



Programa de Pós-Graduação em Engenharia
de Recursos Naturais da Amazônia

**INTERAÇÕES COM NANOTUBOS DE CARBONO E PONTOS QUÂNTICOS
DE ÓXIDO DE GRAFENO COM ESTRUTURAS EXTERNAS DO SARS-CoV-2
VIA SIMULAÇÕES DE DINÂMICA E DOCAGEM MOLECULAR**

Júlio César Mendes Lobato

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Naturais da Amazônia, PRODERNA/ITEC, da Universidade Federal do Pará, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Doutor em Engenharia de Recursos Naturais.

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

Coorientador: Prof. Dr. Mozaniel Santana de Oliveira

Belém- PA

Junho/2023

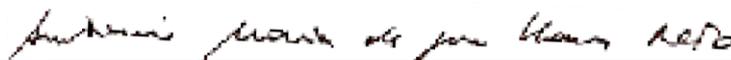


“INTERAÇÕES COM NANOTUBOS DE CARBONO E PONTOS QUÂNTICOS DE ÓXIDO DE GRAFENO COM ESTRUTURAS EXTERNAS DO SARS-CoV-2 VIA SIMULAÇÕES DE DINÂMICA E DOCAGEM MOLECULAR”

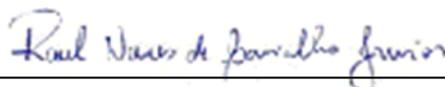
Júlio Cesar Mendes Lobato

TESE SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE RECURSOS NATURAIS DA AMAZÔNIA - PRODERNA/ITEC/UFPA COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM ENGENHARIA DE RECURSOS NATURAIS.

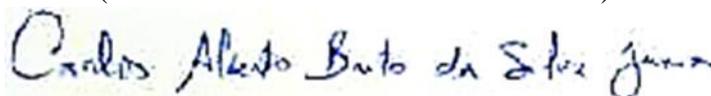
Aprovada por:



Prof. Dr. Antonio Maia de Jesus Chaves Neto
(Orientador – PRODERNA/UFPA)



Prof. Dr. Raul Nunes de Carvalho Junior
(Membro Interno PRODERNA/UFPA)



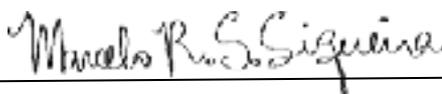
Prof. Dr. Carlos Alberto Brito da Silva Junior
(Membro Externo ao Programa – UFPA)



Prof. Dr. Mozaniel Santana de Oliveira
(Membro Externo à Instituição – MPEG)



Prof. Dr. Fabio Luiz Paranhos Costa
(Membro Externo à Instituição – UFG)



Prof. Dr. Marcelo Ricardo Souza Siqueira
(Membro Externo à Instituição – UNIFAP)

Belém, PA – Brasil
Junho de 2023

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Biblioteca do Instituto de Tecnologia / UFPA – Belém-PA**

L796i

Lobato, Júlio César Mendes

Interações de nanotubos de carbono e pontos quânticos de óxido de grafeno com estruturas externas do SARS-CoV-2 via dinâmica e docagem molecular /Júlio César Mendes Lobato. — 2023.

Orientador: Antonio Maia de Jesus Chaves Neto;
Coorientador: Mozaniel Santana de Oliveira

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Pará, Instituto de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Naturais na Amazônia, Belém, 2023.

1. Nanotubos 2. Nanotecnologia 3. Carbono 4. Dinâmica molecular 5. COVID-19 (Doença) I. Título.

CDD 23. ed. – 620.5

Elaborado por Maria Ivone Maia da Costa – CRB-2/768

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, que sem ele nada seria possível, a minha mãe, minha esposa e aos meus irmãos que nos momentos mais difíceis de minha vida sempre estiveram ao meu lado dando orientação e apoio. A todos os meus amigos do Laboratório de Preparação e Computação de Nanomateriais (LPCN) que me ajudaram contribuindo na elaboração deste trabalho. E em especial ao meu velho pai que de acordo com a vontade de Deus não está mais ao meu lado para compartilhar essa conquista.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado oportunidade, inteligência e sabedoria para sair vitorioso desse desafio.

Aos professores Antonio Maia, Professor Mozaniel Santana e ao amigo Sr. Tiago Arouche pela contribuição que me deram para o desenvolvimento do trabalho e pela motivação nos momentos difíceis de sua elaboração.

A estrutura do Laboratório de Preparação e Computação de Nanomateriais (LPCN).

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Naturais da Amazônia dos quais tive oportunidade de ser aluno, em especial ao professor Antonio Maia e Mozaniel Santana, enfim todos foram muito importantes. Também, agradeço ao Coordenador professor Eduardo Magalhães Braga e a secretária Sra. Syglea Rejane dos Santos Vieira.

A meus colegas do LPCN, principalmente o Tiago da Silva Arouche, todos de suma importância no decorrer do estudo desenvolvido, que se eu não citar pelo menos alguns com certeza serei injusto. Não poderia deixar de me lembrar do Arthur Reis e o Anderson Yuri, colegas pra lá de gente boa, que sempre compartilharam as emoções e as atividades no LPCN, juntos comigo.

“É um paradoxo a terra se mover ao redor do Sol e a água, ser constituída por dois gases altamente inflamáveis. A verdade científica é sempre um paradoxo, se julgada pela experiência cotidiana que se agarra à aparência efêmera das coisas”.

Karl Marx (1818 – 1883).

**INTERAÇÕES COM NANOTUBOS DE CARBONO E PONTOS QUÂNTICOS
DE ÓXIDO DE GRAFENO COM ESTRUTURAS EXTERNAS DO SARS-CoV-2
VIA SIMULAÇÕES DE DINÂMICA E DOCAGEM MOLECULAR**

Júlio César Mendes Lobato

Junho/2023

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

Coorientador: Prof. Dr. Mozaniel Santana de Oliveira Pesquisador

Área de Concentração: Uso e transformação de Recursos Naturais

Avaliou-se a interação entre nano partículas e as proteínas do vírus SARS-CoV-2, utilizando ligantes como nanotubos de carbono de parede única (NTCPUs) e receptores, incluindo a proteína do envelope (E-pro), a principal protease (M-pro) e a glicoproteína Spike (S-gly). Foram aplicadas técnicas de modelagem molecular de docagem e dinâmica molecular. A dinâmica molecular revelou o desvio quadrático médio de posições atômicas variando de 0,5Å a 3,0Å. Os resultados indicaram que o nanotubo zigzag apresentou melhor energia de afinidade, com valores de energia livre de ligação de -9,48, -9,98 e -10,08 kcal/mol para E-pro, M-pro e S-gly, respectivamente. Além disso, o desvio quadrado médio das posições atômicas se manteve mais estável para este tipo de nanotubo, indicando alta probabilidade de ligação aos sítios ativos das macromoléculas. Os acoplamentos moleculares e a energia livre de ligação mostraram forte interação dos NTCPUs com os resíduos do sítio ativo S-gly, com valores de -112,73, -94,38 e -80,49 kcal/mol para os ligantes zigzag, quiral e armchair, respectivamente. Numa segunda etapa, foram usados cinco pontos quânticos de óxido de grafeno (OG) com dimensões inferiores a 20 nm, como ligantes, interagindo apenas com os receptores das spikes de três cepas diferentes: S-GLY-OMICRON, S-GLY-KAPPA e S-GLY-DELTA. Comparando os dois ligantes, observou-se que a interação S-GLY-OMICRON/OG-E apresentou melhor afinidade com energia livre de Gibbs de -172,2510 KJ/mol, em comparação com a melhor afinidade dos nanotubos de carbono, S-gly/zig-zag, com ΔG de -112,73 KJ/mol. Os oito ligantes propostos têm alta probabilidade de se ligarem aos sítios ativos das macroestruturas. Em conclusão, tanto os nanotubos de carbono quanto os OGs mostraram-se promissores para aplicação em produtos inibidores do SARS-CoV-2, como o desenvolvimento de materiais para

fabricação de equipamentos de proteção individual, sprays e soluções impermeabilizantes em geral.

Palavras-chave: Nanotubos de carbono, óxido de grafeno, SARS-CoV-2, docking, dinâmica molecular e energia livre, COVID-19.

**INTERACTIONS WITH CARBON NANOTUBE AND GRAPHENE OXIDE
QUANTUM DOTS WITH SARS-CoV-2 EXTERNAL STRUCTURES VIA
MOLECULAR DYNAMICS AND DOCKING SIMULATIONS**

Júlio César Mendes Lobato

June/2023

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

Coadviser: Prof. Dr. Mozaniel Santana de Oliveira Pesquisador

Area of Concentration: Use and Transformation of Natural Resources

The interaction between nanoparticles and SARS-CoV-2 virus proteins was evaluated using ligands such as single-walled carbon nanotubes (NTCPUs) and receptors including envelope protein (E-pro), major protease (M-pro) and Spike glycoprotein (S-gly). Molecular docking modeling and molecular dynamics techniques were applied. Molecular dynamics revealed root mean square shift of atomic positions ranging from 0.5Å to 3.0Å. The results indicated that the zigzag nanotube showed better affinity energy, with binding free energy values of -9.48, -9.98 and -10.08 kcal/mol for E-pro, M-pro and S-gly, respectively. Furthermore, the mean square deviation of the atomic positions remained more stable for this type of nanotube, indicating a high probability of binding to the active sites of the macromolecules. Molecular couplings and binding free energy showed strong interaction between NTCPUs and residues of the S-gly active site, with values of -112.73, -94.38 and -80.49 kcal/mol for zigzag, chiral and armchair ligands, respectively. In a second step, five graphene oxide (GO) quantum dots smaller than 20 nm were used as ligands, interacting only with the spike receptors of three different strains: S-GLY-OMICRON, S-GLY-KAPPA and S-GLY-DELTA. Comparing the two ligands, it was observed that the S-GLY-OMICRON/OG-E interaction showed better affinity with Gibbs free energy of -172.2510 KJ/mol, compared to the better affinity of carbon nanotubes, S-gly/zig-zag, with ΔG of -112.73 KJ/mol. The eight proposed ligands have a high probability of binding to the active sites of the macrostructures. In conclusion, both carbon nanotubes and OG showed promise for application in SARS-CoV-2 inhibitor products, such as the development of materials for the manufacture of personal protective equipment, sprays and waterproofing solutions in general.

