



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS
FACULDADE DE FÍSICA

Interação de vírus Nipah com Nanomateriais



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS
FACULDADE DE FÍSICA

Interação de vírus Nipah com Nanomateriais

Aguinaldo Pantoja de Almeida

Orientador: Prof. Dr. Antonio Maia de Jesus Chaves Neto

Belém-Pará


2023

AGUINALDO PANTOJA DE ALMEIDA

“INTERAÇÃO DE VÍRUS NIPAH COM NANOMATERIAIS”

Monografia apresentada como requisito para obtenção do título de Bacharel em Física pela Faculdade de Física do Instituto de Ciências Exatas e Naturais da Universidade Federal Pará, submetida à apreciação da banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Orientador:


Prof. Dr. Antonio Maia de Jesus Chaves Neto
(FACFIS – ICEN - UFPA)

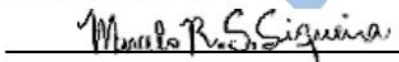
Examinador 1:


Prof. Dr. Ossalin de Almeida
(UFPA)

Examinador 2:


Prof. Dr. Abel Ferreira Gomes Neto
(IFPA)

Examinador 3:


Prof. Dr. Marcelo Ricardo Souza Siqueira
(UNIFAP)

Belém, 05 de julho de 2023.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS
FACULDADE DE FÍSICA**

**ATA DA APRESENTAÇÃO E DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE
CURSO – TCC**

Ata da sessão de apresentação e defesa de Trabalho de Conclusão de Curso para concessão de grau de Bacharel em Física, realizado às 09:00 h do dia 05 de julho de 2023, através da sala virtual do Google Meet (<https://meet.google.com/eow-prek-jkb>), cuja orientação teve início em março de 2020, sendo o trabalho intitulado: **“INTERAÇÃO DE VÍRUS NIPAH COM NANOMATERIAIS”**, contendo 40 páginas, que foi apresentado durante 29 minutos pelo discente **AGUINALDO PANTOJA DE ALMEIDA**, matrícula Nº **202108140002**, diante da banca examinadora aprovada pela Faculdade de Física do Instituto de Ciências Exatas e Naturais da Universidade Federal do Pará, assim constituída: **Prof. Dr. Antonio Maia de Jesus Chaves Neto (Orientador – FACFIS/UFGA)**, **Prof. Dr. Ossalin de Almeida (Examinador 1 – UFGA)**, **Prof. Dr. Abel Ferreira Gomes Neto (Examinador 2 – IFPA)** e **Prof. Dr. Marcelo Ricardo Souza Siqueira (Examinador 3 – UNIFAP)**. Em seguida, o mesmo foi submetido à arguição, tendo demonstrado conhecimentos no tema objeto da proposta de TCC, favorecendo à banca examinadora apresentar contribuições para melhorias no desenvolvimento e decidir pelo conceito **EXCELENTE**, bem como conceder o prazo máximo de 15 dias para serem efetuadas as modificações sugeridas pela banca, se for o caso. Para constar, foram lavrados os termos da presente Ata que lida e aprovada recebe a assinatura dos integrantes da banca examinadora e do DISCENTE.

ORIENTADOR: Antonio Maia de Jesus Chaves Neto

EXAMINADOR 1: Ossalin de Almeida

EXAMINADOR 2: Abel Ferreira Gomes Neto

EXAMINADOR 3: Marcelo R. S. Siqueira

DISCENTE: Aginaldo Pantoja de Almeida

Resumo

Foi pesquisado e verificado a análise da proteína externa do vírus Nipah com nanomaterial, catorze estruturas de potenciais de pontos quânticos por meio de docagem e dinâmica molecular, utilizando as plataformas CB Docking, Swiss DOCK e AutoDock Vina 4.2.6 para analisar os resultados e determinar qual é o mais pertinente. Além disso, as trajetórias dos ligantes em relação ao tempo foram calculadas usando Gromacs 2022. Verifica-se que os complexos eram altamente hidrofóbicos na região de ligação do receptor. A energia de descarga dos resultados seguiu as cargas parciais das pontas de melhor desempenho. Essa suposição foi confirmada pelos valores de RMSD. Para adsorver efetivamente os componentes proteicos do vírus, proteínas e pontos quânticos podem ser combinados. Serão valorizados estudos de docagem e dinâmica molecular, bem como a comprovação da energia de ligação.

Palavra-chave: Pontos quânticos; Nipah; Nanotecnologia; Dinâmica Molecular; Docagem Molecular.

*“A única sabedoria verdadeira é em
saber que você não sabe nada”*

Sócrates

*“Seja um livre pensador e não aceite
tudo o que ouve como verdade.”*

Aristóteles

Agradecimentos

Em primeiro lugar, agradeço a Deus que me deu apoio espiritual e emocional para continuar com a graduação nos tempos difíceis, e aos meus amigos da universidade com ajuda em projetos.

Sou grato a todas as pessoas que me ajudaram de qualquer forma nesta graduação.

Ao meu pai, Adinaldo Lopes Almeida que me ensinou matemática básica quando era criança e abriu essa porta, mostrou como ser um exemplo de ser humano que nunca desiste.

A minha mãe, Maria Pantoja que é batalhadora e todos os dias acorda cedo para trabalhar e me ensinou a escrever, embora meus pais não concluíssem o ensino fundamental me ensinaram a importância da educação e dos valores morais e éticos.

Aos meus professores de física do ensino médio que proporcionaram de forma excelente um aprendizado significativo em minha carreira acadêmica e profissional, me mostrando esse mundo mágico da sala de aula e a forma didática de ensino.

Agradeço também ao meu orientador, professor Dr. Antonio Maia de Jesus Chaves Neto por ter me ajudado neste projeto. Os seus empenhos foram indispensáveis para a minha motivação à medida que as dificuldades iam surgindo ao longo do percurso.

Ao grupo de Laboratório de Preparação de Nanomateriais (LPCN).

Lista de Figuras

Figura 1: Esquema estrutural do Niv.....	12
Figura 2: Domínio da Proteína G.	15
Figura 3: PQs utilizados neste estudo.....	17
Figura 4: Resultado da melhor interação com: a) PQ-A, b) PQ-B, c) PQ-C, d) PQ-D, e) PQ-E, f) PQ-G, g) PQ-G, h) PQ-H, i) PQ-I, j) PQ-J, k) PQ-K, l) PQ-L, m) PQ-M e n) PQ-N.....	29
Figura 5. Resultado do MEP: a) PQ-A, b) PQ-B, c) PQ-C, d) PQ-D, e) PQ-E, f) PQ-G, g) PQ-G, h) PQ-H, i) PQ-I, j) PQ-J, k) PQ-K, l) PQ-L, m) PQ-M e n) PQ.....	33
Figura 6. Resultados do RMSD versus tempo de ligantes com a protease G.....	35

Lista de abreviaturas e siglas

Å: Angstrom.

ADV: Software Autodock Vina.

B3LYP: Funcional de densidade híbrida.

DFT: Teoria do Funcional de Densidade.

Fs: Fentosegundos.

Gaussian: Pacote de software de química computacional.

GROMACS: GRONingen MACHine for Chemical Simulations.

K: Kelvin.

Niv: vírus Nipah.

NiV-G: glicoproteína G de ligação ao receptor.

MDoc: Docagem Molecular.

MDin: Dinâmica Molecular.

MM: Modelagem Molecular.

Ns: Nanosegundos.

PQs: Pontos Quânticos.

RMSD: Raiz do desvio quadrático médio.

T: Temperatura.

Sumário

Lista de Figuras	9
Sumário.....	11
1. Introdução	12
2. Referencial Teórico.....	15
2.1 Análise estrutural da Protease.....	15
2.1.1 Domínio da Proteína Envelope.....	15
2.2 Pontos quânticos (PQs)	16
2.3 Modelagem Molecular.....	18
2.3.1 MDoc.....	18
2.3.2 MDin clássica	18
3. METODOLOGIA.....	20
3.1. Receptor.....	20
3.2. Ligantes.....	20
3.3. Plataformas Utilizadas	20
3.3.1. Software AutoDock Vina	20
3.3.2. CB Docking	21
3.3.3. SwissDOCK.....	22
3.3.4. Dinâmica Molecular	23
3.3.4.1 Protocolo para simulações MDin	23
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
4.1. Energia de afinidade da MDoc	25
4.2. Resultado da energia de afinidade	26
4.4. Análise De Dinâmica Molecular	32
4.4.1. Mapa de Potencial e RMSD	32
5. CONCLUSÃO.....	36
6. BIBLIOGRAFIA	38

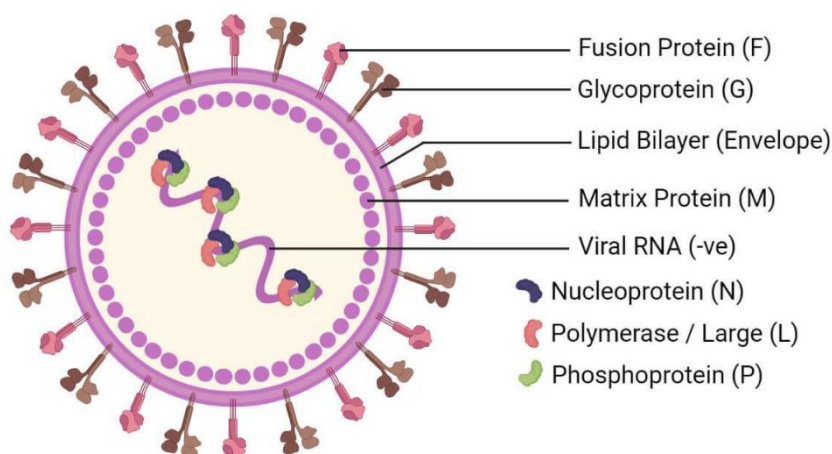
CAPÍTULO I

1. Introdução

O vírus Nipah (NiV), (Figura 1) é um membro da família *Paramyxoviridae* (Ordem Mononegavirales), gênero *Henipavirus*. O NiV também é conhecido por causar doenças em porcos e pessoas. A infecção por NiV está associada à encefalite (inchaço do cérebro) e pode causar doença leve a grave e até a morte. Surtos ocorrem quase anualmente em partes da Ásia, principalmente em Bangladesh e na Índia. (FIELD H. *et al.*, 2001).

O NiV foi descoberto pela primeira vez em 1999, após um surto da doença em porcos e pessoas na Malásia e em Singapura. Este surto resultou em quase 300 casos humanos e mais de 100 mortes, e causou um impacto econômico substancial, pois mais de 1 milhão de porcos foram mortos para ajudar a controlar o surto (FIELD H. *et al.*, 2001).

