



CIÊNCIAS EXATAS E DA TERRA

Prospecção *in silico* de produtos naturais inibidores da enzima de replicação viral NS5 RDRP do vírus do Nilo Ocidental***In silico* Prospecting of natural products inhibitors of the viral replication enzyme NS5 RdRp of West Nile virus**

Tales Natan Freitas da Silva¹, Natalia Raquel Silva Oliveira²,
Henriqueta Monalisa Farias³, Franklin Ferreira de Farias Nóbrega⁴,
Rafael Trindade Maia⁵

RESUMO

O VNO (Vírus do Nilo Ocidental) é um flavivírus agente etiológico da zoonose Febre do Nilo Ocidental. É transmitido por mosquitos do gênero *Culex*, e as aves são os principais reservatórios do vírus. Essa virose é responsável por uma encefalite que nos casos mais graves pode acarretar sequelas permanentes e chegar ao óbito. No ano de 2014 foi registrado o primeiro caso de infecção pelo vírus do Nilo Ocidental em humanos em território nacional, comprovando que o vírus já circula no nosso país. Ainda não existe vacina ou medicamentos específicos contra o VNO e o combate à doença é focado no monitoramento dos reservatórios (aves e animais domésticos), combate ao inseto vetor e tratamento paliativo dos acometidos. Neste contexto, essa proposta de pesquisa tem como objetivo selecionar compostos que possam ser utilizados como fármacos antivirais, utilizando como molécula alvo a proteína de replicação viral NS5.

Palavras-chave: Flavivírus; produtos naturais; bioinformática; *docking*.

ABSTRACT

WNV (West Nile Virus) is a flavivirus, the etiological agent of West Nile Fever zoonosis. It is transmitted by mosquitoes of the Culex genus, and birds are the main reservoir of the virus. This virus is responsible for encephalitis that, in the most severe cases, can cause permanent sequelae which can lead to death. In 2014, the first case of West Nile virus infection in humans was registered in national territory, proving that the virus is already circulating in our country. There is still no vaccine or specific medication against VNO and the efforts against the disease are focused on monitoring reservoirs (birds and domestic animals), combating the vector insect, and palliative treatment of those affected. Within this context, this research proposal aims to select compounds that can be used as antiviral drugs, using the viral replication protein NS5 as a target molecule.

Keywords: *Flavivirus; natural products; bioinformatics; docking.*

¹ Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Centro de Educação e Saúde, Campina Grande/PB – Brasil. E-mail: tales.freitas1@yahoo.com.br

² Idem. E-mail: raquelnatalia56@gmail.com

³ Idem. E-mail: monalisa_miller@hotmail.com

⁴ Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, Campina Grande/PB – Brasil. E-mail: nobrega.franklin13@gmail.com

⁵ Idem. E-mail: rafael.rafatrin@gmail.com



1. INTRODUÇÃO

O VNO (Vírus do Nilo Ocidental) se trata de um arbovírus da família Flaviviridae e do gênero *Flavivirus*, mesmo gênero dos vírus Zika, dengue e da febre amarela. O VNO é o agente etiológico da FNO (Febre do Nilo Ocidental), trata-se de uma arbovirose transmitida por mosquitos da família Culicidae, principalmente aqueles do gênero *Culex*.

Tal vírus existe endemicamente na África, incluindo a Uganda, onde nasce o rio Nilo, daí vem o seu nome. O VNO teve seus primeiros casos relatados na América do Norte em 1999 com mais de 27.500 casos humanos da infecção por WNV tendo sido reportados nos Estados Unidos da América (EUA), mais de 1000 casos fatais. Recentemente foi confirmada a existência do vírus também no Hemisfério Sul pela detecção de animais infectados com o VNO em território Sul-Americano. (PAUVOLID-CORRÊA; VARELLA, 2008).

A infecção em humanos, geralmente é acompanhada por sinais leves, mas em pessoas imunocomprometidas os sintomas podem ser mais graves. A doença é caracterizada por sintomas como cefaleia, fadiga, dores musculares e hipertermia, também podem aparecer manchas vermelhas na pele e sinais gastrointestinais. Em casos mais graves os indivíduos infectados podem desenvolver paralisia flácida e dificuldade de concentração. (SILVA, 2016).

As aves são muito importantes no ciclo de transmissão desse vírus, pois são fontes de transmissão para mosquitos, que posteriormente transmitem o VNO para equinos, outros animais e para o homem. As aves são os principais reservatórios do VNO pelo fato de apresentarem alta viremia, constituindo fonte de infecção para os mosquitos vetores. (OMETTO, 2014).

O Brasil, por suas condições ecológicas, apresenta a segunda maior avifauna do globo terrestre, além disso, também recebe centenas de espécies de aves migratórias do hemisfério norte e de possuir uma grande diversidade de espécies de vetores que favorecem a manutenção do vírus, se este for introduzido. (LUNA; PEREIRA; SOUZA, 2003).

Alguns anos atrás, em 2014, um trabalhador de área rural no Brasil apresentou sintomas clínicos de encefalite aguda. Em seguida, foram coletadas amostras de material biológico (sangue, líquido cefalorraquidiano e fezes), que foram enviadas ao Instituto Evandro Chagas. Após algumas análises, foi confirmado o primeiro caso de VNO em humanos no Brasil. Tal acontecimento tem causado preocupação e levantou a hipótese de possíveis surtos no Brasil, o que pode ocasionar grandes problemas para a saúde pública em um futuro bem próximo. (FLORES; WEIBLEIN, 2009).

O controle da infecção pelo VNO em áreas endêmicas baseia-se no combate aos insetos e na aplicação de medidas para reduzir a exposição de pessoas e animais domésticos aos vetores, além de vacinação de equinos, porém, o desenvolvimento de vacinas para nós humanos ainda está bem longe. (DE ARAÚJO *et al.*, 2008).

