

PREVISÃO *IN SILICO* DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, FARMACOCINÉTICAS E TOXICOLÓGICAS DE CANDIDATOS A FÁRMACOS CONTRA DENGUE.

Jane Stefani da Mata Rodrigues¹
Eduardo Damasceno Costa²

Resumo: A dengue é uma doença emergente com grande impacto na saúde pública, com milhões de infecções virais ocorrendo anualmente, para a qual ainda não existe uma terapia eficaz. O presente estudo tem como objetivo realizar a predição das propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e toxicológicas de candidatos a medicamentos contra dengue. 17 candidatos a fármacos anti-dengue foram desenvolvidos na plataforma PubChem Sketcher V.2.4[®]. Os parâmetros físico-químicos foram quantificados na plataforma Molinspiration[®]. Posteriormente, os parâmetros farmacocinéticos foram medidos usando a ferramenta SwissADME[®]. Finalmente, a plataforma OSIRIS Property Explorer[®] foi usada para determinar o efeito toxicológico dos candidatos anti-dengue. Os compostos 8 e 14 não violaram nenhuma das regras instituídas por Lipinski. Todos os outros compostos mostraram mais de uma violação, com os compostos 5, 7 e 9-11 apresentando até 3 violações. Quanto à avaliação farmacocinética, dos compostos aqui desenhados apenas os compostos 13 e 14 apresentaram elevada absorção gastrointestinal. Os compostos 2, 15 e 17 têm pelo menos uma pontuação de alto risco para um dos fatores de toxicidade para mutagênese, tumorigênese, efeitos irritantes e reprodutivos. Os compostos 1-4 têm pelo menos uma pontuação de risco intermediária para um dos fatores de toxicidade. Todos os outros compostos têm pontuação de baixo risco para um os fatores de toxicidade. A previsão *in silico* realizada nesse estudo indicou que os compostos 13 e 14 são as mais promissoras para serem possíveis candidatas anti-dengues e úteis para futuras triagens em testes realizados em células e animais.

PALAVRAS-CHAVE: Dengue, Denv, *in silico*, ferramentas computacionais, modelagem molecular

Abstract: Dengue is an emerging disease with a major impact on public health, with millions of viral infections occurring annually, for which there is still no effective therapy. The present study aims to predict the physicochemical, pharmacokinetic and toxicological properties of candidates for drugs against dengue. 17 candidates for anti-dengue drugs were developed on the PubChem Sketcher V. 2.4[®] platform. The physical-chemical parameters were quantified on the Molinspiration[®] platform. Subsequently, the pharmacokinetic parameters were measured using the SwissADME[®] tool. Finally, the OSIRIS Property Explorer[®] platform was used to determine the toxicological effect of anti-dengue candidates. Compounds 8 and 14 did not violate any of the rules instituted by Lipinski. All other compounds showed more than one violation, with compounds 5, 7 and 9-11 showing up to 3 violations. As for the pharmacokinetic evaluation, of the compounds designed here only compounds 13 and 14 showed high gastrointestinal absorption. Compounds 2, 15 and 17 have at least a high-risk score for one of the toxicity factors for mutagenesis, tumorigenesis, irritating and reproductive effects. Compounds 1-4 have at least an intermediate risk score for one of the toxicity factors. All other compounds have low risk scores for one of the toxicity factors. The *in silico* prediction made in that study indicated that compounds 13 and 14 are the most promising for being possible anti-dengue candidates and useful for future screening in tests performed on cells and animals.

KEYWORDS: Dengue, Denv, *in silico*, computational tools, molecular modelin

E-mail: jstefane41@gmail.com

¹Graduada em Farmácia pela Faculdade Ciências da Vida.

²Doutor em Fisiologia e Farmacologia; Professor Orientador do TCC da Faculdade Ciências da Vida.

PREVISÃO *IN SILICO* DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, FARMACOCINÉTICAS E TOXICOLÓGICAS DE CANDIDATOS A FÁRMACOS CONTRA DENGUE.

Jane Stefani da Mata Rodrigues¹
Eduardo Damasceno Costa²

1-INTRODUÇÃO

A dengue é uma arbovirose transmitida através da picada da fêmea do mosquito *Aedes aegypti*. Trata-se de uma doença febril aguda, dinâmica e sistêmica, de notificação compulsória bastante prevalente em todo o mundo (SANTOS, 2019; FUENTES, 2017). Os dados epidemiológicos mais recentes indicam que aproximadamente 100 milhões de infecções por esse arbovírus tem ocorrido anualmente em todo o mundo. Além disso, estima-se que aproximadamente 3,9 bilhões de pessoas distribuídas em 128 países vivem com o risco de se infectar por essa doença (FILHA, 2019).

A forma clássica e a hemorrágica da dengue são causadas por vírus do gênero *Flavivirus*. O vírus da dengue possui genomas compostos de RNA de cadeia simples com pouca capacidade de codificação, distintos por 4 sorotipos virais (DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4) (WAMAN, 2016). Um quinto sorotipo, o DENV-5 foi descoberto em 2013, em amostras de macacos da região da Malásia, mas que também pode circular entre seres humanos (POWERS, 2016).

Em 2015 foi desenvolvida pelo laboratório farmacêutico Sanofi Pasteur a primeira vacina tetravalente contra o vírus da dengue, a Dengvaxia[®]. Apesar da sua relativa eficiência terapêutica, dados mostram que essa vacina poderia levar a um maior risco de hospitalização em indivíduos não infectados e também causar casos mais graves da doença em indivíduos soronegativos. A Dengvaxia[®] está atualmente restrita para uso em situação de endemias (GUY et al., 2017). Além da vacina, potenciais medicamentos anti-dengue também vêm sendo avaliados em ensaios clínicos. As principais moléculas que já foram ensaiadas são a cloroquina, a celgosivir, a balapiravir, a prednisona, a lovastatina, a ivermectina e a ribavirina. No entanto, nenhuma dessas moléculas foram aprovadas para tratamento contra a dengue (BEESETTI et al., 2016). Diante desse cenário, pesquisas realizadas pelas grandes indústrias

E-mail: jstefane41@gmail.com

¹Graduada em Farmácia pela Faculdade Ciências da Vida.

²Doutor em Fisiologia e Farmacologia; Professor Orientador do TCC da Faculdade Ciências da Vida.

farmacêuticas que envolvam a identificação de novos candidatos a fármacos para o tratamento da dengue permanecem ainda como um grande desafio.

Nos últimos tempos intensificaram propostas que consideram importante a redução no uso de animais para processo de experimentação laboratorial que esteja relacionado a descoberta de novas entidades químicas com valor terapêutico. Uma das principais abordagens desenvolvidas em substituição ao uso de animais são os estudos que utilizam ferramentas computacionais ou softwares de pesquisa, os chamados modelos *in silico* (AMORIM, 2017).

