadro 2 - Organização conformacional das proteínas.	51
Quadro 3 - Monooxigenases da proteína citocromo P450 na etapa de metabolismo da farmacocinética de um medicamento.	89

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Bioisósteros clássicos e não clássicos.	63
Tabela 2 -	Plataformas utilizadas e respectivas análises extraídas.	69
Tabela 3 -	Informações referentes ao melhor ligante obtido no <i>docking molecular</i> , o ácido micofenólico.	74
Tabela 4 -	Resultado da duas melhores conformações produzida a partir do <i>docking molecular</i>	75
Tabela 5 -	Propriedades da RO5 de acordo com <i>drug-like</i> e classe dos compostos.	84
Tabela 6 -	Propriedades físico-químicas do ácido micofenólico.	84
Tabela 7 -	Parâmetros-chave que descrevem ação farmacocinética de uma molécula.	85
Tabela 8 -	Características farmacocinéticas e de toxicidade do ácido micofenólico.	86

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

COVID-19	<i>Corona Virus Disease 2019</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
ACE2	Enzima conversora de angiotensina II
RNA	Ácido ribonucleico
NPS	Proteínas não estruturais
ICTV	Comitê internacional de taxonomia de vírus
SARSr-CoV	<i>Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus</i>
S	Espícula
M	Membrana
N	Nucleocapsídeo
E	Envelope
RBD	<i>Receptor Binding Domain</i>
ORFs	<i>Open reading frames</i>
IFN	<i>Interferon</i>
IFN- β	<i>Interferon beta-1b</i>
IFN- γ 1	<i>Interferon gamma 1</i>
IL-8	Interleucina 8
RTC	Complexos replicase-transcriptase
PHB1	<i>Proteins prohibitin 1</i>
PHB2	<i>Proteins prohibitin 2</i>
PLpro	<i>Papain-like protease</i>
3CLpro	<i>Protease 3-cysteine like</i>
NUP62	<i>Nuclear pore glycoprotein p62</i>
NPC	<i>Nuclear pore complexes</i>
NF-KB	<i>Factor nuclear kappa B</i>
RNases	Ribonucleases
pp1a	Poliproteína 1a
pp1ab	Poliproteína 1ab
ATP	Adenosina trifosfato
SAM	S-adenosilmetionina
DMVs	Vesículas de membrana dupla

SsRNA	<i>Positive-sense single-stranded RNA viruses</i>
ExoN	Exoribonuclease 3'-5'
N7-MTase	N7-metiltransferase C-terminal
VOI	Variante de interesse
VOC	Variante de preocupação
FCS	Sítio de clivagem da furina
PCR	Reação em cadeia da polimerase
DNA	Ácido desoxirribonucleico
NTP	Nucleosídeo trifosfato ativo
RBD	<i>Receptor-binding domain</i>
NTD	Região N Terminal
SNPs	Polimorfismos de nucleotídeo único
JAKs	Enzimas janus quinases
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
IL-6	Interleucina-6
RdRp	RNA polimerase
NHC	β -D-N4-hidroxicitidina
ADMET	Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade
MPA	Ácido micofenólico
IMPDH	Enzima Inosina Monofosfato Desidrogenase
RO5	Regra dos cinco de Lipinski
nON	Aceptores de hidrogênio
nOHNH	Doadores de hidrogênio
LR	Ligação rotacional
TPSA	<i>Topological polar surface area</i>
MM	Massa molecular
Fsp ³	Fração de carbonos sp ³
Log P	Logaritmo do coeficiente de distribuição n-octanol/água
Log S	Logaritmo da solubilidade em mol/L
%ABS	Porcentagem de absorção oral teórico
P-gp	Substrato de glicoproteína P
LD50	Toxicidade aguda oral
BHE	Barreira hematoencefálica

PK	Farmacocinético
pK _a	Logaritmo negativo da constante de dissociação ácida (K _a)
Caco-2	Permeabilidade intestinal humana
HIA	Absorção intestinal humana
HOB	Biodisponibilidade oral humana
BBB	Penetração da barreira hematoencefálica
PPB	Ligação à proteína plasmática
CYP450	Inibição do citocromo
HLMS	Estabilidade microssomal do fígado humano
Cl	Depuração
t _{1/2}	Tempo de meia-vida
hERG	Toxicidade cardíaca
AMES	Mutagenicidade

LISTA DE SÍMBOLOS

®	Marca registrada
ω	Ómega
Σ	Sigma, matematicamente é símbolo de somatório
Δ	Delta
α	Alfa

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	18
1.1	OBJETIVOS.....	19
1.1.1	Objetivo geral.....	19
1.1.2	Objetivos específicos.....	19
2	DESENVOLVIMENTO.....	20
2.1	SARS-CoV-2.....	20
2.1.1	Transmissão e manifestação clínica.....	20
2.1.2	Partícula viral e genoma do SARS-CoV-2.....	22
2.1.3	Processo infeccioso viral.....	25
2.1.4	Variantes virais.....	34
2.1.5	Tratamento: vacina e fármacos.....	42
2.2	BIOINFORMÁTICA: DEFINIÇÃO, OBJETO DE ESTUDO E HISTÓRIA.....	49
2.2.1	<i>Docking molecular: definição e aplicabilidade.....</i>	59
2.2.2	Bioisosterismo: definição, história e aplicabilidade.....	62
3	METODOLOGIA.....	66
3.1	TRIAGEM DOS RECEPTORES.....	66
3.2	ANÁLISE DOS RECEPTORES.....	67
3.3	TRIAGEM DAS MOLÉCULAS LIGANTES.....	67
3.4	<i>DOCKING MOLECULAR.....</i>	68
3.5	PERFIL FÍSICO-QUÍMICO, FARMACOCINÉTICO E TOXICOLÓGICO (ADMET) E DE DROGABILIDADE.....	69
3.6	ANÁLISE DE BIOISOSTERISMO.....	70
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	72
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	97
	REFERÊNCIAS.....	98
	APÊNDICES.....	128

1 INTRODUÇÃO

Em 31 de dezembro de 2019, a Organização Mundial da Saúde (OMS) foi notificada sobre a presença de uma nova doença viral desencadeada pelo SARS-CoV-2, detectada na China. Quase 3 meses após, em 12 de março de 2020, a OMS oficialmente declarou que o mundo estava enfrentando uma nova pandemia, identificando-o como agente etiológico da coronavírus 2019 (COVID-19) (Onyeaka *et al.*, 2021). Anteriormente, sua circulação era somente em ciclos enzoóticos, se dispersando para outras populações mais susceptíveis, como os humanos, o que o caracteriza como virose emergente (Borges *et al.*, 2020).

Embora, em relação a outros coronavírus, o SARS-CoV-2 apresente um período de incubação maior, taxa evolutiva lenta (devido aos mecanismos de autocorretores) e mutabilidade similar a outros vírus da família *Coronaviridae* e com genoma de RNA, o mesmo possui uma alta capacidade de infecção, responsável pela sua rápida disseminação em escala mundial (Robson *et al.*, 2020; Qin *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2021).

No final do ano de 2020, após aproximadamente um ano de circulação entre os humanos, surgiram as variantes, geradas a partir das variações genômicas virais, (Carabelli *et al.*, 2023), as quais se acumulam durante a propagação e devem ser analisadas por sua evolução contínua, principalmente, em relação a como podem afetar a manifestação da doença e características virais, como transmissibilidade, patogenicidade e antigenicidade (Zhang *et al.*, 2020; Carabelli *et al.*, 2023; Anand; Long; Chandran, 2024).

Outro fator de extrema importância, é a questão da evasão imunológica, onde há indícios crescentes que algumas linhagens do vírus estão ficando cada vez mais resistente às ações das vacinas (Prathiviraj *et al.*, 2023).

Nesta perspectiva, ferramentas computacionais como bioisosterismo, *docking molecular*, análises físico-químicas, ADMET (Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção, Toxicidade) e de drogabilidade são importantes nas etapas de descoberta e desenvolvimento de fármacos, respectivamente, auxiliando na otimização de medicamentos (Jayashree; Nikhil; Paul, 2022), estudo de interações entre proteína-ligante gerando previsão de afinidade em relação as conformações de ligação (Shamin *et al.*, 2024) e exame da bioatividade da molécula por parâmetros da farmacocinética e toxicocinética (Flores-Holguín; Frau; Glossman-Mitnik, 2021). Com

isto, este estudo se propõe, por meio de ferramentas computacionais, a triar receptores mais ajustados e potenciais candidatos moleculares com ação antiviral contra o SARS-CoV-2.

1.1 OBJETIVOS

Prospectar molécula antiviral contra a COVID-19 através de ferramentas de bioinformática.

1.1.1 Objetivo geral

Estudar o SARS-CoV-2 para definição de uma molécula alvo e perscrutação de ligantes com potencial farmacológico antiviral contra a COVID-19.

1.1.2 Objetivos específicos

- a) Pesquisar receptor com alto nível conservativo de potencial capacidade para uso como alvo farmacológico;
- b) Uso de ferramentas da bioinformática para investigar possíveis fármacos e desenho destes, caso necessário;
- c) Validar os resultados obtidos por verificação farmacocinética, toxicológica e de interação receptor-ligante;
- d) Analisar comparativamente a molécula ligante selecionada com os ligantes desenhados por bioisosterismo a partir da mesma.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 SARS-COV-2

A COVID-19, doença causada pelo SARS-CoV-2, foi identificada pela primeira vez em dezembro de 2019 na cidade de Wuhan, China, quando um aumento nos casos de uma "pneumonia misteriosa" foi observado (Velavan; Meyer, 2020). Devido à sua alta taxa de transmissão, o vírus se espalhou rapidamente em escala global, levando a Organização Mundial da Saúde (OMS) a declará-lo como uma pandemia (Organização Pan-Americana da Saúde, 2020). Até abril de 2024, foram relatados globalmente 775.3 milhões de casos confirmados, resultando em 7.01 milhões de mortes, o que em classificatoriamente, expressa que o Brasil está na 6ª e 2ª posição, respectivamente (Organização Mundial da Saúde, 2023).

2.1.1 Transmissão e manifestação clínica

A transmissão da COVID-19 segue padrões similares a outras doenças respiratórias, ocorrendo através do trato respiratório por meio de gotículas expelidas durante tosses, espirros ou fala de indivíduos infectados. Além disso, o contágio pode ocorrer por contato direto ou indireto com as mucosas da boca, olhos ou nariz, tanto de pessoas sintomáticas quanto assintomáticas (Auwaerter, 2020). Estudos indicam que o vírus pode permanecer viável em diversas superfícies por horas e até dias, especialmente, em aço inoxidável e plástico de forma mais estável (Fundação Oswaldo Cruz, 2020).

A infecção pelo SARS-CoV-2 pode se manifestar clinicamente de três maneiras principais: indivíduos assintomáticos, pacientes com doença respiratória aguda e aqueles com diferentes graus de pneumonia (Lai *et al.*, 2020). Os sintomas mais comuns no início da infecção incluem febre, tosse, mialgia e fadiga, podendo estar acompanhados por secreção respiratória, dor de cabeça e diarreia (Ochani *et al.*, 2021).

Embora alguns desses sintomas se assemelhem aos de outras infecções virais respiratórias, como a gripe causada pelo vírus influenza, como presença de coriza, dor de cabeça, fadiga, dor de garganta e, como ponto de alerta, a dispneia e febre alta, a COVID-19 apresenta sintomas clínicos com maior probabilidade de

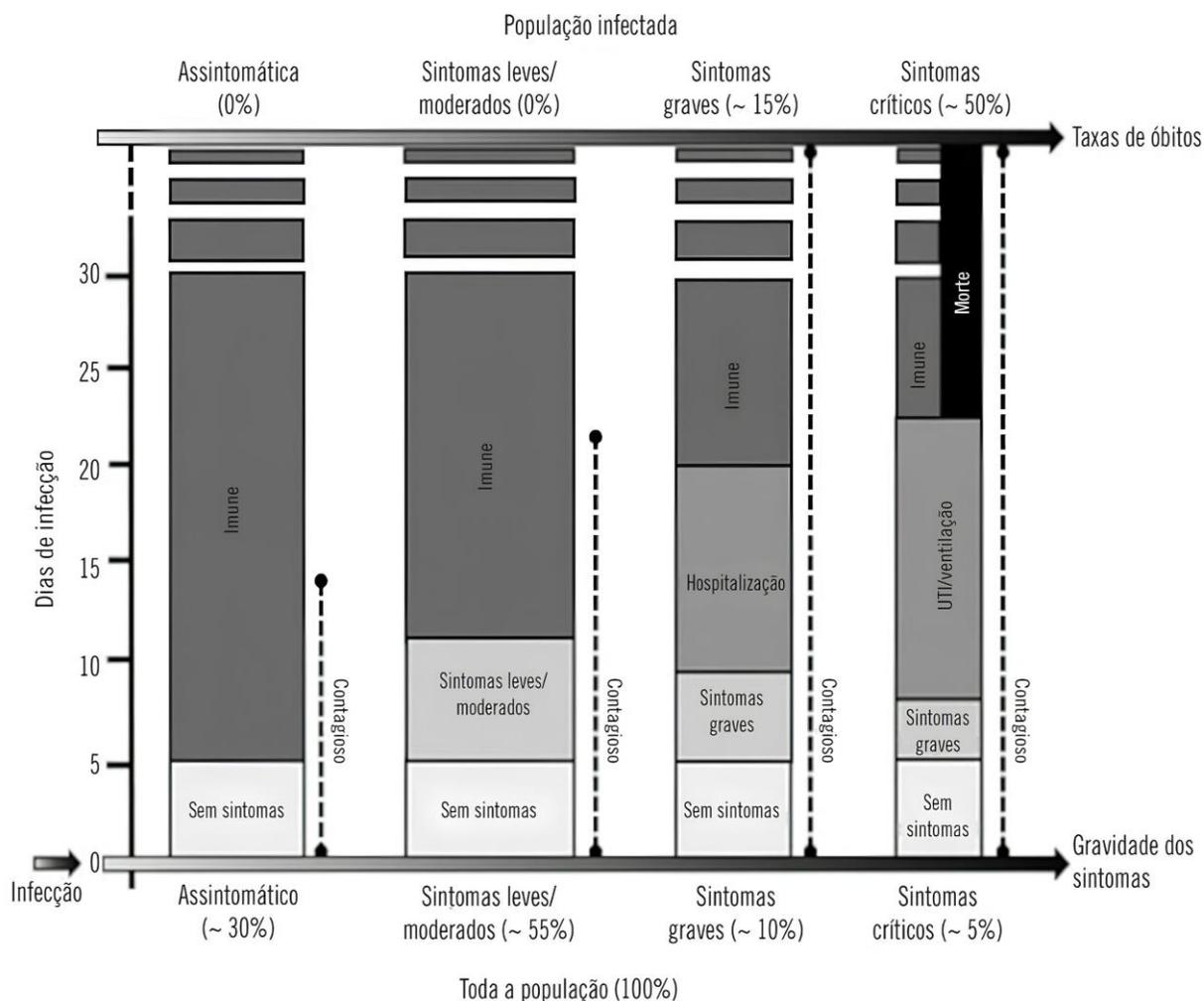
evoluir para formas graves e críticas, exigindo suporte respiratório e oxigenoterapia (Organização Mundial da Saúde, 2024; De Oliveira, 2020). Também pode haver semelhanças com a dengue a partir de sintomas, como febre alta, dor no corpo, ausência de apetite e perda de palato (Brasil, 2024).

A grande maioria dos infectados, cerca de 80%, não desenvolve formas graves da doença, enquanto aproximadamente 20% necessitam de cuidados hospitalares e somente 15% destes requerem cuidados intensivos (Pereira; Da Silva, 2022). Embora a maioria dos pacientes tenha um bom prognóstico, é importante ressaltar que idosos e pessoas com comorbidades, como diabetes, doenças cardiovasculares e renais, correm maior risco de desenvolver formas mais graves da doença, incluindo pneumonia, síndrome do desconforto respiratório agudo e disfunções cardíacas, hepáticas e renais (Liu *et al.*, 2020).

A alta infectividade do vírus SARS-CoV-2 se deve à sua capacidade de reconhecer a enzima conversora de angiotensina II (ACE2) como receptor de entrada. A ACE2 está presente em diversos tecidos humanos, como coração, intestino delgado, tireoide, rins, tecido adiposo e pulmões, que são, portanto, órgãos preferencialmente infectados pelo vírus (Beyerstedt; Casaro; Rangel, 2021).

A transição da manifestação inicial da COVID-19 para o quadro séptico é gradual, sendo o comprometimento de órgãos além dos pulmões caracterizado, principalmente, por insuficiência cardíaca e danos renais. Isso leva aproximadamente 25% dos pacientes críticos a necessitar de terapia renal substitutiva, como diálise e hemodiálise (Yang *et al.*, 2020). Estima-se que mais de 50% dos pacientes críticos possam evoluir para sepse, muitas vezes desencadeada por infecções secundárias (Zhou *et al.*, 2020). A Figura 1 apresenta a frequência estimada dos sintomas e a evolução da COVID-19 na população em geral.

Figura 1 - Sintomas e evolução da COVID-19.



Fonte: Xavier *et al.* (2020).

2.1.2 Partícula viral e genoma do SARS-CoV-2

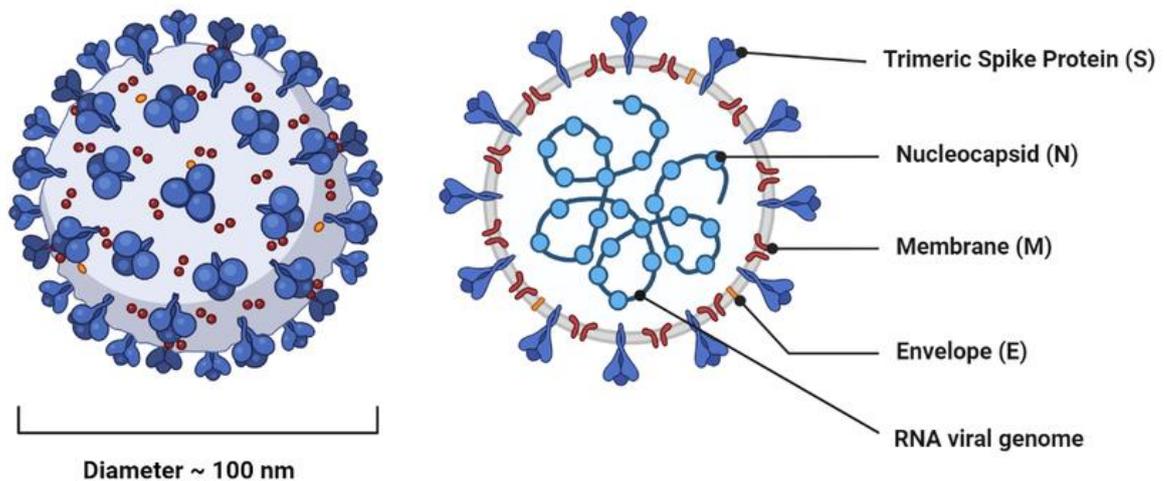
O RNA genômico do vírus responsável pela COVID-19 é um dos maiores de RNA, com cerca de 30 kB de tamanho. Seu genoma é composto por RNA de sentido positivo, com *Cap* na extremidade 5' e poliadenilado na extremidade 3'. Esse genoma codifica tanto proteínas estruturais como não estruturais (NPS), além de proteínas acessórias (Borges *et al.*, 2020).

De acordo com a sua evolução, esse vírus foi classificado pelo Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV) como pertencente à espécie *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus* (SARSr-CoV) como segunda estirpe, ou seja, *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2* (SARS-CoV-2), do gênero *Betacoronavirus*, subfamília *Coronavirinae*, família *Coronaviridae*, ordem

Nidovirales e reino Riboviria (Gorbalenya *et al.*, 2020).

Assim como outros coronavírus, em referência ao SARS-CoV-1, apresenta proteínas estruturais como a proteína de espícula (S), a proteína de membrana (M), a proteína do nucleocapsídeo (N) e a proteína do envelope viral (E) (Figura 2). Os trímeros de proteína S dos coronavírus criam projeções na superfície viral, assemelhando-se a coroas quando observados através de microscópios eletrônicos, originando assim o nome "coronavírus" (Helmy *et al.*, 2020).

Figura 2 - Estrutura viral do SARS-CoV-2.



Fonte: Napitupulu *et al.* (2023).

No que diz respeito às proteínas estruturais, a proteína S é dividida em duas regiões distintas: S1, responsável pela ligação ao receptor, e S2, encarregada da fusão das membranas. A região S1 abriga os domínios de ligação ao *Receptor Binding Domain* (RBD), os quais desempenham um papel crucial na interação do vírus com o receptor nas células hospedeiras, determinando, assim, o tropismo celular e a propagação viral (Heald-Sargent; Gallagher, 2012).

Entre as regiões S1 e S2, estão localizados os sítios de clivagem, que podem ser alvos de proteases celulares específicas, dependendo do tipo de coronavírus. A região S2 é composta por um peptídeo de fusão, um sítio de clivagem adicional, regiões de repetição *Heptad*, uma região transmembrana e um domínio citoplasmático (Heald-Sargent; Gallagher, 2012; Lu *et al.*, 2020).

A proteína de envelope (E) é a menor das proteínas estruturais e está presente em menor quantidade na partícula viral em formação comparativamente às

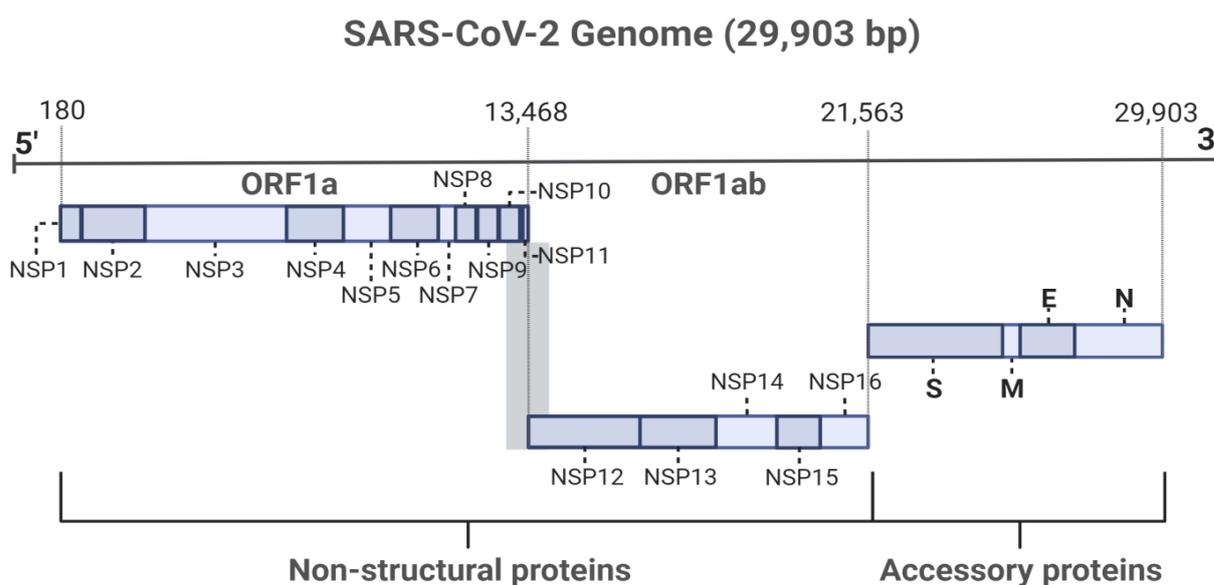
outras proteínas estruturais, apesar de ser expressa em grande quantidade durante a replicação viral na célula hospedeira. Embora sua função não esteja completamente esclarecida, sabe-se que essa proteína desempenha um papel no processo de montagem e liberação das partículas virais (Heald-Sargent; Gallagher, 2012).

A proteína de membrana (M) é mais abundante no envelope viral e desempenha um papel essencial na montagem das partículas virais, determinando o local de liberação do vírus e a morfologia do envelope. Além disso, sua interação com a nucleoproteína (N) estabiliza o nucleocapsídeo (Malik, 2020).

A nucleoproteína (N) se liga ao RNA genômico, formando o nucleocapsídeo, que está envolvido na replicação, transcrição e tradução do RNA viral. Além disso, atua como um antagonista da resposta de interferon e repressor da via de interferência do RNA, promovendo, assim, a replicação viral (Borges *et al.*, 2020).

Além das proteínas estruturais, o genoma do SARS-CoV-2 também codifica proteínas acessórias e proteínas não estruturais (NSPs). As NSPs são encontradas nas open reading frames (ORFs) 1a e 1b, as quais codificam NSP1 a NSP11 e NSP12 a NSP16, respectivamente (Figura 3) (Tam *et al.*, 2023).

Figura 3 - Genoma do SARS-CoV-2.



Fonte: Tam *et al.* (2023).

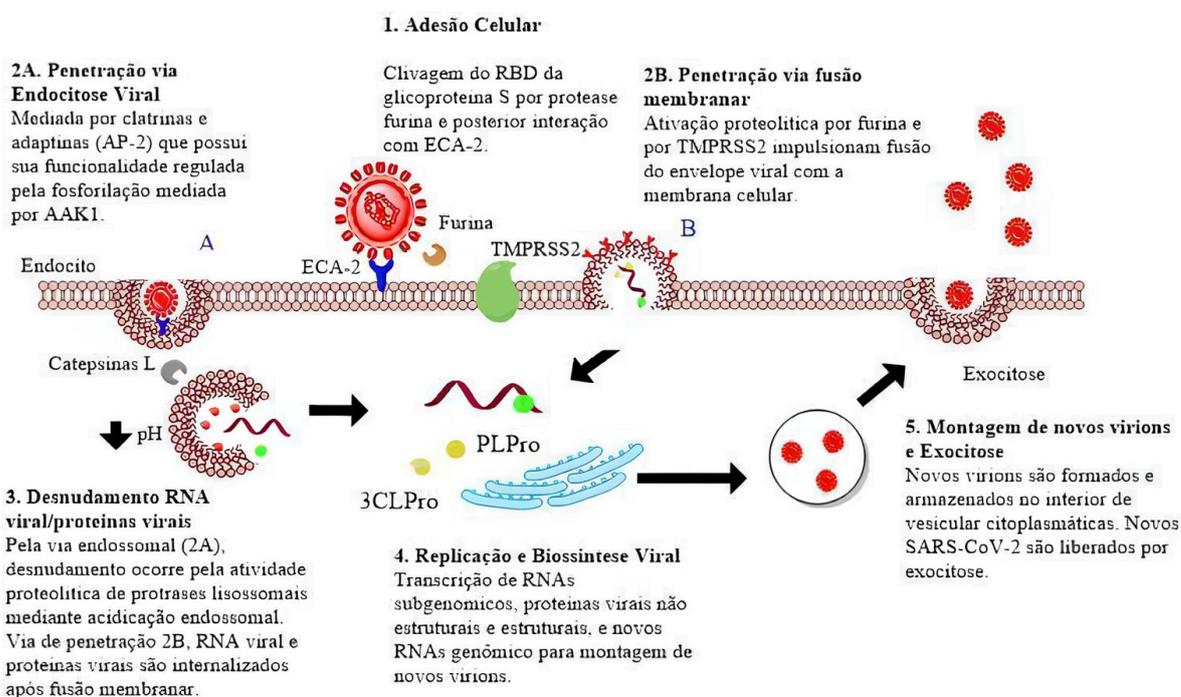
Essas ORFs podem ser transcritas independentemente para produzir a poliproteína 1a (pp1a, NSP1 a NSP11) ou podem incluir ambas as ORFs em

sequência para produzir a pp1ab. Para isso, o vírus utiliza parte da NSP11 (13pb) da ORF 1a para modificar a leitura da sequência. Embora a sequência dessa proteína seja composta principalmente por pp1b, aproximadamente 99%, e apenas 1% por pp1a (Tam *et al.*, 2023).

2.1.3 Processo infeccioso viral

O tropismo dos coronavírus, tem como alvo células epiteliais do trato respiratório e cardiovasculares, além de células da mucosa (Sun *et al.*, 2020; Pessanha *et al.*, 2021). Após contato com a célula hospedeira, durante a infecção viral, a glicoproteína S da partícula viral interage com receptores celulares, possibilitando a fusão direta do envelope viral com a membrana celular ou a penetração do vírus na célula por endocitose mediada por receptor (De Almeida *et al.*, 2020), dando início ao ciclo viral (Figura 4).

Figura 4 - Ciclo viral em esquema ilustrativo.



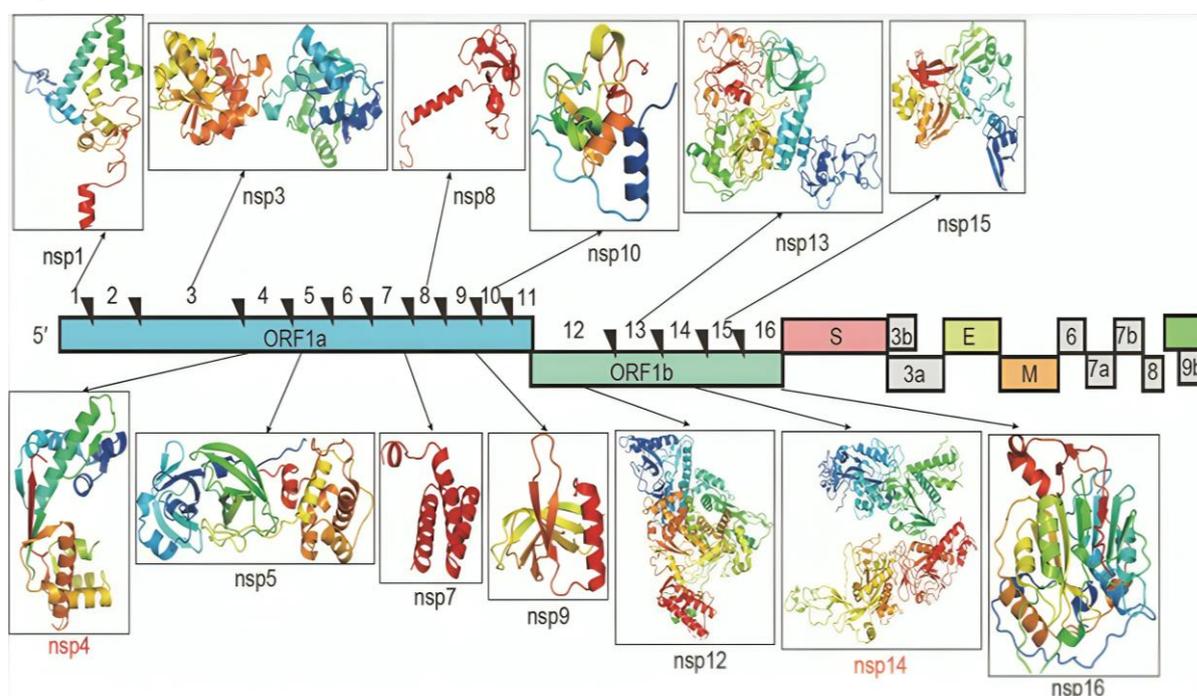
Fonte: De Almeida *et al.* (2020).

A proteína *espícula* facilita a fusão do envelope viral com a membrana endossomal a partir de interação com o receptor ACE2, liberando o RNA genômico

viral no citoplasma. Inicialmente, o genoma viral atua como um RNA mensageiro, e a região 5' do genoma, composta pelas ORFs 1a e 1b da polimerase, traduzida para gerar as poliproteína replicase 1a e 1ab (Da Silva, 2021).

A tradução da ORF1a é induzida a partir de mudança no códon de leitura do ribossomo, já a ORF1ab é pelo deslocamento de quadro (De Almeida *et al.*, 2020). As poliproteínas pp1a e pp1ab são subsequentemente processadas por proteases virais para formar 16 proteínas não estruturais, denominadas nsp1-nsp16, que desempenham um papel crucial no complexo de replicação (Figura 5) (Robson *et al.*, 2020; Da Silva, 2021).

Figura 5 - Estrutura das proteínas não estruturais (NSPs) de SARS-CoV-2.



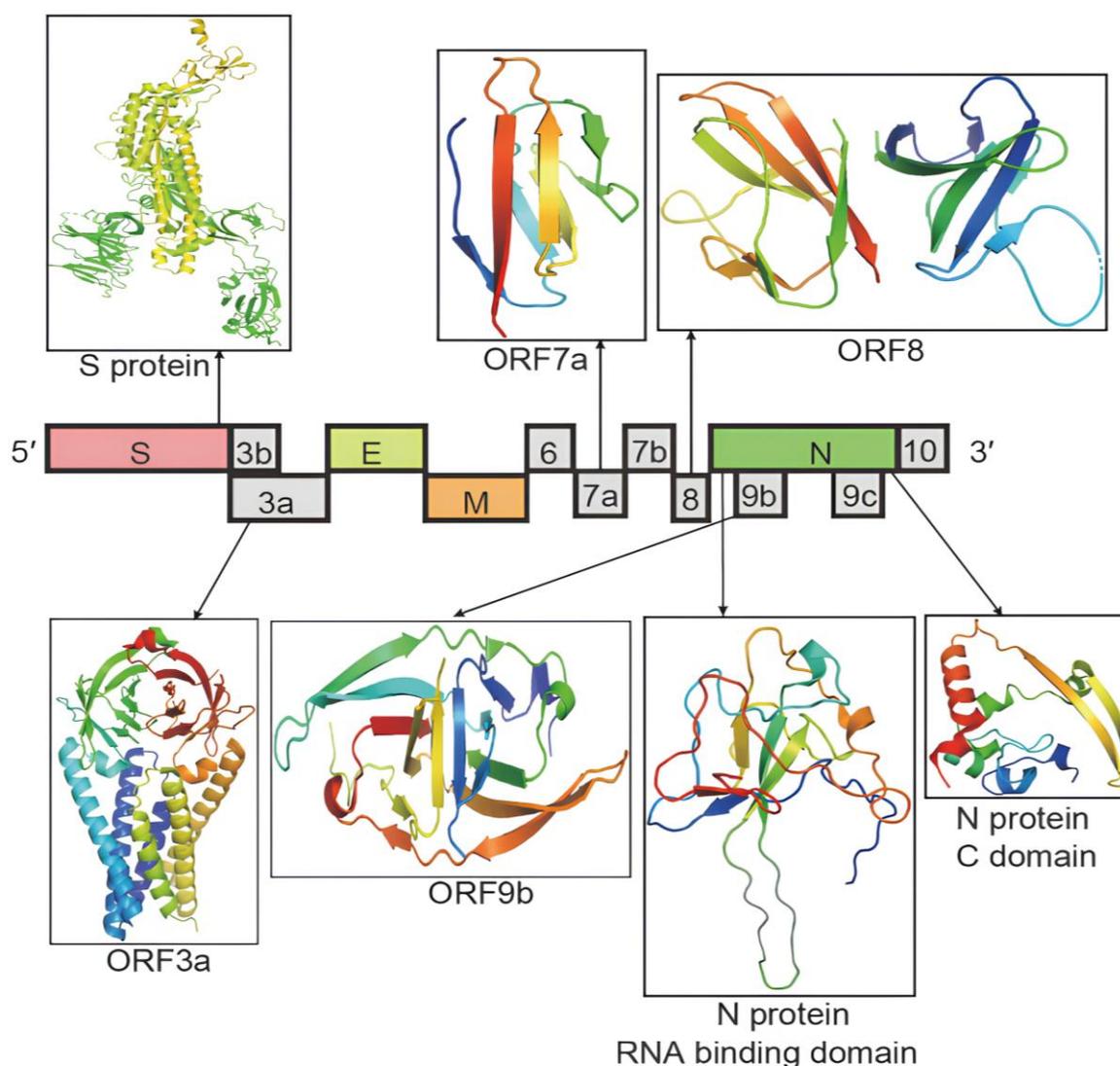
Fonte: Bai; Zhong; Gao (2022).

Legenda: As proteínas em vermelho (nsp4, nsp14) representam aquelas cuja estrutura não está resolvida ou sem ID no banco de dados *Protein Data Bank* (PDB), proteínas em preto são de estruturas já resolvidas, porém não especificadas seu ID no PDB pelo autor.

Estas proteínas não estruturais se organizam em membranas gerando vesículas de membranas duplas, onde ocorre a síntese do RNA genômico e a transcrição de mRNA subgenômico. Os RNAs subgenômicos, por sua vez, dão origem a todas as proteínas localizadas após a ORF1b, e cada RNA subgenômico possui uma sequência inicial comum na extremidade 5' semelhante à sequência inicial presente no RNA genômico (Bai; Zhong; Gao, 2022).

Os RNAs subgenômicos são então traduzidos para produzir as proteínas estruturais (S, M, N, E) e as proteínas acessórias (Figura 6) (Borges *et al.*, 2020). O RNA genômico replicado, forma um complexo com a proteína N, originando o nucleocapsídeo com estrutura helicoidal (Bai; Zhong; Gao, 2022). As proteínas estruturais do vírus são inseridas no Retículo Endoplasmático (ER). O nucleocapsídeo é inserido no compartimento intermediário entre o complexo de Golgi e o retículo endoplasmático, onde ocorre a formação da partícula viral que são, então, encapsuladas em vesículas antes de serem transportadas e liberadas da célula por exocitose (Hasöksüz; Kiliç; Saraç, 2020).

Figura 6 - Estrutura das proteínas estruturais e acessórias do SARS-CoV-2.



Fonte: Bai; Zhong; Gao (2022).

Legenda: As proteínas são de estruturas já resolvidas, porém não especificadas seu ID no PDB pelo autor.

Além da replicação viral, há fatores codificados no genoma viral que podem proteger a replicação, interferindo na resposta imune do hospedeiro. Uma estratégia viral comum é reduzir a resposta imune inata, interrompendo processos celulares como autofagia e síntese de mediadores intracelulares pela via de interferon, além de bloquear entradas ribossomais, clivando RNA mensageiro do hospedeiro e evitando o transporte de moléculas para o meio interno e externo do núcleo celular (Tam *et al.*, 2023).

Esses fatores de virulência codificados pelas NSPs atuam na interrupção da resposta do hospedeiro, impedindo o hospedeiro de montar uma resposta imune eficaz contra o vírus e limitando, assim, a infecção, enquanto, simultaneamente, o vírus promove a síntese e montagem de novas partículas virais (Figura 5) (Tam *et al.*, 2023). Portanto, compreender como as NSPs age para reduzir a resposta imune inata é importante para identificar alvos terapêuticos que possam inibir a replicação viral e permitir que o hospedeiro monte uma resposta imune robusta.

• **Proteína não estrutural 1 (NSP1)**

A NSP1 bloqueia a tradução de proteínas do hospedeiro ao se ligar subunidade ribossômico 40s do RNA mensageiro por meio do domínio Carboxi terminal. Isso impede a síntese de proteínas cruciais na resposta imune inata, incluindo IFN- β , IFN- γ , IL-8 e ácido retinóico indutor de gene 1, resultando em apoptose. Além disso, a NSP1 recruta exonucleases que degradam o RNA mensageiro do hospedeiro. Esses fatores de virulência reduzem a capacidade da célula hospedeira de iniciar uma resposta imune inata, promovendo, assim, a replicação viral (Afsar *et al.*, 2022).

• **Proteína não estrutural 2 (NSP2)**

Possui interação com ribossomo e complexos de replicação-transcrição (RTC), além de participar do acoplamento da transcrição viral no processo de tradução (Wu *et al.*, 2022). Apesar de não ser essencial na replicação, sua deleção mitiga o crescimento e síntese de RNA (Bai; Zhong; Gao, 2022).