Figura 1. Estrutura do NiV.



Fonte: Loonibha Shrestha, 2022.

No primeiro surto conhecido de NiV, as pessoas provavelmente foram infectadas por contato próximo com porcos infectados. A cepa de NiV identificada naquele surto parecia ter sido transmitida inicialmente de morcegos para porcos, com subsequente disseminação dentro das populações de porcos. Então, as pessoas que trabalhavam de perto com porcos infectados começaram a adoecer. Nenhuma transmissão de pessoa para pessoa foi relatada nesse surto (CHONG *et al.*, 2003).

A disseminação de NiV de pessoa para pessoa é regularmente relatada em Bangladesh e na Índia. Isso é mais comumente visto nas famílias e cuidadores de

pacientes infectados por NiV e em ambientes de saúde. A transmissão também ocorre pela exposição a produtos alimentícios que foram contaminados por animais infectados, incluindo o consumo de seiva de tamareira crua ou frutas contaminadas com saliva ou urina de morcegos infectados. Alguns casos de infecção por NiV também foram relatados entre pessoas que sobem em árvores onde os morcegos costumam se empoleirar (GIANGASPERO, 2013).

O vírus NiV pode se espalhar para as pessoas de:

- Contato direto com animais infectados, como morcegos ou porcos, ou seus fluidos corporais (como sangue, urina ou saliva);
- Consumir produtos alimentícios que foram contaminados por fluidos corporais de animais infectados (como seiva de palma ou frutas contaminadas por um morcego infectado);
- Contato próximo com uma pessoa infectada com NiV ou seus fluidos corporais (incluindo gotículas nasais ou respiratórias, urina ou sangue).

O desenvolvimento de pesquisa envolvendo as ciências de materiais tem sido cruciais para a criação de tecnologia e medicamentos que podem combater o vírus e outras doenças. Os pesquisadores podem aprender mais sobre o vírus e como ele interage com possíveis candidatos terapêuticos por meio de simulações de computador, como docagem molecular (MDoc) e dinâmica molecular (MDin). Enquanto a MDin pode ser usada para explorar como os sinais interagem no nível atômico e como as características moleculares levam à atividade biológica, o MDoc, por exemplo, é usado para antecipar a taxa de transferência entre um ligante (como um medicamento) e um receptor (como uma proteína viral). (ESKANDARI *et al.*, 2018)

É particularmente útil misturar métodos *in silico* e experimentais enquanto se procura por inibidores do vírus NiV. Por outro lado, métodos experimentais permitem examinar a eficácia dessas substâncias na evolução real do vírus em culturas de células ou modelos animais, a combinação desses métodos pode ajudar a encontrar compostos interessantes para pesquisas futuras e a criação de tratamentos antivirais. (HAGGAG *et al.*, 2019).

Portanto, com base nesses estudos de materiais e simulações computacionais, os pontos quânticos de grafeno (PQs) (KOUWENHOVEN *et al.*, 2001). foram selecionados para a análise como potenciais inibidores de Niv. Isso se deve às propriedades únicas desses PQs, como baixa citotoxicidade , boa biocompatibilidade , grande região de superfície específica e solubilidade, o que os torna promissores para uso em sistemas de

sensores e bioimagem. (JACAK *et al.*, 2013).

Nesta situação, ouve uma necessidade de verificar a interação da estrutura computacional da glicoproteína G do NiV, que se encarrega de facilitar a conexão do vírus as células do hospedeiro. Uma análise dessa estrutura pode ajudar a encontrar possíveis pontos de conexão e, por sua vez, desenvolver inibidores eficazes do vírus. Essa forma que uni simulações computacionais e experimentais, pode levar a descobertas animadoras na luta contra o NiV. Além do software AutoDock Vina (SEELIGER *et al.*, 2010), foram realizados processos computacionais utilizando a técnica MDoc nos servidores SwissDock (BITENCOURT-FERREIRA *et al.*, 2019) e CB-Dock (LIU *et al.*, 2020). O servidor SwissDock faz uso do mecanismo EADock DSS, que foi criado para uso em aplicações de projetos de medicamentos. Com *links* rígidos e pequenos e menos de dez *links* rotativos flexíveis, este servidor tem uma boa taxa de sucesso. Ele interage com as proteínas-alvo e prevê a localização mais prática da estrutura cristalina dentro do grupo de 3 espaços, com 77% de concordância com experimentos experimentais. (ZOETE *et al.*, 2011)

O servidor CB-Dock, que usa ligação cega de ligantes a proteínas, foi usado para realizar o estudo MDoc. Este serviço emprega um detector de cavidades e um método de ajuste molecular baseado no AutoDock Vina para prever as áreas de ligação da proteína sob investigação. Usando o programa GROMACS 2022 (BAUER *et al.*, 2022) para análise Mdin, a criação da técnica MDin (HOLLINGSWORTH *et al.*, 2018) foi realizada neste ponto. Aplicando o modelo generalizado de solvatação implícita de Born (GB) (ONUFRIEV, 2008) e energia livre de Gibbs (G) (YEZDIMER *et al.*, 2002), essas análises podem demonstrar o conhecimento da raiz desvio quadrado médio das localizações atômicas (RMSD) (SARGSYAN *et al.*, 2017). O estudo do MDin é possível pela combinação de métodos computacionais, que fornecem resultados bem-sucedidos. É possível explorar o PQ com a estrutura NiV externa usando uma combinação de métodos computacionais e experimentais em um esforço para bloquear ou desativar o vírus.

CAPÍTULO II

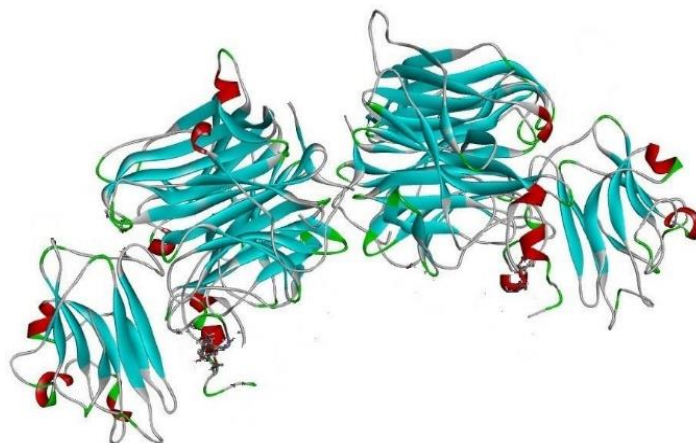
2. Referencial Teórico

São apresentadas as partes de fundamentação teórica que foram desenvolvidas durante a pesquisa e estão diretamente relacionadas ao assunto deste capítulo . O foco da pesquisa está na interação com a proteína da membrana do vírus NiV, que possibilita a ativação do vírus, para isso, foi realizada uma análise estrutural da proteína G obtida no Protein Data Bank (www.rcsb.org).

2.1 Análise estrutural da Protease

2.1.1 Domínio da Proteína Envelope

Figura 2. Domínio da Proteína G.



Fonte: Autor (2022).

O papel fundamental da glicoproteína (G) é reconhecer e se ligar a receptores celulares encontrados nas membranas das células hospedeiras, como Efrina-B2 e Efrina-B3, permitindo a entrada do vírus. Além disso, a Glicoproteína é responsável por auxiliar na Glicoproteína de Fusão (F), cujo mecanismo ainda é desconhecido e é desencadeado pela ligação ao seu receptor relacionado.

A glicoproteína G (Niv-G) presente no NiV, tem uma estrutura distinta, com uma cabeça globular C-terminal cabeça globular que se estende em um talo a partir da membrana viral estende-se em um talo da membrana viral, uma hélice com seis lâminas que circundam sua câmara central , semelhante à estrutura de outras glicoproteínas virais como a hemaglutinina-neuraminidase (HN). (LAMB, PARKS, 2007) A glicoproteína G é ramificada em quatro seções (BOSSART *et al.*, 2005) e trabalha com outras

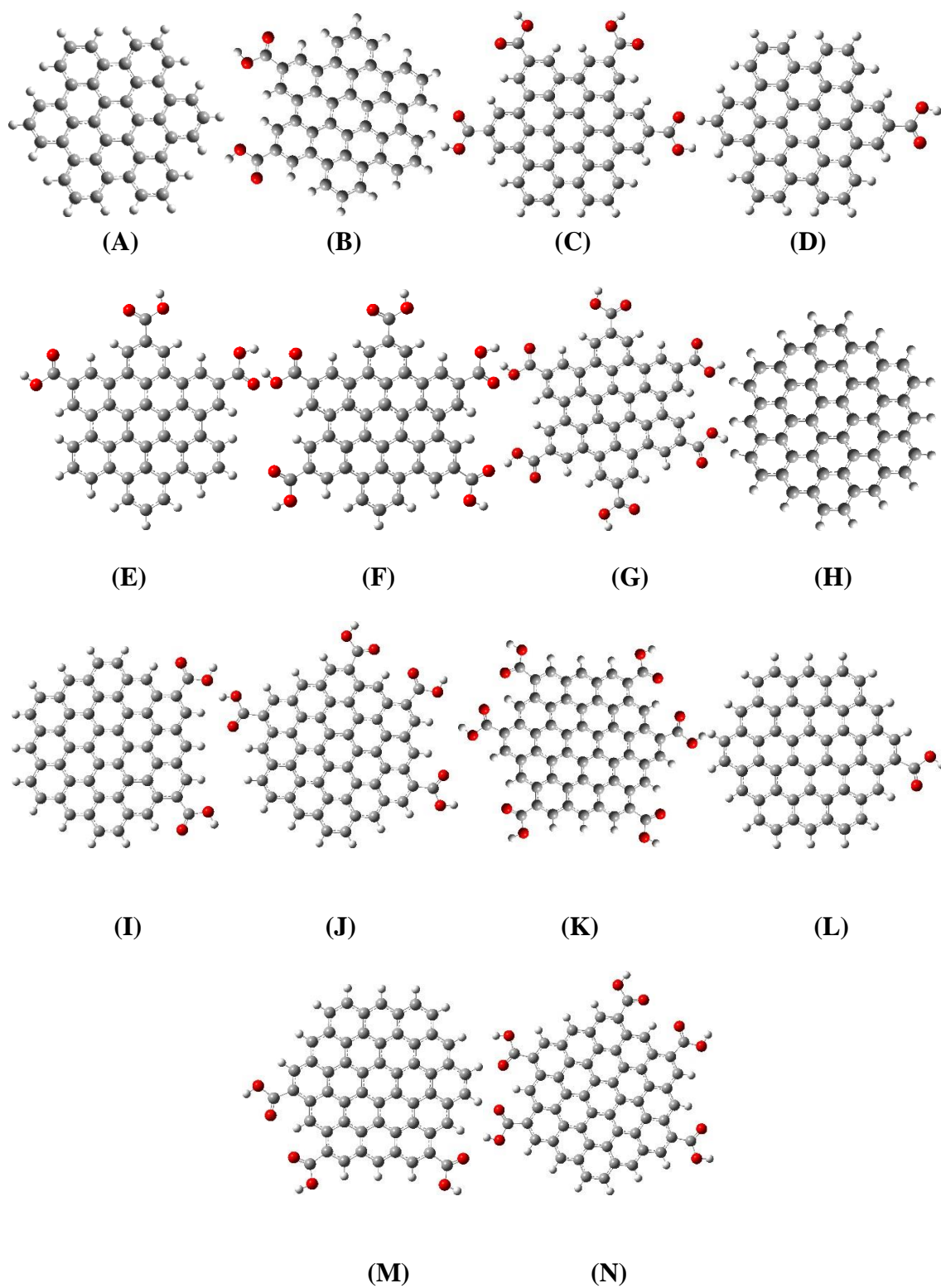
glicoproteínas para auxiliar na fusão da membrana viral. Segundo estudos, as interações entre o talo da G-Glicoproteína e seus parceiros F-Glicoproteína ocorrem dentro da membrana viral . (IORIO; MAHON, 2008)