A bioinformática consolida-se como uma nova área do conhecimento, buscando tratar dados biológicos brutos, isso se deve graças à crescente necessidade de desenvolver programas computacionais que permitam reconhecer sequências de genes; predizer a configuração tridimensional de proteínas; identificar inibidores de enzimas, entre outras utilidades. (MALET *et al.*, 2007).

A proteína NS5 RdRp nos flavivírus é essencial para a replicação viral. A RdRp duplica o genoma do RNA de fita simples durante um evento único e contínuo de polimerização. (MALET *et al.*, 2007).



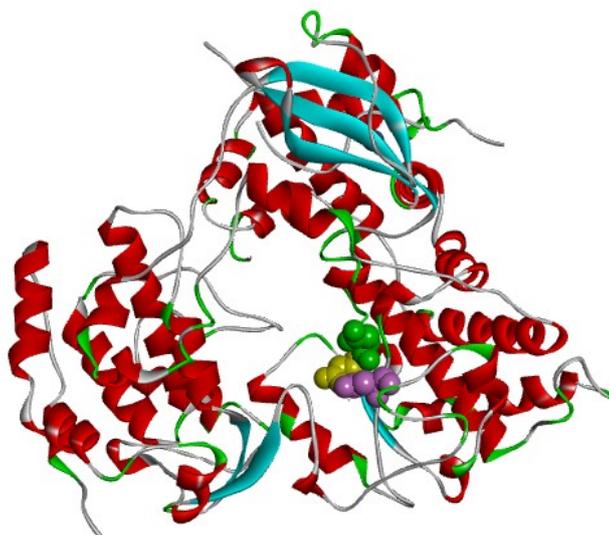
Por este motivo, com a elucidação da estrutura da NS5 RdRp do VNO, surgem possibilidades de tornar esta enzima um alvo de novos fármacos, deste modo, a busca por inibidores por meio de experimentos *in silico*, como o *docking* molecular (atracamento) se faz extremamente útil para a sinalização de possíveis moléculas com potencial para inibição da proteína NS5. Este trabalho tem como objetivo principal selecionar por meio de testes *in silico* através de simulações de *docking* molecular possíveis inibidores da proteína de replicação NS5, além de analisar a estrutura tridimensional da NS5, bem como seu sítio ativo.

2. DESENVOLVIMENTO

2.1. ESTRUTURA DO DOMÍNIO NS5 RDRP DO VIRUS DO NILO OCIDENTAL

As coordenadas atômicas da VNO NS5 RdRp foram obtidas por meio do banco de dados PDB (*Protein Data Bank*), pelo código de acesso 2HFZ. (MALET *et al.*, 2007). A estrutura obtida foi analisada visualmente através do *software Discovery Studio*. Foram removidas todas as moléculas de água encontradas na estrutura, para eliminar certa interferência, além disso, foram utilizadas diversas ferramentas computacionais a fim de otimizar a geometria e obter melhor qualidade do modelo, assim deixando a molécula nas condições adequadas ao *docking*.

Figura 1 – Visão da estrutura tridimensional da VNO NS5 RdRp, representando seus ácidos aspárticos 536; 668 e 669 em amarelo; verde e roxo, respectivamente.



Fonte: Imagem gerada no Discovery Studio (PDB-ID: 2HFZ).

2.2. SELEÇÃO DAS MOLÉCULAS LIGANTES

Foi realizada uma revisão de literatura, no intuito de se obter bons candidatos de acordo com uma pesquisa bem desenvolvida a respeito de compostos e suas possíveis atividades, em especial compostos com atividades virais, assim sendo possível eleger moléculas ligantes que possam vir a mostrar bons resultados computacionais quanto à inibição da NS5. A pesquisa se deu no site de busca acadêmica, Google acadêmico, sendo possível visitar bancos de informações como SciELO, PubMed, Lilacs, Medline entre outras plataformas.



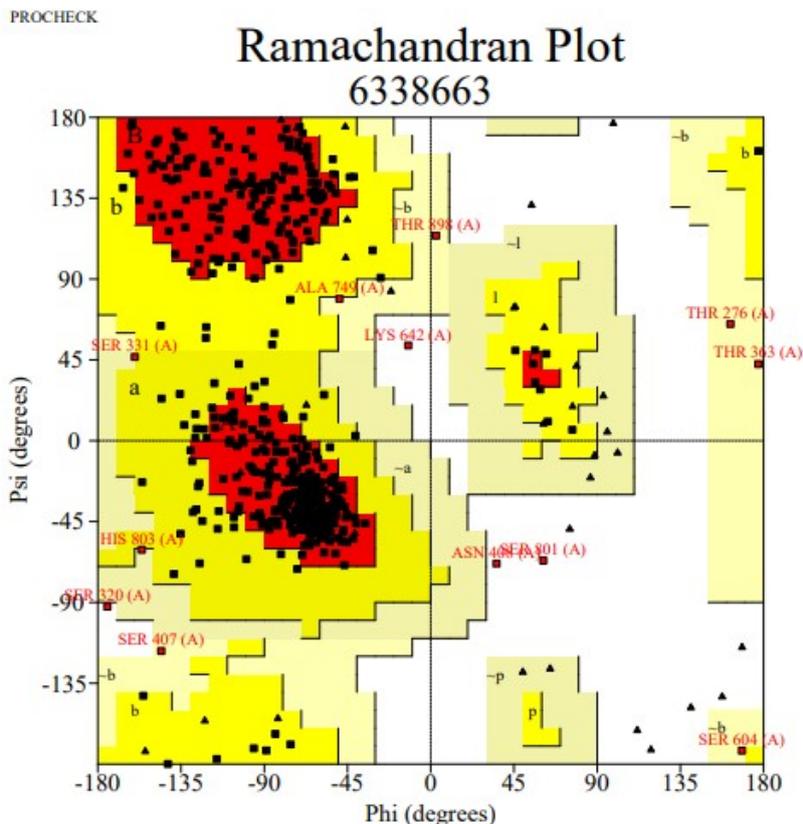
No que diz respeito à estrutura dos ligantes, as buscas foram feitas na literatura e em bancos de dados de pequenas moléculas, como o ZINC Database (disponível em: <http://zinc.docking.org/>). Foram gerados arquivos na extensão .pdb e as estruturas dos compostos foram analisadas por meio do *software* de visualização *Discovery Studio*.