A NSP2 interage com as proteínas do hospedeiro *proteins prohibitin 1* (PHB1) e *prohibitin 2* (PHB2). Ambas as proteínas estão envolvidas em diferentes atividades celulares, como a morfologia das mitocôndrias e a transcrição de fatores

regulatórios, além de associada como receptor para a entrada de vírus *Chikungunya* e Dengue 2 nas células (Gamble *et al.*, 2007).

- **Proteína não estrutural 3 (NSP3)**

Esta proteína é semelhante a uma *papain-like protease* (PLpro) que quebra a região N-terminal do pp1a para liberar NSP1 a NSP3 da poliproteína sintetizada. Além disso, está envolvida na clivagem e modificações pós-traducionais das proteínas hospedeiras, relacionadas à resposta imune antiviral (Tam *et al.*, 2023).

- **Proteína não estrutural 4 (NSP4)**

A NSP4 é uma proteína transmembrana que faz parte do complexo de replicação viral dentro da célula infectada. Ela está envolvida na modificação da membrana do retículo endoplasmático para a formação de dupla membrana, juntamente com NSP6, para compartimentalizar a replicação e montagem viral, atuando como uma barreira contra a resposta celular antiviral (Tam *et al.*, 2023).

- **Proteína não estrutural 5 (NSP5)**

A NSP5 é uma protease *3-cysteine like* (3CLpro), que é a principal protease dos SARS-CoV-2. Esta proteína cliva 11 sítios específicos após os resíduos de glutamina junto com pp1a e pp1ab para liberar NSP4 a NSP16 e suas formas imaturas ou finais (Roe *et al.*, 2021).

- **Proteína não estrutural 6 (NSP6)**

A NSP6 é uma proteína transmembrana que interage com NSP3 e NSP4, induzindo a formação do retículo endoplasmático de dupla membrana e autofagossomos, as quais atuam como locais para a transcrição e replicação viral (Angelini *et al.*, 2013; Freceer *et al.*, 2020).

- **Proteína não estrutural 7 (NSP7)**

Esta é um fator de proteína acessória que forma um heterotetrâmero com NSP8 e NSP12 para constituir o complexo de transcrição e replicação (RTC), necessário para a síntese de RNA (Te Velthuis *et al.*, 2012; Tam *et al.*, 2023).

- **Proteína não estrutural 8 (NSP8)**

A NSP8 é um fator de proteína acessória que forma um homodímero com ela mesma, ou seja, existe a NSP1 e NSP82, compondo parte do complexo de tradução e replicação (RTC), necessário para a síntese de RNA. Esta molécula também demonstra papel na supressão de interferon (Xia *et al.*, 2020; Lima Neto *et al.*, 2024).

- **Proteína não estrutural 9 (NSP9)**

A NSP9 é uma proteína replicase dimérica de ligação a RNA de fita simples, que se liga e ativa NSP8 como cofator (Chandel *et al.*, 2022). Na célula hospedeira, essa proteína está localizada ao redor do retículo endoplasmático, associada à nucleoporina 62 (NUP62), uma proteína estrutural que faz parte do complexo poro nuclear (NPC), que funciona como portais para canais de transporte seletivo nuclear-citoplasmático bidirecional que atuam em conjunto com receptores, carioferinas, e são importantes na regulação da informação genômica em que alterações podem gerar problemas na transdução patológica de sinalização celular (Makiyama *et al.*, 2022; Tam *et al.*, 2023).

A interação da NSP9 com a NUP62 restringe a mesma de se associar a NPCs, com esta redução de NUP62, há dificuldade na translocação da p65 resultando em redução da regulação da expressão gênica da NF-κB e diminuição da resposta imune (Makiyama *et al.*, 2022; Tam *et al.*, 2023).

- **Proteína não estrutural 10 (NSP10)**

A NSP10 é uma proteína semelhante a fator de crescimento que possui 2 motivos ligantes de zinco, que permitem a ação de cofatores para NSP16 na transcrição do *capping* viral do RNA mensageiro. Este *capping* do RNA mensageiro transcrito aumenta a taxa de replicação pelo complexo de transcrição e replicação, permitindo a evasão de ribonucleases (RNases) do hospedeiro que clivam o mRNA sem *capping* (Bouvet *et al.*, 2012). Também, atua como cofator para outras NSPs, como a 14 e 16 (Wu *et al.*, 2022).

- **Proteína não estrutural 11 (NSP11)**

A NSP11 é uma pequena proteína que compartilha homologia com o primeiro segmento de NSP12. Pode estar associada a interações com a membrana citolítica

do hospedeiro, sugerindo ter um papel na mudança da janela de leitura do ribossomo para a leitura de NSP em pp1a e pp1ab (Gadhavé *et al.*, 2021).

- **Proteína não estrutural 12 (NSP12)**

A NSP12 é uma proteína RNA dependente de RNA polimerase (RdRp) que atua no complexo de replicação e tradução. Ela se liga aos cofatores NSP7 e NSP8 (NSP81 e NSP82) para estabilizar a região de ligação, permitindo assim o processo de replicação viral (Hillen *et al.*, 2020; Lima Neto *et al.*, 2024).

- **Proteína não estrutural 13 (NSP13)**

A NSP13 é uma ATP dependente de RdRp contendo uma helicase ATP ligante e um domínio de zinco ligante que envolve o RNA durante a replicação e a transcrição do complexo de RNAs de estruturas secundárias e terciárias (Yan *et al.*, 2020).

- **Proteína não estrutural 14 (NSP14)**

A NSP14 é uma exoribonuclease dependente de zinco que revisa e remove erros de inserção de nucleotídeos incorretamente adicionados na direção 3'-5' pela RNA polimerase durante a replicação do genoma. Este domínio de exoribonuclease é estabilizado pelo domínio dedo de zinco de NSP10, que aumenta a capacidade de remover os nucleotídeos (Chen *et al.*, 2021).

- **Proteína não estrutural 15 (NSP15)**

Faz parte da classe enzimática de ribonuclease, ou seja, atividade desempenhada de clivagem de RNA, em que para a NSP15, esta ação é específica para uridina (Wu *et al.*, 2022). Esta endoribonuclease uridilase específica RNA nidoviral dependente de Mn^{2+} (NendoU), contém 3 domínios: o N terminal, o central e o C Terminal, este último cliva os nucleotídeos de RNA fita simples e dupla. NendoU é muito conservada nos coronavírus e eles evitam a detecção do sistema imune por clivar a sequência poli U no RNA viral de sentido negativo (Kim *et al.*, 2020; Kim *et al.*, 2021).

Além disso eles também agem contra a resposta imune celular por suprimir o interferon (IFN) alfa e beta, que estão associados à formação de grânulos citoplasmáticos durante o estresse celular, agindo como antagonista de interferon e

com capacidade de escape dos sensores dos macrófagos de RNA de fita dupla (Nakagawa *et al.*, 2018; Senanayake, 2020).

• **Proteína não estrutural 16 (NSP16)**

A NSP16 é uma 2'-O-ribose metiltransferase que requer uma S-adenosilmetionina (SAM) que promove a associação da NSP16 com o seu cofator, a NSP10. Essa maior interação entre NSP10 e NSP16 evita que o RNA mensageiro viral seja reconhecido e degradado pela célula hospedeira (Tazikeh-Lemeski *et al.*, 2021).

Em síntese, pode ser visto no Quadro 1 todas as 16 NSPs presentes no SARS-CoV-2, tamanho destas proteínas e suas principais funções no processo de replicação e infecção viral.

Quadro 1 - Compilação das funções das proteínas não estruturais (NSPs) do SARS-CoV-2.

(continua)

Proteína	Massa Molecular (kDa)	Número de resíduos	Função
NSP1	19,8	180	Ligação do ribossomo 40S; Bloqueio da tradução a partir de atuação no IFNs e mRNA;
NSP2	70,5	638	Potencial ligante para inibidores; Age no processo de replicação e tradução; Participa do RTC;
NSP3	217,3	1945	Clivagem das poliproteínas; Inibição do sinal de IFNs; Protease semelhante a papaína que ajuda na regulação da propagação viral;
NSP4	56,2	500	Viabiliza a formação de vesículas de membrana dupla (DMVs);
NSP5	33,8	306	Participa da clivagem das poliproteínas em conjunto com NSP3;

(continuação)

Proteína	Massa Molecular (kDa)	Número de resíduos	Função
NSP5	33,8	306	Protease do tipo 3C;
NSP6	33,0	290	Propicia a constituição de vesículas de dupla membrana nas células infectadas; Acomoda as defesas antivirais;
NSP7	9,2	83	Ao formar complexo com NSP8, a estabiliza, esta junção atua como cofator importante para ligação da NSP12, gerando complexo que estabiliza o domínio da polimerase;
NSP8	21,9	198	Com o NSP7, gera complexo hexadecamérico que catalisa a síntese dos primers do RNA;
NSP9	12,4	113	Proteína de ligação ssRNA; Vinculada a síntese de RNA viral; Envolvida na virulência;
NSP10	14,8	139	Atua como cofator para as NSP14 e NSP16, colaborando com a regulação da replicação viral;
NSP11	1,3	13	Estudo indica funcionalidade de afinidade/interação com a membrana no citosol da célula hospedeira;
NSP12	106,7	932	Catalisador da síntese de RNA viral;
NSP13	66,9	601	Interação com as NSP8 e NSP12, favorecendo a regulação da helicase, importante na replicação e com alto grau conservativo;
NSP14	59,8	527	Atividade na exoribonuclease 3'-5' (ExoN) e N7-metiltransferase C-terminal (N7-MTase);

(conclusão)

Proteína	Massa Molecular (kDa)	Número de resíduos	Função
NSP15	38,8	346	Proteína com ação de clivagem de RNA (NendoU); Inibição de IFN; Altera a progressão do ciclo celular do hospedeiro;
NSP16	33,3	298	Catalisa o <i>capping</i> de mRNA; Interação com NSP10 indispensável para estabilidade e função da 2'-O-MTase

Fonte: Tam *et al.* (2023); Da Silva (2021); Bai; Zhong; Gao (2021); Suryawanshi *et al.* (2021); Gadhave *et al.* (2021); Shin *et al.* (2020); Chang; Chen (2021).

2.1.4 Variantes virais

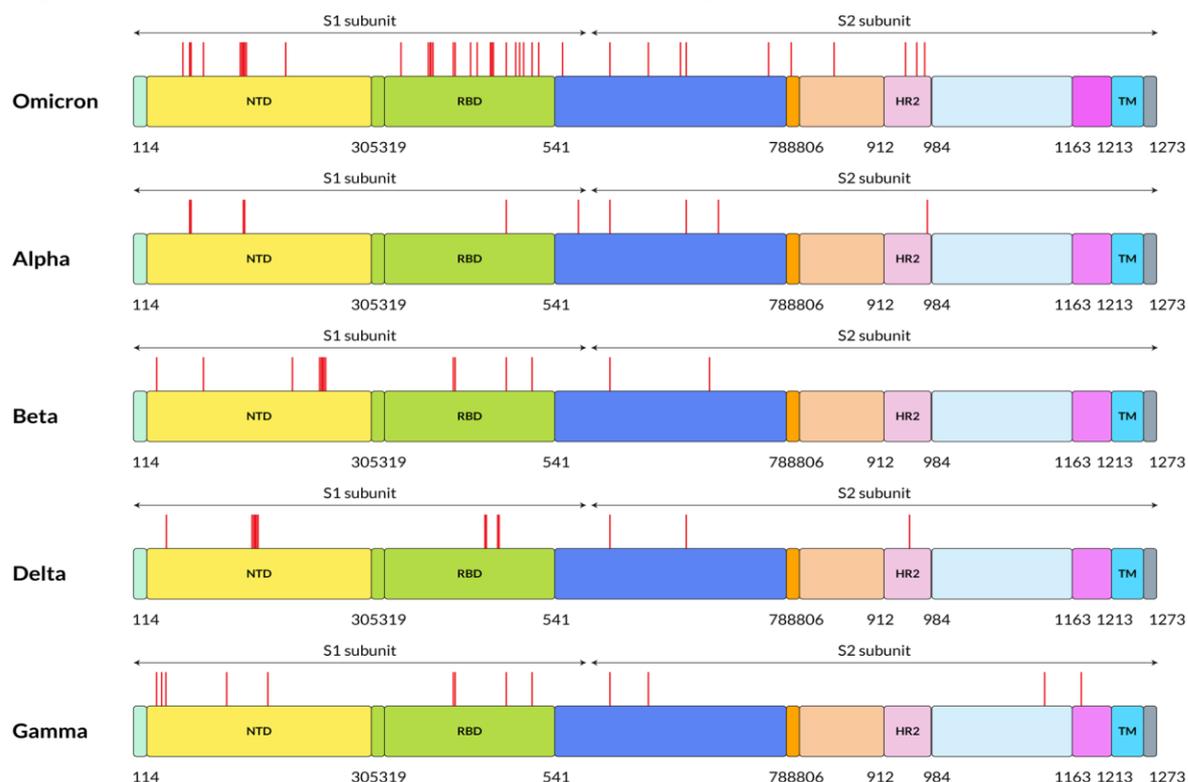
Desde o surgimento da pandemia de COVID-19, análises genômicas do SARS-CoV-2 em várias partes do mundo e em diferentes períodos revelam que tem passado por várias mutações (Flores-Vega *et al.*, 2022). Essas mutações são cruciais na evolução do vírus e ocorrem durante sua replicação, especialmente em vírus de RNA, onde são mais comuns. A maioria dessas mutações é neutra, sem impacto significativo na capacidade do vírus. No entanto, algumas delas podem conferir alterações nas propriedades químicas, alterando a interação vírus-hospedeiro durante a infecção (Michelon, 2021).

Dentre as proteínas virais, a proteína espícula é particularmente importante, pois desempenha um papel fundamental na entrada do vírus na célula hospedeira. Mutações nessa proteína podem ter implicações significativas do ponto de vista clínico e epidemiológico (Freitas; Giovanetti; Alcantara, 2021). É uma glicoproteína transmembranar que se encontra na superfície da partícula viral. Ela é clivada em subunidades S1 e S2, com a S1 sendo responsável pela ligação do vírus à célula hospedeira e a S2 facilitando a fusão do envelope viral com a membrana celular (Dejnirattisai *et al.*, 2021).

A entrada do vírus na célula ocorre por meio da ligação do domínio *receptor-*

binding domain (RBD) da subunidade S1 do vírus à enzima ACE2, presente na membrana celular. Assim, mutações na proteína S dentro as variantes (Figura 7) aumentam a eficiência de endocitose ou exocitose dos vírus formados durante a infecção e podem facilitar na propagação viral (Dejnirattisai *et al.*, 2021).

Figura 7 - Variantes de SARS-CoV-2 e a localização das mutações na proteína.

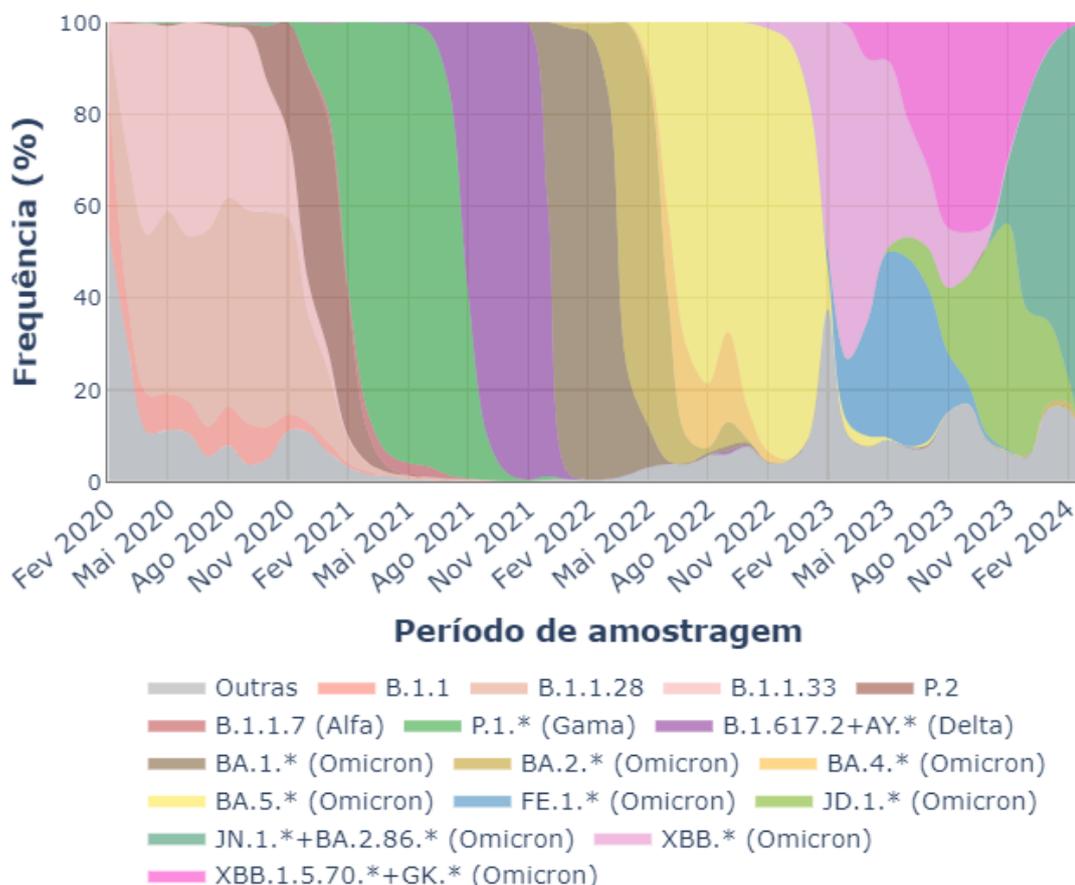


Fonte: Araf *et al.* (2022).

À exemplo de mutações com influência fenotípica no vírus, há D614G e 501Y, associadas a uma maior capacidade de disseminação viral (Santos; Passos, 2021). Portanto, o sequenciamento do genoma viral é essencial para identificar alterações genéticas e suas possíveis implicações. Para acompanhar as variantes do vírus, a OMS desenvolveu um sistema de nomenclatura baseado no alfabeto grego, classificando-as como variantes de interesse (VOI) ou variantes de preocupação (VOC) (Brasil, 2023).

A vigilância genômica do SARS-CoV-2 avalia diversos parâmetros, incluindo o potencial de transmissão, virulência e capacidade de propagação, auxiliando na identificação e monitoramento de novas linhagens do vírus (Figura 8) (Nishioka, 2023).

Figura 8 - Detecção de linhagens relevantes de SARS-CoV-2 no Brasil entre 2020 a 2024.



Fonte: Fundação Oswaldo Cruz (2024).

A seguir serão apresentadas as variantes mais importantes e notificadas até o momento:

- **Alfa (Variante B.1.1.7)**

A variante Alfa foi identificada no Brasil no final de 2020 (Moura *et al.*, 2022). Apresenta deleções que removem aminoácidos na região N-terminal da proteína espícula. Como essa área é alvo de anticorpos, essa modificação pode facilitar a evasão do vírus às defesas imunológicas (Cerutti *et al.*, 2021).

Dentre as diversas alterações na região espícula, a mutação N501Y que resultou da substituição de uma asparagina por uma tirosina no domínio RBD da proteína S (Dejnirattisai *et al.*, 2021), facilitando a ligação da partícula viral com a ACE2, receptor celular. Sugere-se que essa mudança possa explicar sua alta

transmissibilidade e resistência parcial aos anticorpos (Supasa *et al.*, 2021) num intervalo de 70-80% a mais que seu ancestral (Leung *et al.*, 2021).

- **Beta (Variante B.1.351)**

A variante Beta foi inicialmente identificada na África do Sul em 2020 e logo se espalhou para várias regiões (Wolf *et al.*, 2023).

Comparada ao vírus original, essa cepa apresenta 12 mutações, principalmente na proteína S. Algumas mutações também ocorrem nas regiões ORF1a, E e N (Gómez; Perdiguero; Esteban, 2021).

As múltiplas mutações concentradas em áreas imunodominantes da proteína espícula, como o RBD e outras na região N terminal (NTD), podem representar um mecanismo de escape do sistema imunológico do hospedeiro (Gómez; Perdiguero; Esteban, 2021).

A mutação N501Y tem sido associada a uma maior afinidade da partícula viral pelo receptor ACE2 e também à resistência imunológica (Supasa *et al.*, 2021). Já as mutações K417N e E484K, localizadas no RBD, desempenham um papel crucial na interação viral com o receptor e na evasão imunológica (Gómez; Perdiguero; Esteban, 2021).

A mutação E484K envolve a substituição de um ácido glutâmico (negativo) por uma lisina (positivo), aumentando a afinidade do vírus pelo receptor da célula hospedeira. A mutação K417N, trocando uma lisina por uma asparagina, parece não afetar diretamente a ligação vírus-célula, mas, juntamente com as outras duas mutações, potencializa a interação viral com o receptor, favorecendo a disseminação viral e evitando a neutralização por anticorpos (Nelson *et al.*, 2021).

- **Gama (Variante B.1.1.28.1 ou P.1)**

Estudos corroboram que o início da circulação da variante Gama, primeiramente identificada no Brasil, foi antes de dezembro de 2020, o que gerou *cluster* de transmissão nos meses seguintes (Orellana; Marrero; Horta, 2021; Moura *et al.*, 2022).

A P.1 compartilha a mutação N501Y com as variantes beta e alfa do coronavírus. Essa mudança parece facilitar a disseminação viral. Além desta, também possui mais duas mutações (E484K e K417T) no RBD, ambas associadas à resistência aos anticorpos (Fabiani *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2021a).

Além disso, a linhagem P.1 é pouco neutralizada por vários anticorpos monoclonais, apresentando um baixo potencial de neutralização por indivíduos vacinados ou recuperados. Essas mutações combinadas podem estar relacionadas a uma maior transmissibilidade e maior risco de reinfeção viral (Wang *et al.*, 2021a; Faria *et al.*, 2021).

- **Zeta (Variante B.1.1.28.2 ou P.2)**

A variante Zeta foi detectada em amostras coletadas no Rio de Janeiro no período de abril a novembro de 2020 (Fumagalli *et al.*, 2021).

Essa cepa possui cinco mutações comuns na maioria dos genomas do SARS-CoV-2 (Voloch *et al.*, 2021). Uma dessas mutações é a E484K, localizada no RBD, associada a uma maior afinidade viral pelo receptor ACE2 e a mecanismos de evasão imunológica (Voloch *et al.*, 2021; Baum *et al.*, 2021).

A E484 costuma afetar a interação com os anticorpos e ser o local onde as mutações estão associadas a uma redução significativa na neutralização viral em diversas linhagens da COVID-19 (Greaney *et al.*, 2021).

- **Delta/Kapa (Variante B.1.617)**

A variante Delta foi inicialmente detectada na Índia em 2020 e identificada no Brasil em junho do ano seguinte (Wolf *et al.*, 2023; Menezes, 2022). De acordo com a OMS, essa variante possui três sublinhagens: B.1.617.1, B.1.617.2 e B.1.617.3, com diferenças sutis e distribuição geográfica distintas (Associação Médica Brasileira, 2021).

A Delta possui 13 mutações que resultam na substituição de alguns aminoácidos (Cherian *et al.*, 2021). As mutações mais relevantes estão na proteína S, incluindo duas na NTD: G142D e E154K. Além disso, apresenta as mutações E484Q e L452R no RBD e uma mutação na região da furina polibásica (P681R) (Edara *et al.*, 2021). A combinação dessas mutações no RBD, sugere um aumento na afinidade viral pelo receptor ACE2 e uma maior taxa de clivagem da S1/S2, resultando em maior transmissão viral (Cherian *et al.*, 2021).

Além disso, embora os indivíduos recuperados e vacinados com as vacinas da Moderna e Pfizer possam ter alguma eficácia contra a variante B.1.617, ela mostrou uma capacidade de neutralização até oito vezes menor em comparação com a linhagem de referência para SARS-CoV-2 (Edara *et al.*, 2021). Soros de

peças vacinadas e recuperadas com as vacinas Oxford-AstraZeneca e Pfizer-BioNTech também mostraram uma capacidade neutralizante reduzida contra as variantes Delta e Kapa (Liu *et al.*, 2021).

- **Lambda (Variante C.37)**

A Lambda foi relatada inicialmente no Peru no final de 2020 (Wolf *et al.*, 2023). No Brasil, sua detecção ocorreu no início de 2021, com ocorrência esporádica posteriormente (Wink *et al.*, 2021).

Assim como as variantes Gama, Beta e Alfa, a Lambda também apresenta a deleção 3575-3677 na ORF1a. Além disso, possui a deleção 246-252 na proteína S e várias mutações não sinônimas (T859N, G75V, F490S, T76I, L452Q, D614G) (Wink *et al.*, 2021).

A mutação L452Q é semelhante à L452R, também presente nas variantes Kapa, Delta e Epsilon, e está associada à evasão viral e ao aumento da taxa de infecção, devido à maior afinidade com o receptor ACE2. Da mesma forma, a mutação F490S está relacionada à evasão viral (Romero *et al.*, 2021).

Estudos *in vitro* realizados no Chile mostraram uma menor taxa de neutralização da Lambda em comparação com o vírus original. Além disso, foi observado um maior potencial de infecção dessa variante em relação às variantes Gama e Alfa (Acevedo *et al.*, 2021).

- **Variantes da linhagem B.1.1.33**

A linhagem B.1.1.33 teve uma ampla disseminação no Brasil em 2020. Embora várias variantes desta linhagem tenham sido identificadas, nenhuma apresenta mutações classificadas como preocupantes (Resende *et al.*, 2021).

Uma variante que evoluiu da linhagem B.1.1.33 é a N.9, que possui a mutação N10 e E484K, além de outras 14 mutações distintas, incluindo mutações no RBD (V445A e E484K) e três deleções na NTD da espícula (Resende *et al.*, 2021).

- **Variantes da linhagem B.1.1.28**

A linhagem B.1.1.28 detectada no Brasil entre maio e junho de 2021 (Da Silva *et al.*, 2022), tem como variantes que a descendem: P.1, P.2, NP.13L E P.4 (Michelon, 2021).

Essa linhagem apresenta 12 mutações que são usadas sistematicamente

para classificar as variantes, com destaque para a mutação E484K na proteína S (Francisco Jr *et al.*, 2021). Outro exemplo é na P.4, que possui a alteração L452R na espícula (Bittar *et al.*, 2021).

- **Ômicron**

Em novembro de 2021, a OMS identificou a B.1.1.529, uma nova variante do SARS-CoV-2, denominada Ômicron na África do Sul, classificada como uma variante de preocupação (Araf *et al.*, 2022; Fundação Oswaldo Cruz, 2022). Esta variante é particularmente preocupante devido ao aumento da transmissibilidade e à possível resistência à resposta imunológica induzida por vacinação (Torjesen, 2021; Organização Mundial da Saúde, 2021).

Sua disseminação ocorreu rapidamente no país, causando o maior pico de casos de COVID-19 já registrado no Brasil, tendo em algumas regiões mais que o dobro do máximo de casos identificados até aquele momento. Junto com o aumento de casos, houve também a de letalidade, que antes estava em 0,4% e neste período chegou a 4% (Fundação Oswaldo Cruz, 2022).

A ômicron possui 18.261 mutações, sendo mais de 97% dessas mutações presentes na região codificada. As mutações nessa região incluem substituições não sinônimas e polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) (Bansal; Kumar, 2022). Trinta dessas mutações estão localizadas na proteína *Spike*, principalmente no RBD. Além disso, há três deleções e uma inserção fora da espícula (Araf *et al.*, 2022; Daria; Bhuiyan; Islam, 2022).

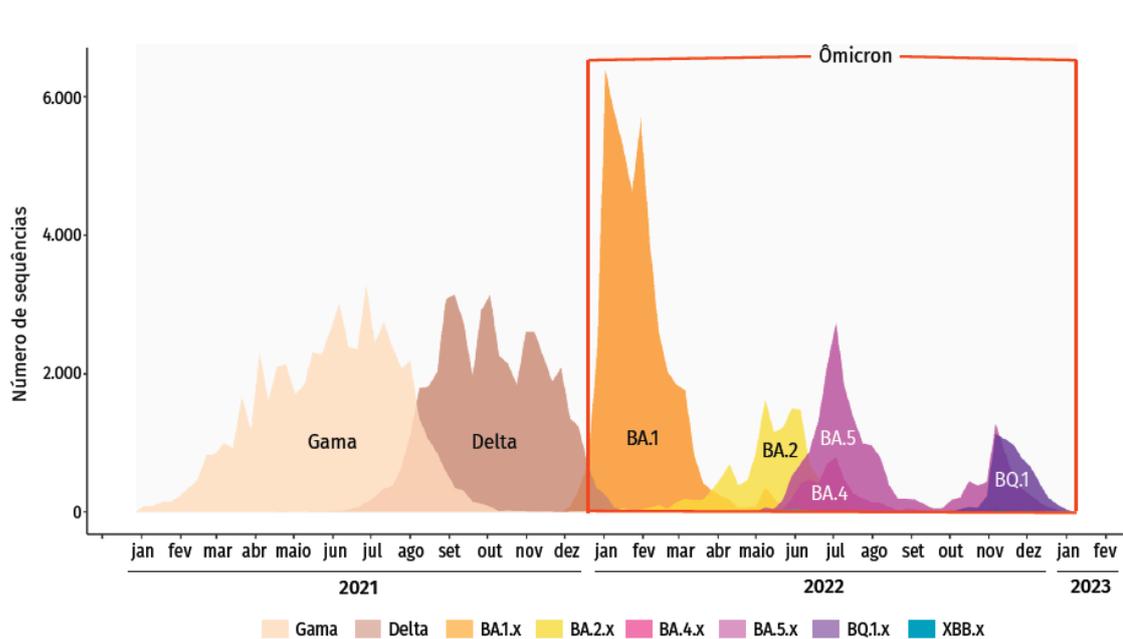
Esta variante demonstrou ser quatro vezes mais infecciosa do que a variante original do SARS-CoV-2. Isso sugere que as mutações na proteína S podem influenciar a infectividade viral, com a ômicron apresentando uma maior afinidade de ligação ao ACE2 do que outras variantes (Garcia-Beltran *et al.*, 2022).

Vários fatores contribuem para a alta transmissibilidade da ômicron. Mais de 30 mutações na região da espícula, responsável pelo reconhecimento da célula hospedeira, foram identificadas. Essas mutações indicam um aumento na transmissão devido à evasão do sistema imunológico (Centers for Disease Control and Prevention (US), 2021). A mutação N501Y aumenta a afinidade pelo receptor ACE2, facilitando a entrada viral, e, combinada com a mutação Q498R, aumenta ainda mais essa afinidade. Isso permite que a ômicron tenha acesso facilitado à célula hospedeira (Centers for Disease Control and Prevention (US), 2021).

Além disso, a possibilidade de reinfeção com a variante Ômicron sugere uma alta transmissibilidade. As mutações H655Y e N679K, localizadas próximas aos sítios de clivagem das furinas (FCS), podem aumentar a clivagem da proteína *Spike*, tornando o vírus mais contagioso (Hossain *et al.*, 2021; Peacock *et al.*, 2021). Adicionalmente, a Ômicron pode causar resultados falso-negativos em testes de PCR que visam a região S, afetando os resultados dos exames laboratoriais (Araf *et al.*, 2022).

Devido a sua alta disseminação, surgiram subvariantes desta, como BA.2.9.1, BA.2.11, BA.2.12.1, BA.4, BA.5, apresentando efeitos fenotípicos diferentes do ancestral comum, a ômicron, à exemplo de evasão imunológica e transmissibilidade (Wang *et al.*, 2023; Kimura *et al.*, 2022; Cao *et al.*, 2023). Na Figura 9 pode ser vista as subvariantes e disposição temporal no Brasil.

Figura 9 - Distribuição temporal das variantes de SARS-CoV-2 no Brasil, indicando presença de subvariantes da Ômicron.



Fonte: Brasil (2023).

2.1.5 Tratamento: vacina e fármacos

Apesar dos fatores de higiene e diversidade genômica do vírus, é factível que a vacinação proporciona ação protetora (Mohamed *et al.*, 2022) e é responsável por

minimizar os danos gerados pela pandemia, a partir da redução da letalidade e sobrecarga dos sistemas de saúde (International Coalition of Medicines Regulatory Authorities, 2023).

Em última atualização da Organização Mundial de Saúde (OMS) de 2023, existem 10 vacinas aprovadas para uso contra a COVID-19: Pfizer, Moderna, AstraZeneca, Janssen, Sinopharm, Sinovac, Bharat, Novavax, Cansino, Valneva (Organização Pan-Americana da Saúde, 2023). De acordo com o panorama atualizado da OMS de vacinas candidatas, há o quantitativo de 382, em que 183 estão em fase clínica de desenvolvimento e 199 em pré-clínica. Dentre estas, mais de 50% são feitas pela tecnologia de subunidade proteica, vetor viral (não replicante) e DNA (Organização Mundial da Saúde, 2023a).

Vacinas como as da Pfizer, da Moderna, CVnCoV e BNT16b2 são baseadas em RNA mensageiro e visam a proteína S do SARS-CoV-2. Já as vacinas da AstraZeneca, Gamaleya (Sputnik V), AZD1222, e Johnson & Johnson utilizam vetores virais para transportar genes que codificam proteínas do SARS-CoV-2. Enquanto isso, a CoronaVac, desenvolvida pelo Instituto Butantan, Covaxin, QazVac e KoviVac são baseadas em vírus inativado; já ZF2001 e Abdala são de proteínas (Fiolet *et al.*, 2022).

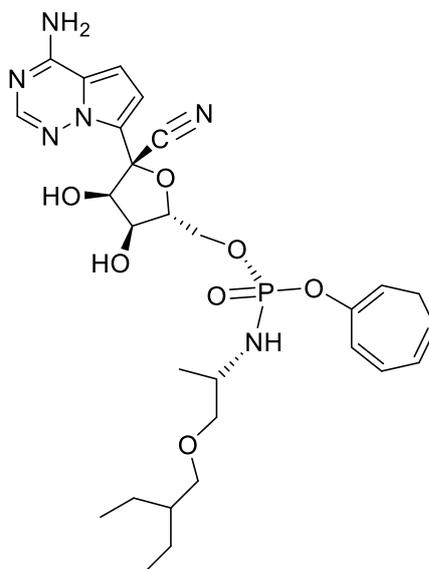
Quanto aos medicamentos para combater o SARS-CoV-2, ao longo da pandemia, vários tiveram uso suspenso ou revogado pela Anvisa no Brasil, como Banlanivimabe e etesevimab, Regkirona (regdanvimabe), Casirivimabe e imdevimabe, Evusheld® (cilgavimabe + tixagevimabe) (Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil), 2024)

Os aprovados para uso de emergência e que estão sendo utilizados são: Remdesivir, Sotrovimabe, Baricitinibe, Plaxlovid (nirmatrelvir com ritonavir), molnupiravir e tocilizumabe (Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil), 2024), os quais estão descritos a seguir:

- **Remdesivir**

O GS-5734, conhecido como Remdesivir, é um éster carboxílico ($C_{27}H_{35}N_6O_8P$) com a fórmula química estrutural descrita (Ko *et al.*, 2020), Figura 10.

Figura 10 - Fórmula estrutural do Remdesivir.

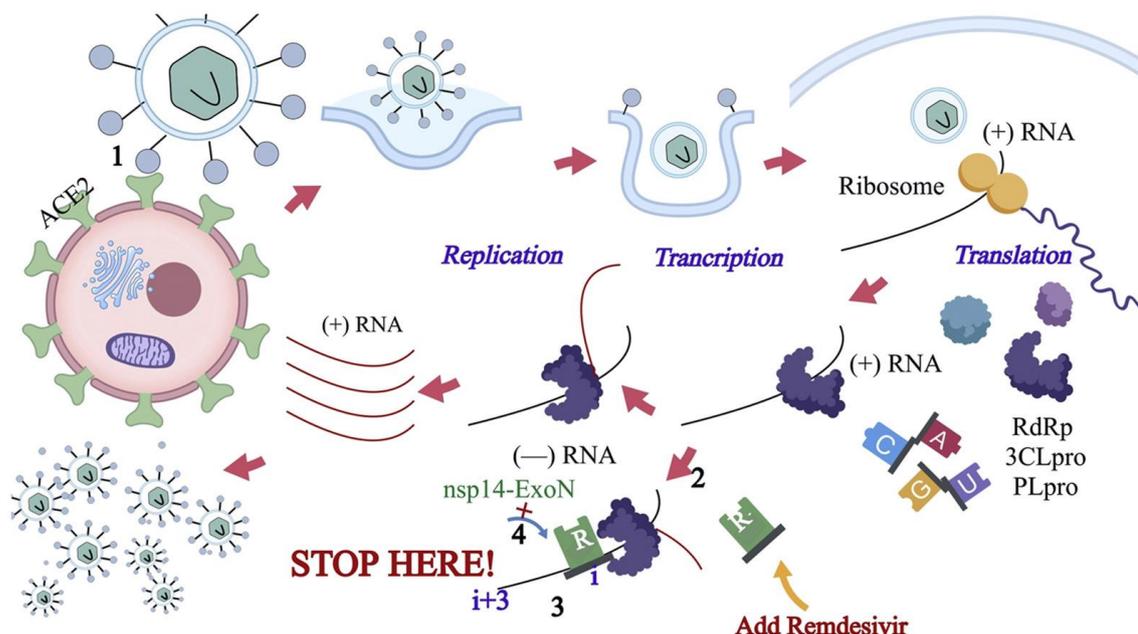


Fonte: Pubchem (2024).

Funciona como um inibidor da RNA polimerase dependente de RNA (RdRp), bloqueando assim a replicação do genoma do SARS-CoV-2. A RdRp é um complexo proteico utilizado pelos vírus com genoma de RNA para replicar seu próprio material genético (Ko *et al.*, 2020; Ita, 2021).

Dentro da célula infectada, o Remdesivir é metabolizado em nucleosídeo trifosfato ativo (NTP). Esse metabólito concorre com a adenosina trifosfato (ATP) durante a formação de novas moléculas de RNA (Amirian; Levy, 2020). Este processo é representado pelas etapas 2, 3 e 4 na Figura 11.

Figura 11 - Mecanismo de ação do Remdesivir.



Fonte: Ita (2021).

A incorporação do NTP ativo na cadeia de RNA em formação interrompe a síntese genômica. Embora os SARS-CoV-2 possuam mecanismos de revisão de RNA capazes de corrigir erros nesse processo, tornando-os, portanto, resistentes ao Remdesivir, esse vírus parece evitar esse mecanismo, mantendo assim a atividade antiviral do fármaco (Amirian; Levy, 2020).

- **Sotrovimabe**

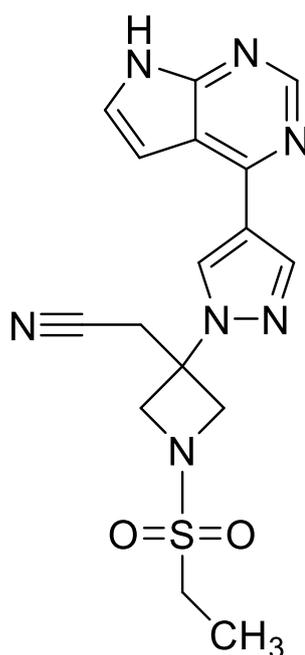
O Sotrovimabe, um anticorpo monoclonal humano, está classificado no grupo farmacoterapêutico de soros imunes e imunoglobulinas. Ele se liga a um epítipo na porção de ligação do receptor da proteína espícula do vírus. O domínio Fc do Sotrovimabe sofre alterações nos aminoácidos M428L e N434S, aumentando a meia-vida de eliminação dos anticorpos (Glaxosmithkline, 2023).

