

Mapeamento de Interações Intermoleculares de Inibidores de Segunda Geração da mTOR: Evidências Computacionais para o Desenho de Novos Ligantes

Mapping Intermolecular Interactions of Second-Generation mTOR Inhibitors: Computational Evidence for the Design of New Ligands

Antônio Pedro L. Mesquita,^{a,*} Elaine F. F. da Cunha^{a,*}

^a Universidade Federal de Lavras, Departamento de Química, Laboratório de Modelagem Molecular, Instituto de Ciências Naturais, CEP 37200-900, Lavras-MG, Brasil

*E-mail: elaine_cunha@ufla.br; antoniolemos.mesquita@gmail.com

Submissão: 1 de Dezembro de 2025 – Aceite: 16 de Junho de 2026 – Publicado online: 9 de Julho de 2026

Editor Responsável: Marcela Cristina de Moraes

Second-generation mTOR inhibitors have been widely explored for their potential to overcome selectivity and efficacy limitations of earlier drugs. In this study, we performed a comprehensive mapping of intermolecular interactions between 59 ATP-competitive mTOR inhibitors and the kinase active site using molecular docking. The analysis revealed conserved anchoring features, particularly hydrogen bonds involving the hinge region (Val2240 and surrounding residues) and hydrophobic contacts distributed along the ATP pocket. Distinct structural classes including purine, pyrimidine, and morpholine containing scaffolds exhibited characteristic interaction patterns that correlated with experimental IC₅₀ trends. Compounds bearing dual hinge-binding motifs showed the most favorable docking energies and interaction consistency. Based on the most recurrent and stabilizing contacts, we proposed new ligand designs incorporating optimized aromatic cores, enhanced hydrogen-bond donors/acceptors, and tailored substituents for improved occupancy of hydrophobic subpockets. These findings provide computational evidence supporting structure-based strategies for developing next-generation mTOR inhibitors with enhanced affinity and interaction specificity. Overall, the study confirms key determinants of ligand recognition and offers a rational foundation for future medicinal chemistry optimization.

Keywords: mTOR inhibitors; molecular docking; structure-based design; intermolecular interactions; computational chemistry.

1. Introdução

O alvo mecanístico da rapamicina (mTOR) é uma proteína quinase do tipo serina/treonina que desempenha um papel central na integração de sinais nutricionais¹ e de fatores de crescimento,¹ regulando processos essenciais como síntese proteica, proliferação, crescimento e sobrevivência celular.² A mTOR atua por meio de dois complexos funcionalmente distintos, mTORC1 e mTORC2,² cuja desregulação está associada a diversas patologias humanas, incluindo distúrbios metabólicos, doenças neurológicas e, de forma particularmente relevante, diferentes tipos de câncer.³ A hiperativação dessa via é observada em inúmeros tumores, consolidando a mTOR como um alvo terapêutico de destaque no desenvolvimento de novas estratégias farmacológicas.⁴

Historicamente, os primeiros inibidores explorados foram a rapamicina e seus análogos (rapalogs), classificados como inibidores de primeira geração. Esses compostos

atuam como moduladores alostéricos e exercem sua ação predominantemente sobre o mTORC1⁵ o que resulta em eficácia limitada e resistência adaptativa. A busca por inibidores mais eficientes levou ao desenvolvimento dos chamados inibidores de segunda geração, que diferentemente dos rapalogs, competem diretamente com o ATP no domínio catalítico da quinase.⁶ Essa característica lhes confere a capacidade de inibir simultaneamente os complexos mTORC1 e mTORC2, produzindo um bloqueio mais amplo e efetivo da sinalização oncogênica.⁷

A compreensão detalhada das interações moleculares entre esses inibidores e o sítio ativo da mTOR é fundamental para orientar o planejamento racional de novos fármacos. Nesse contexto, o Desenho Racional de Fármacos Baseado em Estrutura (DRBE) constitui uma ferramenta estratégica, permitindo analisar a organização tridimensional do receptor e caracterizar os elementos essenciais ao reconhecimento molecular.⁸ Técnicas computacionais têm se consolidado como elementos centrais nesse processo, viabilizando a

exploração virtual de cavidades proteicas, o mapeamento de interações e a predição da afinidade de novos ligantes.⁹

Uma das ferramentas computacionais centrais abordadas no DRBE é o ancoramento molecular (ou *molecular docking*), que simula o acoplamento de um ligante ao sítio ativo, buscando prever a conformação de ligação mais favorável e estimar a estabilidade do complexo proteína-ligante. As funções de pontuação adotadas nesses métodos, baseadas em campos de força da mecânica molecular,¹⁰ permitem estimar a afinidade relativa dos compostos,¹¹ e a inspeção das interações (ex.: ligações de hidrogênio, contatos hidrofóbicos e interações eletrostáticas) oferece uma compreensão qualitativa dos principais determinantes da afinidade.¹²

Assim, o presente estudo tem como objetivo realizar um mapeamento das interações intermoleculares envolvendo 59 inibidores de segunda geração reportados na literatura, utilizando cálculos de ancoramento molecular para investigar padrões estruturais determinantes da afinidade pelo sítio catalítico da mTOR. A partir desses resultados, buscou-se propor modificações estruturais que orientem o desenvolvimento de novos derivados com potencial inibitório.

2. Metodologia

A primeira etapa deste estudo consistiu na busca sistemática, em bases de dados especializadas, de artigos científicos que reportassem inibidores de segunda geração da mTOR com valores experimentais de concentração inibitória (IC₅₀). A partir desses trabalhos,¹³⁻¹⁹ foram obtidas as estruturas químicas e os respectivos dados biológicos, permitindo a construção de um banco de dados de ligantes. A seleção dos 59 compostos utilizados neste estudo considerou tanto os valores de IC₅₀ abrangendo moléculas de baixa, intermediária e alta potência. Além disso, a estrutura dos ligantes também foi fundamental para a escolha, uma vez que foi dada preferência aos ligantes com características estruturais semelhantes ao ligante cocristalizado do complexo de mTOR, com o objetivo de melhorar a análise e a acurácia dos resultados obtidos.

Também foi realizada uma consulta bibliográfica para a escolha do cristal mais adequado de mTOR presente no PDB. O complexo de código 4JT6 foi escolhido como estrutura principal por apresentar o domínio catalítico da mTOR complexado à proteína mLST8 e ao ligante PI-103, cujas características estruturais são representativas dos ligantes analisados. O cristal apresenta resolução de 3,60 Å e foi determinado por difração de raios X.²⁰ Adicionalmente, foram consultadas as estruturas 4JT5, 4JSX e 4JSP, que contêm os ligantes PP242, Torin2 e ATP, respectivamente. O último contém dois íons Mg²⁺, essenciais para o reconhecimento do substrato. Essas estruturas auxiliaram

na identificação de interações-chave no sítio ativo, servindo como referência para a interpretação das poses geradas pelo ancoramento molecular. No *software* Discovery Studio (Biovia) (v. 2021) os hidrogênios (pH neutro) foram adicionados às estruturas, que foram minimizadas e suas cargas parciais calculadas com o método de Gasteiger-Marsili.²¹ O campo de força utilizado foi o CHARMM36.²²

O *docking* foi realizado utilizando-se o programa Molegro Virtual Docker (MVD).¹² A proteína preparada e os ligantes foram inseridos no *software* e o protocolo de ancoramento foi configurado para 100 rodadas, com 1500 iterações, o que resultou em um total de 5900 poses. O MVD utiliza funções de pontuação baseadas em campos de força para estimar a energia do complexo proteína-ligante. Foram considerados os seguintes parâmetros para análise das poses: MolDock Score, Rerank Score, energia de ligações de hidrogênio e a eficiência do ligante (LE), definida como o Rerank Score dividido pelo número de átomos pesados.

A escolha das poses seguiu critérios combinados de análise de energia calculada pelo *docking* e inspeção visual da sobreposição, utilizando também as interações com os resíduos de aminoácidos do sítio ativo, tomando como referência as interações conhecidas a partir da molécula de ATP, PI-103, PP242 e Torin2. As energias puderam ser comparadas com os valores de IC₅₀ para se estudar a existência de uma correlação entre a energia teórica e o parâmetro experimental. Como validação do protocolo, realizou-se o *redocking* de PI-103.²³

Por fim, foram avaliados também os valores de RMSD das poses alternativas geradas para cada ligante, de modo a garantir que somente conformações coerentes e energeticamente favoráveis fossem selecionadas. Poses com RMSD superiores a 2,0 Å em relação à pose de referência foram descartadas. Esse procedimento assegurou a robustez do conjunto de dados utilizado nas etapas subsequentes de análise e desenho de novos ligantes.

Para avaliar a evolução temporal dos complexos ligante-mTOR, foram realizadas produções de dinâmica molecular (DM) clássica com os três compostos de melhor atividade experimental (F21, D9k e H8b) e seus respectivos derivados teóricos (F21*, D9k* e H8b*). Para isso foi utilizado o *software* GROMACS (v. 2021).²⁴ Os ligantes foram parametrizados com o campo de força CHARMM-36²⁵ a partir do servidor CGENFF (<https://cgenff.com/>) e a proteína foi preparada com o mesmo estado de protonação utilizado nos *dockings*, utilizando o mesmo campo de força, pelo GROMACS. Foram adicionadas 115.458 moléculas de água, descritas pelo campo de força TIP3P, em uma caixa de solvatação cúbica, com dimensões que ultrapassam as bordas da proteína em 1,5 nm. A neutralização das cargas dos sistemas foi feita com a adição de 3 íons sódio. Duas etapas de minimização foram conduzidas, com máximo

de 20 mil etapas, sendo elas *Steepest Descent* com e sem restrição de posição, até que os sistemas atingissem uma força máxima inferior a $1000 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ nm}^{-1}$. Equilibrações de temperatura e pressão foram realizadas, respectivamente no *ensemble* canônico (NVT – 310 K) e isotérmico-isobárico (NPT – 1 bar), para garantir equilíbrio térmico e mecânico, em rodadas de 100 ps, com o integrador *leap-frog*. Uma etapa extra de dinâmica de água foi realizada, em 500 ps, para relaxação completa do solvente. Finalmente, a produção final foi conduzida em 100 ns, com o sistema livre, mantendo restrições somente nas ligações de hidrogênio. Foi empregado o esquema de velocidades *Verlet*, integrador *leap-frog*, a uma temperatura constante de 310 K (fisiológica), com passos de integração de 2 fs. Todas as trajetórias foram analisadas internamente com o GROMACS e os gráficos foram plotados com o XMGRACE.

