



UFRJ
UNIVERSIDADE FEDERAL
DO RIO DE JANEIRO



instituto de
ciências farmacêuticas
Universidade Federal do Rio de Janeiro - Macaé

MATHEUS FREITAS COSTA

**Análise dos métodos *in silico* frente à estudos *in vivo*: Uma revisão
integrativa**

Macaé-RJ

2022

MATHEUS FREITAS COSTA

Análise dos métodos *in silico* frente à estudos *in vivo*: Uma revisão integrativa

Trabalho de conclusão de curso (TCC) apresentado ao Curso de Farmácia do Centro Multidisciplinar UFRJ-Macaé, como um dos requisitos para obtenção do título de farmacêutico.

Orientador: Prof. Dr. Maximiliano da Silva Sangoi

Macaé-RJ

2022

CIP - Catalogação na Publicação

C837

Costa, Matheus Freitas

Análise dos métodos in silico frente à estudo in vivo: Uma revisão integrativa /
Matheus Freitas Costa - Macaé, 2022.

46 f.

Orientador(a): Maximiliano da Silva Sangoi.

Trabalho de conclusão de curso (graduação) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Ciências Farmacêuticas, Bacharel em Farmácia, 2022.

1. Bioinformática. 2. Métodos. 3. Farmácia. I. Sangoi, Maximiliano da Silva, orient. II. Título.

CDD 615

Matheus Freitas Costa

ANÁLISE DOS MÉTODOS *IN SILICO* FRENTE *IN VIVO*: UMA REVISÃO
INTEGRATIVA

Trabalho de conclusão de curso (TCC) defendido e aprovado como requisito para
obtenção do título de farmacêutico.

Macaé, 30/11/2021

Comissão avaliadora:

Prof. Dr. Maximiliano da Silva Sangoi (Presidente da Banca)

UFRJ/Campus Macaé

<http://lattes.cnpq.br/9077694098407886>

Prof. Dr. Vítor Todeschini

UFRJ/Campus Macaé

<http://lattes.cnpq.br/7772590613565656>

Prof. Dr. Daniel Karl Resende

UFRJ/Campus Macaé

<http://lattes.cnpq.br/5564071590531814>

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais e toda a minha família me auxiliaram durante a graduação, me apoiando e incentivando em cada conquista nessa caminhada tanto através de conselhos e ensinamentos como também através de toda a dedicação em facilitar minha dedicação aos estudos. Em especial a minha avó que motivou e serviu de inspiração para a escolha do curso, sendo um exemplo vivo do ideal para um agente de saúde durante toda a sua vida.

Aos amigos Junior Azeredo, Lucas Varella, Gabriel Gallo, Mayara Souza, Juliana Bastos, Geovana Imad, Isabela Passaline, Caroline Oliveira que fiz no início do curso, e ajudaram e me apoiaram fortalecendo e ampliando meus conhecimentos e experiências, assim também me auxiliando mesmo que indiretamente a realização desse trabalho.

Ao meu orientador e coordenador Prof. Dr. Maximiliano da Silva Sangoi e também aos demais professores da Universidade Federal do Rio de Janeiro, pela oportunidade, paciência, dedicação, orientação e todo o auxílio e atenção durante a graduação e na realização desse trabalho.

RESUMO

Introdução: Como alternativa para a redução dos recursos necessários para a descoberta de uma nova tecnologia, um novo fármaco ou medicamento, os estudos *in silico* se apresentam como uma alternativa para acelerar e baratear este processo. Apesar do grande potencial demonstrado pelos métodos da bioinformática, atualmente existem poucos artigos que comparam diretamente estes métodos frente a métodos *in vivo*, o que é de suma importância para o desenvolvimento dos métodos e modelos. **Objetivos:** Realizar uma revisão integrativa, apontando a aplicabilidade e a confiabilidade dos estudos *in silico* em relação aos estudos *in vivo* utilizados na descoberta e no desenvolvimento de novas tecnologias farmacêuticas, além de identificar os métodos mais utilizados e as possíveis falhas e melhorias. **Métodos:** Foi realizado um levantamento de artigos através da busca nas bases de dados Science Direct e Springer, utilizando como palavras-chave os termos “*in vivo*”, “*in silico*”, “*drugs prediction*” e “*correlation*” os quais foram pesquisados apenas simultaneamente. Os critérios de inclusão foram: artigos publicados em inglês ou português, artigos originais e completos, publicados de Janeiro de 2021 até 31/01/2022 e que comparavam os estudos *in vivo* e *in silico*. Foram excluídos artigos que tinham o texto completo indisponível, artigos duplicados, artigos que não comparem ou avaliem estudos *in silico* e *in vivo* simultaneamente, frente a cenários semelhantes. **Resultados e discussão:** Foram encontrados um total de 344 artigos durante a pesquisa utilizando as palavras chaves e após aplicados os critérios de inclusão e exclusão 18 artigos foram selecionados e analisados. Todos os artigos analisados tiveram os resultados *in silico* confirmados quando testados em ensaios *in vivo*, já os métodos mais utilizados foram respectivamente ADMET (Absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade) (13), *docking* molecular (9), QSAR (Relação estrutura-atividade quantitativa) (5) e *docking* inverso (1). Foram observadas diferentes formas de utilizar as metodologias de predição, sendo a mais frequente a triagem de candidatos partindo da estrutura de um alvo molecular e utilizando o *docking* com o objetivo de encontrar os candidatos com as características estereo químicas mais adequadas. Outros estudos realizaram análises QSAR e ADMET para confirmar a atividade frente ao alvo molecular ou para mensurar parâmetros farmacocinéticos importantes. Esses métodos demonstraram potencial para auxiliar a elucidação de mecanismos de ação, além do aperfeiçoamento das moléculas e investigação de parâmetros farmacocinéticos. Limitações e melhorias também foram identificadas, como a necessidade de dados prévios que auxiliem a modelagem molecular e outros parâmetros utilizados pelos softwares, além da identificação de variáveis de importância. **Conclusão:** As evidências encontradas nos artigos relacionados aos métodos *in silico* comparadas aos métodos *in vivo* demonstram que esses estudos possuem uma vasta aplicabilidade. Portanto é necessário que haja mais estudos que relacionem diretamente os resultados obtidos através de ensaios *in vivo* aos resultados provenientes de ensaios *in silico*, para que ocorra aperfeiçoamentos destes métodos.

Palavras-chaves *in silico*, métodos, bioinformática.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - FLUXOGRAMA DAS ATIVIDADES REALIZADAS.....	16
FIGURA 2 - TIPOS DE DOCKING MOLECULAR.....	19
FIGURA 3 - PARÂMETROS ENVOLVIDOS NO ADMET	20
FIGURA 4 - ABORDAGEM QSAR EXEMPLIFICADA.....	21
FIGURA 5 - MÉTODOS UTILIZADOS	22

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - ARTIGOS QUE COMPÕEM A REVISÃO	17
---	-----------

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADMET	Absorção, distribuição, metabolismo e excreção
ATP	Adenosina trifosfato
CD	Conjunto de diferenciação
HLA	Antígeno leucocitário humano
HTX	Hidroxitirosol
QSAR	Relação estrutura-atividade quantitativa
MAO-B	Monoamina oxidase B
SDHI	Succinato desidrogenase

SUMÁRIO

1. Introdução	10
2. Justificativa	12
3. Objetivos	13
3.1. Objetivo geral	13
3.2. Objetivos específicos	13
4. Metodologia	14
5. Resultados	15
5.1. Docking molecular	18
5.2. ADMET	19
5.3. QSAR	20
5.4. Aplicabilidade	21
5.5. Efetividade	22
6. Discussão	34
7. Conclusão	37
8. Referências Bibliográficas	38

1. INTRODUÇÃO

Atualmente o desenvolvimento de um novo medicamento pode ser dividido em quatro etapas que são conhecidas como: descoberta, realização dos testes pré-clínicos, ensaios clínicos e a aprovação pela agência reguladora. A primeira fase está baseada na identificação de um alvo molecular de interesse e em seguida é realizada uma classificação de substâncias conhecidas que são candidatas a apresentar atividade no alvo de interesse e a partir disto surgem a necessidade dos testes pré clínicos para avaliar a segurança através de análises de toxicidade dos candidatos e também para a análise farmacocinética e farmacodinâmica, conforme é preconizado por regulamentos globais, para a realização das análises são utilizados ensaios *in vitro* e também em modelos animais. Por fim, o candidato, após passar por alterações farmacológicas que podem surgir após as análises citadas, são selecionados apenas aqueles que foram analisados como mais seguros e eficazes e são testados em humanos durante a etapa dos ensaios clínicos. A aprovação de um novo medicamento através da agência reguladora depende, obrigatoriamente, da realização de todas as etapas anteriores e assim depois da aprovação o medicamento entra na fase clínica onde o monitoramento é contínuo (TERSTAPPEN, REGGIANI 2001).

Alguns anos atrás a indústria farmacêutica mundial passava por desafios no assunto inovação, principalmente se tratando dos lançamentos de medicamentos com grande impacto positivo dentro do mercado, os denominados blockbusters, uma vez que os custos para lançar um novo fármaco aumentaram de forma notável e assim tornando os investimentos em Pesquisa e Desenvolvimento pouco seguros (GOMES, 2015). Todo o processo para o desenvolvimento de um novo medicamento demanda uma grande quantidade de recursos financeiros além de cerca de 10 anos de pesquisa, portanto acontece um grande desperdício de recursos principalmente porque, de acordo com pesquisas recentes, apenas 13,8% dos medicamentos candidatos que entram na fase clínica são utilizados e aprovados (TERSTAPPEN, REGGIANI, 2001). Sendo as principais características que causam rejeição de um fármaco as relacionadas a absorção, distribuição, metabolismo, excreção e a toxicidade (WU et al, 2022).

Sendo assim, um aprimoramento das técnicas utilizadas nas etapas anteriores (descoberta e testes pré clínicos) podem favorecer uma melhora no

aproveitamento dos recursos economizando milhões de dólares e também minimizando a exploração animal ao conseguir atingir níveis melhores na seleção das moléculas candidatas para as etapas clínicas (CHI, BURROWS, ANDERSON, 2022).

As abordagens *in vitro* e em modelos animais foram por muitos anos as principais formas empregadas para os ensaios pré-clínicos e ainda hoje são fundamentais para a manutenção da eficácia e segurança na descoberta de novos medicamentos. Porém, estes métodos são responsáveis por um alto custo e também uma maior demanda de tempo das pesquisas quando comparados a estudos *in silico*, uma vez que para a realização de estudos laboratoriais são necessários diversos materiais, um grande espaço, a alimentação das cobaias, além do risco associado a erros nos testes e que muitas vezes permanecem sem uma boa compreensão sobre o motivo da falha, tendo em vista toda a complexidade do sistema biológico e as dificuldades para analisa-lo. Com o atual desenvolvimento das tecnologias e o desenvolvimento de modelos *in silico*, bem como o desejo de se afastar dos testes em animais, a indústria de medicamentos juntamente com as autoridades regulatórias se esforça para utilizar métodos alternativos que possibilitem a identificação de perigos e avaliação de riscos (GRAHAM et al., 2021; MILLER et al., 2021).

