

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

LORENA FALLEIROS

**ANÁLISE *in silico* PARA DETERMINAÇÃO DE NOVOS FÁRMACOS PARA
PERITONITE INFECCIOSA FELINA (PIF)**

ALFENAS/MG

2025

LORENA FALLEIROS

**ANÁLISE *in silico* PARA DETERMINAÇÃO DE NOVOS FÁRMACOS PARA
PERITONITE INFECCIOSA FELINA (PIF)**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Biologia Celular, Molecular e Estrutural das Doenças Agudas e Crônicas.

Orientador: Prof. Dr. Nelson José Freitas da Silveira

Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª. Patricia Paiva Corsetti de Almeida

ALFENAS/MG

2025

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central

Falleiros, Lorena .

Análise in silico para Determinação de Novos Fármacos para Peritonite
Infecciosa Felina (PIF) / Lorena Falleiros. - Alfenas, MG, 2025.

64 f. : il. -

Orientador(a): Nelson José Freitas da Silveira .

Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal
de Alfenas, Alfenas, MG, 2025.

Bibliografia.

1. Bioinformática. 2. Virologia. 3. Produtos Naturais. 4. Molecular
Docking. 5. Medicina Veterinária. I. da Silveira , Nelson José Freitas,
orient. II. Título.

LORENA FALLEIROS

ANÁLISE *in silico* PARA DETERMINAÇÃO DE NOVOS FÁRMACOS PARA PERITONITE INFECCIOSA FELINA (PIF)

O Presidente da banca examinadora abaixo assina a aprovação da Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Biologia Celular, Molecular e Estrutural das doenças agudas e crônicas.

Aprovada em: 21 de agosto de 2025.

Prof. Dr. Nelson José Freitas da Silveira

Presidente da Banca Examinadora

Instituição: Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG

Prof. Dr. Tiago Henrique

Instituição: Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto - FAMERP

Prof. Dr. Prof. Dr. Marcelo Franchin

Instituição: Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG



Documento assinado eletronicamente por **Nelson José Freitas da Silveira, Professor do Magistério Superior**, em 21/08/2025, às 15:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1596937** e o código CRC **4FE31675**.

Este trabalho é dedicado ao meu filho, João Victor, à
minha avó, Lucia, e à minha mãe, Nailza.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, o Prof. Dr. Nelson José Freitas da Silveira, pela orientação, paciência e confiança depositada em mim durante todo o processo de desenvolvimento deste trabalho até agora.

À minha coorientadora, a Prof^a. Dr^a. Patrícia Paiva Corsetti de Almeida, pelo apoio fundamental e pelas contribuições intelectuais que foram essenciais para o desenvolvimento deste projeto.

Ao meu colega B.Sc. Caio Pacífico Mariano, por todo o auxílio, pelas conversas enriquecedoras e pela troca constante de ideias, que tornaram o ambiente de pesquisa ainda mais produtivo e agradável.

À Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG), pela infraestrutura e pelos recursos técnicos disponibilizados para a realização dos experimentos necessários a este trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da UNIFAL-MG, pela estrutura acadêmica de excelência, pelo corpo docente altamente qualificado e ambiente estimulante.

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

“Todo animal é superior ao homem pelo que tem de divino, isto é, pelo instinto. Ora, de todos os animais, o gato é o que tem o instinto mais perseverante, o mais perpétuo.”

(Banville, 2020)

RESUMO

A Peritonite Infecciosa Felina (PIF) é uma doença infectocontagiosa sistêmica provocada pelo Coronavírus Felino (FCoV), que infecta o trato respiratório e gastrointestinal e causa uma vasculite imunomediada, como também uma inflamação piogranulomatosa. Medicamentos anti-inflamatórios e imunossupressores são usados para inibir o processo inflamatório, com o intuito de aliviar os sintomas. Porém, ainda não há nenhum relatório sobre o uso bem-sucedido de terapias virais acessíveis e seletivas para o tratamento da PIF em gatos. Neste estudo, foi realizada uma abordagem *in silico* para a busca de candidatos a compostos líderes anti-PIF a partir de compostos de origem natural disponíveis no banco de dados PubChem, subseção The Natural Products Atlas. Com este objetivo, foram aplicadas técnicas de ensaios *in silico*, como o *Molecular Docking*, para triagem virtual e determinação de potenciais candidatos antivirais. O alvo selecionado consiste em uma protease responsável pelo processamento de poliproteínas no FCoV durante a replicação viral, cuja inibição compreende um mecanismo interessante do ponto de vista farmacológico. Foram indicados 11 melhores compostos candidatos que possuem características de inibidores antivirais, pois demonstraram forte afinidade com o alvo. Dentre o grupo de candidatos, observou-se uma predominância de origem bacteriana e de classes metabólicas diversas. Esta análise pode reduzir as chances de falha de ensaios *in vitro* e *in vivo* por meio do direcionamento dos esforços para os candidatos que obtiveram as melhores previsões neste estudo.

Palavras-chave: coronavírus felino; enzima protease; modelagem molecular.

ABSTRACT

Feline Infectious Peritonitis (FIP) is a systemic infectious-contagious disease caused by Feline Coronavirus (FCoV), which primarily affects the respiratory and gastrointestinal tracts, leading to immune-mediated vasculitis and pyogranulomatous inflammation. Anti-inflammatory and immunosuppressive drugs are commonly employed to mitigate the inflammatory response and alleviate clinical symptoms. However, no successful reports of accessible and selective antiviral therapies for the treatment of FIP in cats have been documented to date. In this study, an *in silico* approach was employed to identify potential anti-FIP lead compounds derived from natural products available in the PubChem database, specifically from The Natural Products Atlas subsection. Molecular docking techniques were applied for virtual screening and identification of promising antiviral candidates. The selected molecular target was a viral protease responsible for the processing of FCoV polyproteins during viral replication—an attractive pharmacological target due to its critical role in the viral life cycle. A total of 11 lead compounds were identified as potential antiviral inhibitors, exhibiting strong binding affinities to the target protease. Notably, most of these candidates were of bacterial origin and belonged to diverse metabolic classes. This analysis may enhance the efficiency of subsequent *in vitro* and *in vivo* assays by prioritizing compounds with the most promising computational predictions, thereby reducing the likelihood of experimental failure.

Keywords: feline coronavirus; protease enzyme; molecular modeling.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Taxonomia completa do Alphacoronavírus 1.....	14
Figura 2 - Representação da estrutura de um FCoV.....	15
Figura 3 - Diferenciação entre PIF seca e úmida.....	17
Figura 4 - Modelo tridimensional de uma protease viral, de código PDB 5EU8.....	25
Figura 5 - Modelo da estrutura de código PDB 5EU8 definido para os experimentos.....	33
Figura 6 - Estrutura de código PDB 5EU8.....	34
Figura 7 - Preparação do alvo molecular.....	36
Figura 8 - Preparo do ligante de referência.....	37
Figura 9 - Definição do <i>grid box</i>	37
Figura 10 - Mecanismo de busca avançada para seleção dos compostos.....	38
Figura 11 - Conversão dos arquivos de ligantes para o formato .pdbqt.....	39
Figura 12 - Condução da técnica de <i>Molecular Docking</i>	41
Figura 13 - Representação tridimensional das interações obtidas pelo ancoramento entre o inibidor de referência frente ao template da enzima protease.....	44
Figura 14 - Representação tridimensional e bidimensional do complexo formado entre o composto C716 e o modelo da enzima protease.....	47
Figura 15 - Representação tridimensional e bidimensional do complexo formado entre o composto C6304 e o modelo da enzima protease.....	47
Figura 16 - Representação tridimensional e bidimensional do complexo formado entre o composto C12237 e o modelo da enzima protease.....	48
Figura 17 - Representação tridimensional e bidimensional do complexo formado entre o composto C4582 e o modelo da enzima protease.....	49
Figura 18 - Representação tridimensional e bidimensional do complexo formado entre o composto C5164 e o modelo da enzima protease.....	49
Figura 19 - Representação tridimensional e bidimensional do complexo formado entre o composto C4470 e o modelo da enzima protease.....	50
Figura 20 - Representação tridimensional e bidimensional do complexo formado entre o composto C11407 e o modelo da enzima protease.....	51
Figura 21 - Representação tridimensional e bidimensional do complexo formado entre o composto C434 e o modelo da enzima protease.....	51
Figura 22 - Representação tridimensional e bidimensional do complexo formado entre o composto C11286 e o modelo da enzima protease.....	52
Figura 23 - Representação tridimensional e bidimensional do complexo formado entre o composto C1561 e o modelo da enzima protease.....	52
Figura 24 - Representação tridimensional e bidimensional do complexo formado entre o composto C12024 e o modelo da enzima protease.....	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais resultados obtidos através da técnica de <i>Molecular Docking</i>	45
Tabela 2 - Características dos compostos naturais com melhores resultados.....	54
Tabela 3 - Propriedades físico-químicas dos compostos analisados.....	57

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
2.1	CORONAVÍRUS FELINO.....	14
2.2	PERITONITE INFECCIOSA FELINA.....	16
2.2.1	Diagnóstico.....	20
2.2.2	Tratamento.....	21
2.3	PROTEASES VIRAIS.....	24
2.4	COMPOSTOS DE ORIGEM NATURAL.....	25
2.5	BIOINFORMÁTICA ESTRUTURAL.....	27
2.5.1	<i>Molecular Docking</i>.....	28
3	JUSTIFICATIVA.....	31
4	OBJETIVOS.....	32
4.1	OBJETIVO GERAL.....	32
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	32
5	METODOLOGIA.....	33
5.1	SELEÇÃO DO TEMPLATE DO ALVO MOLECULAR.....	33
5.2	PREPARO DO ALVO MOLECULAR.....	34
5.3	PREPARO DO LIGANTE DE REFERÊNCIA.....	36
5.4	DEFINIÇÃO DA REGIÃO DO SÍTIO ATIVO.....	37
5.5	SELEÇÃO DOS COMPOSTOS DE ORIGEM NATURAL.....	38
5.6	PREPARO DOS LIGANTES.....	39
5.7	EXECUÇÃO DO <i>MOLECULAR DOCKING</i>	40
5.8	ANÁLISE DOS RESULTADOS.....	43
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
7	CONCLUSÃO.....	59
	REFERÊNCIAS.....	60

1 INTRODUÇÃO

Entre os coronavírus (CoV) que afetam os animais, destaca-se o Coronavírus Felino (FCoV). O FCoV pertence ao gênero Alphacoronavirus da família Coronaviridae e apresenta-se em dois biotipos, o Coronavírus Entérico Felino (CoVEF) e o Vírus da Peritonite Infecciosa Felina (VPIF), capaz de causar a Peritonite Infecciosa Felina (PIF), uma condição imunomediada grave e frequentemente fatal (Oliveira; Pekler, 2023). O FCoV é um vírus RNA de cadeia simples, envolvido por uma camada lipídica que contém a proteína *spike* (S), responsável pela adesão do vírus às células do hospedeiro. A infecção pelo CoVEF, geralmente se restringe ao trato gastrointestinal e pode ser assintomática ou associada a sintomas leves. Em alguns casos, o CoVEF pode sofrer mutação e dar origem ao VPIF, uma versão mais agressiva do vírus, que se dissemina pelo corpo e causa a PIF. A PIF resulta em uma inflamação sistêmica que pode afetar diversos órgãos, como fígado, rins, sistema nervoso central e olhos (Gao *et al.*, 2023). A doença pode se manifestar de duas formas: efusiva (úmida) e não-efusiva (seca), cada uma com sintomas distintos. Dada a complexidade em relação aos aspectos clínicos da doença, aliada às particularidades morfológicas do agente infeccioso, a busca por tratamentos eficazes para o enfrentamento da PIF consiste em um problema atual (Barker; Tasker, 2020).

Embora o tratamento da PIF tenha sido tradicionalmente restrito a cuidados de suporte, pesquisas recentes vêm explorando o uso de compostos antivirais representando uma alternativa promissora, como o GS-441524 e o GC-376, que têm demonstrado resultados favoráveis no combate à doença (Nekouei *et al.*, 2022). No entanto, o tratamento ainda enfrenta desafios significativos, como o alto custo e a falta de aprovação oficial por órgãos regulatórios como a Administração de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos (da sigla em inglês “FDA”, que significa *Food and Drug Administration*), além da necessidade de monitoramento contínuo e ajustes na dosagem. Apesar do potencial dos medicamentos, seu uso é limitado e deve ser supervisionado por médicos veterinários especializados, considerando os custos elevados e a falta de regulamentação (Zwicklbauer *et al.*, 2023).

Diante dos problemas apresentados para o tratamento disponível, a identificação de alvos moleculares virais compreende um importante ponto de partida para a identificação de novos fármacos. Neste cenário, as proteases virais constituem uma classe de macromoléculas de grande interesse no desenvolvimento de terapias antivirais (Nekouei *et al.*, 2022). Essas enzimas desempenham papel crucial no ciclo de vida dos vírus, sendo responsáveis pela clivagem das poliproteínas, o que permite a maturação e a replicação viral. A inibição das

proteases virais pode, portanto, interferir diretamente na interrupção da propagação do vírus, tornando essas enzimas alvos estratégicos para o desenvolvimento de medicamentos antivirais (Vuong *et al.*, 2020).

A avaliação do potencial biológico de produtos naturais consiste em uma alternativa promissora no desenvolvimento de tratamentos para diversas doenças, incluindo a PIF. Com os problemas acerca da eficácia, seletividade e o custo dos tratamentos disponíveis, explorar fontes naturais pode abrir novas possibilidades terapêuticas. Substâncias presentes em plantas, fungos e microrganismos têm demonstrado atividades imunomoduladoras e antivirais, o que representa alternativas mais acessíveis e com menor risco de efeitos colaterais (Newman; Cragg, 2020). Assim, a investigação de substâncias naturais não apenas representa uma via promissora para um tratamento mais eficaz contra a PIF, como também amplia as possibilidades de descoberta de novos protótipos antivirais, contribuindo significativamente para o avanço da medicina veterinária. Vale destacar que o uso de produtos naturais não se limita à ação antiviral direta, mas também engloba compostos capazes de modular a resposta imune do organismo, favorecendo um ambiente mais eficiente para o controle da infecção (Mitra *et al.*, 2022).

Neste âmbito, a Bioinformática Estrutural representa uma estratégia poderosa na descoberta de novos fármacos, especialmente ao utilizar técnicas como o *Molecular Docking* para o estudo da interação entre ligantes e macromoléculas (Aguiar; Camps, 2024). Essa abordagem computacional permite a simulação do ancoramento entre ligantes, como compostos de origem natural, e alvos moleculares virais, como as proteases, facilitando a identificação de candidatos promissores antes mesmo de ensaios laboratoriais. Ao prever a afinidade de ligação e a conformação ideal de uma molécula no sítio ativo de uma proteína viral, o *Molecular Docking* otimiza o processo de triagem de compostos, tornando-o mais eficiente e prático (Torres *et al.*, 2019).

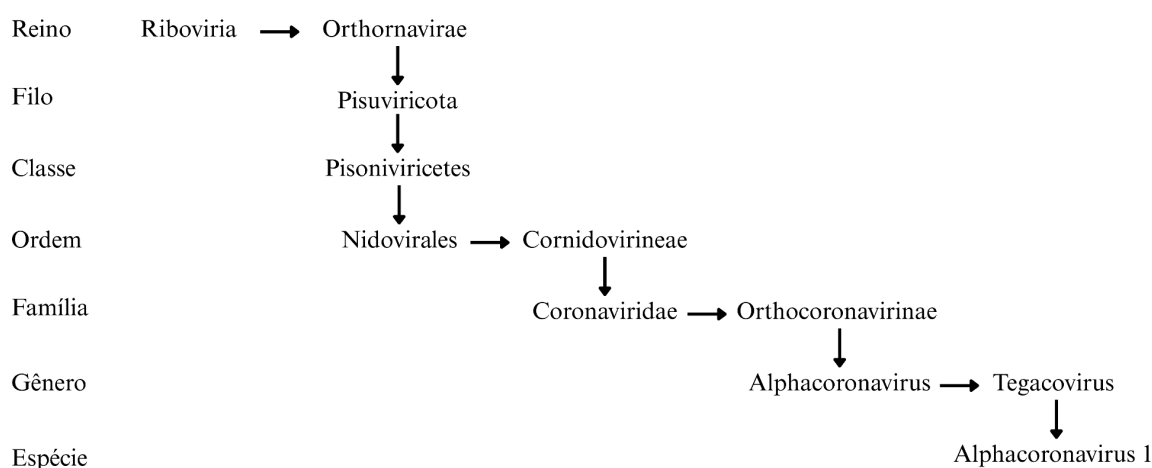
2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 CORONAVÍRUS FELINO

Os Coronavírus (CoV) são uma grande família de vírus que podem infectar tanto humanos quanto animais, causando doenças que variam de resfriados comuns a síndromes respiratórias graves. Estudos mais recentes têm se concentrado no SARS-CoV-2, responsável pela pandemia de COVID-19. No entanto, é importante destacar que diferentes espécies de CoV afetam diversas espécies animais, incluindo os felinos (Ristow; Carvalho; Gebara, 2020).

O CoV é um vírus de RNA de cadeia simples, considerado um dos principais causadores de problemas entéricos e respiratórios em felinos selvagens e domésticos (Mendonça *et al.*, 2022). Os coronavírus pertencem à família Coronaviridae e são classificados em quatro gêneros principais: Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Gammacoronavirus e Deltacoronavirus. Os Alphacoronavirus e Betacoronavirus geralmente infectam mamíferos, enquanto os Gammacoronavirus e Deltacoronavirus tendem a infectar aves e, ocasionalmente, mamíferos (Oliveira; Pekler, 2023).