Os modelos *in silico* (executado em computador) são métodos computacionais que fazem uso de algoritmos matemáticos complexos e que visam a otimização de moléculas com maior potencial de desenvolvimento. Os modernos sistemas computacionais têm permitido a avaliação de propriedades físico-químicas importantes para a ação de fármacos (peso da molécula, lipofilicidade, aceptores e doadores de hidrogênio) e de características farmacocinéticas: absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade (ADME-Tox). Cabe ressaltar que os modelos computacionais são ferramentas extremamente úteis para o processo de descoberta de novos fármacos, mas ainda assim é fundamental a integração destes modelos com estudos *in vitro* (em células), *in vivo* (modelos animais) e com os ensaios clínicos (humanos) no intuito de maximizar as chances de sucesso no desenvolvimento de um novo medicamento (VAVOUGIOS et al., 2017). Os programas que avaliam parâmetros farmacocinéticos *in silico* vem ganhando bastante ênfase durante a descoberta e o desenvolvimento de novos fármacos. Os softwares de modelagem molecular se baseiam em métodos matemáticos complexos e robustos que permitem avaliar a cinética e a predição de alguns efeitos adversos de um candidato a fármaco (AMORIM, 2017). É bastante comum que durante o processo de desenvolvimento e descoberta de fármacos pela indústria farmacêutica diversas moléculas potencialmente ativas possam ser descartadas devido a problemas relacionados a características farmacocinéticas e a problemas de toxicidade (FERREIRA e ANDRICOPULO, 2018). Diante disto, a utilização dos métodos *in silico*, tornou-se uma ferramenta fundamental permitindo a redução de custos e de tempo em relação aos modelos animais, além da capacidade de processamento de grande quantidade de dados a respeito de uma quantidade muito grande de moléculas potencialmente ativas (SRINIVAS et al., 2014; TOROPOVA, 2017).

E-mail: jstefane41@gmail.com

¹Graduada em Farmácia pela Faculdade Ciências da Vida.

²Doutor em Fisiologia e Farmacologia; Professor Orientador do TCC da Faculdade Ciências da Vida.

No panorama acima destacado, essa pesquisa tem como questão norteadora: Como prever as principais características farmacocinéticas e toxicológicas de candidatos a fármacos propostos para serem utilizados contra o vírus da dengue por meio de ferramentas computacionais? Foram levantadas as seguintes hipóteses: (1) As propriedades físico-químicas das moléculas selecionadas poderão ser caracterizadas usando métodos *in silico*. (2) O perfil de absorção, distribuição, metabolismo e excreção poderão ser obtidos por meio de valores numéricos usando softwares de predição biológica, (3) a quantificação do potencial tóxico de cada candidato a fármaco poderá ser determinada oferecendo informações consistentes que possam prever o comportamento do candidato a fármaco, quanto a capacidade do agente causar mutagênese, carcinogênese e outras potenciais reações adversas.

Essa pesquisa tem como objetivo geral realizar a previsão de propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e toxicológicas de dezessete candidatos a fármacos contra o vírus da dengue utilizando ferramentas *in silico*. Os objetivos específicos desse trabalho foram: (1) desenhar de maneira racional moléculas com potencial ação contra o vírus da dengue; (2) quantificar as principais propriedades físico-químicas desses análogos; (3) medir o perfil farmacocinético (ADME-Tox) dos compostos propostos contra o vírus da dengue.

Esse trabalho torna-se justificável quando verificamos que a dengue é uma arbovirose que afeta milhões de indivíduos no mundo, causando manifestações graves, óbitos e custos significativos ao sistema de saúde. Verificamos ainda que apesar de recentemente aprovada uma vacina para o tratamento da dengue, ainda não existe uma terapêutica eficaz e segura para esse vírus até a presente data. Adicionalmente, os métodos computacionais de predição química e biológica tem se mostrado ferramentas valiosas na compreensão de características farmacodinâmicas e farmacocinéticas de possíveis candidatos a fármacos e tem contribuído de maneira decisiva no processo de triagem das grandes indústrias farmacêuticas.

E-mail: jstefane41@gmail.com

¹Graduanda em Farmácia pela Faculdade Ciências da Vida.

²Doutor em Fisiologia e Farmacologia; Professor Orientador do TCC da Faculdade Ciências da Vida.

2-REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Epidemiologia e estrutura do vírus da dengue

Avalia-se que atualmente cerca de 2,5 bilhões de pessoas em todo o mundo estão sobre o risco de infecção pela dengue, ou seja, em torno de 40% da população mundial. Adicionalmente, aproximadamente 50 a 100 milhões de pessoas são infectadas a cada ano e, dentre esses casos, 250 a 500 mil pessoas desenvolvem a forma mais grave da doença (GOULART, 2017). No Brasil os dados mais recentes de notificação da dengue indicam que em 2020 já foram notificados 484.249 casos prováveis de dengue no país. Ressalta-se que até esse momento já foram confirmados 148 óbitos, 454 casos graves e 3.962 sinais de alarme (BRASIL, 2020).

O alto número de casos se dá principalmente motivado pela grande urbanização sem planejamento prévio, a falta de controle efetivo do mosquito transmissor e, por fim ao aumento da mobilidade humana, principalmente em viagens aéreas, o que possibilita o ambiente ideal para o transporte do vetor da dengue e de outros patógenos urbanos (TERRA, 2020).

O vírus da dengue tem um formato de icosaedro com aproximadamente 50 nanômetros. É composto por uma membrana lipídica (obtida de células hospedeiras), na qual as proteínas da membrana e do envelope são inseridas. O interior do vírus contém o complexo de riboproteínas que é formado por proteínas do capsídeo e pelo genoma viral. O genoma é constituído por uma cadeia de RNA de sentido positivo que codifica um único polipeptídeo, que irão originar proteínas estruturais que farão parte da partícula viral (MURPHY, 2019). A região codificante do genoma é clivada em 3 proteínas estruturais, que são (capsídeo, membrana e envelope) e também em sete proteínas não estruturais (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5), todas elas importantes para que aconteça a replicação viral e o processamento do polipeptídeo (LOPES, 2014).

2.2 Tratamentos e alvos moleculares para dengue

A vacina Dengvaxia[®], do laboratório francês Sanofi Pasteur foi aprovada em 2015 e, contém os 4 sorotipos vírus da dengue atenuados. Estudos indicaram que ela estimula o sistema imunológico a produzir anticorpos contra os vírus que causam a dengue. A análise

E-mail: jstefane41@gmail.com

¹Graduada em Farmácia pela Faculdade Ciências da Vida.

²Doutor em Fisiologia e Farmacologia; Professor Orientador do TCC da Faculdade Ciências da Vida.

também confirmou o seu valor protetor de longo prazo em indivíduos com uma infecção prévia pelo vírus. A eficácia da vacina contra dengue gira em torno de 60%, ela apresenta um alto custo e a necessidade de ser administrada em 3 doses de 6 em 6 meses. Estudos indicaram ainda que a administração da vacina dobra as chances de se desenvolver o DENV em pacientes que nunca tiveram a doença anteriormente (THOMAS e YOON, 2019). A recomendação dada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária é que a Dengvaxia[®] seja utilizada em pacientes que já entraram em contato com a doença e principalmente em áreas endêmicas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017).