De acordo com o Ministério da Saúde, o Sotrovimabe é recomendado para tratar casos leves a moderados de COVID-19 em pacientes adultos e adolescentes com 12 anos ou mais e peso mínimo de 40 kg, que também estejam em risco de desenvolver quadros graves da doença (Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil), 2021). No entanto, não é aconselhável para pacientes hospitalizados que necessitam de suporte de oxigênio (Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil), 2021).

- **Baricitinibe**

Aprovado pelo Ministério da Saúde em setembro de 2021, o Baricitinibe (Figura 12) é um inibidor seletivo e reversível das enzimas janus quinases (JAKs), particularmente JAK 1 e 2. Essas enzimas são responsáveis pela comunicação entre células envolvidas na hematopoiese, inflamação e resposta imune. Indicado para o tratamento da COVID-19 em adultos hospitalizados que necessitam de oxigênio suplementar (Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil), 2021a).

Figura 12 - Fórmula estrutural do Baricitinibe.

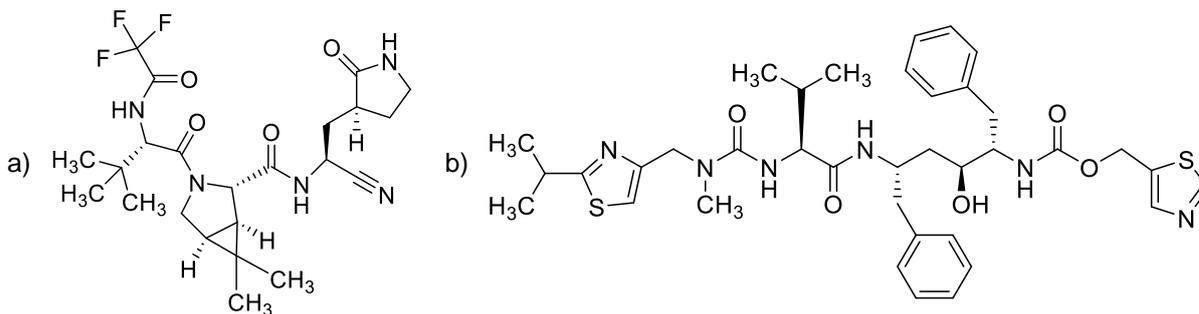


Fonte: *Drugbank* (2023).

- **Paxlovid (nirmatrelvir + ritonavir)**

Aprovado para uso emergencial no tratamento da COVID-19 no Brasil em março de 2022 (Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil), 2023), o Paxlovid consiste em nirmatrelvir e ritonavir, como mostra a Figura 13(a-b). Nirmatrelvir é um inibidor peptidomimético da protease tipo 3 do SARS-CoV-2, bloqueando sua capacidade de processar precursores de poliproteínas durante a replicação viral. Enquanto isso, o ritonavir não tem efeito direto sobre a protease tipo 3, mas inibe o metabolismo do nirmatrelvir, aumentando assim suas concentrações na célula (Wyeth, 2022).

Figura 13 - Fórmula estrutural do Plaxlovid.



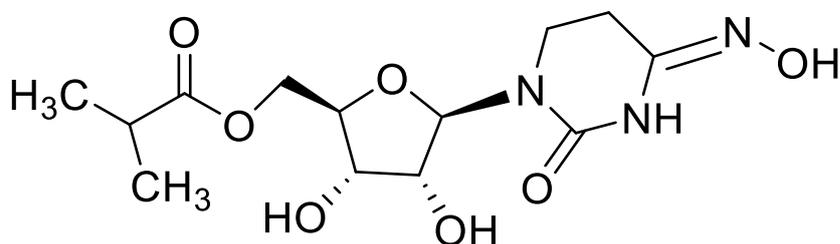
Fonte: *DrugBank* (2024); *DrugBank* (2024a).

Legenda: a) Fórmula estrutural do nirmatrelvir; b) Fórmula estrutural do ritonavir.

- **Molnupiravir**

Em maio de 2022, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária autorizou o uso emergencial do Molnupiravir (Figura 14) no tratamento da COVID-19 em pacientes adultos que não requerem oxigênio suplementar e apresentam maior risco de desenvolver casos graves da doença, quando outras opções de tratamento aprovadas pela Anvisa não são acessíveis ou clinicamente adequadas (Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil), 2022). Molnupiravir é rapidamente convertido em um análogo de β -D-N4-hidroxicitidina (NHC) no plasma, sendo ativado pelas quinases da célula hospedeira. O 5'-trifosfato ativo compete com a RdRp viral, causando erros no ciclo de replicação viral e inibindo sua propagação (Nishioka, 2021).

Figura 14 - Fórmula estrutural do Molnupiravir.

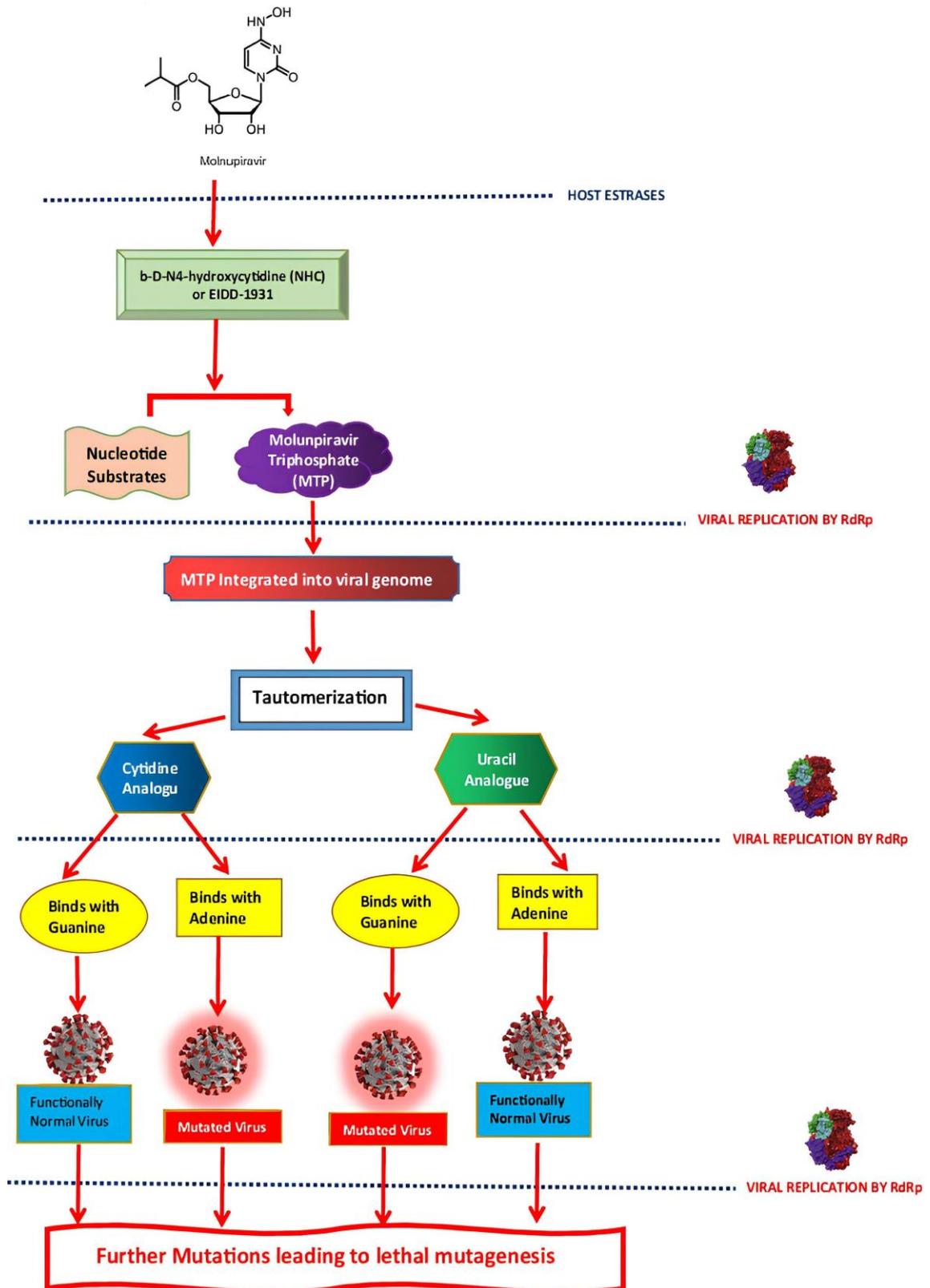


Fonte: *DrugBank* (2022).

Mecanismo de ação do Molnupiravir que através da ação das esterases do plasma da célula hospedeira, é transformado em um nucleosídeo ativo β -D-N4-hidroxicitidina (NHC) e, em seguida, após ativação, em seu trifosfato (NHC trifosfato). A RNA polimerase direcionada por RNA (RdRp) utiliza este NHC trifosfato

como substrato em vez de citidina e uridina, gerando RNA mutante e um complexo estável. Como esse processo escapa ao mecanismo de revisão viral, o molnupiravir aumenta sua taxa de mutação, além do limite biologicamente tolerável, levando à sua inativação por estas alterações genômicas serem letais (Marli *et al.*, 2023), ilustrado na Figura 15.

Figura 15 - Mecanismo de ação do Molnupiravir.



Fonte: Marli *et al.* (2023).

- **Tocilizumabe**

Aprovado pela Anvisa em junho de 2022 (Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil), 2024), o Tocilizumabe, já utilizado no tratamento da artrite reumatoide (Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil), 2023a), o qual é um anticorpo monoclonal recombinante da classe das imunoglobulinas, direcionado contra o receptor de interleucina humana 6 (IL-6). Durante a infecção por COVID-19, níveis elevados de IL-6 estão associados à gravidade da doença, gerados pelo desequilíbrio do sistema e síndrome respiratória aguda grave. O Tocilizumabe é indicado para adultos hospitalizados que estão recebendo corticosteroides sistêmicos e necessitam de suporte de oxigênio (Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil), 2023a).

2.2 BIOINFORMÁTICA: DEFINIÇÃO, OBJETO DE ESTUDO E HISTÓRIA

Todos os seres vivos são compostos por estruturas moleculares compostas por lipídios, carboidratos e ácidos nucleicos, as quais possuem especificidade, estrutura e função distintas, de acordo com sua classe, caracterizando-as. Apesar da grande diversidade de variabilidade genética, a informação da hereditariedade encontra-se no DNA e RNA por transcrição (mais precisamente o mRNA que moldará a tradução de proteínas – que desempenham as funções dentro do organismo) (Verli, 2014).

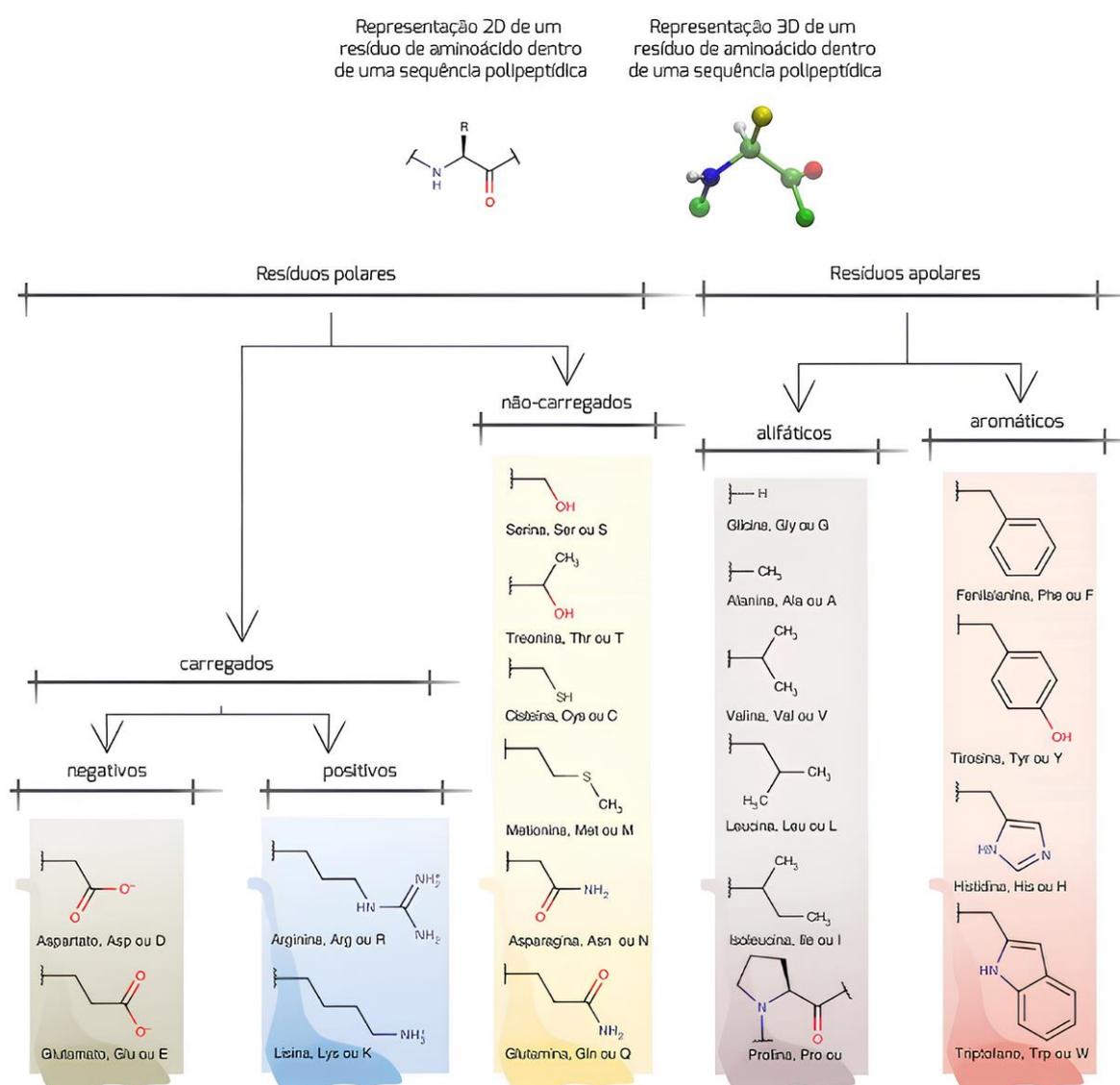
Dentro da bioinformática, o estudo da vida, está relacionado as informações genéticas conservadas (o DNA, RNA e proteínas), que por sua vez estão relacionados à produção e manutenção de lipídios e carboidratos, assim como auxílio na regulação funcional das proteínas. Pode-se concluir, assim, que as macromoléculas são o alvo desta ciência para entendimento dos organismos (Verli, 2014).

Estas macromoléculas, são compostas por unidades monoméricas como, os ácidos nucleicos, proteínas e carboidratos. O primeiro – sintetizado a partir de nucleotídeos constituídos por três grupos, a base nitrogenada (adenina, guanina, citosina, uracila para RNA ou timina para DNA), carboidrato (ribose para RNA e desoxirribose para DNA) e um fosfato (ligação fosfodiéster) (Verli, 2014).

Proteínas possuem 20 arranjos traduzidos diretamente do genoma por aminoácidos, apresentando em comum o esqueleto peptídico (formado por grupo

amino, ácido carboxílico e átomo de carbono α relacionado a cadeia lateral) e se ligam através da ligação peptídica. Devido sua estrutura química, podem ser enantiômeros, excepcionalmente a glicina, e são encontrados majoritariamente na forma levogiro, conferindo aos mesmos interações distintas de acordo com área da cadeia quiral ativa com a associação, assim como a polaridade dos resíduos (polar – polos positivos ou negativos; apolar - aromático ou alifático) altamente influenciado pelo pH (Figura 16) (Verli, 2014).

Figura 16 - Representação das classes de proteínas.



Fonte: Verli (2014).

Legenda: A representação 3D de um aminoácido tem o grupo R na cor amarela, cadeia polipeptídica em verde e as cadeias laterais em sua ionização habitual, plasmática.

Diferentemente das proteínas, os carboidratos não estão codificados no genoma, contudo é o genoma que determina a expressão de enzimas que atuam na síntese da sequência oligossacarídica, em especial as glicosil transferases (Verli, 2014).

Sua variedade em composição e funções é vasta desde formas monoméricas até mais de 100 unidades monossacarídeos conectados por ligação glicosídica em diferentes arranjos entre dois monossacarídeos, sendo esta estrutura unitária, em maioria, formadas por 5 a 6 átomos em anéis carbônicos, pirano (configuração em cadeira ou bote torcido) ou furano (característica na forma envelope ou torcida), respectivamente, tendo equilíbrio conformacional (pseudo-rotacional) em outros estados também (Verli, 2014).

Assim, os carboidratos possuem três classes: monossacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos. Já as proteínas tem níveis de organização a partir da união de peptídeos, desde a estrutura primária a quaternária (Quadro 2), aumentando a complexidade hierárquica e de equilíbrio estrutural a cada nível, este último podendo ocorrer de maneira interna por mudança em certas regiões para facilitar tal estabilidade ou externamente por glicosilação, chaperonas ou outros fatores. Também há mudança de atividades desempenhadas por cada conformação (Verli, 2014).

Quadro 2 - Organização conformacional das proteínas.

(continua)

Nível de enovelamento	Características
Primária	Sequência linear que segue nomenclatura de código de letras (difere para os diferentes tipos de macromoléculas, DNA, RNA, aminoácidos, sequência sacarídica); Natureza unidimensional (1D); Há interação entre as moléculas da sequência e com o meio circundante; É a informação que define a estrutura da molécula e função que terá;

(conclusão)

Nível de enovelamento	Características
Secundária	<p>Apesar de inúmeras composições 1D, as estruturas geradas pelas interações são semelhantes:</p> <p>Para as proteínas, há três tipos conformacionais observados: alças (quanto maior, mais flexível, chance superior entre as outras duas estruturas de acomodar alterações genéticas), folhas β pregueadas e hélices;</p> <p>Para os nucleotídeos são: A, B e Z (no DNA a estrutura 2D surge do pareamento entre as bases e RNA por interações entre a própria fita (regiões de bases pareadas, alças internas, bojos (bases não pareadas), alças de grampos, junções);</p> <p>Carboidratos desenvolvem estruturas hélices, similar as proteínas e ácidos nucleicos, porem com maior variabilidade organizacional (possível observar na forma cristalina, em meio biológico são denominadas de alças desordenadas pelo aumento de flexibilidade);</p>
Terciária	<p>Estrutura que a partir deste grau de complexidade conformacional, há “ativação” da funcionalidade;</p> <p>Fenômeno de enovelamento à procura de um ponto de maior estabilidade no meio biológico;</p>
Quaternária	<p>Não é um grau de organização presente em todos os tipos de biomoléculas, é vista em proteínas, ácidos nucleicos;</p> <p>Formam estados oligoméricos em que apresentam mais de uma subunidade</p>

Fonte: Verli (2014).

O entendimento da fórmula molecular, organização e reflexos destes em sua funcionalidade são importantes para compreensão de como podem ser explorados estes dados biológicos, afinal, para a bioinformática, são a matéria-prima que somado a estatística e computação dão vida ao processo de extração de informações (Lima; Cansanção, 2022).

Uma das formas de estudo de biomoléculas *in silico* é as possíveis interações presentes entre moléculas, embasado no modelo de chave-fechadura e de encaixe induzido que proporcionam a prospecção de encaixe termodinamicamente favoráveis, o que se almeja quando simulado tal interação, analisando assim, como este reconhecimento acontece, a partir da afinidade, forças inter e intramoleculares presentes (Van der Waals, eletrostáticas, ligação de hidrogênio), geometria e hidrofobicidade (Santos, 2021; De Freitas, 2022; Ferreira *et al.*, 2015; Pietralonga *et al.*, 2015).

Um fator importante neste ponto são as propriedades físico-químicas das moléculas, as quais estão diretamente relacionadas com as interações biomoleculares que podem exercer e, assim, sua atividade biológica, como potencial farmacológico, de infectividade, de virulência ou outra finalidade intencionada (Ferreira *et al.*, 2015; Mbah; Okorie, 2018).

Assim, a possibilidade de modificar as propriedades à benefício de maior biodisponibilidade, menor toxicidade e outras propriedades pela tela do computador através de ferramentas da bioinformática traz uma gama de recursos à ciência (Santos, 2021), as quais, só são possíveis por causa da análise da ligação entre receptor-ligante, referida metodologicamente pelo modelo chave-fechadura e de encaixe induzido. Esse é um conceito básico que viabiliza todos os outros estudos seguintes, inclusive o design de uma droga ou melhoria da mesma (Sacquin-Mora; Prévost, 2015).

Destarte, para entender melhor como surgiu tal conceito e como o mesmo se conectou à área da bioinformática, deve-se saber que o primeiro estudioso a abordar em seus trabalhos uma ligação enzima-substrato originando, a partir dessa associação, um complexo, foi Adrian Brown, em 1892 (Pelentir, 2021).

Contudo, somente em 1894, um grande químico deu um significativo passo ao entendimento mais claro da interação entre moléculas, Emil Fisher, “pai da química orgânica”, que anunciou à ciência sua descoberta sobre como as moléculas se relacionam estruturalmente de maneira tridimensional, estereoquímica, e sobre a chave (receptor, enzima) e a fechadura (ligante, substrato) (Tonolli; Franco; Silva, 2021).

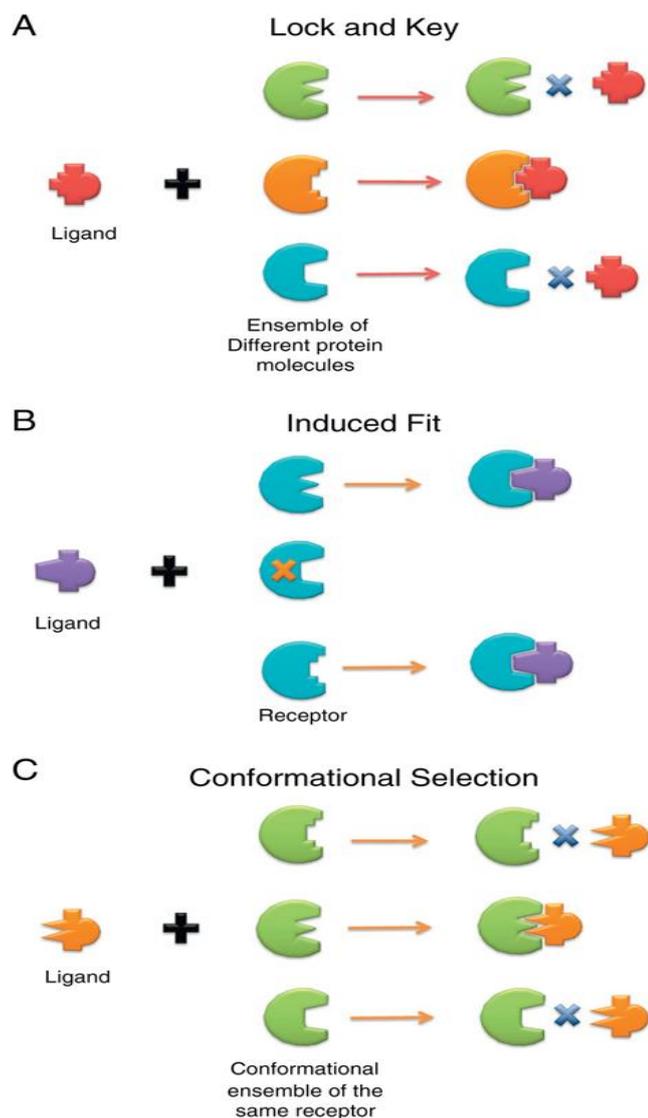
Logo, em 1958 outro pesquisador, Daniel Koshland, observou que a interação entre duas moléculas não ocorre de forma rígida, como Fisher previu, e sim adaptavelmente, ao induzir uma reorganização conformacional entre as substâncias

no momento de associação através de ligações fracas para torná-la mais estável, conhecida como “encaixe induzido” (Tonolli; Franco; Silva, 2021). Nesta hipótese, a proteína tem dois estados, aberta e fechada, em que a primeira situação é quando o ligante se liga à conformação proteica aberta induzindo uma modificação conformacional resultando na configuração fechada (Nussinov; Ma; Tsai, 2014).

Outra conjectura é a seleção conformacional e mudança populacional que considera os diversos estados e subestados que uma proteína pode apresentar em solução para que se mantenha em equilíbrio, razão pela qual durante a ligação é “escolhida” forma complementar e correspondente, que, ao se interagir, mudarão a sua conformação para que haja uma redistribuição do conjunto para permanência em equilíbrio (Nussinov; Ma; Tsai, 2014).

Esta “seleção” trouxe a questão da conformação proteica e sua relação com a manutenção de sua forma mais energeticamente estável durante interação. Ademais, este modelo é uma extensão do ajuste induzido e tido como principal mecanismo de ligação celular pela maioria da comunidade científica (Figura 17) (Nussinov; Ma; Tsai, 2014).

Figura 17 - Modelos de reconhecimento molecular conhecidos.



Fonte: Nussinov; Ma; Tsai (2014).

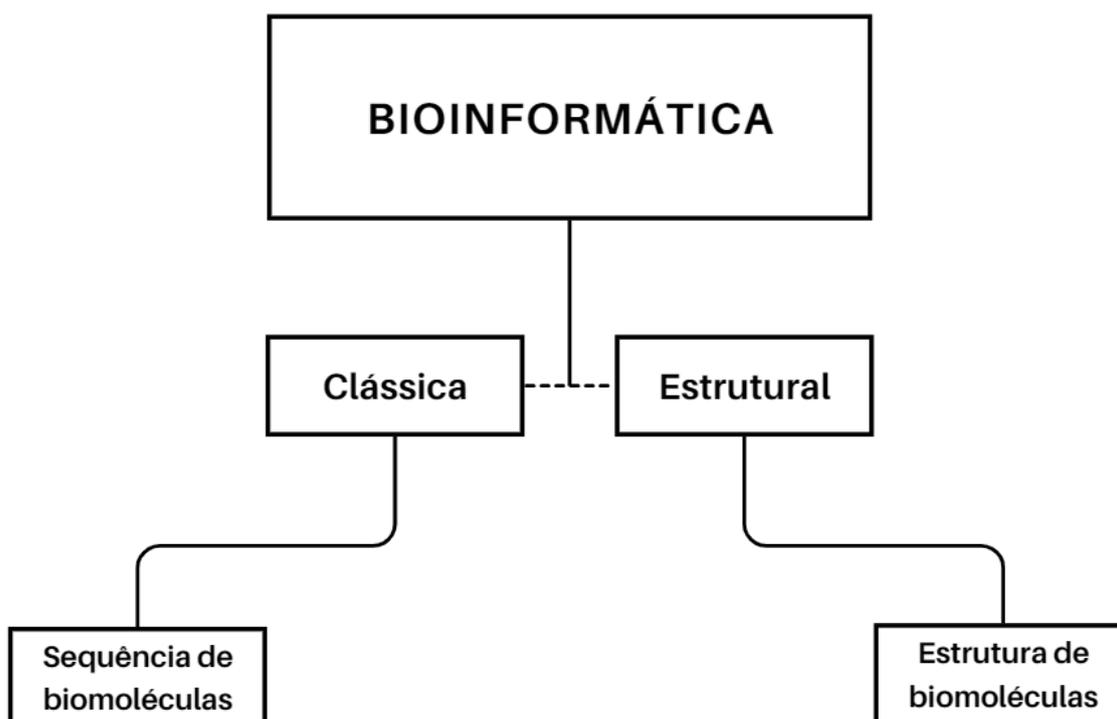
Outras descobertas relevantes, foram a de Yeshayau Pocker, em 1960, sobre a presença de “níveis” de afinidade entre enzima e substratos; já Jacques Monod, Jeffries Wyman, Jean-Pierre Changeux relataram em sua pesquisa o modelo alostérico, alusivo às interações em diversos sítios da enzima, agindo em sua atividade biológica, de acordo com tal local, à exemplo de sítio ativo e alostéricos, além da importância dos cofatores para seu funcionamento (Tonolli; Franco; Silva, 2021).

Com o estudo de biomoléculas atreladas ao uso da linguagem computacional para entendimento das mesmas, resultando no desenvolvimento e disseminação da bioinformática. No início da década de 1950, esta ciência foi dividida na esfera

clássica e estrutural (Figura 18), apoiada nas descobertas da estrutura do DNA por James Watson e Francis Crick e estudos de Margaret Dayhoff (Verli, 2014), que de 1958 a 1960 conhecida como a mãe e pai da bioinformática, juntamente com Robert S. Ledley fizeram Comprotein, o primeiro software para determinação de estrutura primária de proteína a partir do método de degradação de Edman, desenvolvido por Pehr Edman (Gauthier *et al.*, 2018).

Neste projeto, Dayhoff desenvolveu o código de uma letra para nomeação dos aminoácidos, além de lançar o primeiro livro sobre bioinformática com 65 proteínas, levando a comunidade científica a questão das proteínas serem reflexo da evolução (Gauthier *et al.*, 2018).

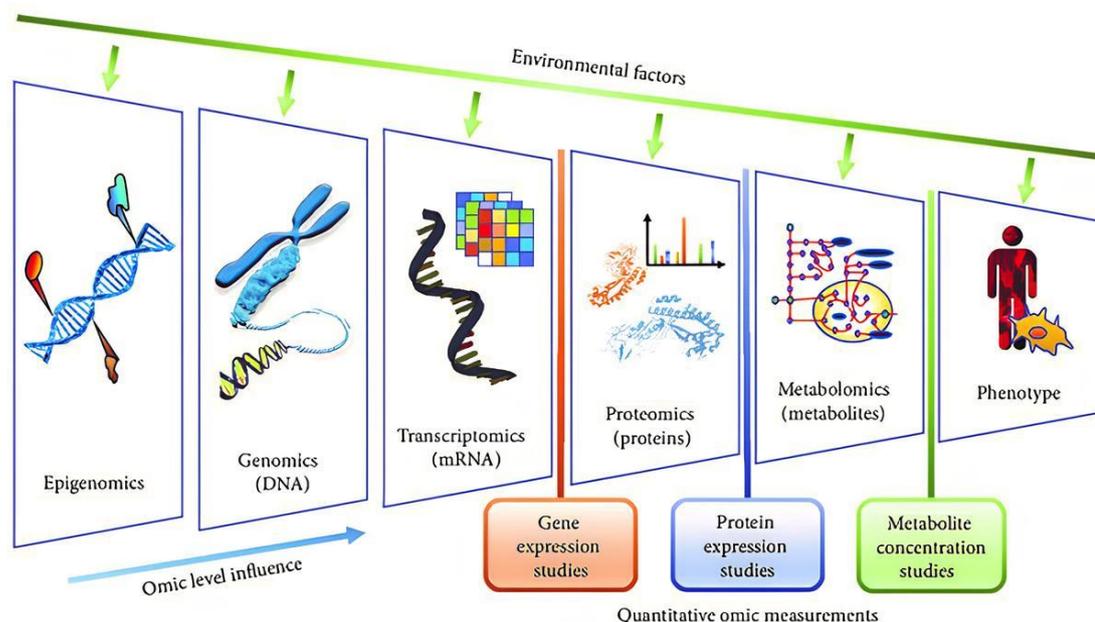
Figura 18 - Classificação das vertentes da bioinformática.



Fonte: Própria autora (2024).

Já em 1970, com Michael Levitt e Arie Warshel, a simulação por dinâmica molecular para compreensão das proteínas e seus enovelamentos (Verli, 2014), impulsionaram a bioinformática a adentrar progressivamente no entendimento e análises de níveis ômicos diferentes durante os anos, desde epigenômica a fenótipo, Figura 19.

Figura 19 - Níveis ômicos alvo de estudos *in silico* por ferramentas computacionais da bioinformática.



Fonte: Angione (2019).

A epigenômica é embasada nos mecanismos envolvidos na expressão gênica da cromatina, eventos estes excluindo as modificações no DNA e considerando mudanças epigenéticas provocadas pela metilação do DNA, densidade de histonas, questões pós-traducionais e anormalidades no material genético como um todo, incluindo o RNA, as quais estudam a hereditariedade, porém sem se concentrar na herança genética, e sim em como esta se comporta durante a vida do indivíduo, num certo tempo específico. Este campo confabula com a biomedicina na temática da saúde, principalmente doenças degenerativas, como câncer, Alzheimer, além de doenças neonatais, psiquiátricas e de retardo mental (Leite; Costa, 2017).

A genômica é capaz de prover informações sobre mecanismos moleculares evolutivos, sendo para a ciência um campo de pesquisa fundamental para entendimento e mapeamento evolutivo e de doenças, podendo elucidar precisamente a etiologia destas, diagnóstico, toxicidade potencial, efeitos colaterais, porém não é possível reconhecer mutação não sinalizada, gene não rastreado e caso a doença não seja efeito direto da desordem genética (Angione, 2019).

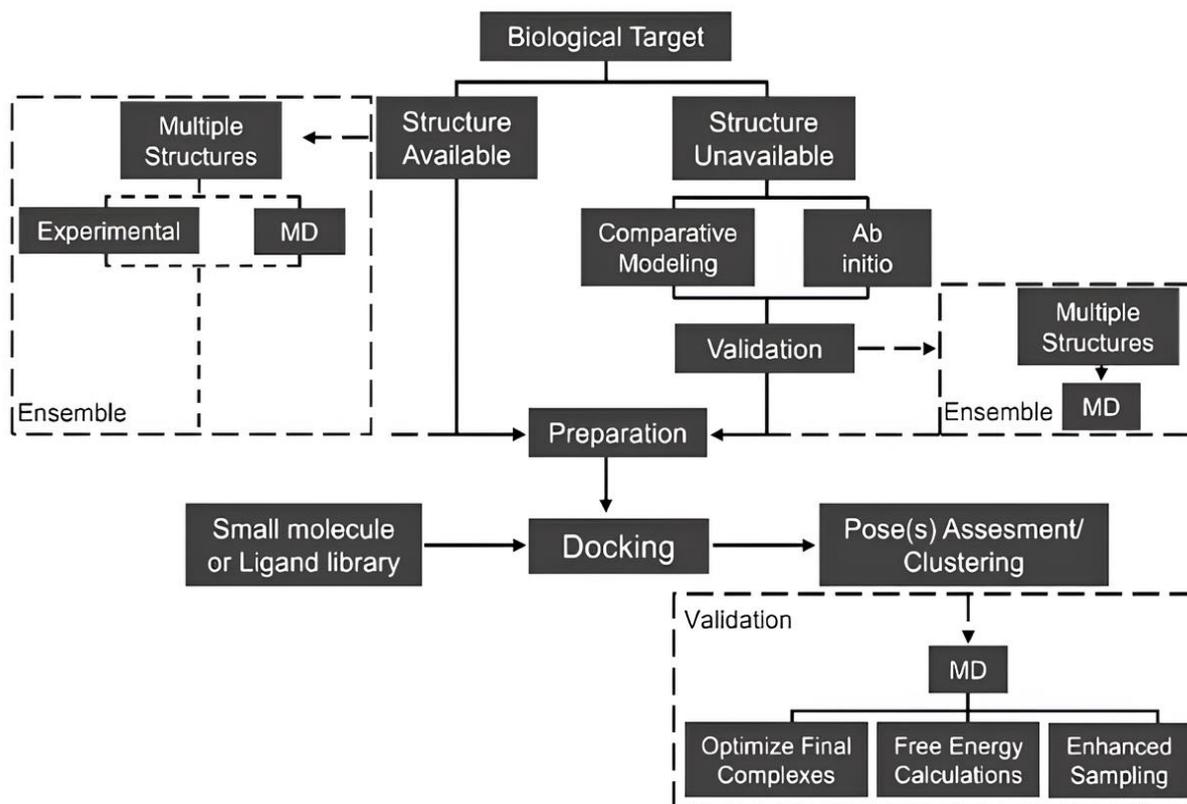
Transcriptômica, abordagem usada para estimar expressão dos genes, o que levou à ciência uma compreensão maior dos processos biológicos. Contudo, essa tecnologia apresenta limitações por não conseguir aplicá-la *in situ*, o que foi contornado com uso de forma seriada em regiões de interesse para reconstituir um eixo espacial através da transcriptômica espacial que pode ser utilizada em testes de hipóteses e em estudos experimentais com parâmetros cronológicos ou de condições, como ambientais e genéticas (Rao *et al.*, 2021).

Já a proteômica é empregada na análise dos efeitos da expressão gênica e subsequentes alterações pós-traducionais nas proteínas, enquanto a metabolômica é referente aos metabólitos e reações metabólicas celulares, já o fenótipo, é o observável de uma célula, fruto das interações complexas e os ciclos responsivos das camadas ômicas sob influência das desordens ambientais (Angione, 2019).

Hoje, a abordagem utilizada é a multiômica pela possibilidade de se considerar os efeitos conjuntos das interações na análise, embora haja possibilidade de estudar uma camada sozinha, limitado por não conseguir alcançar correlação representativa no fenótipo observável (Angione, 2019).

Para entendimento de como utilizar tais abordagens (Figura 20) pode ser visto no fluxograma o alvo biológico e quais os passos para estudá-lo através da bioinformática.

Figura 20 - Fluxograma dos passos de estudo *in silico* de alvo biológico.



Fonte: Santos; Ferreira; Caffarena (2019).

2.2.1 *Docking molecular*: definição e aplicabilidade

Com os progressos da biologia molecular e o avanço nos métodos de purificação de proteínas, cristalografia por difração de raios X e espectroscopia de ressonância magnética nuclear, os procedimentos de *docking* emergiram como uma ferramenta crucial na descoberta de novos fármacos. Graças a essas técnicas avançadas, foi possível elucidar a estrutura de diversos receptores biológicos. Na atualidade, existem bancos de dados de estruturas biológicas, à exemplo do *Protein Data Bank* (PDB), que disponibilizam estruturas proteicas e de ácidos nucleicos em três dimensões, de forma pública e gratuita (Meng *et al.*, 2011).

Conhecido como ancoragem, atracamento, acoplamento ou *docking molecular* (Santos, 2021), é um procedimento computacional que simula a interação entre duas moléculas, formando complexos proteína-ligante ou proteína-proteína (Verli, 2014). Ele gera previsões sobre o comportamento de uma molécula em nível atômico e interação com receptor, descrevendo a conformação e a orientação do

ligante no sítio ativo e, conseqüentemente, avaliando a afinidade da ligação pela energia de ligação entre o receptor-ligante (Kitchen *et al.*, 2004; Rodrigues, 2019).

De acordo com Alencar (2020), para um *docking* bem sucedido, deve-se realizar triagem virtual (*Virtual screening*), predição da pose e estimativa de afinidade do complexo. Para tanto, a triagem virtual consiste no uso de compostos com atividade biológica já conhecida para determinada ação preterida e, a partir disso uso de banco de dados para identificação de moléculas com semelhante estrutura (Rodrigues *et al.*, 2012).