Keywords: Carbon nanotubes, graphene oxide, SARS-CoV-2, docking, molecular dynamics and free energy, COVID-19.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Vírus SARS-CoV-2 com a representação de suas membranas e o RNA.....	25
Figura 2 - Rede hexagonal da folha de grafeno e suas orientações e vetores de base.....	41
Figura 3 - Estrutura molecular de: a) M-pro, b) S-gly and c) E-pro.....	49
Figura 4: Macroestruturas utilizadas: a) Omicron (B.1.1.529); b) Kappa (B.1.617.1) c) Delta (B.1.617.2).....	49
Figura 5 - Estruturas de CNT 3D usadas no estudo <i>in silico</i> : a) armchair, b) chiral e c) zigzag.....	51
Figura 6: Macroestruturas de OGs utilizadas: a) OG-A; b) OG-B; c) OG-C; d) OG-D; e) OG-E.....	51
Figura 7 - Interação pelo processo de DOC do sítio ativo da proteína M-pró com o SWCNT quiral.....	64
Figura 8 - Interações de CNTs com E-pro: a) armchair, b) zigzag, and d) chiral.....	66
Figura 9 - Interações de CNTs com M-pro: a) armchair, b) zigzag, and c) chiral.....	68
Figura 10 - Interações de CNTs com S-gly: a) armchair, b) zigzag, and d) chiral.....	69
Figura 11 - Interação da proteína Spike-Omicron com: a) QD-A, b) QD-B, c) QD-C, d) QD-D, e) QD-E.....	71
Figura 12 - Interação da proteína Spike-Kappa com: a) QD-A, b) QD-B, c) QD-C, d) QD-D, e) QD-E.....	72
Figura 13-Interação da proteína Spike-Delta com: a) QD-A, b) QD-B, c) QD-C, d) QD-D, e) QD-E.....	73
Figura 14 - Variante Delta: a) OG-A, b) OG-B, c) OG-C, d) OG-D e e) OG-E.....	74
Figura 15 - Variante Kappa: a) OG-A, b) OG-B, c) OG-C, d) OG-D e e) OG-E.....	75
Figura 16 - Variante Omicrom: a) OG-A, b) OG-B, c) OG-C, d) OG-D e e) OG-E.....	78
Figura 17 - O potencial eletrostático molecular para cada OG estudado.....	80
Figura 18 - RMSD: a) E-pro, b) M-pro, e c) S-gly.....	83
Figura 19 - RMSF dos complexos, mostrando as variações produzidas nos diferentes subdomínios e os possíveis efeitos alostéricos produzidos nas proteínas: a) E-pro, b) M-pro e c) S-gly.....	85
Figura 20 - Rg de CNTs com receptores: a) E-pro, b) M-pro e c) S-gly.....	88
Figura 21 - SASA em relação a: a) E-Pro, b) M-pro, e c) S-gly.....	91

Figura 22 - Energias de ligações em função das interações CNTs + proteínas.....	94
Figura 23 - Comportamento dos valores da ΔG para as três proteínas.....	95
Figura 24 - RMSD versus tempo de: a) S-GLY-KAPPA, b) S-GLY-DELTA e c) S-GLY-OMICRON.....	99
Figura 25 - Valores da ΔG Ligação para as três proteínas variantes da Spike.....	100
Figura 26 - Evolução da energia livre de Gibbs dos complexos.....	105

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Propriedades dos CNTs.....	35
Tabela 2. Simulações de pontuação MolDock.....	65
Tabela 3: Energia de afinidade de ligantes interagindo com proteínas spike.....	70
Tabela 4: Componentes de potência para todas as simulações (média \pm desvio padrão relativo %)......	92
Tabela 5: Componentes de Energia OGs com S-glys.....	104

ABREVIACOES

SARS-CoV-2	Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2
HCoV _s	Corona vírus humano
NP	Nano partículas
NTC	Nanotubo de carbono
NTCPU	Nanotubo de carbono parede única
NTCPM	Nanotubo de carbono parede múltipla
CHM	CHARMM36-Protein
DM	Dinâmica molecular
ECA2	Enzima conversora de angiotensina 2
MM	Modelagem Molecular
RNA	cido ribonucleico
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
DOC	Docagem molecular
DFT	Teoria do funcional da densidade
E-pro	Proteína envelope
M-pro	Proteína da membrana
S-gly	Glicoproteína de pico
SASA	rea superficial acessível ao solvente
RMSD	Raiz do desvio quadrático médio
RMSF	Flutuação quadrática média
OG	xido de grafeno
VDW	Energia de van der Waals
N ₀	Número de átomos
EPI	Equipamento de proteção individual
PDB	Banco de dados de proteína
SRAA	Sistema renina-angiotensina-aldosterona
FAM	Força atômica
TEF	Transistores de efeito de campo
LGA	Algoritmo genético Lamarckiano
GAFF	Força geral Amber
ADT	Autodock Tools

AE	Energia de ligação
EPI	Equipamento de Proteção Individual
LPCN	Laboratório de Preparação e Computação de Nanomateriais
ORF	Estrutura de leitura aberta
OMS	Organização mundial da saúde
DVC	Decomposição de vapores contendo átomos de carbono
QTG	Ponto quântico de grafeno
MEP	Potencial eletrostático molecular
LGA	Ligação ideal dos ligantes
CHARMM36	Campo de força CHARMM36
GMMPBSA	Cálculos de energia livre de Gibbs GMMPBSA
MC	Monte Carlo
CdSe	Seleneto de cádmio
ZnS	Sulfeto de zinco
CHARMM	Algoritmo de interpolação CHARMM
CHGUI	Servidor de otimização CHGUI
PME	Método da malha de partículas de Ewald
CPU	Carga de ponto único
PC	Ponto de carga
HOMO	Orbital Molecular de Mayor Energía Ocupado
LUMO	Orbital Molecular de Menor Energia Desocupada

LISTA DE SÍMBOLOS

G	Energia livre de Gibbs
T	Temperatura
R	Constante dos gases ideais
ns	Nanosegundo
fs	Femtosegundo
δ	Distância entre um átomo e um referencial
R_g	Raio de giro
d_0	Diâmetro chiral
θ	Ângulo chiral
a_1 e a_2	Vetores de base
N_{tor}	Número de todos os ângulos de rotação
Å	Ångström
ΔG	Varição da energia livre de Gibbs
ΔG_{vw}	Energia de van der Waals
ΔG_{el}	Energia eletrotática
ΔG_{tor}	Energia de torção
ΔG_{des}	Energia de solvatação
ΔG_{lig}	Energia de ligação
W	Parâmetros de energia
q	Carga elétrica
V	Potencial elétrico
ε	Permissividade elétrica

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO.....	19
1.1- MOTIVAÇÃO.....	22
1.2- OBJETIVOS	22
1.3- ORGANIZAÇÃO DA TESE	24
2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	25
2.1 - Estrutura do SARS-CoV-2.....	25
2.2 - Mecanismo de transmissão e ação do SARS-CoV-2 no organismo.....	27
2.3 - Nanopartículas como inibidoras do SARS-CoV-2.....	28
2.4 - Nanotubo de carbono e seu potencial de interação com biomoléculas.....	31
2.5 – Propriedades e características elétricas dos NTCs.....	33
2.6 – QDGs e seu potencial de interação com biomoléculas.....	36
2.7 – Interações de biomoléculas com NTCs e OGs.....	37
2.8 – Simulação de DM e DOC.....	38
2.9 – Técnicas de produção de NTCs.....	39
2.10 - Estrutura geométrica de NTCs.....	40
2.11 - Grafenos e óxido de grafeno.....	42
3 – MATERIAIS E MÉTODOS.....	46
3.1 – Procedimento de DOC.....	46
3.2 – Preparação dos receptores	48
3.3 – Preparação dos ligantes NTCs e OGs.....	50
3.4 – Protocolo de ancoragem molecular no Software Autodock Vina 4.0.2	52
3.4.1 – Protocolo de ancoragem molecular NTCs/ligantes.....	52
3.4.2 – Protocolo de ancoragem molecular Ogs/ligantes.....	54
3.5 – Método potencial eletrostático de superfície (MEP).....	55
3.6 – Abordagem sobre DOC e DM.....	55
3.7 – Desvio quadrático médio e Flutuação quadrática média	58
3.8 – Raio de giro e Área de superfície acessível ao solvente.....	60
3.9 – Energia livre.....	60
3.10 – Protocolo para realização da DM.....	61
4 - RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	64

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO

A motivação para esta pesquisa surge em resposta à descoberta do vírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS-CoV-2), um vírus de ácido ribonucleico pleomórfico que pertence à família dos coronavírus, também conhecido como COVID-19 [1]. Esse vírus teve origem em Wuhan, China, no final de 2019, e seu surto resultou em uma pandemia global [2], gerando grande preocupação devido à sua alta taxa de contaminação, capacidade de propagação e taxa de letalidade [3,4].

Um aspecto que reforça a importância dessa pesquisa é o modo de transmissão do vírus, que ocorre principalmente por vias aéreas e contato físico, tanto em curtas como em longas distâncias, através dos aerossóis, caracterizando a transmissão aerotransportada [5]. Diante desse cenário, surgiu a necessidade de adotar medidas preventivas para conter a disseminação do vírus, como o uso adequado de máscaras, luvas e outras medidas de higiene, bem como a desinfecção de superfícies [6].

Esses eventos motivaram a realização deste estudo com o objetivo de explorar estratégias e soluções preventivas contra o espalhamento do vírus, contribuindo para a mitigação da pandemia e a proteção da saúde pública. Atualmente, segundo o site *Wordmeters* <https://www.worldometers.info/coronavirus>, visualizado em 24 de outubro de 2023) sobre casos e mortalidade devido ao coronavírus, os casos totais e atuais registrados até esta data são cerca de 771,41 milhões de infectados e 6,97 milhões de casos de mortes no mundo. Nos primeiros lugares de casos e mortalidade de COVID-19 estão os EUA (103,44 milhões de infectados e 1,14 milhões de casos de mortes), Índia (45,00 milhões de infectados e 532,01 mil casos de mortes), França (39,99 milhões de infectados e 167,98 mil casos de mortes), Alemanha (38,44 milhões de infectados e 174,98 mil casos de mortes) e no Brasil (37,72 milhões de infectados e 704,66 mil casos de mortes).

Entretanto, em consonância com o campo da prevenção, este estudo tem como objetivo explorar o uso de nanopartículas como potenciais materiais para o controle eficaz da propagação e detecção rápida do vírus [7]. Nesse sentido, foram considerados os nanotubos de carbono (NTCs), devido à sua excelente condutividade elétrica, que é atribuída à sua estrutura eletrônica quase unidimensional [7]. Além disso, nos nanotubos de carbono de parede única (NTCPU) e nanotubos de carbono de parede múltipla (NTCPM), o transporte eletrônico ocorre de forma balística ao longo dos comprimentos dos nanotubos, permitindo o transporte de altas correntes sem aquecimento significativo. Isso

se deve à propriedade do carbono de ter menor resistência à medida que sua temperatura aumenta [8,9].

A escolha dos NTCs também se justifica pelo fato de que, durante a interação com solutos ou solventes, eles podem gerar corrente elétrica devido às ligações químicas estabelecidas durante a aproximação, resultando em absorção e emissão de luz por meio de saltos eletrônicos entre as camadas com diferentes níveis energéticos [10]. Essas propriedades dos NTCs tornam-nos relevantes para aplicações na detecção e controle eficaz da propagação do vírus, contribuindo para o avanço das estratégias de prevenção e combate à pandemia.