2.2 Pontos quânticos (PQs)

Pontos quânticos (PQs) de grafeno são nanoestruturas semicondutoras com características distintas. Devido à sua notável sensibilidade e seletividade, o potencial desses materiais como sensores virais despertou o interesse de muitos pesquisadores. O grafeno é classificado como um composto a base de carbono formado por uma camada plana de átomos organizados em uma rede hexagonal. Possui várias características, incluindo grande condutividade elétrica e térmica, além de ser incrivelmente forte e leve. Os PQs variam de tamanho de alguns nanômetros a algumas dezenas de nanômetros e possuem propriedades elétricas que diferem do material original (JACAK *et al.*, 2013). As propriedades químicas dos PQs permitem que você personalize suas propriedades ópticas e elétricas. A adição de grupos COOH à superfície do grafeno carboxilado levou a modificações nas estruturas geométricas e elétricas dos PQs. Além disso, a fotoluminescência dos PQs pode ser adaptada com precisão pela mistura de funcionalidades químicas (JACAK *et al.*, 2013).

Possui a capacidade de identificar vírus com rapidez e precisão é uma das principais vantagens da utilização de PQs de grafeno como sensores de vírus, são extremamente sensíveis à presença de proteínas virais, permitindo a detecção em concentrações extremamente baixas. Os PQs de grafeno também têm alta seletividade, o que significa que podem discriminar entre diferentes tipos de vírus. Para fazer um sensor de vírus a partir de PQs de grafeno, primeiro funcionalize-os com um anticorpo ou outro tipo de molécula que se liga ao vírus em questão. Quando o vírus entra em contato com o sensor, ele se liga aos PQs, fazendo com que as propriedades elétricas do material mudem. Isso pode ser testado eletronicamente, permitindo que o vírus seja detectado (CHAKRABORTY, 1999).

Os PQs de grafeno são uma classe de material potencial para aplicações como sensores de vírus. Esses sensores têm o potencial de revolucionar o diagnóstico e monitoramento de doenças infecciosas devido a sua grande sensibilidade e seletividade, bem como sua excelente estabilidade (CHAKRABORTY, 1999).

Figura 3. PQs utilizados neste estudo.

Fonte: Autor (2022).

2.3 Modelagem Molecular

2.3.1 MDoc

MDoc é também conhecido como afinidade molecular, é um método computacional usado para prever a interação entre uma molécula pequena (referida como o ligante) e uma molécula grande (referida como o receptor). É frequentemente usado na descoberta de produtos farmacêuticos, porque identificar as partes que se ligam a alvos com altos níveis de protease é um grande desafio. Uma biblioteca de ligantes potenciais é então montada e os ligantes são então colocados no sítio ativo do receptor (VLACHAKIS, 2018).

A MDoc é frequentemente usado na pesquisa de desenvolvimento de medicamentos para encontrar compostos potenciais que podem se ligar e diminuir a função de uma proteína-alvo. O objetivo final é selecionar o ligante que possui o receptor mais alto e, portanto, é o mais provável de se ligar à proteína alvo. Por meio da química medicinal, essas moléculas podem ser aprimoradas para produzir possibilidades com maior afinidade e especificidade para o alvo (DASTMALCHI, 2016).

Embora a MDoc seja uma abordagem eficaz para encontrar novos medicamentos, ele apresenta algumas desvantagens. Por exemplo, a precisão do modelo de estrutura da proteína alvo e parâmetros como limitação do receptor e flexibilidade do ligante podem afetar as previsões de ingestão (DASTMALCHI, 2016). No entanto, os métodos de MDoc continuam sendo uma parte vital do processo de descoberta de medicamentos, ajudando a agilizar a identificação de candidatos e contabilizando o tempo e as despesas envolvidas na criação de novos medicamentos (VLACHAKIS, 2018).

2.3.2 MDin clássica

Um poderoso método de computador chamado de MDin clássica é usado para imitar como as moléculas se comportam no nível atômico. (SUTMANN, 2002). As trajetórias de Newton podem ser resolvidas quantitativamente em MDin para simular o movimento dos átomos em um sistema molecular e antecipar o curso de cada átomo ao longo do tempo. O MDin pode ser usado para investigar os mecanismos moleculares por trás de atividades biológicas significativas, como a ligação de drogas a proteínas-alvo e a dinâmica das membranas celulares, bem como para examinar sistemas moleculares complexos, como proteínas, gerar ácidos nucleicos e lipídios (UNGAR *et al* 1997).

A simulação do MDin é executada em um ambiente computacional onde fatores como temperatura, pressão, concentração de soluto, entre outros, podem ser controlados. Na simulação, uma estrutura molecular inicial é criada e os átomos recebem velocidades iniciais com base em uma distribuição de velocidade predeterminada. A mobilidade dos átomos é então simulada pelo MDin em cada intervalo de tempo, geralmente no tamanho de Fentosegundos (SUTMANN, 2002).

A MDin pode ser visualizada com grande detalhe, fornecendo detalhes sobre a estabilidade e a forma da molécula ao longo do tempo. O MDin também pode ser usado para pesquisar termodinâmica, dando aos usuários a oportunidade de observar, por exemplo, a energia livre de ligação de uma molécula no sítio ativo de uma proteína (SEIBERT *et al.*, 2005).

No entanto, um MDin tem limitações porque é computacionalmente exigente e precisa de muito poder computacional e de memória para modelar sistemas moleculares maiores e mais intrincados. Além disso, a seleção apropriada dos parâmetros de simulação, como o tamanho do intervalo de tempo, a escolha do potencial de força e o tipo de solução utilizada, afeta a precisão do MDin (DURRANT *et al.*, 2011).

O MDin é uma ferramenta útil para pesquisas em química, física e na biologia, apesar de suas limitações, pois permite o estudo da MDin em nível atômico e a simulação de sistemas moleculares complexos sob condições controladas. Essas capacidades têm o potencial de avançar muito na criação de novos tratamentos e tecnologias (SUTMANN, 2002).

CAPÍTULO III

O último capítulo discutiu algumas das questões que serão abordadas neste estudo sobre a utilização de MDoc e MDin. Neste capítulo, vários componentes dos métodos de estudo serão abordados com mais detalhes, apresentando os recursos computacionais utilizados, bem como a teoria que sustenta os procedimentos.

3.METODOLOGIA

3.1.Receptor

O modelo receptor + ligante foi usado como base para todo o processo de simulação, com a estrutura da glicoproteína G (PDB ID:3D12) (NiV-G) escolhida do repositório Protein Data Bank (PDB ; <http://www.rcsb.org/pdb/>) servindo como receptor e as quatorze moléculas PQ servindo como ligantes. A estrutura do receptor foi melhorada usando o servidor CHARMM-GUI (LEE *et al.*, 2016) para descobrir as condições ideais que satisfizessem os muitos alvos predefinidos ; no entanto, os procedimentos que envolvem experimentação ou cálculos de computador aumentam a complexidade. Nesse sentido, utilizamos o campo de força AMBERFF14SB (GUTERRES *et al.*, 2022) para obter a estrutura com a melhor conformação.

3.2.Ligantes

Os PQs foram escolhidos por sua estabilidade e foram criados com o programa GaussView 6.0 (DENNINGTON *et al.*, 2016). A abordagem DFT foi utilizada usando o funcional B3LYP/LANL2DZ (d, p) através do software Gaussian 09 (HISCOCKS *et al.*, 2009) para encontrar o confôrmero mais estável de cada ligante. Todas as estruturas otimizadas dos ligantes foram registadas no formato de arquivo pdb.

3.3.Plataformas Utilizadas

3.3.1.Software AutoDock Vina

Uma etapa crítica na criação de potenciais ligantes é a previsão da interação entre macromoléculas e pequenas moléculas. Para aumentar a velocidade e a precisão, o

software de encaixe amplamente utilizado AutoDock Vina (ADV), que foi introduzido pela primeira vez em 2009 (NGUYEN *et al.*, 2019), usa um otimizador de pesquisa global iterado localmente. O algoritmo genético é usado pelo ADV para isso, com os ligantes atuando como andaimes flexíveis e os receptores atuando como paredes duras. A mudança é medida como uma mudança na energia de afinidade (kcal/mol). No entanto, apenas a melhor pose para cada ligante (sistema de menor energia) é selecionada entre as 30 posturas criadas ao longo das macroestruturas dos quatorze ligantes examinados pelo algoritmo de ancoragem ADV, a fim de evitar resultados excessivamente repetitivos (BUTT *et al.*, 2020). Usando uma função de pontuação construída em torno do campo de força Amber, o ADV determina a energia de afinidade proteína-ligante (GUTERRES *et al.*, 2022). O ADV foi usado para formar uma caixa de grade com dimensões de 58 por 68 por 34, e as 20 posições com maior afinidade em valores de módulo de energia livre foram obtidas para cada PQ.