As propostas teóricas, junto de seus análogos experimentais, foram submetidas a predições de absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade (ADMET) com o servidor DeepPK²⁶ e predição de viabilidade sintética com o SwissADME.²⁷ Foram considerados os resultados de absorção intestinal, penetração na barreira hematoencefálica, inibição do citocromo P450 (3A4), tempo de meia-vida, carcinogenicidade e hepatotoxicidade. A dose letal média (LD₅₀) foi calculada com base no parâmetro *Rat* (*Acute*) retornado pelo DeepPK.

3. Resultados e Discussão

Os resultados obtidos neste trabalho foram fruto da ancoragem molecular de 59 ligantes, obtidos da literatura, com seus respectivos valores experimentais de concentração inibitória. As estruturas e identificações correspondentes são apresentadas nas Tabelas S1–S8 do material suplementar. A cavidade catalítica observada no cristal 4JT6 (Figura 1A) possui volume aproximado de $507.0 \text{ \AA}^3$,³ distribuído entre as regiões conhecidas como bolsa de adenina, bolsa de ribose e subbolsa hidrofóbica (Figura 1B). Existe também uma região com segmento de mobilidade elevada denominada *A-loop*, altamente flexível/desordenada onde a conformação muda de acordo com o estado de fosforilação, ligação a ATP, ligação a inibidores ATP-competitivos e interação com proteínas associadas. Assim, a região de restrição para o ancoramento foi definida de modo a abranger completamente o ligante PI-103, garantindo que todos os compostos ocupassem adequadamente o sítio catalítico (Figura 1C).

3.1. Cálculos de ancoramento molecular

O *redocking* de PI-103 (Figura 2) produziu RMSD de $0,407 \text{ \AA}$ em relação à pose experimental, validando o

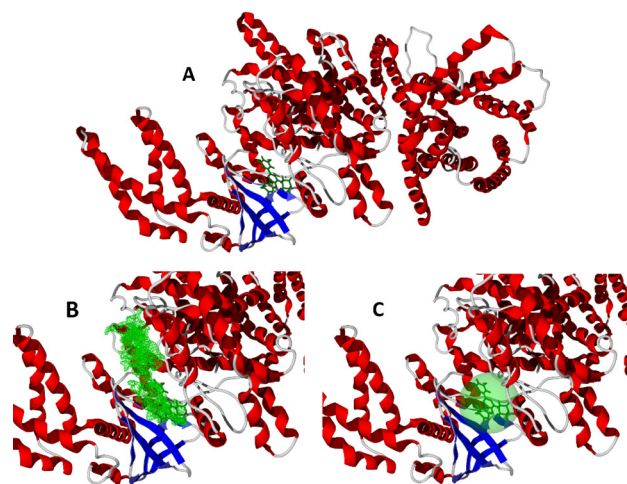


Figura 1. (A) Estrutura do complexo mTOR/PI-103 (PDB: 4JT6); (B) Ilustração da cavidade do sítio ativo identificada pelo MVD; (C) Localização da esfera de restrição em torno do ligante cocristalizado

protocolo de *docking*, pois um valor menor do que $2,0 \text{ \AA}$ indica uma boa replicação da conformação experimental.²³ Os valores de MolDock Score, Rerank Score, energia de ligações de hidrogênio, eficiência do ligante e IC₅₀ experimental encontram-se resumidos na Tabela 1. Na Figura 3, foi plotado um gráfico de dispersão para avaliar a distribuição das energias em termos do Rerank Score e da eficiência do ligante, esse parâmetro se trata da energia da função de pontuação (MolDock) dividida pelo número de átomos pesados (HA), que são aqueles diferentes de hidrogênio. A coloração do gráfico indica a densidade dos pontos, sendo que em azul os pontos estão mais dispersos, ou seja, com menor proximidade, em vermelho é a região em que os pontos estão mais concentrados e, em amarelo, é indicada uma região de densidade intermediária. Nota-se, também, pela Figura 3 que a região mais concentrada (em vermelho) possui energias que variam de, aproximadamente -125 a -110 kJ mol^{-1} , com uma eficiência de ligante que varia de $-3,5$ a $-2,7$. De modo geral, os ligantes apresentaram energias variando entre -145 e -70 kJ mol^{-1} , e observou-se tendência de melhor estabilização para compostos maiores, refletida na diminuição da eficiência do ligante (LE).

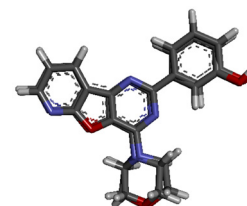


Figura 2. Sobreposição do *redocking* do inibidor PI-103

Para a compreensão dos cálculos obtidos pelo ancoramento, foi investigado se existe uma correlação entre os resultados de energia, de natureza teórica, com dados experimentais. A relação entre pIC₅₀ e MolDock

Tabela 1. Resultado dos cálculos obtidos após ancoramento via MVD

Ligante	MolDock Score (kJ mol ⁻¹)	Rerank Score (kJ mol ⁻¹)	Ligação de Hidrogênio (kJ mol ⁻¹)	Eficiência do Ligante (kJ mol ⁻¹ HA ⁻¹)	IC ₅₀ (nM)
PI-103	-116,975	-101,520	-4,956	-3,905	N/A
A11C	-135,958	-110,442	-2,500	-3,451	1.000
A11E	-154,033	-124,142	-1,532	-3,762	485
A11G	-164,622	-119,418	-2,744	-3,228	439
A12C	-135,585	-118,518	-4,484	-3,951	864
A12E	-135,368	-113,598	-2,500	-3,664	183
A12G	-146,539	-126,202	-2,015	-3,606	195
A13C	-133,426	-107,731	-2,500	-3,591	483
A13E	-134,534	-114,357	-2,500	-3,689	69
A13G	-142,177	-114,947	-3,272	-3,284	48
B16	-135,182	-105,285	0,000	-3,290	4,4
B18	-141,840	-70,816	-3,828	-2,146	5,7
B19	-144,249	-81,820	-1,768	-2,406	5,2
B20	-133,283	-99,724	0,000	-2,849	28,0
B21	-114,485	-88,986	-1,417	-2,542	204,0
B22	-136,162	-107,842	-0,128	-3,268	23,2
B23	-138,362	-110,626	-1,749	-3,352	5,2
B24	-151,000	-120,095	-2,493	-3,639	6,6
B25	-142,468	-121,634	-1,182	-3,577	1,4
B26	-137,640	-106,804	0,000	-3,052	2,9
C9A	-143,323	-106,145	-2,785	-3,660	0,46
C9B	-140,580	-108,545	-3,606	-3,877	3,45
D9k	-159,360	-76,837	-7,081	-2,260	0,0016
E10DB	-153,846	-111,535	0,000	-3,187	0,67
E10EB	-151,764	-78,536	-2,412	-2,182	1,40
E10FB	-142,985	-113,585	-0,287	-2,989	2,00
E10GB	-142,437	-94,248	-0,505	-2,547	3,10
E10HB	-150,017	-105,555	-5,647	-2,707	1,85
E9DA	-166,534	-102,294	-3,838	-2,923	0,55
E9EA	-163,435	-104,656	-3,976	-2,907	0,50
E9FA	-134,248	-110,134	-3,980	-2,898	0,56
E9GA	-163,774	-75,405	-3,864	-2,038	1,00
E9HA	-162,324	-102,988	-6,341	-2,641	0,39
F19	-141,259	-122,691	-2,574	-3,408	4,30
F20	-148,124	-116,128	-4,476	-3,056	1,00
F21	-154,105	-116,511	-5,260	-3,149	0,32
F22	-162,504	-138,844	-3,605	-3,654	0,61
F23	-160,408	-121,801	-4,108	-3,205	0,45
F24	-161,282	-126,006	-1,863	-3,073	0,20
F25	-171,157	-135,209	-6,129	-3,298	0,30
F27	-157,389	-104,510	-2,189	-2,177	0,34
F28	-153,533	-146,728	-6,617	-3,412	0,08
G10	-144,281	-76,658	-1,416	-2,190	2,80
G11	-135,924	-121,188	-2,500	-3,366	2,60
G12	-154,163	-85,765	-4,839	-2,199	0,50
G13	-133,998	-95,467	-4,477	-2,075	1,70
G9	-122,411	-112,881	-2,654	-3,320	2,50
H8b	-158,516	-101,202	-2,989	-2,530	0,26
H8c	-159,273	-80,235	-2,955	-1,957	0,22
H8d	-172,255	-133,320	-4,539	-3,252	0,22
H8e	-174,638	-106,222	0,000	-2,414	0,16
H8f	-175,128	-138,274	-2,079	-3,143	0,12
H8g	-172,788	-70,645	-1,325	-1,606	0,12
I14	-126,058	-104,033	-2,500	-3,468	1.650
I15	-127,922	-108,034	-2,500	-3,601	950
I16	-128,809	-109,155	-2,500	-3,119	140
I20	-154,554	-121,823	-4,793	-3,206	51
I22	-121,657	-85,494	-3,599	-2,758	7.200
I24	-136,845	-111,936	-2,993	-3,109	310

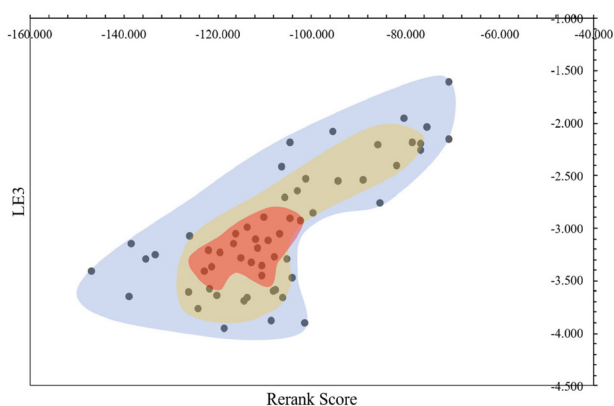


Figura 3. Gráfico de dispersão dos pontos da Tabela 1: Rerank Score vs. LE3

Score apresentou coeficiente de determinação igual a 0,749, evidenciando correlação satisfatória entre afinidade experimental e energia calculada, de acordo com a Figura 4. Esse resultado reforça a coerência da abordagem teórica e sugere que as energias de *docking* capturam adequadamente os padrões de estabilização relevantes para o reconhecimento molecular da mTOR. Uma análise de outliers foi realizada, excluindo moléculas com valores de energia superior ao dobro do desvio padrão do conjunto.