Os princípios de Russell-Burch (1959) estão relacionados a redução, substituição e refinamento no uso de animais em pesquisas e de acordo com eles é necessário que haja sempre a preocupação sobre o uso de animais buscando sempre que possível substituir os modelos animais, quando não houver prejuízo nos resultados. A comunidade científica internacional ainda hoje se compromete com estes princípios, e por esse motivo existem regulações específicas sobre o uso desses modelos em diversos países, no Brasil por exemplo, existe o CONCEA (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal) que atualmente está formulando o guia Brasileiro de Produção, Manutenção ou Utilização de Animais para Atividades de Ensino ou Pesquisa Científica que visa nortear o uso de animais nas pesquisas (BRASIL, 2019).

O CONCEA publicou em janeiro desse ano a resolução normativa N°25 de 29 de setembro de 2015, que dispõe sobre o reconhecimento de métodos alternativos ao uso de animais em atividades de ensino e pesquisa científica, responsável por reconhecer e normatizar os métodos alternativos visando diminuir o uso de animais

e definir o necessário para a validação desses métodos, são exigidos certos critérios para que eles sejam aceitos, por exemplo: o não uso de animais, somente o uso de espécies de ordem inferior, a utilização de sistemas orgânicos ou *ex vivo* e que diminuam ou eliminem o desconforto animal (BRASIL, 2022).

As abordagens *in silico* passaram a ser amplamente utilizadas nos estudos pré clínicos das mais variadas formas possíveis como, por exemplo, prever a toxicidade, as atividades farmacológicas, os mecanismos de ação, a taxa de interações com proteínas, podendo também guiar modificações moleculares que melhorem parâmetros relacionados com a absorção da substância. É muito comum observar na literatura exemplos de modelagem de medicamentos e estudos de bio desempenho, mesmo sendo mais comum para a via oral, atualmente já se desenvolvem estudos para aplicar nas mais diferentes vias, fomentando ainda mais a versatilidade do método (HINES et al., 2021).

Esse tipo de abordagem utiliza computadores, softwares e muitas vezes bases de dados baseadas em estudos e observações clínicas, que recriam através da modelagem molecular diversos tipos celulares e também tecidos e órgãos, podendo também medir as interações entre os candidatos a medicamentos e os receptores, assim conseguindo prever e guiar a seleção para a molécula com maior potencial para suprir à atual necessidade. Além disso, também é possível abordar e estudar populações altamente específicas, facilitando, assim, uma redução no número de cobaias nos ensaios clínicos e dando a seleção de cobaias um direcionamento adequado, reduzindo o tempo de desenvolvimento e estudo além dos custos dos ensaios (MILLER et al., 2021).

Apesar desses estudos apresentarem um grande potencial inexplorado e serem aceitos para as etapas pré clínicas mediante a confirmação prévia e validações experimentais, ainda existe um número reduzido de estudos que correlacionam pesquisas *in vivo* com os *in silico* que busquem possibilitar a identificação de falhas e por conseguinte aprimoramento nas técnicas utilizadas, assim como a efetividade e aplicabilidade dos diversos modelos já existentes.

Como uma alternativa para essa lacuna no conhecimento, este estudo busca analisar artigos produzidos no último ano que fazem um comparativo entre as abordagens *in vivo* e *in silico* utilizadas nas etapas pré clínicas no desenvolvimento de medicamentos ligados a toxicidade, a fim de identificar os métodos mais utilizados além das aplicações, falhas e possíveis melhorias dos modelos que

utilizam a bioinformática quando comparados com os modelos animais ou em cultura celular.

2. JUSTIFICATIVA

Na formulação de novos produtos farmacêuticos os dados não clínicos são fundamentais para apoiar e guiar os estudos clínicos, uma vez que este desenvolvimento é de grande complexidade e exige uma grande dedicação e tempo, as abordagens *in silico* podem diminuir as despesas necessárias além do tempo relativo a triagem dos candidatos e para realização dos testes pré-clínicos, minimizando a utilização de animais assim reduzindo o sofrimento dos mesmos e tornando a produção mais ética e responsável (CHI, BURROWS, ANDERSON, 2022). Vale ressaltar que os estudos clínicos que realizam experimentos com animais geram estresse e majoritariamente geram também sofrimento e até o sacrifício dos mesmos (SANTOS, 2011).

É importante ainda levar em conta todos os custos que a descoberta o desenvolvimento de novos medicamentos e tecnologias geram desde o início do projeto até a comercialização do produto, visto que atualmente o custo de todo esse processo subiu drasticamente para cerca de 1,4 milhões de dólares para um único novo medicamento. Além disso, as empresas já vêm na modelagem molecular uma forma de também expandir os conhecimentos ainda não elucidados (SILVA, NEGREIROS, SANTOS, 2022).

Grandes empresas farmacêuticas têm utilizado a estratégia de “falhar cedo, falhar barato” utilizando testes de toxicidade *in vitro in vivo* e testes de previsão relacionados à absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade (ADMET) uma vez que a otimização coordenada das variáveis citadas ainda se mostra uma grande barreira a ser conquistada na pesquisa e desenvolvimento de novas tecnologias farmacêuticas (FERREIRA, ANDRICOPULO, 2019). Atualmente estratégias *in silico* para realizar essas previsões vem se tornando mais atraentes e chegam como alternativa econômica e de alto rendimento para os métodos de avaliação pré clínicos (WU et al., 2020).

Os métodos *in silico* se mostram como um novo modelo com grande potencial para ser empregado nas diferentes etapas no processo de descoberta de novos medicamentos, além de seu desenvolvimento de forma crítica e objetiva

através da análise dos dados uma vez que o método demonstra enorme versatilidade (DOKE, DHAWALE, 2015).

Devido a importância dos métodos de bioinformática tanto para o setor da indústria quanto para as pesquisas acadêmicas, além do potencial para a redução dos recursos e tempo necessários para o desenvolvimento de novas tecnologias farmacêuticas e novos medicamentos há uma necessidade que estes métodos sejam aprimorados e se desenvolvam de maneira crítica, buscando o desenvolvimento dos métodos *in silico*, a ampliação da discussão e um olhar mais crítico sobre os modelos este estudo foi idealizado.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O estudo tem como objetivo geral realizar uma revisão integrativa, apontando a aplicabilidade e a confiabilidade dos estudos *in silico* em relação aos estudos *in vivo* utilizados na descoberta e no desenvolvimento de novas tecnologias farmacêuticas.

3.2 Objetivos específicos

3.2.1 – O estudo tem como objetivo específico identificar os métodos mais utilizados.

3.2.2 – O estudo tem como objetivo específico identificar as possíveis falhas e melhorias dos métodos utilizados.

4. METODOLOGIA

Foi realizado uma revisão integrativa, que pode ser caracterizada pela construção de uma ampla análise das informações disponíveis na literatura, ampliando as discussões sobre métodos e resultados de pesquisas, além de reflexões sobre a realização dos próximos estudos.

O levantamento bibliográfico foi realizado seguindo critérios de exclusão e de inclusão, os selecionados foram aqueles que objetivaram a publicação de artigos publicados em inglês ou português, originais e completos, que comparavam os estudos *in vivo* e *in silico* aplicados no desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos. Foram excluídos artigos que tinham o texto completo indisponível, artigos duplicados, artigos que não compararam ou avaliaram estudos *in silico* e *in vivo* simultaneamente frente a cenários semelhantes. Foram excluídos também artigos de revisão. Sabendo-se quais são os artigos relacionados ao critério de exclusão e inclusão, foram realizadas as etapas de seleção e classificação. A etapa de seleção foi dividida em duas: aquisição e extração. Na etapa de aquisição, foram conduzidas a busca dos artigos nas bases de dados: Science Direct, Springer e Portal de Periódicos CAPES, utilizando como palavras-chave os termos: "*in vivo*", "*in silico*", "*drugs prediction*" e "*correlation*". Todos os resumos publicados no período de janeiro de 2021 a fevereiro de 2022 foram lidos para avaliar se estão dentro dos critérios de inclusão. A partir disso, iniciou-se a etapa de extração, os artigos selecionados na etapa I, foram lidos na íntegra e a partir disso foram extraídos os dados de interesse.

5. RESULTADOS

Na primeira etapa de seleção, 344 artigos foram definidos. Ao aplicar os critérios de exclusão, 18 artigos foram analisados de forma completa e seus resultados foram observados e discutidos em relação à comparação dos métodos. Ao analisar estes estudos que comparam os métodos pré clínicos foi observado uma grande versatilidade e uma vasta gama de aplicabilidade dos estudos *in silico*, que podem ser utilizados tanto para prever as propriedades físico-químicas das moléculas selecionadas como a absorção, dissolução e distribuição, como também para auxiliar a elucidação do mecanismo de ação dos compostos, facilitar o design de novos candidatos a medicamentos através do *docking* molecular, prever a toxicidade dos compostos, e entre outras funcionalidades. O fluxograma da análise dos artigos selecionados está demonstrado na Figura 1.

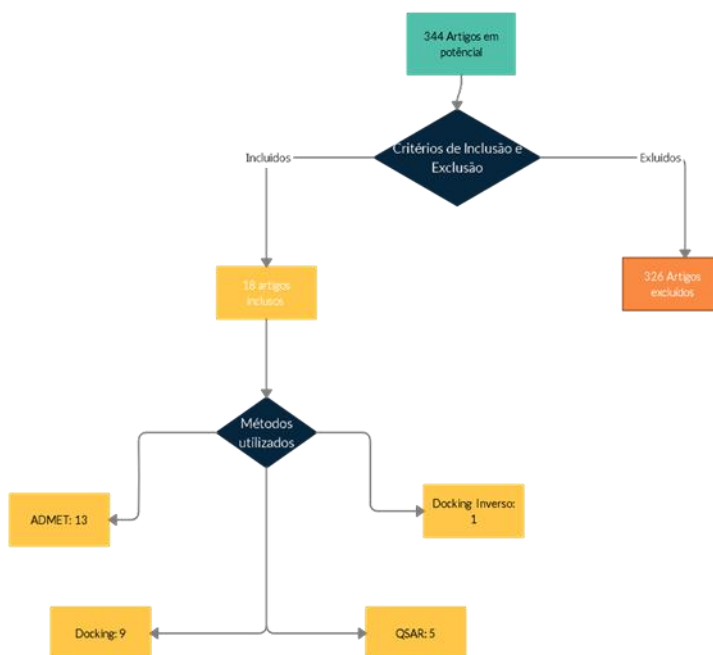


Figura 1. Fluxograma das atividades. **Fonte:** Elaborado pelo autor (2022).

Os artigos que compõem esta revisão, descritos no Quadro 1, demonstraram em seus resultados uma concordância entre as predições realizadas *in silico* em comparação aos estudos *in vivo*. Assim, uma vez que os estudos computacionais, em sua maioria, funcionam como uma orientação para os futuros estudos *in vivo* as possibilidades de insucesso são diminuídas, simplificando e tornando a pesquisa

menos dispendiosa.

Quadro 1 - Artigos utilizados na revisão.