3.3.2. CB Docking

O CB-Dock é um programa de encaixe de ligantes de proteína que analisa as áreas de ligação automaticamente, determina o centro e o tamanho, personaliza o tamanho da caixa de encaixe com base nos ligantes de consulta e, em seguida, executa o MDoc com simulações em grande escala. O AutoDock Vina (NGUYEN *et al.*, 2019) demonstra que o acoplamento com foco na cavidade pode melhorar a taxa de acerto e a precisão do acoplamento cego. Assim, o CB-Dock pode acelerar e aumentar a precisão ao identificar os locais de ligação da proteína alvo com nossa técnica de detecção de cavidade baseada em curvatura (CurPocket) (LIU *et al.*, 2022) e poses de ligação com o AutoDock Vina.

O CB-Dock é uma versão aprimorada da ferramenta de encaixe cego de ligante de proteína que herda o processo de identificação de cavidade baseado em curvatura do servidor CB-Dock e o procedimento de encaixe molecular baseado em Vina AutoDock.

O fluxo de trabalho completo do CB-Dock foi feito onde acessamos o servidor Cadd.labshare.cn, pegamos as glicoproteínas G como receptor e os 14 PQ's como ligantes e realizamos uma busca com 50 poços após o desenvolvimento, sendo para a proteína e o ligante enviado por o usuário, o CB-Dock recuperará do banco de dados de complexos proteína-ligante armazenados em um servidor com modelos de topologia de alta similaridade ($FP2 \geq 0,4$) (LIU *et al.*, 2022) pela primeira vez. Se a proteína de consulta

estiver presente, a semelhança entre ela e as proteínas complexadas com os ligantes e o modelo selecionado é determinada.

3.3.3. SwissDOCK

A maioria dos aplicativos de encaixe requer muita potência do computador e são sistemas computacionais complicados que são sensíveis a parâmetros de aceitação e qualificação específica, tornando-os frustrantes para usuários não especializados.

Um servidor de encaixe baseado em rede chamado SwissDock cuida desses problemas específicos. É possível preparar automaticamente a estrutura do receptor e do ligante para encaixe, e a sintaxe sofisticada do mecanismo de encaixe é ocultada por trás de uma interface de rede direta que oferece muitos conjuntos alternativos de parâmetros apropriados, bem como arquivos de entrada de amostra. As atividades de encaixe são independentes dos recursos de computação do usuário porque todas as discussões são realizadas no servidor. A representação intuitiva de previsões de acoplamento no visualizador molecular UCSF Chimera (PETTERSEN *et al.*, 2004), que permite uma fácil interpretação dos resultados e sua integração em pipelines de pesquisa, facilita isso. A representação contínua de previsões de acoplamento no visualizador molecular UCSF Chimera (PETTERSEN *et al.*, 2004), que pode ser acessado imediatamente a partir do navegador, facilita a interpretação dos resultados e sua integração em pipelines de pesquisa.

O SwissDock é um servidor de suporte que utiliza o software EADock DSS para realizar testes precisos rapidamente (BITENCOURT-FERREIRA *et al.*, 2019). Para ajustar uma proteína, o algoritmo de ajuste SwissDock gera um grande número de acoplamentos (geralmente 5.000 a 15.000) em uma caixa definida pelo usuário (acoplamento local) ou nas cavidades alvo de toda a superfície da proteína (acoplamento cego). As energias CHARMM dos acoplamentos são calculadas em uma grade, e os mais acomodáticos são identificados, categorizados e agrupados considerando o impacto do solvente usando o modelo de solvatação implícito FACTS (BITENCOURT-FERREIRA *et al.*, 2019). O arquivo de resultado contém clusters que possuem a melhor integração. Proteínas-alvo e ligantes que foram entregues como arquivos no formato CHARMM são submetidos a testes de acoplamento usando SwissDock usando o campo de força

CHARMM22/27 (COELHO *et al.*, 2016). precisam testar rapidamente (BITENCOURT-FERREIRA *et al.*, 2019). O algoritmo de ajuste SwissDock gera um grande número de acoplamentos (geralmente 5.000 a 15.000) em uma área definida pelo usuário (acoplamento local) ou nas cavidades alvo de toda a superfície da proteína (acoplamento cego). Usando o modelo de solvatação implícito FACTS, as energias de acoplamento são calculadas usando CHARMM em uma grade, e os acoplamentos mais acomodativos são identificados, categorizados e agrupados, considerando o impacto do solvente. Um arquivo de resultado contendo os clusters mais integrados é criado. Para estudos de acoplamento em proteínas-alvo e ligantes que foram entregues como arquivos formatados CHARMM, SwissDock utiliza o campo de força CHARMM22/27 (COELHO *et al.*, 2016).

Uma grande comunidade científica pode usar uma ferramenta de encaixe gratuita, fácil de usar e de ponta, graças ao SwissDock, um servidor da web. Ele oferece funções que o tornam utilizável por uma ampla gama de usuários, como predefinições para vários parâmetros, construção automática de estruturas de proteínas e ligantes e previsão e análise convenientes de previsões de adaptação. SwissDock faz uso do mecanismo EADock DSS, que tem taxas de sucesso para ligantes pequenos e um tanto rígidos com menos de 10 links giratórios flexíveis e é particularmente adequado para o design de medicamentos (BITENCOURT-FERREIRA *et al.*, 2019).

3.3.4. Dinâmica Molecular

3.3.4.1 Protocolo para simulações MDin

O software GROMACS versão 2022 (BAUER *et al.*, 2022) foi usado para executar simulações de MDin de PQ acoplados a macromoléculas de superfície de proteínas em uma solução aquosa explícita utilizando o campo de força CHARMM36 (LEE *et al.*, 2016). Para isso, foram adicionados íons de sódio e cloro juntamente com sinalizadores de água com cargas de ponto único (SPC). As posições encontradas no Autodock que possuíram os maiores valores de energia de afinidade foram usadas. Para simulações MDin, que foram executadas na configuração NPT com número de partículas, pressão e temperatura constantes, as estruturas iniciais foram reduzidas e usadas.

Para reprimir o tamanho de ligação e o ângulo das moléculas de água, o algoritmo SETTLE (FERRARA *et al.*, 2014) foi utilizado, enquanto as interações

eletrostáticas de longo alcance foram estimadas pelo método Particle-Mesh-Ewald (PME). (PLIMPTON *et al.*, 1997). O sistema foi submetido a uma pressão constante de 1 bar, e íons e moléculas de água foram acoplados a um banho a 303 K. As simulações foram realizadas por um intervalo de tempo de 100 ns, com um balanceamento do sistema nos primeiros 10 ns. As trajetórias e estruturas simuladas foram analisadas com as ferramentas integradas do GROMACS, e as informações necessárias para gráficos de Raiz do Desvio Quadrado Médio (RMSD) e tabelas de energias livres em função do tempo foram extraídas usando o instrumento CPPTRAJ. (ROE *et al.*, 2018).

A energia livre da ligação complexa foi calculada usando scripts MM/PBGBSA, que foi usada em todas as tarefas essenciais automaticamente. Para permitir instantâneos das três espécies de uma única trajetória, assumiu-se que nenhuma mudança conformacional substancial ocorreu após a ligação. Essas simulações são cruciais para o desenvolvimento de novos compostos, uma vez que permitem a previsão a nível molecular da chamada interação. A energia livre da ligação complexa foi calculada usando scripts MM/PBGBSA (GENHEDEN *et al.*, 2015), que cuidam de todas as tarefas essenciais automaticamente. Estas simulações são cruciais para o desenvolvimento de novos compostos, uma vez que permitem a previsão a nível molecular da chamada interação.

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Energia de afinidade da MDoc

Com base nos cálculos, as regiões das macroestruturas com maior afinidade pelos ligantes foram investigadas durante as simulações do MDoc. Os resultados de energia de afinidade alcançados em cada plataforma para cada interação analisada, assim como os locais mais adequados descobertos através do processo MDoc, são apresentados na Tabela 1.. Foi descoberto que todos os ligantes tinham maior afinidade com o sítio ativo dos receptores, indicando que esta região tinha maior afinidade química.

O MDoc também nos permite avaliar o valor da flexibilidade de interação nas interações de ligantes e investigar o quão sofisticada ela é entre os ligantes descritos neste trabalho. Apenas as conformações proteína-ligando com as maiores pontuações de MDoc foram exibidas e investigadas. Os valores de energia do receptor obtidos pelos receptores com os ligantes na Tabela 1 representam os valores relativos de energia do receptor de ligação obtidos pela ferramenta de ajuste utilizada.

As simulações com PQ s revelaram que o PQ -K teve o maior valor no módulo de escala do DOC, superando os demais resultados. O valor da energia de redução para esta molécula foi -13,9 kcal/mol para AutoDock Vina, -12,4 kcal/mol para CB Docking e -8,63 kcal/mol para Swissdock. Essas figuras mostram que PQ-K apresentou uma estrutura mais estável, o que pode ser atribuído à presença de hidroxilas em sua estrutura. Como a energia de descarga foi muito maior em formações sem hidroxilas nas pontas, essas hidroxilas podem preferir estruturas intermoleculares mais fortes.

Comparar as energias de experimentação nas três plataformas é um método eficaz para obter um resultado mais preciso. É fundamental destacar que, embora diferentes técnicas e parâmetros possam ser empregados em diferentes plataformas de sintonia molecular, os resultados devem ser consistentes. Como resultado, é uma prática recomendada comparar dados de diferentes plataformas para garantir a validade dos resultados e a confiabilidade das pontuações de referência. Além disso, ao revisar os resultados do ajuste molecular, é prática comum usar a verificação do melhor ajuste, que é a menor energia de redução no módulo.

Tabela 1. Energias de afinidade calculadas com as diferentes plataformas.

Ligante	Energia de Afinidade (kcal/mol)		
	AutoDock Vina	CB Docking	Swiss DOCK
PQ-A	-11,8	-11,0	-6,78
PQ-H	-12,0	-11,0	-7,00
PQ-D	-12,2	-11,1	-7,09
PQ-L	-12,4	-11,3	-7,16
PQ-B	-12,8	-11,3	-7,21
PQ-I	-13,0	-11,8	-7,21
PQ-E	-13,2	-11,9	-7,28
PQ-M	-13,2	-11,9	-7,39
PQ-C	-13,3	-12,0	-7,50
PQ-J	-13,4	-12,0	-7,72
PQ-N	-13,4	-12,1	-7,75
PQ-F	-13,6	-12,1	-7,80
PQ-G	-13,6	-12,2	-7,84
PQ-K	-13,9	-12,4	-8,63

4.2.Resultado da energia de afinidade

Por seu maior valor no módulo de descarga de energia, as simulações com o AutoDock Vina foram consideradas as melhores das três plataformas utilizadas. E os ligantes se ligam aos sítios ativos da proteína por meio de ligações não covalentes, principalmente do tipo alquila, que produzem ligações hidrofóbicas, pode-se verificar a conformação que estava próxima do ligante de alta pontuação foi observada para interações ligante-proteína no Discovery Studio Visualizer 4.5 (VISUALIZER, 2017).