Até a presente data, não existe um medicamento efetivo usado para tratar especificamente o vírus da dengue, apenas terapêutica utilizada para tratar os sintomas (LIM, 2019). Atualmente, diversas estratégias têm sido utilizadas para o desenvolvimento de novos fármacos contra a dengue. Os principais alvos moleculares explorados são: as glicoproteínas do envelope do vírus, as proteases e também proteínas da maquinaria do hospedeiro mais especificamente receptores de superfície ou enzimas da via glicolítica. Recentemente houve um grande avanço na obtenção das estruturas cristalográficas das proteínas estruturais (E, M e C) e não estruturais (NS1, NS2, NS3, NS4 e NS5) isso estimulou o desenho de novas moléculas que atuassem diretamente no vírus da dengue (DIGHE et al., 2019).

A glicoproteína não estrutural NS1 desempenha um papel importante na replicação do RNA viral, se encontra retida no interior da célula, mas também pode ser encontrada na superfície celular (VELANDIA, 2011). A glicoproteína NS2 é uma pequena proteína envolvida na replicação e no empacotamento viral, ela age como cofator para atividade catalítica da serina-protease viral (LIM, 2017). A NS3 é uma proteína com multifunções, necessária para processar a poliproteína e replicar o RNA viral. A clivagem transducional da poliproteína é realizada na porção citoplasmática do retículo endoplasmático e por proteases citoplasmáticas no lúmen do retículo endoplasmático dando origem à proteína madura. Um terço da porção terminal da proteína contém a protease viral (NS3pro), que necessita de uma porção da NS2B para desempenhar sua atividade catalítica, enquanto o restante da proteína (NS3hel) apresenta função de helicase, ambas essenciais para a replicação viral e para a reação de capping da extremidade 5' do RNA viral. NS4 é uma pequena proteína hidrofóbica, assim como a NS2, localizada nos sítios de replicação de RNA interagindo com a NS1 nesse processo (DIGHE et al., 2019). A mesma se liga também a NS3 permitindo a dissociação do

E-mail: jstefane41@gmail.com

¹Graduanda em Farmácia pela Faculdade Ciências da Vida.

²Doutor em Fisiologia e Farmacologia; Professor Orientador do TCC da Faculdade Ciências da Vida.

RNA fita simples, aumentando a atividade de helicase da NS3 (LINDENBACH et al, 2013). Por fim, a glicoproteína NS5 dentre os flavivírus é a mais conservada, possui atividade metiltransferase e RNA dependente de RNA polimerase, isso faz dela muito importante para a replicação e para a formação do “cap” no 5’ do RNA viral (AMORIM, 2017).

2.3 Métodos *in silico* e relação com a descoberta de fármacos

Um dos maiores desafios para indústria farmacêutica é a descoberta e desenvolvimento de novas entidades químicas com valor terapêutico significativo. Geralmente esse processo leva cerca de 10 anos e investimentos que giram em torno de US \$ 2,6 bilhões para o completo desenvolvimento de um novo medicamento (ZHANG, 2018).

O uso de animais tem sido um dos pilares científicos para a descoberta de novas moléculas potencialmente eficientes e seguras para o tratamento de diferentes doenças. Apesar disso, a pesquisa com modelos animais provoca ainda hoje muitas divergências de ordem prática e ética (KNOP & MARIA, 2016). Tem sido apontado que o uso de animais para experimentação científica demanda um grande período de tempo, pessoal especializado para manutenção de biotérios o que gera um alto custo. Por se tratar de um processo caro e demorado, muitos dos processos de triagem do desenvolvimento de fármacos que envolvem o uso de animais têm sido adaptados para buscar que etapas possam ser simplificadas e testadas mais rapidamente. Uma das alternativas para otimização desse processo é o uso de métodos *in silico* (realizados em computador) que realizam a previsão de propriedades e características dos fármacos.

A previsão das características ADME-Tox desempenha um papel importante no processo de design dos fármacos, porque essas propriedades respondem pela falha de cerca de 60% de todas as entidades químicas terapeuticamente ativas. As ferramentas de previsão de ADME-Tox tradicionalmente eram aplicadas apenas no fim do processo de desenho de fármacos. Atualmente, elas têm sido aplicadas em fases iniciais do processo, a fim de remover moléculas com propriedades ADME-Tox ruins e otimizar o processo de desenvolvimento de fármacos (TISSA,2017).

E-mail: jstefane41@gmail.com

¹Graduada em Farmácia pela Faculdade Ciências da Vida.

²Doutor em Fisiologia e Farmacologia; Professor Orientador do TCC da Faculdade Ciências da Vida.

Os estudos *in silico* que fazem uso de análises ADME-Tox vem adquirindo grande destaque na pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos. Por meio de métodos matemáticos e algoritmos computacionais essas ferramentas nos permitem realizar a predição do perfil farmacocinético e tóxico de determinadas moléculas e avaliar características físico-químicas (AMORIM, 2017).

3-METODOLOGIA

Foi realizada uma pesquisa experimental, qualitativa e quantitativa, visando o delineamento de fármacos através da análise *in silico*.

Inicialmente nós realizamos o desenho racional dos 17 candidatos a fármacos contra a dengue na plataforma PubChem Sketcher V. 2.4[®] (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/edit3/index.html>). Avaliamos os parâmetros físico-químicos e os quantificamos através da ferramenta Molinspiration[®] (<http://www.molinspiration.com>). Posteriormente, os parâmetros de absorção, distribuição, metabolismo e excreção foram medidos usando a ferramenta SwissADME[®] (<http://www.swissadme.ch>). E por último, a plataforma OSIRIS Property Explorer[®] (<http://www.organicchemistry.org/prog/peo>) foi utilizada para determinar o efeito toxicológico dos candidatos a fármacos. Ressaltamos que todas as 3 plataformas aqui elencadas são devidamente validadas e amplamente utilizadas em outros estudos científicos (GURUNG et al., 2018; THANGARASU et al, 2018).

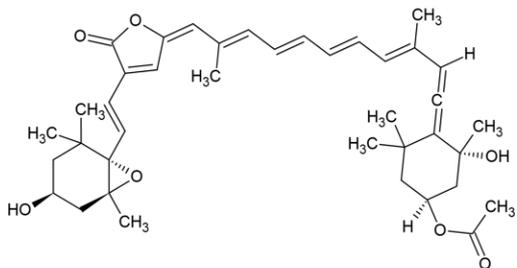
4- RESULTADOS

A **FIGURA 1** apresenta o desenho de 17 estruturas químicas construídas na plataforma online PubChem Sketcher[®]. Todas essas moléculas foram desenhadas como possíveis candidatos à fármacos usados contra o vírus da dengue. As modificações nos análogos foram propostas racionalmente baseadas em dados de relação estrutura atividade (REA) disponíveis em (DIGHE et al., 2019).

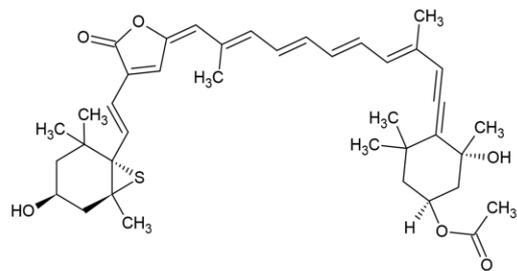
E-mail: jstefane41@gmail.com

¹Graduanda em Farmácia pela Faculdade Ciências da Vida.