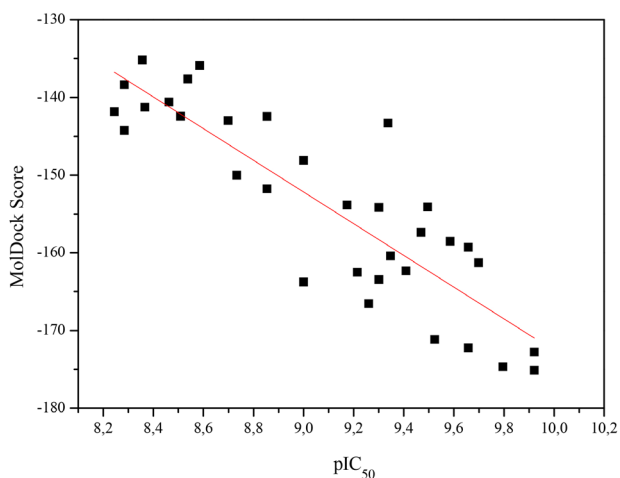


Figura 4. Gráfico de regressão linear pIC_{50} vs. MolDock Score

A análise comparativa das poses revelou que, embora as conformações mais semelhantes ao ligante cocristalizado (PI-103) apresentem coerência estrutural, nem sempre correspondiam às poses mais estáveis. Assim, adotou-se um critério combinado considerando RMSD e o valor de energia (MolDock Score), equilibrando similaridade conformacional e estabilidade do complexo (Figura 5). O primeiro processo de triagem dos resultados consistiu em elencar 3 melhores poses para cada um dos 59 ligantes. À pose que mais se assemelhou conformacionalmente ao ligante cocristalizado, com grupos semelhantes devidamente sobrepostos, foi atribuído um valor de RMSD = 0, como

padrão. As duas poses restantes foram analisadas de acordo com o desvio resultante de RMSD calculado e a energia correlacionada. Poses que se distanciavam com valores de RMSD superiores a 2,0 Å foram descartadas. Na Figura 6A observa-se a pose de melhor encaixe no ligante cocristalizado (RMSD = 0) e na Figura 6B, mostram-se as outras duas poses sobrepostas para o ligante A11c, utilizado como exemplo.

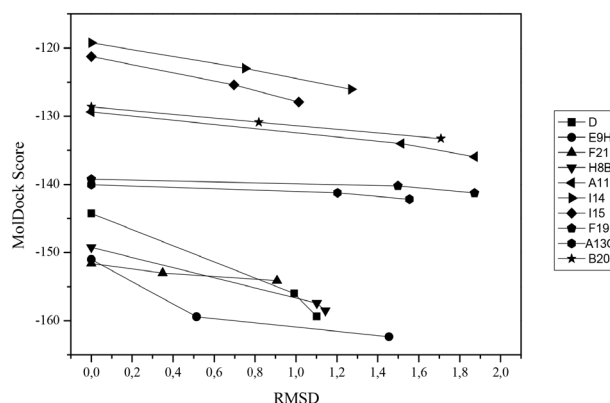


Figura 5. Gráfico de correlação entre MolDock Score e RMSD dos 10 ligantes principais que foram escolhidos para participarem da discussão deste resultado

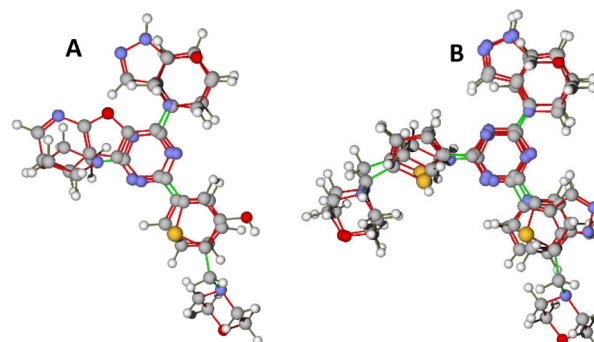


Figura 6. Ilustração das poses sobrepostas ao ligante cocristalizado. (A) Pose de melhor sobreposição com o ligante cocristalizado; (B) Pose ligeiramente menos ajustada, com menor energia

3.2. Análise das interações dos ligantes obtidos via ancoramento molecular

A inspeção dos ligantes cocristalizados ATP, Torin2, PP242 e PI-103 permitiu identificar padrões consistentes de interação. Na Figura 7 pode-se observar as interações resultantes experimentalmente. Alguns resíduos de aminoácidos repetem-se com frequência em todos os ligantes e, a partir deles, identificou-se um padrão de interações consideradas importantes. Apenas o ATP possui um cofator de Mg^{2+} , que interage diretamente com as porções de fosfato, sendo também o único substrato a apresentar interações do tipo receptor metálico.

De todas as interações que um ligante pode fazer no sítio ativo de uma enzima, as ligações de hidrogênio

corriqueiramente são as mais importantes, pois são as mais estáveis e fortes.²⁸ Entre todas as ligações de hidrogênio observadas, destacou-se a recorrência do resíduo Val2240, que atuou como doador ou aceptor em todas as estruturas analisadas. Outros resíduos frequentemente envolvidos incluíram Gly2238, Asp2195, Met2345, Ile2356, Leu2185 e Trp2239.²⁹

Tendo em vista esta repetição acentuada, um enfoque especial será dado a Valina 2240 nas análises dos ligantes ancorados pelo MVD. Além das ligações de hidrogênio, observam-se interações do tipo alquil e π -alquil, π -enxofre e π -sigma. Outros resíduos de aminoácidos que se repetem com frequência de duas vezes são Lys2187 e Gly2238, sendo este último fazendo ligação de hidrogênio. A Ile2237 repete-se três vezes nos ligantes e os resíduos Ile2356, Leu2185, Met2345 e Trp2239 repetem-se quatro vezes, variando os tipos de interações.

No que diz respeito aos grupamentos estruturais que participam das interações, observa-se também um padrão. No ATP, a porção purínica faz duas ligações de hidrogênio, sendo o anel aromático o principal a interagir com a valina e glicina. No TORIN-2 e no PP242 novamente o anel aromático com pelo menos um nitrogênio interage

fazendo ligações de hidrogênio. Por último, a PI-103 possui um grupamento morfolino, composto de um anel de seis membros, com um nitrogênio que se liga ao restante da cadeia e um oxigênio na posição *para*, que realiza ligação de hidrogênio com a Valina 2240. A molécula PP242 possui dois grupamentos estruturalmente semelhantes à adenina existente no ATP, que fazem interações com diversos resíduos comuns de aminoácidos, o que leva à constatação de que grupamentos purínicos podem ser importantes para que interações efetivas sejam realizadas.

Os ligantes D9k, E9HA, F21 e H8b exibiram os menores valores de IC_{50} em nM (0,0016; 0,39; 0,32 e 0,26 respectivamente) e melhores valores de energia (MolDock Score) calculados no ancoramento (−159,360; −162,324; −154,105 e −158,516 respectivamente), destacando-se como os ligantes mais promissores. Na Figura 8 estão os ligantes e suas respectivas interações com os resíduos de aminoácidos. Todos apresentaram múltiplas ligações de hidrogênio (3 a 4) e interação via ligação de hidrogênio na região da Val2240, com energias variando entre −9,9 e −12,9 kJ mol^{−1} para esse resíduo isoladamente. D9k e E9HA apresentam anéis heterocíclicos aromáticos contendo nitrogênios ocupando a bolsa de adenina. Interações π com