As pontes de hidrogênio são vitais na interação porque oferecem estabilidade estrutural e alteram as qualidades físico-químicas de uma molécula. O não ouve essas

ligações de hidrogênio nos PQ-A, PQ-D ou PQ-H, mas na figura 4k, o PQ-K tem um grande número de ligações de hidrogênio com NiV-G, o que pode explicar sua alta afinidade de ligação. Além disso, relaxantes do tipo -alquil são importantes porque incluem ligações hidrofóbicas e podem contribuir para a sensação de contato ligante-proteína. As hidrelétricas do tipo -Anion, por sua vez, são eletrostáticas e podem impactar as hidrelétricas a elas conectadas. Como resultado, é fundamental considerar diferentes tipos de tolerância ao analisar a interação de ligação entre ligantes e proteínas.

O PQ-A teve a menor energia de absorção entre os PQs empregados nesta investigação, indicando uma conexão mais fraca. Embora nenhuma ligação de hidrogênio tenha sido encontrada, ligações eletrostáticas foram detectadas, indicando uma provável interação com o sítio ativo do NiV-G, tornando-o um candidato intrigante para uma investigação comparativa. O PQ-H, por outro lado, produziu ligações comparáveis às do PQ-A, com exceção de tornar o tipo hidrofóbica mais confortável, devido ao momento dipolar de sua estrutura e resulta em uma conexão mais eficaz. PQ-H, como esperado, apresentou um caráter de transferência efetiva entre os inibidores empregados, mostrando a possibilidade de contato e influência de grupos retiradores de elétrons. Durante a investigação, outros aspectos também foram examinados.

O PQ-K exibiu a maioria das moléculas com hidrogênio com as hidroxilas dos aminoácidos GLY:505, LYS:560 e ARG:236, indicando forte. PQ-K também tinha um tipo alquil e pi-alquil com anéis aromáticos de aminoácidos como HSD127, bem como um resíduo eletrostático. As Figuras 4g, 4f, 4n e 4j revelam que as passagens na ancoragem molecular com NiV-G foram limitadas a aminoácidos. O PQ-J exibiu um total de seis sensações do tipo alquil, que surgem quando a nuvem de elétrons de um grupo aromático interage com um grupo de elétrons de um grupo alquil, resultando em ligações hidrofóbicas. A Figura 4f representa as interações com o NiV-G, que exibe ligações típicas de hidrogênio e carbono-hidrogênio, que são significativas na organização da molécula e nos acoplamentos de ligantes, como dobramento de proteínas e reconhecimento molecular.

Os ligantes PQ-N e PQ-J foram acoplados aos sítios ativos da macroestrutura por meio de contatos não covalentes fracos, sendo as mais proeminentes interações do tipo alquil que geraram ligações hidrofóbicas, porém poucas interações de hidrogênio foram encontradas. As interações de hidrogênio são críticas nos acoplamentos de moléculas e ligantes, como dobramento de proteínas e reconhecimento molecular. Um exame

minucioso das ligações de e hidrogênio revelou que essas interações têm um efeito na energia de afinidade e, portanto, são importantes para a pesquisa de acoplamento.

É fundamental determinar a energia de ligação e a compatibilidade dos inibidores com o sítio ativo da enzima para avaliar sua eficácia como potenciais agentes terapêuticos. De acordo com nossos dados (Tabela 1), PQ-K apresentou a maior energia de afinidade entre os inibidores testados, indicando um contato robusto com o sítio ativo da proteína. Esses dados podem ser usados para fins de comparação. O PQ-K contém propriedades hidrofóbicas, como um momento de dipolo, que permite que ele interaja efetivamente com o local de ligação.

A Figura 4c mostra que PQ-C exibiu interações restritas a aminoácidos no sítio catalítico, como interações do tipo -Alquil, -Anion e -Sigma. Essas interações envolvem a nuvem de elétrons de um grupo aromático e a nuvem de elétrons de um grupo alquila, resultando em ligações hidrofóbicas. Além disso, foram observadas conexões covalentes de carbono com PQ-M, PQ-E, PQ-I e NiV-G, demonstrando que o carbono compartilha seus elétrons de valência externos. Não foram descobertos contatos metálicos entre os ligantes, indicando a ausência de cargas neles.

Devido à estrutura e posição desses ligantes na simulação MDoc, as interações entre PQ-B e PQ-D com NiV-G foram limitadas. As interações ocorreram na região catalítica da proteína, porém foram limitadas em comparação com outros ligantes. A simulação ligante-proteína MDoc analisa a estrutura do ligante quando ele está ligado à proteína receptora, e a energia de ligação é calculada usando várias equações de campo de força. Quando o ligante interage com a proteína, os elétrons estão envolvidos na produção de interações covalentes ou não covalentes no nível atômico.

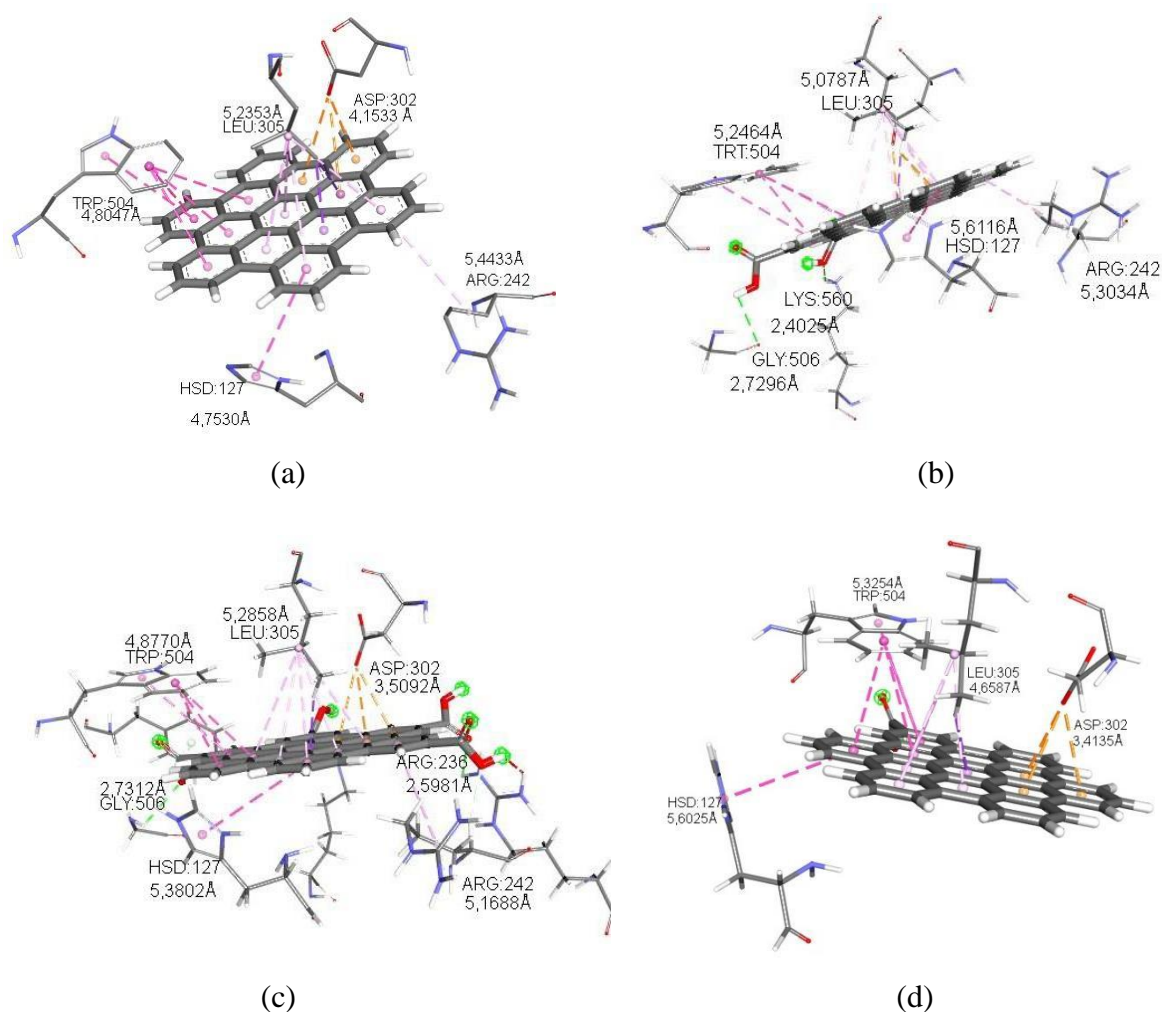
Isso indica que as interações de ligação π e de hidrogênio são importantes para a formação do complexo ligante-proteína e para a energia de afinidade em especial mostrado no PQ-K que conseguiu uma grande variedade de ligações. Além disso, o fato de o local catalítico ter sido respeitado é crucial, pois é lá que ocorre a reação química e, portanto, é essencial que o ligante se encaixe adequadamente para inibir a atividade da proteína. A alta capacidade de interação do NiV-G também é um resultado importante, pois sugere que este composto pode ser um candidato promissor para inibidores de proteínas.

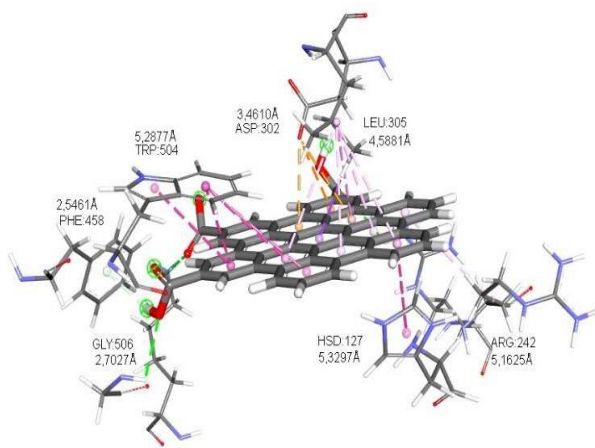
Além disso, várias interações de hidrogênio foram descobertas, principalmente com o ligante PQ-K, que tinha mais ligações de hidrogênio e maior energia de afinidade.