Figura 1 - Taxonomia completa do Alphacoronavirus 1



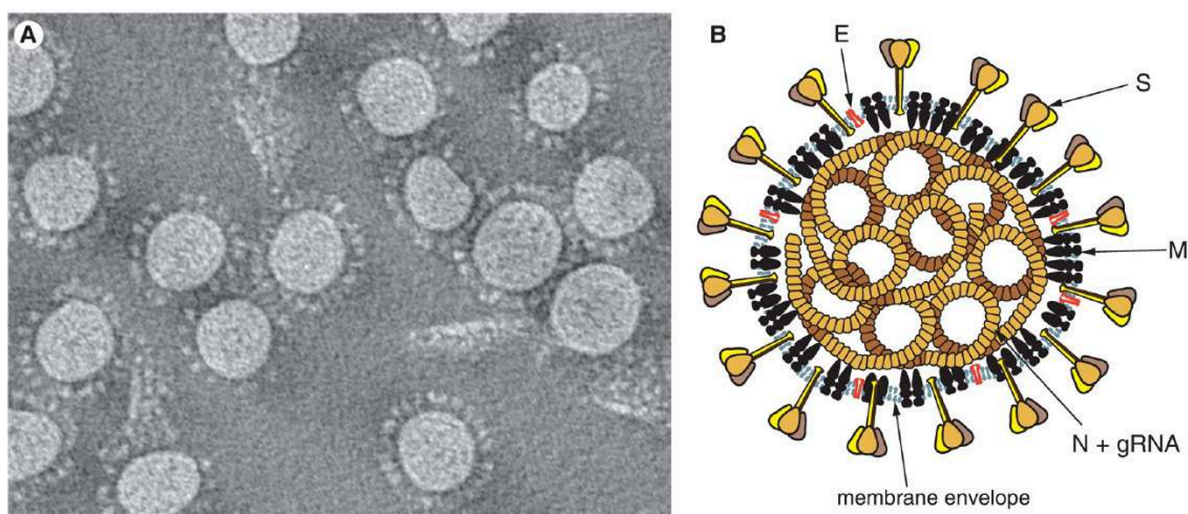
Fonte: Elaborada pelo autor (2025).

Entre os coronavírus que afetam os animais, destaca-se o Coronavírus Felino (FCoV), que pertence ao gênero Alphacoronavirus. O FCoV é altamente prevalente em populações de gatos domésticos e é classificado em dois biotipos principais: O Coronavírus Entérico Felino (CoVEF), biotipo geralmente causador de infecções assintomáticas ou leves no trato

gastrointestinal dos gatos (Gao *et al.*, 2023). Os sintomas podem incluir diarreia leve e transitória; e o Vírus da Peritonite Infecciosa Felina (VPIF), uma mutação do CoVEF que pode resultar no VPIF, que é responsável pela Peritonite Infecciosa Felina (PIF), uma doença grave e frequentemente fatal. A PIF pode se manifestar em duas formas: efusiva (úmida), caracterizada pelo acúmulo de líquido no abdômen ou tórax, e não efusiva (seca), que envolve a formação de piogranulomas em vários órgãos (Barker; Tasker, 2020).

O FCoV é um vírus de RNA não segmentado, de cadeia simples, que pertence à ordem Nidovirales, família Coronaviridae, subfamília Coronavirinae e gênero Alphacoronavirus. As partículas do vírus são redondas ou polimórficas, com simetria helicoidal e diâmetros de aproximadamente 80 a 120 nm. O FCoV é envolto e tem aproximadamente 15-20 nm de comprimento em sua superfície, que causam uma aparência coronal (coroadada) sob um microscópio eletrônico (Gao *et al.*, 2023).

Figura 2 - Representação da estrutura de um FCoV



Fonte: Adaptado de Fields (2020).

Legenda: A) Imagem de crio-microscopia eletrônica tomográfica de vírions purificados do coronavírus;

B) Esquema ilustrando as principais proteínas estruturais do vírion do coronavírus: S, proteína spike (espícula); M, proteína de membrana; E, proteína de envelope; e N, proteína do nucleocapsídeo.

O FCoV é um RNA-vírus envelopado amplamente distribuído entre felinos, conhecido por sua alta contagiosidade e potencial de mutação. O CoVEF, comumente responsável por infecções intestinais autolimitantes, e o vírus da VPIF, que está ligado à Peritonite Infecciosa Felina (PIF), uma condição imunomediada grave e frequentemente fatal, são os biotipos principais. A mudança de CoVEF para VPIF acontece devido a alterações no genoma do

vírus, que possibilitam a mudança de célula alvo, de enterócitos para monócitos e macrófagos, causando disseminação sistêmica e inflamação piogranulomatosa (Mendonça *et al.*, 2022).

A transmissão do FCoV pode ocorrer pela via fecal-oral ou oral-nasal, especialmente em ambientes com alta densidade de gatos, como abrigos e criadouros. A maioria dos gatos infectados com o CoVEF não desenvolve a PIF; no entanto, fatores como a predisposição genética, o estresse e condições ambientais podem contribuir para a mutação do vírus e o desenvolvimento da doença. Além disso, gatos jovens, com menos de 2 anos de idade, e aqueles submetidos a contatos frequentes com outros felinos, como em abrigos e colônias, têm maior risco de ser infectados (Almeida; Galdino; Araújo Júnior, 2019). O estresse também pode ser um fator de risco, uma vez que ele pode desencadear a mutação viral em um número maior de gatos. Gatos com sistema imunológico mais comprometido ou que possuem predisposição genética para desenvolver respostas imunológicas inadequadas ao FCoV estão mais propensos a sofrer a mutação do vírus e a desenvolver a doença (Tasker *et al.*, 2023).

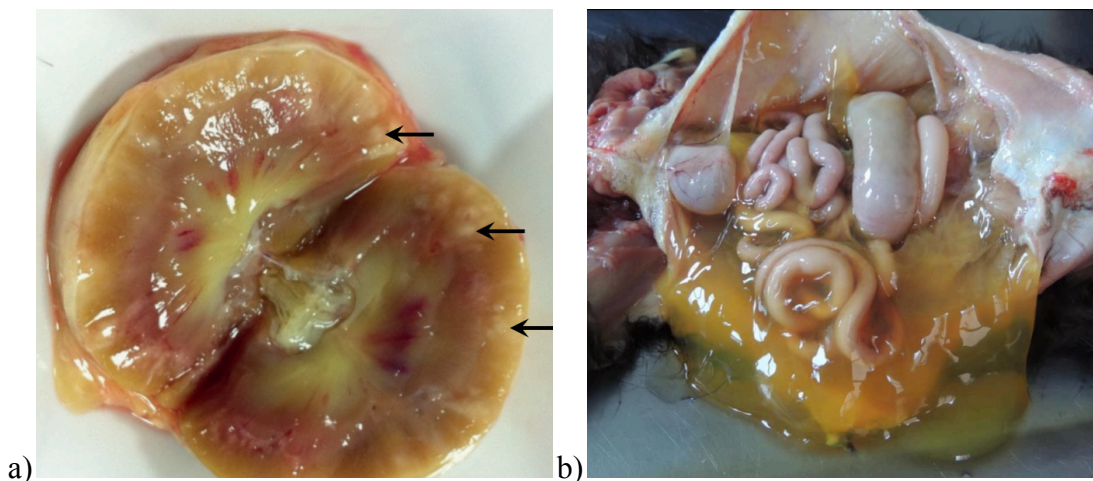
2.2 PERITONITE INFECCIOSA FELINA

A PIF foi relatada pela primeira vez na década de 70, quando foi introduzida a infecção como uma doença. No entanto, devido às condições na época, apenas testes bacteriológicos foram realizados para detectar infecções bacterianas. Compreende uma doença viral de elevada gravidade e complexidade, que afeta gatos domésticos e selvagens (Wolfe; Griesemer, 1966). A PIF é causada por uma mutação do coronavírus felino (FCoV), um vírus que, na sua forma original, é bastante comum e geralmente está presente no trato gastrointestinal de muitos gatos sem causar sintomas graves. Em uma proporção menor, esse coronavírus pode sofrer uma mutação, que o transforma em um subtipo altamente patogênico, conhecido como VPIF (Tekes; Thiel, 2016). O VPIF pode desencadear uma resposta imunológica exagerada, levando à inflamação sistêmica e ao desenvolvimento da PIF, que pode afetar praticamente qualquer órgão do corpo do animal, com predileção pelo sistema gastrointestinal, fígado, rins, sistema nervoso central e olhos (Mendonça *et al.*, 2022).

A PIF resulta em uma resposta inflamatória crônica e intensa, o que pode levar a danos irreversíveis em vários órgãos vitais. Esse processo inflamatório, em vez de ser localizado, tem a característica de se espalhar rapidamente pelo corpo, e a inflamação pode se apresentar de duas formas principais, que determinam a manifestação clínica da doença: a forma efusiva (úmida) e a forma não-efusiva (seca), e cada uma delas apresenta um conjunto de sintomas específicos. Embora a PIF seja uma condição grave, a compreensão dos sinais

clínicos e um diagnóstico precoce podem permitir a implementação de tratamentos eficazes, aumentando as chances de sucesso no manejo da doença (Barker; Tasker, 2020).

Figura 3 - Diferenciação entre PIF seca e úmida



Fonte: Adaptado de Barker; Tasker (2020).

Legenda: a) PIF Seca ou Não-Efusiva;
b) PIF Úmida ou Efusiva.

Na sua forma não-efusiva, ou seca, a PIF caracteriza-se por um conjunto de sintomas mais sutis e de evolução mais lenta quando comparada à forma efusiva. Ao invés do acúmulo de líquidos nas cavidades corporais, típico da forma úmida, a forma seca é caracterizada pela formação de lesões granulomatosas, como pode ser observado nas regiões assinaladas na figura acima, que são áreas de inflamação crônica e fibrose que afetam diversos órgãos internos. Essas lesões podem se formar em órgãos como fígado, rins, sistema nervoso central e olhos, levando a uma série de sintomas clínicos que variam dependendo dos órgãos envolvidos. Portanto, a PIF seca apresenta uma série de sintomas que variam conforme os órgãos afetados e o estágio da doença (Tasker *et al.*, 2023). Esses sintomas podem se manifestar de forma gradual, o que torna o diagnóstico precoce um desafio. Nessa forma, os gatos podem apresentar ataxia, que é a dificuldade de coordenação motora. Isso pode se manifestar como dificuldades para andar, tropeços e até desorientação. Em casos mais graves, o vírus pode afetar diretamente o sistema nervoso central, levando a convulsões que podem variar em intensidade, desde episódios leves até convulsões severas. Além disso, mudanças no comportamento também são frequentemente observadas. Gatos afetados podem se tornar letárgicos, mais agressivos ou entrar em um estado de desorientação, especialmente à medida que o sistema nervoso é progressivamente comprometido pela doença (Barker; Tasker, 2020).

A uveíte, inflamação ocular, é uma das manifestações mais comuns da PIF seca e pode se apresentar como vermelhidão nos olhos, dor ocular, sensibilidade à luz e secreção ocular. Se não tratada adequadamente, a uveíte pode evoluir para cegueira. Em alguns casos mais avançados, as lesões granulomatosas podem afetar diretamente a estrutura ocular, como a retina e a córnea, causando danos graves aos olhos (Tasker *et al.*, 2023).

Embora a forma seca da PIF não cause o acúmulo de líquidos no abdômen, as lesões piogranulomatosas podem afetar órgãos internos como o fígado e o pâncreas. Isso pode levar a dificuldade de digestão, perda de apetite e emagrecimento progressivo do animal. O envolvimento hepático pode provocar icterícia, que é o amarelamento das mucosas e da pele, sinalizando comprometimento do fígado. Esse quadro é comum em estágios mais avançados da doença (De Cunha *et al.*, 2021). Quando os rins são afetados pela PIF seca, a insuficiência renal pode ocorrer, isso se manifesta inicialmente com sintomas como aumento da sede (polidipsia) e aumento da produção urinária (poliúria). À medida que a função renal se deteriora, a produção urinária diminui, o que pode levar a sinais de desidratação. Além disso, a anemia pode ser observada nos estágios mais avançados da doença, devido ao comprometimento da medula óssea e à dificuldade do organismo em produzir glóbulos vermelhos saudáveis (Barker; Tasker, 2020).

Entre os sintomas mais gerais e frequentemente observados em gatos com PIF seca, destaca-se a febre persistente. A febre costuma ser difícil de controlar e pode persistir por períodos prolongados sem uma causa identificável. Além disso, a perda de peso e a falta de apetite (anorexia) são sinais clínicos comuns, ocorrendo devido ao comprometimento dos órgãos internos e à inflamação crônica. Com o avanço da doença, os gatos se tornam letárgicos e apresentam fraqueza, passando a maior parte do tempo deitados e mostrando pouca energia para se movimentar ou interagir (De Cunha *et al.*, 2021).

Em alguns casos, pode ser observada a linfadenopatia, que é o aumento dos gânglios linfáticos. Embora esse aumento não seja sempre evidente, ele pode ocorrer como uma resposta à inflamação sistêmica causada pela infecção viral. O aumento dos gânglios linfáticos pode ser palpável e é mais comum em estágios mais avançados da doença. Esses sintomas podem evoluir de forma variável, dependendo da intensidade das lesões piogranulomatosas nos diferentes órgãos. O acompanhamento veterinário e o diagnóstico precoce são fundamentais para aumentar as chances de tratamento eficaz e melhorar o prognóstico do gato afetado pela PIF seca (Tasker *et al.*, 2023).

Segundo Itaborahy (2024), a PIF úmida, também conhecida como forma efusiva, é caracterizada pela presença de acúmulo de líquidos nas cavidades corporais, como abdômen,

tórax e, às vezes, na cavidade pericárdica. A forma úmida da PIF é geralmente mais rápida em sua progressão e tende a ser mais evidente devido ao acúmulo de líquidos, o que causa distensão abdominal e dificuldades respiratórias. Os sintomas podem variar de acordo com a localização do acúmulo de líquidos e os órgãos afetados. Desta forma, a PIF é uma doença viral grave caracterizada principalmente pelo acúmulo de líquidos nas cavidades corporais. O acúmulo de fluido pode ocorrer no abdômen, tórax e, em casos mais raros, na cavidade pericárdica. Os sintomas da forma úmida podem ser variados, mas geralmente envolvem sinais sistêmicos, abdominais e respiratórios.

Um dos primeiros sinais a ser notado é a febre persistente, que é uma característica comum tanto na PIF seca, quanto na úmida. A febre na PIF úmida pode ser difícil de controlar e muitas vezes não responde aos tratamentos convencionais para febre (De Cunha *et al.*, 2021). Além disso, os gatos afetados por PIF úmida costumam apresentar perda de apetite (anorexia), o que leva à perda de peso gradual. Esse quadro é muitas vezes acompanhado de fraqueza e apatia, com o gato se tornando progressivamente mais letárgico. O aumento da letargia resulta em um comportamento cada vez mais apático, com o animal se mostrando pouco interessado em interações sociais ou atividades diárias (Itaborahy *et al.*, 2024).

A característica mais evidente da PIF úmida é o acúmulo de líquido no abdômen, conhecido como ascite. Esse acúmulo de fluido causa uma distensão abdominal visível, que pode ser palpada durante o exame físico. O aumento do volume abdominal pode ser significativo, causando desconforto e dificultando a respiração do animal. Quando o líquido se acumula em torno do diafragma, ele pode comprometer a expansão pulmonar, resultando em dificuldade respiratória. Isso pode se manifestar como respiração ofegante ou dificuldade evidente para respirar. Em casos mais graves, o líquido também pode se acumular no tórax (derrame pleural), agravando ainda mais os problemas respiratórios e comprometendo a função pulmonar (De Cunha *et al.*, 2021).

Embora a PIF úmida seja predominantemente caracterizada pelo acúmulo de líquidos, alguns gatos afetados podem apresentar sintomas neurológicos leves, como desorientação ou até convulsões, especialmente se o sistema nervoso central estiver envolvido. Além disso, mudanças comportamentais são comuns, como agitação, letargia e uma combinação de apatia e agressividade. Essas alterações podem ser resultado da inflamação sistêmica e do desconforto físico causado pelo acúmulo de líquidos nas cavidades corporais (Itaborahy *et al.*, 2024).

Segundo Tasker e colaboradores (2023), a uveíte, que é a inflamação ocular, pode estar presente em gatos com PIF úmida, embora seja mais característica da forma seca da

doença. Quando ocorre, a uveíte pode se manifestar com vermelhidão ocular, sensibilidade à luz, secreção ocular e, em casos mais graves, pode levar à perda de visão se não for tratada adequadamente.

O acúmulo de líquidos também pode afetar o sistema cardiovascular. A insuficiência cardíaca é uma complicação comum da PIF úmida, especialmente quando o líquido se acumula na cavidade pericárdica, onde envolve o coração. Esse acúmulo de fluido pode gerar dificuldades respiratórias e edema (inchaço) nas extremidades, além de aumentar o risco de falência orgânica, comprometendo ainda mais a saúde do gato (Tasker *et al.*, 2023).

O aumento dos gânglios linfáticos também pode ser observado em gatos com PIF úmida, embora essa manifestação não seja tão evidente quanto os sinais de retenção de líquidos no organismo. O aumento dos linfonodos pode ser um indicativo da resposta imunológica do organismo à infecção viral, embora nem sempre seja facilmente detectado. A PIF úmida é uma doença que apresenta sintomas clínicos evidentes e progressivos, especialmente devido ao acúmulo de líquidos nas cavidades corporais. O diagnóstico precoce e o manejo adequado são essenciais para aumentar as chances de tratamento eficaz e melhorar o bem-estar do gato afetado (Itaborahy *et al.*, 2024).

2.2.1 Diagnóstico

O diagnóstico da PIF é complexo devido à ausência de sinais clínicos patognômicos e à semelhança dos sintomas com outras doenças felinas. Além disso, muitos dos testes disponíveis não diferenciam entre o coronavírus entérico felino (FECV), geralmente benigno, e o vírus mutante causador da PIF. A avaliação inicial inclui a coleta detalhada do histórico do animal e um exame físico completo. Fatores como idade jovem, convivência em ambientes com múltiplos gatos (gatis, abrigos) e sinais clínicos compatíveis podem aumentar a suspeita de PIF (Oliveira; Pekler, 2023).