2.3. VALIDAÇÃO DA ESTRUTURA

Para ter certeza de que a molécula adquirida no PDB se encontra em condições adequadas ao *docking*, foi feita uma análise da proteína no *software* Procheck (disponível em: <https://servicesn.mbi.ucla.edu/PROCHECK/>), por meio do gráfico de Ramachandran. O gráfico de Ramachandran (Figura 2) é provavelmente a ferramenta mais importante na determinação da qualidade da proteína, pois aponta a existência de impedimentos estereoquímicos na cadeia principal dos aminoácidos. (LASKOWSKI *et al.*, 1996).

Para ser considerado um bom modelo, o resultado do gráfico de Ramachandran deve apresentar, na região mais favorável (A, B e L), mais de 90% dos resíduos, desconsiderando os resíduos de glicina, prolina e os resíduos das extremidades que apresentam padrões estereoquímicos diferentes dos outros resíduos. (LASKOWSKI *et al.*, 1993).

Figura 2 – Gráfico de Ramachandran da proteína WNV NS5 RdRp gerado no *software* Procheck, demonstrando um grande número de resíduos nas regiões mais favoráveis (Espaço vermelho, representado pelas letras A, B, L) e poucos resíduos encontrados nas regiões não permitidas (Espaço em branco).



Fonte: Gerado pelo Procheck.



2.4. DOCKING MOLECULAR

Os experimentos de *docking* proteína - ligante entre a VNO NS5 RdRp + Ligante, foram realizados através do programa Autodock 1.5.6. (Morris *et al.*, 2009). Primeiramente foi feito um pré-dimensionamento da grade cúbica de energia de volume 40 x 40 x 40 Å de acordo com a metodologia de Galiano *et al.* (2016) e centralizando a grade no sítio ativo da proteína. O algoritmo de busca conformacional utilizado foi o algoritmo genético Lamarckiano. Foram obtidas dez conformações para cada complexo proteína-ligante, uma análise foi feita por meio da ferramenta Autodock tools. Completados os passos anteriores, a conformação de menor energia de cada complexo foi escolhida para análise no VMD. (HUMPHREY *et al.*, 1996). A validação dos resultados dos *dockings* foi realizada através do servidor *PatchDock* (disponível em: <https://bioinfo3d.cs.tau.ac.il/PatchDock/php.php>).

2.5. LIGANTES

2.5.1. Terpenos

Os terpenos são oriundos do metabolismo secundário das plantas, originados do isopreno, que por sua vez origina-se do ácido mevalônico na via do mevalonato. Os terpenos são classificados quanto ao número de múltiplos de sua unidade estrutural básica formada por cinco carbonos, o isopreno. Desta forma são classificados como: isoprenos ou hemiterpenos (5C), monoterpenos (10C), sesquiterpenos (15C), diterpenos (20C), sesterpenos (25C), triterpenos (30C), tetraterpenos (35C) e polisoprenóides quando possuem mais de 35 carbonos. (SANTANA *et al.*, 2018).

De forma geral, os óleos essenciais presentes nas plantas são constituídos majoritariamente por terpenos ou seus derivados, tais substâncias constituem-se como um extenso grupo de moléculas orgânicas produzidas como metabólitos secundários, sendo principalmente nas plantas, evitando injúrias promovidas por agentes externos. Deste modo, os terpenos apresentam reconhecida atividade antimicrobiana. (FELIPE; BICAS, 2017).

2.5.2. Flavonoides

Os flavonoides derivados de plantas são um grande grupo de fenilcromonas que ocorrem naturalmente, encontradas em frutas, vegetais, chá e vinho. A literatura têm relatado que eles têm uma ampla gama de atividades biológicas, incluindo atividades antialérgicas, antibacterianas, antidiabéticas, antiinflamatórias, antivirais, antiproliferativas, antimutagênicas, antitrombóticas, anticarcinogênicas, hepatoprotetoras, estrogênicas, inseticidas e antioxidantes, além disso, alguns flavonoides são formados como barreiras antimicrobianas na resposta das plantas à infecção microbiana, denotando sua importância na natureza e que pode ser útil à formulação de novos compostos antimicrobianos. (ORHAN *et al.*, 2010).

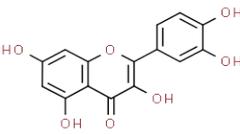
Como filtros para a escolha dos compostos utilizou-se parâmetros farmacocinéticos e farmacodinâmicos encontrados na literatura obtidos por análise ADMET (Absorção, Distribuição, Metabolização, Excreção e Toxicidade), bem como também evidência de atividade antiviral e por serem encontrados em fontes naturais. Em geral os compostos incluídos no trabalho apresentaram boa disponibilidade oral como fármacos. Os compostos utilizados nesta pesquisa estão evidenciados no quadro 1.



Quadro 1 – Compostos utilizados na pesquisa e suas respectivas atividades.