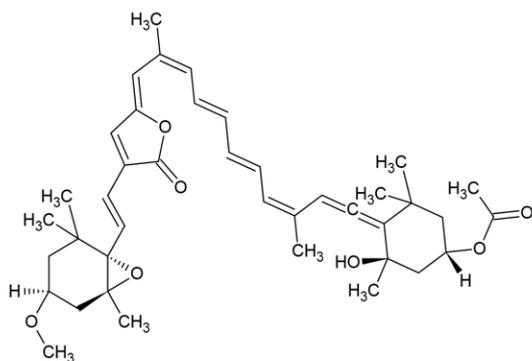
²Doutor em Fisiologia e Farmacologia; Professor Orientador do TCC da Faculdade Ciências da Vida.



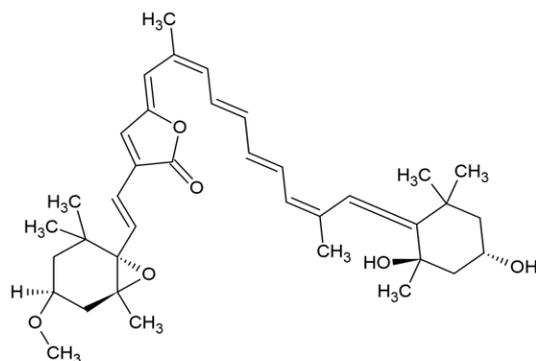
Peridinina



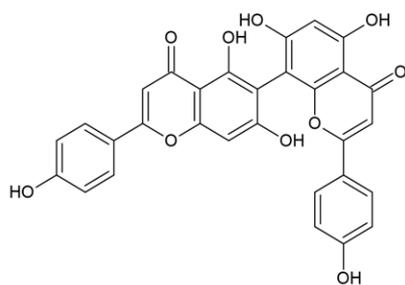
Composto 2



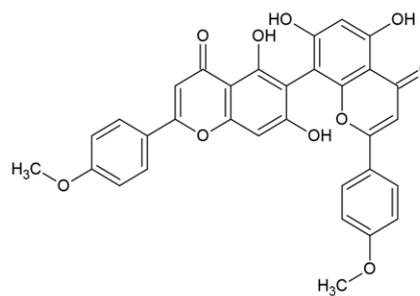
Composto 3



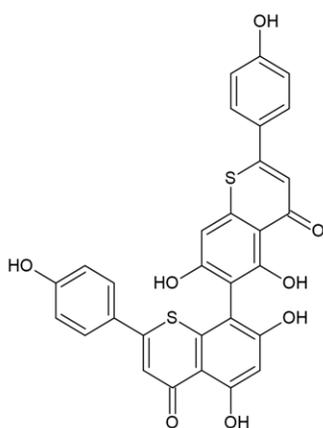
Composto 4



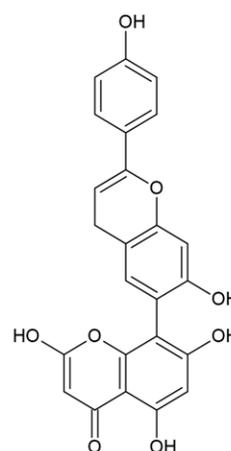
Agatisflavona



Composto 6



Composto 7

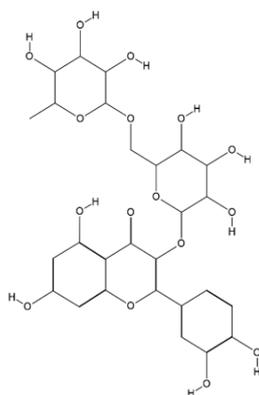


Composto 8

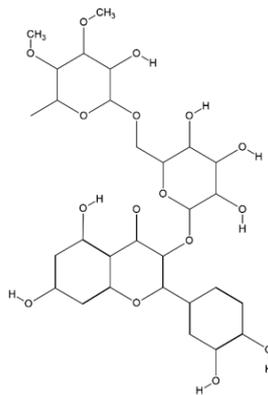
E-mail: jstefane41@gmail.com

¹Graduanda em Farmácia pela Faculdade Ciências da Vida.

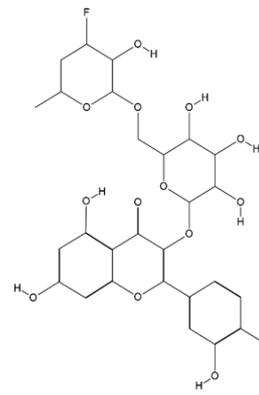
²Doutor em Fisiologia e Farmacologia; Professor Orientador do TCC da Faculdade Ciências da Vida.



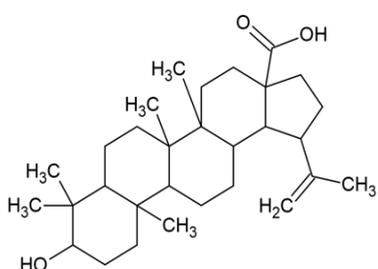
Rutina



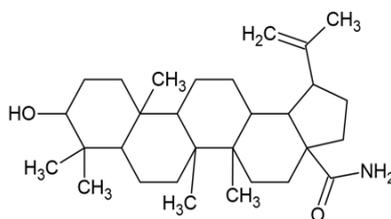
Composto 10



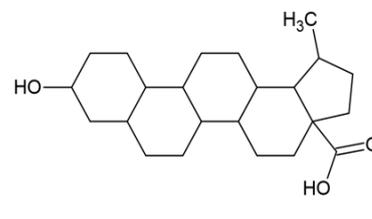
Composto 11



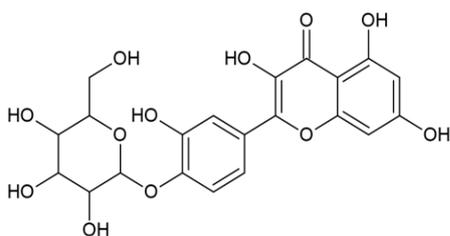
Ácido betulínico



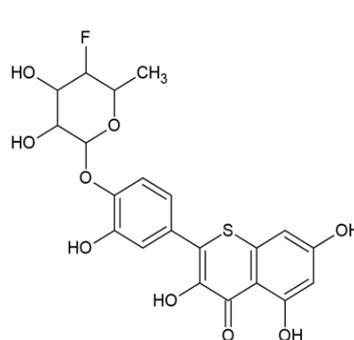
Composto 13



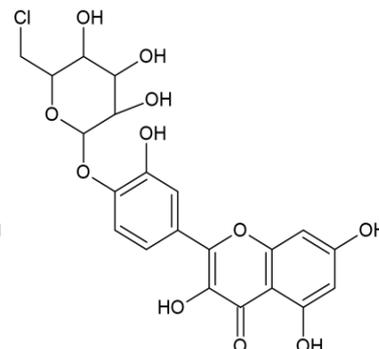
Composto 14



Composto 15



Composto 16



Composto 17

Fonte: A autora (2020).

FIGURA 1: Desenho racional de 17 estruturas químicas com possível ação anti-dengue.