Em relação aos exames laboratoriais, o hemograma pode revelar anemia não regenerativa, leucocitose com neutrofilia e linfopenia. No exame de bioquímica sérica, pode ser observado hiperproteinemia, especialmente hiperglobulinemia, um achado comum em casos de PIF. A relação albumina/globulina inferior a 0,8 é sugestiva de PIF. Na forma efusiva, a análise do líquido acumulado é fundamental. O líquido típico da PIF é um exsudato viscoso, de coloração amarelo-citrino, com alta proteína (geralmente $>3,5$ g/dL) e baixa celularidade. O teste de Rivalta consiste em um exame simples que auxilia na diferenciação

entre transudatos e exsudatos. Um resultado positivo é indicativo de PIF, embora não definitivo (Itaborahy *et al.*, 2024).

De acordo com Oliveira e Pekler (2023), a detecção de anticorpos contra o FCoV pode ser realizada, mas não distingue entre CoVEF e VPIF. Portanto, um resultado positivo indica exposição ao coronavírus, mas não confirma a PIF. A Reação em Cadeia da Polimerase com Transcriptase Reversa permite a detecção do RNA viral em amostras de sangue, efusões ou tecidos. Embora não diferenciam entre CoVEF e VPIF, a detecção de altos títulos virais em efusões ou tecidos é altamente sugestiva de PIF.

Radiografias e ultrassonografias podem identificar efusões e lesões em órgãos internos, o que auxilia na avaliação da extensão da doença. Com isso, a obtenção de amostras de tecidos afetados para exame histopatológico é considerada o padrão-ouro para o diagnóstico definitivo da PIF. As lesões típicas incluem vasculite e inflamação piogranulomatosa perivascular (Itaborahy *et al.*, 2024).

Portanto, o diagnóstico da PIF requer uma abordagem multifacetada, combinando dados clínicos, laboratoriais e de imagem. Embora nenhum teste isolado seja conclusivo, a integração de múltiplas evidências aumenta a precisão diagnóstica. Avanços nas técnicas de biologia molecular e imuno-histoquímica têm aprimorado a capacidade de detecção e confirmação da doença, oferecendo esperança para diagnósticos mais precoces e precisos (Oliveira; Pekler, 2023).

2.2.2 Tratamento

Historicamente, o tratamento da PIF era limitado a cuidados de suporte e terapias imunossupressoras, com prognóstico reservado. No entanto, pesquisas recentes têm explorado o uso de compostos com atividade antiviral, como o GS-441524, o GC-376, a Prednisolona, o Interferon e a Ribavirina, que mostraram resultados promissores no tratamento da PIF, oferecendo esperança para uma condição anteriormente considerada fatal, porém apresentam problemas relacionados ao custo, efeitos colaterais e eficácia (Nekouei *et al.*, 2022).

O GS-441524 é um análogo de nucleosídeo que age como um inibidor da RNA polimerase dependente de RNA viral. Após a administração, o GS-441524 é metabolizado em sua forma ativa, GS-5734, que se incorpora ao RNA viral em replicação e bloqueia a síntese de novas cópias do coronavírus. Isso impede a propagação da infecção, proporcionando uma redução significativa na carga viral. Estudos clínicos demonstraram que o GS-441524 é seguro e eficaz no tratamento da PIF, como os dados apresentados por Pedersen e

colaboradores (2019), que indicam uma dosagem ideal de 4,0 mg/kg por via subcutânea a cada 24 horas, administrada por pelo menos 12 semanas (Pedersen *et al.*, 2019).

Embora o GS-441524 tenha mostrado resultados promissores, é essencial que o tratamento seja supervisionado por um veterinário especializado. A dosagem e a duração do tratamento podem variar conforme a gravidade da doença e a resposta individual do animal. Embora o GS-441524 tenha mostrado grande potencial, o seu uso continua a ser um tema de debate em várias regiões devido à falta de aprovação oficial por órgãos como a FDA para o tratamento da PIF em gatos. Muitos dos medicamentos disponíveis são obtidos por importação, e seu uso ocorre no contexto de uso compassivo (Zwicklbauer *et al.*, 2023).

Um dos principais problemas relacionados ao tratamento com GS-441524 para PIF se deve principalmente ao alto custo do medicamento, que não é amplamente disponível no mercado e é frequentemente importado. Além disso, o tratamento exige várias semanas de administração contínua, o que pode representar uma despesa significativa para os tutores de gatos afetados. O valor do tratamento pode variar entre R\$ 1.000 e R\$ 3.000 por mês, a depender da dosagem necessária e da duração do tratamento (geralmente entre 8 e 12 semanas). Isso pode resultar em um custo total superior a R\$ 10.000. A alta demanda e a falta de regulamentação também contribuem para os preços elevados (Pedersen *et al.*, 2019). Devido ao alto custo e à necessidade de mais estudos sobre a dose ideal, efeitos a longo prazo e aprovação regulatória, a utilização deste medicamento se torna um obstáculo do ponto de vista financeiro e deve ser considerada com cautela e sempre sob orientação veterinária especializada (Zwicklbauer *et al.*, 2023).

O GC-376 é outro antiviral em etapa experimental, que atua de forma semelhante ao GS-441524. Ele é um inibidor da protease do FCoV, capaz de bloquear o processo de replicação viral. Estudos demonstraram que o GC-376 é eficaz na redução dos sintomas da PIF e na melhoria do prognóstico dos gatos infectados. Esse medicamento mostrou-se eficaz em estudos tanto *in vitro* quanto *in vivo*, com bons resultados em modelos experimentais de gatos afetados pela PIF. Nos testes realizados, foi observado que o GC-376 reduz significativamente os sintomas clínicos da doença, promovendo recuperação nos animais tratados. No entanto, como o GS-441524, o GC-376 não está aprovado oficialmente para uso veterinário em muitos países, o que limita seu acesso (Nekouei *et al.*, 2022).

O tratamento com GC-376 requer uma administração cuidadosa, por via subcutânea, e é realizado por um período prolongado, que pode durar até 12 semanas, dependendo da gravidade da doença e da resposta do animal ao tratamento. Embora o GC-376 tenha mostrado potencial para salvar vidas, ainda existem desafios relacionados ao custo, à

disponibilidade, à falta de regulamentação oficial e à via de administração, o que evidencia a necessidade de busca de novos fármacos que sejam mais acessíveis (Kim *et al.*, 2016).

A Prednisolona é um corticosteroide frequentemente utilizado no tratamento da PIF como parte do manejo clínico para reduzir a inflamação e melhorar os sintomas associados à doença. A Prednisolona pode ser útil em casos não complicados ou como parte de um tratamento paliativo, mas não trata a causa viral subjacente da PIF. Ela é indicada principalmente em casos onde há uma resposta inflamatória significativa, na medida em que reduz a dor, a febre e o inchaço abdominal. No entanto, seu uso é controverso, pois os corticosteroides podem suprimir o sistema imunológico, o que pode permitir a proliferação do vírus que causa a PIF, agravando a infecção viral (Nekouei *et al.*, 2022).

A Prednisolona não trata diretamente o FCoV, mas pode ser utilizada em tratamentos paliativos ou como parte de uma terapia de suporte, especialmente em gatos com formas não complicadas da doença. Seu uso é mais comum em associação com outros medicamentos, como o GS-441524 e o GC-376, que agem diretamente sobre o vírus, enquanto a Prednisolona contribui para controlar as manifestações inflamatórias. Em geral, a Prednisolona deve ser utilizada com cautela, pois o uso prolongado pode levar a efeitos colaterais além da imunossupressão, como o aumento da pressão intraocular e problemas gastrointestinais (Kameshima *et al.*, 2020).

O Interferon tem sido utilizado como uma terapia adjuvante no tratamento de PIF, pois pode estimular a resposta imunológica do gato, ajudando a controlar a infecção viral. O Interferon possui propriedades antivirais que podem aumentar a capacidade do sistema imunológico de combater o coronavírus felino, embora não seja eficaz sozinho para tratar a PIF. Seu uso é frequentemente combinado com outros tratamentos, como antivirais (GS-441524), para melhorar a resposta clínica. Além disso, o Interferon pode ter efeitos colaterais, como febre, mal-estar e alterações no comportamento, que precisam ser monitorados durante o tratamento (Tasker *et al.*, 2023).

A Ribavirina é um antiviral de amplo espectro que tem sido utilizado em tratamentos experimentais para PIF. Ela atua inibindo a replicação do RNA viral, o que é relevante no controle da infecção por FCoV, o agente causador da PIF. O medicamento foi empregado em protocolos terapêuticos para PIF antes do desenvolvimento de antivirais mais específicos, como o GS-441524. Em alguns casos, os efeitos adversos da Ribavirina, como toxicidade hepática, anemia e distúrbios hematológicos, tornaram sua utilização problemática. Esses efeitos colaterais podem ser graves, especialmente em gatos com o sistema imunológico

comprometido pela infecção viral, o que limita a recomendação do medicamento como terapia de primeira linha (Weiss; Cox; Martinez, 1993).

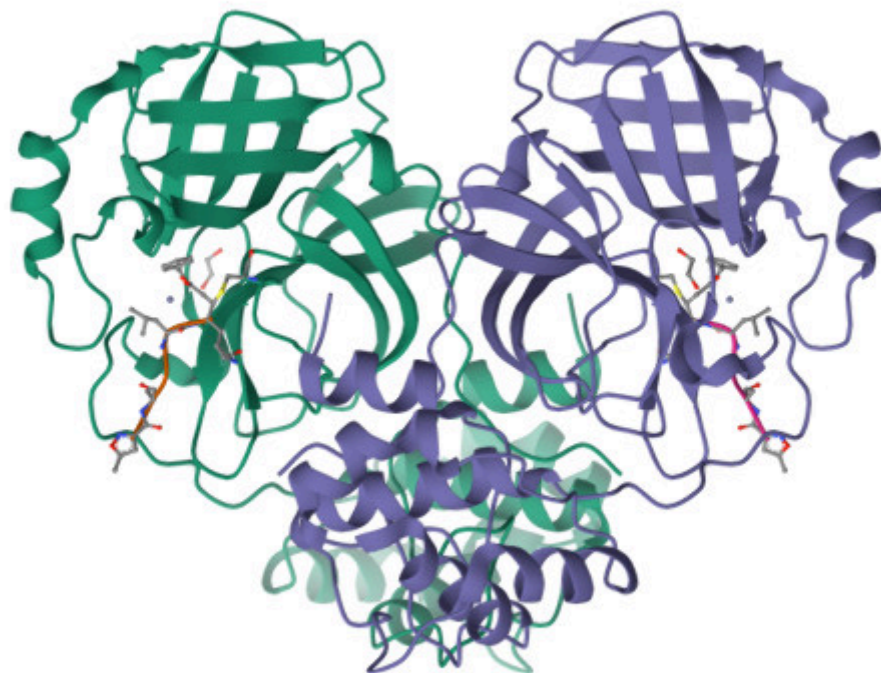
Portanto, o tratamento para a PIF apresenta diversas alternativas, mas nenhum dos medicamentos ou compostos atualmente efetivos apresentam um conjunto ideal de características, o que deve incluir o custo acessível e a eficácia frente ao agente viral.

2.3 PROTEASES VIRAIS

Proteases virais desempenham um papel central no ciclo de replicação viral, incluindo o FCoV, responsável pela PIF. Essas enzimas são responsáveis pela clivagem de poliproteínas virais produzidas durante a replicação do vírus em proteínas funcionais, necessárias para a montagem de novas partículas virais (Vuong *et al.*, 2020). No caso dos FCoV, a protease principal, a 3CLpro, e a protease dependente de RNA, a PLpro, são as enzimas-chave envolvidas nesse processo (Lu *et al.*, 2022).

Segundo Wang e colaboradores (2016), a protease 3CLpro cliva as poliproteínas em vários segmentos que se tornarão as proteínas estruturais do vírus, como o capsídeo e outras proteínas necessárias para a replicação viral. Sem a ação dessa protease, o vírus não consegue gerar as proteínas essenciais para sua montagem e multiplicação. Da mesma forma, a PLpro está envolvida no processamento das proteínas virais e na modulação da resposta imune do hospedeiro, além de atuar em processos de replicação. A figura a seguir apresenta o modelo tridimensional da estrutura de uma protease viral disponível no banco de dados Protein Data Bank (PDB):

Figura 4 - Modelo tridimensional de uma protease viral, de código PDB 5EU8



Fonte: Adaptado de Nekouei *et al.* (2022).

Devido à sua importância na replicação viral, as proteases virais se tornaram um alvo estratégico para o desenvolvimento de terapias antivirais, especialmente no tratamento de infecções como a PIF. Medicamentos como o GC-376, por exemplo, são inibidores das proteases virais, bloqueando sua atividade e impedindo a replicação do vírus. Ao inibir essas enzimas, esses antivirais interrompem o ciclo viral, impedindo a formação de novas partículas virais e proporcionando uma melhora nos sintomas clínicos da doença (Nekouei *et al.*, 2022).

A seletividade desses inibidores é crucial, pois eles visam especificamente as proteases virais sem afetar as proteases do hospedeiro, reduzindo os riscos de efeitos colaterais. Problemas relacionados aos compostos que atuam frente a estes alvos moleculares, como o alto custo, contribuem para a necessidade de busca de moléculas que sejam capazes de inibir estes alvos moleculares.

2.4 COMPOSTOS DE ORIGEM NATURAL

Os compostos de origem natural constituem uma fonte inestimável de compostos bioativos ao longo da história da medicina. Sua diversidade estrutural e funcional oferece um vasto leque de possibilidades terapêuticas para diversas doenças, incluindo infecções virais. Produtos naturais são substâncias químicas produzidas por organismos vivos, incluindo

plantas, animais, microrganismos e outros seres. Esses compostos desempenham funções ecológicas essenciais, como defesa contra predadores, competição por recursos e atração de polinizadores. Na medicina e farmacologia, muitos produtos naturais serviram como base para o desenvolvimento de fármacos, destacando-se por suas propriedades terapêuticas únicas (Newman; Cragg, 2020).

As plantas têm sido utilizadas tradicionalmente para tratar uma variedade de doenças. Compostos como alcaloides, flavonoides, terpenoides e polifenóis, extraídos de plantas, exibem uma ampla gama de atividades biológicas, incluindo propriedades antivirais. Por exemplo, estudos demonstraram que fitoquímicos de *Vitex negundo* L. possuem potencial atividade contra proteases do SARS-CoV-2, sugerindo uma possível aplicação contra outros coronavírus, como o FCoV (Mitra *et al.*, 2022).

Microrganismos, especialmente bactérias e fungos, são fontes ricas de metabólitos secundários com atividades biológicas diversas. Antibióticos como a penicilina e a estreptomicina são exemplos clássicos de produtos naturais derivados de microrganismos. Além disso, compostos isolados de microrganismos têm mostrado potencial antiviral, podendo ser explorados no combate ao FCoV. Organismos marinhos, como esponjas, corais e algas, também produzem metabólitos únicos devido às condições ambientais específicas dos oceanos. Esses compostos têm demonstrado atividades antivirais promissoras e representam uma fronteira emergente na pesquisa de novos agentes terapêuticos (Blunt *et al.*, 2018).

A variedade química inerente aos compostos de origem natural oferece um potencial significativo para a descoberta de substâncias com múltiplos modos de ação antiviral. Isso se mostra especialmente relevante no enfrentamento de vírus de RNA, como os coronavírus, conhecidos por suas altas taxas de mutação. Determinadas moléculas naturais possuem a capacidade de inibir enzimas essenciais para a replicação viral, como as proteases, e essa variedade de ações confere aos compostos de origem natural um papel relevante não apenas como opções terapêuticas isoladas, mas também como componentes estratégicos em abordagens terapêuticas combinadas (Mitra *et al.*, 2022). No contexto da PIF, o uso de substâncias naturais com potencial para limitar a replicação viral representa uma abordagem promissora, sobretudo diante das barreiras econômicas e terapêuticas impostas pelos antivirais sintéticos atualmente disponíveis (Blunt *et al.*, 2018). Dessa forma, os compostos naturais se destacam como aliados estratégicos na busca por soluções mais acessíveis e eficazes contra infecções virais emergentes.

2.5 BIOINFORMÁTICA ESTRUTURAL

A Bioinformática Estrutural compreende uma área ampla e multidisciplinar que associa biologia, genética, ciência da computação, química, biotecnologia, matemática e estatística para analisar e interpretar dados biológicos em ampla escala (Diniz; Canduri, 2017). Esta área evoluiu rapidamente com o avanço das tecnologias de sequenciamento de nova geração e está em constante transformação em relação a forma como são conduzidas as pesquisas sobre doenças, ecossistemas e farmacologia. Nos últimos anos, a Bioinformática Estrutural desempenha um papel essencial para o estudo de um número ilimitado de conjuntos de dados, como os originados de sequenciamentos de genomas completos, estudos transcriptômicos e proteômicos. Aplicações relevantes incluem o diagnóstico de doenças genéticas, desenvolvimento de medicamentos e estudos na área de biologia molecular e estrutural (Morim; Moraes, 2024).

Uma das principais funções da Bioinformática Estrutural consiste no desenvolvimento e utilização de bancos de dados biológicos, plataformas essenciais para armazenar, organizar e disponibilizar a enorme quantidade de informações geradas por pesquisas em genômica, proteômica e outras áreas da biologia molecular (Libório; Resende, 2021). Os bancos de dados biológicos são repositórios que armazenam informações como sequências de DNA, RNA e proteínas, estruturas tridimensionais de macromoléculas, vias metabólicas, interações moleculares e dados de expressão gênica. Eles são fundamentais para a Bioinformática, pois permitem o armazenamento, recuperação e análise eficiente desses dados. A organização desses bancos de dados facilita a busca e a análise de informações biológicas, permitindo que pesquisadores acessem e utilizem dados de forma eficiente. A Bioinformática Estrutural depende fortemente de bancos de dados para armazenar e organizar os vastos volumes de dados biológicos gerados por tecnologias de alto rendimento, como o sequenciamento de nova geração (NGS). Os bancos de dados fornecem a infraestrutura necessária para que os bioinformatas possam acessar, gerenciar e analisar esses dados de forma eficiente, por meio de uma variedade de técnicas de simulação computacional (Filgueira Júnior, 2022).