Referência	Título do artigo	Métodos utilizados
CARREÑO, 2021.	Development of “on-demand” thermo-responsive hydrogels for anti-cancer drugs sustained release: Rational design, in silico prediction and in vitro validation in colon cancer models	Docking e QSAR
KAMP, 2021	Succinate dehydrogenase inhibitors: in silico flux analysis and in vivo metabolomics investigations show no severe metabolic consequences for rats and humans	ADMET e docking
OMOBOYOW, 2021	Protective potential of ethylacetate extract of Abrus precatorius (Linn) seeds against HCl/EtOH-induced gastric ulcer via pro-inflammatory regulation: In vivo and in silico study	QSAR e ADMET
GRÉGOIRE, 2021	Cosmetics Europe evaluation of 6 in silico skin penetration models	ADMET
HUSAIN, 2021	Identification of metabolic pathways involved in the biotransformation of eslicarbazepine acetate using UPLC-MS/MS, human microsomal enzymes and in silico studies	ADMET e docking
PATHANIA, 2021	Hydroxytyrosol as anti-parkinsonian molecule: Assessment using in-silico and MPTP-induced Parkinson’s disease model	QSAR, docking e ADMET
SAVA, 2021	New nitric oxide-releasing indomethacin derivatives with 1,3-thiazolidine-4-one scaffold: Design, synthesis, in silico and in vitro studies	Docking e ADMET
GERDE, 2021	In Vitro to ex Vivo/In Vivo Correlation (IVIVC) of dissolution kinetics from inhaled particulate solutes using air/blood barrier models: Relation between in vitro design, lung physiology and kinetic output of models	ADMET
AMANAT, 2021	Zingiber roseum Rosc. rhizome: A rich source of hepatoprotective polyphenols	QSAR, ADMET e docking
LOW, 2021	Molecular docking-aided identification of small molecule inhibitors targeting β -catenin-TCF4 interaction	Docking inverso, ADMET e QSAR
CITI, 2021	Structure-activity relationships study of isothiocyanates for H ₂ S releasing properties: 3-Pyridyl-isothiocyanate as a new promising cardioprotective agent	ADMET e docking
REMYA, 2021	Neuroprotective derivatives of tacrine that target NMDA receptor and acetyl cholinesterase – Design, synthesis and biological evaluation	Docking e ADMET
WILT, 2021	Further exploration of the structure-activity relationship of dual soluble epoxide hydrolase/fatty acid amide hydrolase inhibitors	ADMET e docking
RODRIGUEZ-ARÉVALO, 2021	Benzofuranyl-2-imidazoles as imidazoline I ₂ receptor ligands for Alzheimer’s disease	QSAR, ADMET

GROOT, 2021	Identification of a potent regulatory T cell epitope in factor V that modulates CD4+ and CD8+ memory T cell responses	ADMET e QSAR
HUAI, 2021	Systems pharmacology dissection of action mechanisms for herbs in osteoporosis treatment	Docking e ADMET
AHMADI, 2021	An injectable self-assembling hydrogel based on RGD peptidomimetic β -sheets as multifunctional biomaterials	Docking e ADMET
KHERA, 2021	Quantifying ADC bystander payload penetration with cellular resolution using pharmacodynamic mapping	ADMET

*ADMET: absorção, distribuição, metabolismo e excreção; QSAR: Relação estrutura-atividade quantitativa. **Fonte:** Elaborado pelo autor (2022).

5.1 Métodos utilizados

Conforme exposto na Figura 2, nos estudos selecionados treze (13) artigos foram utilizados a fim de prever questões relacionadas a absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADMET), principalmente a toxicidade e coeficiente de partição (log P). Em segundo, o *docking molecular* foi utilizado em nove (9) dos artigos, em sua maioria para auxiliar na triagem direta de candidatos a fármacos e em alguns casos avaliando a conformação da molécula a fim de elucidar os mecanismos de ação e também avaliando possíveis melhorias de modificações moleculares. Em terceiro, em cinco (5) estudos foi utilizado o método *Quantitative Structure-Activity Relationships* (QSAR) aplicado principalmente para identificar o candidato a fármaco mais ativo e com maior afinidade pelo alvo, testando uma gama de candidatos e comparando os valores obtidos. Este também é utilizado para garantir a atividade da substância.

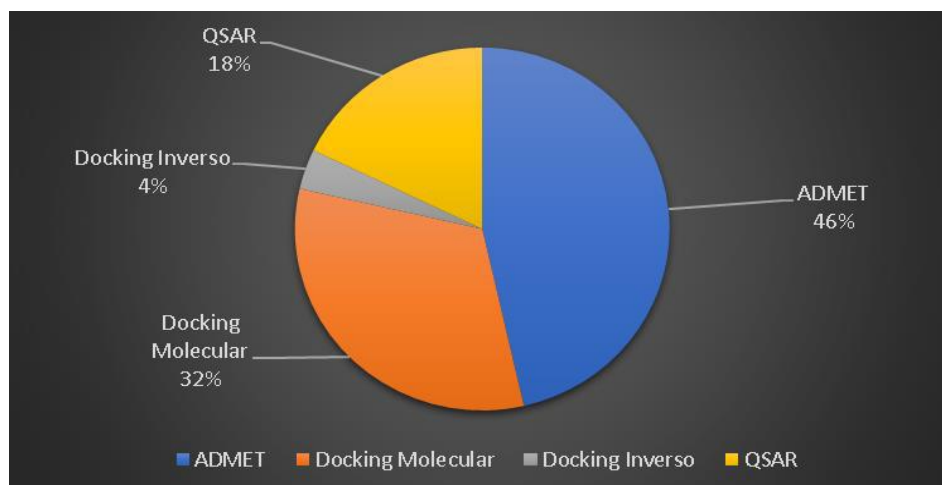


Figura 2. Métodos utilizados nos artigos selecionados. **Fonte:** Elaborado pelo autor
 *ADMET: Absorção, distribuição, metabolismo e excreção; QSAR: Quantitative Structure-Activity Relationships.

Como pode ser observado na Figura 1, os modelos mais utilizados dentro dos artigos selecionados neste estudo e que melhor exemplificam a versatilidade dos métodos podem ser definidos por: *docking molecular*, ADMET e QSAR.

5.1.1 *Docking molecular*

A técnica computacional conhecida como *docking molecular* ou encaixe molecular, vem sendo usada pelas indústrias farmacêuticas como uma alternativa para diminuir o tempo e o custo provenientes do desenvolvimento de novos medicamentos funcionando como um filtro complexo que evidencia apenas os candidatos mais interessantes dentro dos parâmetros estabelecidos. Esta técnica utiliza a estrutura 3D de duas moléculas, do ligante e seu alvo, assim conseguindo prever a melhor posição e conformação do primeiro em relação ao segundo para a formação de um complexo estável. Através do *docking* é possível estipular a força da interação entre duas moléculas e por conseguinte é possível estipular qual dos ligantes estudados vão apresentar uma maior atividade frente a um alvo farmacológico conhecido (CRAMPON et al., 2021).

Existem duas formas de *docking* onde uma visa descobrir qual ligante apresenta a melhor estabilidade frente ao receptor alvo sendo este método o mais utilizado para prever qual molécula tem maior afinidade com o receptor de interesse.

A outra que é realizado o *docking* inverso que utiliza o caminho contrário para encontrar novos alvos de interesse, como por exemplo sítios ativos de enzima, assim funcionando como um filtro inverso que possibilita identificar a estrutura do alvo que aquele ligante possui afinidade (JI et al., 2006). Um esquema dos tipos de *docking* está demonstrado na Figura 3.

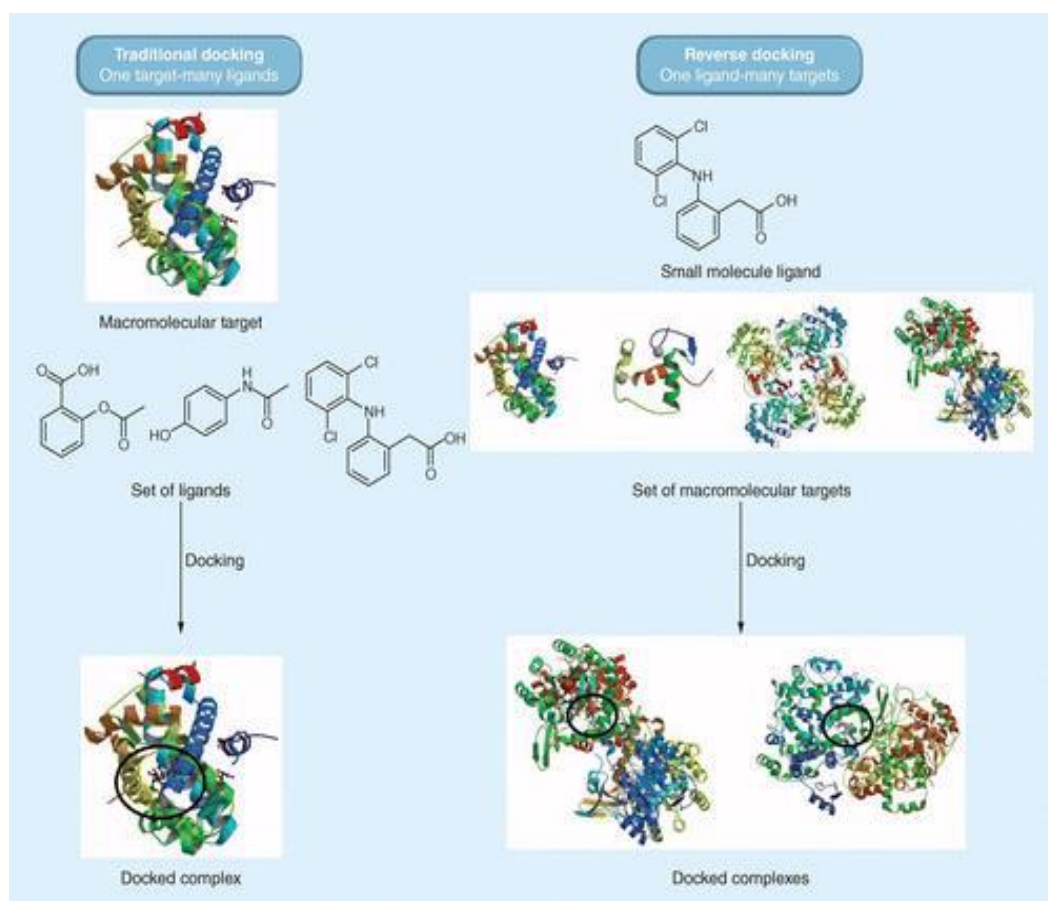


Figura 3. Tipos de *docking* molecular. **Fonte:** KHARKAR, WARRIER (2014).

5.1.2 ADMET

Essa metodologia é utilizada para realizar uma previsão sobre os parâmetros farmacológicos, como a solubilidade aquosa, a penetração através da barreira hematoencefálica, inibição do citocromo P450, hepatotoxicidade, absorção, taxa de ligação a proteínas plasmáticas (RUDRAPAL et al., 2021), distribuição no organismo, metabolismo, excreção e toxicidade geral (SOLTANI et al., 2022), esse método pode levar em conta número de aceitadores de hidrogênio e número de doadores de ligações hidrogênio além de diversos outros parâmetros, desde que

sejam relativos ao processo (CAO et al., 2021).

O método utiliza softwares para simular tecidos e suas características fisiológicas, de acordo com o banco de dados disponível, para realizar testes e identificar as variáveis de interesses relacionadas à absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade, como demonstrado na Figura 4.