A predição conformacional é feita a partir do programa elegido para efetuar o atracamento molecular, o qual usa parâmetros codificados em seus algoritmos para predição, em especial estes dois: algoritmos de busca e funções de pontuação (De Alencar, 2020). O algoritmo em que no *Autodock* é o genético Lamarckiano que age na otimização do posicionamento dos ligantes no sítio do receptor através da busca de mínimos locais e globais de energia, ou seja, explora diferentes conformações e orientações dos ligantes dentro da proteína alvo até que se alcance uma convergência para a energia mínima, considerando, para tanto a entropia e entalpia do sistema (Fernandes E Silva *et al.*, 2023; De Alencar, 2020; Agu *et al.*, 2023; Pagadala; Syed; Tuszynski, 2017).

As funções de pontuação avaliam a afinidade da interação do complexo ordenando as poses de acordo com a energia livre de ligação e classificando-as a partir da soma de interações eletrostáticas e de van der Waals por exemplo, além de identificar os modos de ligação mais favoráveis do ligante ao receptor visando complementariedade entre estrutura e interações específicas do sítio de ligação do receptor e do ligante (Fernandes E Silva *et al.*, 2023; De Alencar, 2020; Agu *et al.*, 2023).

Desta forma, ao avaliar as diferentes conformações espaciais do ligante, é possível identificar a conformação mais provável para seu acoplamento ao sítio ativo da proteína alvo (Huey *et al.*, 2007). No *AutoDock* este cálculo de energia de afinidade do complexo é sustentado pela equação (I):

$$C = \sum_{i < j} f_{tij} (r_{ij}) \quad (I)$$

em que é a soma sobre todos os pares de átomos que podem mover-se entre si, normalmente com exceção de 1 a 4 interações, referente a átomos separados por 3

ligações covalentes consecutivas em cada átomo i é atribuído a um tipo de t_i , e um grupo simétrico de funções de interação f_{tij} em relação a distância interatômica r_{ij} (Trott; Olson, 2010).

Em que, resumidamente, este valor pode ser tido como a soma de contribuições intermoleculares e intramoleculares, equação (II), com o fim de encontrar o mínimo global de c pela energia de ligação livre (Trott; Olson, 2010).

$$C = C_{inter} + C_{intra} \quad (II)$$

onde C_{inter} são contribuições intermoleculares e C_{intra} são contribuições intramoleculares (Trott; Olson, 2010).

A energia livre de ligação ou energia livre de Gibbs de ligação (ΔG_{lig}) refere-se à diferença entre as energias do ligante e da proteína isolados bem como a energia do complexo proteína-ligante formado após o acoplamento, em que são previstas, inicialmente, as variações da energia intramolecular das moléculas isoladas e, em seguida, são avaliadas as variações de energia intermolecular resultantes da formação do complexo proteína-ligante o (Huey *et al.*, 2007).

Ou seja, é calculada para cada conformação, sendo mais estável a interação receptor-ligante o quão menor, mais negativo, o valor obtido (Kitchen *et al.*, 2004; Fernandes E Silva *et al.*, 2023; Da Silva, 2017; Rodrigues *et al.*, 2012; De Alencar, 2020), equação (III) e (IV).

$$\Delta G_{lig} = \Delta H - T\Delta S \quad (III)$$

$$\Delta G_{lig} = - RT \ln K_{eq} \quad (IV)$$

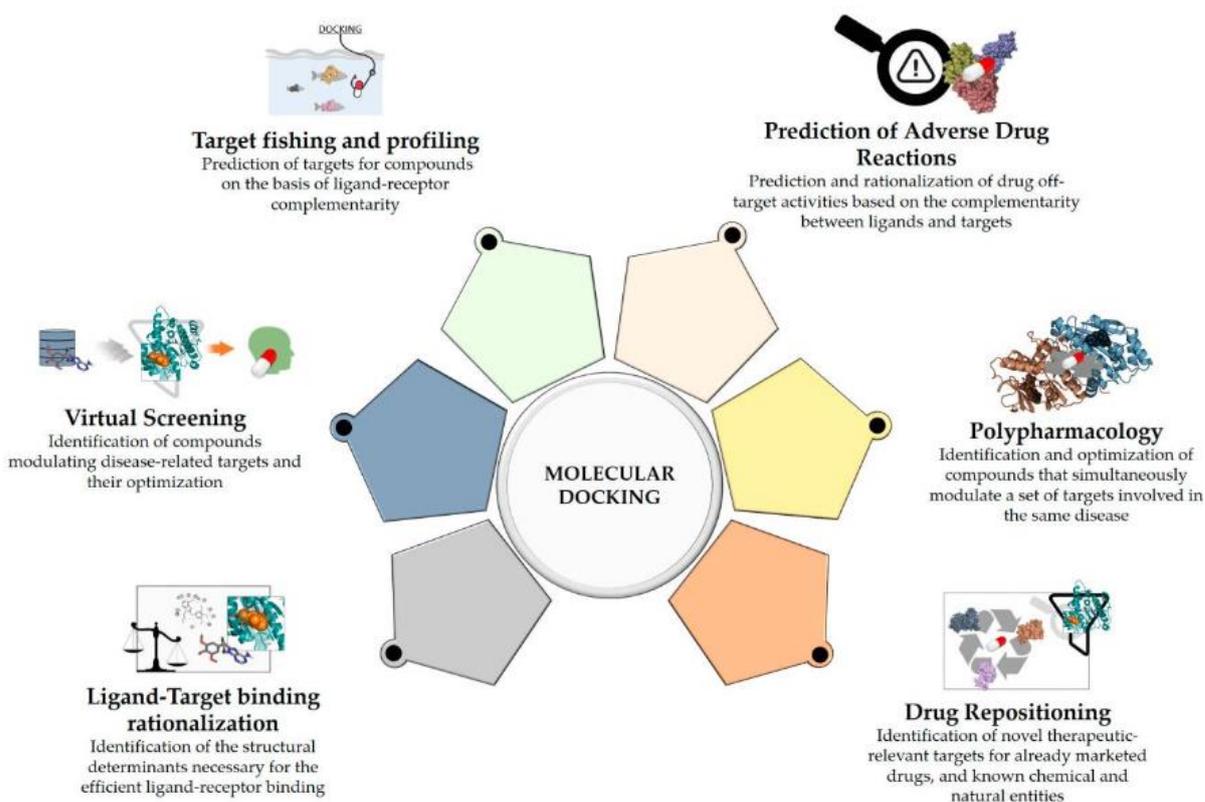
onde ΔH significa variação da entalpia; T é temperatura absoluta em escala Kelvin; ΔS é variação de entropia; R é constante universal dos gases e K_{eq} é constante de equilíbrio de ligação de uma possível reação (De Alencar, 2020).

Além disso, para realização *docking molecular*, neste trabalho é usado o *AutoDock Tools 4* para realização do preparo dos receptores a partir do uso de mapas de interação para acoplamento geradas pelos cálculos do programa *AutoGrid*. Essas grades (grid) de energia são calculadas previamente para interações entre os átomos do ligante e do receptor, sendo posteriormente utilizadas

pelo programa *AutoDock Vina 1.2* para execução da ancoragem (Seeliger; De Groot, 2010; Kitchen *et al.*, 2004).

É interessante apontar, dentre as principais aplicações desta ferramenta computacional, está a prospecção de medicamentos por permitir racionalizar a atividade dos ligantes com o receptor de interesse e triagem virtual de estruturas, reconhecer ligantes que interajam com vários alvos (polifarmacologia), além do reposicionamento de medicamentos já em uso encontrando novos alvos viáveis para administração do medicamento, Figura 21 (Pinzi; Rastelli, 2019).

Figura 21 - Aplicações do docking molecular.



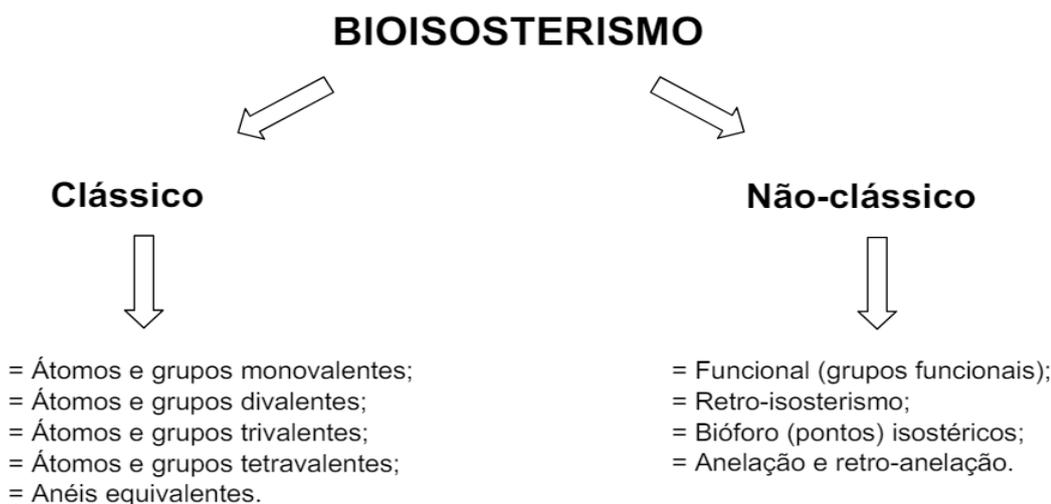
Fonte: Pinzi; Rastelli (2019).

2.2.2 Bioisosterismo: definição, história e aplicabilidade

O bioisosterismo é uma abordagem computacional com finalidade da modificação de compostos promissores (*lead compound*) para gerar medicamentos mais eficazes, seguros, além de economicamente e terapeuticamente mais atrativo (Jayashree; Nikhil; Paul, 2022).

É subdividido em duas classes, Figura 22 e Tabela 1, bioisosterismo clássico fundamentado na camada de valência semelhante de átomos, grupamentos, anéis aromáticos ou radicais isostéricos, desta forma tem-se: átomos e grupos mono/di/tri/tetravalentes, e anéis equivalentes; e o não clássico, em que se baseia em mudança de grupos funcionais que possuem características estruturais equivalentes, retroisosterismo alterando a posição dos grupos funcionais possibilitando uma alteração no modo de interação com receptor, abertura e fechamento de anel, além de bióforos (pontos) isostéricos que são subunidades de estruturas com sítio de ligação correspondente aos receptores biológicos (Nascimento, 2017; Elias, 2018; Jornada, 2015).

Figura 22 – Representação esquemática dos tipos de bioisosterismo.



Fonte: Galo (2012).

Tabela 1 - Bioisósteros clássicos e não clássicos.

(continua)

Clássicos				
Monovalentes		Divalentes	Trivalentes	Tetravalentes
-F	-SH	-CH ₂ -	=CH-	=C=
-OH	-PH ₂	-O-	=N-	=Si=
-NH ₂	-SiH ₃	-S-	=P-	=N ⁺ =
-CH ₃	-SR	-Se-	=As-	=P ⁺ =

(conclusão)

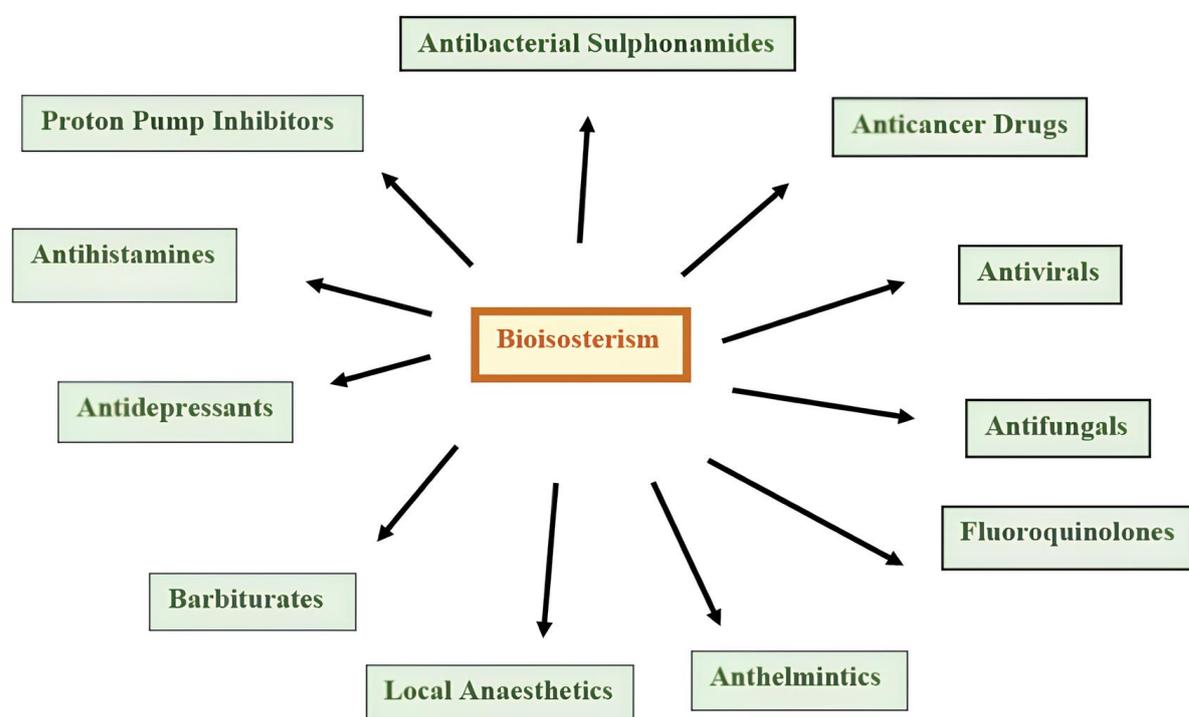
Monovalentes		Divalentes		Trivalentes	Tetravalentes	
-OR	-Br	-Te-		=Sb-		=As ⁺ =
-Cl	-I					=Sb ⁺ =
Não Clássicos						
-CO-	-COOH	-SO ₂ NH ₂	-H	-CONH-	-COOR-	-CONH ₂
-CO ₂ -	-SO ₃ H	-PO(OH)NH ₂	-F	-NHCO-	-ROCO-	-CSNH ₂
-SO-	Tetrazola					
-SO ₂ NR-	-SO ₂ NHR		-OH		-catecol	
-CON-	-3-hidroxi- isoxazola		-CH ₂ OH		-benzimidazol	
-CH(CN)-	-2- hidroxicromano		-NHCONH ₂			
R-S-R'	=N-		-NH-CS-NH ₂			-C ₅ H ₄ N
(R-O-R')						
R-N(CN)-R'	-C(CN)=		-NH- C(=CHNO ₂)NH ₂			-C ₆ H ₅
R-C(CN)(CN)-R'						- C ₄ H ₄ NC ₄ H ₄ S
	-halogênio					
	-CF ₃					
	-CN					
	-N(CN) ₂					
	-C(CN) ₃					

Fonte: Adaptada de Barreiro; Fraga (2015); Jornada (2015).

Surgiu no início do século XX, por Langmuir, como isosterismo através de seu estudo de diversas moléculas que apresentam propriedades físico-químicas semelhantes. Somente na metade do século com Friedman, que surgiu a possibilidade de estudar fatores biológicos similares ou antagonistas em moléculas não correlacionadas. Hoje, este conceito vai além e tem como parâmetros empregados aos bioisómeros, formato e volume molecular parecidos, distribuição eletrônica, propriedades físicas comuns, em adição aos parâmetros dos compostos ter que conseguir interagir com a mesma molécula alvo, isto é, atividade biológica análoga (Elias, 2018).

E, quanto sua aplicabilidade, é uma ferramenta muito usada na área da farmacologia para aprimoramento dos atributos farmacocinético e farmacodinâmico das moléculas (Elias, 2018), otimizando *hit-to-lead* para refinar estes candidatos e os tornar mais promissores e seletivos (Vairoletti *et al.*, 2022), seu uso é amplo em na evolução molecular de várias classes de drogas (Figura 23) (Jayashree; Nikhil; Paul, 2022).

Figura 23 - Classes de drogas em que o bioisosterismo pode ser aplicado.

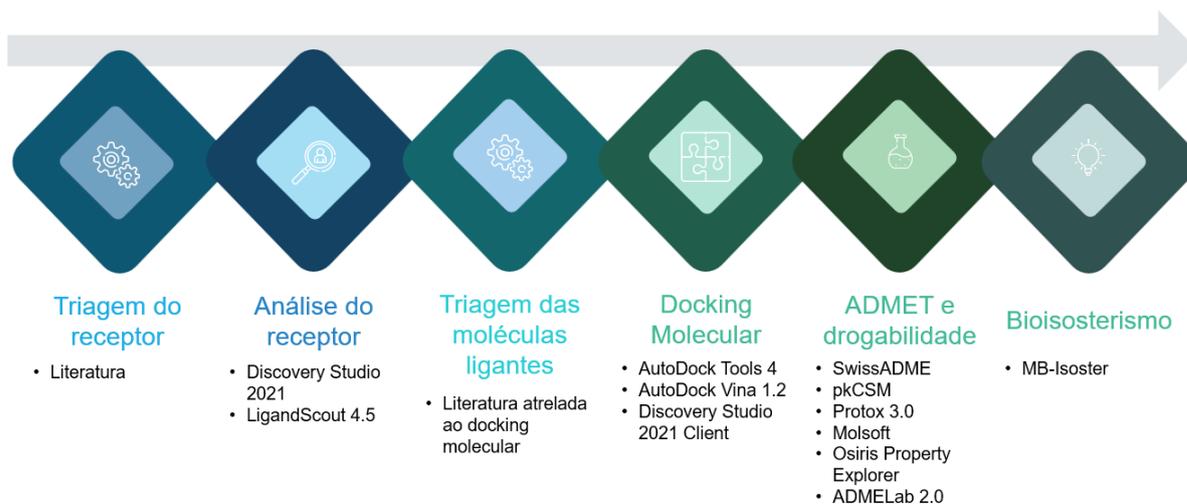


Fonte: Jayashree; Nikhil; Paul (2022).

3 METODOLOGIA

As etapas dos processos metodológicos realizados neste estudo seguem o passo a passo ilustrado na Figura 24.

Figura 24 - Ordem das análises no projeto.



Fonte: Própria autora (2024).

3.1 TRIAGEM DOS RECEPTORES

A definição do receptor para pesquisa *in silico* foi realizada por meio da literatura, em que se usou banco de artigos, como *Pubmed* (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) e *Science Direct* (<https://www.sciencedirect.com/>), para busca de região com alta conservação genômica dentre as variantes do SARS-CoV-2 a partir do parâmetro de pressão seletiva.

Para este estudo bibliográfico, as palavras-chave usadas foram: “*selection pressure*” AND “SARS-CoV-2” OR “*selective pressure on SARS-CoV-2 proteins*” OR “*selection pressure calculation*” AND “SARS-CoV-2”. Em seguida, com os resultados obtidos na pesquisa, foi adicionado como fator decisivo a importância da proteína para o processo infeccioso viral. Posteriormente à escolha do receptor, seguiu-se para obtenção da estrutura tridimensional no banco de dados PDB (*Protein Data Bank*) em formato *.pdb* (De Souza, 2015).

3.2 ANÁLISE DOS RECEPTORES

Com a sequência selecionada e em formato *.pdb*, realizou-se análises físico-químicas de hidrofobicidade pelo software gratuito *Discovery Studio 2021 Client*, o qual mostra qualitativamente o resultado por colorimetria, as regiões mais hidrofóbicas e mais hidrofílicas, a fim de observar regiões na superfície proteica ideais para serem drogadas, de acordo com sua hidrofobicidade (Baroroh *et al.*, 2023); e de drogabilidade do receptor por meio do software pago *LigandScout 4.5* (Wolber; Langer, 2005), o qual realiza a previsão de bolsas do alvo farmacêutico e subbolsas de ligação, além da capacidade de sua drogabilidade por meio de análises físico-químicas qualitativa através de dois fatores internos de análise ajustáveis: enterramento e limite (Ricci *et al.*, 2022).

O enterramento é calculado para cada ponto da grade, e agrupamentos de pontos são realizados para definir as cavidades. Isosuperfícies são então usadas para representar essas bolsas. No final do processo, o *LigandScout 4.5* conta o número de grades em cada bolsa (referido como: *cluster* ou *pocket* também) para determinar sua viabilidade como alvo de drogas, no qual a definição do valor mínimo necessário para considerar um ponto da grade durante o agrupamento é ajustável, porém foi utilizado o valor padrão: 0.50, enquanto o parâmetro limite, com valor padrão: 0.30 selecionado, especifica o tamanho mínimo do cluster para avaliar se uma bolsa pode ser considerada como alvo de drogas (Ricci *et al.*, 2022).

O resultado de drogabilidade é qualitativo, ou seja, visual, indicada por áreas drogáveis em cor laranja e em cinza, áreas com limitação (Ligandscout, 2024).

3.3 TRIAGEM DAS MOLÉCULAS LIGANTES

A triagem de moléculas ocorreu por triagem virtual (*virtual screening*) (Rodrigues *et al.*, 2012). Primeiro, realizou-se análise bibliográfica de compostos com função antiviral conhecida, foi utilizado banco de artigos, como *Pubmed* (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) e *Science Direct* (<https://www.sciencedirect.com/>) para realizar esta triagem inicial usando as seguintes palavras-chave: “*antiviral molecule*”. Depois de selecionada diversas moléculas, usou-se banco de dados para realizar o download dos ligantes em formato *.mol* nas plataformas online gratuitas: *Uniprot* (<https://www.uniprot.org/>), *ZINC data-base* (<https://zinc.docking.org/>),

Drugbank (<https://go.drugbank.com/>), *PubChem* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) (Fang, 2012). Posteriormente, com o uso do *Autodock Vina 1.2*, foi feita o estudo da bioatividade por meio da ancoragem molecular, em que o ligante com interação mais estável com o receptor foi selecionado para desenvolvimento desta pesquisa.

3.4 DOCKING MOLECULAR

Docking molecular tem o objetivo de prever a conformação fornecendo o grau de afinidade do ligante com o receptor, em que, ilustradamente, o primeiro identifica os encaixes mais estáveis energeticamente e o segundo é por cálculo de aproximação que considera o tamanho do ligante, energia interna de interação, posições atômicas e flexibilidade (Neis, 2019).

O procedimento adotado considerou o receptor rígido, sem alterações nas posições dos átomos da proteína, e o ligante com flexibilidade permitindo dez graus de liberdade. Para realização do *docking molecular* usou-se tanto do *AutoDock Tools 4* quanto o *AutoDock Vina 1.2*, o primeiro para o tratamento dos receptores e o segundo para realização da análise de ancoramento, adaptada de Maia (2013); De Souza (2015); Fernandes E Silva e colaboradores (2023).

A primeira etapa, preparo de receptor, consiste em ajustar o arquivo obtido no banco de dados com deleção de resíduos de água, checagem de átomos faltantes (missing atoms), adição de hidrogênio ao receptor e carga de Kollman, finalizando com a exportação do arquivo em formato *.pdbqt*. Ainda no *AutoDock Tools 4*, é necessário analisar a caixa (*grid*) e reservar as coordenadas selecionadas para configuração da pasta do *docking*, neste trabalho usou-se o *docking* exploratório, sem sítio marcado com o *grid* englobando todo o receptor de modo centralizado, as coordenadas cartesianas x, y, z foram 126Å x 126Å x 126Å.

Em seguida, os ligantes passaram por processo de preparação também, os quais foram convertido para formato *.pdbqt* com o *Discovery Studio 2021 Client* e adicionados na pasta do *docking*. Após, a organização do receptor e ligante é feito o *docking molecular* em si e a partir do algoritmo genético lamarckiano (LGA) para simulação foi obtido as 10 melhores conformações de cada complexo ancorado com maior estabilidade energética na interação do receptor com o ligante.

Estes complexos com maiores níveis de afinidade foram avaliados no *Discovery Studio 2021 Client* com a análise do Diagrama 2D geração das imagens dos complexos (Humphrey; Dalke; Schulten, 1996; Pawar; Rohane, 2021).

3.5 PERFIL FÍSICO-QUÍMICO, FARMACOCINÉTICO E TOXICOLÓGICO (ADMET) E DE DROGABILIDADE

As análises de perfil físico-químico, ADMET e de drogabilidade, metodologicamente, foram adaptadas de Rodrigues (2019); De Oliveira (2023); Bai; Geethavani; Ramakrishna (2022); Silva (2015); Preethi *et al.* (2021); Dulsat e colaboradores (2023).

Inicialmente, preparou-se os ligantes convertendo-os para o formato aceito em todas as plataformas usadas, de *.mol* para *SMILES* com o software gratuito *Open Babel 3.0* (Apêndice A). Em seguida, foram usadas diversas plataformas online gratuitas para obtenção dos parâmetros referente a cada análise (Tabela 2), como *SwissADME* (<http://www.swissadme.ch/>) (Daina; Michielin; Zoete, 2017), *pkCSM* (<https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsm/prediction>) (Pires; Blundell; Ascher, 2015), *ProTox 3.0* (https://tox.charite.de/protox3/index.php?site=compound_input) (BANERJEE *et al.*, 2024), *Molsoft* (<https://molsoft.com/mprop/>) (Lane *et al.*, 2013), *Osiris Property Explorer* (https://www.cheminfo.org/flavor/cheminformatics/Utility/Property_explorer/index.html) (Sander *et al.*, 2009) e *ADMETLab 2.0* (<https://admetmesh.scbdd.com/service/evaluation/index>) (Xiong *et al.*, 2021).

Tabela 2 - Plataformas utilizadas e respectivas análises extraídas.

(continua)

SwissADME	pkCSM	ProTox 3.0	Molsoft	Osiris Property Explorer	ADMETLab 2.0
MM	nOH	Refratividade molar	Fórmula molecular	<i>Drug score</i>	PPB
Núm. átomos	nOHNH	Carcinogênese	pK _a		CI
Log S	Log P	LD ₅₀	<i>Drug-likeness score</i>		t _{1/2}
LR	Caco-2				

(conclusão)

SwissADME	pkCSM	ProTox 3.0	Molsoft	Osiris Property Explorer	ADME Lab 2.0
Viol. RO5	HIA				
Viol. Veber	BBB				
TPSA	AMES				
Fsp ³	hERG I				
P-gp	hERG II				
HOB					
CYP1A2					
CYP 2C19					
CYP 2C9					
CYP 2D6					
CYP 3A4					

Fonte: Própria autora (2024).

Legenda: As análises na cor verde representam as análises físico-químicas; em azul: absorção; em laranja – distribuição; em roxo – metabolismo; em preto – eliminação; em vermelho – toxicidade.

Os resultados foram comparados com os parâmetros pré-estabelecidos pelas regras de Lipinski e Veber (Rodrigues, 2019; De Oliveira, 2023). Para o cálculo de absorção oral teórico (%ABS), seguiu-se a Equação (V) (Medeiros *et al.*, 2020; Kumar *et al.*, 2020).

$$\%ABS = 109 - (0.345 \times TPSA) \quad (V)$$

onde %ABS é a porcentagem de absorção oral teórico e TPSA é a área da superfície polar topológica.

3.6 ANÁLISE DE BIOISOSTERISMO

O software *MB-Isoster* funciona da seguinte maneira, é necessário a adição da molécula em formato *.pdb* para estudo, após é necessário a seleção do ponto, região do ligante a ser otimizado pelo programa. Com isto, o programa gerará 8 isósteres como resultado, os quais podem, caso o usuário deseje, passar por um

filtro interno fundamentado na regra dos cinco de Lipinski (RO5) e, prontamente ser salvo os isósteres escolhidos em formato *.pdb* para uso em análises posteriores, adaptado de Elias (2018); Borba e colaboradores (2023); Elias; De Oliveira; Da Silveira (2018).

Assim, com a finalidade de aprimorar parâmetros farmacocinéticos e farmacodinâmicos do ligante que apresentou um complexo receptor-ligante mais estável, foi estudado as interações moleculares deste com o receptor e selecionadas as regiões com maior estabilidade para uso no *MB-Isoster*. A finalidade da escolha é a melhora seu perfil de atuação, resultando em um complexo mais favorável energeticamente.

Desta forma, a primeira etapa foi estudar a molécula ligante e definir o(s) ponto(s) em que será feita a análise. Em seguida, com o software gratuito *MB-Isoster*, abriu o ligante e selecionou o(s) ponto(s) e deu início a execução da produção de 8 isósteres pelo software, os quais não foram passaram pelo filtro da regra dos cinco de Lipinski (RO5), pois, será feito a triagem dos mesmos considerando os resultados de interação provenientes do *docking molecular*, além do perfil físico-químico, farmacocinético e de toxicidade, para comparação com a molécula precursora da análise.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

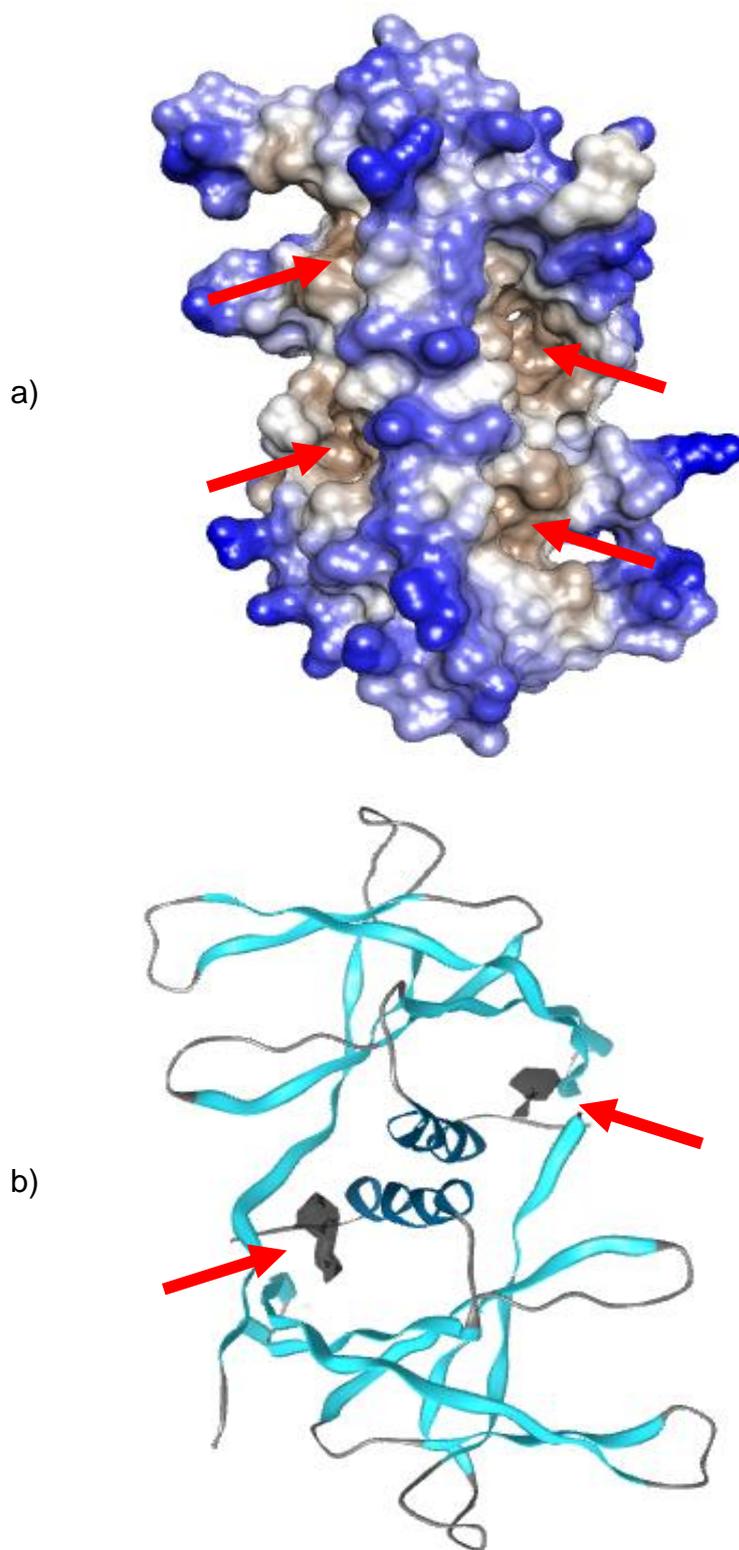
Para a seleção do receptor, a medição da pressão seletiva foi fundamental para compreender, evolutivamente, o nível conservativo das proteínas virais, ao apresentar resultado negativo exprime um alto nível de preservação, que significa preservação da estrutura e funcionalidade, como as áreas de codificação sobrepostas; e, quando positivo, está mais suscetível a modificações estruturais e de funcionalidade pela mutabilidade viral, normalmente é referente a proteínas de superfície e regiões com exposição interativa com outras moléculas do sistema imune do hospedeiro (Rubio *et al.*, 2023).

Assim, com o estudo de Presti; Rezza; Stefanelli (2020) sobre a pressão seletiva das proteínas: NSPs (NSP: 1,2,3,4,6,7,8,9,10,11,12), helicase, protease do tipo 3C (*3C-like proteinase*), exoribonuclease 3'-5' (ExoN), endoRNase, 2-O-ribose metiltransferase, metiltransferase, glicoproteína de superfície, espícula, ORF3a, envelope, membrana, ORF6, ORF7a, ORF8, nucleocapsídeo e ORF10, em que para definição destes subconjuntos de sequências de proteínas passaram pela exclusão de sequências curtas ou com alta nível de códigos ambíguos (Apêndice B).

A partir dos resultados obtidos, em que a NSP9 não apresentou sites com pressão seletiva positiva e negativa, resultado comum às NSP7 e NSP8, foi analisado a ação viral da proteína para escolha do receptor, assim, o fato da NSP9 atuar como um cofator importante no processo infeccioso viral e ser altamente conservada e participar do processo de síntese do RNA viral, além de, evolutivamente, ser uma seleção purificadora (Gupta; Gupta; Bhatnagar, 2024), a fez ser selecionada.

Em seguida, foi feito o estudo de hidrofobicidade e drogabilidade do receptor (Figura 25(a-b)).

Figura 25 - Análises de drogabilidade e hidrofobicidade do receptor, a NSP9.



Fonte: Própria autora (2024).

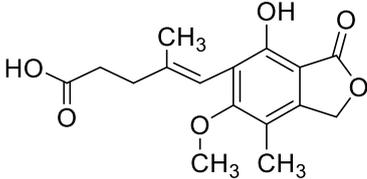
Legenda: a) Perfil de hidrofobicidade da proteína NSP9. As setas mostram as regiões mais hidrofóbicas; b) Análise de drogabilidade do receptor. As setas mostram região em cor cinza, que representa ser uma área com drogabilidade limitada; Código da NSP9 no PDB: 6W4B.

Analisando o receptor, conforme Amador *et al.* (2018), as áreas mais hidrofóbicas das proteínas, localizadas mais internamente em sua estrutura, são conhecidas por serem sítios catalíticos. Assim, a partir da Figura 25(a), é possível observar em azul estas áreas mais hidrofílicas e nas regiões próximas ao tom avermelhado, a hidrofóbica (indicadas com uma seta na figura), esta última é priorizada, pois um baixo valor de hidrofobicidade interfere na formação de um núcleo globular estável, um dos principais fatores para a causa da desordem intrínseca (Nicolau Junior, 2013).

Na figura 25(b) é possível observar os resultados da análise de drogabilidade, que a partir dos parâmetros ajustáveis de enterramento e limite conseguem identificar cavidade acessíveis na proteína, as bolsas (Ricci *et al.*, 2022), estas são identificadas qualitativamente em duas classes, drogáveis (que aparece a cor laranja em volta da proteína indiciando a região) e com restrição por serem consideradas pequenas demais para acomodar ligante (na cor cinza) (Ligandscout Tutorial, 2024). Como resultado para o receptor NSP9, pode-se observar área cinza, o que denota limitação de drogabilidade, em uma região da proteína que, em contraste com a Figura 25(a), é uma área hidrofóbica.

Como etapa subsequente, fez-se a triagem dos ligantes, sendo o ácido micofenólico o que se destacou dentre os demais. Na Tabela 3, pode-se observar as informações estruturais e de obtenção.

Tabela 3 - Informações referentes ao melhor ligante obtido no *docking molecular*, o ácido micofenólico.

Estrutura	Fórmula molecular	Local	Código de acesso
	C ₁₇ H ₂₀ O ₆	Drugbank	DB01024

Fonte: Própria autora (2024).

O ácido micofenólico possui ação antiviral conhecida para febre *Oropouche*, expondo potencial contra o SARS-CoV-2 (Livonesi, 2006). É o ligante que interagiu de maneira mais estável energeticamente com a NSP9 (Tabela 4).

Tabela 4 - Resultado da duas melhores conformações produzida a partir do *docking molecular*.

Complexo	Energia de ligação (kcal/mol)	Constante de inibição (μM)	Ligações de hidrogênio (receptor-ligante)
1a	-6,65	13,32	B:ARG40:O – O:H39 B:ARG40:HH11 – O:O6
1b	-7,19	5,36	B:ARG40:HH11 – O:O6, O5

Fonte: Própria autora.

Legenda: Código *Drugbank*: DB01024.

Dentre as 10 conformações geradas pelo *docking*, as duas melhores estão expostas na Tabela 4. É possível observar os parâmetros de energia de ligação, constante de inibição e ligações de hidrogênio. A energia de interação receptor-ligante, prediz que quanto menor for seu valor, mais estável a interação do complexo será, pois reflete em um mínimo gasto energético para que se mantenham na pose formada no complexo, isto é, mais favorável será o contato entre as moléculas e a ligação resultante (De Souza, 2015).

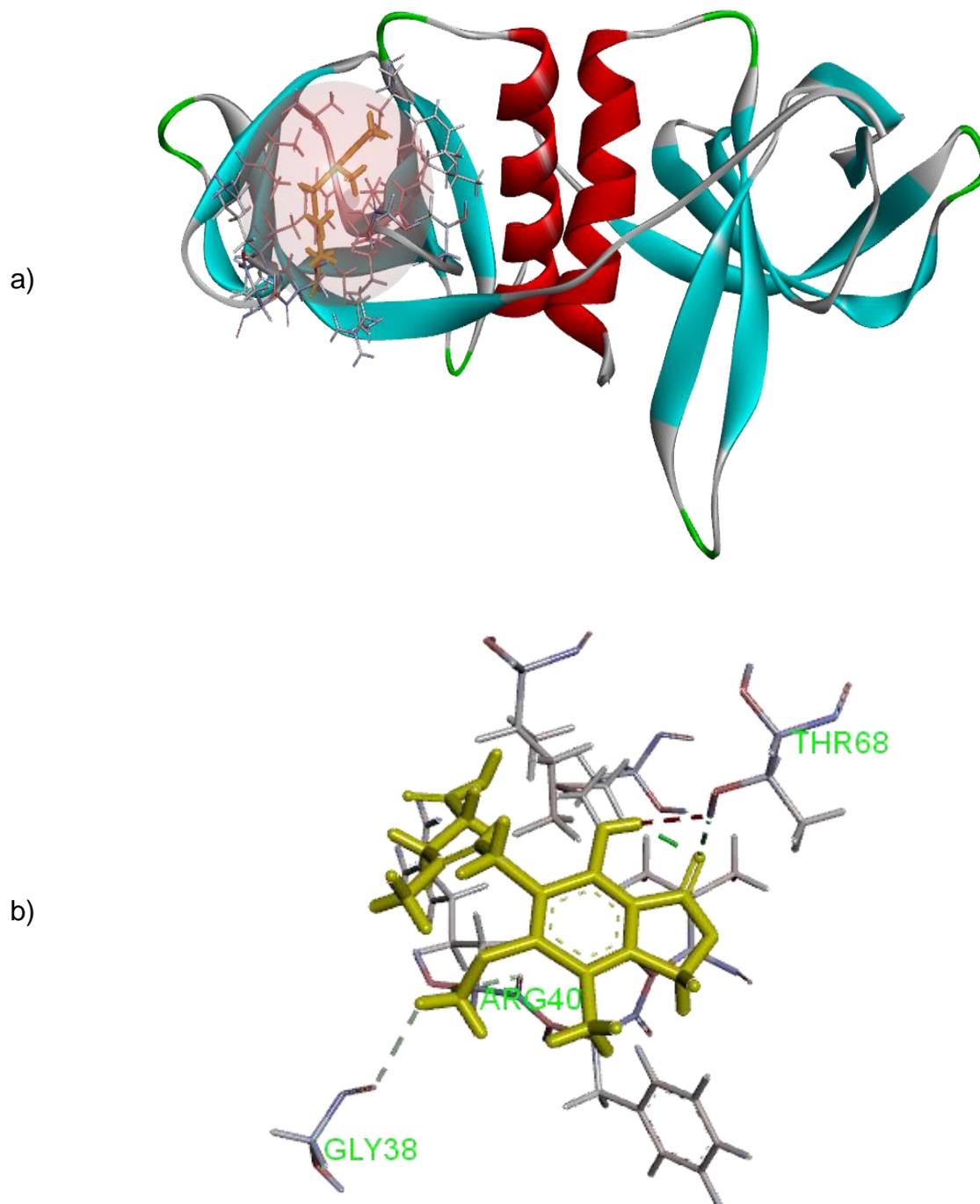
A constante de inibição é referente a força de interação entre a proteína e o ligante, representa o quanto o ligante é capaz de inibir a atividade do alvo farmacológico, o ideal que seja o menor possível, dado que a probabilidade de dissociação será menor e, conseqüentemente, a inibição maior (Demir *et al.*, 2022; Pandey; Verma, 2020).