Entre essas técnicas, destacam-se o alinhamento de sequências, que compara sequências de DNA, RNA ou proteínas para identificar semelhanças evolutivas e funcionais; a modelagem estrutural de proteínas, que prevê a estrutura tridimensional de macromoléculas com base em informações genéticas; e a análise de expressão gênica, que investiga quais genes estão ativos em diferentes condições celulares (Foulkes *et al.*, 2017). Uma das técnicas

fundamentais amplamente utilizadas na simulação computacional compreende o *Molecular Docking*, que simula a interação entre moléculas, como proteínas e fármacos, permitindo a previsão de afinidade e especificidade entre compostos químicos e alvos biológicos, sendo amplamente utilizado no desenvolvimento de novos medicamentos. Essas técnicas dependem da qualidade e acessibilidade dos bancos de dados biológicos, que fornecem informações essenciais para a construção de modelos computacionais e a realização de simulações que impulsionam a pesquisa biomédica e biotecnológica (Mariano *et al.*, 2024).

2.5.1 *Molecular Docking*

A técnica de *Molecular Docking*, também denominada Ancoramento ou Acoplamento Molecular, baseia-se no mecanismo de “mão e luva”. Essa é uma representação do reconhecimento molecular, onde determinados átomos de um ligante interagem com os resíduos de aminoácidos de um alvo molecular (também chamada macromolécula). O *Molecular Docking* consiste em um método importante para a identificação e otimização de compostos e seu potencial terapêutico. Por meio dessa técnica, é possível examinar a afinidade e as interações entre um ligante e seu alvo molecular em um ambiente de simulação computacional, onde são preparadas as estruturas de ambas as partes e o ancoramento é executado (Aguiar; Camps, 2024).

O *Molecular Docking* pode ser dividido em dois tipos de abordagem: o ancoramento rígido, onde o ligante e o alvo molecular interagem sem liberdade conformacional, e o flexível, onde o ligante, e em alguns casos o alvo molecular, possuem determinada liberdade conformacional durante o acoplamento (Forli *et al.*, 2016). O ancoramento flexível é interessante pois os ligantes podem mudar sua forma para se ajustarem melhor ao local de ligação do receptor. Embora mais intensivas em termos computacionais, algumas abordagens de ancoramento flexível também são responsáveis pela flexibilidade do receptor. Uma abordagem prática e que permite a condução de ancoramentos para triagem de um número elevado de ligantes em um curto período de tempo consiste em manter o alvo molecular rígido e ceder liberdade conformacional ao ligante, o qual encontrará sua conformação de maior estabilidade (Aguiar; Camps, 2024).

A essa conformação de maior estabilidade, também denominada pose, será calculado um valor de energia teórica, nomeada função *score* ou simplesmente afinidade. Este valor teórico de energia está relacionado às interações que ocorreram entre o ligante e o alvo molecular durante o ancoramento, e o somatório destas interações é um dos resultados obtidos

(Forli *et al.*, 2016). De forma experimental, este valor de energia é denominado Energia Livre de Gibbs, uma variável que associa a estabilidade da molécula em determinadas condições, cujo resultado se dá em kcal/mol. Por meio dos *softwares* responsáveis por técnicas de ancoramento molecular, opções de adição de cargas parciais aos átomos de uma estrutura tridimensional são capazes de estabelecer um valor de energia teórico, o que permite a obtenção de uma afinidade, também na unidade kcal/mol (Eberhardt *et al.*, 2021). A equação abaixo apresenta as variáveis consideradas para o cálculo da afinidade teórica:

$$\Delta G_{bind} = \Delta G_{vdW} + \Delta G_{hb} + \Delta G_{elec} + \Delta G_{solv} + \Delta G_{tor}$$

Na fórmula acima, ΔG_{bind} representa o resultado da soma de variáveis, em kcal/mol, que incluem: ΔG_{vdW} , que representa um valor teórico de energia relacionada a interações de atração ou repulsão de Van der Waals; ΔG_{hb} , que representa interações por ligação de Hidrogênio; ΔG_{elec} , que se refere a interações eletrostáticas; ΔG_{solv} , que representa interações com o solvente; e ΔG_{tor} , que se refere à entropia associada à flexibilidade do ligante, ou seja, à liberdade rotacional de suas ligações (Eberhardt *et al.*, 2021). Quanto menor o valor de afinidade previsto, mais estável estará a molécula em determinada conformação. Por este motivo, a comparação de resultados de afinidade obtidas para um ligante de referência em relação com outros ligantes permite ao usuário desta técnica identificar moléculas que obtiveram melhor afinidade na simulação (Torres *et al.*, 2019).

Após essa avaliação quantitativa da afinidade entre ligante e receptor, é realizada uma inspeção visual das interações entre os grupos funcionais do composto de teste e os resíduos de aminoácidos do alvo molecular. Esta avaliação tem o objetivo de prever que as interações sejam plausíveis e consistentes com os padrões conhecidos. Esta inspeção deve ser feita por meio da observação de interações críticas como: ligações de hidrogênio, interações iônicas e contatos hidrofóbicos. Esta visualização pode ser realizada tanto tridimensionalmente, como por meio de diagramas de interação 2D, que consiste em uma ferramenta valiosa de visualização simplificada e mais informativa das interações (Forli *et al.*, 2016).

Durante a análise de resultados da técnica, o pesquisador se depara com interações intermoleculares. A partir de plataformas e softwares de livre acesso, como a plataforma BIOVIA Discovery Studio Visualizer, alguns tipos específicos de interações podem ser visualizados, como: Interação por ligação de hidrogênio (convencional e não-convencional); Interação eletrostática; Interações hidrofóbicas (como π - π , alquil e π -alquil); Interação por ligação de Halogênio (F, Cl, Br, I); Interação Metálica; Interações envolvendo o átomo Enxofre; e Interações desfavoráveis (como por repulsão de cargas e efeito estérico) (Baroroh

et al., 2023).

Com isso, a análise das interações, em associação com a avaliação da afinidade obtida em um primeiro momento, permitem a conclusão acerca de compostos que possuem maior probabilidade de interagirem com determinados alvos moleculares. Esta compreende uma metodologia *in silico* com várias vantagens, principalmente quando se deseja avaliar um elevado número de compostos e determinar aqueles que podem se tornar melhores candidatos a fármacos.

3 JUSTIFICATIVA

Este trabalho tem como objetivo destacar que a Peritonite Infecciosa Felina (PIF) é uma doença grave e frequentemente fatal, que exige tratamentos mais eficientes (Oliveira; Pekler, 2023). A busca por soluções terapêuticas inovadoras pode ser ampliada por meio do uso de bancos de dados de compostos naturais, ricos em substâncias com potencial antiviral (Newman; Cragg, 2020). A aplicação de técnicas em Bioinformática, especialmente o *Molecular Docking*, permite simular a interação entre esses compostos e alvos específicos, como a principal protease do vírus relacionado à PIF (Aguiar; Camps, 2024; Wang *et al.*, 2016). Com isso, este projeto visa identificar substâncias com alta afinidade e potencial terapêutico, contribuindo para o desenvolvimento de terapias mais eficazes e acessíveis.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Realizar estudos *in silico* de compostos de origem natural para o desenvolvimento de novos fármacos para a Peritonite Infecciosa Felina (PIF).

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos deste trabalho incluem:

- a) obter marcador molecular em PIF com base em bancos de dados de publicação;
- b) obter compostos em bancos de dados biológicos para avaliação da afinidade pelo alvo molecular;
- c) prever propriedades físico-químicas dos melhores candidatos;
- d) identificar candidatos a protótipos de fármacos relacionados à PIF.

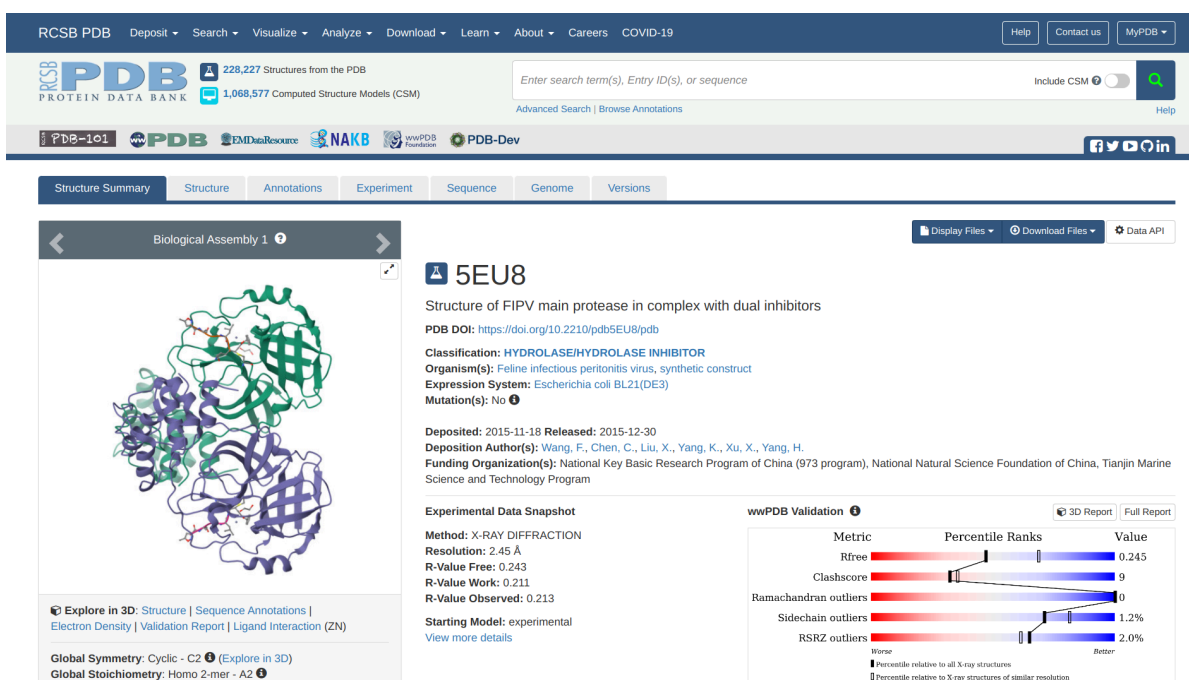
5 METODOLOGIA

As técnicas *in silico* foram realizadas no servidor disponível no Laboratório de Modelagem Molecular e Simulação Computacional (MolMod-CS) da UNIFAL-MG, onde foram conduzidas as buscas de informações em bancos de dados biológicos, leitura e otimização dos dados provenientes destes bancos e a execução de programas.

5.1 SELEÇÃO DO *TEMPLATE* DO ALVO MOLECULAR

Foi conduzida uma busca no banco de dados Protein Data Bank (PDB) (Burley *et al.*, 2023) de alvos moleculares relacionados ao vírus da Peritonite Infecciosa Felina (PIF). Para selecionar o melhor modelo foram consideradas estruturas que continham inibidores de referência.

Figura 5 - Modelo da estrutura de código PDB 5EU8 definido para os experimentos



Fonte: Elaborada pelo autor (2025).

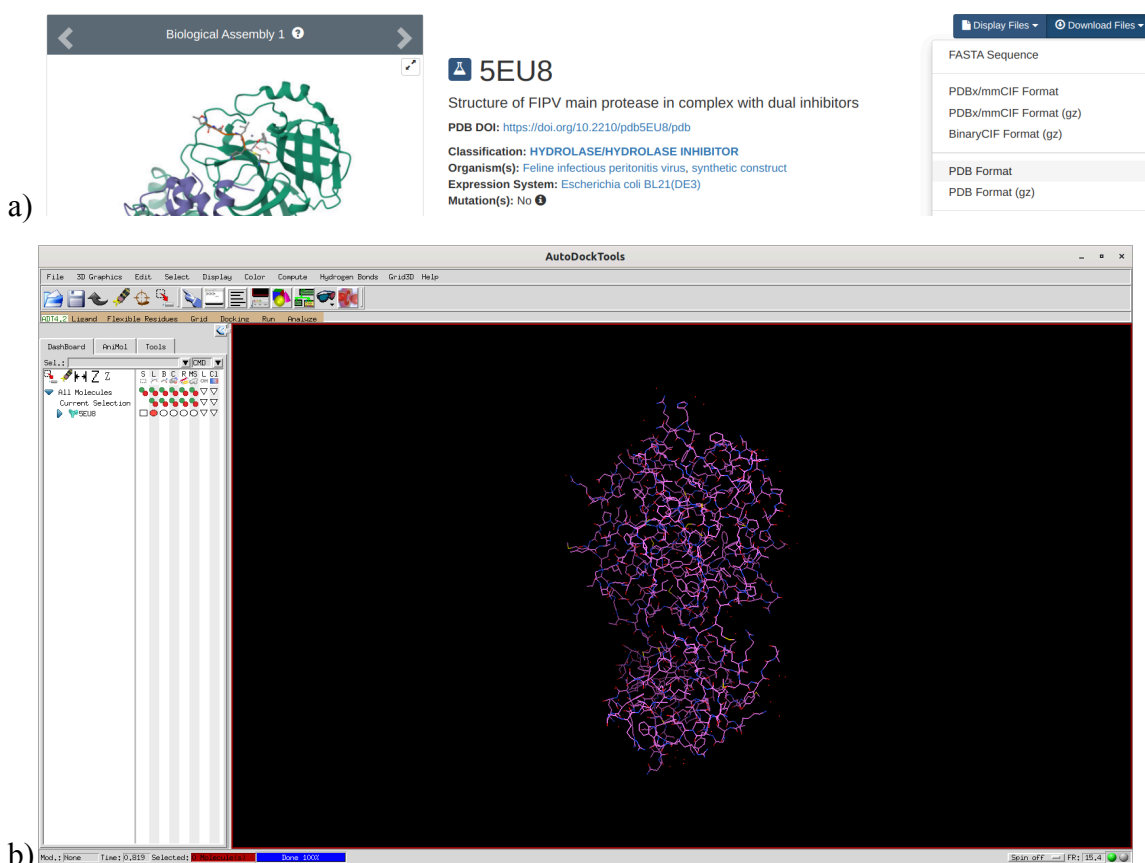
A estrutura acima consiste em um modelo tridimensional da principal protease atuante no processamento de produtos proteicos relacionados a etapa de replicação viral. Portanto, este alvo molecular representa um excelente ponto de partida para investigação de potenciais fármacos que atuem inibindo-o. A presença de um inibidor de referência, o peptídeo sintético

N-[(5-methylisoxazol-3-yl)carbonyl]Alanyl-L-valyl-N-1-((1R,2Z)-4-(benzyloxy)-4-oxo-1-[[[(3R)-2-oxopyrrolidin-3-yl]methyl]but-2-enyl]-L-leucinamide (PEP), é uma vantagem crucial para a execução de técnicas como o *Molecular Docking*, pois estão disponíveis informações sobre interações imprescindíveis. Dentre as informações sobre este alvo molecular, os autores citam uma interação relevante com um íon Zinco presente na região do sítio ativo (Wang *et al.*, 2016).

5.2 PREPARO DO ALVO MOLECULAR

O arquivo da estrutura da principal protease relacionada ao coronavírus causador da PIF, de código PDB 5EU8 foi obtido por meio do banco de dados Protein Data Bank e foi realizada a leitura do modelo no software AutoDock Tools, versão 1.5.6 (Forli *et al.*, 2016).

Figura 6 - Estrutura de código PDB 5EU8



Fonte: Elaborada pelo autor (2025).

Legenda: a) Opção para realizar o download do modelo cristalográfico da protease no banco de dados PDB;
b) Leitura do arquivo no programa AutoDock Tools.

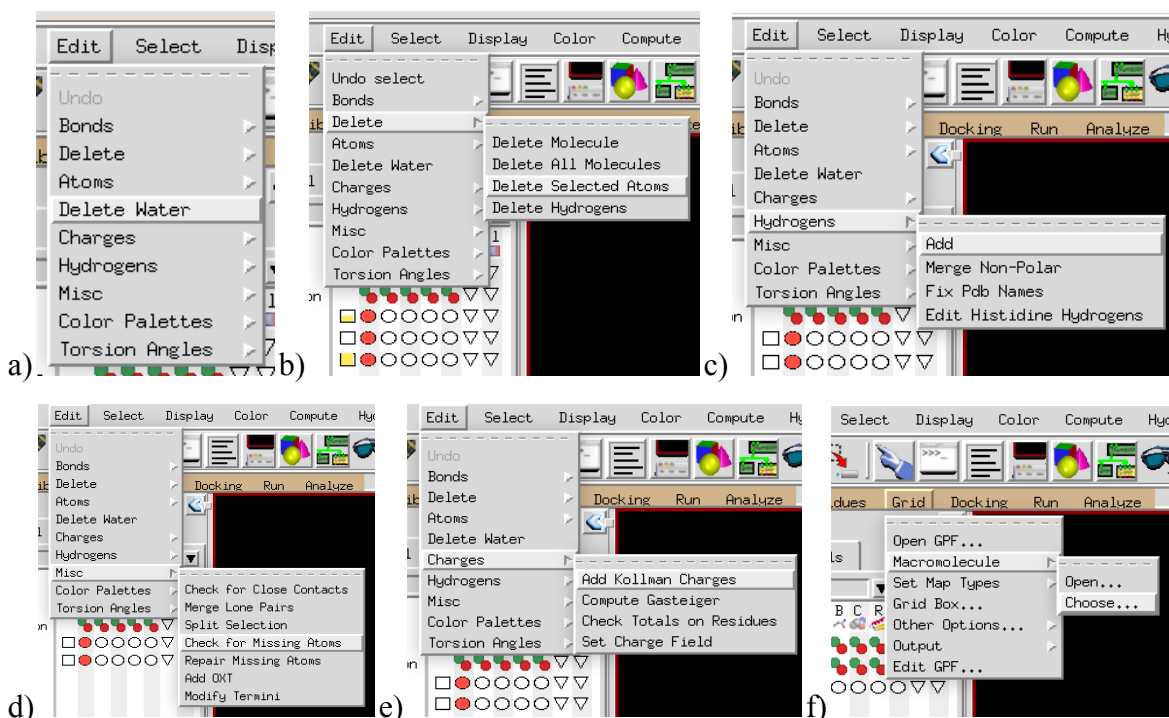
A técnica de *Molecular Docking* foi realizada de acordo com o protocolo de Forli e

colaboradores (2016). Esta estrutura tridimensional foi obtida por meio da técnica de difração de raios x, e estão presentes na estrutura moléculas do solvente onde esta enzima foi preparada. Nos casos onde o solvente está diretamente relacionado com interações no sítio ativo de alvo molecular, é recomendada a condução da técnica de *Molecular Docking* com o solvente explícito. Já nos casos onde o solvente não atua como mediador de interações relevantes, pode-se optar pela abordagem com solvente implícito. Neste estudo, como será analisado posteriormente, há interações cruciais realizadas no sítio ativo desta enzima que não sofrem influência direta de moléculas de água, o solvente aqui presente. A exclusão do solvente contribui também para a realização do ancoramento de forma mais rápida e prática. Portanto, foi realizada a técnica de *Molecular Docking* com o solvente implícito por dois motivos: pelo fato do solvente não estar relacionado com interações cruciais com inibidores na região do sítio ativo, e pela maior praticidade e rapidez da técnica.