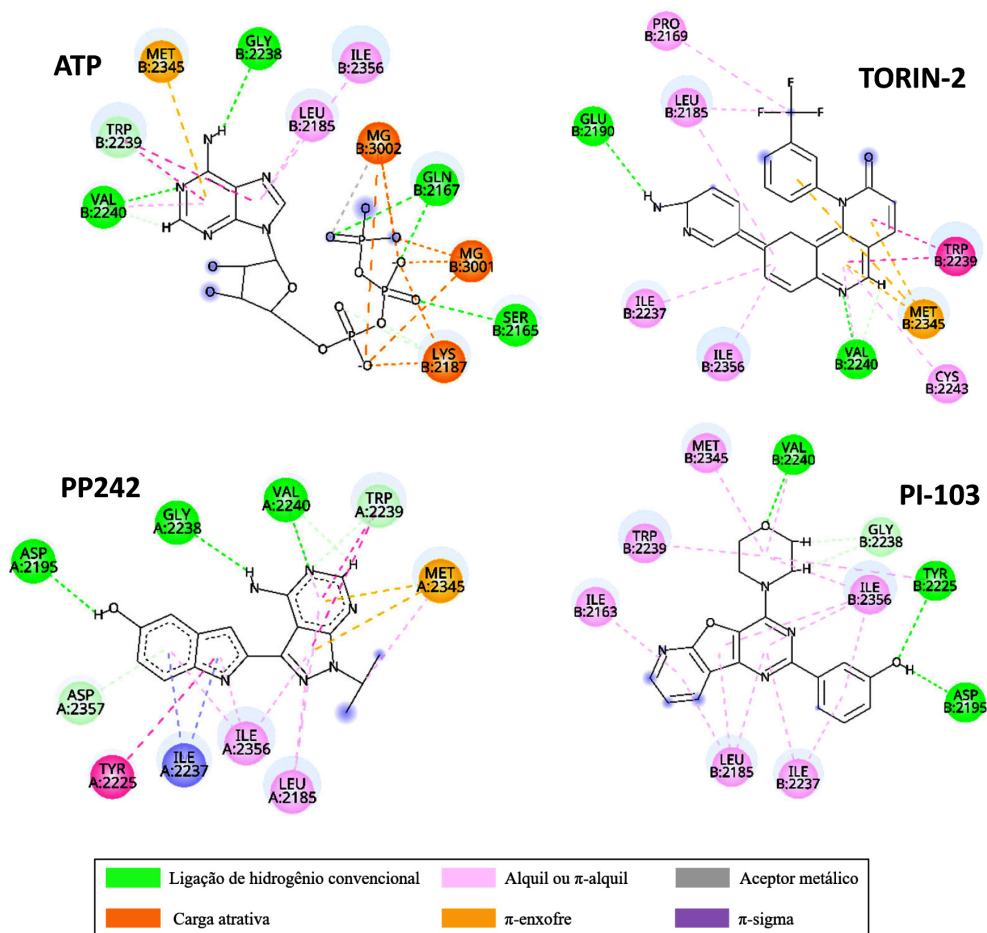


Figura 7. Ligantes cocristalizados experimentalmente e suas interações no sítio ativo

Met2345 contribuem adicionalmente para a estabilidade. Os ligantes F21 e H8b possuem também um grupo pirazolo-pirimidina localizado na bolsa de ribose que se liga a um anel benzênico interligado a um grupamento ureido [R-N-(C=O)-N-R] que fazem ligações de hidrogênio com resíduos de aspartato e tirosina. Por fim, o ligante H8b faz uma ligação de hidrogênio com um resíduo de fenilalanina 2358 a partir de um grupamento cíclico de seis membros ligado a um heterocíclico composto por dois oxigênios.

A Figura 9 mostra as interações resultantes dos ligantes menos potentes, ou seja, aqueles com os mais altos valores de energia e de IC_{50} . Em todos eles, há apenas uma ligação de hidrogênio com a Val2240 e, pela Tabela 2, vemos que as energias dessas ligações variam entre $-4,07$ a $-2,58$ kJ mol $^{-1}$, valores bem maiores quando comparados aos ligantes de melhor potencial presentes na Figura 8. De

modo geral, somente no composto I15 foi constatada ligação de hidrogênio no grupamento morfolínico. Existe uma predominância de interações do tipo alquil e π -alquil, que comparadas às ligações de hidrogênio são substancialmente mais fracas e instáveis.³⁰

Por fim, a Figura 10 revela as interações presentes nos ligantes com valores intermediários de energia e concentração inibitória. Esses exibiram predominância de ligações do tipo alquil e π -alquil, no entanto, o ligante F19 faz duas ligações de hidrogênio. Apesar do composto B20 não realizar nenhuma ligação de hidrogênio, ele faz duas interações do tipo π -ânion e uma π -enxofre com um resíduo de metionina. Para todos os ligantes da Figura 10, existem poucas interações fortes como ligações de hidrogênio para torná-los bons ligantes, mas eles possuem quantidades significativas de interações mais fracas que, pela quantidade, fazem com que eles se estabilizem mais

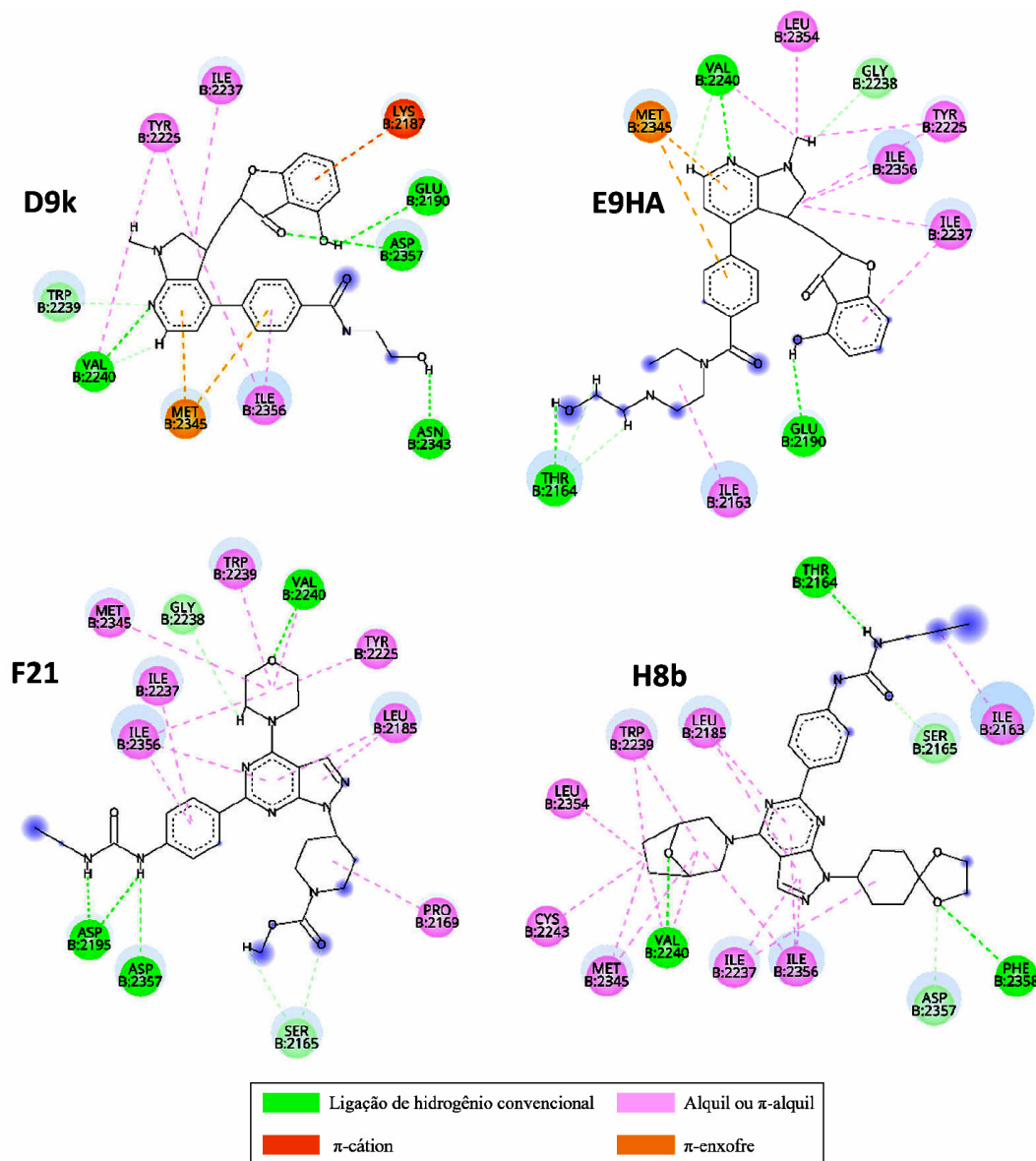


Figura 8. Diagrama de interações dos melhores ligantes, via ancoramento molecular

Tabela 2. Energias de interação dos ligantes com o resíduo de Valina 2240

Composto	Energia com Val2240 (kJ mol ⁻¹)
D9k	-12,88
E9HA	-9,91
F21	-10,03
H8b	-10,87
A11c	-2,58
I14	-5,51
I15	-4,07
F19	-6,06

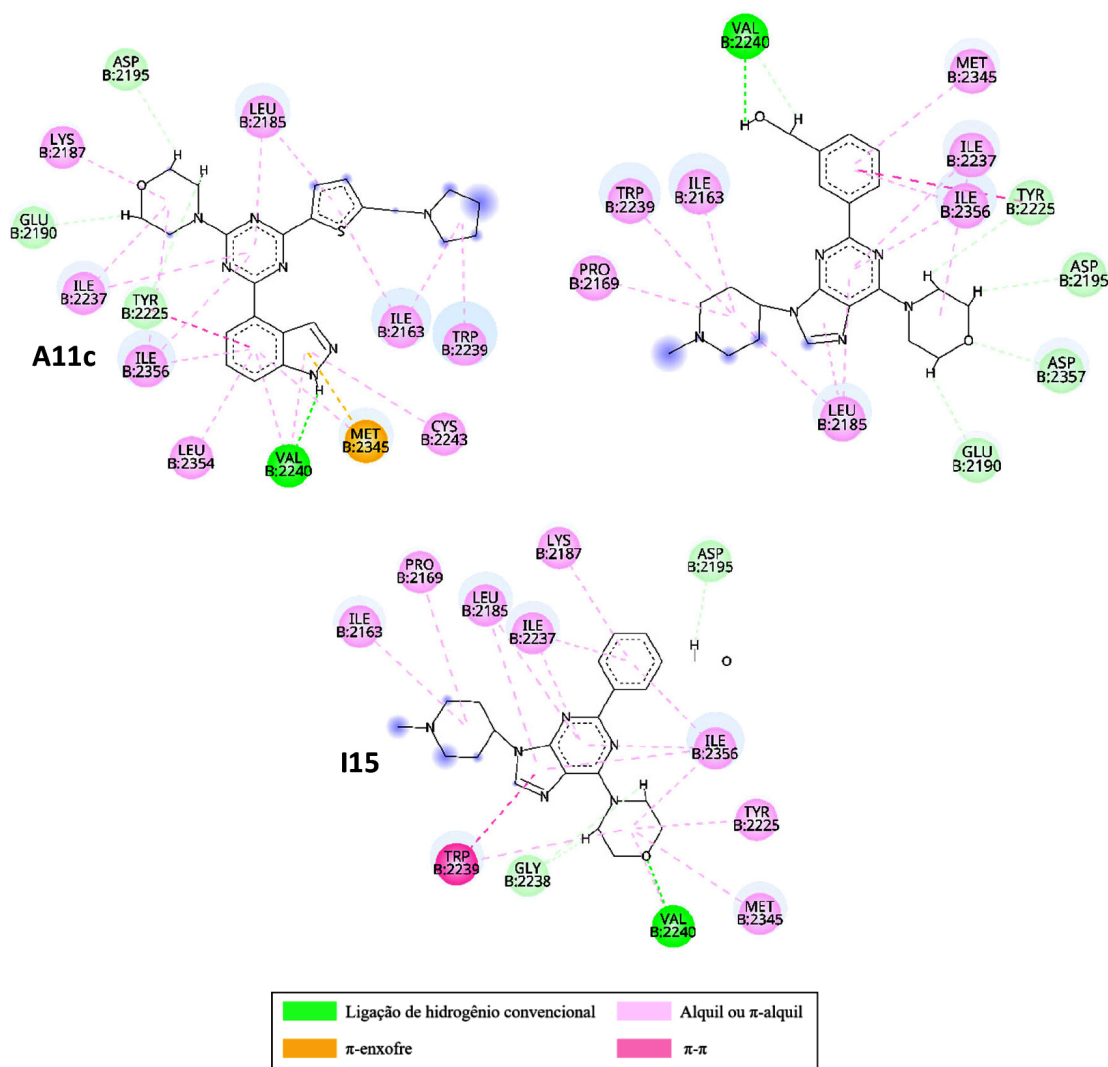
do que os ligantes de pior potencial. Um exemplo é o ligante A13g, que faz 12 interações do tipo alquil e π -alquil com dez resíduos de aminoácidos.