NOMENCLATURA	ESTRUTURA 2D DO COMPOSTO	ZINC ID	ATIVIDADES RELATADAS
Cadineno		95618180	O cadineno é um metabólito secundário, da classe dos sesquiterpenos bicíclicos. Pode ser encontrado em óleos essenciais de plantas das mais diversas famílias e Entre as atividades relatadas na literatura para o cadineno podem ser citadas a atividade antitumoral, atividade antimicrobiana e anti-cariogênica. (DAMASCENO <i>et al.</i> , 2017).
Citral		1529208	O citral é um monoterpene acíclico, possui diversas propriedades comprovadas como a ação antitumoral (FARAH <i>et al.</i> , 2010), broncodilatadora (MANGPRAYOOL; KUPITTAYANANT, 2013), inseticida (ABRAMSON <i>et al.</i> , 2013) e antimicrobiana (BELDA-GALBIS <i>et al.</i> , 2013).
Linalol		1529819	O linalol faz parte dos metabólitos secundários de algumas plantas, se trata de um álcool monoterpenoide, tais compostos atuam como antissépticos, antivirais e estimulam o sistema imunológico. Estão presentes, por exemplo, no pau-rosa, sândalo e gerânio. (ANDREI; DEL COMUNE, 2005).
Lupeol		4081455	O lupeol é um triterpene que pertence à família dos lupanos. Estes compostos têm apresentado várias atividades biológicas, entre as quais, vale destacar, a atividade anti-inflamatória e antimicrobiana. (LIMA; CARVALHO, 1979).
Kaempferol		3869768	O kaempferol é um flavonoide bastante conhecido por sua ação antioxidante (DORNAS <i>et al.</i> , 2009) e por atuar na inibição de enzimas da cascata de inflamação (COUTINHO; MUZITANO; COSTA, 2009). Há evidências de que possua atividade antiviral. (FLAMBÓ, 2013).



Quercetina		3869685	<p>A quercetina é um dos flavonoides mais pesquisados e abundantes na natureza, além disso, a quercetina já demonstrou ser inibidora da transcriptase reversa de vírus do tipo RNA (TAFURI, 2011) e ter a capacidade de se ligar a glicoproteínas do envelope ou capsídeo viral, interferindo na ligação e penetração do vírus na célula (BRUM, 2006).</p>
------------	---	---------	--

Fonte: Autoria própria.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. RESULTADOS DO DOCKING

Os ligantes que apresentaram melhores resultados foram o citral, o linalol o kaempferol e a quercetina. As tabelas 1, 2, 3 e 4 a seguir são referentes aos resultados encontrados para cada um destes compostos respectivamente.

Tabela 1 – EEL (Energia Estimada Livre) EIF (Energia Intermolecular Final) em kcal/mol e KI ou Constante de inibição expressa (CIE) em mM estimadas pelo programa AutoDock4 entre a NS5 RdRp e o composto citral.

Complexo (NS5 RdRp + citral)	Energia Estimada Livre em kcal/mol	Energia Intermolecular Final em kcal/mol	Constante de Inibição Expressa em mM
1	-3.29	-4.49	3.85
2	-3.69	-4.88	1.98
3	-3.15	-4.34	4.91
4	-3.39	-4.58	3.3
5	-3.54	-4.73	2.54
6	-3.34	-4.53	3.57
7	-3.65	-4.84	2.12
8	-3.68	-4.88	1.99
9	-3.4	-4.59	3.24
10	-3.4	-4.6	3.19

Fonte: Autoria própria.



Tabela 2 – EEL (Energia Estimada Livre) EIF (Energia Intermolecular Final) em kcal/mol e KI ou Constante de inibição expressa (CIE) em mM estimadas pelo programa AutoDock4 entre a NS5 RdRp e o composto linalol.

Complexo (NS5 RdRp + linalol)	Energia Estimada Livre em kcal/mol	Energia Intermolecular Final em kcal/mol	Constante de Inibição Expressa em mM
1	-3.15	-4.64	4.89
2	-3.58	-5.07	2.37
3	-3.14	-4.63	4.98
4	-3.19	-4.68	4.57
5	-3.64	-5.13	2.15
6	-3.49	-4.99	2.75
7	-3.2	-4.69	4.54
8	-3.41	-4.9	3.19
9	-3.21	-4.7	4.43
10	-3.62	-5.11	2.22

Fonte: Autoria própria.

Tabela 3 – EEL (Energia Estimada Livre) EIF (Energia Intermolecular Final) em kcal/mol e KI ou Constante de inibição expressa (CIE) em mM estimadas pelo programa AutoDock4 entre a NS5 RdRp e o composto kaempferol.

Complexo (NS5 RdRp + kaempferol)	Energia Estimada Livre em kcal/mol	Energia Intermolecular Final em kcal/mol	Constante de Inibição Expressa em mM
1	-4.69	-5.59	3.643 x 10 ⁻¹
2	-4.77	-5.67	3.1855 x 10 ⁻¹
3	-4.74	-5.64	3.3432 x 10 ⁻¹
4	-4.76	-5.66	3.2238 x 10 ⁻¹
5	-4.71	-5.61	3.5013 x 10 ⁻¹
6	-4.79	-5.68	3.0964 x 10 ⁻¹
7	-4.71	-5.6	3.5342 x 10 ⁻¹
8	-4.74	-5.63	3.3701 x 10 ⁻¹
9	-4.74	-5.63	3.3618 x 10 ⁻¹
10	-4.67	-5.57	3.75 x 10 ⁻¹

Fonte: Autoria própria.



Tabela 4 – EEL (Energia Estimada Livre) EIF (Energia Intermolecular Final) em kcal/mol e ou Constante de inibição expressa (CIE) em mM estimadas pelo programa AutoDock4 entre a NS5 RdRp e o composto quercetina.