Inicialmente, foram deletadas as moléculas de água da estrutura tridimensional, pois o foco da triagem consiste em avaliar as interações entre cada ligante frente ao alvo molecular, sem influência de solvente. Em seguida, foi deletada a cadeia B, pois há duas cadeias homólogas na estrutura, e o preparo apenas da cadeia A foi realizado para fins de diminuição do custo dos cálculos computacionais.

Na estrutura está presente um inibidor que consiste em um peptídeo sintético capaz de inibir de maneira irreversível esta protease (Wang *et al.*, 2016). Para o preparo do alvo molecular, o inibidor PEP foi selecionado e deletado da estrutura, para preparo apenas do alvo molecular em um primeiro momento. O átomo de zinco, metal presente no sítio ativo e importante para as interações ligante-receptor, foi mantido para a realização do ancoramento. Foram adicionados átomos de hidrogênio, para finalizar cadeias peptídicas com resíduos de aminoácidos incompletos. Para verificar se havia algum erro na estrutura, foi conduzida uma etapa de verificação de átomos perdidos. Diante de um resultado negativo, procedeu-se para a etapa de adição de cargas de Kollman, para otimização dos orbitais eletrônicos e a energia teórica relacionada a cada átomo da estrutura. O arquivo foi então salvo em formato .pdbqt, sob o título “5eu8.pdbqt” (Forli *et al.*, 2016).

Figura 7 - Preparação do alvo molecular



Fonte: Elaborada pelo autor (2025).

Legenda: a) Deleção de moléculas de água;

b) Deleção de átomos seleccionados (cadeia B e ligante de referência);

c) Adição de Hidrogênios;

d) Checagem de átomos perdidos;

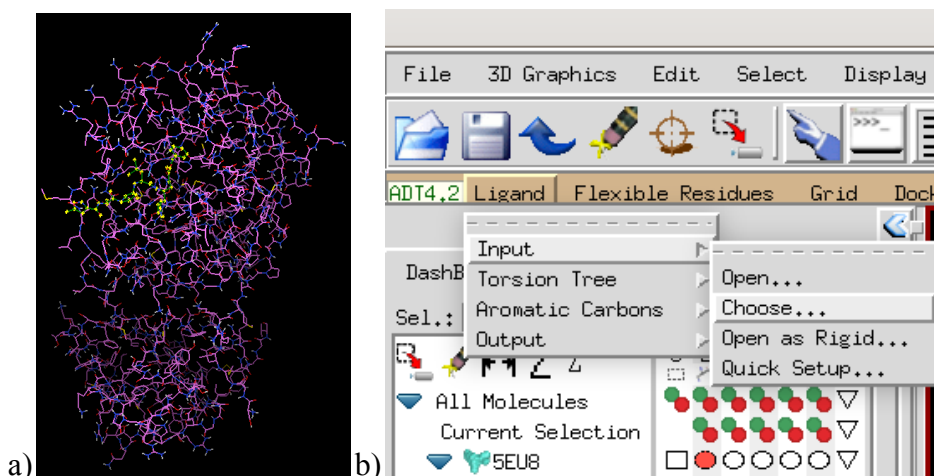
e) Adição de cargas de Kollman;

f) Opção para salvar o *template* da protease em formato .pdbqt.

5.3 PREPARO DO LIGANTE DE REFERÊNCIA

O inibidor de referência, um peptídeo sintético que atua por meio de um mecanismo de inibição irreversível, segundo Wang e colaboradores (2016), foi preparado por meio da leitura do arquivo da estrutura de código PDB 5EU8 novamente no programa AutoDock Tools. Para isso, foram deletadas as moléculas de água e toda a estrutura, exceto o ligante. O arquivo, intitulado “pep.pdbqt”, foi salvo no mesmo diretório do *template* do alvo molecular (Forli *et al.*, 2016).

Figura 8 - Preparo do ligante de referência



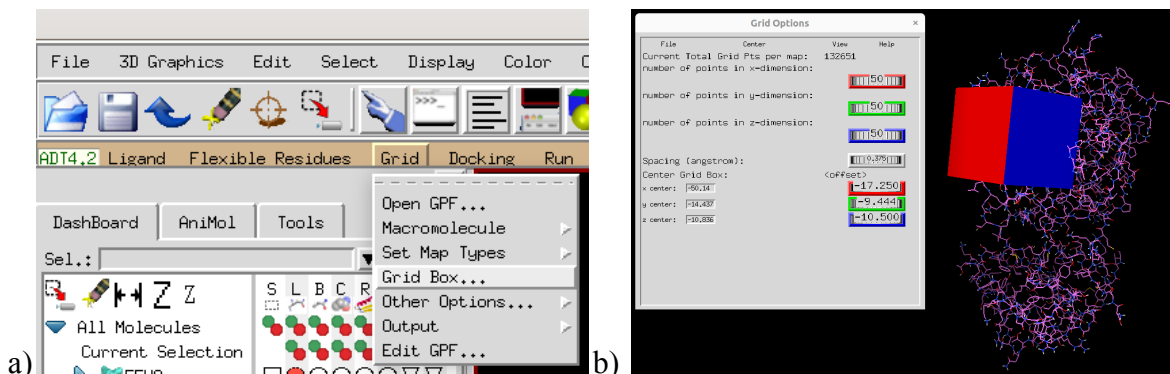
Fonte: Elaborada pelo autor (2025).

Legenda: a) Seleção do inibidor;

b) Definição do ligante e opção para salvar o arquivo em formato .pdbqt.

5.4 DEFINIÇÃO DA REGIÃO DO SÍTIO ATIVO

O arquivo PDB inicial foi aberto novamente no *software* AutoDock Tools. O inibidor de referência foi selecionado e um *grid box*, ou seja, um campo de força, foi criado na região onde este composto está localizado. Então, foram geradas as coordenadas e o tamanho deste *grid box* em um arquivo salvo com o nome “config.txt”. Foram realizados vários testes por meio da variação das coordenadas e do tamanho do *grid box* para determinar a melhor pose do inibidor de referência, com intuito de encontrar os parâmetros ideais que possam prever interações descritas no artigo disponível no banco de dados (Forli *et al.*, 2016).

Figura 9 - Definição do *grid box*

Fonte: Elaborado pelo autor.

Legenda: a) Seleção da opção do *grid box*;

b) Definição das coordenadas e das dimensões do *grid box*.

5.5 SELEÇÃO DOS COMPOSTOS DE ORIGEM NATURAL

Foi realizada uma busca avançada no banco de dados de ligantes de livre acesso PubChem, subseção The Natural Products Atlas (Kim *et al.*, 2023; Santen *et al.*, 2021). Nesta base de dados, estão disponíveis 36.399 estruturas de produtos naturais, das quais foram selecionadas 11.975 compostos mais recentes, cujas estruturas foram salvas em formato .sdf.

Figura 10 - Mecanismo de busca avançada para seleção dos compostos

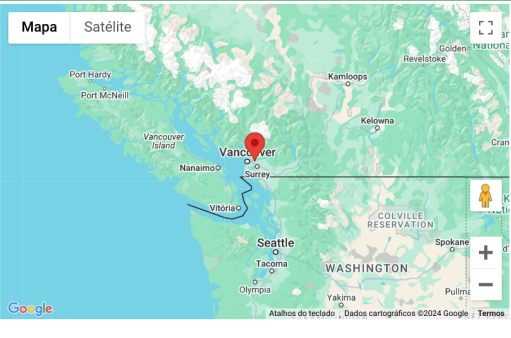
PubChem About Docs Submit Contact Search PubChem

DATA SOURCES

The Natural Products Atlas

The Natural Products Atlas is designed to cover all microbially-derived natural products published in the peer-reviewed primary scientific literature. The Natural Products Atlas is created by a consortium of data curators from around the world, and is maintained by researchers in the Linington Research Group in the Department of Chemistry at Simon Fraser University in Vancouver, Canada.

Organization	The Natural Products Atlas
Category	Curation Efforts
URL	https://www.npatlas.org/
License Note	The Natural Products Atlas is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.
License URL	https://www.npatlas.org/terms
Contact Name	Jeffrey van Santen
Address	8888 University Dr, Burnaby, BC, Canada
Data Source ID	23777
Data in PubChem	36,399 Live Substances 18,351 Annotations 1 Classification
Last Updated	2024/11/15



a)

FILTERS 11,975 RESULTS Clear All (1)

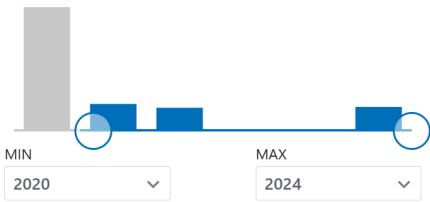
DATA SOURCE

The Natural Products Atlas (11,975)

DATA SOURCE CATEGORY

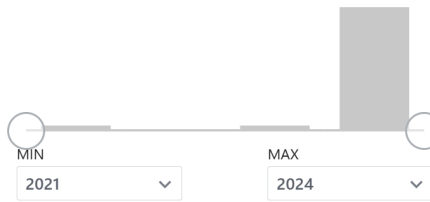
Curation Efforts (11,975)

DEPOSIT DATE Reset



MIN: 2020 MAX: 2024

LAST MODIFIED DATE



MIN: 2021 MAX: 2024

b)

PubChem

11,975 results SORT BY

Aldgamycin P
Substance SID: 402380587 Compound CID: 145720559
Data Source: The Natural Products Atlas External ID: NPA024613
Data Source Category: Curation Efforts
Deposit Date: 2020-01-08 Last Modified Date: 2024-03-22

Xenoamicin C
Substance SID: 402380588 Compound CID: 145720560
Data Source: The Natural Products Atlas External ID: NPA024614
Data Source Category: Curation Efforts
Deposit Date: 2020-01-08 Last Modified Date: 2024-03-22

Ro 09-0198
Substance SID: 402380589 Compound CID: 133562644
Data Source: The Natural Products Atlas External ID: NPA024615
Data Source Category: Curation Efforts
Deposit Date: 2020-01-08 Last Modified Date: 2024-03-22

DOWNLOAD

Summary (Search Results)

COMPRESSION:
 None GZip

Chemical Structure Records

COORDINATE TYPE:
 2D 3D

NUMBER OF CONFORMERS: 1

COMPRESSION:
 None GZip

Chemical Structure Images

IMAGE SIZE:
 Small Large

c) **Esmareldine A**

Fonte: Elaborada pelo autor (2025).

Legenda: a) Subseção The Natural Products Atlas disponível no banco de dados PubChem;

b) Filtro utilizado para selecionar os compostos;

c) Opções selecionadas para o download dos arquivos.

5.6 PREPARO DOS LIGANTES

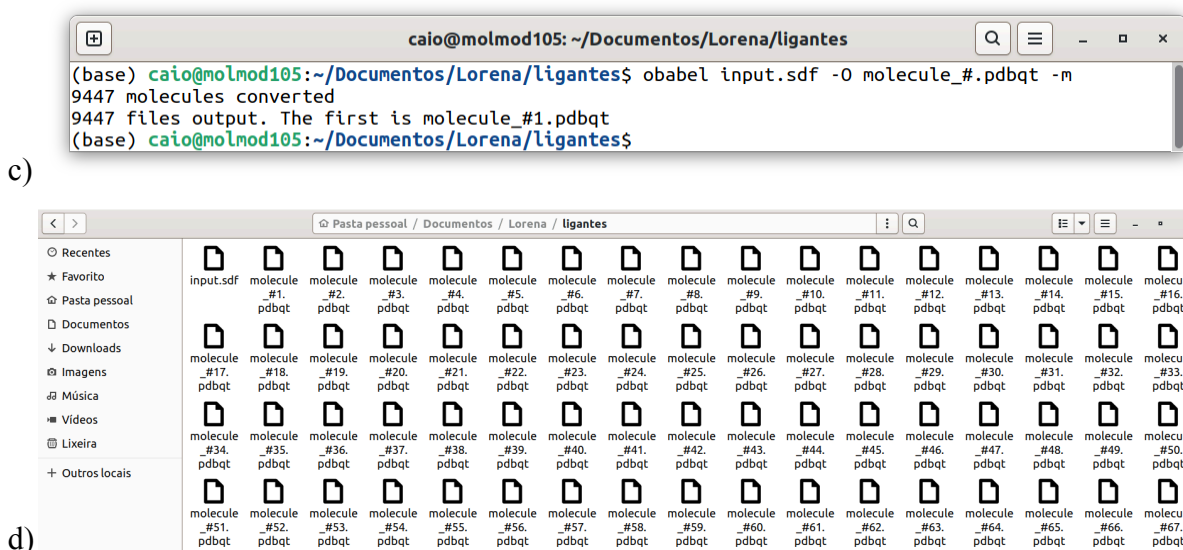
Em relação ao preparo dos produtos naturais selecionados, a partir do download dos arquivos em formato `.sdf`, foi executado o programa OpenBabel, versão 3.1.1, para conversão destes arquivos em formato `.pdbqt`, específico para condução da técnica de *Molecular Docking* (O'Boyle *et al.*, 2011).

Figura 11 - Conversão dos arquivos de ligantes para o formato `.pdbqt`

a)

b)

```
caio@molmod105: ~/Documentos/Lorena/ligantes
(base) caio@molmod105:~/Documentos/Lorena/ligantes$ obabel input.sdf -O molecule_#.pdbqt -m
```



Fonte: Elaborada pelo autor (2025).

Legenda: a) Arquivo .SDF com as coordenadas 3D de cada composto;

b) Conversão do formato .sdf para .pdbqt ;

c) Comando de conversão executado;

d) Arquivos convertidos em formato .pdbqt.

5.7 EXECUÇÃO DO MOLECULAR DOCKING

Primeiro, foram conduzidos ancoramentos individuais variando as informações contidas no arquivo “config.txt”. Foi executado o ancoramento rígido-flexível, ou seja, com liberdade conformacional para o ligante de referência, por meio do software AutoDock Vina, versão 1.1.2 (Forli *et al.*, 2016).

As informações contidas no *grid box* foram as seguintes:

center_x = -50.14

center_y = -14.437

center_z = -10.836

size_x = 21

size_y = 21

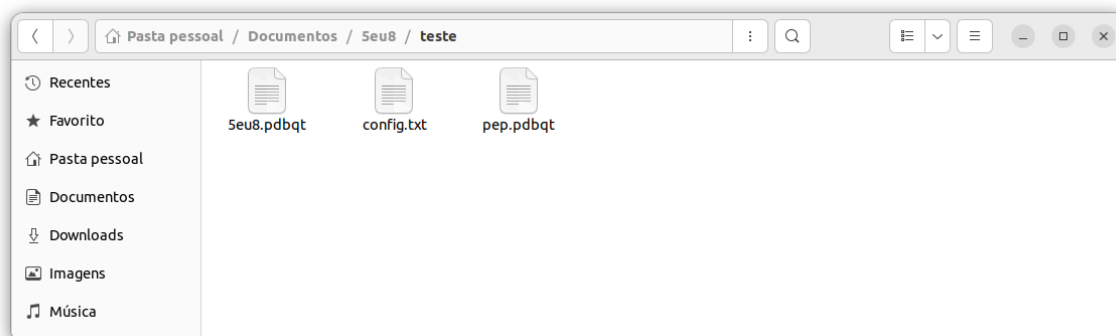
size_z = 21

O programa AutoDock Vina foi executado via terminal no diretório onde estavam presentes os arquivos do *template* do alvo molecular, do ligante (o inibidor de referência) e o arquivo do *grid box*, por meio do comando:

`vina --receptor 5eu8.pdbqt --ligand pep.pdbqt --config config.txt --log log.txt --out 5eu8pepposes.pdbqt`

No comando, estão indicados os arquivos de entrada precedidos pelos termos “receptor”, “ligand” e “config”, e os arquivos de saída a serem gerados, “log.txt” e “5eu8pepposes.pdbqt”. O arquivo “log.txt” apresenta a afinidade (em kcal/mol) prevista para cada pose gerada, enquanto o arquivo “5eu8pepposes.pdbqt” consiste na representação tridimensional de cada pose gerada, o que possibilita a análise das interações com o *template* do alvo molecular.