Já ligação de hidrogênio é muito importante no encaixe molecular, em razão do mecanismo de estabilização e de afinidade de ligação, além do seu papel na atividade biológica por estar acompanhada de interações hidrofóbicas que influenciam no comportamento do complexo (Verma *et al.*, 2023; Sindhuja; Karnan; Gayathri, 2024; Maganhi, 2009; De Souza, 2015).

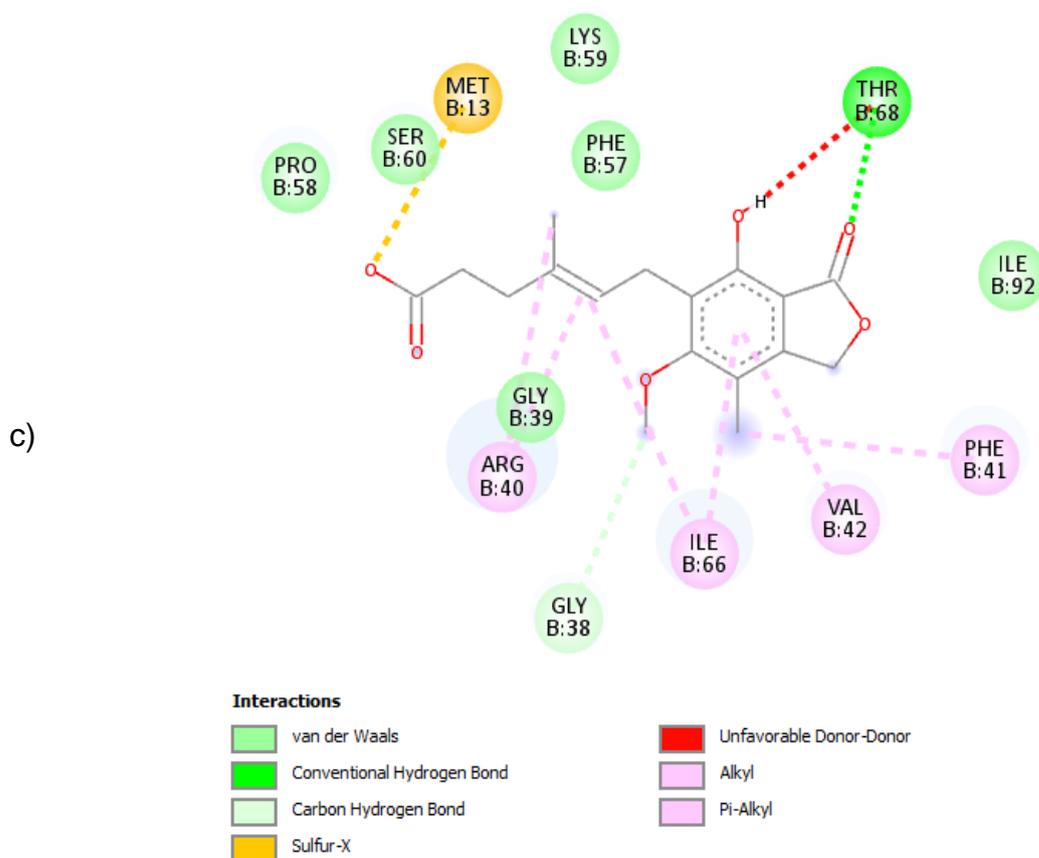
Assim, de acordo com os parâmetros de interação por *docking molecular*, o complexo 1b mostra-se com maior potencial, apesar de não ter menos ligação de hidrogênio que o complexo 1a, em função do valor da energia de ligação e de inibição pelos valores mínimos que refletem em uma maior proximidade do receptor. Adicionalmente aos resultados de *docking molecular*, o diagrama 2D e a posição dos complexos podem ser observados nas Figuras (26(a-c) e 27(a-c)).

Figura 26 – Visualização das interações receptor-ligante do complexo 1a.

(continua)



(conclusão)



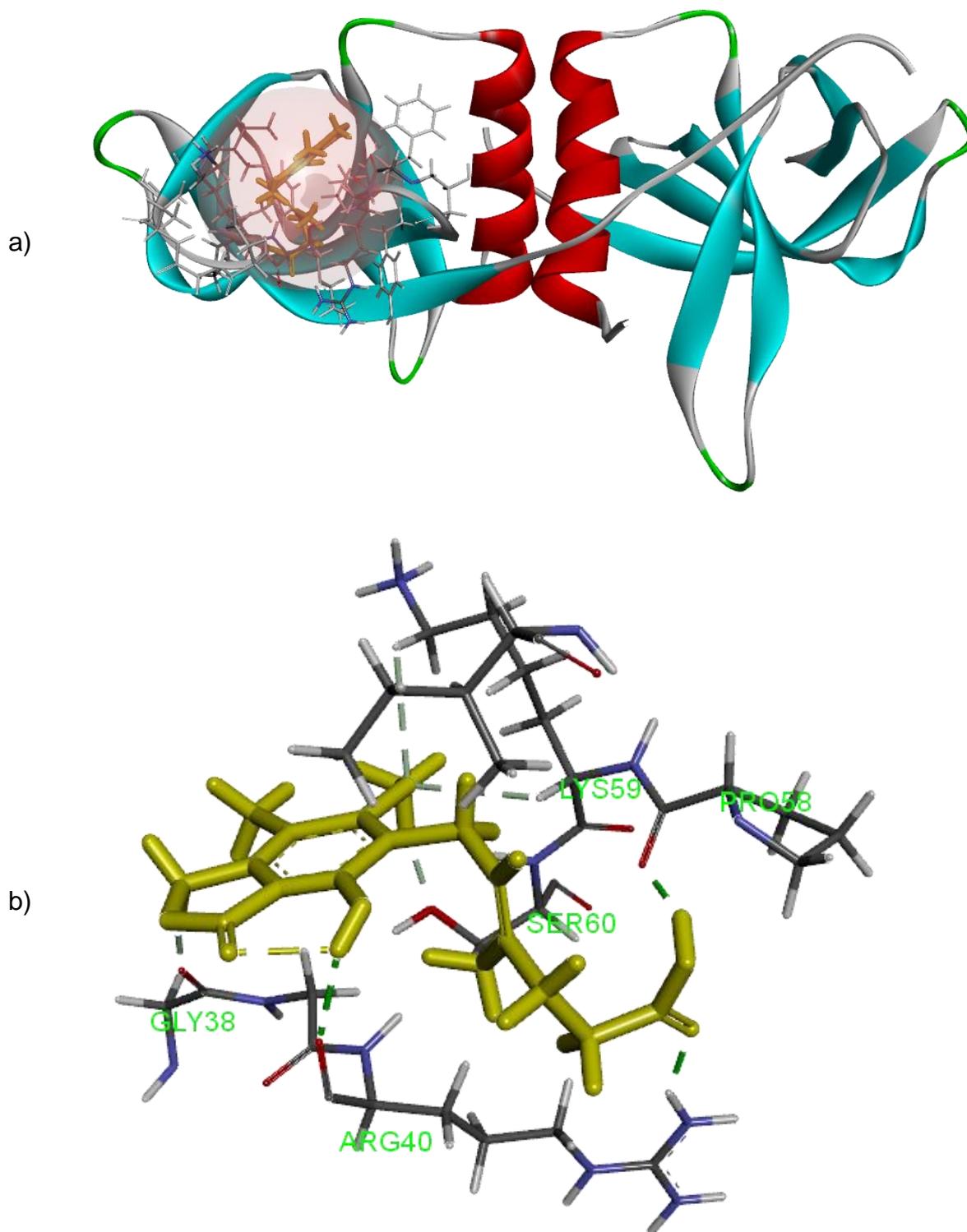
Fonte: Própria autora (2024).

Legenda: (a) Visualização da interação entre ligante e receptor; (b) Visualização dos resíduos do receptor que interagem com o ligante; (c) Diagrama das ligações do complexo.

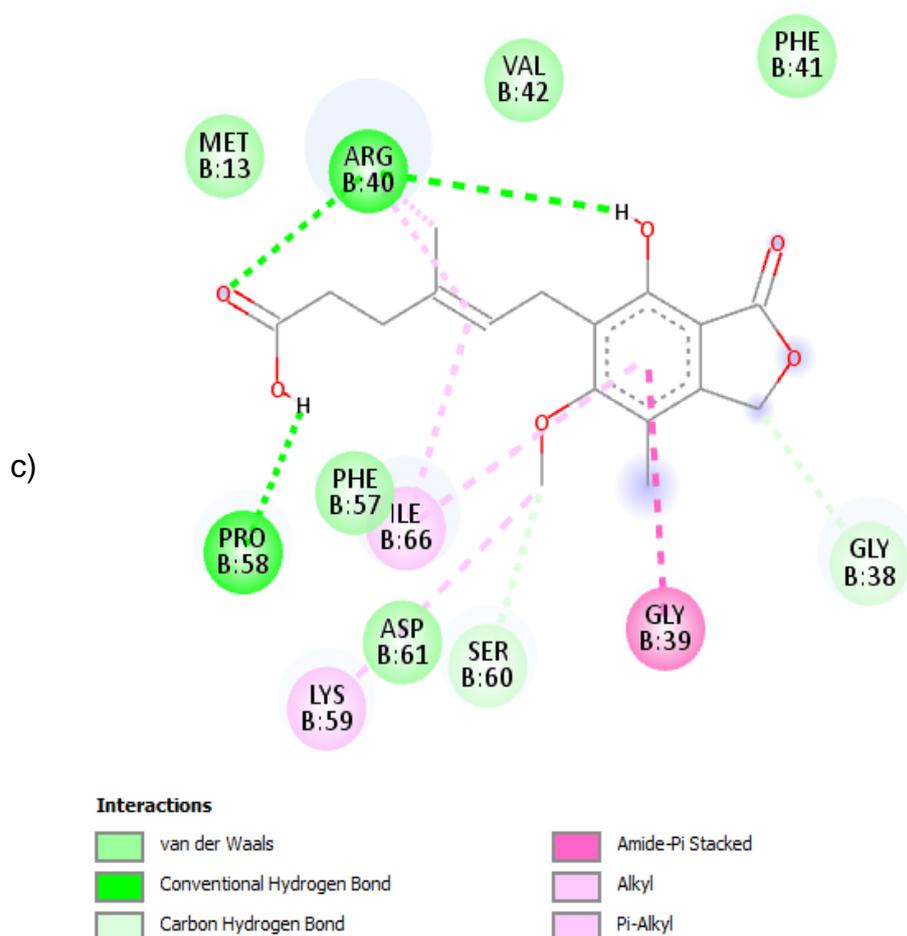
A partir das análises complementares sobre as interações presentes no complexo 1a, Figura 26(a-c), é possível observar uma identificação de uma ligação desfavorável doador-doador (*unfavorable donor-donor*) na legenda da análise, apesar da mesma não aparecer no gráfico. A formação de qualquer ligação desfavorável dentro do complexo proteína-ligante diminui sua estabilidade, pois essas ligações implicam em forças de repulsão entre moléculas e átomos (Dhorajiwala; Halder; Samant, 2019).

Figura 27 – Visualização das interações receptor-ligante do complexo 1b.

(continua)



(conclusão)



Fonte: Própria autora (2024).

Legenda: (a) Visualização da interação entre ligante e receptor; (b) Visualização dos resíduos do receptor que interagem com o ligante; (c) Diagrama das ligações do complexo.

Na Figura 27(a-c) é possível observar um complexo receptor-ligante mais estável comparativamente ao complexo 1a, pela não presença de interações não favoráveis. Dentre as interações intermoleculares, em especial, a interação de hidrogênio, no resíduo ARG40 da cadeia B do receptor foi visto em todos resultados com este ligante, reforçando ser um resíduo de aminoácido promissor do receptor.

Adentrando mais sobre o ácido micofenólico, de nome comercial: Cellcept®, Myfortic®, Micoimmun® e Mofilen®, e como princípio ativo: o micofenolato de mofetil e micofenolato de sódio (Agência Europeia de Medicamentos, 2024; Brasil, 2013). É um medicamento com atuação como imunossupressor em transplantes para prevenção aguda e crônica de rejeição, agindo como inibidor enzimático da inosina-monofosfato desidrogenase (IMPDH), restringindo a síntese de nucleotídeos de

guanossina e, suspendendo a divisão de diversas linhagens de células (De Oliveira, 2012; Siebert *et al.*, 2017).

Além de sua conhecida ação antiviral, possui outras, como antifúngica, antibacteriana e anticancerígena (Siebert *et al.*, 2017). E, como características, possui a de ser seletivo, um inibidor reversível e não competitivo (De Oliveira, 2012).

O uso de uma molécula para fins farmacológicos, independente da origem (fonte natural, de síntese química ou protótipo molecular), o “*Lead compound*” (molécula com bioatividade promissora com necessidade de otimização) busca melhorias por alteração química para adequação às propriedades aceitáveis para um fármaco, como maior seletividade, efeito e menor toxicidade. Um exemplo da importância do estudo de suas características é de que mudanças físico-químicas podem alterar comportamento farmacocinético e torná-la inapropriada para uso oral. Suas especificidades estão relacionadas à estrutura química e são responsáveis por direcionarem o pesquisador quanto a ação da droga e viabilidade do seu uso (Santos; Gonsalves; Araújo, 2018; Silva, 2015).

Em 1997, Lipinski e colaboradores do grupo Pfizer investigaram mais de dois mil fármacos, especificamente propriedades físico-químicas necessárias ao fármaco para uso oral, como bom nível de solubilidade em água e capacidade de permear no intestino (Santos; Gonsalves; Araújo, 2018; Lipinski, 2004). A Regra dos 5 de Lipinski (RO5) foi criada num contexto em que houve uma exacerbada criação de compostos com grande variação de propriedades físico-químicas, assim, esta metodologia visa direcionar o comportamento químico no sentido que tenha maior probabilidade de ser viável seu uso na farmacologia (Lipinski, 2004). É fatídico que resultados satisfatórios no RO5 não garantem um status de *drug-like* semelhante, porém sua aprovação está associada a 90% de ativos que chegaram ao status clínico fase II (Lipinski, 2004).

Especificamente, os parâmetros analisados são massa molecular (MM) com limite de 500 Dalton permitindo permeabilidade da molécula dentre as membranas celulares; Log P (logaritmo do coeficiente de distribuição), coeficiente de partição, que quantifica o nível lipofilicidade com intervalo ideal de 1 a 5, a não correspondência é indício de toxicidade; e já os aceptores (nOH) e doadores (nOHNH) de hidrogênio, respectivamente deve ter valor igual ou menor que 10 e 5, está relacionado com as interações com moléculas de água, a qual deve apresentar

baixo valor para que não afete o processo farmacocinético da absorção (Silva *et al.*, 2022; Ullah *et al.*, 2019; Kerns; Di, 2008).

A regra de Veber, usa propriedades relacionadas com a regra dos cinco (RO5) que associam especificidade química com à biodisponibilidade oral em ratos, colaborando para o entendimento global sobre a potencialidade farmacológica. Dentre eles, tem a ligação rotacional (LR), relacionada com investigação das regiões da estrutura molecular energeticamente mais favorecidas, quanto maior o número de ligações, menor a afinidade de interação do ligante e acima de 10 já afeta a biodisponibilidade oral em ratos (De Oliveira, 2023; Lipinski, 2004).

E área da superfície polar topológica (TPSA, em inglês *Topological polar surface area*) que descreve a absorção farmacológica a partir da assimilação intestinal, penetrabilidade hematoencefálica e biodisponibilidade (Medeiros *et al.*, 2020). Caso, em conjunto com a MM, tenham valores altos impactam negativamente na permeabilidade, valor ideal do TPSA menor ou igual 140Å (Ullah *et al.*, 2019; Medeiros *et al.*, 2020).

Outros parâmetros de análise físico-química são: refratividade molar, desejável entre 40 a 130, refere-se ao tamanho da molécula, o volume molar corrigido pelo índice de refracional, a qual está diretamente envolvida na estrutura tridimensional e no ajuste do composto ao sítio receptor (Ullah *et al.*, 2019; Barbosa, 2020); pKa, chave para compreensão do efeito do pH sobre características físico-químicas, como lipofilicidade, solubilidade e metabolismo e, assim, orientar o design do novas drogas, espera-se que ácidos não tenham $pK_a < 4$ e bases $pK_a > 10$ (Cruciani *et al.*, 2009; Comer; De Karl, 2003; Manallack, 2007); o log S (logaritmo da solubilidade) informa a solubilidade em água do composto, no modelo ESOL é uma relação linear entre log P, massa molecular, ligações rotativas e fração de átomos pesados aromáticos, idealmente deve estar abaixo de 6 (Daina; Michielin; Zoete, 2017)

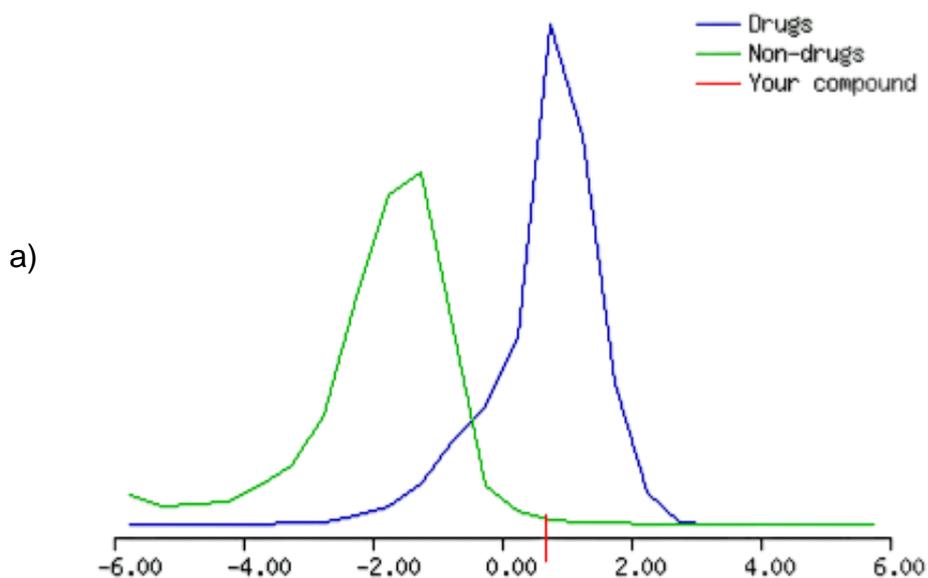
O *drug score* (tradução: Pontuação de fármacos) é o atributo que combina informações de predição de similaridade, polaridade, solubilidade, massa molecular e riscos toxicológicos para calculá-lo, variando de 0 a 1, preferível o mais próximo de 1 e corresponde a potencialidade de qualificação de um composto como droga (De Brito, 2011; Medeiros *et al.*, 2020); e *drug-likeness score* (tradução: Predição de similaridade) que qualifica o potencial da molécula ser um fármaco por seus grupamentos em comparação ao banco de dados quantificando-as, preferível valor

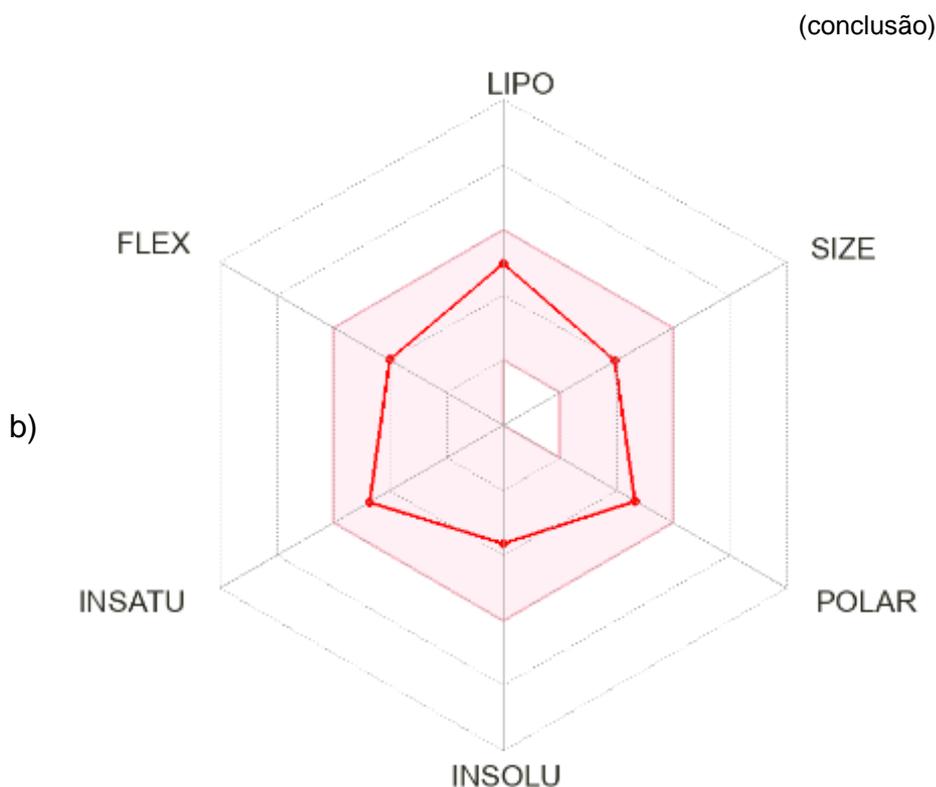
positivo, e qualificando-as em duas classes: medicamentosas (*drug*) e não medicamentosas (*non-drug*) (Medeiros *et al.*, 2020; Silva, 2015; Lee *et al.*, 2022; Caiana; De Medeiros Filho; De Freitas, 2019).

Tendo como base estas propriedades físico-químicas e os resultados obtidos do ligante ácido micofenólico, Figura 28(a-b), pode-se observar as características da ácido micofenólico (MPA) e drogabilidade.

Figura 28 - Características da molécula ácido micofenólico e potencial de drogabilidade.

(continua)





Fonte: Própria autora (2024).

Legenda: a) Gráfico de drogabilidade do composto; b) Gráfico do perfil físico-químico.

Na Figura 28(a), pode-se observar no gráfico o valor deste composto entre 0-2, mostrando-se pertencente da classe medicamentosa (*drug*) pela análise de predição de similaridade (*drug-likeness score*) qualitativa, o que foi ratificado pela quantitativa, 0.69, presente na Tabela 6.

Já na Figura 24(b) é possível observar uma área preenchida de cor rosa referente as informações presentes no banco de dados sobre moléculas com estrutura molecular similar e em linha contínua em vermelho como esta molécula se comporta em relação aos valores de referência, exprimindo perfil mais polar, insaturada e lipossolúvel, o qual, apesar disso, é um ácido orgânico fraco em relação a sua lipossolubilidade (Dasgupta, 2016).

Tendo como base os dados referentes às propriedades das regras de Lipinski de cada classe de compostos (Tabela 5) especificamente para classe outros, a qual se encaixa mais apropriadamente pelo ácido micofenólico ser um éster, é possível contrapor com os resultados obtidos das propriedades físico-químicas do ácido micofenólico obtidos neste trabalho (Tabela 6).

Tabela 5 - Propriedades da RO5 de acordo com *drug-like* e classe dos compostos.

Classe	MM	nOH	nOHNH	Log P	LR	Viol. RO5		Drug-likeness score
						Sim	Não	
Polifenólico	530-1075	7-20	4-17	0.91-6.64	2-7	31	1	-1.11-0.79
Flavanoide	270-756	6-20	3-11	-2.36-2.49	1-12	42	7	-0.10-1.09
Antraquinona	342-446	6-10	0-5	-3.39-3.87	3-9	0	20	-0.81-0.66
Terpenos	288-602	1-13	0-6	-0.64-8.88	0-9	6	10	-0.98-0.29
Outros	148-578	1-14	0-11	-2.58-8.92	0-15	13	20	-1.74-0.96
Ácido carboxílico	189-390	1-5	0-4	2.27-7.58	0-16	7	7	-0.89-0.30

Fonte: De Oliveira (2023).

Legenda: Outros: óleo essencial, acetato, lactona, cumarina, semiquinona-chalcona, esteroil fenilpropanóide, cromona; MM: Massa molecular; nOH: Aceptores de hidrogênio; nOHNH: Doadores de hidrogênio; Log P: Logaritmo do coeficiente de distribuição n-octanol/água; LR: Ligação rotacional; Viol. RO5: Violação da Regra dos 5 de Lipinski; Viol. Veber: Violação da regra de Veber.

Tabela 6 - Propriedades físico-químicas do ácido micofenólico.

Molécula	Ácido micofenólico	
Fórmula molecular	C ₁₇ H ₂₀ O ₆	
MM	320,34	
Número de átomos	23	
nOH	5	
nOHNH	2	
Log P	2,73	
Log S	-3,64	
LR	6	
Viol.	RO5	Não
	Veber	Não
TPSA	93,06	
Fsp³	0,41	
Drug-likeness score	0,69	
Drug score	0,62	
Refratividade molar	84,35	
pKa para maioria de básicos/ácidos grupos	0/4,84	

Fonte: Própria autora (2024).

Legenda: MM: Massa molecular; nOH: Aceptores de hidrogênio; nOHNH: Doadores de hidrogênio; Log P: Logaritmo do coeficiente de distribuição n-octanol/água; Log S: Logaritmo da concentração molar; LR: Ligação rotacional; Viol. RO5: Violação da Regra dos 5 de Lipinski; Viol. Veber: Violação da regra de Veber; TPSA: Topological polar surface área; Fsp³: Fração de carbonos sp³; pKa: Logaritmo negativo da constante de dissociação ácida (Ka).

Assim, o ácido não violou nenhum dos parâmetros da lei dos 5 de Lipinski, e por estar dentro do intervalo geral e também de sua classe química, o que reflete uma boa potencialidade da molécula quanto a viabilidade de administração por via oral, legitimada pela forma de uso do fármaco, atualmente para uso em transplante renal, cardíaco e hepático, além de possuir formulação intravenosa (Agência Europeia de Medicamentos, 2024; Dasgupta, 2016). Com respeito ao Log P, este está acima do valor indicado na Tabela 5, porém encontra-se dentro da faixa ideal, intervalo de 1-5 (Silva *et al.*, 2022; Ullah *et al.*, 2019; Kerns; Di, 2008).

Adicionalmente às regras de Lipinski e Veber, Dulsat e colaboradores (2023), em seus estudos, abordaram parâmetros-chave para avaliar o perfil farmacológico de uma entidade molecular (Tabela 7).

Tabela 7 - Parâmetros-chave que descrevem ação farmacocinética de uma molécula.

Propriedades físico-químicas	Absorção	Distribuição	Metabolismo	Eliminação	Toxicidade
log P	Caco-2	BBB	CYP450	Cl	LD ₅₀
log S	HIA	PPB	Metabólitos	t _{1/2}	Carcinogenicidade
pK _a	HOB		HLMS		hERG
	P-gp		Sítios		AMES

Fonte: Adaptado de Dulsat *et al.* (2023).

Legenda: log P: Logaritmo do coeficiente de distribuição n-octanol/água; log S: Logaritmo da solubilidade em mol/L; pK_a: Logaritmo negativo da constante de dissociação ácida (K_a); Caco-2: Permeabilidade intestinal humana; HIA: Absorção intestinal humana; HOB: Biodisponibilidade oral humana; P-gp: Glicoproteína de permeabilidade; BBB: Penetração da barreira hematoencefálica; PPB: Ligação à proteína plasmática; CYP450: Inibição do citocromo P450; Metabólitos: Previsão de metabólitos; HLMS: Estabilidade microsomal do fígado humano; Sítios: Pontos suscetíveis a iniciar a transformação metabólica; Cl: Depuração; t_{1/2}: Tempo de meia-vida; LD₅₀: Toxicidade aguda oral; Carcinogenicidade: Capacidade de induzir câncer; hERG: Toxicidade cardíaca; AMES: Mutagenicidade.

Assim, com a Tabela 7 como referência para analisar o perfil físico-químico, valores na Tabela 6, pode-se compreender a partir dos parâmetros de log P (2,73), log S (-3,64) e pK_a (0/4,84) que o ácido micofenólico tem boa solubilidade e lipofilicidade, o que somado ao fato de ter um índice positivo de permeabilidade na barreira hematoencefálica, por seguir a medida mínima de pK_a para ácidos. Isto significa que depois da administração oral tem biodisponibilidade muito alta (94%) e rápida absorção, tendo pico de concentração plasmática após 1h a 2h depois, em

seguida, através da distribuição, 99% do ácido micofenólico (MPA) encontra-se no plasma e há redução da concentração, se estabilizando em 3h a 4h (Dasgupta, 2016).

Juntamente com análises farmacocinéticas: absorção, distribuição, metabolização, excreção e de toxicidade (ADMET) são importantes filtros no estudo das moléculas na etapa *in silico*, afinal o desenvolvimento de drogas são demoradas e tendem a reduzir os candidatos significativamente a cada fase, como o índice de aprovação para cada fase em que cerca de 70% dos compostos testados na fase II, testes pré-clínicos *in vitro* e *in vivo*, não seguem para a fase III, onde são testados em pessoas (De Oliveira, 2023).

ADMET corresponde ao momento após a administração do composto em que sua concentração nos tecidos e corrente sanguínea oscilam durante período em que a droga está em contato com o organismo humano, o qual se eleva quando entra no sistema circulatório e reduz ao ser distribuído, metabolizado e eliminado (Kerns; Di, 2008), estes aspectos são o que configuram a condição de drogabilidade ou não do potencial fármaco (De Oliveira, 2023).

Para tanto, em todas as etapas farmacocinéticas que o fármaco passa, desde seu contato com o corpo humano, há pontos a serem analisados para entender sua bioatividade como elucidada Dulsat *et al.* (2023) na Tabela 7 tais parâmetros-chave de avaliação para relacionar com os valores obtidos do MPA (Tabela 8).

Tabela 8 - Características farmacocinéticas e de toxicidade do ácido micofenólico.

(continua)	
Absorção	
Caco-2	1,13
HIA	58,93
P-gp	Não
HOB	0,56
Distribuição	
BBB	-0,61

(conclusão)	
Distribuição	
PPB	96.21%
Metabolismo	
	1A2 Sim
	2C19 Não
Inibidor CYP	2C9 Não
	2D6 Não
	3A4 Não
Eliminação	
Cl	5,918
$t_{1/2}$	0,901
Toxicidade	
AMES	Não
Carcinogênese	Não
hERG I	Não
hERG II	Não
LD ₅₀	352

Fonte: Própria autora (2024).

Legenda: Caco-2: Permeabilidade intestinal humana; HIA: Absorção intestinal humana; HOB: Biodisponibilidade oral humana; P-gp: Glicoproteína de permeabilidade; BBB: Penetração da barreira hematoencefálica; PPB: Ligação à proteína plasmática; CYP450: Inibição do citocromo P450; Cl: Depuração; $t_{1/2}$: Tempo de meia-vida; LD₅₀: Toxicidade aguda oral; Carcinogenicidade: Capacidade de induzir câncer; hERG: Toxicidade cardíaca; AMES: Mutagenicidade.

Na primeira etapa, durante a absorção, ocorre a movimentação da droga do seu local de administração até corrente sanguínea, em que é importante, neste momento que o composto em estudo tenha a capacidade de atravessar as barreiras biológicas até o alvo (Rosa *et al.*, 2022; Matos, 2016). Avaliando, os dados da Tabela 8, pode-se afirmar que permeabilidade intestinal humana (Caco-2) e absorção intestinal humana (HIA) tem alta correlação, segundo Larregieu; Benet (2013), sendo originalmente usado para estudar a permeabilidade intestinal por

características comuns com epitélio do intestino delgado de morfologia celular, diferenciação enterocítica e polaridade.

De acordo com Yee (1997), é possível usá-lo com precisão para prever a permeabilidade nos diversos mecanismos de transporte que o composto possa usar (paracelular, transcelular e mediado por transportador). Já em outro estudo relatou-se exceção dos compostos hidrofílicos, em que a absorção ocorre por difusão passiva entre células, devido à baixa permeabilidade, ou para substratos de transportadores do intestino com alta expressão que podem não ter uma adequada predição desta característica (Matos, 2016; Larregieu; Benet, 2013) e tem significativa influência sobre a biodisponibilidade, fator fundamental no processo da droga desempenhar sua função (Yan; Wang; Cai, 2008).

Em relação a valores, é ideal que Caco-2 seja maior que -5,1 (Wang *et al.*, 2016), e para a permeabilidade intestinal humana, $\geq 30\%$ para HIA positivo e $< 30\%$ para HIA negativo (Wang *et al.*, 2017), estando os dois correspondendo, mostrando boa disponibilidade pós administração da droga (Dasgupta, 2016).

Além disso, a glicoproteína P (P-gp), transportador dependente de ATP atua realizando efluxo contra xenobióticos, um agente relevante na redução da absorção intestinal (Matos, 2016; De Oliveira, 2023; Morais, 2022). Já a biodisponibilidade oral (HOB) conecta-se de certa forma com a regra dos 5 de Lipinski, pois a violação de mais de um dos parâmetros envolvidos na RO5 (Log P, MM, TPSA, nOH, nOHNH) já o afeta negativamente (Palmeira *et al.*, 2019). Tendo em vista que o composto não interage com P-gp e tem biodisponibilidade se encaixando em $\geq 30\%$ (Kerns; Di, 2008), mostra que o caminho até corrente sanguínea ocorre de maneira satisfatória.

A segunda etapa, distribuição, resume-se à passagem do composto ainda não metabolizado pelo plasma sanguíneo em direção ao alvo, para tanto, é importante que o bioativo consiga passar as barreiras biológicas, como a barreira hematoencefálica (BBB), principalmente os fármacos neuroativos, caso não seja de interesse o tratamento de doenças do encéfalo, deve-se esperar um resultado negativo (De Oliveira, 2023; Dulsat *et al.*, 2023; Barros, 2023); além da interação reversível das moléculas às proteínas plasmáticas, hemoglobina, glicoproteínas ácidas α e albumina sérica impactando a ação farmacológica geral, o que, quantitativamente, espera-se que seja $\leq 99,5\%$ (Li *et al.*, 2022; Kerns; Di, 2008), valor correspondido pelo MPA.

Na fase de metabolismo é onde ocorre a biotransformação dos bioativos, facilitando a eliminação, o que engloba a interação da substância ativa com a proteína citocromo P450 e suas monooxigenases localizadas na bicamada lipídica do retículo endoplasmático liso nas células do fígado participando da metabolização de esteróides, carcinógenos e drogas por meio de monooxigenação destes compostos (Quadro 3) (Barros, 2023; Lemos; Trindade, 2014).

Conjectura-se que 90% dos fármacos oxidados são através das enzimas do citocromo 450 (CYP 450) (Lemos; Trindade, 2014), relação que pode gerar efeito colateral, em consequência da interferência em suas funções enzimáticas, as quais, apesar de atuarem em atividades aparentemente semelhantes pelo o que sintetizam, desempenham papel significativo no armazenamento de energia e formação de estrutura celular (Quadro 3) (Barros, 2023). Assim, a partir da Tabela 8, pode-se ver que o medicamento possui interação somente com a CYP1A2, apesar do indicado ser baixa interação (Kerns; Di, 2008).

Quadro 3 - Monooxigenases da proteína citocromo P450 na etapa de metabolismo da farmacocinética de um medicamento.

	Monooxigenases da proteína citocromo P450				
	CYP1A2	CYP2C19	CYP2C9	CYP2D6	CYP3A4
Metabolismo da farmacocinética afetados	Ácidos graxos	Ácidos graxos	Ácidos graxos	Ácidos graxos	Ácidos graxos
	Hormônios esteróides	Vitaminas	Hormônios esteróides	Hormônios esteróides	Hormônios esteróides
	Vitaminas			Retinóides	Retinóides

Fonte: Adaptado de Barros (2023).

Legenda: CYP: Citocromo.

Em seguida, após biotransformação da molécula há sua excreção, etapa conhecida como eliminação. Ocorre por diversas vias, como pele, pulmões, trato gastrointestinal e, majoritariamente, a renal. Esta pertinente ação do corpo humano

para redução da concentração da substância evita efeitos tóxicos gerados pelas mesmas, porém produtos de biotransformação, como substâncias altamente polares e massa molecular podem apresentar um perigo, por não serem absorvidos novamente pelo organismo (Rosa *et al.*, 2022).

Dois parâmetros são fundamentais no estudo do perfil farmacocinético (PK), a taxa de depuração (Cl), indicada pelo tempo que a substância leva para ser eliminada do corpo, saindo do sistema circulatório em direção ao rim e fígado por fluxo sanguíneo, quando <5 representa baixa depuração, $5 < Cl < 15$ média, $15 < Cl < 30$ alto; já o tempo de meia vida ($t_{1/2}$) é referente ao período que leva a concentração do composto no sistema circulatório cair pela metade, utilizada como base para cálculo de redoses, o que deve ser feito a cada 1 a 3 meias-vidas (Kerns; Di, 2008).

Idealmente, é preferível que dure $>8h$, o que seria um alto tempo, porém caso seja $<3h$ já configura um $t_{1/2}$ baixo (Kerns; Di, 2008). No caso do ácido micofenólico, tem média depuração e baixa meia vida, indicando que é necessário administração do remédio mais vezes para manter a concentração da faixa terapêutica.