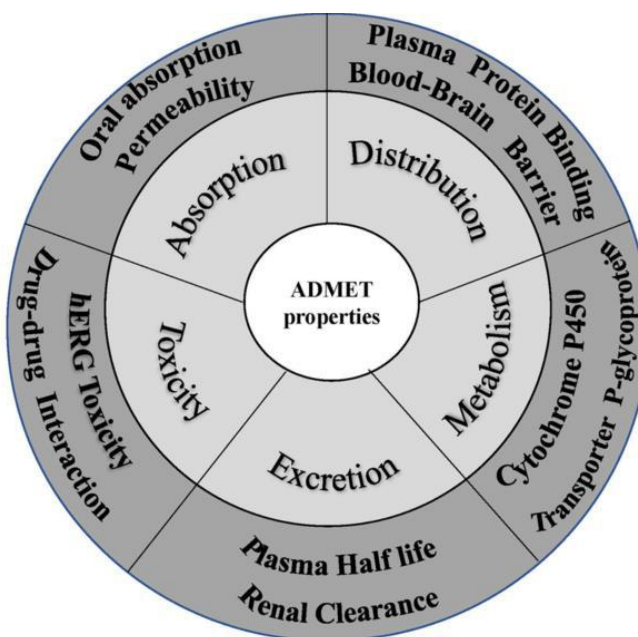


Figura 4. Propriedades ADMET. **Fonte:** WU et al., 2020.

Graças aos métodos e softwares que buscam avaliar parâmetros ADMET *in silico* questões relacionadas a farmacocinética dos fármacos tiveram o impacto reduzido na pesquisa e desenvolvimento de novos medicamentos na última década, devido a utilização de softwares cada vez mais aprimorados e nas etapas primordiais das pesquisas (SILVA, NEGREIROS, SANTOS, 2022).

5.1.3 QSAR

O QSAR computacional, analisa e estipula a relação estrutura-atividade quantitativa usada nos estudos *in silico* que utilizam conceitos clássicos como energia livre, propriedades físico-químicas fundamentais como a hidrofobia, as nuvens eletrônicas e relações estéricas. Essa abordagem possui a capacidade de correlacionar a atividade biológica de um grupo de compostos com as propriedades

moleculares computadas nos bancos de dados (GHOSH et al., 2021). A modelagem QSAR geralmente vai utilizar quatro etapas para o seu desenvolvimento: computar os descritores de interesse, selecionar os descritores relevantes que possam servir de modelo, construir uma relação não linear entre os descritores e a atividade biológica, e por último validar o modelo construído (PUTRI et al., 2022).

Dois métodos de predição são considerados principais, sendo a predição baseada em semelhanças moleculares (como em grupos farmacofóricos e fragmentos que compõem a molécula) e baseada em semelhanças nas propriedades físico-químicas (como log P, Log D), assim como fica exemplificado na Figura 5. Sendo assim, é preciso um modelo construído com um conjunto de treinamento específico para render um composto que tenha um espaço estrutural semelhante aos do conjunto de treinamento, melhorando, dessa forma, a precisão do método, sabendo que compostos estruturalmente semelhantes tendem a ter atividades biológicas semelhantes (WU et al, 2020).

Esse método pode substituir os ensaios caso as seguintes condições sejam satisfeitas:

- se os resultados forem obtidos da aplicação de um modelo validado cientificamente;
- se a substância for enquadrada dentro do domínio de aplicabilidade do modelo citado;
- se a documentação adequada for fornecida e validada para o método aplicado.

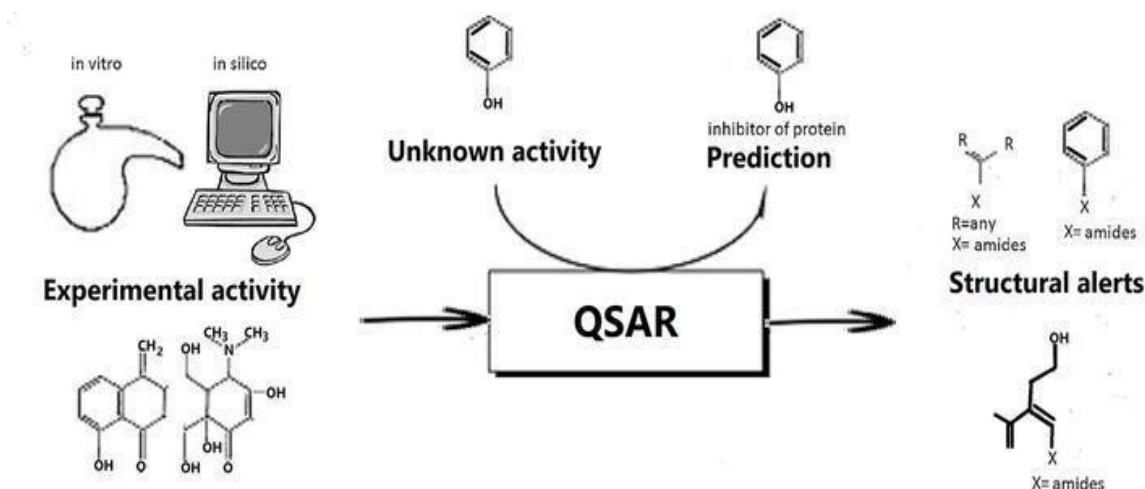


Figura 5. Abordagem QSAR exemplificada, onde uma molécula com uma atividade conhecida é usada como modelo para ser predito qual parte da estrutura molecular é responsável pela atividade. **Fonte:** KUPERVASSER, OLEG (2019).

A aplicação dos métodos nos artigos foram para analisar a administração epidérmica, a penetração de substâncias pela via aérea, a influência de substâncias na regulação genética, desenvolvimento de novos veículos farmacêuticos, na identificação de metabólitos e na triagem de substâncias para o desenvolvimento de novos fármacos, além de serem utilizados para investigar conhecimentos populares acerca de plantas medicinais.

No total dos dezoito estudos investigados os modelos de bioinformática obtiveram resultados semelhantes aos valores obtidos através dos métodos *in vivo*, demonstrando a confiabilidade e assertividade dos modelos não biológicos. Além disso, foram identificadas também as limitações e as possíveis melhorias dos métodos *in silico*, que estão associados a grande dependência dos métodos para com informações previamente conhecidas e detalhadas sobre o corpo humano e seus processos, outra questão importante é o conhecimento sobre as variáveis importantes ao processo analisado, ou seja, fatores que influenciam de forma drástica o processo.

5.2 Administração epidérmica

Em todos os dezoito estudos, as abordagens *in vivo* confirmaram as predições realizadas através de softwares, porém a maioria dos dados apresentados não são mensuráveis. Portanto, necessitam de uma abordagem subjetiva, partindo da interpretação dos adjetivos utilizados pelos autores, para identificar a correlação ou não dos resultados obtidos, assim como sua aplicabilidade e as possíveis melhorias.

Dois estudos buscaram identificar e mensurar, com o auxílio dos métodos *in silico*, a penetração de substâncias específicas na pele. Para isso foram realizados testes onde um simulou uma cultura celular (KHERA, 2021) e o outro utilizou seis softwares diferentes e com diferentes informações sobre o tecido e outras variáveis (GRÉGOIRE, 2021). Ambos obtiveram resultados e observações semelhantes em relação aos dados *in silico* com os observados *in vivo*, de forma que variáveis que possuem alta correlação com a penetração dérmica foram identificadas, como por exemplo, a volatilidade química.

O estudo realizado por Grégoire (2021) comparou os resultados de diferentes

programas para mensurar a quantidade de substância presente na derme e epiderme e a penetração dérmica de vinte e cinco substâncias pré selecionadas. No entanto, o estudo identificou limitações ao estabelecer um comparativo entre os diferentes softwares e diferentes níveis de detalhamento sobre o tecido escolhido, que no caso foi a pele humana.

Dentre os programas investigados, todos apresentaram uma predição com resultados mais assertivos a partir da consideração de um cenário expositivo mais realista, onde são considerados o maior número possível de variáveis associadas ao processo estudado. Foi identificado que a volatilidade química é uma variável que influencia diretamente a previsão da penetração dos medicamentos na derme e sobre a previsão da quantidade de produto presente na derme e epiderme as previsões foram menos assertivas, evidenciando que o modelo utilizado necessita de maiores detalhes sobre os fatores que influenciam diretamente este processo (GRÉGOIRE, 2021).

Apesar da identificação de limitações, cinco dos seis dos softwares foram capazes de prever a penetração dérmica razoavelmente bem, principalmente quando expostos a um número maior de detalhes, como descrito previamente. O comportamento do veículo empregado na formulação do creme utilizado no estudo também foi um fator importante para uma melhor predição, o que reintegra a grande necessidade de dados sobre todas as variáveis envolvidas no processo estudado, para um resultado mais realista nos ensaios *in silico* (GRÉGOIRE, 2021).

Khera e colaboradores (2021) buscaram quantificar a penetração de substâncias recém aprovadas para o uso clínico em tecidos tumorais através de estudos *in silico*, além de elucidar os mecanismos dos novos fármacos. Buscando validar os modelos de previsão, estudos utilizando xenoenxertos em camundongos também foram realizados.

Os resultados verificados a partir das previsões, as quais simulavam culturas celulares em um meio específico, demonstraram que as substâncias teriam uma penetração além da área alvo que continha a população de células tumorais. Com o objetivo de validar o teste realizado *in silico*, os estudos usando cobaias foram realizados também diagnosticando um valor de penetração semelhante, variando de 100 à 200 microns, onde foram usados os mesmos marcadores para mensurar esse parâmetro em ambos os métodos (KHERA et al., 2021).

5.3 Via área

Outro estudo avaliou também a absorção por outra via, como descrito por Gerde, Malmlof e Selg (2021), um dos poucos estudos que se mostrou crítico quanto a correlação dos resultados obtidos pelos diferentes métodos. Este também tinha como objetivo principal a comparação dos métodos em relação a diluição e a absorção de substâncias particuladas ministradas pela via respiratória, buscando também analisar e comparar nos diferentes modelos a concentração das substâncias no sangue após a administração, uma vez que esse tipo de estudo *in vivo* é um desafio.

Foram utilizados três modelos diferentes para o estudo *in silico*, onde um simulava as barreiras envolvidas no processo de absorção utilizado no estudo e os outros dois funcionavam como branco ou controle. Estes utilizavam filtros de fibra de vidro, enquanto os estudos *in vivo* foram realizados utilizando experimentos com pulmão isolado, ventilado e perfundido de roedores. Nesse sentido, os testes buscaram mensurar a absorção de duas substâncias diferentes, porém uma substância foi testada apenas no modelo computacional (GERDE, MALMLÖF, SELG, 2021).

Como resultado da dissolução foram observados valores *in vivo* de 1,9 min e *in silico* de 0,55 min para a substância solúvel em água, e para a substância mais lipofílica a qual foi testada em todos os modelos descritos, valores com maior discrepância. Os dados *in vivo* encontrados foram de 8,6 horas enquanto para os modelos *in silico* foram de 2,9, 0,021 e 0,17 horas, sendo, respectivamente, o software e os filtros (GERDE, MALMLÖF, SELG, 2021).