Figura 12 - Condução da técnica de *Molecular Docking*



a)

```

lorena@molmod105: ~/Documentos/Seu8/teste
lorena@molmod105:~/Documentos/Seu8/teste$ vina --receptor 5eu8.pdbqt --ligand pep.pdbqt --config config.txt --out 5eu8pepposes.pdbqt
AutoDock Vina v1.2.3
#####
# If you used AutoDock Vina in your work, please cite:      #
#                                                           #
# J. Eberhardt, D. Santos-Martins, A. F. Tillack, and S. Forli #
# AutoDock Vina 1.2.0: New Docking Methods, Expanded Force #
# Field, and Python Bindings, J. Chem. Inf. Model. (2021)  #
# DOI 10.1021/acs.jcim.1c00203                               #
#                                                           #
# O. Trott, A. J. Olson,                                     #
# AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking #
# with a new scoring function, efficient optimization and    #
# multithreading, J. Comp. Chem. (2010)                     #
# DOI 10.1002/jcc.21334                                     #
#                                                           #
# Please see https://github.com/ccsb-scripps/AutoDock-Vina for #
# more information.                                         #
#####
Scoring function : vina
Rigid receptor: 5eu8.pdbqt
Ligand: pep.pdbqt
Grid center: X -50.14 Y -14.437 Z -10.836
Grid size : X 21 Y 21 Z 21
Grid space : 0.375
Exhaustiveness: 8
CPU: 0
Verbosity: 1

Computing Vina grid ... done.
Performing docking (random seed: -1070941942) ...
0% 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100%
|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
*****

```

b)

Fonte: Elaborada pelo autor (2025).

Legenda: a) Arquivos preparados anteriormente;

b) *Molecular Docking* em andamento.

Com os resultados acerca do inibidor de referência obtidos, foi conduzida a triagem virtual dos produtos naturais selecionados. Os ancoramentos foram executados por meio de um *script* com linguagem Bash, com o objetivo de automatizar o processo para realizá-los em sequência, a partir dos arquivos de entrada organizados em pastas (Bender *et al.*, 2021). O *script* apresenta as seguintes informações:

```
#!/bin/bash

# rodar o AutoDock Vina de vários receptores
# contra vários ligantes

for rec in $(ls ./receptores/*.pdbqt)
do
    prot=$(basename $rec .pdbqt)
    for lig in $(ls ./ligantes/*.pdbqt)
    do
        mol=$(basename $lig .pdbqt)
        out="./out/${prot}-${mol}.pdbqt"
        log="./log/${prot}-${mol}.log"
        echo "Realizando o docking de $prot com $mol"
        vina --receptor $rec --ligand $lig --config ./grid/${prot}.txt --out $out
    done
done

--log $log

done

exit
```

Neste *script* estão as linhas de comando com mesmo objetivo para um ancoramento individual realizado anteriormente, porém de modo a automatizar o processo para vários ligantes com um ou vários receptores, cujos arquivos estão separados em pastas em um único diretório. Para executá-lo, foi criado um diretório de nome “5EU8” e criadas subpastas neste ambiente, sendo elas: “receptores”, na qual está o arquivo do modelo do alvo molecular (“5eu8.pdbqt”); “ligantes”, no qual estão as estruturas dos 11.975 arquivos das moléculas de

produtos naturais preparados em formato .pdbqt; “grid”, onde está o arquivo “config.txt” com as informações da região do sítio ativo; as pastas para obtenção dos arquivos de saída, “log” e “out”, onde serão gerados e armazenados os arquivos em formato .log e .pdbqt; e o *script* “vina.sh” descrito anteriormente, que é executado por meio do seguinte comando via terminal:

```
./vina.sh
```

Ao executar este comando, o programa AutoDock Vina inicia o ancoramento entre os ligantes e o alvo disponível. Neste caso, foi realizado o ancoramento rígido-flexível entre os 11.975 ligantes frente ao modelo da enzima, diante dos parâmetros definidos no arquivo do *grid box* previamente preparado.

5.8 ANÁLISE DOS RESULTADOS

A partir da técnica de *Molecular Docking* alguns critérios foram utilizados para filtrar os resultados e definir o grupo de melhores candidatos a protótipos:

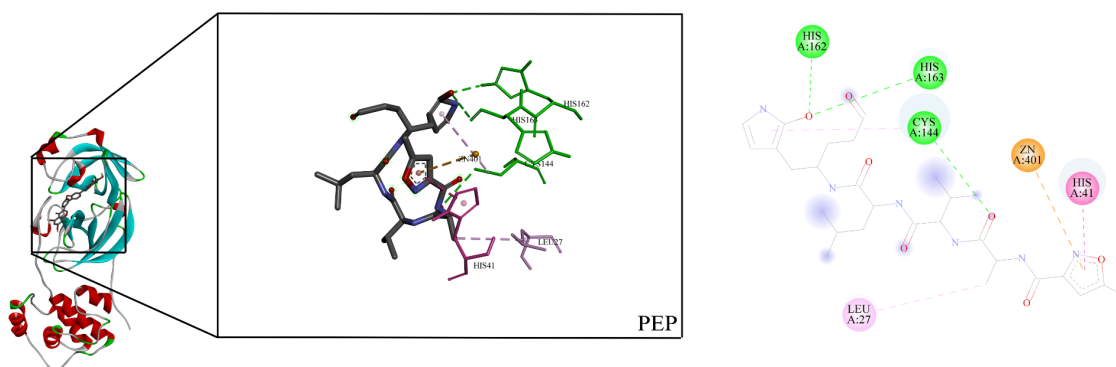
- 1) Primeiro, foram selecionados os compostos que apresentaram valor de afinidade menor que -9,5 kcal/mol;
- 2) Deste grupo de compostos, foram selecionados aqueles que realizaram interações com o íon zinco, dada a importância desta interação para a atividade de inibição enzimática descrita por Wang e colaboradores (2016);
- 3) Em seguida, foram selecionados aqueles compostos que não realizaram interações desfavoráveis, pois estas podem prejudicar a estabilidade do composto na região do sítio ativo;
- 4) E, por último, foram definidos aqueles compostos que realizaram uma ou mais interações por ligação de hidrogênio.

Os resultados foram analisados por meio dos programas Pymol, versão 2.6.0 (Yan; Chan; Hu, 2017), onde foi realizada a conversão do complexo receptor-pose em formato .pdbqt para o formato .pdb; e BIOVIA Discovery Studio Visualizer, versão 24.1.0.23298 (Baroroh *et al.*, 2023), por meio do qual foram gerados os diagramas de interações.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, foi definido o melhor resultado para o ancoramento entre o ligante de referência frente ao *template* da enzima protease. Este acoplamento previu uma afinidade (ou função *score*) de -7,1 kcal/mol e as interações que podem ser visualizadas abaixo:

Figura 13 - Representação tridimensional das interações obtidas pelo ancoramento entre o inibidor de referência frente ao *template* da enzima protease



Fonte: Elaborada pelo autor (2025).

Legenda: Em verde estão representadas interações de hidrogênio; em rosa, interações hidrofóbicas; e em laranja, uma interação π -cátion com o íon zinco.

De acordo com Wang e colaboradores (2016), o inibidor de referência atua por meio de interações com alguns resíduos que incluem LEU27, HIS41, CYS144, HIS162 e HIS163. No resultado previsto, o inibidor realizou interações com estes resíduos de aminoácidos, o que possibilitou a análise comparativa a partir do teste de outros compostos. O peptídeo de referência realizou interações por ligação de Hidrogênio com os resíduos CYS144, HIS162 e HIS163, além de interações hidrofóbicas clássicas com os resíduos LEU27 e HIS41. Além disso, foi considerada a presença do cátion zinco, que também atua na região deste sítio ativo e, neste caso, realizou uma interação π -cátion com o composto de referência. Esta é uma interação descrita como fundamental para a inibição da enzima protease.

A partir dos testes realizados, utilizando a técnica de Molecular Docking frente à enzima protease, modelo disponível no banco de dados PDB, e utilizando como ligante de referência o peptídeo inibidor da protease, foram obtidos resultados promissores com compostos naturais avaliados. Do total de 11.975 compostos analisados por meio dessa técnica, 384 compostos apresentaram valor de afinidade menor, e portanto melhor, que o ligante de referência (-7,1 kcal/mol).

Devido aos ótimos valores de afinidade obtidos, foram definidos critérios para a

análise dos compostos com melhores previsões. De acordo com os filtros de seleção dos compostos de melhores resultados, 90 compostos apresentaram valor de afinidade abaixo de -9,5 kcal/mol. Deste grupo, 27 compostos realizaram pelo menos uma interação com o íon zinco. Em seguida, foram selecionados 16 compostos que não realizavam interações desfavoráveis, o que pode influenciar de forma negativa na estabilidade do complexo ligante-receptor. Deste grupo, 11 compostos realizavam uma ou mais interações por ligação de hidrogênio, o que influencia de forma positiva na maior estabilidade do composto na região do sítio ativo e, por isso, este grupo final foi definido como o conjunto de candidatos a protótipos. Essa abordagem permite um direcionamento mais preciso na busca por ligantes eficazes e seguros e essa análise pode fornecer informações valiosas para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos.

Tabela 1 - Principais resultados obtidos através da técnica de *Molecular Docking*.

(continua)

Ligante	Afinidade	Interações previstas
PEP	-7,1	Interações de H (CYS144, HIS162 e HIS163); Interação π -cátion (Zn401); Interação alquil (LEU27); Interação π - π <i>stacked</i> (HIS41); Interação π -alquil (CYS144).
C716	-10,5	Interações de H (SER182 e GLN191); Interação metálica (Zn401); Interação π -Doador de ligação de H (THR47); Interação π - π <i>Stacked</i> (HIS41); Interação π -alquil (CYS144, LEU164 e PRO188).
C6304	-10,3	Interação de H (CYS144 e HIS163); Interação metálica (Zn401); Interação alquil e π -alquil (HIS41, HIS162, LEU164 e PRO188).
C12237	-10,3	Interação de H (THR47); Interação metálica (Zn401); Interação H-C (PRO188); Interação alquil e π -alquil (LEU27, HIS41, CYS144, LEU164 e LEU166).
C4582	-10,0	Interação de H (THR47); Interação metálica (Zn401); Interação H-C (PRO188); Interação alquil e π -alquil (LEU27, HIS41 e CYS144).

Tabela 1 - Principais resultados obtidos através da técnica de *Molecular Docking*.

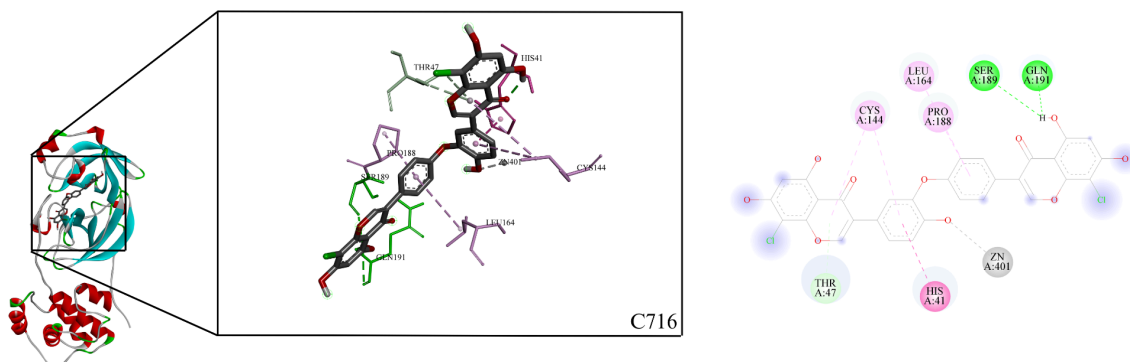
(conclusão)

Ligante	Afinidade	Interações previstas
C5164	-9,7	Interação de H (THR47); Interação metálica (Zn401); Interação H-C (ASN25); Interação alquil e π -alquil (VAL26, CYS144, LEU164, LEU166 e PRO188); Interação π - π T-shaped e Amide- π Staked (HIS41 e HIS163).
C4470	-9,7	Interação de H (ASN25, THR47 e GLN187); Interação metálica (Zn401); Interação H-C e (π -H) (VAL26 e CYS144); Interação π -alquil (LEU164 e PRO188).
C11407	-9,7	Interação de H (THR47); Interação metálica (Zn401); Interação alquil e π -alquil (LEU27, HIS41, CYS144, LEU166, PRO188 e LEU192).
C434	-9,6	Interação de H (VAL26 e THR47); Interação metálica (Zn401); Interação (π -H) (CYS144); Interação alquil e π -alquil (LEU164 e LEU166); Interação π -Sigma (PRO188).
C11286	-9,6	Interação de H (VAL26 e THR47); Interação metálica (Zn401); Interação (π -H) (CYS144); Interação π -alquil (LEU27 e ALA141); Interação π -Sulfur (CYS144).
C1561	-9,5	Interação de H (VAL26); Interação metálica (Zn401); Interação H-C e (π -H) (CYS144 e PRO188); Interação alquil e π -alquil (HIS41 e LEU164).
C12024	-9,5	Interação de H (HIS162 e HIS163); Interação metálica (Zn401); Interação alquil e π -alquil (LEU27, CYS144, LEU164 e PRO188); Interação π -Sigma (HIS41).

Fonte: Elaborada pelo autor (2025).

O composto C716 apresentou a melhor pose representada abaixo:

Figura 14 - Representação tridimensional e bidimensional do complexo formado entre o composto C716 e o modelo da enzima protease



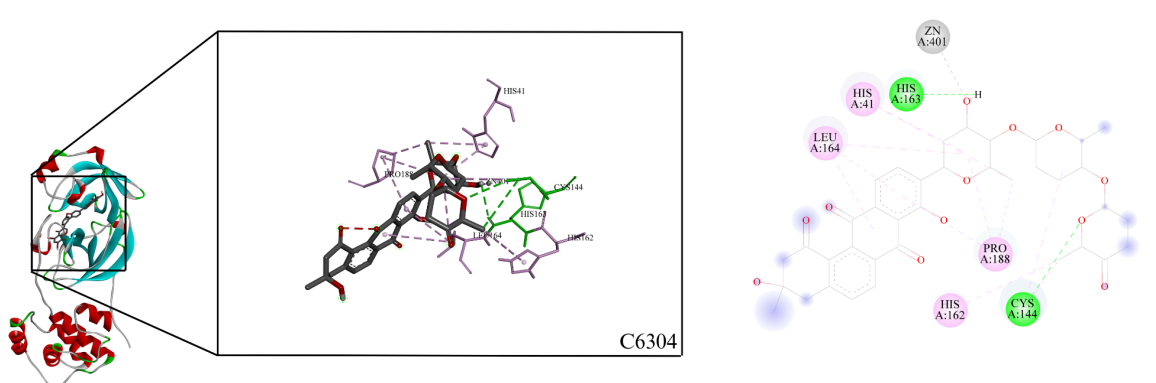
Fonte: Elaborada pelo autor (2025).

Legenda: Em verde estão representadas interações de hidrogênio; em rosa, interações hidrofóbicas; em verde-claro, uma interação não clássica de ligação de hidrogênio com carbono; e em cinza, uma interação metálica com o íon zinco.

Como pode ser observado na figura, o composto C716 é estabilizado por duas interações por ligação de hidrogênio com os resíduos SER182 e GLN181. Em comparação com o composto de referência, este ligante realiza as mesmas interações do tipo π - π stacked com o resíduo HIS41 e π -alquil com o resíduo CYS144. Em relação ao íon zinco, o composto C716 realiza uma interação metálica, que contribui de maneira significativa para o valor de afinidade previsto (-10,5 kcal/mol).

O composto C6304 apresentou a melhor pose representada abaixo:

Figura 15 - Representação tridimensional e bidimensional do complexo formado entre o composto C6304 e o modelo da enzima protease



Fonte: Elaborada pelo autor (2025).

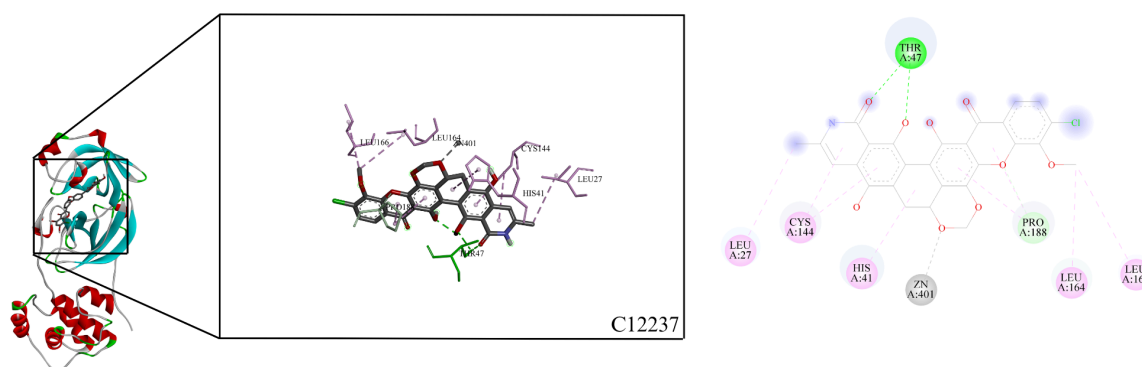
Legenda: Em verde estão representadas interações de hidrogênio; em rosa, interações hidrofóbicas; e em cinza, uma interação metálica com o íon zinco.

Como pode ser observado na figura, o composto C6304 é estabilizado por duas

interações por ligação de hidrogênio com os resíduos CYS144 E HIS163, as mesmas interações observadas no composto de referência. Em relação ao íon zinco, o composto C6304 realiza uma interação metálica, que contribui de maneira significativa para o valor de afinidade previsto (-10,3 kcal/mol).

O composto C12237 apresentou a melhor pose representada abaixo:

Figura 16 - Representação tridimensional e bidimensional do complexo formado entre o composto C12237 e o modelo da enzima protease



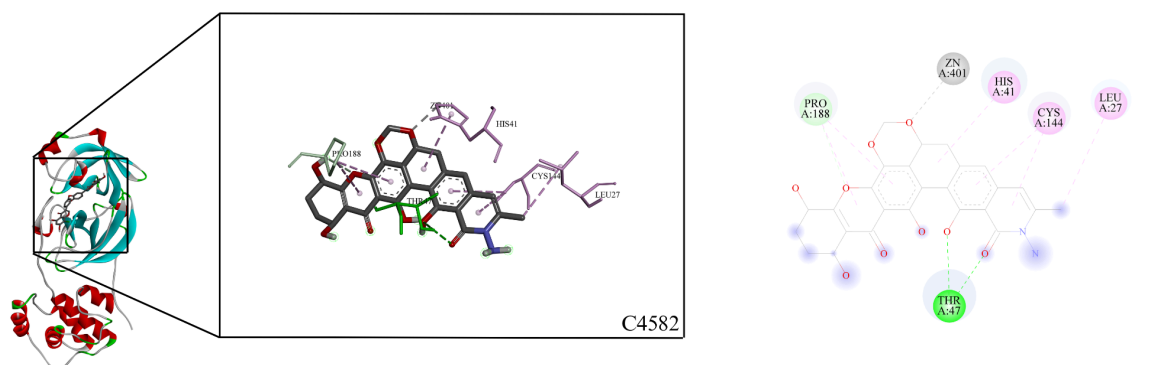
Fonte: Elaborada pelo autor (2025).