O **QUADRO 1** mostra dados físico-químicos das 17 estruturas químicas com ação anti-dengue. No quadro estão dispostas informações a respeito do volume molecular,

E-mail: jstefane41@gmail.com

¹Graduanda em Farmácia pela Faculdade Ciências da Vida.

²Doutor em Fisiologia e Farmacologia; Professor Orientador do TCC da Faculdade Ciências da Vida.

coeficiente de partição octanol/água (LogP), área de superfície polar (PSA), massa molecular, número de átomos doadores de ligação de hidrogênio (nON), número de ligações rotativas (nrotb), número de átomos aceptores de ligação de hidrogênio (nOHNH), além do possível número de violações a regra de Lipinski. Os valores aqui obtidos foram obtidos usando a plataforma Molinspiration[®].

QUADRO 1: Propriedades físico-químicas de 17 estruturas químicas anti-dengue.

Composto	Volume	LogP	Área de superfície polar (PSA) (Å ²)	Massa molecular (g/mol)	nON	nrotb	nOHNH	Violações a regra de Lipinski
1	613.06	7.24	109.50	630.82	7	9	2	2
2	622.20	7.78	96.97	646.89	6	9	2	2
3	630.59	7.86	98.51	644.85	7	10	1	2
4	594.08	7.15	92.43	602.81	6	8	2	2
5	435.46	5.16	181.79	538.46	10	3	6	3
6	470.52	6.23	159.80	566.52	10	5	4	2
7	453.75	6.44	155.51	570.60	8	3	6	3
8	353.85	4.01	140.59	432.38	8	2	5	0
9	496.07	-1.06	269.43	610.52	16	6	10	3
10	531.12	-0.27	247.44	638.58	16	8	8	3
11	484.94	0.35	228.97	596.51	14	6	8	3
12	472.04	7.04	57.53	456.71	3	2	2	1
13	475.31	6.53	63.32	455.73	3	2	3	1
14	362.78	4.61	57.53	360.54	3	1	2	0
15	372.21	-0.33	210.50	464.38	12	4	8	2
16	370.00	1.81	156.91	466.44	9	3	6	1
17	377.72	0.91	190.28	482.82	11	4	7	2

Fonte: A autora (2020).

O QUADRO 2 indica os resultados relacionados ao perfil farmacocinético dos 17 análogos anti-dengue. Os dados farmacocinéticos foram obtidos na plataforma SwissADME[®] e foram elencadas informações sobre a absorção gastrointestinal (AGi), a penetração na barreira hematoencefálica (BHE) e dados sobre a inibição das enzimas do citocromo P450

E-mail: jstefane41@gmail.com

¹Graduada em Farmácia pela Faculdade Ciências da Vida.

²Doutor em Fisiologia e Farmacologia; Professor Orientador do TCC da Faculdade Ciências da Vida.

(CYP3A4 e CYP2D6). Adicionalmente, foi verificada a acessibilidade sintética (AS) de cada uma das estruturas químicas.

QUADRO 2: Dados das principais propriedades farmacocinéticas de 17 análogos anti-dengue.

Compostos	AGi	BHE	Inibe CYP3A4	Inibe CYP2D6	AS
1	Baixa	Não	Não	Não	7.51
2	Baixa	Não	Não	Não	7.56
3	Baixa	Não	Não	Não	7.61
4	Baixa	Não	Não	Não	7.46
5	Baixa	Não	Não	Não	4.17
6	Baixa	Não	Não	Não	4.33
7	Baixa	Não	Não	Não	3.92
8	Baixa	Não	Não	Não	3.93
9	Baixa	Não	Não	Não	6.52
10	Baixa	Não	Não	Não	6.75
11	Baixa	Não	Não	Não	6.38
12	Baixa	Não	Não	Não	5.63
13	Alta	Não	Não	Não	5.41
14	Alta	Sim	Não	Não	4.53
15	Baixa	Não	Não	Não	5.23
16	Baixa	Não	Sim	Não	5.05
17	Baixa	Não	Sim	Não	5.27

Fonte: A autora (2020).

O QUADRO 3 apresenta os resultados toxicológicos para os 17 análogos anti-dengue alcançados usando a plataforma OSIRIS Property Explorer[®]. As informações adquiridas nesse sistema online envolvem a chance potencial das estruturas químicas aqui propostas em causar mutagênese, tumorigênese, efeitos irritantes e efeitos no sistema reprodutor.

QUADRO 3: Dados toxicológicos de 17 análogos anti-dengue.

Composto	Mutagênese	Tumorigênese	Efeitos irritante	Efeitos Reprodutivos
1	Risco intermediário	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco
2	Risco intermediário	Baixo risco	Baixo risco	Alto risco
3	Risco intermediário	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco

E-mail: jstefane41@gmail.com

¹Graduanda em Farmácia pela Faculdade Ciências da Vida.

²Doutor em Fisiologia e Farmacologia; Professor Orientador do TCC da Faculdade Ciências da Vida.

4	Risco intermediário	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco
5	Baixo Risco	Baixo Risco	Baixo Risco	Baixo Risco
6	Baixo Risco	Baixo Risco	Baixo Risco	Baixo Risco
7	Baixo Risco	Baixo Risco	Baixo Risco	Baixo Risco
8	Baixo Risco	Baixo Risco	Baixo Risco	Baixo Risco
9	Baixo Risco	Baixo Risco	Baixo Risco	Baixo Risco
10	Baixo Risco	Baixo Risco	Baixo Risco	Baixo Risco
11	Baixo Risco	Baixo Risco	Baixo Risco	Baixo Risco
12	Baixo Risco	Baixo Risco	Baixo Risco	Baixo Risco
13	Baixo Risco	Baixo Risco	Baixo Risco	Baixo Risco
14	Baixo Risco	Baixo Risco	Baixo Risco	Baixo Risco
15	Alto Risco	Baixo Risco	Baixo Risco	Baixo Risco
16	Baixo Risco	Baixo Risco	Baixo Risco	Baixo Risco
17	Alto Risco	Alto Risco	Alto Risco	Alto Risco

Fonte: A autora (2020).

5 – DISCUSSÃO

Os métodos de modelagem molecular são largamente utilizados em pesquisas que envolvam a descoberta e o desenvolvimento de fármacos. O desenho, a análise de características físico-químicas, de propriedades farmacocinéticas, farmacodinâmicas e toxicológicas *in silico* deu origem a novas moléculas que se encontram em ensaios clínicos robustos. Consequentemente, considerando a importância dos estudos *in silico* no processo de descoberta de fármacos, este estudo foi conduzido com intuito de caracterizar potenciais candidatos a fármacos anti-dengue.

Estudos que avaliam propriedades farmacocinéticas (ADME-Tox) de novas entidades químicas com possível valor terapêutico tem disso amplamente publicados nos últimos anos (VUKIC et al., 219; HAGE-MELIM et al., 2020). Adicionalmente, um estudo recente identificou por meio de análises computacionais potenciais inibidores da NS-3 Helicase que podem ser úteis no também para o tratamento da Dengue (HALIM et al., 2017). Sabendo da importância dos estudos de modelagem molecular, essa pesquisa avaliou inicialmente as propriedades físico-químicas dos 17 candidatos a fármacos anti-dengue.