Os dados obtidos através do software programado para simular a difusão através da via aérea obteve uma concordância razoável com os dados obtidos com o auxílio do método já validado e que utiliza material biológico. Obteve-se também a identificação da hipótese de que a diferença entre as polaridades das moléculas influenciava os resultados das previsões, uma vez que tal propriedade altera diretamente os processos ligados a absorção e a perfusão no tecido discutido (GERDE, MALMLÖF, SELG, 2021).

5.4 Regulação genética

Já no estudo realizado por Omoboyowa e colaboradores (2021) que além de utilizar os conhecimentos populares também buscou simular e identificar as influências da regulação de genes relacionados a inflamação nos tecidos. Eles utilizaram as análises *in silico* tendo como hipótese a regulação de genes pró inflamatórios para o alívio de dores relacionadas a úlcera gástrica através de uma molécula extraída da semente de *A. precatorius*, buscando a validação através de experimentos utilizando roedores, e avaliando os marcadores de expressão das citocinas de interesse.

Assim, os estudos *in silico* foram usados para medir a força de ligação e comparar a semelhança da molécula que apresentou maior afinidade com os fármacos já utilizados e conhecidos na indústria. Como resultado, obtiveram respostas positivas, evidenciando uma forma alternativa de se utilizar os estudos de QSAR, uma vez que este estudo usa como base o conhecimento regional (cultural) como orientador para os estudos *in vivo*, e os estudos *in silico* para confirmar e identificar a molécula com maior afinidade pelo sítio alvo (OMOBOYOWA et al., 2021).

5.5 Novos veículos farmacêuticos

Pensando na aplicabilidade das técnicas *in silico* na descoberta e desenvolvimento de tecnologias farmacêuticas específicas, podemos citar os trabalhos desenvolvidos por Carreño e colaboradores (2021) e Ahmadi e colaboradores (2021) que buscaram formular e sintetizar hidrogéis com a função de veículos para diferentes fármacos. Ambos utilizaram as mesmas metodologias *in silico* para auxiliar na síntese dos candidatos. Mesmo com diferenças nas aplicações, os estudos demonstram semelhanças, uma vez que ambos utilizam o *docking* molecular como forma de encontrar características favoráveis relacionadas a conformação da molécula a ser sintetizada, além de mensurar a liberação das substâncias de interesse. Estudos de QSAR também foram fundamentais para o andamento dos estudos devido a sua importância na identificação da força de ligação dos veículos e os fármacos.

Ambos os artigos apresentaram resultados adequados *in silico* frente às análises *in vivo* visto que selecionaram candidatos ideais e que apresentaram as atividades pretendidas quando exposto a um cenário mais realista através dos testes utilizando material biológico. Os estudos também foram capazes de identificar assertivamente quais candidatos iriam possuir maior atividade. Apesar disso, o artigo realizado por Ahmadi e colaboradores (2021) foi mais crítico e abrangente perante às análises e também trouxe como resultado a elucidação de parte do mecanismo de ação da via relacionada com a ação farmacológica pretendida. Neste estudo também foram realizados testes de ação antibacteriana e ADMET.

Esse estudo buscou encontrar novas moléculas relacionadas à adesão celular, os quais apresentaram comportamentos importantes para candidatos a hidrogéis. As investigações foram realizadas tanto por software como também através de estudos usando material biológico. Foram realizados testes de *docking* molecular com o objetivo de determinar as características relacionadas a afinidade de receptores ligados a adesão celular, buscando diferenças relacionadas à hidrofobicidade e aromaticidade da molécula. Os testes resultaram em dados que confirmaram a atividade pretendida dos dois peptídeos selecionados e a partir desse cenário as moléculas foram sintetizadas e suas estruturas confirmadas (AHMADI et al., 2021).

Em ambos os hidrogéis sintetizados foram realizados estudos para mensurar a capacidade de liberação de uma substância de interesse, além de também ser identificada e confirmada a capacidade de realizar a liberação de forma ideal. Testes sobre a capacidade antimicrobiana foram realizados de forma concomitante e ambas as formulações apresentaram a capacidade de inibir o crescimento bacteriano, sendo que uma delas teve sucesso em inibir cepas resistentes. Resultados que comprovaram a não toxicidade das moléculas foram avaliadas *in silico* e também *in vitro*, respectivamente, através de ADMET e cultura celular em meio permeado pelos géis estudados (AHMADI et al., 2021).

Enquanto Carreno e colaboradores buscaram sintetizar hidrogéis com o objetivo de utilizá-los como plataforma para liberação de fármacos aplicados ao tratamento de tumores. Através de técnicas *in silico* para modelar hidrogéis com características termo sensíveis específicas, reduziu o número de candidatos a formulação. Foram selecionados dois compostos utilizando o *docking* molecular, os quais foram totalmente caracterizados após a síntese e avaliados frente a

parâmetros farmacológicos antes previstos *in silico* (CARREÑO et al., 2021).

As previsões realizadas nesses estudos envolvendo análise de QSAR foram capazes de avaliar as interações moleculares, que indicavam que ambos os compostos teriam ligações de alta avidéz com os fármacos, promovendo uma liberação mais lenta. Porém, foi observado uma diferença em um dos candidatos, o qual demonstrou ser incapaz de manter-se ligado a todos os fármacos. Apesar da não conformidade, as análises *in silico* previram com eficiência qual seria o hidrogel mais adequado e com maior aplicabilidade terapêutica de acordo com o observado no estudo *in vitro*, além de selecionar dois candidatos biocompatíveis que apresentaram a atividade biológica desejada (CARREÑO et al., 2021).

5.6 Avaliação da atividade de compostos extraídos de produtos naturais em conjunto com as técnicas *in silico*

Alguns dos artigos selecionados utilizaram de forma eficiente os conhecimentos populares relacionados à fitoterapia para identificar substâncias presentes em determinadas plantas, simplificando a identificação de novos candidatos a fármacos com grande potencial de sucesso como descrito por Amanat e colaboradores (2021). Os autores utilizaram métodos *in silico* para prever e mensurar as atividades de sete compostos extraídos de uma planta utilizada de forma medicinal popularmente, além de testá-las frente a hepatotoxicidade induzida. Os métodos de simulação utilizados foram QSAR, *docking* e ADMET (AMANAT et al., 2021).

Os resultados demonstraram que os compostos estudados possuíam atividade hepatoprotetora quando avaliados no modelo com roedores, através da menor expressão de enzimas ligada ao processo tóxico. Contudo, esse método não permitiu avaliar todos os parâmetros. Portanto, como confirmação e para melhor compreensão do processo, os métodos *in silico* foram utilizados fornecendo dados que comprovam a segurança, a atividade e também torna possível a comparação com medicamentos já conhecidos e utilizados na medicina, porém o estudo não demonstra uma comparação direta dos resultados obtidos pelos diferentes métodos (AMANAT et al., 2021).

Outra forma de utilizar os métodos *in silico* de forma semelhante foi

demonstrada nos estudos realizados por Remya e colaboradores (2021), por Kamp e colaboradores (2021), Huai e colaboradores (2021), Groot e colaboradores (2021), Citi e colaboradores (2021) e por Rodriguez-Arévalo e colaboradores (2021) que aproveitaram conhecimentos prévios relacionados às ações de certas substâncias para nortear a pesquisa e diminuir os candidatos. Cada trabalho publicado tem individualidades relacionadas com as substâncias pesquisadas e também com o tecido e o alvo de interesse farmacológico.

Remya e colaboradores (2021) buscaram sintetizar e testar a atividade neuroprotetora de candidatos a fármacos, previamente selecionados utilizando como base um medicamento antes utilizado para a atividade pretendida que foi descontinuado devido a sua alta hepatotoxicidade. O método de *docking* foi utilizado para alterar e melhorar as estruturas da molécula, ajustando-a para a obtenção de moléculas com menor toxicidade hepática e que a atividade desejada seja mantida.

O modelo obteve sucesso, uma vez que um candidato viável foi encontrado por possuir aplicação farmacológica desejada, além de propriedades relacionadas a absorção e distribuição semelhantes a medicamentos já conhecidos e amplamente utilizados atualmente na medicina. Fato este que corrobora as chances de sucesso para a substância encontrada. Como a hepatotoxicidade era um fator importante, foram realizados testes para mensurar esse parâmetro *in vivo* e também foram obtidos dados que indicaram a baixa toxicidade hepática da molécula de maior potencial (REMYA et al., 2021).

Já Kamp e colaboradores (2021) analisaram o papel da inibição de complexos SDHI em mamíferos, estes que são utilizados historicamente pela sua ação fungicida, e tem mecanismos de ação já conhecido e os seus efeitos inibitórios associados a um aumento excessivo de lactato, succinato e ATP.

Para testar essa hipótese foi desenvolvido por meio de estudos de modelagem molecular e métodos ADMET uma simulação onde variantes como o estado fenotípico dos ratos e até mesmo o fluxo de elétrons eram mimetizados e considerados. Com o objetivo de prever e analisar as reações no metabolismo de mamíferos frente a inibição citada, foram ministradas nas cobaias substâncias que inibem os complexos citados e, portanto, era esperado um aumento das substâncias antes associadas. No entanto, foi observado no modelo *in silico* que o metabolismo das cobaias tinha sucesso em compensar essa perturbação metabólica e mantinham a homeostase (KAMP et al., 2021).

Concomitantemente foi realizado também um estudo *in vivo* com ratos, que depois de serem inoculados com as mesmas substâncias com potencial inibitório tiveram o sangue coletado e analisado através de cromatografia gasosa. Os resultados obtidos foram comparados ao estudo *in silico*, sendo observado efeitos semelhantes. Ao contrário do esperado, a inibição do complexo SDHI não gerou um grande aumento na expressão das moléculas de ATP, lactato e succinato em ambos os modelos. Além da comparação entre os testes, foi realizado ainda um comparativo que utilizava como fonte um banco de dados já validado, para comparar as reações humanas e de ratos frente a inibição desse complexo, e como resultado foi observado que não houve diferenças significativas entre os dois metabolismos. Porém, essa hipótese não foi testada por meio de experimentos *in vivo* e não pôde ser validada (KAMP et al., 2021).

O artigo de Groot (2021) buscou elucidar mecanismos de inibição de células T reguladoras através da descoberta de alvos terapêuticos, com o objetivo de atuar no controle de alergias e doenças autoimunes. Além disso, foram realizados outros testes a fim de mensurar parâmetros de importância farmacológica. Estudo *in vitro* e *in vivo* já validados foram realizados em conjunto para confirmar os resultados *in silico*.

Utilizando conhecimentos prévios sobre a papel regulatório de um fator de transcrição foram realizados estudos *in silico* filtrando as moléculas que possuíam as características estereoquímicas ideais e correspondentes. Deste modo, foram selecionados um total de seis peptídeos adequados para os testes *in vitro*, estes que simulavam as ligações com as moléculas de interesse. Ao passarem pela segunda etapa, os resultados descritos demonstraram que todos os seis candidatos pré selecionados pelo ensaio *in silico* possuíam as características exigidas, porém apenas um demonstrava a atividade imunomoduladora através da inibição de CD86 e HLA DR em células apresentadoras de antígenos. (GROOT et al., 2021).