Essas interações de hidrogênio podem ser críticas para a estabilidade do complexo receptor-ligante. O exame extensivo das interações entre o receptor e o ligante é fundamental para entender a afinidade e seletividade do complexo gerado e pode levar ao desenvolvimento de novos inibidores mais eficientes.

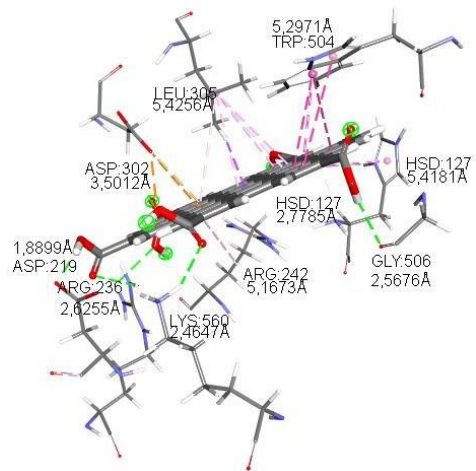
Isso fornece informações que há potencial de interação e possibilidades na direção de um projeto terapêutico. Outras questões foram investigadas além da pesquisa do impacto dos grupos de atração de elétrons. Dada a função crítica do NiV-G no processo de infecção do NiV, esse componente estrutural pode servir como alvo para neutralização por anticorpos ou pequenas moléculas, e a caracterização da estrutura permitiu aos pesquisadores reunir informações cruciais no nível atômico para informar o desenvolvimento de inibidores agentes.

Figura 4. Resultado da melhor interação com: a) PQ-A, b) PQ-B, c) PQ-C, d) PQ-D, e) PQ-E, f) PQ-G, g) PQ-G,h) PQ-H, i) PQ-I, j) PQ-J, k) PQ-K, l) PQ-L, m) PQ-M e n) PQ-N.

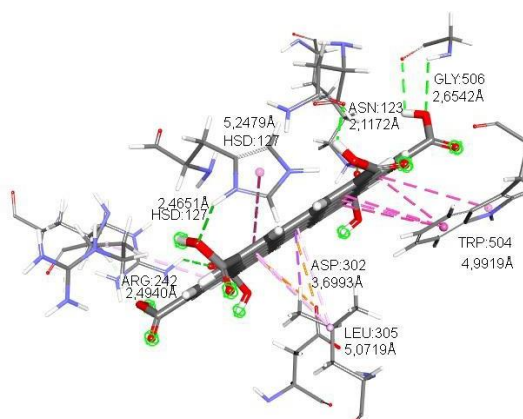




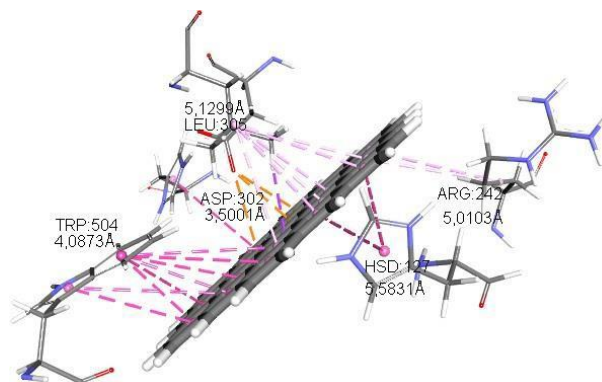
(e)



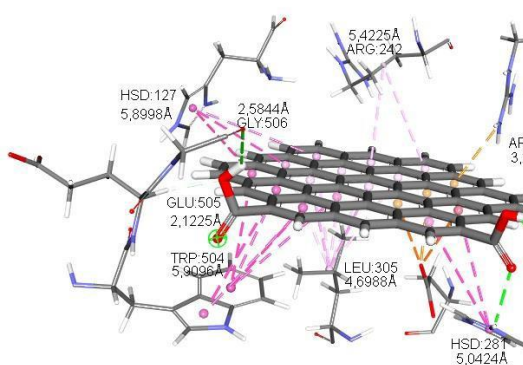
(f)



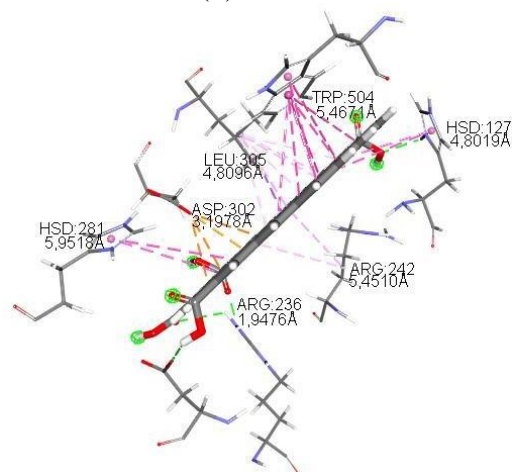
(g)



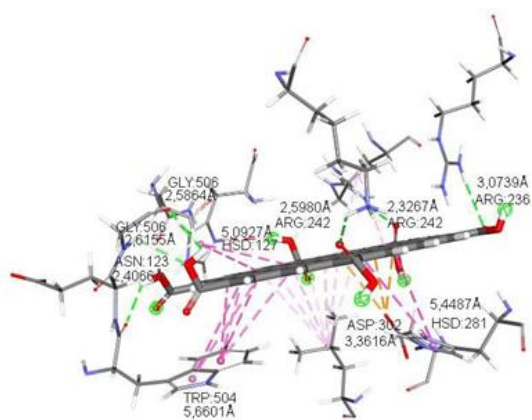
(h)



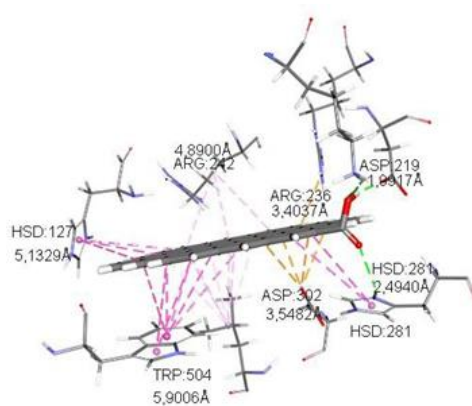
(i)



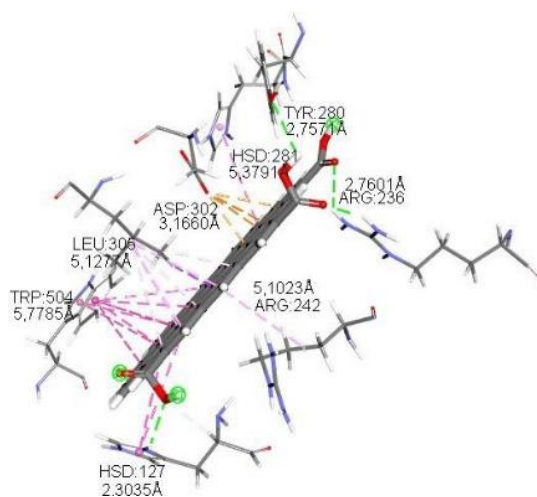
(j)



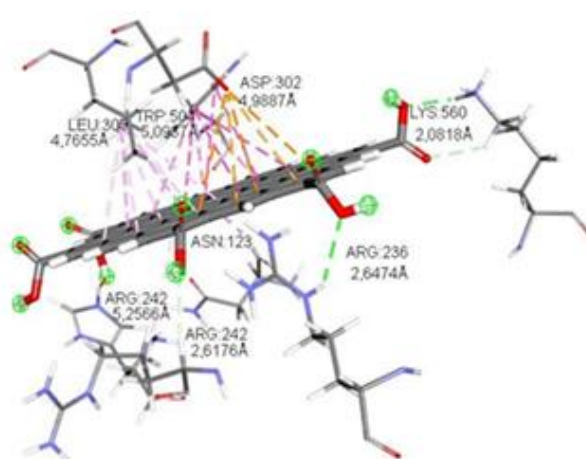
(k)



(l)



(m)



(n)

Fonte: Autor (2022).

4.4. Análise De Dinâmica Molecular

4.4.1. Mapa de Potencial e RMSD

O comportamento reativo de reações eletrofílicas e nucleofílicas foi analisado e previsto usando mapeamento de potencial eletrostático (MEP). Os estágios iniciais da conformação bioativa são muito influenciados pelo MEP, o que explica como o receptor e o ligante interagem. As cores são usadas para indicar valores de potencial eletrostático variados na superfície: áreas mais negativas são mostradas em vermelho, áreas mais positivas em azul e áreas moderadas em verde. Conforme visto na figura 5, os tons vermelho, verde e azul representam, respectivamente, concentrações significativas de carga negativa, regiões neutras e regiões com cargas positivas.