Complexo (NS5 RdRp + quercetina)	Energia Estimada Livre em kcal/mol	Energia Intermolecular Final em kcal/mol	Constante de Inibição Expressa em mM
1	-4.46	-5.65	5.4212 x 10 ⁻¹
2	-4.86	-6.05	2.7485 x 10 ⁻¹
3	-3.93	-5.12	1.32
4	-4.83	-6.02	2.8957 x 10 ⁻¹
5	-4.77	-5.96	3.1878 x 10 ⁻¹
6	-3.94	-5.13	1.3
7	-3.75	-4.94	1.78
8	-4.54	-5.73	4.6918 x 10 ⁻¹
9	-3.71	-4,9	1.91
10	-3.98	-5.17	1.21

Fonte: Autoria própria.

Os ligantes kaempferol e quercetina, tiveram os melhores resultados dentre os analisados, apresentaram a EEL e a EIF com valores baixos, indicando que há uma situação favorável de ligação proteína-ligante para estes complexos, além disso, a CIE se mostrou também baixa o que indica que os ligantes em concentração baixa podem inibir a enzima.

Embora os ligantes cadineno e lupeol tenham apresentado resultados satisfatórios no que diz respeito aos parâmetros analisados pelo autodock, a análise visual das interações moleculares não demonstrou nenhuma interação com os resíduos alvo (ASP 356; ASP 668 e ASP 669).

3.2. ANÁLISE VISUAL DOS COMPLEXOS

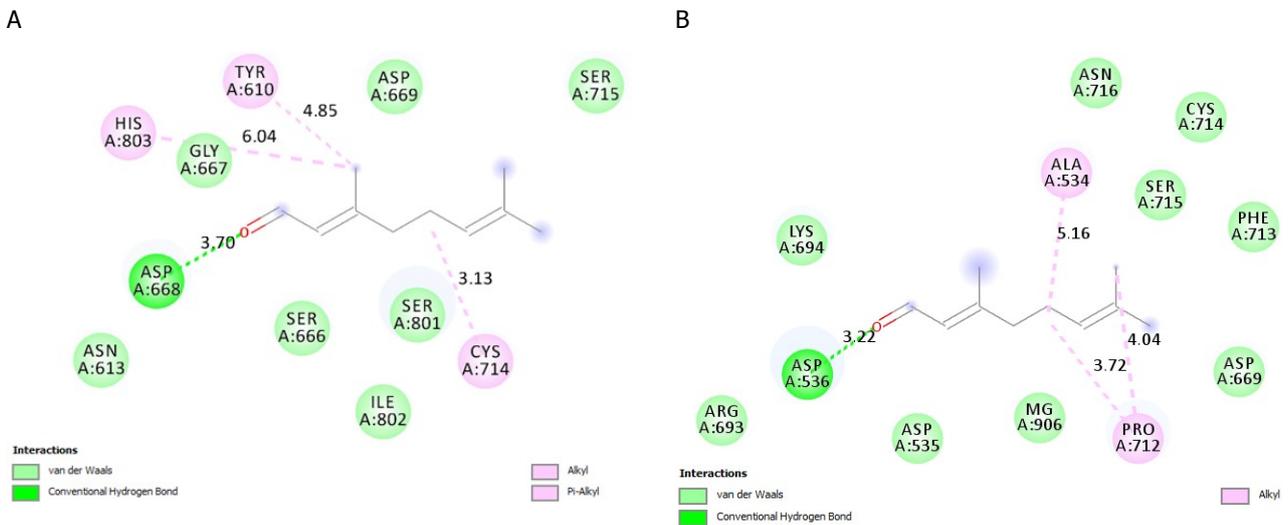
Os complexos foram analisados no Discovery Studio e foram escolhidos os melhores resultados dentre eles para a representação de suas interações.

3.2.1. Citral

O composto citral apresentou interações por pontes de hidrogênio com o aspartato 668 nos complexos 3 e 6 e com o aspartato 536 no complexo 7. Destes o complexo 6 e o complexo 7 se destacam pelos melhores resultados dos parâmetros de *docking* e pelas menores distâncias de interação.



Figura 3 – Diagrama 2D do ligante citral complexos 6 em (A) e 7 em (B) mostrando suas respectivas interações com o sítio ativo da NS5 e as distâncias dadas em angstroms.

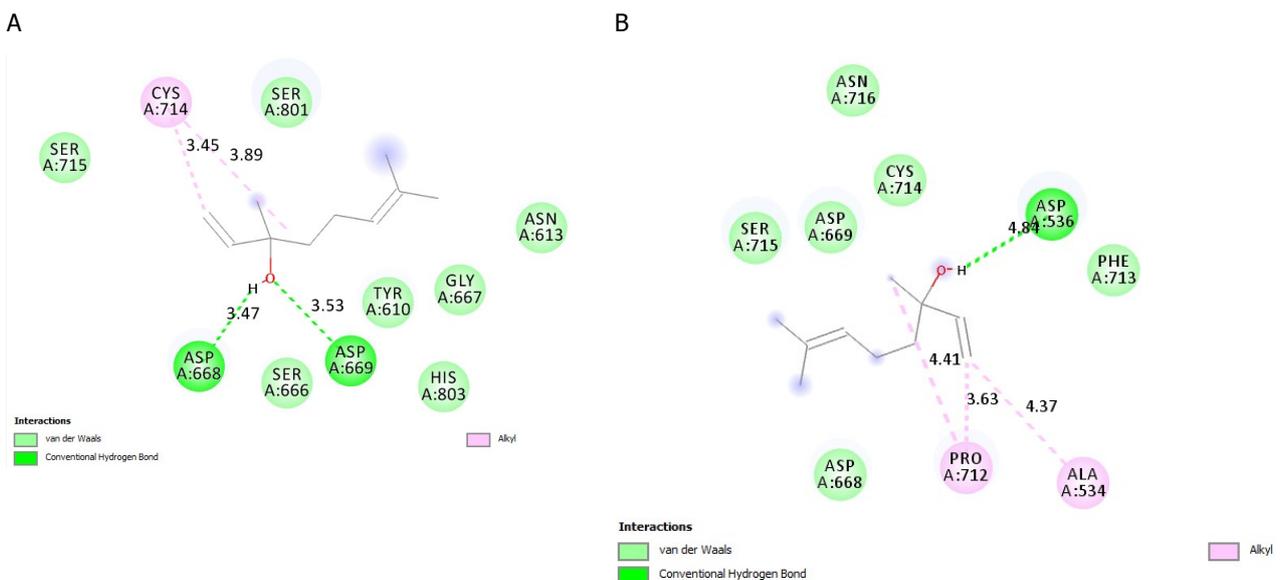


Fonte: Autoria própria a partir do *software* Discovery Studio.