Todavia o estudo se desenvolveu em duas etapas. Sendo a primeira etapa realizada por meio da simulação entre NTCPU/proteínas para fins da utilização de docagem molecular (DOC) e Dinâmica molecular (DM) com o objetivo de gerar parâmetros de afinidade da interação. Os NTCs têm sido usados para nanossistemas de distribuição de drogas e no combate contra diversos vírus, como por exemplo, o vírus SARS-CoV-2 e suas proteínas virais [11].

As interações desenvolvidas no presente trabalho refletem *in silico*, a qual é uma ferramenta de investigação econômica e rápida por meio de técnicas como DOC e DM que permitem estimar a afinidade entre moléculas como proteína-ligante e proteína-proteína. Os resultados deste estudo de simulação computacional devem ser acompanhados posteriormente com o conhecimento etnofarmacológico aliado aos ensaios experimentais, os quais iram complementar a pesquisa, podendo assim auxiliar na descoberta e desempenho de novos inibidores do vírus [12, 13,14].

Na continuidade do estudo se realizou a segunda etapa por meio da simulação com nanopartículas de óxido de grafeno (OG). Agora o objetivo visa investigar a interação de OG que é o primeiro material ordenado, estritamente bidimensional, com as proteínas mais externas do SARS-CoV-2 [7]. Sendo relevante mencionar que o grafeno adsorveu vários tipos de moléculas com facilidade, e suas propriedades elétricas com adsorção podem apresentar resultados relevantes [15,16,17,18]. Uma aplicação consiste em usar pequenas folhas de grafeno para transportar moléculas fluorescentes para tumores, para permitir sua localização óptica [19,20,21,22]. Em relação às características físicas, o grafeno tem uma boa condutibilidade elétrica assim como os NTCs, fato este que também permite uma boa possibilidade de gerar uma corrente elétrica durante a interação com as proteínas.

Na sequência do estudo se focou o desenvolvimento de OGs de base inteiramente molecular com o intuito de interagirem com as proteínas mais externas do vírus.

Entretanto, é sabido que durante a entrada viral, os vírus interagem com várias estruturas celulares e as utilizam para otimizar a entrega do genoma viral ao núcleo para promover a replicação viral eficiente. Uma vez que o vírus está disperso no ar, uma das principais preocupações é a capacidade de detectar e inibir o vírus por meio dessas interações com OGs [23,24,25]. Logo, é válido neutralizar por contato os microorganismos que aderem à superfície, empregando agentes antimicrobianos liberados no ambiente de superfície. De acordo com essa abordagem verificou-se que é viável a utilização do grafeno e seus derivados, como os NTCs e os pontos quânticos de óxido de grafeno (QDGs), como potenciais materiais para controle efetivo da disseminação e detecção rápida de vírus.

Na etapa das interações se utilizou o Autodock Tools e Autodock Vina [26, 27] e o pacote de software para biomoléculas Gromacs 2020.2 [28] foi usado para as simulações de DOC e DM do complexo proteína-ligante com as interações de proteína aproximadas pelo campo de força CHARMM36 e parâmetros de ligante gerados usando CgenFF (CHARMM General Force Field), o qual é utilizado para modelar e estudar as interações e os comportamentos das moléculas complexas. Sendo também utilizado para parametrizar moléculas que não possuem configurações adequadas nos campos de força tradicionais, como o CHARMM. É importante mencionar que ele atribui parâmetros para diferentes tipos de átomos, ligações químicas, ângulos de ligação, torções, interações de van der Waals e interações eletrostáticas [29]. Além disso, foram calculados valores de energia livre de Gibbs (ΔG), utilizando GMMPBSA [30] e utilizando um programa escrito em na linguagem de programação Python [30] para simplificar o estado final livre e mostrar os cálculos de energia usando conjuntos derivados de simulações DM ou Monte Carlo (MC) [26] e avaliação da energia de van der Waals (VDW) [31].

Na etapa do DOC, foram obtidos dados referentes ao potencial eletrostático, sistema de acoplamento molecular, energia de ligação, tipos de ligação e hidrofobicidade, além da validação do ajuste das posições de ligação no sítio ativo dos receptores. Posteriormente, aprofundando os estudos, foi utilizado o DM, que permitiu cálculos mais complexos como desvio quadrático médio (RMSD) [26], flutuação quadrático médio (RMSF) [32], raio de giro (Rg) [26] e área de superfície acessível ao solvente (SASA) [25], com análise de interações moleculares e possíveis mudanças estruturais para verificar se há alterações ou deformações significativas na sequência de receptores e se essas alterações podem estar relacionadas ao uso dos CNTs [31,32].

Por fim e de acordo com os objetivos do estudo, mostra-se que os resultados das interações tendem a proporcionar a descoberta de materiais inibidores, os quais apresentam

grandes potenciais antivirais, a fim de prevenir contaminações por vírus contagiosos e virulentos. Assim sendo essas nanopartículas podem servir de matéria-prima para a confecção de equipamentos de proteção individual (EPI), tais como máscaras faciais e luvas. E também na produção de Sprays e soluções impermeabilizantes em geral. Desta forma os NTCs e os OGs vêm somar no combate a COVID-19.

1.1 MOTIVAÇÃO

A disseminação do vírus SARS-CoV-2 é uma preocupação global, o que faz com que inúmeras pesquisas estejam sendo desenvolvidas com a finalidade de combater o vírus. Na literatura encontraram-se diversos exemplos de pesquisas envolvendo nanopartículas aplicadas no campo da saúde. Dentre essas pesquisas de nanopartículas a base de carbono e que são biocompatíveis tem mostrado um potencial significativo no combate ao vírus. Desta forma o desenvolvimento de simulações de interações entre NTCPUs e OG para as interações com as proteínas externas do vírus, por serem materiais com excelentes propriedades físicas, tais como luminescência e condutividade elétrica. Sob a perspectiva de interação objetiva-se analisar os resultados da DOC e DM.

O objetivo central desta pesquisa trata da existência de potenciais NTCPUs e OG que possam inibir a ação do vírus. E na descoberta de novas tecnologias que venham a ser desenvolvidas por meio da utilização desses NTCPUs e OG como matéria-prima para a produção de produtos não fármacos e inibidores do vírus.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Este estudo tem como objetivo avaliar o potencial de interação *in silico* das proteínas externas do SARS-CoV-2 com os NTCPUs e os OGs, visando aplicá-los no combate ao contágio e disseminação do vírus. Além disso, busca-se analisar as interações moleculares e suas possíveis mudanças estruturais, a fim de verificar a existência de alterações ou deformações na sequência de receptores. Pretende-se investigar se essas alterações podem estar relacionadas às interações com os NTCPUs e os OGs. Com base nos resultados obtidos, será possível propor possíveis aplicações dessas nanopartículas na produção de matéria prima para a produção de equipamentos que possam inibir a ação do SARS-CoV-2.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Realizar uma revisão bibliográfica abrangente sobre o vírus SARS-CoV-2 e as nanopartículas quantum dots e nanotubos.
- Utilizar o software Nanotube Modeler (<http://www.jcrystal.com/products/wincont/>), geração de geometrias (<http://www.jcrystal.com/products/wincont/>) para construir três tipos de NTCPU com diferentes formas de geometria (armchair, zigzag, chiral), que serão utilizados como ligantes.
- Construir os cinco tipos de OGs no software Gauss View 06 (<https://gaussian.com/gaussview6/>) e aperfeiçoar suas estruturas no software Gaussian 09W, garantindo a precisão dos modelos.
- Realizar os acoplamentos e DM para avaliar a interação entre os ligantes construídos e as proteínas alvo, utilizando o campo de força CHARMM36 no software GROMACS. A fim de obter informações detalhadas sobre a ligação entre os ligantes e as proteínas, fornecendo insights sobre a afinidade, estabilidade e mecanismos de interação.
- Analisar dados fundamentais para o desenvolvimento de novas ferramentas capazes de identificar compostos promissores que podem ser otimizados e utilizados no tratamento de doenças.
- Utilizar a simulação de DOC e a DM para auxiliam na compreensão dos processos bioquímicos e na exploração de interações moleculares complexas, contribuindo para a compreensão dos mecanismos biológicos envolvidos nas doenças e possibilitando o desenvolvimento de estratégias eficazes no combate à disseminação do vírus.
- Descrever detalhadamente as interações desenvolvidas entre os NTCPUs/proteínas e OGs/proteínas, analisando as propriedades estruturais e energéticas resultantes.
- Construir tabelas com os valores das energias de afinidade obtidas para cada interação realizada, facilitando a análise dos resultados.
- Demonstrar o potencial inibidor dos ligantes como solução para o combate à disseminação do vírus, destacando suas possíveis aplicações em produtos como Equipamentos de Proteção Individual (EPIs), filtros, revestimentos de superfície e sprays.

- Elaborar e submeter artigos científicos, utilizando os resultados obtidos neste estudo, para publicação em revistas de circulação internacional, compartilhando as descobertas e contribuindo para o avanço científico nessa área.

1.3 ORGANIZAÇÃO DA TESE

Esta tese fundamenta-se em simulações computacionais por meio de uma abordagem DOC e DM, onde se discute resultados objetivando potenciais nanotubos e quantum dots que apresentem comportamentos antivirais. Sendo o trabalho disposto em cinco capítulos e estando o conteúdo de cada capítulo apresentado na seguinte sequência. O capítulo 1 contém a introdução ao tema, apresentação da motivação para o presente estudo, juntamente com os objetivos.

No o capítulo 2 Apresenta uma fundamentação teórica sobre o vírus SARS-CoV-2 e sua disseminação, juntamente com uma abordagem sobre as nanopartículas NTCs OGs, e as suas possíveis aplicações no campo da prevenção contra microrganismos. E no capítulo 3 é apresentado os materiais utilizados para ligantes/receptores e os métodos aplicados no procedimento de DOC e DM, apresentando os instrumentos e equipamentos do LPCN, onde se desenvolveu o estudo *in silico*.

Em continuidade o capítulo 4 apresenta os resultados obtidos em todas as simulações por meio dos parâmetros relacionados aos campos de energia de ligação, MEP, RMSD, RMSF, SASA e Rg, mostrando uma análise comportamental e comparativa. Por fim o capítulo 5 discorre sobre as considerações finais relacionando os resultados obtidos nas interações e o potencial dos ligantes como inibidores do vírus e possíveis aplicações tecnológicas desses materiais em produtos de prevenção.

CAPÍTULO 2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Nesta abordagem descreve-se a estrutura do vírus e seus meios de transmissão, juntamente com a forma que ele afeta o sistema respiratório e outras funções do organismo humano. Também se menciona as características e propriedades físicas de nanomateriais com potencial de interação com vírus, por meio de DOC e DM.