Legenda: Em verde estão representadas interações de hidrogênio; em rosa, interações hidrofóbicas; em verde-claro, uma interação não clássica de ligação de hidrogênio com carbono; e em cinza, uma interação metálica com o íon zinco.

Como pode ser observado na figura, o composto C12237 é estabilizado por uma interação por ligação de hidrogênio com o resíduo THR47. Em comparação com o composto de referência, este ligante realiza as mesmas interações do tipo alquil e π -alquil com o resíduo LEU27 e CYS144. Em relação ao íon zinco, o composto C12237 realiza uma interação metálica, que contribui de maneira significativa para o valor de afinidade previsto (-10,3 kcal/mol).

O composto C4582 apresentou a melhor pose representada abaixo:

Figura 17 - Representação tridimensional e bidimensional do complexo formado entre o composto C4582 e o modelo da enzima protease



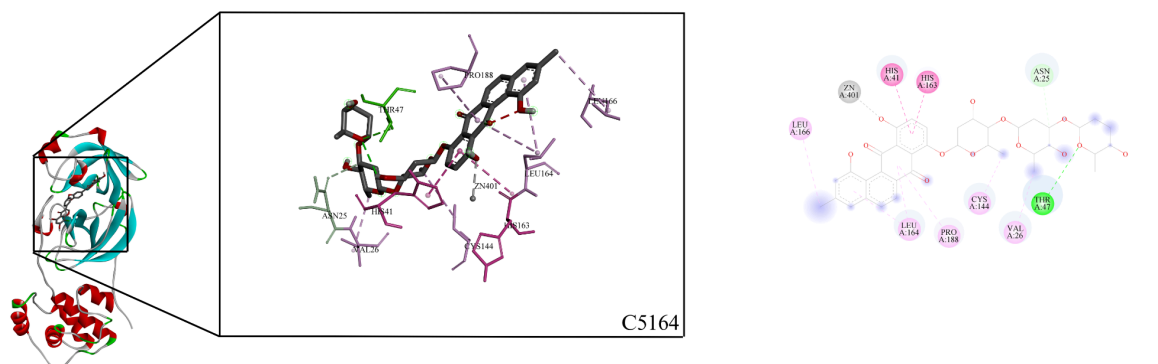
Fonte: Elaborada pelo autor (2025).

Legenda: Em verde estão representadas interações de hidrogênio; em rosa, interações hidrofóbicas; em verde-claro, uma interação não clássica de ligação de hidrogênio com carbono; e em cinza, uma interação metálica com o íon zinco.

Como pode ser observado na figura, o composto C4582 é estabilizado por uma interação por ligação de hidrogênio com o resíduo THR47. Em comparação com o composto de referência, este ligante realiza as mesmas interações do tipo alquil e π -alquil com o resíduo LEU27 e CYS144. Em relação ao íon zinco, o composto C4582 realiza uma interação metálica, que contribui de maneira significativa para o valor de afinidade previsto (-10,3 kcal/mol).

O composto C5164 apresentou a melhor pose representada abaixo:

Figura 18 - Representação tridimensional e bidimensional do complexo formado entre o composto C5164 e o modelo da enzima protease



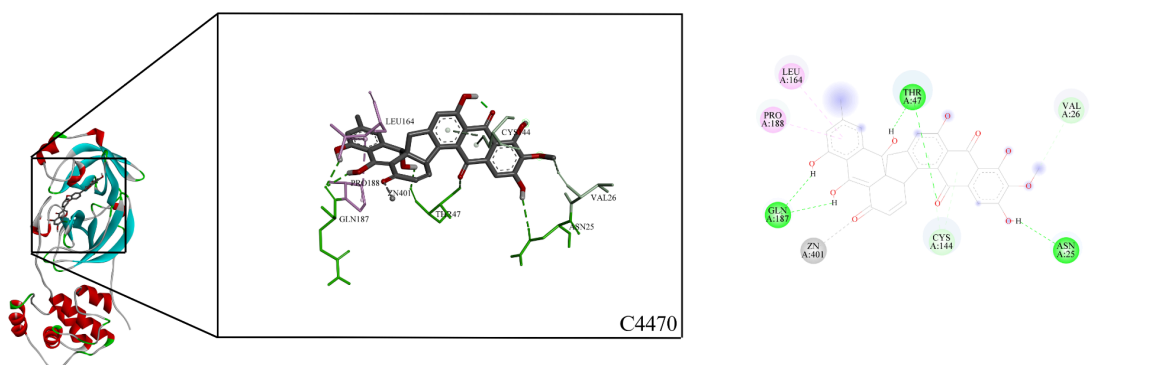
Fonte: Elaborada pelo autor.

Legenda: Em verde estão representadas interações de hidrogênio; em rosa, interações hidrofóbicas; em verde-claro, uma interação não clássica de ligação de hidrogênio com carbono; e em cinza, uma interação metálica com o íon zinco.

O C5164 realizou uma interação por ligação de hidrogênio com o resíduo THR47, e se assemelha com o composto de referência pela presença de interações hidrofóbicas com os resíduos HIS41 e HIS163.

O composto C4470 apresentou a melhor pose representada abaixo:

Figura 19 - Representação tridimensional e bidimensional do complexo formado entre o composto C4470 e o modelo da enzima protease



Fonte: Elaborada pelo autor (2025).

Legenda: Em verde estão representadas interações de hidrogênio; em rosa, interações hidrofóbicas; em verde-claro, uma interação não clássica de ligação de hidrogênio; e em cinza, uma interação metálica com o íon zinco.

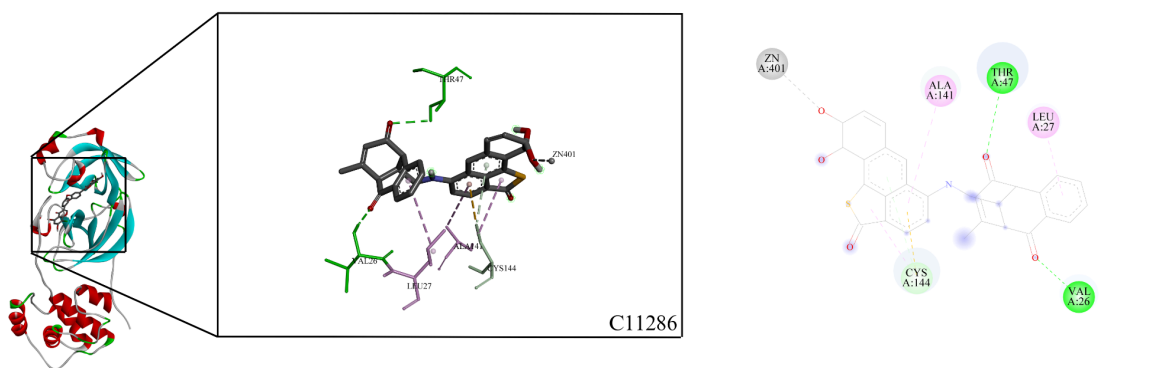
O C4470 realizou interações por ligação de hidrogênio clássicas com os resíduos ASN25, THR47 e GLN187, além de uma interação por ligação de hidrogênio não clássica com o resíduo CYS144. Esta última também foi prevista para o composto de referência, porém como uma interação por ligação de hidrogênio clássica.

O composto C11407 apresentou a melhor pose representada abaixo:

resíduo PRO188.

O composto C11286 apresentou a melhor pose representada abaixo:

Figura 22 - Representação tridimensional e bidimensional do complexo formado entre o composto C11286 e o modelo da enzima protease



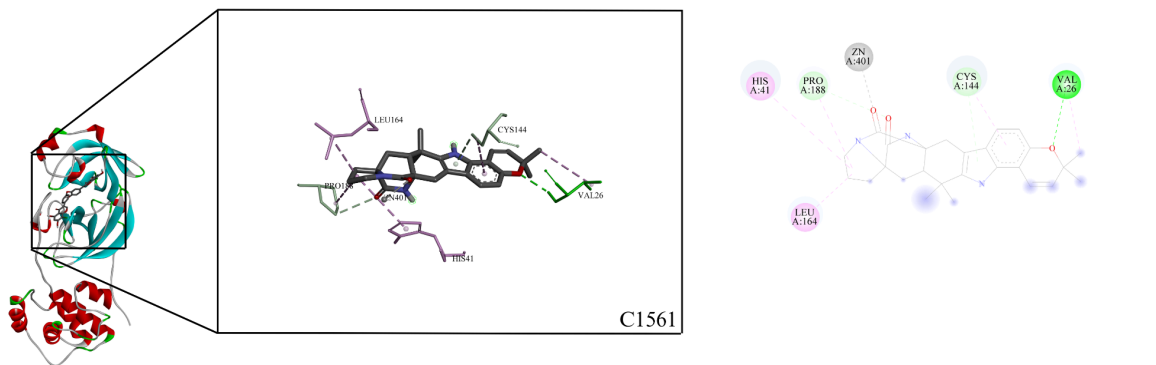
Fonte: Elaborada pelo autor (2025).

Legenda: Em verde estão representadas interações de hidrogênio; em rosa, interações hidrofóbicas; em verde-claro, uma interação não clássica de ligação de hidrogênio com carbono; e em cinza, uma interação metálica com o íon zinco.

O composto C11286 realizou interações por ligação de hidrogênio clássicas com os resíduos VAL26 e THR47, e também uma interação não clássica com o resíduo CYS144. Este composto compartilha uma interação hidrofóbica com o resíduo LEU27, assim como o composto de referência.

O composto C1561 apresentou a melhor pose representada abaixo:

Figura 23 - Representação tridimensional e bidimensional do complexo formado entre o composto C1561 e o modelo da enzima protease



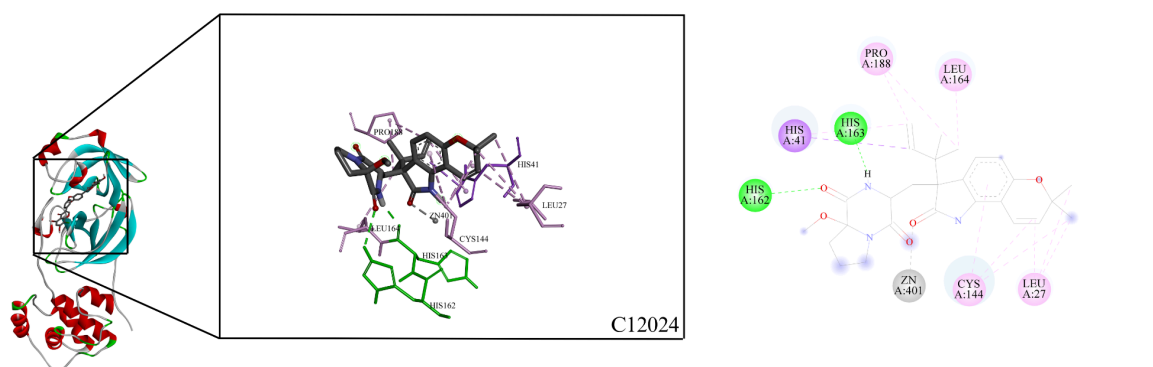
Fonte: Elaborada pelo autor (2025).

Legenda: Em verde estão representadas interações de hidrogênio; em rosa, interações hidrofóbicas; em verde-claro, interações não clássicas de ligação de hidrogênio com carbono; e em cinza-escuro, uma interação metálica com o íon zinco.

O composto C1561 realizou uma interação por ligação de hidrogênio com o resíduo VAL26, além de uma interação não clássica com o resíduo CYS144. Uma interação hidrofóbica com o resíduo HIS41 também contribui com semelhanças com o inibidor de referência.

O composto C12024 apresentou a melhor pose representada abaixo:

Figura 24 - Representação tridimensional e bidimensional do complexo formado entre o composto C12024 e o modelo da enzima protease



Fonte: Elaborada pelo autor (2025).

Legenda: Em verde estão representadas interações de hidrogênio; em rosa, interações hidrofóbicas; em roxo, uma interação π -sigma; e em cinza, uma interação metálica com o íon zinco.

E o composto C12024 realiza interações por ligação de hidrogênio com os resíduos HIS162 e HIS163, assim como o peptídeo de referência. Além disso, outra semelhança inclui uma interação hidrofóbica com o resíduo LEU27. O composto também é estabilizado por um conjunto de interações hidrofóbicas e uma interação do tipo π -sigma com o resíduo HIS41.

A partir dos resultados obtidos, foram identificadas informações sobre os compostos naturais a partir de dados disponíveis no banco de dados PubChem.

Tabela 2 - Características dos compostos naturais com melhores resultados

Composto	Código de identificação no banco de dados PubChem	Origem	Gênero e/ou espécie	Classe metabólica
C716	CID170990053	Bactéria	<i>Streptomyces</i> spp.	Composto fenólico
C6304	CID156581741	Bactéria	<i>Streptomyces lusitanus</i>	Composto fenólico
C12237	CID132550027	Bactéria	<i>Streptomyces</i> spp.	Terpenoide
C4582	CID167364910	Bactéria	<i>Streptomyces chrestomyceticus</i>	Terpernoide
C5164	CID50994834	Bactéria	<i>Streptomyces cyanogenus</i>	Oligossacarídeo
C4470	CID170989151	Fungo	<i>Parengyodontium album</i>	Terpenoide
C11407	CID139591210	Bactéria	<i>Actinomadura</i> spp.	Composto fenólico
C434	CID25195005	Fungo	<i>Acremonium</i> spp.	Composto fenólico
C11286	CID169492203	Bactéria	<i>Micromonospora</i> spp.	Alcaloide
C1561	CID23643064	Fungo	<i>Aspergillus taichungensis</i>	Alcaloide
C12024	CID46919487	Fungo	<i>Aspergillus</i> spp.	Alcaloide

Fonte: Elaborada pelo autor (2025).

Observou-se uma predominância de compostos naturais de origem bacteriana e fúngica, o que pode direcionar as próximas etapas da pesquisa para compostos derivados e produzidos por esses microrganismos. Esse padrão sugere que fontes microbiológicas específicas têm um potencial relevante no desenvolvimento de novos tratamentos antivirais e constitui uma informação fundamental para futuras investigações e a criação de estratégias mais direcionadas para o isolamento de compostos com alta atividade.

Além disso, um aspecto dinâmico em relação à classe metabólica dos compostos que apresentaram melhores resultados foi observado. Dentre eles, compostos da classe dos alcaloides se destacaram, apresentando resultados mais promissores na interação com a protease. A presença de grupos funcionais típicos desses compostos pode ser a chave para a eficácia observada, indicando uma via promissora para investigações mais aprofundadas.

Esses tipos de compostos podem ser uma linha de pesquisa relevante na busca por novos fármacos.

Referente ao composto C6304, também denominado “Grincamycin J”, há informações na literatura sobre metodologias de obtenção de moléculas representantes da família de anguciclinas e de seu potencial anticâncer (Anh *et al.*, 2022). Diante dos dados disponíveis para este composto, é viável sua utilização para outras metodologias e a investigação de seu potencial antiviral.

Em relação ao composto C12237, também denominado “Xantholipin B”, há informações sobre o processo de isolamento deste composto e de sua atividade antibacteriana (Wu *et al.*, 2017). Portanto, este também constitui um ponto de partida promissor para sua investigação acerca de seu efeito antiviral.

Relativo ao composto C4582, envolvido na biossíntese da albofungina, destaca-se a ação de uma hidrazina transferase, que catalisa a formação de um raro farmacóforo N-aminolactâmico (Li *et al.*, 2024). Este composto apresenta atividade antibiótica de amplo espectro, sendo, portanto, um candidato promissor para investigação de sua capacidade antiviral.

Relacionado ao composto C5164, também denominado “Landomicina R”, destaca-se sua síntese total e eficiente, com aplicação de métodos modernos para construção do núcleo aglicônico. A “Landomicina R” demonstrou atividade antibacteriana contra cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (Lai *et al.*; 2025). Sendo, assim, um candidato relevante para investigação quanto à sua possível atividade antiviral.

No que diz respeito ao composto C4470, também denominado “Taichunamide E”, obtida por meio de uma rota inspirada em considerações biogenéticas, envolvendo condensação aldólica, cicloadição intramolecular de Diels-Alder e epoxidação seletiva. A “Taichunamide E” pertence a uma classe de alcaloides indólicos prenilados com estruturas complexas e atividade antibacteriana previamente relatada (Xu *et al.*; 2024). Configurando-se como um candidato relevante para investigação quanto à sua possível ação antiviral.

Quanto ao C11407, destaca-se sua origem a partir de espécies do gênero *Actinomadura*, conhecidas por produzirem uma diversidade de metabólitos secundários com atividades biológicas relevantes. Entre os compostos isolados, observam-se propriedades antimicrobianas, antitumorais e anticoccidianas, o que evidencia a versatilidade bioativa desse grupo (Dashti; Errington, 2024). Assim, o C11407 configura-se como um candidato relevante para investigação quanto à sua possível atividade antiviral.

No que se refere ao composto C434, há informações disponíveis sobre o isolamento

dos heterodímeros acremoxantona C e D, obtidos a partir do fracionamento guiado por bioatividade. Esses compostos, juntamente com acremonidinas A e C, pertencem a uma classe de híbridos xantona-antraquinona cujas estruturas foram elucidadas por técnicas espectroscópicas avançadas (Ayers *et al.*; 2011). Diante de sua diversidade estrutural e atividades biológicas observadas, o composto C434 configura-se como um candidato relevante para investigação quanto à sua possível ação antiviral.