Foram realizados também estudos com camundongos para mensurar e testar as inibições nas células de interesse, os quais demonstraram que o candidato selecionado como favorito resultou nos melhores resultados quando comparado aos outros cinco, sendo que alguns dos candidatos nem mesmo apresentaram a resposta pretendida (GROOT et al., 2021).

O artigo desenvolvido por Rodriguez-Arévalo (2021) buscou analisar toda uma família de substância frente a atividade de ligação com o receptor de interesse,

que já possuía a atividade relacionada com novas estratégias terapêuticas para doenças neurodegenerativas. Foram realizados estudos QSAR e também ADMET que permitiram a triagem e por conseguinte a identificação das substâncias com maior chance de apresentar a atividade desejada sem efeitos tóxicos. Foram sintetizadas as moléculas com melhor potencial e utilizadas no tratamento agudo de camundongos antes já usados para avaliar doenças neurodegenerativas.

Um dos compostos sintetizados neste estudo apresentou propriedades ideais nos estudos ADMET. Além de um ótimo perfil farmacocinético, os estudos *in vivo* realizados nos modelos validados resultaram em uma diminuição de proteínas envolvidas com a apoptose e reações oxidativas relacionadas à doença de Alzheimer, demonstrando concordância com as previsões. O estudo também pôde identificar elementos relevantes para a otimização estrutural de novas moléculas, uma vez que forneceu dados sobre a conformação estrutural e afinidade *in silico* fármaco-receptor dos receptores investigados (RODRIGUEZ-ARÉVALO, 2021).

O artigo desenvolvido por Huai e colaboradores (2021) buscou desenvolver um banco de dados com informações sobre os fitoterápicos utilizados no tratamento da osteoporose, resultando em um total de 86 compostos que foram testados pelo método ADMET e também *docking*. Foram selecionadas seis substâncias que demonstraram as características farmacológicas adequadas, além de também terem suas atividades validadas por ensaios *in vitro*, utilizando células de camundongos.

Como resultado as análises de correlação realizadas no banco de dados que continham os compostos pesquisados frente ao tratamento de osteoporose. Os 86 compostos e seus 58 alvos terapêuticos foram caracterizados através de três modelos ADMET diferentes. A maioria das substâncias apresentaram estar relacionadas aos mecanismos causadores da osteoporose. Foram também elucidados novos mecanismos de ação e que podem servir como base para a formulação de novas terapias, já que favorecem a melhor compreensão da patologia fisiologicamente. O estudo definiu que apenas seis ativos apresentaram o efeito desejado nas concentrações testadas, porém confirmou a necessidade de mais testes a fim de validar os resultados farmacológicos (HUAI et al., 2021).

Utilizando o mesmo entendimento, o estudo realizado por Wilt e colaboradores (2021) utilizou como base a estrutura química do medicamento benzotiazol, este que foi historicamente utilizado pela indústria farmacêutica, para produzir uma biblioteca com estruturas químicas análogas, as quais foram testadas

frente a atividades inibitórias enzimáticas distintas, mas que afetam a mesma via de interesse e que resultam no efeito fisiológico desejado. A atividade foi testada para ambas as atividades uma vez que substâncias que possuem múltiplos alvos terapêuticos têm a capacidade de produzir um maior efeito terapêutico, além de possuir menor chance de gerar efeitos adversos quando comparados com medicamentos que possuem alvos únicos.

De acordo com os resultados obtidos através do método de *docking* molecular foi identificada uma porção da molécula que possui função importante para co-inibição das enzimas e que estava presente em alguns dos candidatos que integram o banco de dados. Além disso, testes de ADMET foram realizados com o objetivo de prever as propriedades farmacodinâmicas da nova classe de co-inibidores estudada, identificadas por sua porção 4-feniltiazol, que serviram para identificar quais das substâncias possuíam características adequadas para candidatos a novos fármacos e posteriormente passariam por mais estudos utilizando técnicas *in vivo* (WILT et al., 2021).

Após os testes que funcionaram como filtros para os candidatos, uma substância foi selecionada e testada *in vivo* através de ensaios já validados utilizando roedores, confirmando que a substância selecionada produz o efeito anti-inflamatório desejado, podendo ser comparado os efeitos de altas doses de um anti-inflamatório não esteroideal tradicional, amplamente utilizado atualmente. Além do sucesso do encontro e da confirmação de um candidato viável a fármaco, também foram levantados dados importantes e que possibilitaram a descoberta de uma nova classe de compostos, os quais possuem uma parte da molécula com afinidade com duas enzimas importantes para o processo. Essas informações só puderam ser descritas através dos estudos de *docking* (WILT et al., 2021).

O método de *docking* inverso foi utilizado apenas no estudo de Low e colaboradores (2021) o qual buscou validar um método *in silico* para identificar alvos farmacológicos para potenciais novas substâncias na terapia da diabetes mellitus. A validação aconteceu comparando essa metodologia com o método *in vitro*, que ao final dos testes teve seu resultado confirmado através do experimento *in vivo*, o qual utilizava culturas celulares.

Inicialmente foram realizados estudos para identificar compostos com ação no alvo de interesse através do método de *docking* inverso, o que resultou um total de 27 compostos. Estes foram testados também frente a atividade nos receptores

conhecidos e relacionados ao tratamento da diabetes mellitus e três candidatos foram selecionados. Durante o experimento de validação, um dos candidatos foi identificado como responsivo e eficiente, e quando testado *in vivo* também obteve resultados positivos frente a atividade desejada (LOW et al., 2021).

Em sua discussão foi correlacionado apenas os resultados obtidos por diferentes softwares, e também foi evidenciado que mesmo com a possibilidade de melhorias a serem aplicáveis ao método sugerido, o método obteve sucesso ao encontrar um candidato viável. Esta substância após sintetizada teve sua atividade comprovada através de testes em culturas celulares, confirmando, assim, os resultados *in silico* (LOW et al., 2021).

O artigo de Citi (2021) avaliou vinte e cinco substâncias pré selecionadas por meio de análise da literatura, utilizando o auxílio os de estudos *in silico* para prever os parâmetros de absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade (ADMET). Além disso, realizaram estudos de *docking* para a identificação dos candidatos com maiores potenciais para as atividades pretendidas.

Utilizando o *docking*, os vinte e cinco candidatos foram testados através de suas relativas atividades frente a alvos farmacológicos já conhecidos, resultando em um total de três substâncias que apresentavam as características exigidas, e somado aos resultados do método ADMET, foi determinado o melhor candidato. Essa hipótese pôde ser confirmada através de ensaios *in vitro* com base em reações químicas conhecidas, e também através de ensaios *ex vivo* e *in vivo*, usando xenoenxertos e culturas celulares. De acordo com o estudo, o método foi eficiente e um candidato a fármaco com a função cardioprotetora foi encontrado (CITI et al., 2021).

5.7 Identificação de metabólitos

Alguns trabalhos utilizaram as metodologias *in silico* para a identificação de possíveis produtos de degradação de uma determinada molécula, além de somar os métodos disponíveis em prol de um mesmo objetivo, como no desenvolvido por Husain e colaboradores (2021). Estes autores buscaram identificar metabólitos do acetato de eslicarbazepina por meio de estudos utilizando um somatório dos métodos *in vivo*, *in vitro* e *in silico* para facilitar a identificação elucidando das

estruturas dos metabólitos de interesse. Quando comparados os resultados das análises utilizando modelagem molecular com as análises das cobaias, dos 8 metabólitos encontrados somente 3 tiveram evidências experimentais, enquanto somente uma molécula pode ser comprovada através de mais estudos farmacológicos e *in vivo*.

Usada para diminuir e nortear as possibilidades para os inúmeros metabólitos possíveis, as previsões *in silico* foram aplicadas com a finalidade de resumir os resultados para oito candidatos nos quais um pôde ser confirmado e comprovado *in vivo*. É importante definir que não foi utilizado banco de dados, uma vez que o software utilizado para fazer as previsões simulou o pH, a taxa de proteínas, e outros parâmetros pouco específicos para obter os resultados (HUSAIN et al., 2021).

5.8 Triagem de candidatos a fármacos

Como representado pelos estudos desenvolvidos por Pathania e colaboradores (2021) e Sava e colaboradores (2021), a forma mais comum de aplicação para os modelos *in silico* são quando utilizados para triagem de moléculas com ação no alvo de interesse. Ambos buscaram identificar a afinidade de uma substância frente ao receptor estudado, e nos dois casos a afinidade do candidato selecionado através do *docking* foi confirmada. Ainda assim, cada estudo utilizou abordagens distintas.

O estudo realizado por Pathania e colaboradores (2021), buscou avaliar a capacidade da molécula HXT, presente no azeite de oliva, de inibir a enzima MAO-B, mantendo a dopamina durante a doença de Parkinson. Os estudos de *docking* molecular e QSAR foram utilizados para quantificar a afinidade da molécula pela enzima, quando comparado aos fármacos já conhecidos. Ambos deveriam possuir atividades e afinidades semelhantes e além disso, também foram realizadas simulações a fim de mensurar a estabilidade da ligação entre o candidato a medicamento e seu alvo.

Os resultados obtidos demonstraram tanto a afinidade, como as semelhanças entre a molécula estudada e um medicamento já utilizado no tratamento da doença investigada. Foi comprovado também a estabilidade da ligação através da simulação do cenário farmacológico. Com esses dados coletados, estudos *in vivo* e *in vitro*

foram realizados, utilizando camundongos e plaquetas humanas, respectivamente, para mensurar os efeitos das substâncias sob a enzima alvo, que confirmaram os resultados nesses modelos (PATHANIA et al., 2021).

Já Sava e colaboradores (2021) buscaram sintetizar diversos candidatos a fármacos anti-inflamatórios e utilizou os métodos *in silico* para guiar os testes e identificar a molécula que apresentava as características mais favoráveis frente a ação pretendida. O estudo utilizou o *docking* molecular para formular os candidatos e também o método ADMET para prever a toxicidade das moléculas com melhor potencial. Estudos *in vitro* também foram realizados para mensurar a atividade desejada através do teste de dissolução de proteínas específicas, o qual já foi validado, uma vez que demonstrou resultados correspondentes aos ensaios *in vivo*.

Como resultado, das dezenove moléculas encontradas foram obtidos dados que indicaram duas moléculas com maior potencial e as quais tiveram demonstraram também valores de baixa toxicidade frente os modelos *in silico*. Em ambos os estudos, essas mesmas moléculas tiveram os melhores resultados frente a todos os candidatos, demonstrando uma forte correlação entre os modelos. Além disso, também demonstrou sucesso do método já que foram encontrados dois candidatos viáveis a fármacos anti-inflamatórios (SAVA et al., 2021).

6. DISCUSSÃO

A partir dos resultados analisados, foi identificado que as pesquisas, em sua maioria, utilizam as metodologias *in silico* de forma a nortear os estudos que utilizam materiais biológicos. Seja para triagem, diminuindo as possíveis moléculas de interesse de acordo com o potencial de atividade identificados por QARS, ou seja, através da previsão da toxicidade ou outros parâmetros farmacológicos por ADMET, ou sintetizando, aprimorando ou comparando moléculas por *docking* molecular, que também vai servir como uma espécie de filtro, reduzindo o número de moléculas de interesse. Além disso, estes métodos podem guiar os ensaios biológicos que serão utilizados para confirmar os mecanismos de ação da substância de interesse sintetizada, uma vez que com simulações é possível identificar ou sugerir mecanismos de interação.