2.1 Estrutura do SARS-CoV-2

Sobre a estrutura do SARS-CoV-2 sabe-se que é um vírus pertencente ao gênero β -coronavírus, cujo material genético é uma cadeia de ácido ribonucléico (RNA). O material genético do vírus é protegido do meio ambiente por quatro proteínas estruturais principais (Figura 1). O SARS-CoV-2 (Figura 1) apresenta-se como sendo um vírus envelopado com RNA de fita simples de sentido positivo que tem forma esférica pertencente à família *Coronaviridae*, um grupo de vírus capaz de infectar animais e humanos [33, 34,35]. Ele possui algumas subunidades proteicas que compõe a sua estrutura como a proteína spike (S-gly), envelope protéico (E-pro), protease (M-pro) e nucleocapsídeo (N-pro). Sendo a proteína N-pro interna a este vírus. Sendo a proteína S-gly a principal facilitadora da entrada do vírus na célula hospedeira [36]. Já a M-pro, por sua vez e por meio da proteólise libera proteínas virais funcionais para a célula hospedeira, ou seja, é uma das enzimas fundamentais no processo de replicação [37].

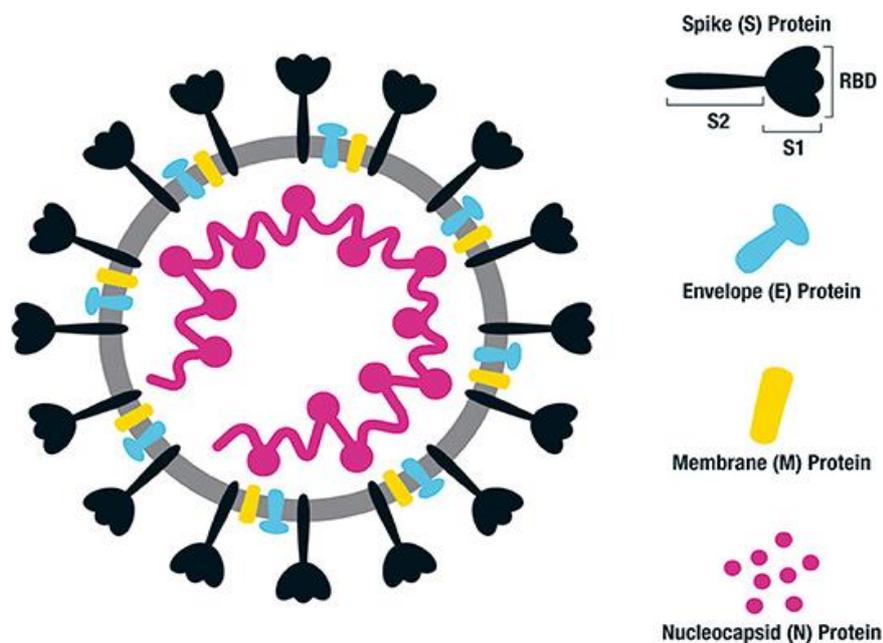


Figura 1. Representação do vírus SARS-CoV-2 com as suas membranas e o RNA.

Fonte: <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/6b/Fimmu-11-579250-g001.jpg>

Entretanto entre todas as proteínas estruturais, ou não estruturais do SARS-CoV-2, a M-pro é a região mais conservada (mais de 96%) do vírus em relação a outros tipos de coronavírus. Por isso, a inibição da M-pro se tornou objetos de vários estudos, com o intuito do desenvolvimento de novos fármacos para o combate à COVID-19.

Entretanto por mais que a E-pro não seja muito utilizada para estudo, esta auxilia na montagem, morfogênese e patogênese do coronavírus [38]. A E-pro também é um potencial alvo antiviral. A seguir descreve-se o funcionamento das proteínas.

A proteína E-pro é uma componente transmembrana do vírus, que está envolvido na troca de íons entre o interior da partícula viral e o meio ambiente. Também está envolvido no processo de entrada do vírus na célula hospedeira por meio de interações com proteínas da membrana celular [1].

A M-pro é uma glicoproteína que funciona como a membrana da partícula viral e suporta a proteína E. A M-pro é a proteína mais abundante em partículas virais e consiste em três domínios transmembrana. Essa proteína é fundamental na montagem das partículas virais, pois fornece o arcabouço que dá forma e estrutura ao vírus [33].

A proteína S (pico) é uma glicoproteína transmembrana que se projeta da partícula viral, tendo um ectodomínio maior que 10 nm. Essa proteína é composta por até 300 moléculas orgânicas, cujas subunidades S1 e S2 são aquelas que levam à ancoragem do vírus nos receptores das células hospedeiras [1]. Existem três estruturas cristalina de S-gly: S-GLY-OMICRON, S-GLY-KAPPA e S-GLY-DELTA. A estrutura cristalina de S-GLY-OMICRON possui 1144 resíduos de aminoácidos, S-GLY-KAPPA 1117 resíduos e S-GLY-DELTA também possui 1146 resíduos de aminoácidos.

A N-pro está ligada ao material genético do vírus, formando a "nucleocápsida", que protege o RNA do meio ambiente e é essencial para a liberação do RNA no citoplasma da célula infectada [34].

O tamanho médio do SARS-CoV-2 varia entre 60 a 140nm de diâmetro. É de suma relevância mencionar que cada uma das proteínas desempenha funções específicas em relação a ligação com o receptor, montagem viral e liberação de seu genoma no hospedeiro [36]. Fato que fundamenta o seu mecanismo de transmissão na interação com o receptor como se descreve a seguir. O vírus também possui de 10 a 14 proteínas não estruturais ou funcionais, conhecidas como ORF (estrutura de leitura aberta), cujas funções ainda são pouco conhecidas [37].

A M-pro ou 3CL pro [29] (Fig 4a) catalisa a maioria dos eventos de clivagem em maturação após a ativação da proteína. Assim, o M-pro é uma enzima essencial para a

replicação viral e é um dos sítios proteicos receptores de drogas mais bem caracterizados entre os coronavírus [30, 32]. A estrutura cristalina desta proteína SARS-CoV-2 é altamente semelhante à de outros coronavírus [39]. O sítio ativo da proteína está localizado em uma fenda entre uma díade catalítica histidina/cisteína. Em M-pro, Cys 145 atua como um nucleófilo durante a primeira etapa da reação de hidrólise assistida por His 41, que atua como um catalisador básico [40]. A E-pro do coronavirus (Fig 4c) é uma pequena proteína de membrana encontrada no envelope do vírus. Diferentes proteínas do coronavírus compartilham semelhanças bioquímicas e funcionais impressionantes, mas a conservação da sequência é limitada [41]. Das diferentes proteínas virais identificadas uma das mais relevantes é a glicoproteína de pico, reconhecida como S-gly ou glicoproteína de pico [42]. A entrada primária do vírus é premeditada pelos receptores ECA2 formando complexos com S-gly (Fig 4b) que então regula processos invasivos importantes para a replicação viral durante o estresse celular [43].

2.2 Mecanismo de transmissão e ação do SARS-CoV-2 no organismo.

O vírus SARS-CoV-2 causa um complexo de sintomas chamados COVID-19 por meio de sua propagação em fluídos e ao entrar nas células humanas, liga-se por uma proteína viral à enzima conversora de angiotensina 2 (ECA 2), a qual, é encontrada no endotélio vascular em vários órgãos. Essa enzima tem importante papel na fisiologia humana, regulando o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA). O SRAA regula funções essenciais do organismo, como a manutenção da pressão arterial, balanço hídrico e de sódio, consistindo em uma cascata de peptídeos vasoativos que se refere a uma série de eventos sequenciais envolvendo a liberação de diferentes peptídeos para regular o fluxo sanguíneo e a pressão arterial, intervindo assim de forma direta na fisiologia do ser humano. Sendo que o ECA 2 neutraliza a ativação do SRAA, mas também funciona como um receptor para o SARS-CoV-2 permitindo que o vírus entre no interior da célula, podendo dessa forma provocar uma síndrome respiratória aguda grave [38].

A entrada inicial do SARS-CoV-2 na célula é observada, principalmente nos pneumócitos do tipo II (células arredondadas que ficam sobre a membrana basal do epitélio alveolar), após a ligação com o receptor ECA2, seguida de endocitose do complexo viral, com feedback negativo do ECA2 na superfície, resultando na liberação do RNA viral e conseqüentemente sua replicação, para o surgimento de novas partículas virais. A ativação local do SRAA pode mediar a lesão pulmonar a vim ser provocada por meio da infecção viral [44].

Como vírus SARS-CoV-2 pode ser transmitido por gotículas de respiração ou tocando a superfície contaminada. De acordo com as diretrizes da OMS, a lavagem regular das mãos e a higiene podem obstruir a infecção direta do vírus pela superfície contaminada e, portanto, as máscaras faciais são utilizadas principalmente para reduzir a chance de infecção por gotículas respiratórias produzidas pela tosse, espirro e até mesmo pela fala. A utilização de máscaras faciais reduzirá o alto risco de inalação dessas gotículas respiratórias. Diante dessa narrativa surge a demanda de se criar estratégias para descobertas de materiais que sejam eficazes no combate ao vírus. Na sequência aborda-se os CNTs e suas promissoras aplicações no desenvolvimento de produtos voltados para o combate ao SARS-CoV-2.

Na forma grave de infecção o SARS-CoV-2 resulta num aumento da secreção do muco, que entope os alvéolos e impede a oxigenação do sangue. Sua endocitose e replicação nos pulmões geram uma resposta imune aguda e inflamação do tecido ao desencadear a cascata de sinais por meio de tempestades de citocinas [21].

O vírus também pode se espalhar para o sistema digestivo e outros órgãos vitais, como rim e fígado. Ele tem o potencial de acessar todos os tecidos que expressam o receptor da enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2). O SARS-CoV-2 é um dos Coronavírus humanos (HCoVs), que apresenta uma taxa de mortalidade de até 10%. [32]. Segundo (Jantien, Klinkenberg, Wallinga, 2020) [33], o período de incubação (tempo entre a infecção do ser humano pelo vírus e o início dos sintomas da doença) estimado com variação de 2,4 a 15,5 dias pode ser relevante para uma escolha conservadora de períodos de quarentena. Entretanto o tempo médio para o surgimento dos sintomas é de aproximadamente 6 (seis) dias.

No entanto em cidades com alta poluição do ar o vírus SARS-CoV-2 pode alavancar as partículas poluentes em suspensão como transportadores. Além disso, também estabelecem uma conexão linear, destacando que esses vírus viverão mais tempo e poderão se tornar mais hostis em um sistema imunológico já intensificado pelos poluentes atmosféricos [34].