Referente ao C11286, também denominado “Sungeidine C”, este possui atividade antimicrobiana descrita na literatura, bem como informações sobre metodologias para o isolamento de estruturas da família das sungeidinas, produzidas por bactérias do gênero *Micromonospora* (Low *et al.*, 2020). Este constitui um ponto de partida promissor para sua investigação sob o ponto de vista antiviral.

Acerca do C12024, foram isolados dois novos alcaloides indólicos prenilados, 17-epi-notoamidas Q e M, além de dois derivados inéditos de éter fenólico, cordióis D e E, a partir de um fungo marinho do gênero *Aspergillus*. A caracterização estrutural foi realizada por meio de técnicas espectroscópicas e difração de raios X. Dentre os compostos avaliados, destacou-se a atividade antibacteriana de alguns derivados fenólicos (Chen *et al.*; 2013). Assim, o C12024 representa um candidato relevante para investigação quanto ao seu possível efeito antiviral.

Sobre os compostos C716 e C1561, não foram encontradas informações disponíveis na literatura sobre sua atividade biológica, o que evidencia o caráter inovador de sua utilização como candidatos em estudos futuros. A ausência de dados prévios reforça sua originalidade e destaca a relevância de se investigar o potencial desses compostos em diferentes contextos biológicos.

Também foram determinadas as seguintes propriedades físico-químicas para os compostos:

Tabela 3 - Propriedades físico-químicas dos compostos analisados.

Composto	Massa Molecular (g/mol)	LogP	TPSA (Å²)	Violações de Lipinski
PEP	680,35	3,406	197,83	2
C716	606,01	4,345	170,80	1
C6304	678,27	2,946	175,12	2
C12237	575,07	5,508	151,45	2
C4582	506,13	1,537	177,61	3
C5164	694,26	3,718	190,67	2
C4470	554,12	4,098	181,82	2
C11407	613,19	4,226	164,61	2
C434	612,13	2,656	197,87	2
C11286	509,13	3,678	103,70	1
C1561	431,22	3,749	74,43	0
C12024	479,24	3,510	96,97	0

Fonte: Elaborada pelo autor (2025).

A primeira propriedade físico-química prevista consiste na massa molecular de cada candidato. Como pode ser observado na tabela acima, alguns compostos apresentam massa molecular próxima ao composto de referência (680,35 g/mol), como os compostos C6304 (678,27) e C5164 (694,26), o que sugere que uma similaridade estrutural pode auxiliar em resultados semelhantes. Por outro lado, alguns compostos, como C1561 (431,22) e C12024 (479,24), apresentam uma massa molecular inferior em relação ao composto de referência. Esta característica pode ter auxiliado no melhor encaixe ao sítio ativo.

Os valores de log P obtidos para os compostos estudados variaram entre 1,537 e 5,508, indicando uma ampla faixa de lipossolubilidade. Em geral, valores de log P entre 1 e 3 são considerados ideais para garantir boa permeabilidade celular e biodisponibilidade, enquanto valores superiores a 4 podem indicar alta lipofilicidade, o que pode comprometer a solubilidade em meio aquoso e afetar a absorção (Bergazin *et al.*, 2021). Diante dos valores previstos para os candidatos, é possível identificar um balanço favorável entre solubilidade e

permeabilidade, aspectos cruciais para o desenvolvimento de fármacos eficazes.

Para complementar os resultados obtidos para o log P, a maioria dos compostos apresentou TPSA superior a 150 Å², o que indica um perfil que pode influenciar a absorção, mas que também sugere uma alta capacidade para formar interações por ligação de hidrogênio. Esta característica pode influenciar positivamente a afinidade por alvos biológicos, na medida em que ocorrem interações com estas partes. Assim, a análise do TPSA complementa a avaliação do log P, fornecendo uma visão mais abrangente das propriedades farmacocinéticas dos compostos.

A análise das violações da regra de Lipinski revelou que a maioria dos compostos apresentou entre 1 e 2 violações, com exceção do composto C4582 com 3 violações, enquanto os compostos C1561 e C12024 não apresentaram nenhuma violação. O conjunto de regras de Lipinski, que estabelece critérios como massa molecular, log P, número de doadores e aceptadores de hidrogênio para prever a boa absorção oral, considera aceitável até 1 violação para que um composto seja potencialmente bioativo. Portanto, compostos com 2 ou mais violações podem apresentar limitações na biodisponibilidade e absorção (Lipinski *et al.*, 1997). Esses resultados indicam que, embora a maior parte dos compostos tenham características promissoras, ajustes estruturais podem ser necessários para otimizar o perfil farmacocinético e garantir maior eficácia terapêutica.

7 CONCLUSÃO

Este estudo destaca a relevância da Bioinformática no desenvolvimento de medicamentos veterinários inovadores, o que evidencia as vantagens do uso de simulações computacionais no aprimoramento de terapias e descoberta de novos compostos bioativos. Foi cumprido o objetivo de definir uma coleção de moléculas para o desenvolvimento de tratamentos eficazes contra a PIF, por meio da realização de uma avaliação *in silico* e identificando novos candidatos com potencial antiviral a partir de compostos presentes em bancos de dados, como o PubChem. A investigação realizada por meio da técnica de *Molecular Docking*, com a utilização de um modelo de ancoragem rígido-flexível, apontou para um grupo de 11 compostos naturais com potencial superior ao inibidor de referência, de acordo com as simulações computacionais realizadas. Este compreende um ponto de partida para a adoção de outras metodologias, *in vitro* e *in vivo*, para a investigação do potencial antiviral dos candidatos selecionados neste trabalho.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, C.; CAMPS, J. Molecular docking in drug discovery: techniques, applications, and advancements. **ChemRXIV**, v. 1, p. 2-4, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.26434/chemrxiv-2024-gmhtx>. Acesso em: 13 fev. 2025.
- ALMEIDA, A. C. S.; GALDINO, M. V.; ARAÚJO JÚNIOR, J. P. Seroepidemiological study of Feline Coronavirus (FCoV) infection in domiciled cats from Botucatu, São Paulo, Brazil. **Small Animal Diseases**, v. 39, p. 129-131, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-5706>. Acesso em: 22 fev. 2024.
- ANH, C. A. *et al.* New angucycline glycosides from a marine-derived Bacterium *Streptomyces ardesiacus*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, p. 2-3, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms232213779>. Acesso em: 17 jul. 2025.
- AYERS, S. *et al.* Cytotoxic xanthone–anthraquinone heterodimers from an unidentified fungus of the order Hypocreales (MSX 17022). **The Journal of Antibiotics**, v. 1, p. 43, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ja.2011.95>. Acesso em: 27 jun. 2025.
- BANVILLE, T. de. **O grande livro dos gatos**. Rio de Janeiro: Alfaguara, 2020.
- BARKER, E.; TASKER, S. Update on feline infectious peritonitis. **In Practice**, v. 42, p. 374, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/inp.m3187>. Acesso em: 14 fev. 2025.
- BAROROH, U. *et al.* Molecular interaction analysis and visualization of protein-ligand docking using Biovia Discovery Studio Visualizer. **Indonesian Journal of Computational Biology**, v. 2, p. 22-29, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.24198/ijcb.v2i1.46322>. Acesso em: 20 jan. 2025.
- BENDER, B. J. *et al.* A practical guide to large-scale docking. **Nature Protocols**, v. 16, p. 4811-4826, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41596-021-00597-z>. Acesso em: 17 mai. 2025.
- BERGAZIN, T. D. *et al.* Evaluation of log P, pKa, and log D predictions from the SAMPL7 blind challenge. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, v. 35, p. 773-775, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10822-021-00397-3>. Acesso em: 23 mai. 2025.
- BLUNT, J. W. *et al.* Marine natural products. **Natural Product Reports**, v. 35, p. 8-14, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/C7NP00052A>. Acesso em: 19 fev. 2025.
- BURLEY, S. K. *et al.* RCSB Protein Data Bank (RCSB.org): delivery of experimentally-determined PDB structures alongside one million computed structure models of proteins from artificial intelligence/machine learning. **Nucleic Acids Research**, v. 51, p. 489-491, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nar/gkac1077>. Acesso em: 20 jan. 2025.
- CHEN, M. *et al.* Bioactive indole alkaloids and phenyl ether derivatives from a marine-derived *Aspergillus* sp. Fungus. **Journal of Natural Products**, v. 76, p. 25, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/np300707x>. Acesso em: 17 jul. 2025.

- CUNHA, R. L. B. de *et al.* Evolução da peritonite infecciosa felina da forma úmida para seca: relato de caso. **Revista Pubvet**, v. 15, p. 2-6, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.31533/pubvet.v15n07a866.1-9>. Acesso em: 1 fev. 2025.
- DASHTI, Y.; ERRINGTON, J. Chemistry and biology of specialized metabolites produced by *Actinomadura*. **Natural Product Reports**, v. 41, p. 30-33, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/d3np00047h>. Acesso em: 25 jun. 2025.
- DINIZ, W. J. S.; CANDURI, F. Bioinformatics: an overview and its applications. **Genetics and Molecular Research**, v. 16, p. 2, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.4238/gmr16019645>. Acesso em: 12 fev. 2025.
- EBERHARDT, J. *et al.* AutoDock Vina 1.2.0: new docking methods, expanded force field, and python bindings. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 61, p. 3891-3898, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.1c00203>. Acesso em: 24 mar. 2025.
- FILGUEIRA JÚNIOR, A. L. *et al.* Os bancos de dados de informação biológica e sua potencial aplicabilidade às ciências médicas: uma revisão. **Visão Acadêmica**, v. 23, p. 2-5, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.5380/acd.v23i1.76075>. Acesso em: 12 fev. 2024.
- FORLI, S. *et al.* Computational protein-ligand docking and virtual drug screening with the AutoDock suite. **Nature Protocols**, v. 11, p. 905-916, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nprot.2016.051>. Acesso em: 4 set. 2024.
- FOULKES, A. C. *et al.* Research techniques made simple: bioinformatics for genome-scale biology. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 137, p. 163-164, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jid.2017.07.095>. Acesso em: 12 fev. 2024.
- GAO, Y. *et al.* An updated review of feline coronavirus: mind the two biotypes. **Virus Research**, v. 326, p. 199058, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2023.199059>. Acesso em: 10 de fev. 2024.
- HOWLEY, P. M.; KNIPE, D. M.; WHELAN, S. **Fields Virology: Emerging viruses**. New York: Walters Kluwer, 2013.
- ITABORAHY, L.O. *et al.* Uso da molécula GS-441524 no tratamento da peritonite infecciosa felina – relato de caso. **Revista de Medicina Veterinária do Unifeso**, v.4, p. 76-80, 2024. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.29327/2442052.4.2-13>. Acesso em: 15 fev. 2025.
- KAMESHIMA, S. *et al.* Clinical efficacy of combination therapy of itraconazole and prednisolone for treating effusive feline infectious peritonitis. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 82, p. 1493-1495, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1292/jvms.20-0049>. Acesso em: 22 fev. 2025.
- KIM, S. *et al.* PubChem 2023 update. **Nucleic Acids Research**, v. 51, p. 1374-1375, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nar/gkac956>. Acesso em: 20 jan. 2024.
- KIM, Y. *et al.* Reversal of the progression of fatal coronavirus infection in cats by a

broad-spectrum coronavirus protease inhibitor. **PLoS**, v. 12, p. 2-4, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005531>. Acesso em: 22 fev. 2025.

LAI, Y. H. *et al.* Total synthesis of landomycins Q and R and related core structures for exploration of the cytotoxicity and antibacterial properties. **RSC Advances**, v. 11, p. 2-5, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/d1ra01088c>. Acesso em: 3 mai. 2025.

LI, W. *et al.* Discovery of a bacterial hydrazine transferase that constructs the N-aminolactam pharmacophore in albobungin biosynthesis. **Journal of the American Chemical Society**, v. 146, p. 19, 2024. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jacs.4c02311?goto=supporting-info>. Acesso em: 17 jun. 2025.

LIBÓRIO, L.; RESENDE, V. H. Introdução aos bancos de dados biológicos. **Revista Brasileira de Bioinformática**, v. 1, p. 1-4, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.51780/978-6-599-275326-16>. Acesso em: 12 fev. 2024.

LIPINSKI, C. A. *et al.* Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 23, p. 3-14, 1997. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(96\)00423-1](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(96)00423-1). Acesso em: 20 jun. 2025.

LOW, Z. J. *et al.* Sungeidines from a non-canonical enediyne biosynthetic pathway. **Journal of the American Chemical Society**, v. 142, p. 1675, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jacs.9b10086>. Acesso em: 18 jul. 2025.

MARIANO, D. *et al.* Bioinformatics and computational biology research at the computer science department at UFMG. **Journal of Information and Data Management**, v. 15, p. 36-38, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.5753/jidm.2024.2661>. Acesso em: 12 fev. 2024.

MENDONÇA, M. L. M. de. *et al.* Coronavírus felino: revisão bibliográfica. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, p. 63624, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.34117/bjdv8n9-214>. Acesso em: 01 fev. 2025.

MITRA, D. *et al.* Molecular docking and simulation studies of natural compounds of *Vitex negundo* L. against papain-like protease (PLpro) of SARS CoV-2 (coronavirus) to conquer the pandemic situation in the world. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 40, p. 5665-5667, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/07391102.2021.1873185>. Acesso em: 19 fev. 2025.

MORIM, I. S.; de MORAES, M. B. Aplicações da tecnologia de sequenciamento de nova geração e o uso da ferramenta de bioinformática para análise de dados. **Revista ft**, vol.28, p.3-5, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.5281/zenodo.11519236>. Acesso em: 4 dez. 2024.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural Products**, v. 83, p. 771-775, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b01285>. Acesso em: 19 fev. 2025.

NEKOUËI, O. *et al.* Potential therapeutic effects of GS-441524 and GC376 in cats with feline infectious peritonitis. **Veterinary Evidence**, v. 7, p. 2-6, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.18849/ve.v7i1.522>. Acesso em: 19 fev. 2025.

O'BOYLE, N. M. *et al.* Open Babel: An open chemical toolbox. **Journal of Cheminformatics**, v. 3, p. 2-14, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1758-2946-3-33>. Acesso em: 17 fev. 2025.

OLIVEIRA, J. F. PEKLER, S. R. A. Peritonite infecciosa felina (PIF). **Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 8, p. 1-3, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.31533/pubvet.v18n01e1529>. Acesso em: 12 fev. 2023.

PEDERSEN, N. C. *et al.* Efficacy and safety of the nucleoside analog GS-441524 for treatment of cats with naturally occurring feline infectious peritonitis. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 21, p. 272-274, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/1098612x19825701>. Acesso em: 19 fev. 2025.

RISTOW, L. E.; CARVALHO, O. V. de; GEBARA, R. R. COVID-19 in felines, their role in human health and possible implications for their guardians and health surveillance. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 29, p. 2, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.5123/S1679-49742020000300005>. Acesso em: 14 fev. 2025.

SANTEN, J. A. V. *et al.* The Natural Products Atlas 2.0: a database of microbially-derived natural products. **Nucleic Acids Research**, v. 50, p. 1318-1320, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nar/gkab941>. Acesso em: 20 jan. 2025.

TASKER, S.; *et al.* Feline infectious peritonitis: European advisory board on cat diseases guidelines. **Viruses**, v. 15, p. 79-80, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/v15091847>. Acesso em: 22 fev. 2025.

TEKES, G.; THIEL, H. J. Chapter six - feline coronaviruses: pathogenesis of feline infectious peritonitis. **Advances in Virus Research**, v. 96, p. 194-196, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2016.08.002>. Acesso em: 22 fev. 2025.

TORRES, P. H. M. *et al.* Key topics in molecular docking for drug design. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 8, p. 17, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms20184574>. Acesso em: 10 fev. 2025.

VASQUE, C, G. *et al.* Coronavírus entérico felino e sua progressão para PIF: novas terapias em estudo. **Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences**, v. 7, p. 685-692, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.36557/2674-8169.2024v7n1p685-692>. Acesso em: 03 fev. 2025.

VUONG, W. *et al.* Feline coronavirus drug inhibits the main protease of SARS-CoV-2 and blocks virus replication. **Nature Communications**, v. 11, p. 2-4, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18096-2>. Acesso em: 26 fev. 2025.

XU, Z. *et al.* Biomimetic and concise total syntheses of prenylated and bicyclo[2.2.2]diazaoctane-containing indole alkaloids including taichunamide A, notoamide N and versicolamide B. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 89, p. 10-12, 2024.

Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.joc.4c01559>. Acesso em: 20 jun. 2025.

WANG, F. *et al.* Crystal structure of feline infectious peritonitis virus main protease in complex with synergetic dual inhibitors. **Journal of Virology**, v. 90, p. 1910-1915, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/JVI.02685-15>. Acesso em: 20 nov. 2024.

WEISS, R. C.; COX, N. R.; MARTINEZ, M. L. Evaluation of free or liposome-encapsulated ribavirin for antiviral therapy of experimentally induced feline infectious peritonitis. **Research in Veterinary Science**, v. 55, p. 163-165, 1993. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0034-5288\(93\)90076-R](https://doi.org/10.1016/0034-5288(93)90076-R). Acesso em: 22 fev. 2025.

WOLFE, L.G.; GRIESEMER, R. A. Feline infectious peritonitis. **American College of Veterinary Pathologists**, v. 3, p. 257, 1966. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/030098586600300309>. Acesso em: 15 fev. 2024.

WU, S. *et al.* Xantholipin B produced by the stnR inactivation mutant *Streptomyces flocculus* CGMCC 4.1223 WJN-1. **The Journal of Antibiotics**, v. 70, p. 90-92, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ja.2016.60>. Acesso em: 17 jul. 2025.

YUAN, S.; CHAN, H. C. S.; HU, Z. Using PyMOL as a platform for computational drug design. **WIREs Computational Molecular Science**, v. 7, p. 2-3, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/wcms.1298>. Acesso em: 17 jul. 2025.

ZWICKLBAUER. *et al.* Long-term follow-up of cats in complete remission after treatment of feline infectious peritonitis with oral GS-441524. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 25, 7-8, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/1098612x231183250>. Acesso em: 12 jul 2025.