Apesar disso, existem estudos que buscaram aprimoramento e inovaram, utilizando as tecnologias *in silico* de forma complementar aos conhecimentos já produzidos. Estes estudos foram realizados testando moléculas fitoterápicas que foram usadas ao longo da história pela humanidade, fármacos que foram descontinuados por apresentarem alguma propriedade tóxica, elaborando banco de dados com estruturas de substâncias conhecidas, entre outras formas de conhecimento. Assim, podem garantir que os testes *in vivo* e *in vitro* tenham resultados mais assertivos, podendo gerar uma diminuição nas possíveis falhas relacionadas ao desenvolvimento de um novo medicamento.

Levando em consideração os resultados obtidos nos estudos que utilizavam as técnicas *in silico* como filtro, foram observados dados que comprovam o sucesso do método, já que todos os estudos que buscaram confirmar a atividade e outras previsões tiveram sucesso. Isto demonstra que o uso das técnicas *in silico* aliados aos conhecimentos disponíveis sobre a fisiologia humana e das doenças, além de todo o conhecimento farmacêutico, podem ser uma saída válida e com resultados eficazes para a identificação de novos medicamentos ou até mesmo outras tecnologias farmacêuticas.

É importante ressaltar a vasta gama de aplicabilidade dos métodos *in silico*, visto que podem simular todos os tecidos, desde que existam dados suficientes e de qualidade sobre o tema estudado, assim servindo como um aliado importante dentro dos setores que envolvem a descoberta e inovação nos produtos farmacêuticos.

Foram observados no estudo métodos já validados que envolviam a penetração nos tecidos que formam a pele e a absorção pelas vias aéreas, assim demonstrando as possibilidades que ainda são pouco exploradas devido à falta de estudos que buscam o aprimoramento dos métodos aqui investigados.

Poucos estudos buscavam identificar, ou comentavam de forma crítica às limitações dos métodos da bioinformática e comparavam de forma objetiva os resultados obtidos pelos estudos *in silico* com os obtidos através de estudos *in vivo*. Esse é um fator crucial e atualmente limitante para a melhoria contínua desses métodos, porém, mesmo com a escassez de dados disponíveis atualmente, foi possível identificar diferenças entre os resultados obtidos pelos softwares quando comparados aos tecidos biológicos analisados ou por métodos *in vitro* que sintetizam esses tecidos. Dessa forma, as informações sobre o tecido foi o fator mais citado como fundamental para a obtenção de resultados preditivos mais próximos a valores reais a quantidade de variantes conhecidas, de importância para o processo estudado e que são levadas em consideração pelos softwares de predição.

Alguns dos artigos selecionados buscaram comparar de forma direta os métodos além de buscar comparar softwares diferentes frente a uma mesma metodologia e não somente de forma confirmatória. Todos demonstraram resultados que validavam os métodos *in silico* e demonstraram que os resultados obtidos por estes métodos, quando utilizados de forma correta e baseada em dados confiáveis, possuem uma correlação aceitável com os estudos *in vivo*.

Somente dois artigos, descritos por Khera (2021) e Gerde (2021), compararam dados mensuráveis obtidos pelos métodos biológicos e bioinformáticos, e como resultado a variação entre os dados foram de 100 microns em relação a penetração dérmica, e de 1,35 minutos em relação a perfusão pelas vias aéreas. Tais valores foram considerados aceitáveis. Comparações objetivas são fundamentais para a compreensão dos reais potenciais e limitações das metodologias *in silico*, uma vez que tendo estas informações, testes relacionados aos parâmetros investigados podem ser realizados de forma mais realista, aumentando, assim, as chances de resultados mais precisos além de possibilitaram a validação dos programas e métodos.

Um fator de destaque foi a importância dos métodos frente a elucidação de mecanismos de ação das substâncias, além de permitirem identificar quais dos fatores conhecidos possuem uma maior correlação com a atividade investigada,

através do auxílio das análises estatísticas e outros conhecimentos prévios. Através dos métodos de *docking* e QSAR foi possível auxiliar e guiar a identificação em relação a estrutura de moléculas e seus papéis terapêuticos, permitindo assim uma clareza maior sobre atividades fisiológicas ainda não esclarecidas. A aplicação das metodologias *in silico* para elucidação de mecanismos de ação podem fornecer resultados fundamentais para identificação de novos alvos de interesse, assim reduzindo os custos e aumentando as chances de sucesso na descoberta de uma nova tecnologia.

A utilização de alguns dos softwares aqui investigados exigem uma ampla base de dados confiáveis e de qualidade que justifiquem, qualifiquem e validem as predições. Portanto, mais estudos se fazem necessários, para que comparem os resultados obtidos entre os métodos computacionais e os biológicos nas mais diversas áreas de forma detalhada, disponibilizando o maior número possível de detalhes e resultados. Principalmente para identificar mais informações sobre os tecidos e a sua importância, assim como também cada variável importante para os processos de interesse.

Sendo assim, foi identificado como um fator limitante dos estudos *in silico* aplicados a medicamentos, a dependência relacionada aos dados sobre os tecidos e detalhes sobre processos que lá ocorrem, uma vez que são, em sua maioria, muito específicos e sofrem diversas influências. Nesse sentido, é necessário conhecer a estrutura de cada proteína, célula e molécula (além de fatores como a eletronegatividade) envolvida no processo para que os resultados sejam mais realistas (BJÖRVANG et al., 2021). Portanto, faz-se necessário uma ampla divulgação de todos os detalhes possíveis em relação às vias de administração e também metabólicas de interesse medicinal, assim como as agências internacionais fazem com os dados já obtidos sobre os estudos toxicológicos, para o aprimoramento das técnicas *in silico* (SANTOS, 2011).

Ainda existem limitações importantes que não foram consideradas por outros estudos e que também, provavelmente, influenciaram diretamente os dados obtidos através dos métodos *in silico* que são comuns em artigos que os utilizam, como a variabilidade biológica. A variabilidade biológica é comum a qualquer sistema natural e vai influenciar diretamente a correlação entre os resultados obtidos *in vivo* e *in silico* (KUSTER et al., 2021). Sendo este um fator de importância para a maioria dos testes, fica evidente a importância de mais estudos críticos sobre os métodos e

modelos *in silico* a fim de contribuir para que sejam aprimorados e ofereçam resultados mais realistas.

7. CONCLUSÃO

As evidências relacionadas aos métodos *in silico* demonstram que esses estudos possuem uma vasta aplicabilidade, sendo os estudos mais utilizados de ADMET, QSAR, *docking* e *docking* inverso.

Estes métodos são aplicados em vários modelos, como a absorção pelas vias aéreas, penetração na derme, entre outros, os quais possuem um grande potencial, principalmente para orientar tanto ao delineamento de novos medicamentos através do *docking* molecular.

Através do ensaio ADMET, os métodos são aplicados também para diminuir os gastos com a pesquisa necessária para estipular parâmetros farmacológicos que são fundamentais para que um candidato a fármaco atenda a todas as características necessárias para ser aceito e utilizado como medicamento.

Além disso, os estudos computadorizados também foram aplicados na elucidação dos mecanismos de ação dos novos medicamentos.

Frente às grandes vantagens desses métodos existem limitações relacionadas à necessidade de dados que auxiliem a modelagem molecular e outros parâmetros utilizados pelos softwares. Outra limitação é a necessidade de uma definição das variantes importantes para cada processo estudado, já que tais fatores podem influenciar de forma direta os resultados obtidos.

Portanto, é necessário que haja mais estudos envolvendo dados que relacionem os resultados baseados em estudos *in vivo* a estudos *in silico* envolvendo parâmetros de precisão e acurácia, para que torne estes métodos mais confiáveis e aplicáveis às mais diversas situações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMADI, Z. YADAV, S.; KAR, A. K.; JHA, D.; GAUTAM, H. K.; PATNAIK, S.; KUMAR, P.; SHARMA, A. K. An injectable self-assembling hydrogel based on RGD peptidomimetic β -sheets as multifunctional biomaterials. **Biomaterials Advances**, v. 133, n. 112633, 2022.

AMANAT, M. REZA, M. S.; SHUVO, M. S. R.; AHMED, K. S.; HOSSAIN, H.; TAWHID, M.; SAIFUZZAMAN, M.; ISLAM, M. S.; MAZUMDER, T.; ISLAN, M. A.; DAULA, A. F. M. S. U. Zingiber roseum Rosc. rhizome: A rich source of hepatoprotective polyphenols. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 139, n. 111673, 2021.

BJÖRVANG, R. D.; MARIE-THERESE, V.; NIKOS, P.; SEBASTIAN, G.; LINN, S. M.; DANIEL, M.; HANNU, K.; PANU, R.; PAIVI, R.; CHRISTIAN, H. L.; CLAUS, Y. A.; PAULIINA, D.; Mixtures of persistent organic pollutants are found in vital organs of late gestation human fetuses. **Chemosphere**, v. 283, n. 131125, p. 1-12, 2021.

BRASIL. BNDS, O novo cenário de concorrência na indústria farmacêutica brasileira. Brasília, Biblioteca Digital, 2015. Disponível em: < https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/bitstream/1408/4541/1/BS%2039%20o%20novo%20cen%20c3%a1rio%20de%20concorrenca_P.pdf >. Acesso em: 05/08/2022.

CAO, Y.; KHAN, A.; BALAKHEYLI, H.; LUP, A. N. K.; TAGHARRTAPEH, M. R.; MIRZAEI, H.; KHANDOOZI, S. R.; SOLTANI, A.; AGHAEI, M.; HEIDARI, F.; SARKAR, S. M.; ALDABARIN, A. B. Penicillamine functionalized B12N12 and B12CaN12 nanocages act as potential inhibitors of proinflammatory cytokines: A combined DFT analysis, ADMET and molecular docking study. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 14, n. 103200, p. 1-16, 2021.

CARREÑO, G. PEREIRA, A.; ÁVILA-SALAS, F.; MARICAN, A.; ANDRADE, F.; ROCA-MELENDES, M. M.; VALDÉS, O.; VIJAYAKUMAR, S.; SCHWARTZ S. JR.; ABASOLO, I.; RAFAEL, D.; DURÁN-LARA, E. F. Development of “on-demand” thermo-responsive hydrogels for anti-cancer drugs sustained release: Rational design, in silico prediction and in vitro validation in colon cancer models. **Materials Science and Engineering: C**, v. 131, n. 112483, 2021.

CITI, V.; CORVINO, A.; FIORINO, F.; FRECENTESE, F.; MAGLI, E.; PERISSUTTI, E.; SANTAGADA, V.; BROGI, S.; FLORI, L.; GORICA, E.; TESTAI, L.; MARTELLI, A.; CALDERONE V.; CALIENDO, G.; SEVERINO, B. Structure-activity relationships study of isothiocyanates for H₂S releasing properties: 3-Pyridyl-isothiocyanate as a new promising cardioprotective agent. **Journal of Advanced Research**, v. 27, p. 41–53. 2021.

CHI, L. H.; BURROWS, A. D.; ANDERSON, R. L. Can preclinical drug development help to predict adverse events in clinical trials? **Drug Discovery Today**, v. 27, n. 1, p. 257–268. 2022.