2.3 Nanopartículas como inibidores do SARS-CoV-2

A atual conjuntura pandêmica provocada pelo SARS-CoV-2 desencadeou um avanço em pesquisa com o intuito de se encontrar uma solução a fim de combater o agravamento do vírus. Dentre os materiais pesquisados o grafeno que é uma das formas cristalinas do carbono, assim como o diamante, o grafite, os nanotubos de carbono e

fulerenos, logo esses derivados foram desenvolvidos como materiais promissores para ajudar a lidar com os desafios diários provocados pelo SARS-CoV-2 e suas mutações.

O grafeno é o material atômico bidimensional (2D) mais fino que o torna um material revolucionário devido à sua alta área de superfície e juntamente com suas propriedades mecânicas, elétricas, ópticas e térmicas. Também é considerado um dos materiais mais interessantes e versáteis já existentes, pois apresenta leveza, flexibilidade, condutividade e resistência, o que o torna mais fino, forte e leve, sendo ainda impermeável a moléculas e um ótimo condutor elétrico e térmico. Devido essas propriedades únicas, vem se expandindo no campo das aplicações, que vai destes sensores a tecnologias biomédicas [45].

Além disso, o grafeno é reconhecido como tendo propriedades antibacterianas e antivirais devido ao movimento do elétron em direção às bactérias o que irá anular o seu potencial de contaminação. De todos os derivados de grafeno, OG é o material com carga mais negativa que possui maior afinidade para o vírus com carga positiva. Possivelmente, a ligação do grafeno destrói a membrana, o que confirma a eficácia do grafeno contra os vírus [45].

Atualmente, estudos sobre o grafeno mostram que sua aplicabilidade pode ser direcionada para a produção de filtros e revestimentos. E sobre sua aplicação em sensores, o grafeno já foi usado como chip biossensor para detectar o zika vírus em 2018. Os resultados mostram que o chip biossensor de grafeno era sensível à proteína não estrutural do vírus [44].

A respeito de aplicabilidade, por exemplo, se a superfície de uma máscara for super hidrofóbica, as gotículas de respiração podem rolar facilmente sem ser fixada na superfície da máscara, a capacidade de autolimpeza de máscaras cirúrgicas comerciais pode ser melhorada usando revestimentos porosos super hidrofóbicos de grafeno. Depositou grafeno com poucas camadas sobre máscaras comuns com o intuito de aumentar a hidrofobicidade [34]. Se o ângulo de contato de uma gota de água de 5 μ l na máscara comum é de aproximadamente 110°, tem-se que na máscara revestida de grafeno esse ângulo de contato estático vai ter o valor de 141°, logo verifica-se que a gotículas de água permanecer na superfície devido ao forte efeito super hidrofóbico [34].

Portanto, o revestimento de grafeno pode aumentar consideravelmente o desempenho de auto limpeza das máscaras contra gotículas respiratórias. Além disso, a temperatura da superfície da máscara de grafeno pode aumentar rapidamente para mais de 80°C, devido às excelentes propriedades de absorção da radiação solar de banda larga, o

que torna as máscaras reutilizáveis novamente após a esterilização proporcionada pela radiação solar [34].

O material nanoestruturado é um tipo de material com pelo menos uma dimensão nanométrica (geralmente menos de 100 nm). Eles podem ser orgânicos, inorgânicos, baseados em biomateriais e baseados em carbono, suas propriedades físico-químicas como reatividade química, transporte dependente do tamanho, biocompatibilidade e toxicidade reduzida. Devido essas propriedades, a medicina torna-se um campo com crescente atenção na aplicação da nanotecnologia. Os sistemas de entrega baseados em nanoestrutura demonstraram especificidade e biodisponibilidade melhoradas em relação ao sistema tradicional. Muito do valor agregado está relacionado às propriedades físico-químicas dos nanomateriais o que incluem tamanho controlável, grande proporção entre área de superfície, massa e estrutura facilmente funcionalizável. Logo uma variedade de nanomateriais pode ser usada no combate ao SARS-CoV-2 e outros vírus [32]. Sabe-se que o estudo sobre as interações entre os nanomateriais e os vírus reflete nas técnicas de imobilização, utilizadas com mais frequência, as quais se enquadram em quatro categorias: a) adsorção não covalente (interações físicas); b) fixação covalente (amarração), c) reticulação de uma proteína e d) aprisionamento em um gel polimérico ou cápsula [46].

Portanto os sistemas de proteínas imobilizadas são de grande interesse científico e comercial em uma ampla gama de aplicações. Porém, apesar dos avanços recentes na compreensão da interação mútua entre a proteína e as superfícies de suporte, existem algumas desvantagens que precisam ser elucidadas [46]. Os conjugados de proteínas imobilizadas na superfície das nanopartículas envolvem uma série de componentes, como a proteína ou enzima, o transportador, os substratos, cofatores, íons, etc, onde a modificação de um pode resultar em uma mudança global de todo o sistema. Embora avanços significativos tenham sido realizados neste campo, ainda há um grande desafio para entender mais profundamente a interação mútua entre a proteína e a superfície dos nanopartículas de carbono [46].

Então em se tratando de carbono têm-se que é o quarto material em abundância no universo e o décimo quinto na crosta terrestre, apresentando-se em diferentes formas alótropos, diamante e grafite sendo os mais abundantes. Porém as propriedades físicas dos materiais dependem dos átomos que os constituem e o tipo de ligação, substância química produzida entre esses átomos. Embora avanços significativos tenham sido realizados neste campo, ainda há um grande desafio para entender mais profundamente a interação mútua entre a proteína e a superfície dos nanopartículas de carbono [46].

Portanto, o uso de grafeno e seus derivados, tais como os OGs aparecem como potenciais materiais para controle eficaz da propagação e detecção rápida do vírus, esses materiais podem ser efetivamente utilizados no desenvolvimento de revestimentos e superfícies antivirais, a fim de prevenir contaminações de vírus contagiosos e virulentos em tecidos como equipamentos de proteção individual (EPI), máscaras faciais e luvas [32].

Os NTCs são nanoestruturas cilíndricas [47] com comportamentos incomuns e interessantes, que os tornam novos materiais valiosos, especialmente para suas aplicações em novas tecnologias [48]. Além disso, a modificação de suas superfícies por meio de métodos químicos ou físicos tem sido objeto de interesse para o desenvolvimento da ciência e tecnologia dos NTCs [49, 50]. Esses materiais têm sido empregados em muitas aplicações, como catálise [51], sensores de gás [52], nanoeletrônica [53], transistores de efeito de campo (TEF) dispositivos [54], biossensores [55]. Entre as diferentes aplicações dos NTCs, a adsorção de superfície de diferentes moléculas tem sido estudada por uma grande variedade de cientistas. Os NTCs podem ser dopados por vários heteroátomos, como nitrogênio, boro, silício e enxofre, para alterar suas propriedades e alcançar novas aplicações. Visivelmente, os CNTs têm diferentes comportamentos de adsorção [56, 57] e essa capacidade foi utilizada em muitas aplicações, como entrega de drogas [58, 59], remoção de poluição (na natureza ou reações químicas) e o projeto de novos sensores [60-61].

Portanto, um grande número de NTCs funcionalizados de superfície [62, 63] tem sido amplamente empregado em biomedicina [64], distribuição de drogas [65], imagens biomédicas, detecção química [66], desenho de drogas [67], diagnóstico de câncer [68, 69] e engenharia de tecidos [70]. Além disso, os NTCs têm sido empregados em sistemas de entrega de drogas por causa de sua estrutura oca, que lhes permite encapsular a droga apropriada e liberá-la nos tecidos-alvo [71, 72].

A seguir sequenciando o estudo dos nanopartículas e suas aplicações, descreve-se uma abordagem sobre os NTCs.

2.4 Nanotubo de carbono e seu potencial de interação com biomoléculas

Um NTC pode ser construído a partir de uma folha de grafeno enrolada em forma cilíndrica. Embora tenham sido feitos muitos avanços no aprimoramento dos diferentes métodos de síntese dos NTCs, o entendimento do processo de crescimento ainda não atingiu um estágio em que seja possível controlar sua estrutura [73].

É relevante destacar que a maneira como a folha de grafeno é enrolada determina a estrutura dos NTCs, incluindo sua geometria e propriedades físicas. Dois parâmetros estruturais importantes dos NTCs são o diâmetro (d_0) e o ângulo quiral (θ) (também conhecido como quiralidade ou helicidade) [73].

A força das ligações carbono-carbono confere aos NTCs propriedades mecânicas incríveis. Nenhum material anterior exibiu a combinação de propriedades mecânicas, térmicas e eletrônicas superlativas atribuídas a eles. Suas densidades podem ser tão baixas quanto $1,3 \text{ g/cm}^3$ (um sexto da densidade do aço inoxidável) [74]. Além disso, as propriedades eletrônicas dos NTCs são extraordinárias podendo ser, metálicos ou semicondutores [74].

Cada NTC podem apresentar comprimento correspondente a dezenas de micrômetros, com diâmetros tão pequenos quanto $0,7 \text{ nm}$. Os NTCPUs geralmente possuem apenas 10 átomos ao redor da circunferência, e a espessura do tubo é de apenas um átomo. Os NTCs também apresentam uma alta proporção de comprimento para diâmetro (proporção de aspecto) de aproximadamente 1000 vezes, o que os torna estruturas quase unidimensionais. Vale ressaltar que os NTCs são distintos das fibras de carbono, que não são moléculas individuais, mas sim fios compostos por folhas de grafeno em camadas [74].

Os NTCs têm sido objeto de pesquisa por mais de 20 anos. Espelhando esse esforço acadêmico está o interesse comercial mundial, levando à capacidade de produção de vários milhares de toneladas de NTCs por ano. Esses desenvolvimentos abriram caminhos para uma ampla gama de aplicações que segundo Marchesan e Prato [75] muitas dessas aplicações destinaram-se aos sistemas CNT-proteína que atravessam vários campos da ciência, da biocatálise industrial à nanomedicina, de materiais inovadores a ferramentas biotecnológicas na pesquisa em biologia molecular.

Entre as variedades de nanopartículas adequadas, este estudo direciona-se para os NTCs com o intuito de verificar sua afinidade de ligação por meio de DOC com o vírus SARS-CoV-2 por métodos computacionais. No entanto, estudos de DOC têm sido usados de forma eficaz para calcular e analisar as posições de ligação, ou bolsas de ligantes para muitos receptores Stjernschantz & Ostenbrink, 2010 *apud* [76].