Já a toxicidade, último fator analisado no PK, definido como grau de periculosidade que o composto pode gerar ao organismo. Para assegurar a viabilidade de uso do fármaco em humanos nesses aspectos, quatro parâmetros são considerados: AMES (Mutagenicidade) investiga o potencial mutagênico do tipo *frameshift* ou desdobramento de substituição dos pares de base usando cultura bacteriano com mutação para quantificar, assim, a do composto em estudo após período de incubação; toxicidade aguda oral (LD_{50}) que quantifica a dose capaz de matar 50% da população de ratos em teste, ideal que o resultado seja negativo dentro da janela terapêutica, abaixo de 50 mg/Kg equivale a alta toxicidade, 51-500 mg/Kg média e 501-5000 mg/Kg representa nível tóxico baixo; carcinogênese está associada ao parâmetro de toxicidade cardíaca (hERG), pois mede a chance ou não de ocorrer arritmia cardíaca no paciente a partir da análise do composto de bloquear os canais de potássio codificados pelos genes hERG (hERG I e hERGII), preferível assim, que a carcinogênese seja negativa, pelo menos na dose de 5-10 vezes a janela terapêutica (Rosa *et al.*, 2022; Barros, 2023; Coutinho; Coutinho, 2023; Moraes, 2022; Lane *et al.*, 2023; Kerns; Di, 2008; Ammar, 2017).

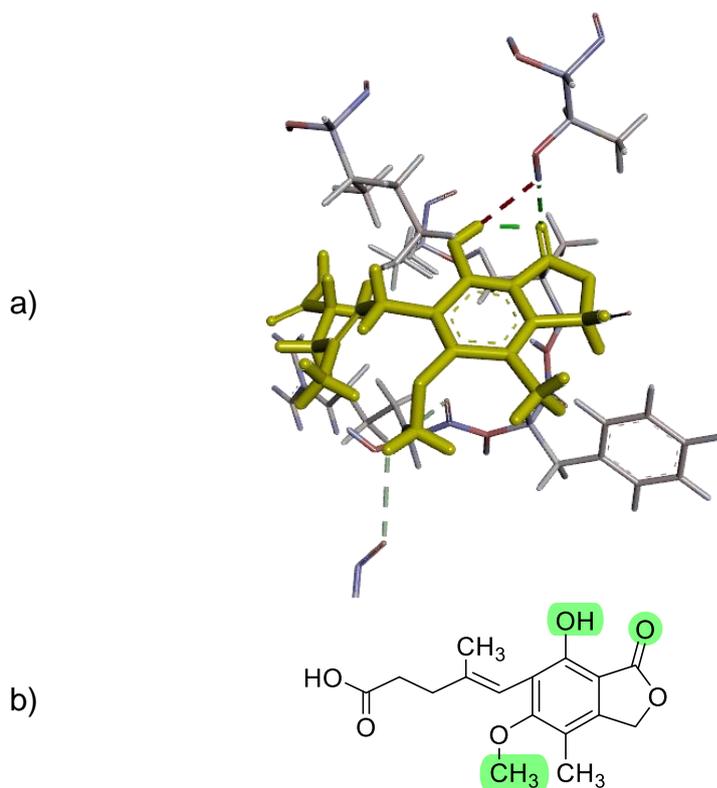
Os resultados de toxicidade deram negativos a todos estes parâmetros e na LD_{50} , mostrou-se com média toxicidade (352 mg/kg), o que de acordo com Lei e colaboradores (2016), por modelagem QSAR, relataram grande relação da LD_{50} com

polaridade molecular, flexibilidade, solubilidade, distribuição de carga parcial e superfície de van de Waals, mostrando a influência da reatividade das moléculas e interações intramoleculares.

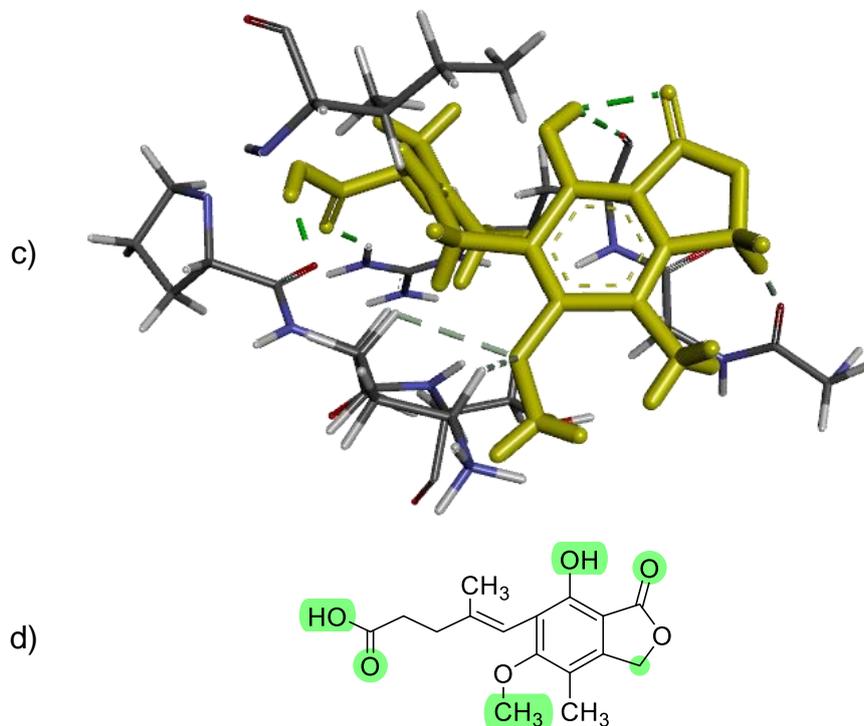
Tendo em vista a importância das interações moleculares e com o objetivo de melhorar o perfil de interação do ligante com o receptor através do biosisosterismo, além de características de toxicidade, foi analisado as interações intramoleculares e as intermoleculares que ocorrem com o receptor, especificamente as ligações de hidrogênio e desfavoráveis, como a ligação doador-doador desfavorável, possivelmente observada no complexo 1a (Figura 26), para definição das regiões a serem substituídas através do biosisosterismo (Figura 29(a-d)).

Figura 29 - Representação gráfica da interação entre o receptor-ligante, dos dois complexos (1a, 1b).

(continua)



(conclusão)

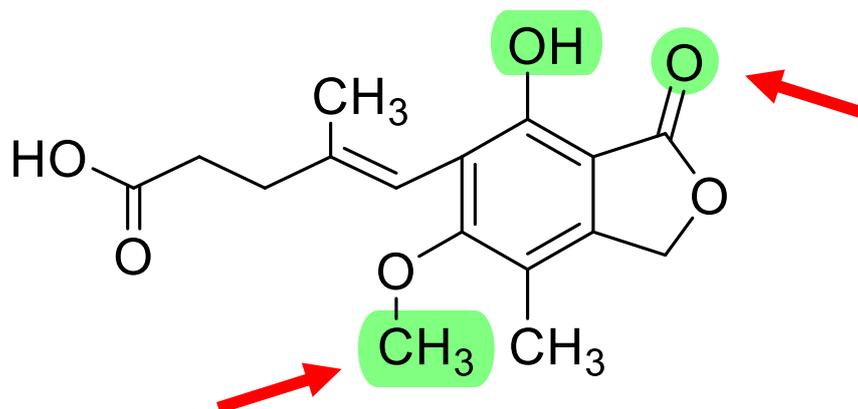


Fonte: Própria autora (2024).

Legenda: As linhas tracejadas presentes na figura a) e c) representam ligações diversas, vermelho: ligação desfavorável; verde: ligação de hidrogênio clássica; cinza: ligação de hidrogênio não clássica. a) Visualização tridimensional da interação entre ligante e receptor com complexo 1a; b) Visualização da estrutura química do ligante com as regiões de interação com receptor assinaladas do complexo 1a; c) Visualização tridimensional da interação entre ligante e receptor do complexo 1b; d) Visualização da estrutura química do ligante com as regiões de interação com receptor assinaladas do complexo 1b.

Com isto, escolheu-se as regiões moleculares em comum nos complexos 1a e 1b para estudo, apontado na Figura 29(b) e Figura 29(d). Em seguida, através do software *MB-Isoster* analisou as áreas assinaladas separadamente, obtendo 8 moléculas bioisostéricas para cada um dos dois fragmentos selecionados, indicados na Figura 30 pelas setas, totalizando 16 moléculas isósteres ao final.

Figura 30 - Regiões selecionada para realização do bioisosterismo.

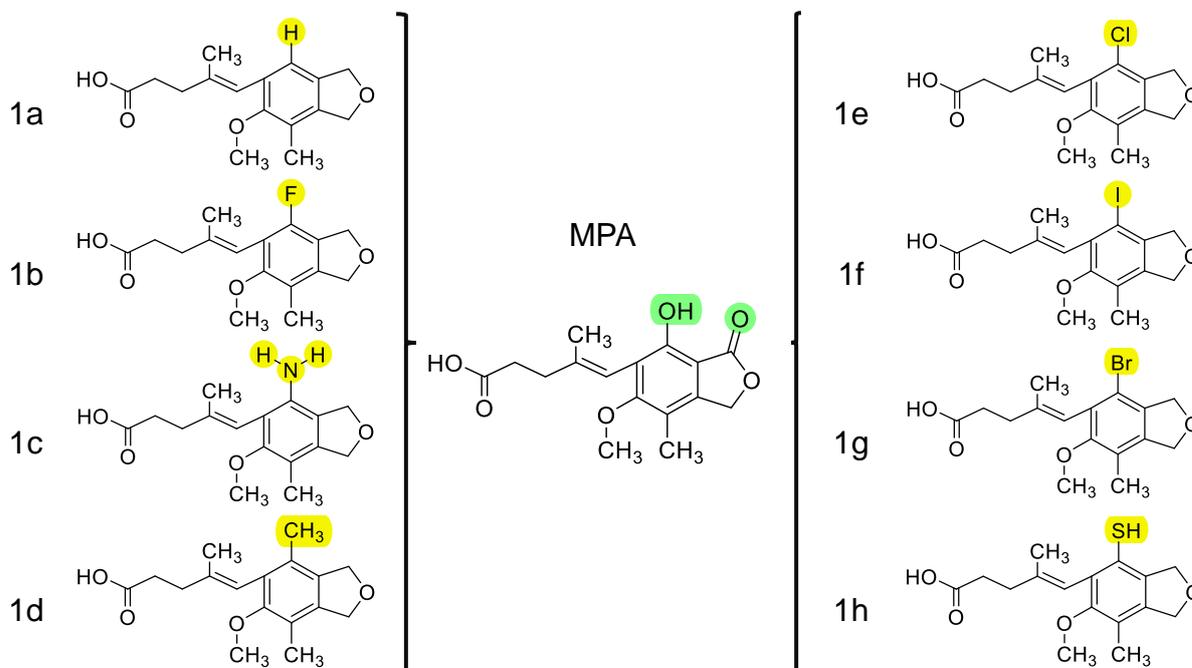


Fonte: Própria autora (2024).

Legenda: Cada seta indica a área selecionada para realização de uma análise de bioisosterismo das duas realizadas ao total.

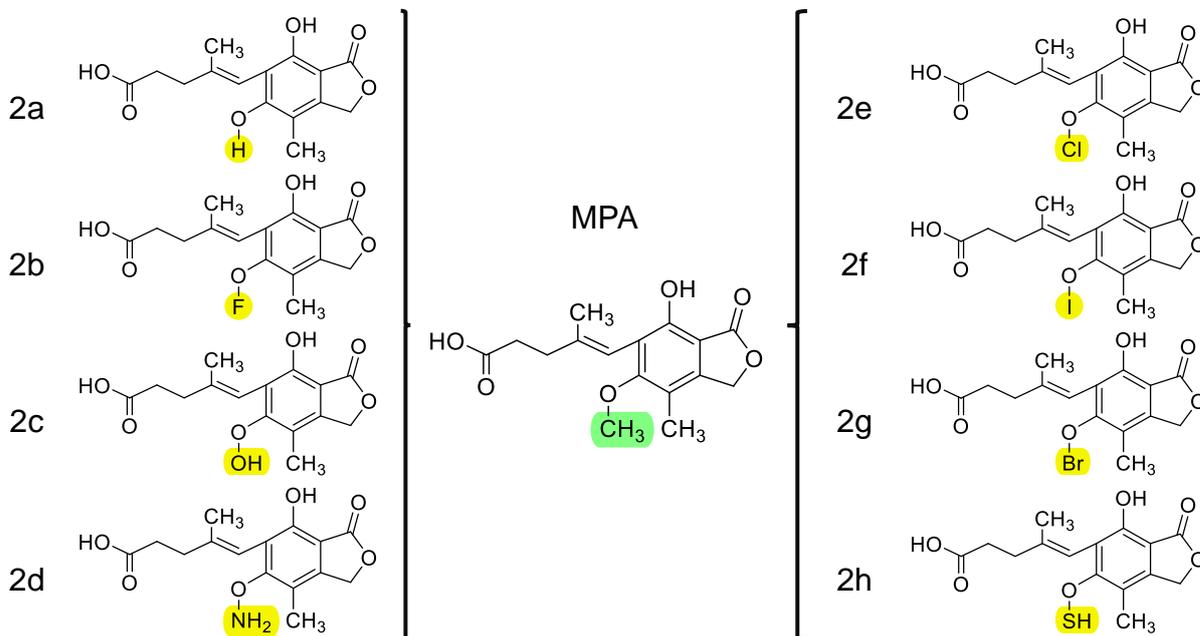
Os resultados obtidos (Figura 31 e 32) não foram filtrados pelo software com os parâmetros físico-químicos da regra dos cinco de Lipinski, pois intencionalmente foi considerado as interações receptor-ligante via *docking molecular* como ponto decisivo, além dos parâmetros farmacocinéticos.

Figura 31 - Estrutura química do ácido micofenólico e bioisósteros gerados no primeiro ponto analisado.



Fonte: Própria autora (2024).

Figura 32 - Estrutura química do ácido micofenólico e bioisómeros gerados no segundo ponto analisado.



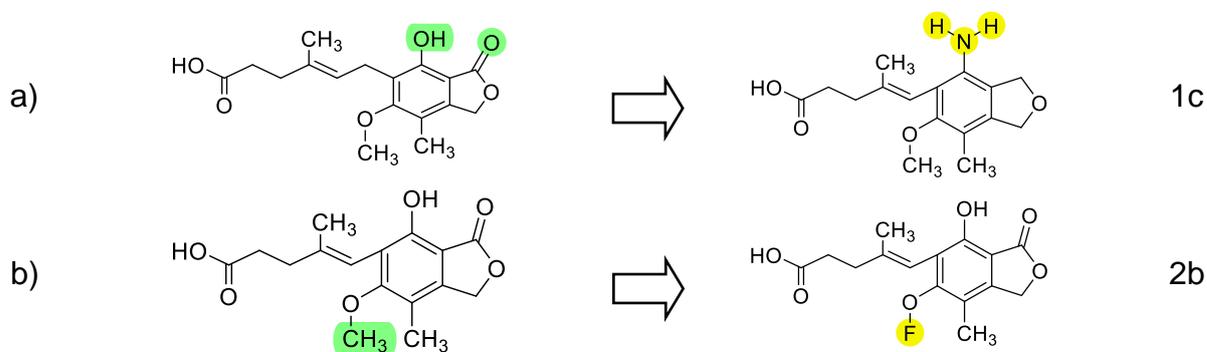
Fonte: Própria autora (2024).

A partir das análises de interação receptor-ligante, físico-químicas e ADMET (Apêndice C) dos biosósteres e o MPA com objetivo de contrapor os resultados a fim de identificar molécula mais alinhada aos critérios farmacológicos e de interação com alvo farmacológico, os biosósteres apresentaram toxicidade aguda oral baixa em relação ao MPA, o qual tem perfil toxicológico médio (LD₅₀), porém no estágio de metabolização do ADMET, os isósteres mostraram ter interação maior com a CYP 450, com exceção da molécula 1c e 2d que não tem interação com este grupo de enzimas, expondo uma relação mais acentuada dos isósteres que o MPA a gerar efeitos colaterais.

Nos critérios, como a regra dos cinco de Lipinski e de Veber, todos estão de acordo, sem violação às regras; nos demais aspectos se assimilam, tendo variações consideráveis no *drug-likeness score*, que tiveram resultado menor que o MPA, com exceção do 2b, 2c, 2d, 2e, 2f, 2h; na análise de *drug score* em que o MPA se destacou juntamente com o 2g; na fase de distribuição em que somente o 2h encontra-se fora do intervalo delimitado para o fator PPB; e a interação receptor-ligante a partir da análise de energia de ligação foram favoráveis também, especialmente o MPA que mostrou ser o mais estável, em seguida o 2b e 2c.

Analicamente, os isósteres cumpriram com o objetivo de otimizar as características de toxicidade do MPA, no qual as moléculas 1c e 2b foram as que se destacaram dentre os bioisósteros, por uma maior adequação aos aspectos analisados. Já em relação a interação do complexo receptor-ligante, o MPA continua a ser o mais promissor. Desta forma, as moléculas mais ajustadas aos parâmetros farmacológicos necessários para se adequar às referências de um composto drogável são o ácido micofenólico e os isósteres 1c e 2b (Figura 33)

Figura 33 - Grupos substituintes dos dois compostos mais ajustados aos parâmetros das análises pós bioisosterismo.



Fonte: Própria autora (2024).

Legenda: a) Referente ao composto 1c; b) Referente ao composto 2b.

O isóster 1c, possui substituição de uma hidroxila e carbonila por uma amina. Com base no estudo de Lei e colaboradores (2015), foi feita alteração do grupo hidroxila por uma amina, expondo, com isto, uma redução de citotoxicidade em células normais e aumento de atividade. Neste caso, o bioisóster 1c, reafirma tal observação a partir resultado positivo à P-gp (Substrato de glicoproteína P) que pode gerar uma redução na absorção intestinal, além de toxicidade aguda acentuada, conforme os demais bioisósteros. Não obstante, o desempenho deste composto na interação receptor-ligante, mostrou-se estável e com MM menor, o que impacta na lipofilicidade promovendo à molécula uma maior estabilidade e permeabilidade (Morais, 2022).

Já o bioisóster 2b, teve substituição do grupo metil pelo flúor. Na literatura, a substituição do hidrogênio pelo flúor, propicia maior estabilidade metabólica, basicidade e lipofilicidade, sendo uma estratégia considerável na modificação

molecular (Richardson, 2021), o que foi possível observar nos resultados com o acréscimo da lipofilicidade.

Como, quimicamente, a interação entre compostos orgânicos com ligação entre átomo de oxigênio e halogênios não acontece diretamente, sob condições normais ordinárias (Divakaran, 2019), o isóster 2b não pode ser considerado promissor, assim como os 2e, 2f, 2g.

Desta forma, baseado nas alterações químicas e as significativas alterações na bioatividade dos compostos estudados, configuram-se favoráveis comparativamente quanto à interação com a NSP9 (receptor viral), farmacocinética e toxicidade, o MPA e o isóster 1c são as moléculas com maior potencial antiviral contra o SARS-CoV-2.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos estudos da literatura, a escolha da proteína NSP9 do SARS-CoV-2 ocorreu pela sua alta conservação, análise referente a pressão seletiva, e importância no processo de replicação viral. Em relação a sua drogabilidade, apesar de suas limitações referentes às regiões drogáveis, apresentou resultado favorável à interação deste receptor com o ligante ácido micofenólico, em particular, o complexo 1b que apresentou parâmetros de energia de ligação e energia intermoleculares promissores e presença ligação de hidrogênio entre o complexo, além do isóster 1c.

A fim de refinar a potencialidade deste ligante, a partir do bioisosterismo, foi possível eleger 16 possíveis candidatos, em que o composto bioisóster 1c com substituição de uma hidroxila e carbonila por uma amina, apresentou mais qualificado em relação às suas propriedades físico-química, farmacocinéticas, de toxicidade e interação receptor-ligante dentre os demais bioisósteros. Sendo, junto com o MPA, as moléculas com maior potencial antiviral contra a COVID-19.

Assim, é válida a continuação do estudo de com os ligantes ácido micofenólico e o bioisóster 1c, os quais apresentaram interação mais estável com o alvo viral, assim como testar os resultados de bioisosterismo apresentados neste trabalho nos respectivos alvos biológicos em que o ácido micofenólico é receitado farmacologicamente, como imunossupressor e demais atividades biológicas. Além disso, a utilização de outras técnicas de bioisosterismo podem ser mais exploradas em trabalhos futuros, a fim de obter resultados ainda mais expressivos.

REFERÊNCIAS

ACEVEDO, M. L. *et al.* Infectivity and immune escape of the new SARS-CoV-2 variant of interest Lambda. **medRxiv**, [S.l.], 2021. DOI <https://doi.org/10.1101/2021.06.28.21259673>. Disponível em: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.06.28.21259673v1>. Acesso em: 07 nov. 2023.

AFSAR, M. *et al.* Drug targeting Nsp1-ribosomal complex shows antiviral activity against SARS-CoV-2. **eLife**, [S.l.], v. 24, n. 11, p. 1-12, 2022. DOI <https://doi.org/10.7554/eLife.74877>. Disponível em: <https://elifesciences.org/articles/74877>. Acesso em: 07 nov. 2023.

AGÊNCIA EUROPEIA DE MEDICAMENTOS. **Anexo I - Resumo das características do medicamento**. [Holanda]: EMA, 2024. Disponível em: https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2014/20141030130086/anx_130086_pt.pdf. Acesso em: 05 jan. 2024.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (BRASIL). **Baricitinibe**. [Brasília, DF]: ANVISA, 2021a. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/paf/coronavirus/medicamentos/baricitinibe>. Acesso em: 08 jan. 2024.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (BRASIL). **Medicamentos aprovados para tratamento da Covid-19**. [Brasília, DF]: ANVISA, 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/paf/coronavirus/medicamentos>. Acesso em: 05 mai. 2024.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (BRASIL). **Molnupiravir**. [Brasília, DF]: ANVISA, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/paf/coronavirus/medicamentos/molnupiravir>. Acesso em: 04 set. 2023.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (BRASIL). **Paxlovid (nirmatrelvir + ritonavir)**. [Brasília, DF]: ANVISA, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/paf/coronavirus/medicamentos/paxlovid-nirmatrelvir-ritonavir>. Acesso em: 03 out. 2023.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (BRASIL). **Sotrovimabe**. [Brasília, DF]: ANVISA, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/paf/coronavirus/medicamentos/sotrovimabe>. Acesso em: 04 set. 2023.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (BRASIL). **Tocilizumabe**. [Brasília, DF]: ANVISA, 2023a. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/paf/coronavirus/medicamentos/tocilizumabe>. Acesso em: 05 set. 2023.

AGU, P. C. *et al.* Molecular docking as a tool for the discovery of molecular targets of nutraceuticals in diseases management. **Scientific Sports**, [S.l.], v. 13, n. 13398, p. 1-18, 2023. DOI <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40160-2>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-023-40160-2#citeas>. Acesso em: 09 mar. 2024.

ALQURAAN, L.; ALZOUBI, K. H.; RABABA'H, S. Y. Mutations of SARS-CoV-2 and their impact on disease diagnosis and severity. **Informatics in Medicine Unlocked**, [Inglaterra], v. 39, p. 1-8, 2023. DOI <https://doi.org/10.1016/j.imu.2023.101256>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10127666/>. Acesso em: 15 out. 2023.

AMADOR, V. C. *et al.* Simulação e avaliação de ancoramento do herbicida glifosfato a proteína glutationa s-transferase phi 3 em oryza sativa japônica. **Revista Saúde e Ciência Online**, [Campina Grande], v. 7, n. 2, p. 252-262, 2018. DOI <https://doi.org/10.35572/rsc.v7i2.114>. Disponível em: <https://rsc.revistas.ufcg.edu.br/index.php/rsc/article/view/114>. Acesso em: 23 abr. 2024.

AMIRIAN, S.; LEVY, J. K. Current knowledge about the antivirals Remdesivir (GS-5734) and GS-441524 as therapeutic options for coronaviruses. **One Health**, [S.I.], v. 9, p. 1-7, 2020. DOI <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2020.100128>. Disponível online em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352771420300380>. Acesso em: 10 ago. 2023.

AMMAR, O. *In silico* pharmacodynamics, toxicity profile and biological activities of the Saharan medicinal plant *Limoniastrum feei*. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, SP, v. 53, n. 3, p. 1-10, 2017. DOI <http://dx.doi.org/10.1590/s2175-97902017000300061>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjps/a/rw9hxRbpBQJyzFDKw3b3Y3k/?format=pdf>. Acesso em: 03 fev. 2024.

ANAND, A.; LONG, C.; CHANDRAN, K. NYC metropolitan wastewater reveals links between SARS-CoV-2 amino acid mutations and disease outcomes. **Science of the Total Environment**, [Holanda], v. 908, 2024. DOI <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167971>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37914132/>. Acesso em: 2024.

ANGELINI, M. M. *et al.* Severe acute respiratory syndrome coronavirus nonstructural proteins 3, 4, and 6 induce double-membrane vesicles. **mBio**, [Estados Unidos], v. 4, n. 4, p. 1-10, 2013. DOI <https://doi.org/10.1128/mbio.00524-13>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23943763/>. Acesso em: 15 jul. 2023.

ANGIONE, C. Human systems biology and metabolic modelling: a review—from disease metabolism to precision medicine. **BioMed Research International**, [Estados Unidos], v. 2019, n. 1, p. 1-16, 2019. DOI <https://doi.org/10.1155/2019/8304260>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31281846/>. Acesso em: 2023.

ARAF, Y. *et al.* Omicron variant of SARS-CoV-2: genomics, transmissibility, and responses to current COVID-19 vaccines. **Journal of Medical Virology**, [Estados Unidos], v. 94, n. 5, p. 1825-1832, 2022. DOI <https://doi.org/10.1002/jmv.27588>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35023191/>. Acesso em: 18 nov. 2023.

ASSOCIAÇÃO MÉDICA BRASILEIRA. **Boletim 012/2021: CEM COVID_AMB – Variantes do SARS-CoV-2: o que significam e qual o seu impacto na pandemia.** São Paulo: AMB, 2021. Disponível em: https://amb.org.br/wp-content/uploads/2021/05/Variantes-do-SARS-CoV-2-o-que-significam-e-qual-o-seu-impacto-na-pandemia_Final.pdf. Acesso em: 04 mai. 2023.

AUWAERTER, P. **Coronavirus COVID-19 (SARS-COV-2).** [Estados Unidos]: Johns Hopkins ABX Guide, 2020. Disponível em: https://www.hopkinsguides.com/hopkins/view/Johns_Hopkins_ABX_Guide/540747/all/Coronavirus_COVID_19__SARS_CoV_2_. Acesso em: 07 jul. 2023.

BAI, C.; ZHONG, Q.; GAO, G. F. Overview of SARS-CoV-2 genome-encoded proteins. **Science China Life Sciences**, [Pequim, CHN], v. 65, n. 2, p. 280-294, 2022. DOI <https://doi.org/10.1007/s11427-021-1964-4>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34387838/>. Acesso em: 19 out. 2023.

BAI, S. B.; GEETHAVANI, M.; RAMAKRISHNA, C. Synthesis characterization and molinspiration analysis, anti-bacterial activity of novel 2,4,6-tri substituted pyrimidines. **Journal of Young Pharmacists**, [Bengalore, IN], v. 14, n. 2, p. 174-178, 2022. DOI <https://dx.doi.org/10.5530/jyp.2022.14.33>. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/361317898_Synthesis_Characterization_and_Molinspiration_Analysis_Anti-bacterial_activity_of_Novel_246-tri_Substituted_Pyrimidines/figures?lo=1#fullTextFileContent. Acesso em: 24 nov. 2024.

BANERJEE, P. *et al.* ProTox 3.0: a webserver for the prediction of toxicity of Chemicals. **Nucleic Acids Research**, [S.l.], v. 52, n. W1, p. W513-W520, 2024. DOI <https://doi.org/10.1093/nar/gkae303>. Disponível em: <https://academic.oup.com/nar/article/52/W1/W513/7655780?login=false>. Acesso em: 18 mai. 2024.

BANSAL, K.; KUMAR, S. Mutational cascade of SARS-CoV-2 leading to evolution and emergence of ômicron variant. **BioRxiv**, [Holanda], v. 315, n. 198765, p. 1-9, 2022. DOI <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2022.198765>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35367284/>. Acesso em: 28 mar. 2023.

BARBOSA, A. S. **Construção de modelos estruturais para a GPR3, um novo alvo molecular para a doença de Alzheimer**, 2019, 34f. Monografia (Graduação em Farmácia-Bioquímica) – Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2019. Disponível em: <https://bdta.abcd.usp.br/item/003045462>. Acesso em: 01 abr. 2023.

BARBOSA, I. A. P. **Estudo dos descritores moleculares dos fármacos usados como modelo de substratos e inibidores de cyp3a4**. 2020. 120f. Monografia (Bacharelado em Farmácia) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2020. Disponível em: <https://pantheon.ufrj.br/bitstream/11422/20007/1/IAPBARBOSA.pdf>. Acesso em: 21 fev. 2024.

BAROROH, U. *et al.* Molecular interaction analysis and visualization of protein-ligand docking using biovia *discovery studio* visualizer. **Indonesian Journal of Computational Biology**, [S.l.], v. 2, n. 1, p. 22-30, 2023. DOI <https://doi.org/10.24198/ijcb.v2i1.46322>. Disponível em: <https://jurnal.unpad.ac.id/ijcb/article/download/46322/20445>. Acesso em: 13 mai. 2024.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química medicinal**: as bases moleculares da ação dos fármacos. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2015. 608 p.

BARROS, A. G. Avaliação ADMET de substâncias. **Bioinfo**, [S.l.], v. 3, p. 280-290, 2023. DOI <http://doi.org/10.51780/bioinfo-03-25>. Disponível em: <https://bioinfo.com.br/avaliacao-admet-de-substancias/>. Acesso em: 23 abr. 2024.

BAUM, A. *et al.* Antibody cocktail to SARS-CoV-2 spike protein prevents rapid mutational escape seen with individual antibodies. **Science**, [Estados Unidos], v. 369, n. 6506, p. 1014-1018, 2020. DOI <https://doi.org/10.1126/science.abd0831>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32540904/>. Acesso em: 27 ago. 2023.

BEYERSTEDT, S.; CASARO, E. B.; RANGEL, E. B. COVID-19: angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) expression and tissue susceptibility to SARS-CoV-2 infection. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, [Alemanha], v. 40, p. 905-919, 2021. DOI <https://doi.org/10.1007/s10096-020-04138-6>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33389262/>. Acesso em: 21 abr. 2023.

BITTAR, C. *et al.* The Emergence of the New P.4 Lineage of SARS-CoV-2 With Spike L452R Mutation in Brazil. **Front Public Health**, [Suíça], v. 9, n. 745310, 2021. DOI <https://doi.org/10.3389/fpubh.2021.745310>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34660520/>. Acesso em: 23 mai. 2023.

BORBA, J. R. B. de M. *et al.* Applying the bioisosterism strategy to obtain lead compounds against SARS-CoV-2 cysteine proteases: an in-silico approach. **Journal of Computational Chemistry**, [Estados Unidos], v. 45, n. 01, p. 35-46, 2023. DOI <https://doi.org/10.1002/jcc.27217>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37641955/>. Acesso em: 18 fev. 2024.

BORGES, A. A. *et al.* SARS-CoV-2: origem, estrutura, morfogênese e transmissão. In: BARRAL-NETTO, M. *et al.* (Org.). **Construção de conhecimento no curso da pandemia de COVID-19: aspectos biomédicos, clínico-assistenciais, epidemiológicos e sociais**. Salvador: Edufba, 2020. v. 1, p. 1-21. DOI <https://doi.org/10.9771/9786556300443>. Disponível em: <https://books.scielo.org/id/hg5rg/pdf/barral-9786556302447.pdf>. Acesso em: 24 out. 2023.

BOUVET, M. *et al.* RNA 3'-end mismatch excision by the severe acute respiratory syndrome coronavirus nonstructural protein nsp10/nsp14 exoribonuclease complex. **Proc Natl Acad Sci USA**, [Estados Unidos], v. 109, n. 24, p. 9372-9377, 2012. DOI <https://doi.org/10.1073/pnas.1201130109>. Disponível em: <https://www.pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.1201130109>. Acesso em: 02 out. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Dengue ou Covid? Sintomas das duas doenças são parecidos. Confira!**. [Brasília, DF]: Ministério da Saúde, 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/inss/pt-br/noticias/dengue-ou-covid-sintomas-das-duas-doencas-sao-parecidos-fiquem-alertas-1#:~:text=Dengue%20ou%20Covid%3F,Sintomas%20das%20duas%20doen%C3%A7as%20s%C3%A3o,Confira!&text=Tanto%20a%20dengue%2C%20quanto%20a,apetite%20e%20perda%20de%20paladar>. Acesso em: 29 jun. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia de vigilância genômica do SARS-CoV-2: uma abordagem epidemiológica e laboratorial**. 1. ed. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2023. 49 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Nota técnica nº 304/2013**. Brasília, DF: MS, 2013. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/conjur/demandas-judiciais/notas-tecnicas/notas-tecnicas-medicamentos/notas-tecnicas/m/micofenolato.pdf>. Acesso em: 17 abr. 2024.

CAIANA, R. R. A.; DE MEDEIROS FILHO, F. C.; DE FREITAS, J. C. R. Estudo farmacológico e toxicológico de um candidato à fármaco derivado da d-glicose. *In*: CONIMAS - Congresso Internacional de Meio Ambiente e Sociedade, 1., 2019, Campina Grande. **Anais eletrônicos [...]**. Campina Grande: Conimas, 2019. v. 1. Disponível em: https://www.editorarealize.com.br/editora/ebooks/conimas/2019/ebook1/PROPOSTA_EV133_MD1_ID521_28102019213159.pdf. Acesso em: 13 abr. 2024.

CAO, Y. *et al.* Imprinted SARS-CoV-2 humoral immunity induces convergent Omicron RBD evolution, **Nature**, [Inglaterra], v. 614, n. 7948, p. 521-529, 2023. DOI <https://doi.org/10.1038/s41586-022-05644-7>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9931576/>. Acesso em: 27 nov. 2023.

CARABELLI, A. M. *et al.* SARS-CoV-2 variant biology: immune escape, transmission and fitness, **Nature Reviews Microbiology**, [Inglaterra], v. 21, n. 3, p. 162-177, 2023. DOI <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00841-7>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36653446/>. Acesso em: 17 ago. 2023.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (US). **Science brief: Omicron (B.1.1.529) variant**. Atlanta, EUA: CDC, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34932278/>. Acesso em: 01 jul. 2023.

CERUTTI, G. *et al.* Potent SARS-CoV-2 neutralizing antibodies directed against spike N-terminal domain target a single supersite. **Cell Host Microbe**, [Estados Unidos], v. 29, n. 5, p. 819-833, 2021. DOI <https://doi.org/10.1016/j.chom.2021.03.005>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33789084/>. Acesso em: 17 mai. 2023.

CHANDEL, V. *et al.* Structure-based drug repurposing for targeting Nsp9 replicase and spike proteins of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. **Journal of Biomolecular Structure & Dynamics**, [Inglaterra], v. 40, n. 1, p. 249-262, 2022. DOI <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1811773>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32838660/>. Acesso em: 21 jul. 2023.

CHANG, L.J.; CHEN, T.H. Nsp16 2'-O-methyltransferase in coronavirus pathogenesis: possible prevention and treatment strategies. **Viruses**, [Suíça], v. 13, n. 4, p. 1-12, 2021. DOI <https://doi.org/10.3390/v13040538>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8063928/>. Acesso em: 05 set. 2023.

CHEN, T. *et al.* Synergistic inhibition of SARS-CoV-2 replication using disulfiram/ethylmercaptopyruvate and remdesivir. **ACS Pharmacology & Translational Science**, [Estados Unidos], v. 4, n. 2, p. 898-907, 2021. DOI <https://doi.org/10.1021/acspsci.1c00022>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33855277/>. Acesso em: 21 set. 2023.

CHERIAN, S. *et al.* Convergent evolution of SARS-CoV-2 spike mutations, L452R, E484Q and P681R, in the second wave of COVID-19 in Maharashtra, India. **bioRxiv**, [S.l.], p. 1-12, 2021. DOI <https://doi.org/10.1101/2021.04.22.440932>. Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.04.22.440932v1>. Acesso em: 12 nov. 2023.

COMER, J.; DE KARL, C. High-throughput measurement of drug pKa values for ADMET screening. **SLAS Technology**, [S.l.], v. 8, n. 1, p. 55-59, 2003. DOI [https://doi.org/10.1016/S1535-5535\(04\)00243-6](https://doi.org/10.1016/S1535-5535(04)00243-6). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1535553504002436#s0005>. Acesso em: 12 jan. 2024.

COUTINHO, J. V. de S.; COUTINHO, J. de S. Predição *in silico* de toxicidade de análogos cumarínicos potenciais inibidores enzimáticos para a terapêutica da doença de Alzheimer. **RevistaFT**, Rio de Janeiro, RJ, v. 27, 2023. DOI <https://doi.org/10.5281/zenodo.7793446>. Disponível em: <https://revistaft.com.br/predicao-in-silico-de-toxicidade-de-analogos-cumarinicos-potenciais-inibidores-enzimaticos-para-a-terapeutica-da-doenca-de-alzheimer/>. Acesso em: 22 out. 2024.

CRUCIANI, G. *et al.* *In silico* pKa prediction and ADME profiling. **Chemistry & Biodiversity**, [S.l.], v. 6, n. 11, p. 1812-1821, 2009. DOI <https://doi.org/10.1002/cbdv.200900153>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cbdv.200900153>. Acesso em: 26 mai. 2024.

DA SILVA, M. B. C. **Papel do perfil inflamatório e celular na infecção por SARS-CoV-2 e no curso clínico da COVID-19: uma abordagem *in silico***. 2021. 63f. Dissertação (Mestrado em Biologia Aplicada à Saúde) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2021. Disponível em: https://bdtd.ibict.br/vufind/Record/UFPE_ee7d30f79581c9b73109f44c3d54b37a. Acesso em: 29 set. 2023.

DA SILVA, M. S. *et al.* Brief dispersion of a putative B.1.1.28-derived SARS-CoV-2 lineage harboring additional N234P and E471Q spike protein mutations in individuals crossing the Argentina-Brazil border. **Travel Medicine and Infectious Disease**, [Holanda], v. 49, n. 102390, 2022. DOI <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2022.102390>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35753659/>. Acesso em: 26 jun. 2023.

DA SILVA, V. A. **Estudo, por modelagem molecular, da inibição da enzima acetohidroxiácido sintase utilizando diferentes derivados pirimidinilsalicilatos**. 2017. 67f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/20546/3/EstudoModelagemMolecular.pdf>. Acesso em: 27 jul. 2023.

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**, [S.l.], v. 7, n. 42717, p. 1-13, 2017. DOI <https://doi.org/10.1038/srep42717>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/srep42717#citeas>. Acesso em: 14 fev. 2024.

DARIA, S.; BHUIYAAN, M. A.; ISLAM, M. R. Detection of highly muted coronavirus variant Ômicron (B.1.1.529) is triggering the alarm for South Asian countries: Associated risk factors and preventive actions. **Journal of Medical Virology**, [Estados Unidos], v. 94, n. 4, p. 1267-1268, 2022. DOI <https://doi.org/10.1002/jmv.27503>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34862624/>. Acesso em: 30 mai. 2023.

DASGUPTA, A. Therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid. *In*: MAKOWSKI, G. S. (Org.). **Advances in clinical chemistry**. Newington, EUA: Elsevier, 2016. v. 76, chapter 6, p. 165-184. DOI <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2016.04.001>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0065242316300294?via%3Dihub>. Acesso em: 15 fev. 2024.