3.2.2. Linalol

O linalol apresentou em diversos complexos interações com o aspartato 668, dentre eles cabe citar o complexo 7 que apresentou interações por pontes de hidrogênio com os ASPs 668 e 669 e no complexo 9 com o ASP 536.

Figura 4 – Diagrama 2D do ligante linalol complexos 7 em (A) e 9 em (B) mostrando suas respectivas interações com o sítio ativo da NS5 e as distâncias dadas em angstroms.



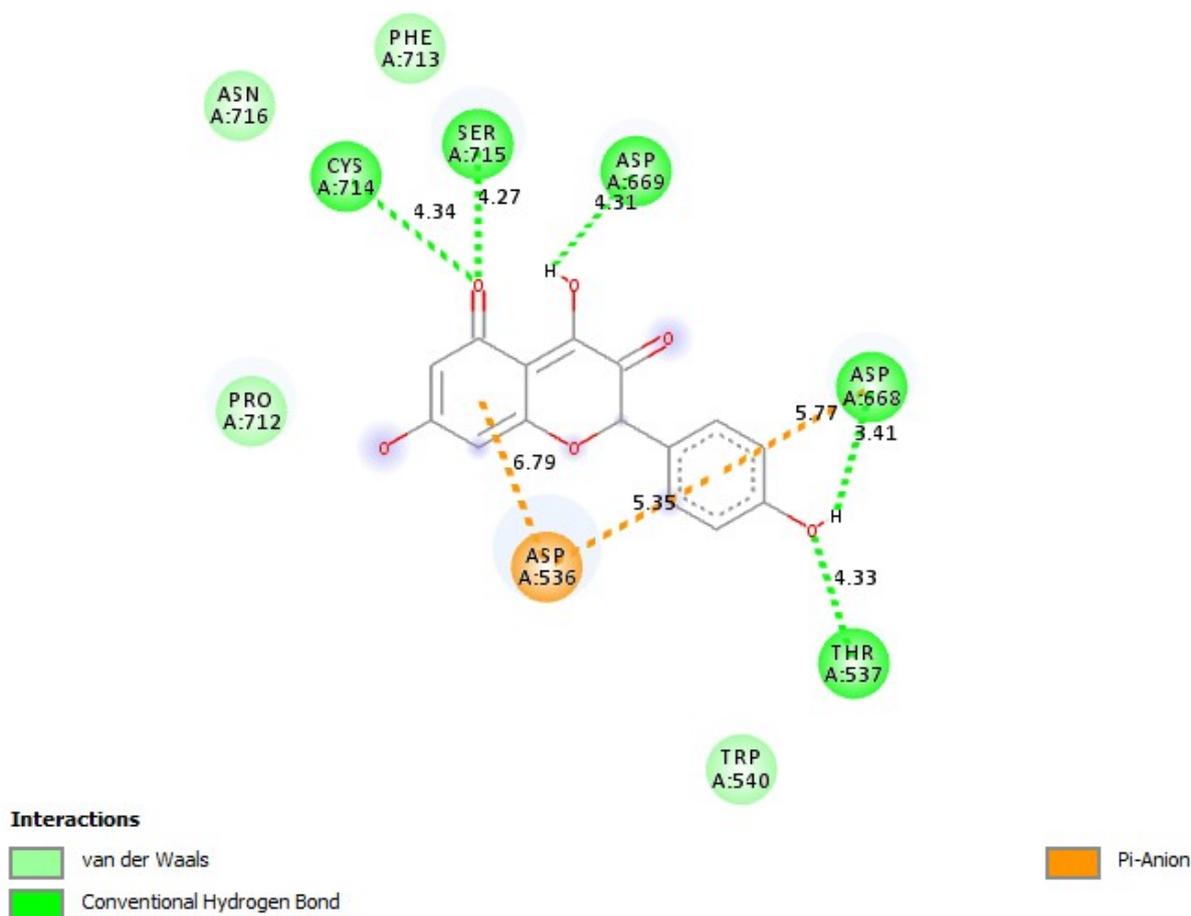
Fonte: Autoria própria a partir do *software* Discovery Studio.



3.2.3. Kaempferol

O kaempferol teve em todos os seus 10 complexos interações por meio de pontes de hidrogênio com os ASPs 668 e 669, destacando-se o complexo 6 por ter os melhores resultados de *docking* com uma EEL de -4.79 kcal/mol, uma EIF de -5.68 kcal/mol e uma CIE de 3.0964×10^{-1} mM e por apresentar uma interação pi-anion com o ASP 536.

Figura 5 – Diagrama 2D do ligante kaempferol complexo 6 mostrando suas respectivas interações com o sítio ativo da NS5 e as distâncias dadas em angstroms.