No passado recente, Krishnaraj e sua equipe estudaram a interação molecular entre NTC e HIV, mostrando que o NTC possui uma alta afinidade de ligação com as proteínas do HIV [77]. Já Aasi e sua equipe utilizaram a teoria do funcional da densidade (DFT) nos NCs decorados com NPs metálicas para analisar a adsorção de peróxido de hidrogênio,

mostrando forte adsorção [78]. Os NTCs de carbono são classificados em dois tipos a seguir: NTCPUs (nanotubos de carbono de parede única) e NTCMPs (nanotubos de carbono de parede múltipla). Os de parede única são geralmente mais estreitos do que os tubos de paredes múltiplas, com diâmetros tipicamente na faixa de 1-2 nm, e tendem a ser curvos em vez de retos. Uma quantidade significativa de trabalhos foi realizada na última década para revelar as propriedades estruturais [72], eletromecânicas [73] e químicas exclusivas dos NTCs [74].

Para a interação entre NTCs e proteínas em meios biológicos pode afetar a maneira como as células interagem, reconhecem e processam as nanopartículas, e isso tem implicações relevantes para considerações de segurança [6]. Sendo que a funcionalização do NTC através de suas paredes, pontas ou por encapsulamento (os tubos de pontas abertas possuem capilaridade) tem sido vista como uma forma de explorar o potencial dos NTCs na nanotecnologia. Quando funcionalizados os NTCs apresentam estruturas quimicamente modificadas podendo ser usados de forma a facilitar a interação com moléculas orgânicas e biológicas e também com outros grupos químicos como fármacos ou moléculas tóxicas e, até mesmo, com o SARS-CoV-2 e bactérias [74].

Os pesquisadores hoje estão procurando nanomateriais à base de carbono para combater ou controlar o COVID-19, que se espalhou pelo mundo. O processo de adsorção é avaliado pelo poder de captura do vírus, e pela capacidade de inativação do mesmo [79].

2.5 Propriedades e características dos NTCs

A nanotecnologia vem despertando muito interesses nas comunidades científicas, e principalmente ao longo das últimas décadas muitos esforços foram feitos no sentido de atingir o tão desejado controle em nível atômico e molecular sobre os processos industriais. Com o surgimento dos materiais nanométricos, e em função deles, novas técnicas de caracterização foram projetadas e implementadas [72]. Os CNTs foram preparados pela primeira vez por Sumio Iijima (1991), sendo NTCPUs e NTCMPs geralmente feitos por descarga de arco de carbono [47], ablação a laser de carbono [46], ou deposição de vapor químico (normalmente em partículas catalíticas) [46]. O NTC são nanoestruturas cilíndricas com diâmetros da ordem de poucos nanômetros e comprimentos da ordem de microns, levando a grandes razões comprimento/diâmetro.

A força das ligações carbono-carbono fornece aos NTCs incríveis propriedades mecânicas. Nenhum material anterior exibiu a combinação de propriedades superlativas mecânicas, térmicas e eletrônicas atribuídas a eles. Suas densidades podem ser tão baixas

quanto $1,3 \text{ g/cm}^3$ (um sexto da do aço inoxidável) [74]. As propriedades eletrônicas dos NTCs também são extraordinárias. Sendo importante mencionar que os NTCs podem ser metálicos ou semicondutores [74]. Entretanto desde a primeira caracterização da fluorescência individual de CNTCPUs em 2002 [75]. Intensificou-se a exploração das propriedades ópticas intrínsecas do NTCPU como meio de transdução de sinal em dispositivos bio-ópticos. [78,6].

A fotoestabilidade, combinada com os limites de sensibilidade de uma única molécula e transparência óptica do tecido biológico para fluorescência no infravermelho próximo, comprovam o aumento do uso de NTCPU em plataformas de detecção para inúmeras aplicações [79, 80]. Em virtude de sua natureza altamente hidrofóbica, um dos principais desafios na engenharia de materiais à base de NTCs, é superar sua tendência pronunciada de se auto-associar fortemente na água e formar espessos, insolúveis, tornando-se agregados tóxicos [75].

Todavia os NTCs demonstraram potencial com propriedade de nanocarreador nobre e liberação de droga aumentada para células-alvo na terapia do câncer podendo serem alternativas terapêuticas contra SARS-CoV-2 [36,37]. Porém os diâmetros de nanotubos variam de 0,4 a 3 nm para CNTPUs e de 1,4 o pelo menos 100 nm para NTCPMs e suas propriedades podem assim ser ajustado alterando o diâmetro [81]. Em relação a sua condutividade elétrica, levando-se em consideração a estrutura eletrônica quase unidimensional, dos CNTPUs e NTCPMs, o transporte eletrônico ocorre balisticamente (ou seja, sem espalhamento) ao longo de comprimentos de nanotubos longos, permitindo que eles transportem altas correntes essencialmente sem aquecimento [82,83].

Os NTCs apresentam propriedades eletrônicas, óticas e mecânicas muito interessantes [84]. Outra característica dos NTCs é que, ao serem eletrificados, concentram o campo elétrico em suas extremidades e emite um grande número de elétrons, o que possibilitou seu uso em telas de imagens [85]. A tabela 1 mostra algumas das propriedades de NTCs, e sua comparação são mostradas com alguns outros materiais.

Desta forma, esses materiais têm sido usados na confecção de diferentes tipos de dispositivos, como emissores de elétrons para mostradores, sensores de gases e sensores biológicos, pontas para microscópio de força atômica (FAM) e, quando combinados a outros materiais, como polímeros e fibras, servem como elementos de reforço formando compósitos com excelentes propriedades mecânicas [86].

Tabela 1. Propriedades dos NTCs [85]

Propriedades	NTCPU	Comparando
Tamanho	0,6 a 1,8 nm de diâmetro.	A litografia por feixe de elétrons pode criar linhas de 50 nm de largura.
Densidade	1.33 a 1.40 g/cm ³	O alumínio tem uma densidade de 2,7 g/cm ³
Resistência a tração	45x10 ⁹ Pascal (Pa).	Ligas de aço de alta resistência quebram em cerca de 2x10 ⁹ Pa.
Resiliência	Eles podem ser dobrados em grandes ângulos e retornar ao seu estado original sem danos.	Metais e fibras de carbono fraturam sob tensões semelhantes.
Capacidade condutora	Estimado em 10 ⁹ de amperes por centímetro quadrado.	Os fios de cobre queimam ao conduzir 10 ⁶ de amperes por centímetro quadrado.
Emissão de campo	Eles podem ativar fósforos com 1 a 3 volts se os eletrodos estiverem espaçados de um micrôn.	As pontas de molibdênio requerem campos de 50 a 100 volts/m e têm vida útil muito limitada.
Transmissão de calor	Prevê-se que seja tão alto quanto 6.000 W/mK, à temperatura ambiente.	O diamante quase puro transmite 3.320 W/mK
Estabilidade térmica	Estável mesmo a 2.800 graus Celsius no vácuo e 750 ° C no ar.	Fios metálicos em microchips derretem entre 600 e 1000°C

De acordo com os dados mostrados na tabela 1 os NTCs podem gerar “ondas termelétricas” e de acordo com sua capacidade condutora podem durante uma interação com um soluto ou um solvente gerar uma corrente elétrica [86]. Por exemplo, os NTCs podem criar uma corrente simplesmente interagindo com o líquido ao seu redor. Este líquido sendo um solvente orgânico tende a extrair elétrons dos NTCs, gerando uma corrente que pode ser usada para impulsionar uma reação química. Então se deve levar em consideração que uma proteína do SARS-CoV-2 fluindo por um leito do NTC durante interação, possa vir a produzir um potencial eletroquímico, de forma que o vírus ao receber uma corrente elétrica seja eletrocutado.

A seguir sequenciando o estudo das nanopartículas e suas aplicações, descreve-se uma abordagem sobre os QDGs.

2.6 QDGs e seu potencial de interação com biomoléculas

Os pontos quânticos são pequenas partículas semicondutoras em nanoescala que exibem propriedades ópticas e eletrônicas únicas devido ao seu confinamento quântico dependente do tamanho [87]. Eles são normalmente compostos por um núcleo de um material semicondutor, como o seleneto de cádmio (CdSe), que é envolto por uma casca de outro material, como o sulfeto de zinco (ZnS). O tamanho e a composição dos pontos quânticos podem ser controlados com precisão, como a adição de oxigênio à sua estrutura, o que permite o ajuste de suas propriedades ópticas e eletrônicas [88].

Os pontos quânticos têm uma variedade de aplicações potenciais, inclusive na biomedicina, onde podem ser usados como sondas de imagem ou como biossensores em nanoescala. Eles também são usados em monitores, células solares e LEDs devido à sua capacidade de emitir luz em uma faixa de comprimento de onda estreita e dependente do tamanho [89]. Além disso, os pontos quânticos foram explorados por seu potencial como materiais fotovoltaicos e como catalisadores de reações químicas [90].

Os pontos quânticos de óxido de grafeno (QDGs) são um tipo de pontos quânticos feitos de OG, um material derivado do grafeno composto por uma única camada de átomos de carbono com grupos funcionais contendo oxigênio. Os QDGs possuem propriedades ópticas e eletrônicas únicas devido à combinação da estrutura bidimensional do OG e à presença de grupos funcionais contendo oxigênio.

Os QDGs têm uma gama de aplicações potenciais em campos como a biomedicina, onde podem ser usados como sondas de imagem ou biossensores. Eles também têm usos potenciais em armazenamento e conversão de energia, como em supercapacitores [91] e

baterias [92]. Além disso, os QDGs têm sido explorados por seu potencial como catalisadores de reações químicas devido à sua alta área superficial e capacidade de adsorver e ativar reagentes.

As propriedades dos QDGs podem ser afetadas pela presença de grupos funcionais e pelo tamanho dos pontos, e sua síntese e caracterização são áreas de pesquisa em andamento [93,94]. Os OGs têm várias vantagens, incluindo propriedades ópticas, boa estabilidade química e fotoquímica. O carbono é amplamente não tóxico. Essas características tornam os OGs muito desejáveis como alternativas aos pontos quânticos semicondutores para a visualização de sistemas biológicos *in vitro* e *in vivo*. Os OGs interagem seletivamente com macromoléculas apenas com receptores na membrana celular.

2.7 Interações de biomoléculas com NTCs e OGs

Nos últimos anos, esforços têm sido dedicados a explorar as aplicações biológicas potenciais dos NTCs, motivados por seu tamanho, forma e estrutura interessantes, bem como por propriedades ópticas e elétricas atraentes. Primeiro, com todos os átomos expostos na superfície, os NTCs têm uma área de superfície ultra-alta (teoricamente $1300 \text{ m}^2/\text{g}$) que permite o carregamento eficiente de várias moléculas ao longo do comprimento da parede lateral do NTC. Em segundo lugar, a ligação supramolecular de moléculas aromáticas (apresentam estabilidade e propriedades especiais devido a um circuito fechado de elétrons) pode ser facilmente alcançada - empilhando essas moléculas na superfície poliaromática dos NTCs [74].