3.3. Desenho teórico de moléculas promissoras a partir dos dados obtidos

Com base nas interações observadas nos ligantes mais potentes, foram propostas modificações racionais para três

compostos: F21, H8b e D9k, originando os derivados F21*, H8b* e D9k* (Figura 11). As estratégias de modificação incluíram inserção de hidroxilas em regiões hidrofílicas da cavidade, aumentando a capacidade de formar ligações de hidrogênio; adição de grupos alquílicos em regiões hidrofóbicas para aumentar interações π -alquil e alquil; manutenção de anéis aromáticos planos que favorecem a entrada na cavidade catalítica.

Para o cálculo das energias das estruturas propostas, foi novamente feito todo o procedimento de ancoramento molecular, que consistiu no desenho das novas estruturas, o cálculo das cargas parciais e foi utilizado o mesmo cristal de mTOR, o 4JT6. A análise das conformações foi feita utilizando como base a molécula de ligante não alterada, por conta da imensa semelhança estrutural, uma vez que para cada um dos três ligantes foram propostas alterações bastante sutis. De todos os ligantes, o F21* apresentou a maior melhora, com redução de ~25% na energia de ligação (-154,1 para -192,6 kJ mol⁻¹). As novas hidroxilas

**Figura 9.** Diagrama de interações dos ligantes menos potentes, via ancoramento molecular

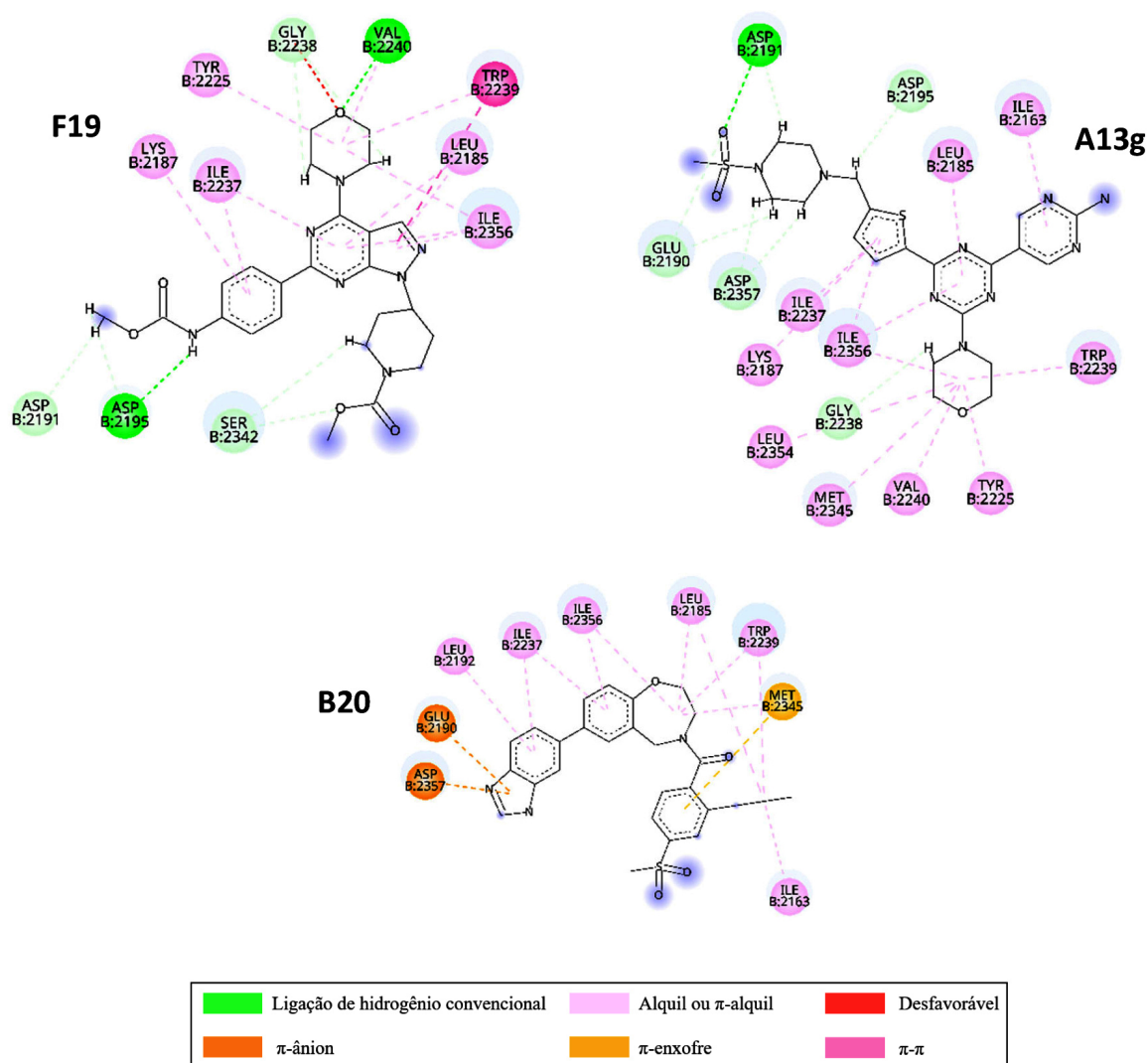


Figura 10. Diagrama de interações dos ligantes intermediários, via ancoramento molecular

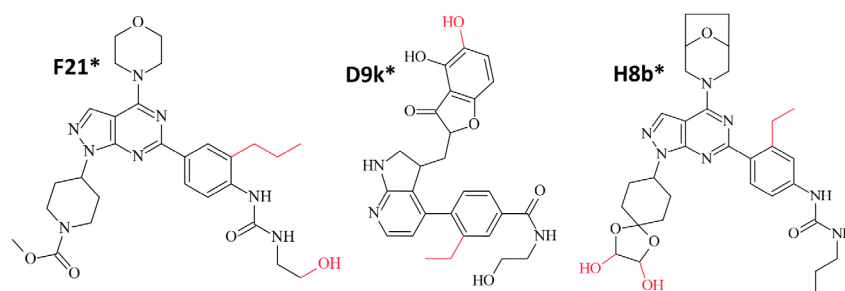


Figura 11. Alterações estruturais dos ligantes F21, D9k e H8b para propor os ligante F21*, D9k* e H8b*, respectivamente. Os grupos em vermelho são os substituintes

permitiram interações adicionais com Asp2191 e Asp2195 (Figura 12). A adição do grupo propil desencadeou quatro interações do tipo alquil e π -alquil extras no ligante F21*, quando comparado ao F21. Essas interações justificam o aumento da estabilidade do F21*, que refletiu no decréscimo de energia.

Para o ligante H8b foi feito o mesmo procedimento e análise. O composto H8b* possui duas hidroxilas extras

ligadas ao 1,3-dioxolano, o grupamento acetal (Figura 13). Ocorreu a redução de ~14% na energia, com formação de nova ligação de hidrogênio com Phe2358 e a inserção da etila ao anel aromático, o que resultou em duas novas interações alquil, com os resíduos de Ser2342 e Thr 2245.