A regra de 5 de Lipinski é frequentemente usada em estudos dessa natureza para prever a biodisponibilidade de potenciais moléculas com propriedades farmacoterapêuticas. De acordo com essa regra um candidato a fármaco será ativo por administração oral se: 1) o

E-mail: jstefane41@gmail.com

¹Graduanda em Farmácia pela Faculdade Ciências da Vida.

²Doutor em Fisiologia e Farmacologia; Professor Orientador do TCC da Faculdade Ciências da Vida.

peso molecular for inferior a 500 u.m.a, 2) o coeficiente de partição octanol / água calculado (Log P) for menor que 5, 3) houver menos de 5 doadores de ligação de hidrogênio (grupos OH e NH, por exemplo) e, 4) existir menos de dez aceptores de ligação de hidrogênio (notavelmente N e O) (LIPINSKI et al., 1997). As propriedades dos derivados anti-dengue foram calculadas usando a plataforma Molinspiration. Os compostos 8 e 14 não violaram nenhuma das regras instituídas por Lipinski. Todos os outros compostos mostraram mais de uma violação, sendo que os compostos 5, 7, 9, 10 e 11 apresentaram até 3 violações a regra dos cinco.

A lipofilia ou a hidrofilia de um composto químico é indicada pelo LogP (coeficiente octanol/água). Os valores de LogP dos compostos aqui desenhados (1-7) e (12-14) mostraram-se maior que 5 e estão em clara violação a regra de Lipinski. O peso molecular das estruturas (1-7) e (9-11) também se mostraram acima do valor de 500 u.m.a. Moléculas grandes geralmente tem dificuldade em atravessar barreiras biológicas presentes no organismo humano. O conjunto de dados obtidos desses dois tópicos anteriores sugerem que os compostos listados provavelmente apresentam baixa permeabilidade através de membranas biológicas.

O número de aceptores de ligações de hidrogênio foram violados nos compostos (9-11), 15 e 17. O número de doadores de ligações de hidrogênio foi violado nos compostos 5, 7, (9-11) e (15-17).

A área de superfície polar (TPSA) e número de ligações rotacionais de fármacos também são bons indicadores de uma boa biodisponibilidade oral. O TPSA está correlacionado com o número de ligações de hidrogênio de uma molécula. E os valores da maioria dos medicamentos comerciais com boa biodisponibilidade oral apresentam TPSA menor que 140 Å. Para os candidatos a fármacos anti-dengue propostos aqui os compostos (5-11) e (15-17) estão bem acima do parâmetro limite para TPSA.

No mesmo sentido, estudos indicam que para uma biodisponibilidade favorável por via oral o número de ligações rotacionais deve ser menor ou igual a 10. Nesse estudo, nenhum candidato a fármaco violou essa regra.

Posteriormente, foram previstos nesse trabalho os dados sobre a farmacocinética dos 17 candidatos a fármacos anti-dengue. Dos compostos aqui desenhados apenas os compostos 13 e 14 apresentaram alta absorção por via gastrointestinal. Todos os outros 15 compostos

E-mail: jstefane41@gmail.com

¹Graduanda em Farmácia pela Faculdade Ciências da Vida.

²Doutor em Fisiologia e Farmacologia; Professor Orientador do TCC da Faculdade Ciências da Vida.

mostram baixa absorção pelo trato gastrointestinal (TGI). A boa absorção no TGI é um importante parâmetro na comodidade posológica de um candidato a fármaco. Os parâmetros farmacocinéticos também revelaram que apenas o composto 14 é capaz de atravessar a barreira hematoencefálica.

As análises dos dados do metabolismo dos candidatos a fármacos anti-dengue mostram que nenhum dos compostos inibem a isoenzima CYP2D6 e apenas os compostos 16 e 17 inibem a enzima CYP3A4. O metabolismo de fármacos envolve um conjunto de reações de biotransformação que geralmente modificam essas moléculas em entidades químicas mais polares para que sejam eliminados na urina. A inibição das isoenzimas pertencentes ao sistema CYP450 é uma das principais causas de interações medicamentosas, efeitos adversos ou tóxicos devido à menor purificação e acúmulo do fármaco ou de seus metabólitos no organismo (KIRCHMAIR, 2015). Por fim o quadro 2 mostra os dados a respeito da acessibilidade sintética (AS). Os parâmetros de AS variam entre 1 (moléculas facilmente sintetizadas) e 10 (moléculas dificilmente sintetizadas) (DAINA et. al., 2016). Nos dados aqui apresentados observamos que os compostos anti-dengue com maior dificuldade de síntese são os (1-4).

Os resultados de risco de toxicidade dos candidatos a fármacos desenhados aqui foram previstos no programa Osiris. Este programa online faz previsão com base na similaridade dos grupos funcionais presentes no composto investigado e os compara com dados extensivos de outros compostos testados em experimentos *in vitro* e *in vivo* e armazenados num banco de dados do programa. Os resultados da triagem virtual são avaliados e codificados em um escore que foi especificado em baixo, intermediário e alto risco de toxicidade para os fatores: mutagênese, tumorigênese, efeitos irritantes e reprodutivos. Os compostos 2, 15 e 17 apresentam pelo menos um score de alto risco para um dos fatores de toxicidade. Já os compostos (1-4) apresentam pelo menos um score de risco intermediário para um dos fatores de toxicidade. Todos os outros compostos apresentam score de risco baixo para mutagênese, tumorigênese, efeitos irritantes e reprodutivos. Analisando pontualmente as estruturas 13 e 14 que foram as duas únicas que mostram alta absorção via TGI pode-se afirmar ainda que ambas apresentaram baixo risco para os fatores analisados.

Como pudemos verificar no estudo realizado, a estratégia de modelagem molecular aborda diferentes modelos preditivos a fim de imitar e chegar o mais próximo possível das

E-mail: jstefane41@gmail.com

¹Graduanda em Farmácia pela Faculdade Ciências da Vida.

²Doutor em Fisiologia e Farmacologia; Professor Orientador do TCC da Faculdade Ciências da Vida.

propriedades que influenciam a administração de medicamentos, principalmente aquelas relacionadas a via oral. Desta forma, a previsão *in silico* indicou que as estruturas químicas 13 e 14 são possíveis candidatos a fármacos úteis para futuras triagens em ensaios realizados em células e em animais. As 15 moléculas inicialmente reprovadas nessa triagem podem sofrer modificações moleculares e triadas novamente com o intuito de melhorar suas propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas.

A modelagem molecular executada nesse trabalho se mostrou uma abordagem fundamental na caracterização e na avaliação ADME-TOX de novos candidatos a fármacos contra o vírus da dengue (MATOS, 2013).