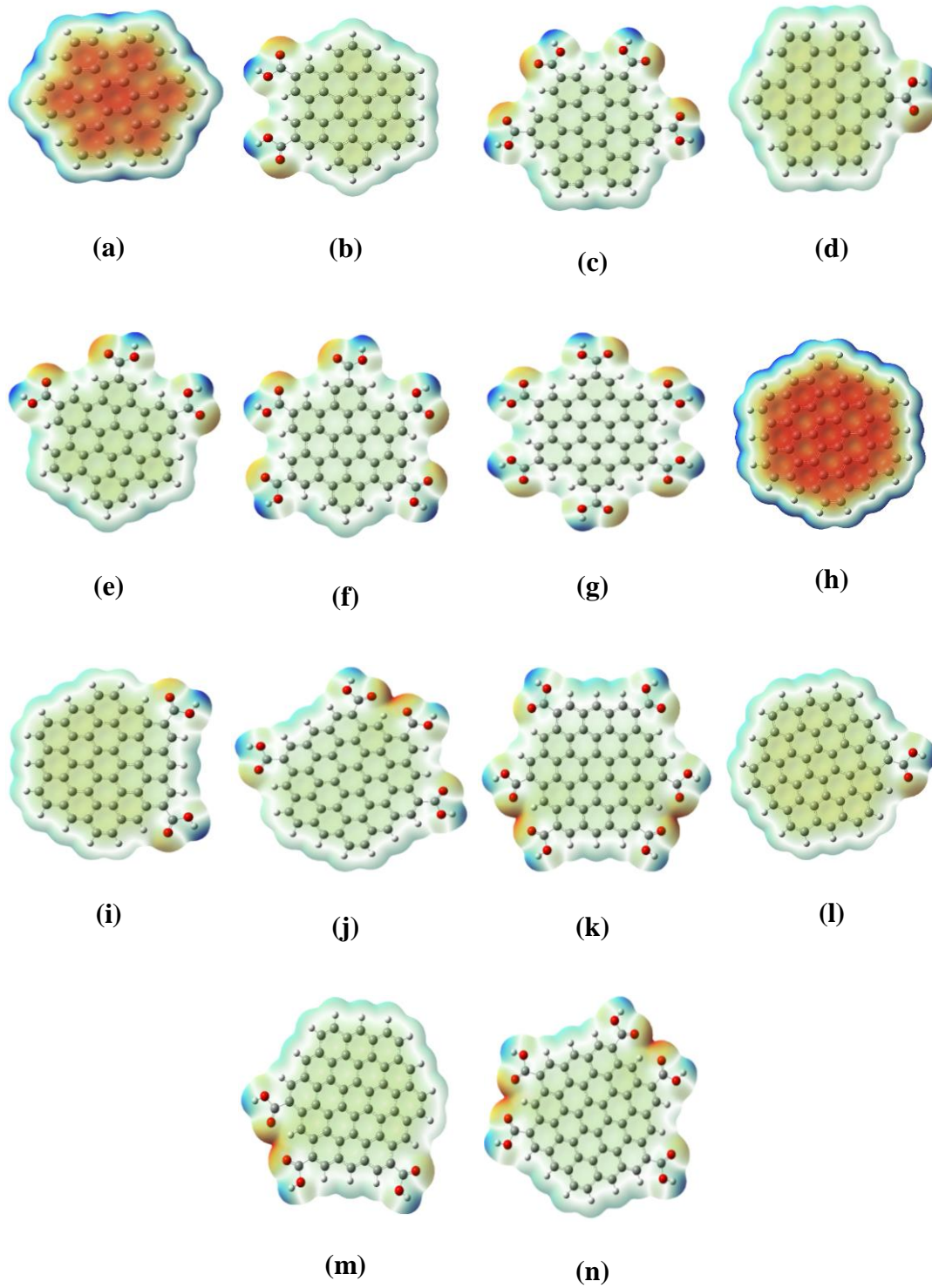
Para interagir com as macroestruturas, as porções carregadas negativamente de PQ-A e PQ-H, bem como os grupos circundantes, são cruciais. A concentração de cargas isoladas no núcleo desses ligantes pode ser vista nas figuras 5a e 5h. Portanto, a interação e, posteriormente, o efeito inibitório são significativamente influenciados pelos potenciais eletrostáticos dos inibidores. A região eletronegativa mais alta (tonalidade vermelha) ao redor do átomo de oxigênio era visível no traço MEP para esses PQs, sugerindo possíveis reações químicas ali.

Moléculas polares, como PQs, que incluem hidroxilas, têm poços ricos em elétrons em suas extremidades e pobres no meio. No entanto, as interações carga-dipolo, dipolo-dipolo e quadrupolo-dipolo podem ser frequentemente previstas usando mapas reais de potencial eletrostático de moléculas polares. A superfície do potencial eletrostático é frequentemente usada como um mapa de reatividade para mostrar as áreas onde os produtos químicos têm maior probabilidade de atacar eletrofilicamente locais carregados em compostos orgânicos.

O MEP do químico em questão foi determinado a partir de resultados otimizados utilizando a base B3LYP / 6-31G. Com áreas negativas parciais nas ligações duplas carbono-carbono dentro do anel, principalmente na região entre H, C e O e os metais, os PQs G e K apresentam quatro locais potenciais para ataques eletrofílicos. PQs D, E, F, J, L e M, por outro lado, exibem variações de superfície em eletronegatividade. Como indicado anteriormente, o potencial eletrostático tem sido amplamente utilizado em investigações de reconhecimento biológico e interações de pontes de hidrogênio, bem como para prever locais e reatividade relativa para ataques eletrofílicos.

Figura 5. Resultado do MEP: a) PQ-A, b) PQ-B, c) PQ-C, d) PQ-D, e) PQ-E, f) PQ-G, g) PQ-G, h) PQ-H, i) PQ-I, j) PQ-J, k) PQ-K, l) PQ-L, m) PQ-M e n) PQ-N.

$-9.450e^{-2}eV$  $9.450e^{-2}eV$



Fonte: Autor (2022).

A análise RMSD fornece informações sobre o equilíbrio de um conjunto ou o ponto no qual o conjunto converge para sua forma média mais estável. Os resultados da simulação de MDin podem variar significativamente no início, à medida que as estruturas lutam para alcançar a estabilidade, até que finalmente atingem um platô, indicando que o conjunto de estruturas encontrou o equilíbrio. Esses resultados são dados em função do tempo, permitindo calcular o tempo necessário para que as construções atinjam a estabilidade.

A diferença entre os átomos da estrutura principal inicial produzida a partir da etapa MDoc e cada uma das estruturas obtidas ao longo dos quadros restantes da trajetória de simulação foi medida durante esse trecho. O objetivo foi validar e estabelecer a estabilidade dos complexos proteína-ligante apresentados. Para isso, uma simulação MDin de 100 ns dos quatorze PQs com cada estrutura Niv G foi executada.

O RMSD do PQ foi calculado (Figura 6). O valor de RMSD pode ser usado para prever e informar a estabilidade do complexo ligante de corrida MDin. Um valor de RMSD mais baixo sugere que o complexo proteico é mais estável. O RMSD dos complexos relativos ao átomo C em relação à duração da simulação MDin foi calculado. O RMSD médio para todos os complexos foi globalmente modesto, variando de 0,5 a 3,45. Como resultado, as estimativas da análise RMSD da trajetória de estruturas complexas foram comparadas com base em suas diferenças estruturais.

Os valores de RMSD flutuaram muito durante a trajetória para o PQ-I, PQ-B, PQ-D e PQ-M, principalmente para o PQ-B, pois uma de suas extremidades contém hidroxilas que ao se oporem à glicoproteína há uma interação e acaba ficando mais próximo como aconteceu nos horários de 80 a 100 ns.

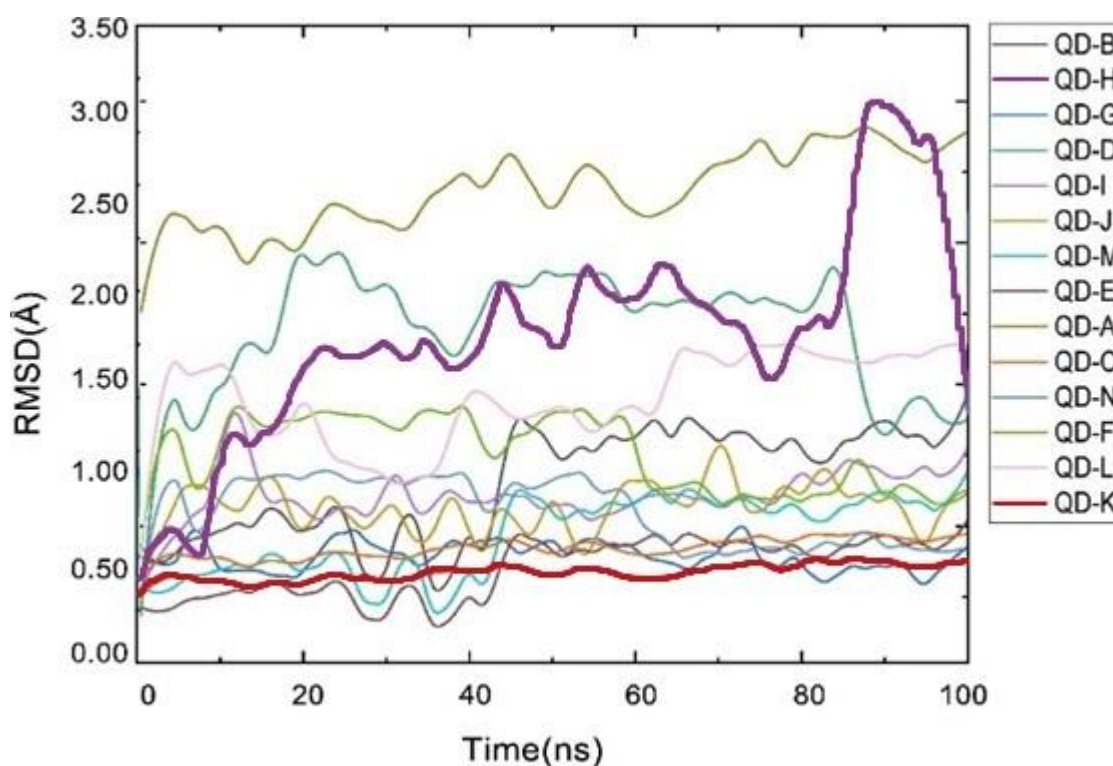
As discrepâncias entre os átomos da estrutura inicial e as estruturas obtidas ao longo da trilha de simulação foram medidas durante a simulação. Uma simulação de MDin com duração de 100 ns foi realizada para cada um dos quatorze PQs de grafeno com a estrutura da glicoproteína do NiV para validar e confirmar a estabilidade dos complexos proteína-ligante sugeridos.

As simulações com as estruturas PQ-A, PQ-E, PQ-L, PQ-G e PQ-F revelaram maior instabilidade no início da simulação, em 70 ns, mas mantiveram a estabilidade ao longo da simulação. da simulação, com valores de RMSD mais estáveis do que o primeiro grupo citado. O PQ-C, PQ-H, PQ-J, PQ-K e PQ-N, por outro lado, foram os mais estáveis ao longo da simulação, com o PQ-K mostrando quase nenhuma mudança na trajetória.

O RMSD não apresentou flutuação quando comparado ao segundo e terceiro

grupos. Na Figura 6, é fácil ver que as moléculas com mais hidroxilas eram mais estáveis, o que implica que as interações intermoleculares desempenham um papel importante na atividade de PQ. Este resultado suporta as soluções de simulação de MDoc discutidas anteriormente, porque a presença de hidroxilas e variações estruturais nos PQs resultam em maiores contatos com Niv.

Figura 6. Resultados do RMSD versus tempo de ligantes com a protease G.



Fonte: Autor (2022).