Por último, o ligante D9k também sofreu alterações estruturais, de forma análoga aos anteriores. Também foram adicionado dois novos grupamentos, um polar e outro

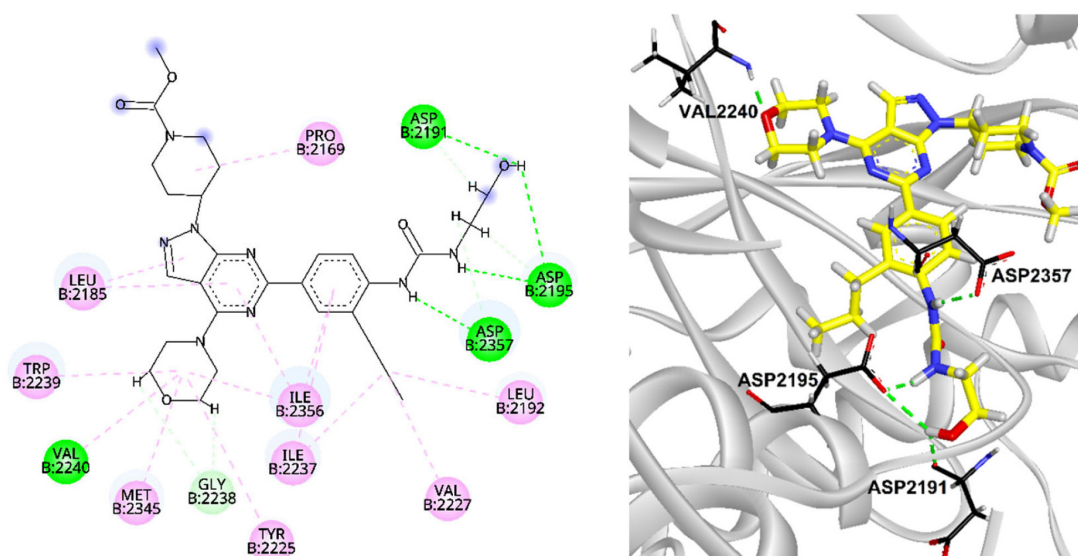


Figura 12. Diagrama de interações do ligante F21*

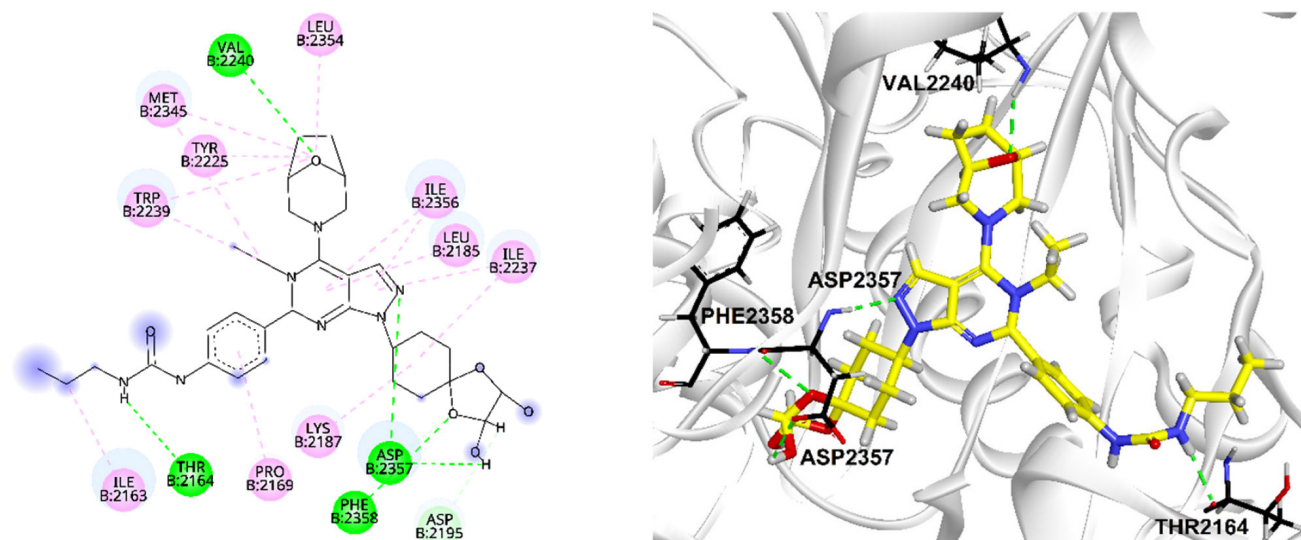


Figura 13. Diagrama de interações do ligante H8b*

apolar. De todos, este foi o que obteve a conformação mais homogênea no sítio ativo, no sentido de possuir grupos volumosos muito bem posicionados de acordo com o caráter hidrofóbico. Nesse ligante houve uma melhora moderada na energia de interação (9%), embora coerente com seu perfil já otimizado. A adição de hidroxila adicional gerou duas novas ligações de hidrogênio. A Figura 14 mostra a conformação tridimensional do ligante D9k* no sítio ativo.

3.4. Simulações de Dinâmica Molecular (DM)

As simulações de dinâmica molecular foram realizadas para investigar a estabilidade temporal das poses de *docking*. Os perfis de RMSD dos ligantes presentes na Figura 15A mostram estabilidade em todas as simulações. O ligante teórico D9k*, de forma global, mostrou estabilidade

equivalente ao seu análogo experimental, mantendo um RMSD médio em, aproximadamente, 0,13 nm, durante os 100 ns, com flutuações discretas nos primeiros 40 ns. Em contrapartida, os ligantes teóricos F21* e H8b* superaram seus análogos experimentais em estabilidade conformacional, como pode ser visto na Figura 15A. Até os primeiros 40 ns, os compostos F21* e H8b* se equiparam às referências, mantendo-se em um RMSD estável de aproximadamente 0,13 nm. De 40-100 ns, o ligante de referência F21 apresentou flutuações de até 0,2 nm, enquanto o F21* se manteve praticamente constante em 0,13 nm. O ligante H8b, depois de 40 ns estabilizou-se com um RMSD médio de 0,18 nm, enquanto seu derivado teórico se estabilizou em 0,13 nm. Esses resultados corroboram com a maior estabilidade energética das propostas teóricas avaliadas com os estudos de *docking*, indicando que os

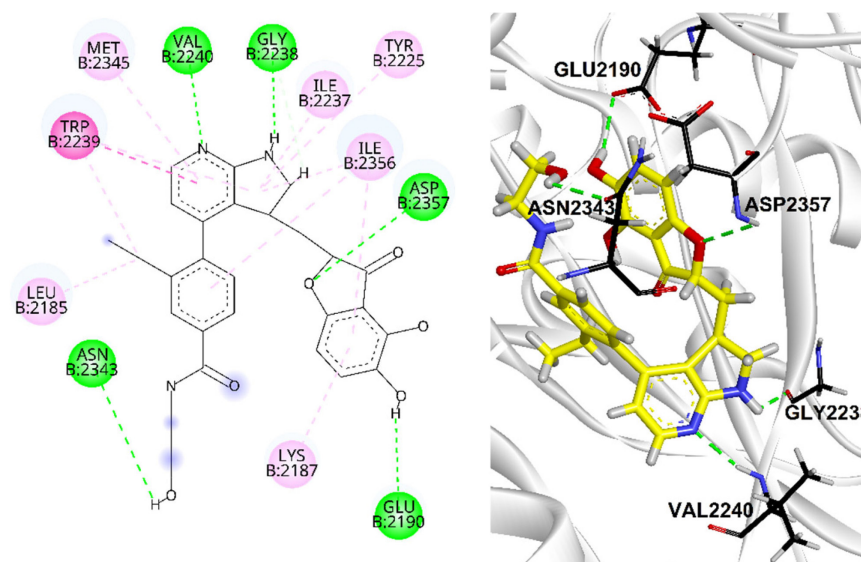


Figura 14. Diagrama de interações do ligante D9k*

grupamentos extras possuem interações intermoleculares fortes o suficiente para manter as conformações mais estáveis com o passar do tempo.

Em termos da estabilidade da mTOR quando complexada com ligantes, os gráficos da Figura 15B revelam que todos eles provocaram mudanças conformacionais esperadas. No caso dos ligantes D9k* e F21*, a mTOR apresentou desvios menores em comparação às referências, enquanto os complexos H8b-mTOR e H8b*-mTOR mostraram variações extremamente similares.

Para avaliar o efeito das ligações de hidrogênio, os gráficos da Figura 16 mostram a evolução dessas ligações, para cada composto, durante a trajetória de DM. Em todos os casos, as propostas teóricas revelaram maior número de ligações de hidrogênio, em comparação às referências, evidenciando que a adição de hidroxilas em posições estratégicas, que interagem com sítios hidrofílicos foi

eficiente em aumentar as ligações de hidrogênio, que se mostraram estáveis durante os 100 ns.

A D9k mostrou picos de duas ligações de hidrogênio, até 80 ns, aumentando para 4 nos últimos 20 ns. A D9k* mostrou picos de 4 e 6 ligações, respectivamente, nos intervalos de 0-80 e 80-100 ns. O ligante F21* mostrou-se especialmente promissor, por não ter apresentado nenhum momento sem ligações de hidrogênio, sendo no mínimo 1, com um pico máximo de 8 ligações, enquanto o F21, apesar de bastante eficaz em realizar essas ligações, permaneceu sem nenhuma durante breves períodos da trajetória. Os ligantes H8b e H8b* apresentaram resultados próximos entre si, com breves picos de 6 ligações de hidrogênio.

De forma geral, todos os derivados teóricos mantiveram-se extremamente estáveis no sítio ativo da mTOR, indicando estabilidade conformacional e energética, com ligações de hidrogênio que favorecem essa observação, mantendo de

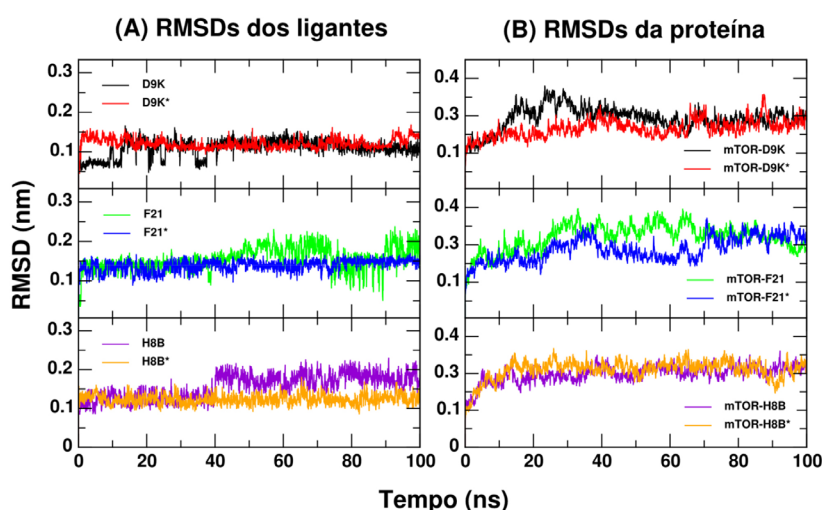


Figura 15. Perfis temporais de RMSD obtidos pelas simulações de DM. (A) RMSDs dos ligantes no sítio ativo da mTOR; (B) RMSDs da mTOR complexada com os ligantes