DE ALENCAR, N. F. **Estudo *in silico* de derivados naftoquinônicos potenciais inibidores da principal protease do SARS-CoV-2**. 2020. 58f. Monografia (Licenciatura em Química) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2020. Disponível em: https://repositorio.ufrpe.br/bitstream/123456789/4392/1/tcc_natanaelferreiradealencar.pdf. Acesso em: 17 abr. 2024.

DE ALMEIDA, J. O. *et al.* COVID-19: fisiopatologia e alvos para intervenção terapêutica. **Revista Virtual de Química**, Niterói, RJ, v. 12, n. 6, p. 1464-1497, 2020. DOI <http://dx.doi.org/10.21577/1984-6835.20200115>. Disponível em: <http://static.sites.s bq.org.br/rvq.s bq.org.br/pdf/v12n6a10.pdf>. Acesso em: 08 mar. 2023.

DE BRITO, M. A. Pharmacokinetic study with computational tools in the medicinal chemistry course. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, [São Paulo], v. 47, n. 4, p. 797-805, 2011. DOI <https://doi.org/10.1590/S1984-82502011000400017>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjps/a/MtvHq6sCkkm3bfC5LSXHRB/?format=pdf>. Acesso em: 03 mar. 2024.

DE FREITAS, D. B. M. **Docking molecular de derivados de rodanina e tiazolidina frente a alfa-hemolisina de Staphylococcus aureus**. 2022. 55f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2022. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/47424>. Acesso em: 30 out. 2023.

DE OLIVEIRA, A. P. S. **Estudo químico e farmacológico de plantas do nordeste dos gêneros Senna e Chamaecrista: desreplicação e ensaios in sílico**. 2023. 111f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2023. Disponível em: https://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/73445/3/2023_tese_apsoliveira.pdf. Acesso em: 07 ago. 2023.

DE OLIVEIRA, C. S. A. **Monitoramento terapêutico do ácido micofenólico: validação de método e análise de interação com omeprazol**. 2012. 96f. Tese (Doutorado em Medicina e Ciências da Saúde) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012. Disponível em: <https://tede2.pucrs.br/tede2/handle/tede/1730>. Acesso em: 03 fev. 2024.

DE OLIVEIRA, K. Falta de ar é sintoma crucial para diferenciar covid-19, gripe ou resfriado. [São Paulo]: **Jornal da USP**, 2020. Disponível em: <https://jornal.usp.br/atualidades/falta-de-ar-e-sintoma-crucial-para-diferenciar-covid-19-gripe-ou-resfriado/>. Acesso em: 07 mai. 2024.

DE SOUZA, R. L. **Aplicação da Técnica de Ancoragem Molecular na Otimização do Fármaco Hipoglicemiante Metformina**. 2015. 39f. Monografia (Bacharelado em Ciências Farmacêuticas) – Centro Universitário Luterano de Palmas, Palmas, 2015. Disponível em: <https://ulbra-to.br/bibliotecadigital/publico/home/documento/169>. Acesso em: 04 mar. 2024.

DEJNIRATTISAI, W. *et al.* Antibody evasion by the P.1 strain of SARS-CoV-2. **Cell**, [Estados Unidos], v. 184, p. 2939-2954, 2021. DOI <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.03.055>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33852911/>. Acesso em: 15 jul. 2023.

DEMIR, Y. *et al.* Molecular docking and inhibition studies of vulpinic, carnosic and usnic acids on polyol pathway enzymes. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, [Reino Unido], v. 40, n. 22, p. 12008-12021, 2022. DOI <https://doi.org/10.1080/07391102.2021.1967195>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34424822/>. Acesso em: 13 jun. 2024.

DHORAJIWALA, T. M.; HALDER, S. T.; SAMANT, L. Comparative *in silico* molecular docking analysis of l-threonine-3-dehydrogenase, a protein target against african trypanosomiasis using selected phytochemicals. **Journal of Applied Biotechnology Reports**, [Irã], v. 6, n. 3, p. 101-108, 2019. DOI <https://doi.org/10.29252/JABR.06.03.04>. Disponível em: https://www.biotechrep.ir/article_93040.html. Acesso em: 19 jun. 2024.

DIVAKARAN, R. **Why does halogen not combine with oxygen directly?**. [S.l.]: Quora, 2019. Disponível em: <https://www.quora.com/Why-does-halogen-not-combine-with-oxygen-directly>. Acesso em: 23 jul. 2024.

DRUGBANK. **Baricitinib**. [S.l.]: Drugbank, 2023. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB11817>. Acesso em: 13 jan. 2024.

DRUGBANK. **Molnupiravir**. [S.l.]: Drugbank, 2022. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB15661>. Acesso em: 13 jan. 2024.

DRUGBANK. **Nirmatrelvir**. [S.l.]: Drugbank, 2024. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB16691>. Acesso em: 13 jan. 2024.

DRUGBANK. **Ritonavir**. [S.l.]: Drugbank, 2024a. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00503>. Acesso em: 13 jan. 2024.

DULSAT, J. *et al.* Evaluation of free online ADMET tools for academic or small biotech environments. **Molecules**, [Suíça], v. 28, n. 2, p. 1-17, 2023. DOI <https://doi.org/10.3390/molecules28020776>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9864198/>. Acesso em: 23 jan. 2024.

EDARA, V. *et al.* Infection and vaccine-induced neutralizing antibody responses to the SARS-CoV-2 B.1.617 variants. **The New England Journal of Medicine**, [Estados Unidos], v. 385, n. 7, p. 664-666, 2021. DOI <https://doi.org/10.1056/nejmc2107799>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34233096/>. Acesso em: 23 nov. 2023.

ELIAS, T. C. **Mb-isoster: um software para simulação de bioisosterismo**. 2018. 174f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2018. Disponível em: <https://bdtd.unifal-mg.edu.br:8443/bitstream/tede/1306/6/Tese%20de%20Thiago%20Castilho%20Elias.pdf>. Acesso em: 15 fev. 2024.

ELIAS, T. C.; DE OLIVEIRA, H. C. B.; DA SILVEIRA, N. J. F. *MB-Isoster*: A software for bioisosterism simulation. **Journal of Computational Chemistry**, [S.l.], v. 39, n. 29, p. 2481-2487, 2018. DOI <https://doi.org/10.1002/jcc.25581>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcc.25581>. Acesso em: 16 fev. 2024.

FABIANI, M. *et al.* Mild symptomatic SARS-CoV-2 P.1 (B.1.1.28) infection in a fully vaccinated 83-year-old man. **Pathogens**, [Suíça], v. 10, n. 5, p. 1-6, 2021. DOI <https://doi.org/10.3390/pathogens10050614>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8156209/>. Acesso em: 17 set. 2023.

FANG, Y. Ligand-receptor interaction platforms and their applications for drug discovery. **Expert Opinion on Drug Discovery**, [Reino Unido], v. 7, n. 10, p. 969-988, 2012. DOI <http://dx.doi.org/10.1517/17460441.2012.715631>. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/230617520_Ligand-receptor_interaction_platforms_and_their_applications_for_drug_discovery. Acesso em: 03 mar. 2023.

FARIA, N. R. *et al.* Genomics and epidemiology of the P.1 SARS-CoV-2 lineage in Manaus, Brazil. **Science**, [Estados Unidos], v. 372, n. 6544, p. 815-821, 2021. DOI <https://doi.org/10.1126/science.abh2644>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8139423/>. Acesso em: 04 mai. 2023.

FERNANDES E SILVA, E. *et al.* Docking molecular: uma ferramenta valiosa para determinar a toxicidade do metil mercúrio em seres humanos. **Journal of Education, Science and Health**, [Teresina, PI], v. 3, n. 2, p. 1-12, 2023. DOI <https://www.doi.org/10.52832/jesh.v3i2.192>. Disponível em: <https://bio10publicacao.com.br/jesh/article/download/192/113/2214>. Acesso em: 21 jan. 2024.

FERREIRA, L. G. *et al.* Molecular docking and structure-based drug design strategies. **Molecules**, [Suíça], v. 20, n. 7, p. 13384-13421, 2015. DOI <https://doi.org/10.3390/molecules200713384>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26205061/>. Acesso em: 06 mar. 2023.

FIOLET, T. *et al.* Comparing COVID-19 vaccines for their characteristics, efficacy and effectiveness against SARS-CoV-2 and variants of concern: a narrative review, **Clinical microbiology and Infection**, [Inglaterra], v. 28, n. 2, p. 202-221, 2022. DOI <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2021.10.005>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34715347/>. Acesso em: 17 fev. 2023.

FLORES-HOLGUÍN, N.; FRAU, J.; GLOSSMAN-MITNIK, D. *In silico* pharmacokinetics, ADMET study and conceptual dft analysis of two plant cyclopeptides isolated from rosaceae as a computational peptidology approach. **Frontiers in Chemistry**, [Suíça], v. 9, p. 1-13, 2021. DOI <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.708364>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/chemistry/articles/10.3389/fchem.2021.708364/full>. Acesso em: 05 jan. 2024.

FLORES-VEGA, V. R. *et al.* SARS-CoV-2: evolution and emergence of new viral variants, **Viruses**, [Suíça], v. 14, n. 4, p. 1-14, 2022. DOI <https://doi.org/10.3390/v14040653>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35458383/>. Acesso em: 17 abr. 2023.

FRANCISCO JR, R. DA S. *et al.* Pervasive transmission of E484K and emergence of VUI-NP13L with evidence of SARS-CoV-2 coinfection events by two different lineages in Rio Grande do Sul, Brazil. **Virus Research**, [Holanda], v. 296, p. 1-7, 2021. DOI <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2021.198345>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33631222/>. Acesso em: 02 mar. 2023.

FRECER, V.; MIERTUS, S. Antiviral agents against COVID-19: Structure-based design of specific peptidomimetic inhibitors of SARS-CoV-2 main protease. **RSC Advances**, [Inglaterra], v. 10, n. 66, p. 40244-40263, 2020. DOI <https://doi.org/10.1039/d0ra08304f>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9057467/>. Acesso em: 05 fev. 2023.

FREITAS, A. R. R.; GIOVANETTI, M.; ALCANTARA, L. C. J. Emerging variants of SARS-CoV-2 and its public health implications. **Interamerican Journal of Medicine and Health**, [Campinas, SP], v. 4, p. 1-8, 2021. DOI <https://doi.org/10.31005/iajmh.v4i.181>. Disponível em: <https://iajmh.com/iajmh/article/view/181>. Acesso em: 19 fev. 2023.

FUMAGALLI, M. J. *et al.* Protective immunity against Gamma and Zeta variants after inactivated SARS-CoV-2 virus immunization. **Viruses**, [Suíça], v. 13, n. 12, p. 1-16, 2021. DOI <https://doi.org/10.3390/v13122440>. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/53562>. Acesso em: 27 mar. 2023.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. **Dashboard rede genômica**. Rio de Janeiro, RJ: FIOCRUZ, 2024. Disponível em: <https://www.genomahcov.fiocruz.br/dashboard-pt/>. Acesso em: 20 dez. 2023.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. **MonitoraCovid-19 avalia quadro de desassistência durante pico da variante Ômicron**. Rio de Janeiro, RJ: FIOCRUZ, 2022. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/noticia/monitoracovid-19-avalia-quadro-de-desassistencia-durante-pico-da-variante-omicron>. Acesso em: 13 abr. 2024.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. **Quanto tempo o coronavírus permanece ativo em diferentes superfícies?**. Rio de Janeiro, RJ: FIOCRUZ, 2020. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/pergunta/quanto-tempo-o-coronavirus-permanece-ativo-em-diferentes-superficies>. Acesso em: 20 dez. 2023.

GADHAVE, K. *et al.* Conformational dynamics of 13 amino acids long NSP11 of SARS-CoV-2 under membrane mimetics and different solvent conditions. **Microbial Pathogenesis**, [Inglaterra], v. 158, p. 1-8, 2021. DOI <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.105041>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34119626/>. Acesso em: 15 mai. 2023.

GALO, O. A. **Síntese de análogos de benzimidazol por “click chemistry” e avaliação da atividade antiparasitária**. 2012. 220f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012. Disponível em: https://teses.usp.br/teses/disponiveis/60/60138/tde-22022013-155336/publico/Dissertacao_Mestrado_corrigida.pdf. Acesso em: 26 mai. 2024.

GAMBLE, S. C. *et al.* Prohibitin, a protein downregulated by androgens, represses androgen receptor activity, **Oncogene**, [Inglaterra], v. 26, n. 12, p. 1757-1768, 2007. DOI <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1209967>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16964284/>. Acesso em: 19 fev. 2023.

GARCIA-BELTRAN, W. F. *et al.* mRNA-based COVID-19 vaccine boosters induce neutralizing immunity against SARS-CoV-2 Omicron variant. **Cell**, [Estados Unidos], v. 185, n. 3, p. 457-466, 2022. DOI <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.12.033>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34995482/>. Acesso em: 21 fev. 2024.

GAUTHIER, J. *et al.* A brief history of bioinformatics. **Briefings in Bioinformatics**, [Inglaterra], v. 20, n. 6, p. 1981-1996, 2018. DOI <https://doi.org/10.1093/bib/bby063>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30084940/>. Acesso em: 02 out. 2023.

GLAXOSMITHKLINE. **Modelo de texto de bula – Profissional de saúde Sototrovimabe**. [Brasília, DF]: ANVISA, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/medicamentos/bulas-e-rotulos/bulas-uso-emergencial/medicamentos/bula-sotrovimabe.pdf>. Acesso em: 15 jun. 2023.

GÓMEZ, C. E.; PERDIGUERO, B.; ESTEBAN, M. Emerging SARS-CoV-2 variants and impact in global vaccination programs against SARS-CoV-2/COVID-19. **Vaccines (Basel)**, [Suíça], v. 9, n. 3, p. 1-13, 2021. DOI <https://doi.org/10.3390/vaccines9030243>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33799505/>. Acesso em: 22 out. 2023.

GORBALENYA, A. E. *et al.* Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: the species and its viruses – a statement of the coronavirus study group. **bioRxiv**, [S.I.], p. 1-15, 2020. DOI <https://doi.org/10.1101/2020.02.07.937862>. Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.02.07.937862v1.full.pdf+html>. Acesso em: 03 mai. 2023.

GREANEY, A. J. *et al.* Comprehensive mapping of mutations in the SARS-CoV-2 receptor-binding domain that affect recognition by polyclonal human plasma antibodies. **Cell Host & Microbe**, [Estados Unidos], v. 29, n. 3, p. 463-476, 2021. DOI <https://doi.org/10.1016/j.chom.2021.02.003>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33592168/>. Acesso em: 11 fev. 2024.

GUPTA, S.; GUPTA, D.; BHATNAGAR, S. Analysis of SARS-CoV-2 genome evolutionary patterns. **Microbiology Spectrum**, [Estados Unidos], v. 12, n. 2, 2024. DOI <https://doi.org/10.1128/spectrum.02654-23>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38197644/>. Acesso em: 15 mar. 2024.

HASÖKSÜZ, M.; KILIÇ, S.; SARAÇ, F. Coronaviruses and SARS-COV-2. **Turkish Journal of Medical Sciences**, [Turquia], v. 50, n. 3, p. 549-556, 2020. DOI <https://doi.org/10.3906/sag-2004-127>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32293832/>. Acesso em: 18 abr. 2023.

HEALD-SARGENT, T.; GALLAGHER, T. Ready, set, fuse! The coronavirus spike protein and acquisition of fusion competence. **Viruses**, [Suíça], v. 4, n. 4, p. 557-580, 2012. DOI <https://doi.org/10.3390/v4040557>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3347323/>. Acesso em: 21 mar. 2023.

HELMY, Y. A. *et al.* The COVID-19 pandemic: a comprehensive review of taxonomy, genetics, epidemiology, diagnosis, treatment, and control. **Journal of Clinical Medicine**, [Suíça], v. 9, n. 4, p. 1-29, 2020. DOI <https://doi.org/10.3390/jcm9041225>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32344679/>. Acesso em: 30 mai. 2023.

HILLEN, H. S. *et al.* Structure of replicating SARS-CoV-2 polymerase. **Nature**, [Inglaterra], v. 584, p. 154-156, 2020. DOI <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2368-8>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2368-8#citeas>. Acesso em: 05 jun. 2023.

HOSSAIN, M. G. *et al.* Roles of the polybasic furin cleavage site of spike protein in SARS-CoV-2 replication, pathogenesis, and host immune responses and vaccination. **Journal of Mmedical Virology**, [Estados Unidos], v. 94, n. 5, p. 1815-1820, 2021. DOI <https://doi.org/10.1002/jmv.27539>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34936124/>. Acesso em: 17 jun. 2023.

HUEY, R. *et al.* A semiempirical free energy force field with charge-based desolvation. **Journal of Computational Chemistry**, [Estados Unidos], v. 28, n. 6, p. 1145-1152, 2007. DOI <https://doi.org/10.1002/jcc.20634>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17274016/>. Acesso em: 21 jul. 2023.

HUMPHREY, W.; DALKE, A.; SCHULTEN, K. Vmd: visual molecular dynamics. **Journal of Molecular Graphics**, [Estados Unidos], v. 14, n. 1, 1996. DOI [https://doi.org/10.1016/0263-7855\(96\)00018-5](https://doi.org/10.1016/0263-7855(96)00018-5). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8744570/>. Acesso em: 03 fev. 2024.

INTERNATIONAL COALITION OF MEDICINES REGULATORY AUTHORITIES. **Declaração da ICMRA sobre a segurança das vacinas contra Covid-19**. Brasília, DF: ANVISA, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2023/icmra-publica-declaracao-sobre-seguranca-das-vacinas-contra-a-covid-19/DeclaraodaICMRAsobreaseguranadasvacinascontraCovid19.pdf>. Acesso em: 26 mar. 2024.

ITA, K. Coronavirus disease (COVID-19): current status and prospects for drug and vaccine development. **Archives of Medical Research**, [Estados Unidos], v. 52, n. 1, p. 15-24, 2021. DOI <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2020.09.010>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32950264/>. Acesso em: 10 fev. 2023.

JAYASHREE, B. S.; NIKHIL, E. S.; PAUL, S. Bioisosterism in drug discovery and development - an overview. **Medicinal Chemistry**, [Holanda], v.18, n. 9, p. 915-925, 2022. DOI <https://doi.org/10.2174/1573406418666220127124228>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35086456/>. Acesso em: 24 jun. 2024.

JORNADA, D. H. **Síntese e avaliação biológica de bioisómeros de nitrofural ativos contra *Leishmania amazonenses***. 2015. 144f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2015. Disponível em: <https://www2.fcfar.unesp.br/Home/Pos-graduacao/CienciasFarmaceuticas/daniela-hartmann---me.pdf>. Acesso em: 13 jun. 2024.

KERNS, E. H.; DI, L. **Drug-like properties: concepts, structure design and methods: from adme to toxicity optimization**. 1 ed. [Inglaterra]: Academic Press - Elsevier, 2008. 549 p.

KIM, Y. *et al.* Crystal structure of Nsp15 endoribonuclease NendoU from SARS-CoV-2. **Protein Science**, [Estados Unidos], v. 29, n. 7, p. 1596-1605, 2020. DOI <https://doi.org/10.1002/pro.3873>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7264519/>. Acesso em: 13 fev. 2024.

KIM, Y. *et al.* Tipiracil binds to uridine site and inhibits Nsp15 endoribonuclease NendoU from SARS-CoV-2. **Communications Biology**, [Inglaterra], v. 4, n. 193, p. 1-11, 2021. DOI <https://doi.org/10.1038/s42003-021-01735-9>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7873276/>. Acesso em: 15 fev. 2024.

KIMURA, I. *et al.* Virological characteristics of the SARS-CoV-2 Omicron BA.2 subvariants, including BA.4 and BA.5. **Cell**, [Estados Unidos], v. 185, n. 21, p. 3992-4007, 2022. DOI <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.09.018>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36198317/>. Acesso em: 12 jun. 2023.

KITCHEN, D. B. *et al.* Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. **Nature Reviews Drug Discovery**, [Inglaterra], v. 3, p. 935-949, 2004. DOI <https://doi.org/10.1038/nrd1549>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15520816/>. Acesso em: 15 jul. 2023.

KO, W. *et al.* Arguments in favour of remdesivir for treating SARS-CoV-2 infections. **International Journal of Antimicrobial Agents**, [Holanda], v. 55, n. 4, p. 1-3, 2020. DOI <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105933>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32147516/>. Acesso em: 29 mar. 2024.

KUMAR, C. S. *et al.* Docking molecular *in silico*: avaliação de derivados baseados em cumarina contra SARS-CoV-2. **Journal of Infection and Public Health**, [S.l.], v. 13, n. 11, p. 1671-1677, 2020. DOI <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2020.09.002>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876034120306389>. Acesso em: 27 mar. 2024.

LAI, C. C. *et al.* Asymptomatic carrier state, acute respiratory disease, and pneumonia due to severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2): facts and myths. **Journal of Microbiology, Immunology, and Infection**, [Inglaterra], v. 53, n. 3, p. 404-412, 2020. DOI <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2020.02.012>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32173241/>. Acesso em: 21 jun. 2023.

LANE, J. R. *et al.* Structure-based ligand discovery targeting orthosteric and allosteric pockets of dopamine receptors. **Molecular Pharmacology**, [Estados Unidos], v. 84, n. 6, p. 794-807, 2013. DOI <https://doi.org/10.1124/mol.113.088054>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24021214/>. Acesso em: 22 jul. 2024.

LANE, T. R. *et al.* Comparing LD50/LC50 machine learning models for multiple species. **Journal of Chemical Health & Safety**, [Estados Unidos], v. 30, n. 2, p. 83-97, 2023. DOI <https://doi.org/10.1021/acs.chas.2c00088>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10348353/>. Acesso em: 15 nov. 2024.

LARREGIEU, C.; BENET, L. Z. Drug discovery and regulatory considerations for improving *in silico* and in vitro predictions that use Caco-2 as a surrogate for human intestinal permeability measurements. **The AAPS Journal**, [Estados Unidos], v. 15, n. 2, p. 483-497, 2013. DOI <https://doi.org/10.1208/s12248-013-9456-8>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23344793/>. Acesso em: 10 jun. 2024.

LEE, K. *et al.* Drug-likeness scoring based on unsupervised learning. **Chemical Science**, [Inglaterra], v. 13, n. 2, p. 554-565, 2022. DOI <https://doi.org/10.1039/d1sc05248a>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8729801/>. Acesso em: 11 mai. 2024.

LEI, M. *et al.* Synthesis and cytotoxicity evaluation of 4-amino-4-dehydroxylarctigenin derivatives in glucose-starved A549 tumor cells. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, [Inglaterra], v. 25, n. 3, p. 435-437, 2015. DOI <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.12.061>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25571795/>. Acesso em: 17 mar. 2024.

LEI, T. *et al.* ADMET evaluation in drug discovery: 15. Accurate prediction of rat oral acute toxicity using relevance vector machine and consensus modeling. **Journal of Cheminformatics**, [Inglaterra], v. 8, n. 6, p. 1-19, 2016. DOI <https://doi.org/10.1186/s13321-016-0117-7>. Disponível em: <https://jcheminf.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13321-016-0117-7>. Acesso em: 19 mai. 2024.

LEITE, M. L.; COSTA, F. F. Epigenômica, epigenética e câncer. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, [Ananindeua, PA], v. 8, n. 4, p. 1-3, 2017. DOI <http://dx.doi.org/10.5123/s2176-62232017000400006>. Disponível em: http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2176-62232017000400006. Acesso: 27 abr. 2023.

LEMOS, A. J. G.; TRINDADE, E. J. Interferências no efeito farmacológico mediadas pelas biotransformações dos citocromos p450. **Revista Científica do ITPAC**, Araguaína, v. 7, n. 2, 2014. Disponível em: <https://assets.unitpac.com.br/arquivos/Revista/72/3.pdf>. Acesso em: 15 abr. 2024.

LEUNG, K. *et al.* Early transmissibility assessment of the N501Y mutant strains of SARS-CoV-2 in the United Kingdom, october to november 2020. **Euro Surveill**, [Suécia], v. 26, n. 1, p. 1-7, 2021. DOI <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es.2020.26.1.2002106>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33413740/>. Acesso em: 05 dez. 2023.

LI, J. *et al.* Plasma protein binding prediction focusing on residue-level features and circularity of cyclic peptides by deep learning. **Bioinformatics**, [Inglaterra], v. 38, n. 4, p. 1110-1117, 2022. DOI <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btab726>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8796384/>. Acesso em: 17 fev. 2024.

LIGANDSCOUT. **Ligandscout tutorial**. [S.l.]: LIGANDSCOUT, 2024. Disponível em: <https://www.inteligand.com/download/LigandScout-4.1-Tutorial-Cards.pdf>. Acesso em: 21 mar. 2024.

LIMA NETO, J. X. *et al.* Investigation of protein-protein interactions and hotspot region on the NSP7-NSP8 binding site in NSP12 of SARS-CoV-2. **Frontiers in Molecular Biosciences**, [Suíça], v. 10, p. 1-14, 2024. DOI <https://doi.org/10.3389/fmolb.2023.1325588>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/molecular-biosciences/articles/10.3389/fmolb.2023.1325588/full>. Acesso em: 30 mai. 2024.

LIMA, A. B. M.; CANSANÇÃO, I. F. A bioinformática e sua inserção no ensino superior brasileiro atual. **Revista Brasileira de Bioinformática e Biologia Computacional**, [S.l.], v. 3, p. 15-27, 2022. DOI <http://dx.doi.org/10.51780/9786599275357>. Disponível em: <https://bioinfo.com.br/a-bioinformatica-e-sua-insercao-no-ensino-superior-brasileiro-atua/>. Acesso em: 17 abr. 2024.

LIPINSKI, C. A. Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. **Drug Discovery Today: Technologies**, [Inglaterra], v. 1, n. 4, p. 337-341, 2004. DOI <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2004.11.007>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24981612/>. Acesso em: 21 fev. 2024.

LIU, C. *et al.* Reduced neutralization of SARS-CoV-2 B,1,617 by vaccine and convalescent serum. **Cell**, [Estados Unidos], v. 184, n. 16, p. 4220-4236, 2021. DOI <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.06.020>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34242578/>. Acesso em: 24 nov. 2023.

LIU, Y. *et al.* Clinical and biochemical indexes from 2019-nCoV infected patients linked to viral loads and lung injury. **Science China: life sciences**, [China], v. 63, n. 3, p. 364-374, 2020. DOI <https://doi.org/10.1007/s11427-020-1643-8>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32048163/>. Acesso em: 01 mar. 2023.

LIVONESI, M. C. **Estudo da atividade antiviral do interferon-alfa e de inibidores da inosina monofosfato desidrogenase sobre orthobunyavirus brasileiros**. 2006. 172f. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006. Disponível em: <https://repositorio.usp.br/item/001535289>. Acesso em: 25 abr. 2024.

LU, R. *et al.* Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. **The Lancet**, [S.l.], v. 395, n. 10224, p. 565-574, 2020. DOI [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8). Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(20\)30251-8/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(20)30251-8/fulltext). Acesso em: 24 out. 2023.

MAGANHI, H. S. **Telurooxetanas: estudos cristalográficos, modelagem molecular e cálculos de docking para aplicação biológica**. 2009. 83f. Dissertação (Mestrado em Química) – Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2009. Disponível em: <https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/6445/2240.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 19 jan. 2024.

MAIA, R. T. **Análise *in silico* e polimorfismo genético das glutionato S-transferases da classe épsilon de *Anopheles gambiae* (díptera: culicidae): possíveis implicações na resistência a inseticidas químicos**. 2013. 153f. Tese (Doutorado em Biologia Animal) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/11996/1/Tese%20Rafael%20Trindade%20Maia.pdf>. Acesso em: 19 dez. 2023.

MAKIYAMA, K. *et al.* NSP9 of SARS-CoV-2 attenuates nuclear transport by hampering nucleoporin 62 dynamics and functions in host cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [Estados Unidos], v. 586, p. 137-142, 2022. DOI <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.11.046>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34844119/>. Acesso em: 28 nov. 2023.

MALIK, Y. A. Properties of Coronavirus and SARS-CoV-2. **The Malaysian Journal of Pathology**, [Malásia], v. 42, n. 1, p. 3-11, 2020. Disponível em: <https://www.mjpath.org.my/2020/v42n1/properties-of-coronavirus.pdf>. Acesso em: 28 nov. 2023.

MARLI, K. R. *et al.* Efficacy and safety of molnupiravir in COVID-19 patients: a systematic review. **Irish Journal of Medical Science**, [Irlanda], v. 192, p. 1665-1678, 2023. DOI <https://doi.org/10.1007/s11845-022-03139-y>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36087236/>. Acesso em: 19 dez. 2023.

MATOS, K. S. **Estudos computacionais e experimentais da permeabilidade celular de candidatos a fármacos**. 2016. 119f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2016. Disponível em: https://teses.usp.br/teses/disponiveis/76/76132/tde-11052017-140338/publico/KarinaSilviaMatos_DO_corrigida.pdf. Acesso em: 15 jan. 2024.

MBAH, C. J.; OKORIE, N. H. Pharmaceutical bioinformatics: its relevance to drug metabolism. **Madridge Journal of Bioinformatics and Systems Biology**, [S.I.], v. 1, n. 1, p. 19-26, 2018. DOI <https://doi.org/10.18689/mjbsb-1000104>. Disponível em: <https://madridge.org/journal-of-bioinformatics-and-systems-biology/mjbsb-1000104.pdf>. Acesso em: 23 nov. 2023.

MEDEIROS, H. I. R. *et al.* Planejamento racional de um candidato a fármaco: estudos *in silico*, síntese e elucidação estrutural. **Research, Society and Development**, [S.I.], v. 9, n. 11, p. 1-27, 2020. DOI <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i11.10605>. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/347362713_Planejamento_racional_de_um_candidato_a_farmaco_estudos_in_silico_sintese_e_elucidacao_estrutural. Acesso em: 16 abr. 2024.

MENEZES, M. **Variante delta do coronavírus: pesquisa sugere maior risco de reinfecção**. Rio de Janeiro, RJ: Instituto Oswaldo Cruz, 2022. Disponível em: <https://www.ioc.fiocruz.br/noticias/variante-delta-do-coronavirus-pesquisa-sugere-maior-risco-de-reinfeccao>. Acesso em: 15 fev. 2023.

MENG, X. *et al.* Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. **Current Computer-Aided Drug Design**, [Emirados Árabes Unidos], v. 7, n. 2, p. 146-157, 2011. DOI <https://doi.org/10.2174/157340911795677602>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21534921/>. Acesso em: 08 ago. 2023.

MICHELON, C. M. Principais variantes do SARS-CoV-2 notificadas no Brasil. **RBAC**, v. 53, n. 2, p. 109-116, 2021. DOI <https://doi.org/10.21877/2448-3877.202100961>. Disponível em: https://www.rbac.org.br/wp-content/uploads/2021/10/RBAC-vol-53-2-2021_artigo01.pdf. Acesso em: 09 mai. 2023.

MOHAMED, K. *et al.* COVID-19 vaccinations: The unknowns, challenges, and hopes. **Journal of Medical Virology**, [Estados Unidos], v. 94, n. 4, p. 1336-1349, 2022. DOI <https://doi.org/10.1002/jmv.27487>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34845731/>. Acesso em: 20 jul. 2023.

MORAIS, G. C. de F. **Modelagem Molecular e Predição das Propriedades Físico-químicas, Farmacocinéticas e de Toxicidade de Substâncias Bioativas no Combate do Transtorno do Déficit de Atenção com Hiperatividade (TDAH)**. 2022. 58f. Monografia (Bacharelado Biomedicina) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2022. Disponível em: <https://repositorio.ufrn.br/handle/123456789/50311?locale=en>. Acesso em: 30 mar. 2024.

MORRIS, G. M. *et al.* *AutoDock4* and *AutoDockTools4*: automated docking with selective receptor flexibility. **Journal of Computational Chemistry**, [S.l.], v. 30, n. 16, p. 2785-2791, 2009. DOI <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcc.21256>. Acesso em: 29 jan. 2024.

MOURA, E. C. *et al.* Covid-19: evolução temporal e imunização nas três ondas epidemiológicas, Brasil, 2020–2022. **Revista de Saúde Pública**, [São Paulo, SP], v. 56, n. 105, p. 1-11, 2022. DOI <https://doi.org/10.11606/s1518-8787.2022056004907>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rsp/a/798jKxCNGhB85QBJXdK6h9z/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 19 jul. 2023.

NAKAGAWA, K. *et al.* Inhibition of stress granule formation by middle east respiratory syndrome coronavirus 4a accessory protein facilitates viral translation, leading to efficient virus replication. **Journal of Virology**, [Estados Unidos], v. 92, n. 20, 2018. DOI <https://doi.org/10.1128/jvi.00902-18>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30068649/>. Acesso em: 28 ago. 2023.

NAPITUPULU, R. *et al.* The development of papain-like protease from SARS-CoV-2, a potential drug target for antiviral screening: A review. **Indonesian Journal of Biotechnology**, [S.l.], v. 28, n. 3, p. 158-172, 2023. DOI <https://dx.doi.org/10.22146/ijbiotech.83376>. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/374152648_The_development_of_papain-like_protease_from_SARS-CoV-2_a_potential_drug_target_for_antiviral_screening_A_review. Acesso em: 12 jan. 2024.

NASCIMENTO, I. F. dos S. **Síntese, caracterização estrutural e relação estrutura-atividade de novos compostos cíclicos tiazolidínicos e tiazínicos derivados de tiossemicarbazonas planejados como protótipo de fármaco Leishmanicida**. 2017. 124f. Dissertação (Mestrado em Ciência Farmacêuticas) – Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2017. Disponível em: <https://www.repositorio.ufal.br/bitstream/riufal/2262/1/S%C3%ADntese%2C%20caracteriza%C3%A7%C3%A3o%20estrutural%20e%20rela%C3%A7%C3%A3o%20estruturatividade%20de%20novos%20compostos%20c%C3%ADclicos%20tiazolid%C3%ADnicos...pdf>. Acesso em: 15 fev. 2024.

NEIS, A. **Introdução ao Docking Molecular**. [S.l.]: Medium, 2019. Disponível em: <https://medium.com/omixdata/introdu%C3%A7%C3%A3o-ao-docking-molecular-7f60bedfae8b>. Acesso em: 22 dez. 2023.

NELSON, G. *et al.* Molecular dynamic simulation reveals E484K mutation enhances spike RBD-ACE2 affinity and the combination of E484K, K417N and N501Y mutations (501Y.V2 variant) induces conformational change greater than N501Y mutant alone, potentially resulting in an escape mutante. **bioRxiv**, 2021. DOI <https://doi.org/10.1101/2021.01.13.426558>. Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.01.13.426558v1>. Acesso em: 17 jul. 2023.

NICOLA JUNIOR, N. **Diferenças estruturais e “docking” receptor-ligante da proteína E7 do vírus do papiloma humano (HPV) de alto e baixo riscos para o câncer cervical**. 2013. 127f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2013. Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17135/tde-13062013-092311/publico/DoutoradoNilsonNicolauJunior.pdf>. Acesso em: 18 mai. 2024.

NISHIOKA, S. de A. **Novos medicamentos antivirais para tratamento da COVID-19 são aprovados para uso emergencial pela agência reguladora norte-americana**. [S.l.]: UNA-SUS, 2021. Disponível em: <https://www.unasus.gov.br/especial/covid19/markdown/494>. Acesso em: 30 out. 2023.

NISHIOKA, S. de A. **Variantes de preocupação e de interesse do novo coronavírus têm novas definições de trabalho e sistema de rastreamento**. [S.l.]: UNA-SUS, 2023. Disponível em: <https://www.unasus.gov.br/especial/covid19/markdown/619>. Acesso em: 31 mai. 2024.

NUSSINOV, R.; MA, B.; TSAI, C. Multiple conformational selection and induced fit events take place in allosteric propagation. **Biophysical Chemistry**, [Holanda], v. 186, p. 22-30, 2014. DOI <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2013.10.002>. Disponível em <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6361548/>. Acesso em: 14 mar. 2023.

OCHANI, R. K. *et al.* COVID-19 pandemic: from origins to outcomes. A comprehensive review of viral pathogenesis, clinical manifestations, diagnostic evaluation, and management. **Le Infezioni in Medicina**, [Itália], v. 29, n. 1, p. 20-36, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33664170/>. Acesso em: 26 mai. 2023.

ONYEAKA, H. *et al.* COVID-19 pandemic: a review of the global lockdown and its far-reaching effects. **Science Progress**, [Inglaterra], v. 104, n. 2, 2021. DOI <https://doi.org/10.1177/00368504211019854>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34061685/>. Acesso em: 29 jun. 2024.

ORELLANA, J. D. Y.; MARRERO, L.; HORTA, B. L. Letalidade hospitalar por COVID-19 em quatro capitais brasileiras e sua possível relação temporal com a variante Gama, 2020-2021. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, v. 30, n. 4, p. 1-12, 2021. DOI <https://doi.org/10.1590/S1679-49742021000400024>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ress/a/BFQXknLkP36btJkvYK3xqcS/?lang=pt>. Acesso em: 13 jan. 2023.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Classification of Ómicron (B.1.1.529): SARS-CoV-2 variant of concern**. [Genebra, CH]: WHO, 2021. Disponível em: [https://www.who.int/news/item/26-11-2021-classification-of-omicron-\(b.1.1.529\)-sars-cov-2-variant-of-concern](https://www.who.int/news/item/26-11-2021-classification-of-omicron-(b.1.1.529)-sars-cov-2-variant-of-concern). Acesso em: 21 jun. 2023.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Coronavirus disease (COVID-19): similarities and differences between COVID-19 and Influenza**. [Genebra, CH]: WHO, 2024. Disponível em: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/question-and-answers-hub/q-a-detail/coronavirus-disease-covid-19-similarities-and-differences-with-influenza>. Acesso em: 15 out. 2024.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **COVID-19 vaccine tracker and landscape**. [Genebra, CH]: WHO, 2023a. Disponível em: <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>. Acesso em: 04 ago. 2023.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **WHO COVID-19 dashboard**. [Genebra, CH]: WHO, 2023. Disponível em: <https://covid19.who.int/>. Acesso em: 30 mar. 2024.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **OMS afirma que COVID-19 é agora caracterizada como pandemia**. [Washington, DC, EUA]: OPAS, 2020. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/news/11-3-2020-who-characterizes-covid-19-pandemic>. Acesso em: 18 mai. 2023.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Perguntas frequentes: vacinas contra a COVID-19.** [Washington, DC, EUA]: OPAS, 2023. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/vacinas-contracovid-19/perguntas-frequentes-vacinas-contracovid-19>. Acesso em: 15 jun. 2024.

PAGADALA, N. S.; SYED, K.; TUSZYNSKI, J. Software for molecular docking: a review. **Biophysical Reviews**, [Alemanha], v. 9, n. 2, p. 91-102, 2017. DOI <https://doi.org/10.1007/s12551-016-0247-1>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28510083/>. Acesso em: 23 ago. 2023.

PALMEIRA, J. T. *et al.* Análise farmacológica e toxicológica *in silico* do ácido undecilênico aplicada a odontologia. **Journal of Medicine and Health Promotion**, [S.l.], v. 4, n. 3, p. 1219-1230, 2019. Disponível em: <https://jmhp.fiponline.edu.br/pdf/cliente=13-15324078c966ee7ca9f11ffad14903a4.pdf>. Acesso em: 13 mar. 2024.