No entanto, um estudo mais detalhado da flexibilidade do esqueleto da proteína foi possibilitado pelo aumento da amplitude de movimento causado pela diminuição da flexibilidade na região do sítio ativo de ligação do Niv, o que revelou a influência das interações das glicoproteínas nos ligantes. As descobertas também sugerem que o campo de força OPLS-AA e o campo de força CHARMM36 (sob o modelo de água tip3p) caracterizam com precisão a estrutura dos complexos Ligante + Receptor.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSÃO

Foram usadas técnicas de encaixe e MDin para investigar as conexões entre as estruturas dos PQs e a estrutura exterior do NiV neste trabalho. Aspectos relevantes foram encontrados, como ligações estreitas e propriedades atrativas das moléculas, que permitiram o estabelecimento de ligações com estruturas macromoleculares enquanto explicavam as variações atômicas na eletronegatividade.

A colocação dos ligantes no sítio ativo permitiu que eles se ligassem a vários aminoácidos encontrados na área da proteína viral. É fundamental enfatizar que a intensidade das interações está relacionada às energias de ligação. Como resultado, as posições com as maiores energias de ligação ao longo da investigação são as mais prováveis de ocorrer no ambiente biológico.

Uma estratégia computacional integrada foi empregada neste estudo para procurar possíveis inibidores da estrutura central do NiV. Os testes MDoc produziram uma série de posições diferentes de ligações, e as posições com as melhores pontuações MDoc e interações benéficas com PQs com melhor distribuição de carga em suas superfícies de ligação foram selecionadas para investigação. Os PQs exibiram comportamento lipofílico em geral, mas também exibiram propriedades hidrofóbicas, conforme demonstrado por suas interações no processo MDoc. A estrutura PQ-K interagiu mais com NiV-G, que foi suportada por sua maior capacidade de acoplamento devido à carga parcial nas pontas, permitindo interações mais favoráveis.

Analisou-se que todos os ligantes têm forte interação com os principais sítios ativos, nomeadamente ASP:302, LEU:305, TRT:504, LYS:560, GLY:506, HSD:127 e ARG:242.

Os resultados da análise de ajuste indicam que os novos ligantes têm uma alta afinidade com o NiV, com métricas como RMSD e contato com os principais resíduos catalíticos confirmando a estabilidade do complexo. O estudo de simulação MDin acrescenta aos dados de ancoragem e é suportado pela energia livre de ligação calculada por MM/PBSA, que é bastante negativa.

Durante a análise de trajetória, houve uma flutuação substancial nos dados RMSD para PQ-I, PQ-B, PQ-D e PQ-M ao longo da simulação, particularmente para PQ-B. Isso se deve à presença de hidroxilas em uma de suas extremidades, que interagem com a

glicoproteína em determinados pontos da simulação (entre 80 e 100 Ns), fazendo com que as partículas se aproximem. A simulação com PQs A, E, L, G e F, por outro lado, apresentou instabilidade no início (cerca de 70 Ns), mas manteve uma estabilidade mais consistente ao longo da trajetória, com valores de RMSD mais estáveis do que o grupo anterior.

A combinação de simulações MDoc e MDin com simulações de energia livre é um método eficiente e confiável para estudar as interações molécula-proteína. A quebra da energia livre em contribuições de interações microscópicas permite um exame mais aprofundado das interações em ação no processo de ligação. Além disso, as descobertas podem ser valiosas no desenvolvimento de novos ligantes com alta afinidade e especificidade para a proteína alvo. Alterações estruturais no sítio de ligação causadas por interações entre a proteína e o ligante podem ser utilizadas para melhorar a eficácia do novo design químico.

6. BIBLIOGRAFIA

- BAUER P.; HESS B.; LINDAHL E. **GROMACS 2022.4 Manual (2022.4)**. Zenodo. 2022.
- BITENCOURT-FERREIRA, G.; DE AZEVEDO, W.F. **Docking with SwissDock**. Docking screens for drug discovery, p. 189-202, 2019.
- BOSSART, K.N. et al. **Receptor binding, fusion inhibition, and induction of cross-reactive neutralizing antibodies by a soluble G glycoprotein of Hendra virus**. Journal of virology, v. 79, n. 11, p. 6690-6702, 2005.
- BUTT, S.S. et al. **Molecular docking using chimera and autodock vina software for nonbioinformaticians**. JMIR Bioinformatics and Biotechnology, v. 1, n. 1, p. e14232, 2020.
- COELHO, E.D.; ARRAIS, J.P.; OLIVEIRA, J.L. **Computational discovery of putative leads for drug repositioning through drug-target interaction prediction**. PLoS computational biology, v. 12, n. 11, p. e1005219, 2016.
- CHAKRABORTY, T. **Quantum Dots: A survey of the properties of artificial atoms**. 1999.
- CHONG, H.T. et al. **The risk of human Nipah virus infection directly from bats (*Pteropus hypomelanus*) is low**. Neurol J Southeast Asia, v. 8, p. 31-4, 2003.
- DASTMALCHI, Si. (Ed.). **Methods and algorithms for molecular docking-based drug design and discovery**. IGI Global, 2016.
- DENNINGTON, R. D. I. I.; KEITH, Todd A.; MILLAM, John M. **GaussView**, version 6.0. 16. Semichem Inc Shawnee Mission KS, 2016.
- DURRANT, J.D.; MCCAMMON, J.A. **Molecular dynamics simulations and drug discovery**. BMC biology, v. 9, n. 1, p. 1-9, 2011.
- ESKANDARI, N. et al. **Biophysical, docking, and cellular studies on the effects of cerium oxide nanoparticles on blood components: in vitro**. International journal of nanomedicine, p. 4575-4589, 2018.
- FERRARA, C.G. **Efectos de la urea sobre agregados hidrofobicos**. Journal de Ciencia e Ingenieria, v. 6, n. 1, p. 21-25, 2014.
- FIELD, H. et al. **The natural history of Hendra and Nipah viruses**. Microbes and infection, v. 3, n. 4, p. 307-314, 2001.
- GENHEDEN, S.; RYDE, U. **The MM/PBSA and MM/GBSA methods to estimate ligand-binding affinities**. Expert opinion on drug discovery, v. 10, n. 5, p. 449-461, 2015.
- GIANGASPERO, M. **Nipah virus**. Trop Med Surg, v. 1, n. 129, p. 2, 2013.

HAGGAG, E.G. *et al.* **Antiviral potential of green synthesized silver nanoparticles of *Lampranthus coccineus* and *Malephora lutea*.** International journal of nanomedicine, p. 6217-6229, 2019.

HISCOCKS, Joanne; FRISCH, Michael J. **Gaussian 09: IOps Reference.** Gaussian, 2009.

IORIO, R.M.; MAHON, P.J. **Paramyxoviruses: different receptors—diferente mechanisms of fusion.** Trends in microbiology, v. 16, n. 4, p. 135-137, 2008.

JACAK, L.; HAWRYLAK, P.; WOJS, A. **Quantum dots.** Springer Science & Business Media, 2013.

KOUWENHOVEN, Leo P.; AUSTING, D. G.; TARUCHA, S. **Few-electron quantum dots.** Reports on Progress in Physics, v. 64, n. 6, p. 701, 2001.

LAMB, R. A.; PARKS, G. D. **Paramyxoviridae: the viruses and their replication.** Fields virology, 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, p 1449–1496, PA, 2007.

LEE, J. *et al.* **CHARMM-GUI input generator for NAMD, GROMACS, AMBER, OpenMM, and CHARMM/OpenMM simulations using the CHARMM36 additive force field.** Journal of chemical theory and computation, v. 12, n. 1, p. 405-413, 2016.

LIU, Y. *et al.* **CB-Dock: A web server for cavity detection-guided protein–ligand blind docking.** Acta Pharmacologica Sinica, v. 41, n. 1, p. 138-144, 2020.

LIU, Y. *et al.* **CB-Dock2: Improved protein–ligand blind docking by integrating cavity detection, docking and homologous template fitting.** Nucleic Acids Research, v. 50, n. W1, p. W159-W164, 2022.

SHRESTHA, L. **Nipah Virus (NiV)- An Overview.** Disponível em: <<https://microbenotes.com/nipah-virus-niv/>>. Acesso em: jun. 7DC.

NGUYEN, N.T. *et al.* **Autodock vina adopts more accurate binding poses but autodock4 forms better binding affinity.** Journal of Chemical Information and Modeling, v. 60, n. 1, p. 204-211, 2019.

ONUFRIEV, A. **Implicit solvent models in molecular dynamics simulations: A brief overview.** Annual Reports in Computational Chemistry, v. 4, p. 125-137, 2008.

PETTERSEN, E.F. *et al.* **UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis.** Journal of computational chemistry, v. 25, n. 13, p. 1605-1612, 2004.

PLIMPTON, S.; POLLOCK, R.; STEVENS, M. **Particle-Mesh Ewald and rRESPA for Parallel Molecular Dynamics Simulations.** In: PPSC. 1997.

ROE, D.R.; CHEATHAM III, T.E. **Parallelization of CPPTRAJ enables large scale analysis of molecular dynamics trajectory data.** 2018.

SARGSYAN, K.; GRAUFFEL, C.; LIM, C. **How molecular size impacts RMSD applications in molecular dynamics simulations.** Journal of chemical theory and computation, v. 13, n. 4, p. 1518-1524, 2017.

SEELIGER, D.; DE GROOT, B.L. **Ligand docking and binding site analysis with PyMOL and Autodock/Vina.** Journal of computer-aided molecular design, v. 24, n. 5, p. 417-422, 2010.

SEIBERT, M.M. *et al.* **Reproducible polypeptide folding and structure prediction using molecular dynamics simulations.** Journal of molecular biology, v. 354, n. 1, p. 173-183, 2005.

SUTMANN, G. **Classical molecular dynamics.** Quantum simulations of complex many-body systems: from theory to algorithms, v. 10, p. 211-254, 2002.

UNGAR, L.W.; SCHERER, N.F.; VOTH, G.A. **Classical molecular dynamics simulation of the photoinduced electron transfer dynamics of plastocyanin.** Biophysical journal, v. 72, n. 1, p. 5-17, 1997.

VISUALIZER, **Accelrys Discovery Studio.** Version 4.5. Softw. Vis. Anal. Protein Struct, 2017.

VLACHAKIS, D. (Ed.). **Molecular Docking.** BoD–Books on Demand, 2018.

YEZDIMER, E.M.; CUMMINGS, P.T.; CHIALVO, A.A. **Determination of the Gibbs free energy of gas replacement in SI clathrate hydrates by molecular simulation.** The Journal of Physical Chemistry A, v. 106, n. 34, p. 7982-7987, 2002.

ZOETE, V. *et al.* **SwissParam: a fast force field generation tool for small organic molecules.** Journal of computational chemistry, v. 32, n. 11, p. 2359-2368, 2011.