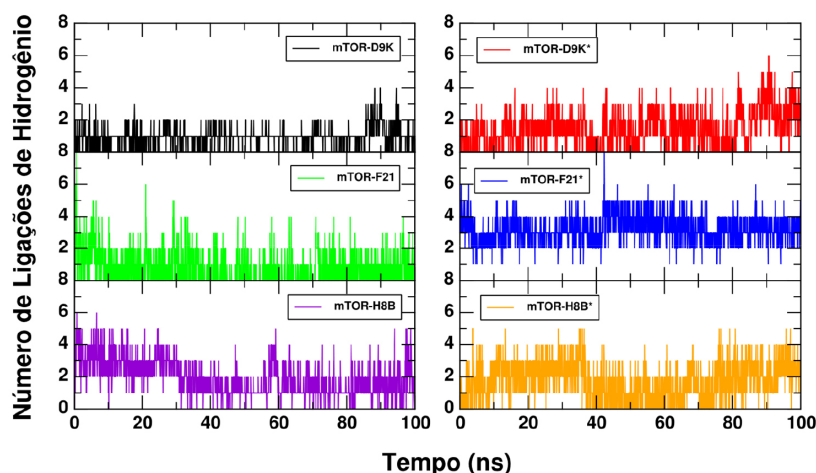


Figura 16. Gráficos do número de ligações de hidrogênio dos ligantes com a mTOR durante a trajetória de 100 ns

forma global as interações intermoleculares reveladas pelos estudos de *docking*, endossando a contribuição positiva para a acomodação dos ligantes no sítio ativo.

3.5. Predições de absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade (ADMET)

A avaliação das propriedades de Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção (ADME), está apresentada na Tabela 3 e revela que todas as moléculas (experimentais e teóricas) possuem alta probabilidade de absorção intestinal, sugerindo que ambas as séries apresentam boa biodisponibilidade potencial para administração por via oral. No que tange à distribuição, avaliada pela penetração na barreira hematoencefálica, observa-se uma otimização significativa nas propostas teóricas. Enquanto todos os análogos experimentais (F21, D9k e H8b) permeiam a BHE, as propostas D9k* e H8b* perderam essa característica. Do ponto de vista farmacológico, a restrição de acesso ao Sistema Nervoso Central é altamente desejável se o alvo terapêutico for periférico, pois minimiza potenciais efeitos adversos neurológicos.

Em relação ao metabolismo, analisado pela inibição do citocromo 3A4 (referente à isoenzima CYP3A4), os resultados são mistos. A proposta H8b* mostrou-

se vantajosa em relação ao seu precursor (H8b), pois deixou de inibir a enzima, reduzindo o risco de interações medicamentosas. Por outro lado, a modificação estrutural em F21* introduziu a inibição da CYP3A4, que não estava presente no F21 original. Todos os compostos apresentaram tempo de meia-vida inferior a 3 horas, o que sugere um perfil de depuração (clearance) rápido no organismo. Quanto à viabilidade sintética (onde valores maiores geralmente indicam maior complexidade de síntese), nota-se que as propostas teóricas são ligeiramente mais complexas de serem sintetizadas do que seus precursores experimentais. O aumento de complexidade é discreto para F21 e D9k*, mas é notável para o composto H8b*, que atingiu o valor de 7.97.

A Tabela 4 demonstra que as modificações teóricas mantiveram ou melhoraram o perfil de segurança das moléculas. É um dado promissor que nenhum dos compostos, experimentais ou teóricos, tenha apresentado alertas para carcinogenicidade. O resultado mais expressivo no perfil de segurança refere-se à hepatotoxicidade. O análogo experimental D9k apresentou previsão positiva para toxicidade hepática. Contudo, a sua respectiva proposta teórica, o D9k*, reverteu esse problema, apresentando-se como não hepatotóxico.

Por fim, a avaliação da toxicidade aguda, expressa pela Dose Letal Média (LD₅₀) corrobora a eficiência do

Tabela 3. Dados de ADME e viabilidade sintética obtidos para os compostos teóricos e seus respectivos análogos experimentais

Composto	Absorção Intestinal	Penetração Barreira Hematoencefálica	Inibição do Citocromo P450 (3A4)	Tempo de Meia Vida (h)	Viabilidade Sintética
F21	Sim (AC)	Sim (AC)	Não (BC)	< 3 (AC)	3.91
D9k	Sim (AC)	Sim (AC)	Sim (MC)	< 3 (MC)	4.29
H8b	Sim (AC)	Sim (BC)	Sim (AC)	< 3 (AC)	6.18
F21*	Sim (MC)	Sim (AC)	Sim (MC)	< 3 (AC)	4.38
D9k*	Sim (MC)	Não (MC)	Sim (BC)	< 3 (MC)	4.5
H8b*	Sim (BC)	Não (MC)	Não (BC)	< 3 (AC)	7.97

* Confiança das predições: Alta confiança (AC); Média Confiança (MC); Baixa Confiança (BC)

Tabela 4. Dados de toxicologia para os ligantes teóricos e seus análogos experimentais

Composto	Carcinogenicidade	Hepatotoxicidade	Dose Letal Média (LD ₅₀) (mg kg ⁻¹)
F21	Não (AC)	Não (BC)	1014.73
D9k	Não (AC)	Sim (BC)	1787.62
H8b	Não (AC)	Não (BC)	614.47
F21*	Não (MC)	Não (BC)	838.14
D9k*	Não (MC)	Não (BC)	1994.21
H8b*	Não (MC)	Não (BC)	543.41

* Confiança das predições: Alta confiança (AC); Média Confiança (MC); Baixa Confiança (BC)

planejamento do composto D9k*. Além de eliminar a hepatotoxicidade, o D9k* aumentou o valor de LD₅₀ (de 1787.62 para 1994.21 mg/kg) em relação ao seu análogo experimental, indicando uma toxicidade sistêmica aguda ainda menor. Para os pares F21/F21* e H8b/H8b*, houve uma leve redução nos valores de LD₅₀ das propostas teóricas, porém, as doses continuam em faixas na ordem de centenas de mg/kg, o que sugere uma margem de segurança razoável.

4. Conclusão

Compreender as características estruturais e a bioquímica referente à regulação e sinalização da mTOR é fator determinante para que se possa pesquisar e desenvolver tratamentos quimioterápicos para as doenças resultantes da desregulação da proteína. Este estudo demonstrou, por meio de cálculos de ancoramento molecular, a conformação estrutural energeticamente mais viável de uma série de inibidores de segunda geração acoplados ao sítio ativo da mTOR. Os resultados mostram que a afinidade dos inibidores de segunda geração está fortemente associada à presença de heterociclos aromáticos contendo nitrogênios capazes de interagir com Val2240; a presença de grupos morfolínicos ou isósteros capazes de atuar simultaneamente como elementos polares e adaptativos; ao preenchimento adequado das regiões hidrofóbicas da cavidade catalítica; a rigidez estrutural moderada, que favorece orientação precisa dos grupos farmacofóricos.

A partir dos dados obtidos pelo ancoramento, foi possível propor alterações estruturais teóricas em três compostos, que resultaram em diminuições de energia variando de 10 a 25%. Os novos compostos F21*, D9k* e H8b* contaram com o acréscimo de grupos hidrofóbicos e hidrofílicos que atuaram estrategicamente em regiões que propiciam interações viáveis. O acréscimo de grupamentos hidroxila aos compostos alterados proporcionou ao menos uma ligação de hidrogênio a mais, além de outras várias interações do tipo alquil e π -alquil provenientes dos novos grupamentos hidrofóbicos. Simulações de dinâmica molecular clássica corroboraram com os resultados de docking, indicando alta estabilidade conformacional das

propostas teóricas ao longo de trajetórias de 100 ns. Ao fim, estudos de ADMET indicaram um bom perfil farmacológico dos compostos propostos.

Informações Suplementares

Informações Suplementares a respeito das estruturas moleculares dos compostos de referência, detalhes dos cálculos de *docking* e sobreposição das poses estão disponíveis gratuitamente em <https://rvq.s bq.org.br/pdf/AR2026-5121-MS>.

Agradecimentos

O autor e a autora agradecem às agências de fomento FAPEMIG, CAPES (código de financiamento 001), pelo fornecimento de acesso aos periódicos no Brasil, CNPq e à Universidade Federal de Lavras (Departamento de Química e Instituto de Ciências Naturais). Agradecem também à Dra. Thais A. Sales e ao Dr. Teodorico Ramalho pelas valiosas sugestões e discussões que contribuíram para o aprimoramento deste trabalho.