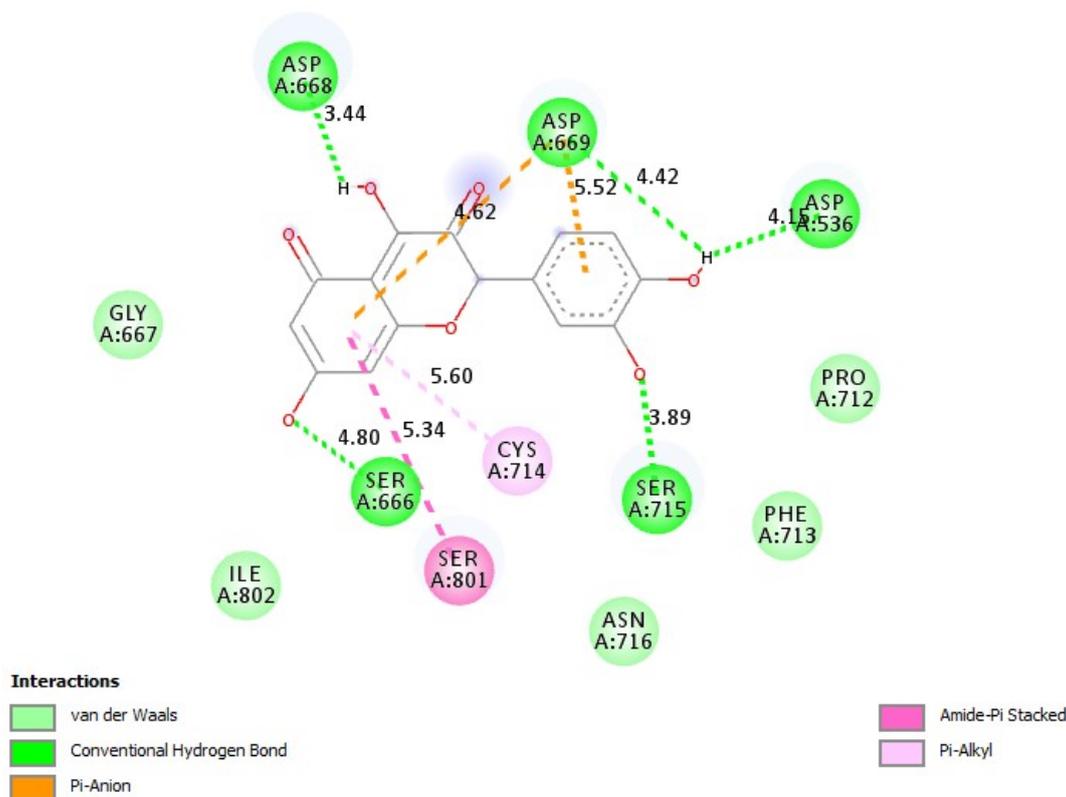
Fonte: Autoria própria a partir do software Discovery Studio.

3.2.4. Quercetina

A quercetina assim como o kaempferol apresentou em todos os seus complexos interações com o sítio ativo da NS5, destacando-se o complexo 9 por ter apresentado interação com todos os três aspartatos do sítio ativo da NS5 por pontes de hidrogênio e também interações pi-anion com o aspartato 669.



Figura 6 – Diagrama 2D do ligante quercetina complexos 9 mostrando suas respectivas interações com o sítio ativo da NS5 e as distâncias dadas em angstroms.



Fonte: Autoria própria a partir do software Discovery Studio.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A infecção pelo VNO se constitui no exemplo mais recente e notável de que a geografia das doenças infecciosas é determinada, muitas vezes, por limites tênues e temporários, e que o rompimento desses limites pode resultar em consequências sérias para a saúde humana e animal. Durante décadas, a infecção ficou limitada a algumas regiões do norte da África, do Oriente Médio, da Europa Mediterrânea e de algumas regiões da Ásia, porém desde a sua introdução nos EUA, a doença foi seguida de uma disseminação e repercussão altas, com um enorme impacto em saúde pública e animal. (FLORES; WEINBLIN, 2009).

Neste contexto, há a necessidade latente de descobertas a respeito do combate ao vírus do Nilo Oeste. As ferramentas computacionais vêm surgindo como uma nova chave ao problema, ao serem baseadas em conceitos matemáticos, físico-químicos, termodinâmicos e químicos propriamente ditos. Nesta última década, o uso de técnicas de triagem virtual baseadas em estrutura para o descobrimento de novos fármacos tem alcançado resultados promissores. Assim, essas técnicas vêm sendo amplamente utilizadas. (QUEVEDO, 2016). O estudo de *docking* de proteínas, no qual se testa a afinidade de um ligante a um determinado substrato ou sítio de ligação, também se fez necessário para um completo entendimento computacional nesta área. (NOVAES, 2009).



Os melhores resultados obtidos após a análise dos parâmetros de *docking* e da análise visual dos compostos foram observados com o ligante kaempferol e com a quercetina, ambos flavonoides, muito parecidos estruturalmente, diferindo apenas em uma hidroxila, apresentaram valores de EEL e EIF favoráveis a formação de complexos estáveis, valores baixos para a CIE e em todos os complexos foram observadas interações com o sítio ativo, com destaque para o complexo 9 com a quercetina que apresentou interações com os três aspartatos que compõem o sítio ativo do domínio RdRp da NS5. Tais substâncias se mostraram promissoras e merecem uma investigação mais aprofundada de suas características físico-químicas.

Tem-se como perspectiva futura a exponencial pesquisa por meio de testes *in silico* com mais moléculas para a elucidação de novos resultados, igualmente ou mais satisfatórios que os obtidos e a continuação da validação dos resultados obtidos por meio de testes de dinâmica molecular e ensaios experimentais.

5. REFERÊNCIAS

ABRAMSON, C. H.; ALDAMA, E.; SULBARAN, E. Exposure to citral, cinnamon and ruda disrupts the life cycle of a vector of Chagas disease. **American Journal of Environmental Sciences**, v.3, p.7-8, 2007.

ANDREI, P.; DEL COMUNE, A. P. Aromaterapia e suas aplicações. **Centro Universitário São Camilo**, v.11, n.4, p.57-68, 2005.