PANDEY, A. K.; VERMA, S. An in-silico evaluation of dietary components for structural inhibition of SARS-Cov-2 main protease. **Journal of Biomolecular Structure & Dynamics**, [Inglaterra], v. 40, n. 1, p. 136-142, 2020. DOI <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1809522>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32811367/>. Acesso em: 24 mai. 2024.

PAWAR, S. S.; ROHANE, S. H. Review on discovery studio: an importante tool for molecular docking. **Asian Journal of Research in Chemistry**, [S.l.], v. 14, n. 1, p. 86-88, 2021. DOI <https://doi.org/10.5958/0974-4150.2021.00014.6>. Disponível em: <https://www.proquest.com/docview/2532201421?sourcetype=Scholarly%20Journals>. Acesso em: 07 jul. 2024.

PEACOCK, T. P. *et al.* The furin cleavage site in the SARS-CoV-2 spike protein is required for transmission in ferrets. **Nature Microbiology**, [Inglaterra], v. 6, n. 7, p. 899-909, 2021. DOI <https://doi.org/10.1038/s41564-021-00908-w>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33907312/>. Acesso em: 13 set. 2023.

PELENTIR, G. F. **Limites do modelo de ligação enzima-substrato “chave-fechadura” para o ensino de ciências.** 2021. 42f. Monografia (Licenciatura em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de São Carlos, Sorocaba, 2021. Disponível em: https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/14522/TCC_GABRIEL_FINAL.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 18 ago. 2023.

PEREIRA, R. DE F.; DA SILVA, R. L. Oxigenoterapia de alto fluxo na hipoxemia COVID-19. **Revista Diálogos em Saúde**, [S.l.], v. 5, n. 1, p. 315-326, 2022. Disponível em: <https://periodicos.iesp.edu.br/dialogosemsaude/article/view/543>. Acesso em: 19 jan. 2023.

PESSANHA, K. F. *et al.* COVID-19: da infecção respiratória aos distúrbios cardiovasculares. **Revista Científica da FMC**, [Campos dos Goytacazes, RJ], v. 16, n. 1, p. 79-89, 2021. DOI <https://doi.org/10.29184/1980-7813.rcfmc.380.vol.16.n1.2021>. Disponível em: <https://revista.fmc.br/ojs/index.php/RCFMC/article/view/380>. Acesso em: 30 jan. 2023.

PIETRALONGA, T. C. *et al.* Estudo computacional de reativadores da acetilcolinesterase inibida pelo pesticida agrícola fenamifós. **Revista Ifes Ciência**, [Vitória, ES], v. 1, n. 2, p. 52-64, 2015. DOI <https://doi.org/10.36524/ric.v1i2.306>. Disponível em: <https://ojs.ifes.edu.br/index.php/ric/article/view/306>. Acesso em: 14 abr. 2023.

PINZI, L.; RASTELLI, G. Molecular docking: shifting paradigms in drug discovery. **International Journal of Molecular Sciences**, [Suíça], v. 20, n. 18, p. 1-23, 2019. DOI <https://doi.org/10.3390/ijms20184331>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31487867/>. Acesso em: 13 mai. 2023.

PIRES, D. E. V.; BLUNDELL, T. L.; ASCHER, D. B. pkCSM: predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. **Journal of Medicinal Chemistry**, [Estados Unidos], v. 58, n. 9, p. 4066-4072, 2015. DOI <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00104>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25860834/>. Acesso em: 01 jun. 2024.

PRATHIVIRAJ, R. *et al.* Revealing the genotypic variants and proteomic mutations in Turkish SARS-CoV-2 driving evolution and virulence. **Medicine in Omics**, [S.l.], v. 9, p. 1-16, 2023. DOI <https://doi.org/10.1016/j.meomic.2023.100024>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2590124923000056>. Acesso em: 13 set. 2023.

PREETHI, L. *et al.* Therapeutic use of guggulsterone in COVID-19 induced obesity (covibesity) and significant role in immunomodulatory effect. **Obesity Medicine**, [Inglaterra], v. 24, p. 1-6, 2021. DOI <https://doi.org/10.1016/j.obmed.2021.100346>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2451847621000294>. Acesso em: 21 fev. 2024.

PRESTI, A. L.; REZZA, G.; STEFANELLI, P. Selective pressure on SARS-CoV-2 protein coding genes and glycosylation site prediction. **Heliyon**, [Inglaterra], v. 6, n. 9, p. 1-8, 2020. DOI <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05001>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7505600/pdf/main.pdf>. Acesso em: 29 jul. 2024.

PUBCHEM. **Remdesivir**. [Estados Unidos]: Pubchem, 2024. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Remdesivir>. Acesso em: 31 mar. 2024.

QIN, J. *et al.* Estimation of incubation period distribution of COVID-19 using disease onset forward time: a novel cross-sectional and forward follow-up study. **Science Advances**, [S.l.], v. 6, n. 33, p. 1-7, 2020. DOI <https://doi.org/10.1101/2020.03.06.20032417>. Disponível em: <https://www.science.org/doi/epdf/10.1126/sciadv.abc1202>. Acesso em: 17 mar. 2023.

RAO, A. *et al.* Exploring tissue architecture using spatial transcriptomics. **Nature**, [Inglaterra], v. 596, n. 781, p. 211-220, 2021. DOI <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03634-9v>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34381231/>. Acesso em: 27 abr. 2023.

RESENDE, P. C. *et al.* Identification of a new B.1.1.33 SARS-CoV-2 variant of interest (VOI) circulating in Brazil with mutation E484K and multiple deletions in the amino (N)-terminal domain of the spike protein. **Virological**, [S.l.], 2021. Disponível em: <https://virological.org/t/identification-of-a-new-b-1-1-33-sars-cov-2-variant-of-interest-voi-circulating-in-brazil-with-mutation-e484k-and-multiple-deletions-in-the-amino-n-terminal-domain-of-the-spike-protein/675>. Acesso em: 15 out. 2023.

RICCI, F. *et al.* *In silico* insights towards the identification of sars-cov-2 nsp13 helicase druggable pockets. **Biomolecules**, [Suíça], v. 12, n. 4, p. 1-12, 2022. DOI <https://doi.org/10.3390/biom12040482>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35454070/>. Acesso em: 24 jun. 2024.

RICHARDSON, P. Applications of fluorine to the construction of bioisosteric elements for the purposes of novel drug discovery. **Expert Opinion on Drug Discovery**, [Inglaterra], v. 16, n. 11, p. 1261-1286, 2021. DOI <https://doi.org/10.1080/17460441.2021.1933427>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/17460441.2021.1933427>. Acesso em: 11 abr. 2024.

ROBSON, F. *et al.* Coronavirus rna proofreading: molecular basis and therapeutic targeting. **Molecular Cell**, [Estados Unidos], v. 79, n. 5, p. 710-727, 2020. DOI <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.07.027>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32853546/>. Acesso em: 13 mai. 2023.

RODRIGUES, L. M. de S. **Estudos de docking molecular de derivados tiazóis com a bsa e como potenciais intercaladores de dna e inibidores da topoisomerase II**. 2019. 61f. Monografia (Licenciatura em Química) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Serra Talhada, 2019. Disponível em: https://repository.ufrpe.br/bitstream/123456789/1316/1/tcc_lucasmatheusdesouzarodrigues.pdf. Acesso em: 19 ago. 2023.

RODRIGUES, R. P. *et al.* Estratégias de triagem virtual no planejamento de fármacos. **Revista Virtual de Química**, [S.l.], v. 4, n. 6, p. 739-776, 2012. DOI <http://dx.doi.org/10.5935/1984-6835.20120055>. Disponível em: <https://rvq-sub.sbq.org.br/index.php/rvq/article/view/295>. Acesso em: 30 jul. 2023.

ROE, M. K. *et al.* Targeting novel structural and functional features of coronavirus protease nsp5 (3CLpro, Mpro) in the age of COVID-19. **The Journal of General Virology**, [Inglaterra], v. 102, n. 3, p. 1-16, 2021. DOI <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001558>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33507143/>. Acesso em: 15 jun. 2023.

ROMERO, E. P. *et al.* The emergence of SARS-CoV-2 variant Lambda (C.37) in South America. **Microbiology Spectrum**, [Estados Unidos], v. 9, n. 2, 2021. DOI <https://doi.org/10.1128/spectrum.00789-21>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34704780/>. Acesso em: 09 mar. 2023.

ROSA, R. S. de L. *et al.* Preditores farmacocinéticos e toxicológicos *in silico* para via oral: conheça e análise ADMETox. **Bioinfo**, [S.l.], p. 83-97, 2022. DOI <https://doi.org/10.51780/978-65-992753-5-7-07>. Disponível em: <https://bioinfo.com.br/preditores-farmacocineticos-e-toxicologicos-in-silico-para-via-oral-conheca-e-analise-admetox/>. Acesso em: 27 fev. 2024.

RUBIO, A. *et al.* The most exposed regions of SARS-CoV-2 structural proteins are subject to strong positive selection and gene overlap may locally modify this behavior. **mSystems**, [Estados Unidos], v. 9, n. 1, 2023. DOI <https://doi.org/10.1128/msystems.00713-23>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38095866/>. Acesso em: 21 fev. 2023.

SACQUIN-MORA, S.; PRÉVOST, C. Docking peptides on proteins: how to open a lock, in the dark, with a flexible key. **Structure**, [Estados Unidos], v. 23, n. 8, p. 1373-1374, 2015. DOI <https://doi.org/10.1016/j.str.2015.07.004>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26244840/>. Acesso em: 30 ago. 2023.

SANDER, T. *et al.* Osiris, an entirely in-house developed drug discovery informatics system. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [Estados Unidos], v. 49, n. 2, p. 232-246, 2009. DOI <https://doi.org/10.1021/ci800305f>. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/24420271_OSIRIS_an_Entirely_in-House_Developed_Drug_Discovery_Informatics_System#fullTextFileContent. Acesso em: 22 fev. 2024.

SANTOS, J. C.; PASSOS, G. A. The high infectivity of SARS-CoV-2 B.1.1.7 is associated with increased interaction force between Spike- ACE2 caused by the viral N501Y mutation. **bioRxiv**, [S.l.], p. 1-9, 2021. DOI <https://doi.org/10.1101/2020.12.29.424708> . Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.12.29.424708v1>. Acesso em: 23 set. 2023.

SANTOS, L. H. Docagem molecular: em busca do encaixe perfeito e acessível. **BIOINFO**, [S.l.], v. 1, 2021. DOI <https://doi.org/10.51780/978-6-599-275326-09>. Disponível em: <https://bioinfo.com.br/docagem-molecular-em-busca-do-encaixe-perfeito-e-acessivel/>. Acesso em: 15 out. 2023.

SANTOS, L. H. S.; FERREIRA, R. S.; CAFFARENA, E. R. Integrating molecular docking and molecular dynamics simulations. *In: DE AZEVEDO JR., W. F. (Ed.). Docking screens for drug discovery (methods in molecular biology)*. 1. ed. Nova York, EUA: Humana, 2019. p. 13-34.

SANTOS, V. L. dos A.; GONSALVES, A. de A.; ARAÚJO, C. R. M. Abordagem didática para o desenvolvimento de moléculas bioativas: regra dos cinco de lipinski e preparação de heterociclo 1,3,4-oxadiazol em forno de micro-ondas doméstico. **Química Nova**, [Campinas, SP], v. 41, n. 1, p. 110-115, 2018. DOI <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170135>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/z3y34YBL9KqkkVxMqv3Tqjw/abstract/?lang=en>. Acesso em: 22 out. 2024.

SEELIGER, D.; DE GROOT, B. L. Ligand docking and binding site analysis with PyMOL and *Autodock/Vina*. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, [Holanda], v. 24, n. 5, p. 417-422, 2010. DOI <https://doi.org/10.1007/s10822-010-9352-6>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20401516/>. Acesso em: 24 nov. 2023.

SEANAYAKE, S. Overcoming nonstructural protein 15-nidoviral uridylate-specific endoribonuclease (nsp15/NendoU) activity of SARS-CoV-2. **Future Drug Discovery**, [Inglaterra], v. 2, n. 3, 2020. DOI <https://doi.org/10.4155/fdd-2020-0012>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7255426/>. Acesso em: 21 jul. 2023.

SHAMIN, S. *et al.* Molecular docking: an insight from drug discovery to drug repurposing approach. **IntechOpen**, [Reino Unido], p. 1-33, 2024. DOI <https://doi.org/10.5772/intechopen.1005526>. Disponível em: <https://www.intechopen.com/online-first/1179425#>. Acesso em: 17 mar. 2024.

SHIN, D. *et al.* Papain-like protease regulates SARS-CoV-2 viral spread and innate immunity. **Nature**, [S.l.], v. 587, n. 7835, p. 657-662, 2020. DOI <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2601-5>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2601-5#citeas>. Acesso em: 11 set. 2023.

SIEBERT, A. *et al.* New analogues of mycophenolic acid. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**, [Holanda], v. 17, n. 9, p. 734-745, 2017. DOI <https://doi.org/10.2174/1389557516666161129160001>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27903231/>. Acesso em: 17 fev. 2024.

SILVA, H. H. M. *et al.* Proposta de modificação molecular: análise de parâmetros físico-químicos, farmacocinéticos e toxicológicos “in silico” de fármacos barbitúricos. **Research, Society and Development**, Vargem Grande Paulista, SP, v.11, n. 13, p. 1-9, 2022. DOI <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i13.35680>. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/35680>. Acesso em: 13 abr. 2024.

SILVA, V. dos S. **Avaliação *in silico* de novos compostos bioativos para o tratamento da síndrome de imunodeficiência adquirida humana (aids): potenciais inibidores da transcriptase reversa (tr) do HIV-1.** 2015. 142f. Dissertação (Mestrado em Viologia Computacional e Sistemas) – Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/13498>. Acesso em: 17 mar. 2024.

SINDHUJA, S.; KARNAN, M.; GAYATHRI, R. Spectral, structural, *in silico* ADMET biological, factor group, and molecular docking study of 2,6-dinitrophenol. **Journal of the Indian Chemical Society**, [S.l.], v. 101, n. 7, 2024. DOI <https://doi.org/10.1016/j.jics.2024.101144>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0019452224000244>. Acesso em: 21 mai. 2024.

SUN, P. *et al.* Understanding of COVID-19 based on current evidence. **Journal of Medical Virology**, [Estados Unidos], v. 92, n. 6 p. 548-551, 2020. DOI <https://doi.org/10.1002/jmv.25722>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32096567/>. Acesso em: 28 dez. 2023.

SUPASA, P. *et al.* Reduced neutralization of SARS-CoV-2 B.1.1.7 variant by convalescent and vaccine sera. **Cell**, [Estados Unidos], v. 184, n. 8, p. 2201-2211, 2021. DOI <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.02.033>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33743891/>. Acesso em: 19 dez. 2023.

SURYAWANSHI, R. K. *et al.* Dysregulation of cell signaling by SARS-CoV-2. **Trends in Microbiology**, [Inglaterra], v. 29, n. 3, p. 22-237, 2021. DOI <https://doi.org/10.1016/j.tim.2020.12.007>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33451855/>. Acesso em: 18 abr. 2023.

TAM, D. *et al.* Targeting SARS-CoV-2 non-structural proteins. **International Journal of Molecular Sciences**, [Suíça], v. 24, n. 16, p. 1-28, 2023. DOI <https://doi.org/10.3390/ijms241613002>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37629182/>. Acesso em: 22 mai. 2023.

TAZIKHEH-LEMESKI, E. *et al.* Targeting SARS-CoV-2 non-structural protein 16: a virtual drug repurposing study. **Journal of Biomolecular Structure & Dynamics**, [Inglaterra], v. 39, n. 13, p. 4633-4646, 2021. DOI <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1779133>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32573355/>. Acesso em: 18 mar. 2023.

TE VELTHUIS, A. J. W. *et al.* The SARS-coronavirus nsp7+nsp8 complex is a unique multimeric RNA polymerase capable of both de novo initiation and primer extension. **Nucleic Acids Research**, [Inglaterra], v. 40, n. 4, p. 1737-1747, 2012. DOI <https://doi.org/10.1093/nar/gkr893>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22039154/>. Acesso em: 11 dez. 2023.

TONOLLI, P. N.; FRANCO, F. F.; SILVA, A. F. G. A construção histórica do conceito de enzima e sua abordagem em livros didáticos de biologia. **História, Ciências, Saúde – Manguinhos**, [Rio de Janeiro, RJ], v. 28, n. 3, p. 727-744, 2021. DOI <https://doi.org/10.1590/S0104-59702021000300006>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/hcsm/a/nCzVpjdWPTFRVyy9shFKQ7f/>. Acesso em: 19 ago. 2023.

TORJESEN, I. COVID-19: Omicron may be more transmissible than other variants and partly resistant to existing vaccines, scientists fear. **BMJ**, [Inglaterra], v. 375, n. 2943, p. 1-2, 2021. DOI <https://doi.org/10.1136/bmj.n2943>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34845008/>. Acesso em: 27 jun. 2023.

TROTT, O.; OLSON, A. J. *AutoDock Vina*: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. **Journal of Computational Chemistry**, [Estados Unidos], v. 31, n. 2, p. 455-461, 2010. DOI <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3041641/pdf/nihms270965.pdf>. Acesso em: 13 fev. 2024.

ULLAH, A. *et al.* Molecular docking and pharmacological property analysis of phytochemicals from *clitoria ternatea* as potent inhibitors of cell cycle checkpoint proteins in the cyclin/cdk pathway in cancer cells. **Computational Molecular Bioscience**, [S.l.], v. 9, n. 3, p. 81-94, 2019. DOI <http://dx.doi.org/10.4236/cmb.2019.93007>. Disponível em: <https://www.scirp.org/journal/paperinformation?paperid=94879>. Acesso em: 08 jul. 2024.

VAIROLETTI, F. *et al.* Structure-based bioisosterism design, synthesis, biological evaluation and *in silico* studies of benzamide analogs as potential anthelmintics. **Molecules**, [Suíça], v. 27, n. 9, p. 1-19, 2022. DOI <https://doi.org/10.3390/molecules27092659>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35566007/>. Acesso em: 26 mai. 2024.

VELAVAN, T. P.; MEYER, C. G. The COVID-19 epidemic. **Tropical Medicine & International Health**, [Inglaterra], v. 25, n. 3, p. 278-280, 2020. DOI <https://doi.org/10.1111/tmi.13383>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32052514/>. Acesso em: 21 jun. 2023.

VERLI, H. **Bioinformática da biologia à flexibilidade molecular**. 1 ed. São Paulo: Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular – SBBq, 2014. 292 p.

VERMA, P. *et al.* Molecular structure, hydrogen bonding interactions and docking simulations of nicotinamide (monomeric and trimeric models) by using spectroscopy and theoretical approach. **Polycyclic Aromatic Compounds**, [Reino Unido], v. 44, n. 3, p. 1537-1555, 2023. DOI <https://doi.org/10.1080/10406638.2023.2200954>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10406638.2023.2200954>. Acesso em: 03 fev. 2024.

VOLKAMER, A. *et al.* DoGSiteScorer: a web server for automatic binding site prediction, analysis and druggability assessment. **Bioinformatics**, [Inglaterra], v. 28, n. 15, p. 2074-2075, 2012. DOI <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts310>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22628523/>. Acesso em: 02 out. 2023.

VOLOCH, C. M. *et al.* Genomic characterization of a novel SARS-CoV-2 lineage from Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Virology**, [Estados Unidos], v. 95, n. 10, p. 119-121, 2021. DOI <https://doi.org/10.1128/jvi.00119-21>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33649194/>. Acesso em: 15 set. 2023.

WANG, C. X. *et al.* The virological impacts of SARS-CoV-2 D614G mutation. **Journal of Molecular Cell Biology**, [Estados Unidos], v. 13, n. 10, p. 712-720, 2021. DOI <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjab045>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34289053/>. Acesso em: 24 nov. 2023.

WANG, N. *et al.* ADME properties evaluation in drug discovery: prediction of Caco-2 cell permeability using a combination of Nsga-ii and boosting. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [Estados Unidos], v. 56, n. 4, p. 763-773, 2016. DOI <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.5b00642>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27018227/>. Acesso em: 15 mai. 2024.

WANG, N. *et al.* Predicting human intestinal absorption with modified random forest approach: a comprehensive evaluation of molecular representation, unbalanced data, and applicability domain issues. **RSC Advances**, [S.I.], n. 31, p. 19007-19018, 2017. DOI <https://doi.org/10.1039/C6RA28442F>. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2017/ra/c6ra28442f>. Acesso em: 23 mar. 2024.

WANG, Q. *et al.* Alarming antibody evasion properties of rising SARS-CoV-2 BQ and XBB subvariants. **Cell**, [Estados Unidos], v. 186, n. 2, p. 279-286, 2023. DOI <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.12.018>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36580913/>. Acesso em: 30 jan. 2023.

WANG, Z. *et al.* mRNA vaccine-elicited antibodies to SARS-CoV-2 and circulating variants. **Nature**, [Inglaterra], v. 592, p. 616-622, 2021a. DOI <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03324-6>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41586-021-03324-6>. Acesso em: 17 abr. 2023.

WINK, P. L. *et al.* First identification of SARS-CoV-2 Lambda (C,37) variant in southern Brazil. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, [Estados Unidos], p. 1-2, 2021. DOI <https://doi.org/10.1017/ice.2021.390>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8564022/>. Acesso em: 21 jan. 2023.

WOLBER, G.; LANGER, T. LigandScout: 3-D pharmacophores derived from protein-bound ligands and their use as virtual screening filters. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [Estados Unidos], v. 45, n. 1, p. 160-169, 2005. DOI <https://doi.org/10.1021/ci049885e>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15667141/>. Acesso em: 13 fev. 2024.

WOLF, J. M. *et al.* Molecular evolution of SARS-CoV-2 from december 2019 to august 2022. **Journal of Medical Virology**, [Estados Unidos], v. 95, n. 1, p. 1-10, 2023. DOI <https://doi.org/10.1002/jmv.28366>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36458547/>. Acesso em: 18 mar. 2023.

WU, C. *et al.* Structure genomics of SARS-CoV-2 and its Omicron variant: drug design templates for COVID-19. **Acta Pharmacologica Sinica**, [S.l.], v. 43, p. 3021-3033, 2022. DOI <https://doi.org/10.1038/s41401-021-00851-w>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41401-021-00851-w#citeas>. Acesso em: 29 abr. 2023.

WYETH. **Paxlovid, nirmatrelvir e ritonavir**. [Estados Unidos]: ANVISA, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/medicamentos/bulas-e-rotulos/bulas-uso-emergencial/medicamentos/paxlovid-profissional-de-saude>. Acesso em: 24 abr. 2023.

XAVIER, A. R. *et al.* COVID-19: manifestações clínicas e laboratoriais na infecção pelo novo coronavírus. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, [Rio de Janeiro, RJ], v. 56, p. 1-9, 2020. DOI <https://doi.org/10.5935/1676-2444.20200049>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jbpm/a/PrqSm9T8CVkPdk4m5Gg4wKb/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 20 nov. 2023.

XIA, H. *et al.* Evasion of type I interferon by SARS-CoV-2. **Cell Reports**, [Estados Unidos], v. 33, n. 1, 2020. DOI <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108234>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32979938/>. Acesso em: 15 out. 2023.

XIONG, G. *et al.* ADMETlab 2.0: an integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties. **Nucleic Acids Research**, [Inglaterra], v. 49, n. W1, p. W5-W14, 2021. DOI <https://doi.org/10.1093/nar/gkab255>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33893803/>. Acesso em: 13 fev. 2024.

YAN, A.; WANG, Z.; CAI, Z. Prediction of human intestinal absorption by ga feature selection and support vector machine regression. **International Journal of Molecular Sciences**, [Suíça], v. 9, n. 10, p. 1961-1976, 2008. DOI <https://doi.org/10.3390/ijms9101961>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19325729/>. Acesso em: 11 mar. 2024.

YAN, L. *et al.* Architecture of a SARS-CoV-2 mini replication and transcription complex. **Nature Communications**, [Inglaterra], v. 11, n. 1, p. 1-6, 2020. DOI <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19770-1>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33208736/>. Acesso em: 28 mai. 2023.

YANG, X. *et al.* Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. **Lancet Respiratory Medicine**, [Inglaterra], v. 8, n. 5, p. 475-481, 2020. DOI [https://doi.org/10.1016/s2213-2600\(20\)30079-5](https://doi.org/10.1016/s2213-2600(20)30079-5). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32105632/>. Acesso em: 17 dez. 2023.

YAP, H. *et al.* Patient-derived SARS-CoV-2 mutations impact viral replication dynamics and infectivity in vitro and with clinical implications in vivo. **Cell Discovery**, [Inglaterra], v. 6, n. 76, p. 1-16, 2020. DOI <https://doi.org/10.1038/s41421-020-00226-1>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33298872/>. Acesso em: 30 mar. 2023.

YEE, S. In vitro permeability across Caco-2 cells (colonic) can predict in vivo (small intestinal) absorption in man--fact or myth. **Pharmaceutical Research**, [Estados Unidos], v. 14, n. 6, p. 763-766, 1997. DOI <https://doi.org/10.1023/a:1012102522787>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9210194/>. Acesso em: 04 fev. 2024.

ZHANG, L. *et al.* SARS-CoV-2 spike-protein D614G mutation increases virion spike density and infectivity. **Nature Communications**, [Inglaterra], v. 11, n. 6013, p. 1-9, 2020. DOI <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19808-4>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33243994/>. Acesso em: 12 out. 2023.

ZHOU, F. *et al.* Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. **Lancet**, [Inglaterra], v. 395, n. 10229, p. 1054-1062, 2020. DOI [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)30566-3](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(20)30566-3). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32171076/>. Acesso em: 2023.

APÊNDICE A – Tabela com os códigos das moléculas usadas para realização das análises de ADMET.

Moléculas	Código Smiles das moléculas em estudo
MPA	<chem>COC1=C(C\C=C(/C)CCC(O)=O)C(O)=C2C(=O)OCC2=C1C</chem>
1a	<chem>[H]c1c(CC=C(C)CCC(=O)O)c(OC)c(C)c2COCc12</chem>
1b	<chem>COc2c(C)c1COCc1c(F)c2CC=C(C)CCC(=O)O</chem>
1c	<chem>[H]N([H])c2c(CC=C(C)CCC(=O)O)c(OC)c(C)c1COCc12</chem>
1d	<chem>[H]C([H])([H])c2c(CC=C(C)CCC(=O)O)c(OC)c(C)c1COCc12</chem>
1e	<chem>COc2c(C)c1COCc1c([Cl])c2CC=C(C)CCC(=O)O</chem>
1f	<chem>COc2c(C)c1COCc1c(I)c2CC=C(C)CCC(=O)O</chem>
1g	<chem>COc2c(C)c1COCc1c([Br])c2CC=C(C)CCC(=O)O</chem>
1h	<chem>[H]Sc2c(CC=C(C)CCC(=O)O)c(OC)c(C)c1COCc12</chem>
2a	<chem>[H]Oc2c(C)c1COC(=O)c1c(O)c2CC=C(C)CCC(=O)O</chem>
2b	<chem>CC(=CCc2c(O)c1C(=O)OCc1c(C)c2OF)CCC(=O)O</chem>
2c	<chem>[H]OOc2c(C)c1COC(=O)c1c(O)c2CC=C(C)CCC(=O)O</chem>
2d	<chem>[H]N([H])Oc2c(C)c1COC(=O)c1c(O)c2CC=C(C)CCC(=O)O</chem>
2e	<chem>CC(=CCc2c(O)c1C(=O)OCc1c(C)c2O[Cl])CCC(=O)O</chem>
2f	<chem>CC(=CCc2c(O)c1C(=O)OCc1c(C)c2OI)CCC(=O)O</chem>
2g	<chem>CC(=CCc2c(O)c1C(=O)OCc1c(C)c2O[Br])CCC(=O)O</chem>
2h	<chem>[H]SOc2c(C)c1COC(=O)c1c(O)c2CC=C(C)CCC(=O)O</chem>

Fonte: Própria autora (2024).

APÊNDICE B – Tabela com o resultado do estudo de pressão seletiva das proteínas do SARS-CoV-2.

(continua)

Subconjuntos	Sites selecionados positivamente (ω para sites>1)	Sites selecionados negativamente (ω para sites>1)
NSP1	\	65 (E); 83 (H)
NSP2	198 (V; I), 248 (S; G), 347 (K; C), 348 (S; V), 559 (I; V)	287 (F); 488 (A); 565 (E)
NSP3	1454 (N; Y; D); 1507 (A; E), 1527 (A; V; E)	106(F); 152 (Q), 353 (T), 380 (Q), 432 (T), 561 (L), 995 (Q), 1047 (D), 1138 (K), 1303 (T), 1455 (S), 1456 (T), 1502 (A), 1544 (S), 1719 (P)
NSP4	33 (M; I)	15 (L), 71 (F), 212 (V), 235 (V)
Protease do tipo 3C	\	239 (Y)
NSP6	37 (L; F)	222 (T), 289 (V)
NSP7	\	\
NSP8	\	\
NSP9	\	\
NSP10	\	128 (C)
NSP11	\	\
NSP12	25 (G; Y); 323 (P; L); 644 (T; M)	24 (T), 28 (T), 85 (T), 105 (R), 142 (L), 455 (Y), 591 (T), 643 (T), 896 (T)
Helicase	504 (P; L); 598 (A; S; V)	337 (R); 521 (V); 547 (T), 553 (A)
Exoribonuclease 3'-5'	\	7 (L); 490 (€)
Endornase	\	73 (N), 127 (V), 216 (L)
2-O-Ribose Metiltransferase	\	4 (A); 36 (L), 138 (N), 163 (L)
Metiltransferase		
Espícula		
Glicoproteína de Superfície	943 (S; P)	348 (A); 669 (G); 681 (P); 795 (K); 853 (Q); 890 (A); 921 (K); 982 (S), 1044 (G), 1100 (T), 1166 (L)

(conclusão)

Subconjuntos	Sites selecionados positivamente (ω para sites>1)	Sites selecionados negativamente (ω para sites>1)
ORF3a	99 (A; S; V)	\
Envelope	\	63 (K)
Membrana	\	69 (A)
ORF6	\	61 (D)
ORF7a	\	69 (D); 70 (G); 92 (E)
ORF8	62 (V; L)	\
Nucleocapsídeo	13 (P; L; S); 103 (D; Y)	173 (A); 274 (F)
ORF10	\	15 (S); 19 (C)

Fonte: Presti; Rezza; Stefanelli (2020).

Legenda: $\omega > 1$ representa os sítios estatisticamente significativos para um valor positivo de substituição não sinônima para sinônima; $\omega < 1$ é a seleção purificador; e já a neutralidade é inferida se $\omega = 1$. Os sites (negativos e positivos) mostram as sequências que estão sofrendo pressão seletiva ou não, o número é a posição do aminoácido e a letra é o número de acesso de referência e resíduo identificado, exemplo: 61(D).

As sequências isoladas das proteínas usadas na análise, tem o seguinte número de acesso: YP_009725297.1 (nsp1); YP_009725298.1 (nsp2); YP_009725299.1 (nsp3); YP_009725300.1 (nsp4); YP_009725301.1 (Protease do tipo 3C); YP_009725302.1 (nsp6); YP_009725303.1 (nsp7); YP_009725304.1 (nsp8); YP_009725305.1 (nsp9); YP_009725306.1 (nsp10); YP_009725312.1 (nsp11); YP_009725307.1 (nsp12); YP_009725308.1 (helicase); YP_009725309.1 (Exoribonuclease 3'-5'); YP_009725310.1 (endoRNase); YP_009725311.1 (2-O-Ribose Metiltransferase); YP_009724390.1 (Glicoproteína de Superfície); YP_009724391.1 (ORF3a); YP_009724392.1 (Envelope); YP_009724393.1 (Membrana); YP_009724394.1 (ORF6); YP_009724395.1 (ORF7a); YP_009724396.1 (ORF8); YP_009724397.2 (Nucleocapsídeo) and YP_009725255.1 (ORF10).

APÊNDICE C – Quadro comparativa dos resultados de bioisosterismo com o ácido micofenólico.

(continua)

	MPA	1a	1b	1c	1d	1e	1f	1g	1h	2a	2b	2c	2d	2e	2f	2g	2h
Interação receptor-ligante																	
Energia de ligação (kcal/mol)	-7.19	-5.7	-5.3	-6.3	-5.6	-5.2	-5	-5.7	-4.5	-5.1	-6.4	-4.8	-5.2	-5.2	-4.9	-5.4	-4.6
Físico-química																	
Fórmula molecular	C ₁₇ H ₂ O ₆	C ₁₇ H ₂ O ₄	C ₁₇ H ₂₁ FO ₄	C ₁₇ H ₂₃ NO ₄	C ₁₈ H ₂ O ₄	C ₁₇ H ₂₁ ClO ₄	C ₁₇ H ₂₁ IO ₄	C ₁₇ H ₂₁ BrO ₄	C ₁₇ H ₂₂ O ₄ S	C ₁₆ H ₁ O ₆	C ₁₆ H ₁₇ FO ₆	C ₁₆ H ₁ O ₇	C ₁₆ H ₁₉ NO ₆	C ₁₆ H ₁₇ ClO ₆	C ₁₆ H ₁₇ IO ₆	C ₁₆ H ₁₇ BrO ₆	C ₁₆ H ₁₈ O ₆ S
MM (g/mol)	320.3 4	290.3 5	308.34	305.37	304.3 8	324.80	416.2 5	369.25	322.42	306.3 1	324.30	322.3 1	321.33	340.76	432.2 1	385.21	338.38
Número de átomos	23	21	22	22	22	22	22	22	22	22	23	23	23	23	23	23	23
nOH	5	3	3	4	3	3	3	3	4	5	5	6	6	5	5	5	6
nOHNH	2	3	1	2	1	1	1	1	2	3	2	3	3	2	2	2	3
Log P	2.73	3.39	3.53	2.97	3.69	4.04	3.99	4.14	3.38	2.43	2.99	2.58	1.98	3.25	3.45	3.41	2.95
Log S (log.mol/L)	-3.64	-3.22	-3.38	-2.87	-3.53	-3.82	-4.4	-4.13	-3.5	-3.42	-4	-3.34	-1.74	-4.26	-4.86	-4.64	-4.05
LR	6	6	6	6	6	6	6	6	6	5	6	6	6	6	6	6	6
Viol.	RO5	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não
	Veber	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não
TPSA (Å)	93.06	55.76	55.76	81.78	55.76	55.76	55.76	55.76	94.56	104.0 6	93.06	113.2 9	119.08	93.06	93.06	93.06	131.86

(continuação)

Físico-química																		
Fsp³	0.41	0.47	0.47	0.47	0.5	0.47	0.47	0.47	0.47	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	38	
Drug-likeness score	0.69	0.2	0.27	0.44	0.25	0.42	0.29	0.31	0.36	0.65	0.68	0.78	0.8	0.71	0.79	0.64	0.72	
Drug score	0.62	0.49	0.47	0.5	0.48	0.47	0.45	0.43	0.46	0.61	0.61	0.14	0.38	0.18	0.57	0.63	0.6	
Refratividade molar (m³/mol)	84.35	81.91	81.87	86.31	86.87	86.92	94.83	89.61	89.16	79.88	79.6	81.12	82.25	84.34	92.51	87.42	87.48	
pKa para maioria de básicos/ácidos grupos	0/4,8 4	0/4,8 5	0/4,86	5.47/4. 84	0/4.8 4	0/4.84	- 3.04/3 .75	0/4.84	0/4.4	0/4.8 4	0/4.84	0/4.8 4	3.01/4. 84	0/4.84	0/4.84	0/ 4.84	0/0.84	
Absorção																		
%ABS	77.36	90.04	90.04	81.19	90.04	90.04	90.04	90.04	90.04	76.85	73.62	77.36	70.48	68.51	77.36	77.36	77.36	64.17
Caco-2 (log Papp em 10⁻⁶ cm/s)	1.13	1.3	1.4	1.09	1.33	1.38	1.41	1.38	1.33	0.19	0.52	-0.03	-0.03	0.52	0.54	0.53	0.096	
HIA (%)	58.93	97.4	96.53	94.89	97.35	94.41	96.36	94.35	93.75	53.27	57.66	57.49	54.49	57.51	56.42	57.42	57.97	
P-gp	Não	não	não	sim	não	não	não	não	não	não	não	não	não	sim	não	não	não	não
HOB (cm/s)	0,56	0.85	0.85	0.56	-5.91	0.85	-6.39	0.85	-6.17	-6.13	-5.62	-6.34	-8.14	0.56	-6.07	0.56	-5.75	
Distribuição																		
BBB (log BB)	-0.61	-0.09	-0.29	-0.36	-0.09	0	-0.21	-0.001	-0.12	-0.97	-0.72	-1.2	-1.01	-0.74	-0.76	-0.75	-1.11	
PPB (%)	96.21	94.3	95.27	86.68	96.07	97.93	94.69	98.2	96.78	97.52	97.75	97.31	97.59	98.57	97.89	98.65	99.85	

(conclusão)

Metabolismo																		
Inib. CYP450	1A2	Sim	sim	sim	não	não	sim	sim	sim	não	sim	sim	sim	não	sim	sim	sim	sim
	2C19	Não	sim	sim	não	sim	sim	sim	sim	sim	não	não	não	não	sim	sim	sim	não
	2C9	Não	sim	não	não	sim	sim	sim	não									
	2D6	Não	não															
	3A4	Não	sim	sim	sim													
Eliminação																		
CI (mL/min/Kg)	5.918	6.29	4.39	5.58	4.57	4.92	4.11	2.19	5.32	7.85	6.66	6.86	8.99	4.93	4.23	3.88	6.98	
t _{1/2} (h)	0.901	0.89	0.87	0.85	0.87	0.85	0.89	0.87	0.89	0.94	0.88	0.91	0.88	0.9	0.89	0.89	0.89	
Toxicidade																		
AMES	Não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	sim	não	sim	sim	não	não	não	sim
Carcinogênese	Não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não
hERG I	Não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não
hERG II	Não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não
LD ₅₀ (mg/kg)	352	1000	5000	1000	1000	3700	5000	5000	5000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	

Fonte: Própria autora (2024).

Legenda: MM: Massa molecular; nOH: Aceptores de hidrogênio; nOHNH: Doadores de hidrogênio; Log P: Logaritmo do coeficiente de distribuição n-octanol/água; Log S: Logaritmo da concentração molar; LR: Ligação rotacional; Viol. RO5: Violação da Regra dos 5 de Lipinski; Viol. Veber: Violação da regra de Veber; TPSA: Topological polar surface área; Fsp³: Fração de carbonos sp³; pK_a: Logaritmo negativo da constante de dissociação ácida (Ka); log P: Logaritmo do coeficiente de distribuição n-octanol/água; log S: Logaritmo da solubilidade em mol/L; Caco-2:

Permeabilidade intestinal humana; HIA: Absorção intestinal humana; HOB: Biodisponibilidade oral humana; P-gp: Glicoproteína de permeabilidade; BBB: Penetração da barreira hematoencefálica; PPB: Ligação à proteína plasmática; Inib. CYP450: Inibição do citocromo P450; Metabólitos: Previsão de metabólitos; HLMS: Estabilidade microsomal do fígado humano; Sítios: Pontos suscetíveis a iniciar a transformação metabólica; Cl: Depuração; $t_{1/2}$: Tempo de meia-vida; LD₅₀: Toxicidade aguda oral; Carcinogenicidade: Capacidade de induzir câncer; hERG: Toxicidade cardíaca; AMES: Mutagenicidade; %ABS: Porcentagem de absorção oral teórico.