No entanto uma molécula será imobilizada, somente quando seu movimento no espaço for restringido completamente ou a uma pequena região limitada por ligação a uma estrutura sólida. Então de acordo com [74], os NTCs apresentam um bom suporte para a imobilização de enzimas. Os NTCs fornecem um microambiente biocompatível que ajuda as enzimas a reter suas propriedades catalíticas. Além de proteínas, outras moléculas biológicas também podem ser imobilizadas em NTCs, como ácidos nucleicos, antígenos, peptídeos e drogas. O tipo de biomolécula imobilizada nos NTCs leva a diferentes aplicações o que confere grande versatilidade a esses conjugados de biomoléculas [74].

O diâmetro do NTC é um parâmetro crucial para garantir uma adsorção desejada de proteínas pelo NTC. Idealmente, o diâmetro deve ser maior que 10 nm, conforme sugerido por um conjunto crescente de evidências científicas. A relação entre o diâmetro do NTC e a afinidade de fixação das proteínas também é um aspecto relevante a ser considerado.

Além disso, a curvatura da superfície do NTC exerce influência sobre as proteínas adsorvidas. Esses efeitos parecem estar mais relacionados à geometria curva do material do que às propriedades químicas específicas dos NTCs, como pode ser observado também em outras nanopartículas curvas, como as nanopartículas de ouro, em maior extensão do que em superfícies planas com estrutura química similar [32].

A biocompatibilidade dos pontos quânticos torna-os capazes de interagir efetivamente com vírus e bloquear a infectividade viral, como exemplificado pelos pontos quânticos de OGs funcionalizados com ácido borônico e/ou funções amina, os quais interferem na entrada do vírus herpes simplex tipo 1 [24]. Além disso, a adsorção de OGs na superfície de células bacterianas pode levar à desativação bacteriana, visto que esses OGs alteram o equilíbrio de carga da superfície bacteriana e são inseridos na membrana bacteriana por meio de suas longas cadeias de alquil, resultando na inativação das bactérias [95].

2.8 Simulação de DM e DOC

Com o aumento do poder de processamento dos computadores nos últimos tempos, os cálculos de sistemas com milhares de átomos podem ser agora realizados. Estas técnicas são capazes de prever o comportamento de nanoestruturas sintetizadas experimentalmente. A metodologia permite também que o pesquisador experimental possa avaliar a priori experimentos de difícil execução. Além disto, a modelagem computacional permite a descoberta de novos materiais [74].

Tem-se como objetivo desenvolver uma simulação por meio da DM onde se verifique a interação entre os átomos do domínio proteico (sítio ativo) de ligação do SARS-CoV-2 livre com o receptor, ligante livre de um NTC. As coordenadas atômicas do sistema complexo de trajetórias simuladas devem ser salvas em intervalos de tempo da ordem de ps (picosegundo) ao longo das simulações. Ficando o número total de átomos e os parâmetros físicos como temperatura e pressão mantidos iguais para cada condição simulada. A simulação de DM se realizará com NTC, tendo o intuito de capturar o movimento preciso do SARS-CoV-2 com a estrutura acoplada do NTC. Essas trajetórias de movimento são relevantes para o cálculo das energias de ligação e a estabilidade e o equilíbrio da estrutura complexada é garantido pelo RMSD, raio de giro e sua plotagem no tempo [77].

O estudo de simulação DM também ajuda a compreender a termodinâmica das interações em termos de energia de ligação livre. Esses tipos de NTCs podem encontrar

aplicações potenciais em equipamentos de proteção individual ou kits de diagnóstico. Também relatamos a correlação direta entre a energia de ligação e os diferentes comprimentos de NTCs [65].

2.9 Técnica de produção de NTCs

O NTC é um dos materiais mais forte conhecido até agora, com propriedades mecânicas surpreendentes [86]. Ele possui uma estrutura unidimensional única, grande área superficial específica, sendo também hidrofóbico [96] e oleofílico [96]. Sendo os métodos de preparação mais utilizados na obtenção de NTC a descarga por arco, ablação por laser e deposição química de vapor. Métodos de descarga por arco e ablação por laser são baseados na condensação de átomos de carbono gerados pela evaporação (sublimação) de carbono a partir de um precursor sólido, geralmente, grafite de alta pureza.

A temperatura de evaporação envolvida em tais processos aproxima-se da temperatura de fusão do grafite, de 3000 a 4000 °C. O método de ablação por laser também tem sido utilizado na síntese de NTC, e assemelha-se em alguns aspectos ao método de descarga por arco. Neste método, o grafite é vaporizado pela irradiação laser na presença de um gás inerte [95]. Historicamente, a ablação por laser foi o primeiro método utilizado para gerar fulerenos na fase gasosa [96].

No método de ablação por laser o carbono é vaporizado da superfície de um bastão sólido de grafite ($d \sim 1,25\text{cm}$) em um fluxo de hélio ou argônio de velocidade de 0,2-2 cm/s e pressão de 500 torr ($1\text{ mmHg} = 1,000000142\text{ Torr}$). O grafite é colocado no meio de um tubo de quartzo e o tubo é levado para um forno tubular com temperatura controlada. Depois de fechar o tubo de quartzo este é evacuado ($<10\text{ torr}$) e a temperatura é aumentada para 1200 °C. O tubo, então, é preenchido com o gás inerte e o laser é focalizado sobre o alvo de grafite, com o auxílio de lentes para produzir um *spot* de 3-6 mm. O laser varre toda a superfície do alvo de grafite para manter uma superfície de vaporização sempre lisa e uniforme. O fluxo de gás inerte arrasta as espécies de carbono geradas, na zona de alta temperatura, e deposita tais espécies em um coletor cônico de cobre, resfriado por água, localizado na extremidade oposta do tubo de quartzo [97].

Thess e colaboradores [98] propuseram o uso de dois lasers pulsados sucessivos para minimizar a quantidade de carbono depositado como fuligem. O segundo laser quebraria as partículas maiores produzidas pelo primeiro, alimentando o crescimento de estruturas tubulares.

O método de ablação por laser também produz NTCPU e NTCPM. Os NTCPM são

produzidos quando grafite puro é submetido à ablação. Os tubos obtidos apresentam de 4 a 24 cilindros concêntricos e comprimento superior a 300nm. Quando a temperatura do forno se reduz, as paredes dos nanotubos apresentam defeitos estruturais e para temperaturas menores do que 200 °C, não se observa nanotubos. Por outro lado, os NTCPUs são produzidos quando uma pequena quantidade de metal de transição, geralmente Co, Ni, Fe e Y ou uma combinação deles, é misturada ao grafite [98].

Os NTCPUs podem ser obtidos por meio do método de descarga por arco e por ablação a laser, por este método tornam-se mais puros do que aqueles produzidos por descarga por arco (70-90 % de pureza) [98]. As impurezas encontradas são partículas de grafite, carbono amorfo, fulerenos e partículas metálicas, levando a necessidade de uma etapa de purificação.

É importante mencionar que o rendimento depende de vários fatores tais como: o tipo de catalisador, potência e comprimento de onda do laser, temperatura do forno, pressão, tipo do gás e geometria do fluxo próximo do alvo de grafite. Já o método de DVC se baseia na decomposição de gases (ou vapores) precursores contendo átomos de carbono, geralmente, um hidrocarboneto, sobre um metal catalisador. A decomposição, geralmente, é realizada em temperaturas abaixo de 1000 °C [98].

Uma das principais barreiras para a aplicação industrial de NTCs está no custo de seus precursores carbonáceos. Várias fontes de carbono têm sido usadas para produzir NTCs desde sua primeira descoberta por Iijima em 1991 *apud* [75]. O uso prático de enzimas foi realizado em vários processos industriais e está sendo expandido em novos campos, como síntese química fina, produtos farmacêuticos, biossensores e células de biocombustível. A imobilização enzimática é fundamental para as tecnologias debiorreatores e biossensores [75].

2.10 Estrutura geométrica de NTCPUs

O CNTPU, que é uma camada de folha de grafeno envolta em forma cilíndrica com um diâmetro de cerca de 1 nm e um comprimento de muitos micrômetros, é controlado pela orientação do ângulo quiral e pelo diâmetro do tubo [80]. O vetor quiral C_h é definido na Equação 1.

$$C_h = na_1 + ma_2, \quad (1)$$

em que a_1 e a_2 são vetores de base. Um par inteiro é usado para especificar a orientação da estrutura dos NTCs [76], conforme apresentado na Fig. 2.

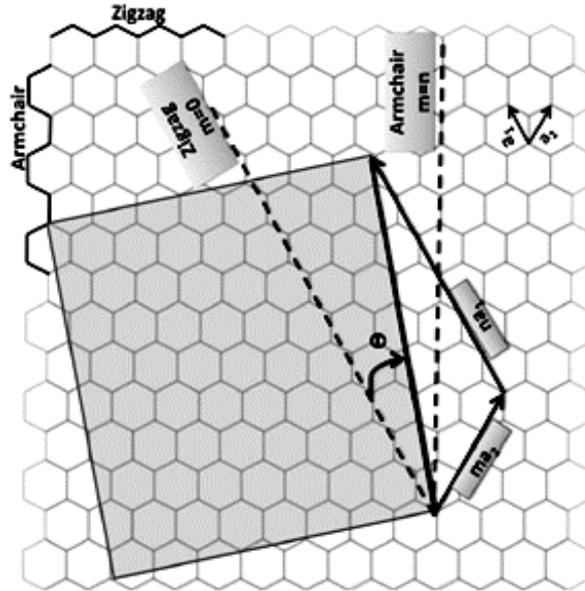


Figura 2. Rede hexagonal da folha de grafeno e suas orientações e vetores de base [82].

onde $a = (3)^{-1/2}a_{c-c}$, é a constante de rede e $a_{c-c} = 1,42 \text{ \AA}$ é o comprimento da ligação. No caso de $n=m$, o nanotubo é chamado de estrutura de armchair, o qual é um tipo específico que possui estrutura cilíndrica apresentando as extremidades retas que se assemelham ao braço de uma cadeira, sendo o nome armchair dado devido a semelhança com as bordas de uma cadeira. Se, m for igual a zero, NTCPU é chamado de estrutura em ziguezague. Em outra forma geométrica se obtém o nanotubo quiral com estrutura geométrica helicoidal e assimétrica não regular, sendo sua orientação espiralada. A quiralidade é determinada pela diferença entre o número de subunidades hexagonais e pentagonais em uma única volta do nanotubo, sendo suas propriedades eletrônicas variáveis de isolantes alta resistência a condutores baixa resistência. A Figura 4 mostra três possíveis orientações da estrutura dos NTCPUs. As relações entre o ângulo quiral e a base de vetores de rede podem ser descritas pela equação 2.

$$\theta = \arctag\left(\frac{-\sqrt{3}m}{2n+m}\right), 0 \leq \theta \leq 30^\circ. \quad (2)$$

O vetor quiral C_h conecta dois sítios cristalograficamente equivalentes sobre a camada 2D do grafeno. O ângulo quiral é o ângulo em relação à direção zigzag. Cada par (n,m) (Figura3a) gera um modo diferente da camada de grafite se enrolar, levando a um nanotubo de certa quiralidade (ângulo quiral). Casos limites aparecem quando $n = m \neq 0$, formando tubos armchair e quando $n \neq 0$ e $m=0$, formando nanotubos tubos zigzag, os

quais se diferenciam dos armchair pela posição dos átomos de carbono em sua estrutura. Os nanotubos zigzag são cilíndricos e apresentam uma rede hexagonal de átomos de carbono, sendo suas extremidades formadas por bordas com orientação zigzag, as quais são linhas retas que conectam os átomos de carbono adjacentes. Os zigzags podem ser semicondutores ou condutores de eletricidade, dependendo da forma como são construídos e também levando em consideração seu diâmetro.