6- CONCLUSÃO

O presente trabalho relata o desenho, a caracterização físico-química, farmacocinética e toxicológica de 17 candidatos a fármacos utilizados contra o vírus da dengue. Os resultados aqui alcançados revelaram que dois compostos análogos do ácido betulínico foram os que mostram maior relevância para o seguimento de desenvolvimento de novos candidatos a fármacos. Pode-se ainda destacar que as outras 15 estruturas podem ser otimizadas e passar por novas avaliações em computador para verificação da melhora da biodisponibilidade oral e redução da sua toxicidade. Assim, pode-se concluir que os compostos 13 e 14 podem ser futuramente ensaiadas em modelos *in vitro* e *in vivo*. No entanto, cabe ainda ressaltar que investigações mais detalhadas, tais como perfil farmacocinético *in vivo*, toxicidade, mecanismo (s), são fundamentais para avaliar o potencial dessas moléculas contra a dengue.

E-mail: jstefane41@gmail.com

¹Graduanda em Farmácia pela Faculdade Ciências da Vida.

²Doutor em Fisiologia e Farmacologia; Professor Orientador do TCC da Faculdade Ciências da Vida.

REFERENCIAS

AMORIM. I. P. S; PESTANA. E. R; MENDES. S. J. F. Predição do metabolismo do candidato a fármaco cinamaldeído: Uma abordagem *in silico*. **Revista Ceuma Perspectivas**, v. 30, n. 1, p. 111-120, 2017.ISSN 18088597. Disponível em: (<http://www.fmb.edu.br/revistaFmb/index.php/fmb/article/viewFile/124/120>) Acesso em 15 abr.2020

BEESETTI. H; KHANNA. N; SWAMINATHAN. S. Investigational drugs in early development for treating dengue infection, **Expert Opin. Investig. Drugs** 25 (2016) 1059e1069. DOI: 10.1080/13543784.2016.1201063v. Disponível em: (<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/13543784.2016.1201063?journalCode=ieid20>). Acesso 16 abr. 2020

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas transmitidas pelo Aedes (dengue, chikungunya e Zika), Semanas Epidemiológicas 1 a 13. **Boletim Epidemiológico**, Brasília (DF), v. 51, n. 14, p.1-34, 2020. Acesso 4 abril. 2020

CHOUIN. C. T. S. FB. Transmission of Major Arboviruses in Brasil: The Role of Aedes aegypti and Aedes albopictus Vectors. In: Shields DC, editor. **Biological Control of Pest and Vector Insects**. InTech;2017. p.231-256. DOI: 10.5772/66946 . Disponível em: (<https://www.intechopen.com/books/biological-control-of-pest-and-vector-insects/transmission-of-major-arboviruses-in-brazil-the-role-of-aedes-aegypti-and-aedes-albopictus-vectors>). Acesso 25 abr. 2020

COUDEVILLE. L; SAVARINO. S; JACKSON. N.A recombinant live attenuated tetravalent vaccine for the prevention of dengue. **Expert Rev. Vaccines** 16 (2017) 1e13. DOI: 10.1080/14760584.2017.1335201. Acesso 23 maio 2020

DAINA A, MICHELIN O, ZOETE V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. **Sci Rep**. 2017 Mar 3;7:42717. doi: 10.1038/srep42717. PMID: 28256516; PMCID: PMC5335600. Acesso 2 out. 2020

E-mail: jstefane41@gmail.com

¹Graduanda em Farmácia pela Faculdade Ciências da Vida.

²Doutor em Fisiologia e Farmacologia; Professor Orientador do TCC da Faculdade Ciências da Vida.

DIGHE.S.N. et al. (2019) Recent update on anti-dengue drug discovery. **Eur. J. Med. Chem.** 176, 431–455. Disponível em: (<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.05.010>). Acesso 6 out. 2020

FERREIRA. L. G ; OLIVA. G; ANDRICOPULO. AD. From medicinal chemistry to human health: current approaches to drug discovery for cancer and neglected tropical diseases. **AnAcadBras Cienc.** 2018;90(1Suppl 1):645–661. Disponível em: (<https://doi.org/10.1590/0001-3765201820170505>). Acesso 29 set. 2020

FILHA. L. G. F. et al. Evolução da dengue no mundo. **Revista Gestão & Tecnologia**, v. 1, n. 28, p. 33-50, 2019. Acesso 29 set. 2020

FUENTES. P. E. P. et al. Actividad anti-dengue in vitro del alga marina *Hypnea cervicornis*. **Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas**, 2017. Acesso 29 set. 2020

GIL. A. C; PONTE. V. M. R. et al. Análise das metodologias e técnicas de pesquisas adotadas nos estudos brasileiros sobre balanced score card: um **estudo dos artigos publicados no período de 1999 a 2006**. In: *anpcont*, 1. Ed. 2007. Acesso 29 set. 2020

GOULART. L. R. et al. Desenvolvimento de um sistema portátil para o diagnóstico rápido da dengue. *Gerais*: **Revista de Saúde Pública do SUS/MG**, v. 1, n. 1, p. 23-24, 2017. Acesso 17 jun. 2020

GURUNG. A. B; MAYENGBAM. B; BHATTACHARJEE. A. Discovery of novel drug candidates for inhibition of soluble epoxide hydrolase of arachidonic acid cascade pathway implicated in atherosclerosis, **Comput. Biol. Chem.** 74 (2018) 1–11. DOI: 10.1016/j.compbiolchem.2018.02.019. Acesso 23 jul. 2020

GUY. B. et al. A recombinant live attenuated tetravalent vaccine for the prevention of dengue. **Expert review of vaccines**, v. 16, n. 7, p. 671-684, 2017. DOI: 10.1080/14760584.2017.1335201. Acesso 13 jul. 2020

HAGE-MELIM, L., FEDERICO, L. B., DE OLIVEIRA, N., FRANCISCO, V., CORREIA, L. C., DE LIMA, H. B., GOMES, S. Q., BARCELOS, M. P., FRANCISCHINI, I., & DA SILVA, C. (2020). Virtual screening, ADME/Tox predictions and the drug repurposing concept for future use of old drugs against the COVID-19. **Life sciences**, 256, 117963. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117963>. Acesso 2 out. 2020

E-mail: jstefane41@gmail.com

¹Graduanda em Farmácia pela Faculdade Ciências da Vida.

²Doutor em Fisiologia e Farmacologia; Professor Orientador do TCC da Faculdade Ciências da Vida.

HALIM SA, KHAN S, KHAN A, WADOOD A, MABOOD F, HUSSAIN J, AL-HARRASI A. Targeting Dengue Virus NS-3 Helicase by Ligand based Pharmacophore Modeling and Structure based Virtual Screening. **Front Chem.** 2017 Oct 31;5:88. doi: 10.3389/fchem.2017.00088. PMID: 29164104; PMCID: PMC5671650. Acesso 2 out. 2020

KERGLINGER. F. N. Metodologia da pesquisa em ciências sociais: um tratamento conceitual. São Paulo: **EPU**, 1980. Acesso 8 maio 2020

KIRCHMAIR. J; WILLIAMSON. M. J; TYZACK. J.D; TAN.L; BOND. P. J; BENDER. A; GLEN. R. C. Computational prediction of metabolism: Sites, products, SAR, P450 enzyme dynamics, and mechanisms. *J Chem Inf Model.* 2012; 52(3):617–648. [**PubMed: 22339582**]: DOI: (<https://doi.org/10.1021/ci200542m>). Acesso 27 set. 2020