CRAMPON, K.; GIORKALLOS, A.; DELDOSSI, M.; BAUD, S.; STEFFENEL, L. A. Machine-learning methods for ligand–protein molecular docking. **Drug Discovery Today**, v. 27, n. 1, p. 151-164, 2021.

DOKE, S. K.; DHAWALE, S. C. Alternatives to animal testing: A review. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 23, n. 3, p. 223–229. 2015.

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

GERDE, P.; MALMLÖF, M.; SELG, E. In Vitro to ex Vivo/In Vivo Correlation (IVIVC) of dissolution kinetics from inhaled particulate solutes using air/blood barrier models: Relation between in vitro design, lung physiology and kinetic output of models. **Journal of Aerosol Science**, v. 151, n. 105698, 2021.

GHOSH, K.; AMIM, S. A.; GAYEN, S.; JHA, T.; Chemical-informatics approach to COVID-19 drug discovery: Exploration of important fragments and data mining based prediction of some hits from natural origins as main protease (Mpro) inhibitors. **Journal of Molecular Structure**, v. 1224, n. 129026, p. 1-10, 2021.

GRAHAM, J. C.; RODAS, M.; HILLEGASS, J.; SCHULZE, G. The performance, reliability and potential application of in silico models for predicting the acute oral toxicity of pharmaceutical compounds. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 119, n. 104816. 2021.

GRÉGOIRE, S. SORRELL, I.; LANGE, D.; NAJJAR, A.; SCHEPKY, A.; ELLISON, C.; TROUTMAN, J.; FABIAN, E.; DUPLAN, H.; GENIES, C.; JAMIN-JACQUES, C.; MARTINA, K.; HEWITT, N. J. Cosmetics Europe evaluation of 6 in silico skin penetration models. **Computational Toxicology**, v. 19, n. 100177, 2021.

GROOT, A. S.; ROSENBERG, A. S.; MIAH, S. M. S.; SKOWRON, G.; ROBERTS, B. J.; LÉLIAS, S.; TERRY F. E.; MARTIN, W. D. Identification of a potent regulatory T cell epitope in factor V that modulates CD4+ and CD8+ memory T cell responses. **Clinical Immunology**, v. 224, n. 108661, 2021.

HINES, D. E.; ZHANG, J.; CHANG, X.; BELL, S. M.; LEE, K. M. Application of open-source PBPK models in rat-to-human pharmacokinetic extrapolation of oral nicotine exposure. **Computational Toxicology**, v. 20, p. 100182. 2021.

HUAI, Y.; ZHANG W-J.; WANG, W.; DANG, K.; JIANG, S-F.; LI, D-M.; LI, M.; HAO, Q.; MIAO, Z-P.; LI, Y.; QIAN, A-R. Systems pharmacology dissection of action mechanisms for herbs in osteoporosis treatment. **Chinese Herbal Medicines**, v. 13, n. 3, p. 313–331, 2021.

HUSAIN, A. IRAM, F.; SIDDIQUI, A. A.; ALMUTAIRI, S. M.; MOHAMMED, O. B.; KHAN, S. A.; AZMI, S. N. H.; RAHMAN, N. Identification of metabolic pathways involved in the biotransformation of eslicarbazepine acetate using UPLC-MS/MS, human microsomal enzymes and in silico studies. **Journal of King Saud University - Science**, v. 33, n. 2, p. 101281, 2021.

JI, Z. L.; WANG Y.; YU L.; HAN L. Y.; ZHENG C. J.; CHEN Y. Z. In silico search of putative adverse drug reaction related proteins as a potential tool for facilitating drug adverse effect prediction. **Toxicology Letters**, v. 164, n. 2, p. 104–112. 2006.

KAMP, H. WAHRHEIT, J.; STINCHCOMBE, S.; WALK, T.; STAUBER, F.; RAVENZWAAY, B. V. Succinate dehydrogenase inhibitors: in silico flux analysis and in vivo metabolomics investigations show no severe metabolic consequences for rats and humans. **Food and Chemical Toxicology**, v. 150, n. 112085, 2021.

KHARKAR, P. S.; WARRIER, S.; GAUD, R. S. Reverse docking: a powerful tool for drug repositioning and drug rescue. **Future Medicinal Chemistry**, v. 6, n. 3, 2014.

KHERA, E. CILLIERS, C.; SMITH, M. D.; GANNO, M. L.; LAI, K. C.; KEATING, T. A.; KOPP, A.; NESSLER, I.; ABU-YOUSIF, A. O.; THURBER, G. M. Quantifying ADC bystander payload penetration with cellular resolution using pharmacodynamic mapping. **Neoplasia**, v. 23, n. 2, p. 210–221, 2021.

KUPERVASSER, O. **Quantitative Structure-Activity Relationship Modeling and Bayesian Networks: Optimality of Naive Bayes Model**. IntechOpen, 23 p., 2019.

KUSTER, C. J.; BAUMANN, J.; BRAUN, S. M.; FISHER, P.; HEWITT, N. J.; BECK, M.; WEYSER, F.; GOERLITZ, L.; SALMINE, P.; DIETRICH, C. R., WANG, M.; ERNST, M. In silico prediction of dermal absorption from non-dietary exposure to plant protection products. **Computational Toxicology**, v. 24, n. 10242, 2022.

LOW, J.-L. DU, W.; GOCHA, T.; OGUZ, G.; ZHANG, X.; CHEN, M. W.; MASIREVIC, S.; YIN, D. G. R.; TAN I. B. H.; RASAMY, A.; FAN, H.; DASGUPTA, R.; Molecular docking-aided identification of small molecule inhibitors targeting β -catenin-TCF4 interaction. **iScience**, v. 24, n. 6, p. 102544, 2021.

MILLER, C.; PADMOS, R.; M., KOLK, M. V. D.; JÓZSA, T. I.; SAMUELS, N.; XUE, Y.; PAYNE, S. J.; HOEKSTRA, A. G. In silico trials for treatment of acute ischemic stroke: Design and implementation. **Computers in Biology and Medicine**, v. 137, n. 104802, 2021.

OMOBOYOWA, D. A.; OMOMULE, O. M.; BALOGUN, T. A.; SAIBU, O. A.; METIBEMU, D. S. Protective potential of ethylacetate extract of *Abrus precatorius* (Linn) seeds against HCl/EtOH-induced gastric ulcer via pro-inflammatory regulation: In vivo and in silico study. **Phytomedicine Plus**, v. 1, n. 4, p. 100145, 2021.

PATHANIA, A.; KUMAR, R.; SANDHIR, R. Hydroxytyrosol as anti-parkinsonian molecule: Assessment using in-silico and MPTP-induced Parkinson's disease model. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 139, n. 111525, 2021.

PUTRI, D. E. K.; PRANOWO, H. D.; WIJAYA, A. R.; SURYANI, N.; UTAMII, M.; SUMA, A. A. T.; CHUNG, W. J.; ALMUTAIRI, S. M.; HUSSEIN, D. S.; RASHEED, R. A.; RANGANATHAN, V. The predicted models of anti-colon cancer and anti-hepatoma activities of substituted 4-anilino coumarin derivatives using quantitative structure-activity relationship (QSAR). **Journal of King Saud University - Science**, v. 34, n. 101837, 2022.

REMYA, C. DILEEP, K. V.; REDDY, E. K.; MANTOSH, K.; LAKSHMIA, K.; JACOB, R. S.; SAJITH, A. M.; VARIYAR, E. J.; ANWAR, S.; ZHANG, K. Y. J.; SADASIVAN, C.; OMKUMAR, R. V. Neuroprotective derivatives of tacrine that target NMDA receptor and acetyl cholinesterase – Design, synthesis and biological evaluation. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, v. 19, p. 4517–4537, 2021.

Resolução Normativa – RDC nº25, 29 de Setembro de 2015, Diário Oficial da União, CONCEA, Brasília, DF.

RODRIGUEZ-ARÉVALO, S. BAGAN, A.; FERRÉ-GRINÁN, C.; VASILOPOULOU, F.; PALLÀS, M.; BROCCOS-MOSQUERA, I.; CALLADO, LUIS. F.; LOZA, M. I.; MARTÍNEZ, A. L.; BREA, J.; PÉREZ, B.; MOLINS, E.; JONGHE, S.; DAELEMANS, D.; RADAN, M.; DJIKIC, T.; NIKOLIC, K.; HERNÁNDEZ- HERNÁNDEZ, E.; ESCOLANO, C. Benzofuranyl-2-imidazoles as imidazoline I2 receptor ligands for Alzheimer's disease. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 222, n. 113540, 2021.

RUDRAPAL, M.; GOGOI, N.; CHETIA, D.; KHAN, J.; BANWAS, S.; ALSHEHRI, B.; ALAIDAROUS, M. A.; LADDHA, U. D.; KHAIRNAR, S. J.; WALODE, S. G. Repurposing of phytomedicine-derived bioactive compounds with promising anti-SARS-CoV-2 potential: Molecular docking, MD simulation and drug-likeness/ADMET studies. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 29, n. 4, p. 2432–2446. 2022.

SANTOS, E. M. C. Toxicologia in silico: uma nova abordagem para análise do risco químico. **RevInter Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 4, n. 1, p. 47-63, 2011.

SAVA, A.; BURON, F.; ROUTIER, S.; PANAINTE, A.; BIBIRE, N.; PROFIRE, L. New nitric oxide-releasing indomethacin derivatives with 1,3-thiazolidine-4-one scaffold: Design, synthesis, in silico and in vitro studies. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 139, n. 111678, 2021.

SILVA, M. R. M.; NEGREIROS, P. S.; SANTOS, P. S. Integração do uso de técnicas de análise computacional na P&D farmacêutica moderna. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 7, p. e3111729672–e3111729672. 2022.

SOLTANI, A.; KHAN, A.; MIRZAEI, H.; ONAQ, M.; JAVAN, M.; TAVASSOLI, S.; MAHMOODI, N. O.; NIA, A. A.; YAHYZADEH, A.; SALEHI, A.; KHANDOOZI, S. R.; MASJEDI, R. K.; RAHMAN, M. L.; SARJADI, M. S.; SARKAR, S. M.; SU, C. Improvement of anti-inflammatory and anticancer activities of poly (lactic-co-glycolic acid)-sulfasalazine microparticle via density functional theory, molecular docking and ADMET analysis. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 15, n. 1, p. 103464. 2022.

TERSTAPPEN, G. C.; REGGIANI, A. In silico research in drug discovery. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 22, n. 1, p. 23–26. 2001.

WILT, S.; KODANI, S.; VALENCIA, L.; HUDSON, P. K.; SANCHEZ, S.; QUINTANA, T.; MORISSEAU, C.; HAMMOCK, B. D.; KANDASAMY, R.; PECIC, S. Further exploration of the structure-activity relationship of dual soluble epoxide

hydrolase/fatty acid amide hydrolase inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 51, n. 116507, 2021.

WU, F. ZHOU Y.; LI, L.; SHEN X.; CHEN, G.; WANG, X.; LIANG, X.; TAN, M.; HUANG, Z. Computational approaches in preclinical studies on drug discovery and development. **Frontiers in Chemistry**, v. 8. 2020.