Referências Bibliográficas

- Jewell, J. L.; Guan, K.-L.; Nutrient signaling to mTOR and cell growth. *Trends in Biochemical Sciences* **2013**, *38*, 233. [Crossref] [PubMed]
- Levy, T.; Voeltzke, K.; Hruby, L.; Alasad, K.; Bas, Z.; Snaebjörnsson, M.; Marciano, R.; Scharov, K.; Planque, M.; Vriens, K.; Christen, S.; Funk, C. M.; Hassiepen, C.; Kahler, A.; Heider, B.; Picard, D.; Lim, J. K. M.; Stefanski, A.; Bendrin, K.; Vargas-Toscano, A.; Kahlert, U. D.; Stühler, K.; Remke, M.; Elkabets, M.; Grünwald, T. G. P.; Reichert, A. S.; Fendt, S.-M.; Schulze, A.; Reifemberger, G.; Rotblat, B.; Leprévier, G.; mTORC1 regulates cell survival under glucose starvation through 4EBP1/2-mediated translational reprogramming of fatty acid metabolism. *Nature Communications* **2024**, *15*, 4083. [Crossref] [PubMed]
- Zou, Z.; Tao, T.; Li, H.; Zhu, X.; mTOR signaling pathway and mTOR inhibitors in cancer: progress and challenges. *Cell & Bioscience* **2020**, *10*, 31. [Crossref] [PubMed]

4. Sakai, Y.; Kassai, H.; Nakayama, H.; Fukaya, M.; Maeda, T.; Nakao, K.; Hashimoto, K.; Sakagami, H.; Kano, M.; Aiba, A.; Hyperactivation of mTORC1 disrupts cellular homeostasis in cerebellar Purkinje cells. *Scientific Reports* **2019**, *9*, 2799. [Crossref] [PubMed]
5. Waldner, M.; Fantus, D.; Solari, M.; Thomson, A. W.; New perspectives on mTOR inhibitors (rapamycin, rapalogs and TORKinibs) in transplantation. *British Journal of Clinical Pharmacology* **2016**, *82*, 1158. [Crossref] [PubMed]
6. Ni, S.; Qu, H.; Liu, D.; Yuan, L.; Li, M.; Zhao, W.; Recent advances of the mechanistic target of rapamycin (mTOR) inhibitors for drug discovery. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2025**, *298*, 118046. [Crossref] [PubMed]
7. Zhang, Y.-J.; Duan, Y.; Zheng, X. F. S.; Targeting the mTOR kinase domain: the second generation of mTOR inhibitors. *Drug Discovery Today* **2011**, *16*, 325. [Crossref] [PubMed]
8. Batool, M.; Ahmad, B.; Choi, S.; A Structure-Based Drug Discovery Paradigm. *International Journal of Molecular Sciences* **2019**, *20*, 2783. [Crossref] [PubMed]
9. Sadybekov, A. V.; Katritch, V.; Computational approaches streamlining drug discovery. *Nature* **2023**, *616*, 673. [Crossref] [PubMed]
10. Huang, S.-Y.; Grinter, S. Z.; Zou, X.; Scoring functions and their evaluation methods for protein-ligand docking: recent advances and future directions. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2010**, *12*, 12899. [Crossref] [PubMed]
11. Gu, Y.; Zhang, X.; Xu, A.; Chen, W.; Liu, K.; Wu, L.; Mo, S.; Hu, Y.; Liu, M.; Luo, Q.; Protein-ligand binding affinity prediction with edge awareness and supervised attention. *iScience* **2023**, *26*, 105892. [Crossref] [PubMed]
12. Thomsen, R.; Christensen, M. H.; MolDock: A new technique for high-accuracy molecular docking. *Journal of Medicinal Chemistry* **2006**, *49*, 3315. [Crossref] [PubMed]
13. Zhang, B.; Zhang, Q.; Xiao, Z.; Sun, X.; Yang, Z.; Gu, Q.; Liu, Z.; Xie, T.; Jin, Q.; Zheng, P.; Xu, S.; Zhu, W.; Design, synthesis and biological evaluation of substituted 2-(thiophen-2-yl)-1,3,5-triazine derivatives as potential dual PI3K α /mTOR inhibitors. *Bioorganic Chemistry* **2020**, *95*, 103525. [Crossref] [PubMed]
14. Takeuchi, C. S.; Kim, B. G.; Blazey, C. M.; Ma, S.; Johnson, H. W. B.; Anand, N. K.; Arcalas, A.; Baik, T. G.; Buhr, C. A.; Cannoy, J.; Epshteyn, S.; Joshi, A.; Lara, K.; Lee, M. S.; Wang, L.; Leahy, J. W.; Nuss, J. M.; Aay, N.; Aoyama, R.; Foster, P.; Lee, J.; Lehoux, I.; Munagala, N.; Plonowski, A.; Rajan, S.; Woolfrey, J.; Yamaguchi, K.; Lamb, P.; Miller, N.; Discovery of a Novel Class of Highly Potent, Selective, ATP-Competitive, and Orally Bioavailable Inhibitors of the Mammalian Target of Rapamycin (mTOR). *Journal of Medicinal Chemistry* **2013**, *56*, 2218. [Crossref] [PubMed]
15. Tsou, H.-R.; MacEwan, G.; Birnberg, G.; Grosu, G.; Bursavich, M. G.; Bard, J.; Brooijmans, N.; Toral-Barza, L.; Hollander, I.; Mansour, T. S.; Ayral-Kaloustian, S.; Yu, K.; Discovery and optimization of 2-(4-substituted-pyrrolo[2,3-b]pyridin-3-yl)methylene-4-hydroxybenzofuran-3(2H)-ones as potent and selective ATP-competitive inhibitors of the mammalian target of rapamycin (mTOR). *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2010**, *20*, 2321. [Crossref] [PubMed]
16. Zask, A.; Verheijen, J. C.; Curran, K.; Kaplan, J.; Richard, D. J.; Nowak, P.; Malwitz, D. J.; Brooijmans, N.; Bard, J.; Svenson, K.; Lucas, J.; Toral-Barza, L.; Zhang, W.-G.; Hollander, I.; Gibbons, J. J.; Abraham, R. T.; Ayral-Kaloustian, S.; Mansour, T. S.; Yu, K.; ATP-Competitive Inhibitors of the Mammalian Target of Rapamycin: Design and Synthesis of Highly Potent and Selective Pyrazolopyrimidines. *Journal of Medicinal Chemistry* **2009**, *52*, 5013. [Crossref] [PubMed]
17. Zask, A.; Verheijen, J. C.; Richard, D. J.; Kaplan, J.; Curran, K.; Toral-Barza, L.; Lucas, J.; Hollander, I.; Yu, K.; Discovery of 2-ureidophenyltriazines bearing bridged morpholines as potent and selective ATP-competitive mTOR inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2010**, *20*, 2644. [Crossref] [PubMed]
18. Curran, K. J.; Verheijen, J. C.; Kaplan, J.; Richard, D. J.; Toral-Barza, L.; Hollander, I.; Lucas, J.; Ayral-Kaloustian, S.; Yu, K.; Zask, A.; Pyrazolopyrimidines as highly potent and selective, ATP-competitive inhibitors of the mammalian target of rapamycin (mTOR): Optimization of the 1-substituent. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2010**, *20*, 1440. [Crossref] [PubMed]
19. Venkatesan, A. M.; Dehnhardt, C. M.; Chen, Z.; Santos, E. D.; Dos Santos, O.; Bursavich, M.; Gilbert, A. M.; Ellingboe, J. W.; Ayral-Kaloustian, S.; Khafizova, G.; Brooijmans, N.; Mallon, R.; Hollander, I.; Feldberg, L.; Lucas, J.; Yu, K.; Gibbons, J.; Abraham, R.; Mansour, T. S.; Novel imidazolopyrimidines as dual PI3-Kinase/mTOR inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2010**, *20*, 653. [Crossref] [PubMed]
20. Yang, H.; Rudge, D. G.; Koos, J. D.; Vaidialingam, B.; Yang, H. J.; Pavletich, N. P.; mTOR kinase structure, mechanism and regulation. *Nature* **2013**, *497*, 217. [Crossref] [PubMed]
21. Gasteiger, J.; Marsili, M.; A new model for calculating atomic charges in molecules. *Tetrahedron Letters* **1978**, *19*, 3181. [Crossref]
22. Croitoru, A.; Park, S.-J.; Kumar, A.; Lee, J.; Im, W.; MacKerell Jr., A. D.; Aleksandrov, A.; Additive CHARMM36 Force Field for Nonstandard Amino Acids. *Journal of Chemical Theory and Computation* **2021**, *17*, 3554. [Crossref] [PubMed]
23. Vittorio, S.; Lunghini, F.; Morerio, P.; Gadioli, D.; Orlandini, S.; Silva, P.; Martinovic, J.; Pedretti, A.; Bonanni, D.; Del Bue, A.; Palermo, G.; Vistoli, G.; Beccari, A. R.; Addressing docking pose selection with structure-based deep learning: Recent advances, challenges and opportunities. *Computational and Structural Biotechnology Journal* **2024**, *23*, 2141. [Crossref] [PubMed]
24. Abraham, M. J.; Murtola, T.; Schulz, R.; Páll, S.; Smith, J. C.; Hess, B.; Lindahl, E.; GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *SoftwareX* **2015**, *1–2*, 19. [Crossref]

25. Vanommeslaeghe, K.; Hatcher, E.; Acharya, C.; Kundu, S.; Zhong, S.; Shim, J.; Darian, E.; Guvench, O.; Lopes, P.; Vorobyov, I.; Mackerell Jr., A. D.; CHARMM General Force Field (CGenFF): A force field for drug-like molecules compatible with the CHARMM all-atom additive biological force fields. *Journal of Computational Chemistry* **2010**, *31*, 671. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
26. Myung, Y.; de Sá, A. G. C.; Ascher, D. B.; Deep-PK: deep learning for small molecule pharmacokinetic and toxicity prediction. *Nucleic Acids Research* **2024**, *52*, W469. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
27. Daina, A.; Michielin, O.; Zoete, V.; SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports* **2017**, *7*, 42717. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
28. Hubbard, R. E.; Haider, M. K.; Hydrogen Bonds in Proteins: Role and Strength. *Encyclopedia of Life Sciences* **2010**, *1*, 1. [[Crossref](#)]
29. Zhang, J.-Q.; Zhang, N.; Ran, Y.; Yu, Q.-Y.; Lu, J.; Chen, R.; Zhang, S.; Dong, Y.; Wang, R.-H.; Yang, Y.; Li, Y.; Liao, W.; Wang, L.; Zhan, C.; Tang, L.; Computation-driven discovery of novel chromone derivatives for the treatment of triple-negative breast cancer via mTOR-targeted inhibition and triggering antitumor immunity. *Acta Pharmaceutica Sinica B* **2025**, *in press*. [[Crossref](#)]
30. Tam, J. Z.; Palumbo, T.; Miwa, J. M.; Chen, B. Y.; Analysis of Protein-Protein Interactions for Intermolecular Bond Prediction. *Molecules* **2022**, *27*, 6718. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]