BELDA-GALBIS, C. *et al.* Impact assessment of carvacrol and citral effect on Escherichia coli K12 and Listeria innocua growth. **Food Control**, v.33, n.2, p.536-544, 2013.

BRUM, L. P. **Atividade antiviral dos compostos fenólicos (ácidos ferulico e transcinâmico e dos flavonoides (quercetina e kaempferol) sobre os herpesvirus bovino 1, herpesvirus bovino 5 e vírus da cinomose canina.** 2006. 86 f. Tese (Programa de Pós-graduação em Bioquímica e Biologia molecular de plantas; Bioquímica e Biologia molecular animal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

COUTINHO, M. A. S.; MUZITANO, M. F.; COSTA, S. S. Flavonoides: potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório. **Revista Virtual de Química**, v.1, n.3, p.241-256, 2009.

DAMASCENO, C. S. B. *et al.* Chemical composition, antioxidant and biological activity of *Ocotea bicolor* Vattimo-Gil (LAURACEAE) essential oil. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.53, n.4, 2017.

DE ARAÚJO, N. D. *et al.* A era da bioinformática: seu potencial e suas implicações para as ciências da saúde. **Estudos de biologia**, v.30, n.70/72, 2008.

DORNAS, W. C. *et al.* Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v.28, n.3, p.241-249, 2009.

FARAH, I. O. *et al.* Retinoids and citral modulated cell viability, metabolic stability, cell cycle progression and distribution in the A549 lung carcinoma cell line. **Biomedical Sciences Instrumentation**, v.46, p.410-421, 2010.

FELIPE, L. O.; BICAS, J. L. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Química Nova na Escola**, v.39, n.2, p.120-30, 2017.



- FLAMBÓ, D. F. A. L. P. **Atividades biológicas dos flavonoides**: atividade antimicrobiana. 2013. 31 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2013.
- FLORES, E. F.; WEIBLEN, R. O vírus do Nilo Ocidental. **Ciência Rural**, v.39, n.2, p.604-612, 2009.
- GALIANO, V. *et al.* Looking for inhibitors of the dengue virus NS5 RNA-dependent RNA-polymerase using a molecular docking approach. **Drug Design, Development and Therapy**, v.10, p.3163, 2016.
- LASKOWSKI, R. A. *et al.* AQUA and PROCHECK-NMR: programs for checking the quality of protein structures solved by NMR. **Journal of Biomolecular NMR**, v.8, n.4, p.477-86, 1996.
- LASKOWSKI, R. A. *et al.* PROCHECK: a program to check the stereochemical quality of protein structures. **Journal of Applied Crystallography**, v.26, n.2, p.283-291, 1993.
- LIMA, D. M. R.; CARVALHO, I.; GOMES, A. S. Síntese de análogos do lupeol. In: CONGRESSO ESTADUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DO IF GOIANO, 4., 2015, Morrinhos. **Anais... Morrinhos: IF Goiano**, 2015.
- LUNA, E. J. A.; PEREIRA, L. E.; SOUZA, R. P. Encefalite do Nilo Ocidental, nossa próxima epidemia? **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v.12, n.1, p.7-19, 2003.
- MALET, H. *et al.* Crystal structure of the RNA polymerase domain of the West Nile virus non-structural protein 5. **Journal of Biological Chemistry**, v.282, n.14, p.10678-10689, 2007.
- MANGPRAYOOL, T.; KUPITTAYANANT, S.; CHUDAPONGSE, N. Participation of citral in the bronchodilatory effect of ginger oil and possible mechanism of action. **Fitoterapia**, v.89, p.68-73, 2013.
- MORRIS, Garrett M. *et al.* AutoDock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility. **Journal of computational chemistry**, v.30, n.16, p.2785-2791, 2009.
- NOVAES, B. Cesar S.; SCOTT, L. P. B. Modelagem molecular e docking de proteína-ligante. In: SIMPÓSIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO ABC, 2., 2009, Santo André. **Anais... Santo André: UFABC**, 2009. p.1-3.
- OMETTO, T. L. **Monitoramento do vírus do Oeste do Nilo no Brasil**. 2014. 161 f. Tese (Programa de Pós-graduação em Biotecnologia) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.
- ORHAN, D. D. *et al.* Antibacterial, antifungal, and antiviral activities of some flavonoids. **Microbiological Research**, v.165, n.6, p.496-504, 2010.
- PAUVOLID-CORRÊA, A.; VARELLA, R. B. Aspectos epidemiológicos da febre do oeste do Nilo. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v.11, p.463-472, 2008.
- QUEVEDO, C. V. **Triagem virtual em banco de dados de ligantes considerando propriedades físico-químicas de um modelo de receptor totalmente flexível**. 2016. 161 f. Tese (Programa de Pós-graduação em Ciência da Computação) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.
- SANTANA, M. T. P. *et al.* Atividade antiviral do monoterpeno timol: um estudo *in silico*. **Journal of Medicine and Health Promotion**, v.3, n.2, p.994-999, 2018.



SILVA, J. W. P. Doença pelo vírus do Oeste do Nilo: um novo problema para o Brasil?

Epidemiologia e Serviços de Saúde, v.25, n.3, p.671-673, 2016.

STUDIO. Discovery Studio. **Accelrys [2.1]**, 2008.

TAFURI, N. F. **Atividade antiviral de extratos vegetais e flavonoides contra o Bovine**

herpesvirus 1 (BoHV1). 2011. 70 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Biologia molecular de plantas; Bioquímica e Biologia molecular animal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

XU, D.; ZHANG, Y. Improving the physical realism and structural accuracy of protein models by a two-step atomic-level energy minimization. **Biophysical Journal**, v.101, n.10, p.2525-2534, 2011.

Submetido em: **03/12/2020**

Aceito em: **05/07/2022**