KIRCHMAIR J, GÖLLER AH, LANG D, KUNZE J, TESTA B, WILSON ID, et al. Predicting drug metabolism: experiment and/or computation? *Nat RevDrug Discov.*2015;14(6):387-404. Acesso 5 Outubro 2020

KNOP. L. B; MARIA. D. A. Métodos substitutivos e a experimentação animal: um enfoque inovador. **Revista da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório**, v. 4, n. 2, p. 101-114, 2017. Acesso 5 Outubro 2020

LIM. S.P.2019. Dengue drug discovery: progress, challenges and outlook. **Antiviral Res.**163, 156–178. DOI: 10.1016/j.antiviral.2018.12.016. Acesso 13 out. 2020

LIN. K. H. et al. Dengue virus NS2B/NS3 protease inhibitors exploiting the prime side. **Journal of virology**, v. 91, n. 10, p. e00045-17, 2017. DOI: 10.1128/JVI.00045-17. Acesso 13 out. 2020

LINDENBACH. B. D. et al; KNIFE. D. M; HOWLEY. P. M. **Fields virology**. Sixth. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, v.One, 2013. cap. 25, p.712-746. ISBN 10: 1-4511-0563-0. Acesso 13 out. 2020

LIPINSKI CA, LOMBARDO F, DOMINY BW, FEENEY PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Adv Drug Deliv Rev.** 2001 Mar 1;46(1-3):3-26. doi: 10.1016/s0169-409x(00)00129-0. PMID: 11259830. Acesso 2 out. 2020

LOPES. N; NOZAWA. C; LINHARES. R. E. C. Características gerais e epidemiologia dos arbovírus emergentes no Brasil. **Rev. Pan-Amaz Saude, Ananindeua**,v.5, n.3, p.55_64,set. 2014.Disponível<<http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script>

E-mail: jstefane41@gmail.com

¹Graduanda em Farmácia pela Faculdade Ciências da Vida.

²Doutor em Fisiologia e Farmacologia; Professor Orientador do TCC da Faculdade Ciências da Vida.

=sci_arttext&pid=S2176-62232014000300007&lng=pt&nrm=iso>.acesso em :11 maio 2020

MATOS KS, MODA TL, ANDRICOPULO AD. Estudos in silico da Permeabilidade em Células Caco-2. **SocBras Quim.**2013;36:1. Acesso em 8 out. 2020

MIKOVSKI. D. et al. Química Medicinal E A Sua Importância No Desenvolvimento De Novos Fármacos. **Revista Saúde e Desenvolvimento**, v. 12, n. 13, p. 29-43, 2019.

MURPHY. D; RECHE. P; FLOWER. D. R. Selection- based design of in silico dengue epitope ensemble vaccines. **Chemical biology & drug design**, v. 93, n. 1, p. 21-28, 2019.DOI: 10.1111/cbdd.13357. Acesso 6 out. 2020

POWERS. N .C; SETZER. W. N.An in-silico investigation of phytochemicals as antiviral agents against dengue fever. **Combinatorial chemistry & high throughput screening**, v. 19, n. 7, p. 516-536, 2016.DOI: 10.2174/1386207319666160506123715. Acesso 13 maio 2020

SANTOS. L. C. G. B. et al. Perfil epidemiológico do estado de Alagoas relacionado com à arbovirose dengue/Epidemiological profile of the state of Alagoas related to arbovirose dengue. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, n. 3, p. 1604-1608, 2019.Acesso 14 abr.2020

T ISSA. N. et al. Drug metabolism in preclinical drug development: a survey of the discovery process, toxicology, and computational tools. **Current drug metabolism**, v. 18, n. 6, p. 556-565, 2017.DOI: 10.2174/1389200218666170316093301.Acesso 5 jun. 2020

TERRA. M. R. et al. Aedes aegypti e as arboviroses emergentes no Brasil; **Revista uningá review**, [S.l.], v. 30, n. 3, jun. 2017. ISSN 2178-2571. Disponível em: <<http://34.233.57.254/index.php/uningareviews/article/view/2028>>. Acesso em: 06 maio 2020.

THANGARASU. P; THAMARAISELVI. S; MANIKANDAN. A. Manikandan, Unveiling novel 2-cyclopropyl-3-ethynyl-4-(4-fluorophenyl) quinolines as GPCR ligands via PI3-kinase/PAR-1 antagonism and platelet aggregation valuations; Development of a new class of anticancer drugs with thrombolytic effects, **Bioorg. Chem.** 81 (2018) 468–480.DOI: 10.1016/j.bioorg.2018.09.011. Acesso em 3 março 2020

THOMAS; STEPHEN. J; IN-KYU. Y. “A review of Dengvaxia®: development to deployment.” **Human vaccines & immunotherapeutics** vol. 15,10 (2019): 2295-2314. doi:10.1080/21645515.2019.1658503. Acesso 7 set. 2020

E-mail: jstefane41@gmail.com

¹Graduanda em Farmácia pela Faculdade Ciências da Vida.

²Doutor em Fisiologia e Farmacologia; Professor Orientador do TCC da Faculdade Ciências da Vida.

VAVOUGIOS. G. D. et al. Novel candidate genes of the PARK7 interactome as mediators of apoptosis and acetylation in multiple sclerosis: an *in silico* analysis. **Multiple Sclerosis and Related Disorders**,2017. DOI: [10.1016/j.msard.2017.10.013](https://doi.org/10.1016/j.msard.2017.10.013). Acesso 5 ago.2020

VELANDIA. M. L; CASTELLANOS. J. E. Virus del dengue: estructura y ciclo viral. **Infect., Bogotá**, v. 15, n. 1, p. 33-43, Mar. 2011. Available from Disponível em :http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922011000100006&lng=en&nrm=iso>. access on 13 May 2020
[https://doi.org/10.1016/S0123-9392\(11\)70074-1](https://doi.org/10.1016/S0123-9392(11)70074-1)

VUKIC VR, LONCAR DM, VUKIC DV, et al. In vitro antitumor activity, ADME-Tox and 3D-QSAR of synthesized and selected natural styryl lactones. **Computational Biology and Chemistry**. 2019 Dec;83:107112. DOI: 10.1016/j.compbiolchem.2019.107112. Acesso 2 out. 2020

WAMAN. V. P. et al. Analysis of genotype diversity and evolution of Dengue virus serotype 2 using complete genomes. **PeerJ**, v. 4, p. e2326, 2016.DOI: 10.7717/peerj.2326
Acesso 15 out. 2020

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. Updated Questions and Answers related to information presented in the Sanofi Pasteur press release on 30 November 2017 **with regards to the dengue vaccine Dengvaxia**. Disponível http://www.who.int/immunization/diseases/dengue/q_and_a_dengue_vaccine_dengvaxia/en/ . Acesso em 6 julho 2020

ZHANG. Z; TANG. W. Drug metabolism in drug discovery and development. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 8, n. 5, p. 721-732, 2018.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2018.04.003> . Acesso 17 setembro 2020

E-mail: jstefane41@gmail.com

¹Graduanda em Farmácia pela Faculdade Ciências da Vida.

²Doutor em Fisiologia e Farmacologia; Professor Orientador do TCC da Faculdade Ciências da Vida.