Já os nanotubos quirais apresentam uma estrutura helicoidal com simetria regular, o que os proporciona propriedades ópticas e eletrônicas, sendo importante mencionar que podem ter diferentes ângulos de torção. Esses tipos de nanotubos são formados nas demais combinações de n e m , na qual a direção do vetor quiral difere da delas dos eixos de simetria, sendo que os átomos equivalentes da cela unitária são alinhados sobre uma espiral [75].

As propriedades dos NTCPU são fortemente influenciadas pelo seu diâmetro e quiralidade, principalmente, as propriedades eletrônicas, pois a maneira com que a camada de grafite foi enrolada influencia diretamente na posição das bandas de valência e condução das nanoestruturas. Desta maneira, os nanotubos apresentam comportamento metálico ou semicondutor, dependendo da sua simetria. Todos os nanotubos armchair apresentam características metálicas. Os outros nanotubos zigzag e quiral são semicondutores. Foi observado que para NTC semicondutores a energia do *band gap* apresenta uma dependência com o inverso do diâmetro dos tubos [75].

Além disso, uma completa caracterização da estrutura atômica dos nanotubos é essencial para entender as propriedades medidas. A caracterização estrutural também é importante para entender os mecanismos de crescimento e estudar a influência das condições de síntese sobre os nanotubos produzidos.

2.11 Grafeno e óxido de grafeno (OG)

Em particular, o emprego do grafeno em compósitos tem atraído grande interesse da comunidade científica devido as suas propriedades físicas excepcionais, fazendo dessas nanoestruturas excelentes candidatas para uso potencial em materiais avançados nas indústrias eletrônica, automotiva, mecânica, aeroespacial e para a aplicação em supercapacitores [74], células solares [91], dispositivos de memória [98] transistores [75], biossensores [97] e distribuidores de drogas [99].

Entretanto, avanços nesses setores dependem da habilidade de se produzir nanofolhas de grafeno, bem como de inseri-las eficientemente em arquiteturas cada vez mais complexas. A melhoria das propriedades físico-químicas desejadas para cada dispositivo ou material depende do grau de dispersão desses nanomateriais, por exemplo, em sistemas de solventes e líquidos iônicos Ribeiro *et al.*; 2013 *apud* [99] ou em materiais cerâmicos Porwal *et al.*, 2013 *apud* [99] Em particular, o grau de esfoliação e modificação química das nanofolhas de grafeno como promotores de uma interação eficiente entre a nanocarga e o agente hospedeiro também determinam as propriedades físicas finais do material compósito produzido.

O grafeno foi teoricamente estudado na década de 60 quando, em 1962, Boehm e colaboradores [98] separaram finas lâminas de carbono por aquecimento e redução do óxido de grafite. Entretanto, acreditava-se até então que essas nanofolhas quando isoladas eram termodinamicamente instáveis em condições ambientes. Segundo (Ribeiro, 2015) [91] em 2004, Geim e Novoselov da Universidade de Manchester produziram nanofolhas de grafeno através do processo de micro-esfoliação mecânica do grafite.

Dessa maneira, o grafeno pode ser entendido como uma única camada gráfica bidimensional estável formada somente por átomos de carbono hibridizados em sp^2 e dispostos em anéis hexagonais, podendo ser considerado teoricamente como um bloco fundamental para a construção dos outros sólidos covalentes alotrópicos do carbono hibridizados em sp^2 , tais como, o grafite [91] os fulerenos [98] e os nanotubos de carbono (NTC) [99].

O desenvolvimento de vários métodos de preparação do grafeno vem ganhando relevância devida esta nanoestrutura exibir excelentes propriedades mecânicas, térmicas e elétricas, além de apresentar alta flexibilidade. Foi observado que o grafeno apresenta grande mobilidade de cargas ($200.000 \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$). Duas ordens de grandeza maior que o silício e seu transporte elétrico se dá de forma balística à temperatura ambiente. Sua condutividade térmica é de aproximadamente $5.000 \text{ W m}^{-1} \text{ K}^{-1}$ e apresenta elevada área superficial ($2.630 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) Stoller *et al.*, 2008 *apud* (Ribeiro, 2015) [99]. Além do mais, vale a pena ressaltar que o grafeno apresenta módulo de elasticidade de 1,1 GPa e resistência à tração de 125 GPa, 200 vezes maior que o aço [91].

Usando aproximações do modelo de elétrons fortemente ligados (*Tight Binding Model*), que não será abordado neste trabalho, foi verificado que o comportamento eletrônico do grafeno é compatível a de um semicondutor de *gap* nulo [98]. Os orbitais π , responsáveis pela condutividade elétrica, se dispersam em duas bandas distintas, que se

tocam no ponto K no nível de Fermi. Próximos a este ponto, as energias dos elétrons são linearmente dependentes de seus vetores de ondas e comportam-se como partículas relativísticas devido ao fato de apresentarem forte efeito Hall quânticas [22]. Somente os elétrons que estão próximos ao ponto K participam do processo de condução eletrônica Fuhrer *et al*, 2010 *apud* (Ribeiro, 2015) [91]. As nanofolhas contendo duas camadas de grafeno exibem bandas eletrônicas parabólicas, enquanto as de três camadas apresentam bandas eletrônicas como uma combinação de um mono e bicamadas e tendem a sobrepor-se.

O grafeno possui excelentes propriedades físicas e biológicas que podem ser usadas para detectar [10] e inibir proteínas de superfície viral. Sametband e seu grupo [25] utilizaram o grafeno para as proteínas-alvo do HSV e usaram OG para inibir o vírus pelo bloqueio de fixação viral. Também, foi aplicada a atividade fotocatalítica do OG para a inibição de vírus. Hu e colaboradores prepararam a OG com fotocatalise bem sucedida de vírus por meio de transferência de energia sob iluminação de luz visível [100].

O OG é produzido após o processo de oxidação do grafite, seu óxido é esfoliado em suspensão via ultrassom produzindo as nanofolhas de OG que geralmente podem ser reduzidas termicamente ou na presença de hidrazina, dimetilhidrazina, hidroquinona ou NaBH_4 Mcallister *et al*, 2007 *apud* [100].

O tamanho, a forma e a composição do grupo funcional dos pontos quânticos de grafeno (QDGs) dependem do precursor e do método de sua síntese. Os grupos funcionais dos QDGs influenciam fortemente seus espectros de energia, em particular, o gap de energia e, portanto, suas propriedades ópticas, como fotoluminescência e absorção. Aqui, a influência dos grupos funcionais de borda no intervalo de energia entre os orbitais moleculares desocupados mais altos e mais baixos (HOMO E LUMO) e os espectros vibracionais dos QDGs é investigada por meio de cálculos químicos quânticos. Os cálculos foram realizados utilizando o método Hartree-Fock levando em conta a energia de correlação eletrônica por meio da teoria do funcional da densidade (DFT) implementada no programa Firefly (Granovsky, MSU) [101].

Por outro lado, a modelagem molecular com diferentes níveis de teoria é uma ferramenta eficaz para estudar as propriedades físicas, químicas e biológicas dos nanomateriais de carbono. Ele poderia ser utilizado para alguns dos derivados de grafeno, como o fulereno, para testar a funcionalidade de sua superfície para aplicações de detecção de gás (Li *et. al.* 2015) *apud* [102]. A modelagem molecular também pode ser aplicada para estudar o efeito da modificação de superfície e atividade biológica para aplicações

como inibidor de anti-protease (Ibrahim *et. al.* 2010) *apud* [102]. Recentemente, as diferentes funcionalidades dos nanomateriais de carbono foram revisadas. Percebe-se que a substituição pode afetar o comportamento biológico e as propriedades eletrônicas do fulereno (Ibrahim *et. al.* 2017) *apud* [102].

Os QDGs e grafeno exibem atributos surpreendentes para a biossensoria eletroquímica [103] atual devido à sua notável solubilidade em vários solventes, baixa toxicidade intrínseca, altas características eletrônicas, forte inércia química, grande área de superfície específica, disponibilidade de locais de borda abundantes para funcionalização, biocompatibilidade significativa, baixa custo e versatilidade, bem como sua capacidade de ser alterada com químicas de superfície, incluindo materiais nanoestruturados. Esses QDGs podem ser aplicados como tags de sinal ou modificadores de superfície de eletrodo para produzir biossensor eletroquímico (Campuzano *et al.* 2019) *apud* [102].

Sun e colaboradores produziram pontos quânticos de carbono fotoluminescentes estáveis [21]. Barras e seu time relataram que pontos quânticos funcionalizados com ácidoborônico restringem a entrada do vírus herpes simples tipo 1 em seu estágio inicial [104]. As nanoestruturas de carbono derivadas fizeram a inativação do vírus. Huang e colaboradores [20] prepararam pontos quânticos derivados de monômero de benzoxazina e exerceram atividade antiviral contra doze vírus semelhantes ao vírus da SARS-CoV-2.

Na sequência abordam-se os materiais e métodos aplicados na DOC juntamente com a DM entre ligante e receptor.

CAPÍTULO 3 – MATERIAIS E MÉTODOS

Nesta abordagem, serão discutidos os procedimentos adotados nas duas simulações realizadas. Na primeira simulação, foram investigadas as interações entre NTCPUs/E-pro, abrangendo os três tipos de NTCPUs ligantes, e sequencialmente com as proteínas M-pro e S-gly. Todo, foram realizadas 9 interações entre NTCPUs e proteínas. Já na segunda simulação, foram analisadas as interações entre QDGs/S-GLY-OMICRON, seguidas pelas interações com S-GLY-KAPPA e S-GLY-DELTA. O objetivo principal dessas simulações é compreender as interações envolvendo os NTCPUs e QDGs, visando aplicações práticas no combate ao vírus SARS-CoV-2.

3.1 Procedimento de DOC

Para a análise das interações dos NTCPUs e QDGs em estudo com as estruturas externas da superfície dos SARS-CoV-2, citadas anteriormente, utilizou-se o software AutoDock Vina 4.2.6. [39]. Este software é um conjunto de ferramentas de DOC automatizado. É projetado para prever como pequenas moléculas (ligantes) se ligam a um receptor de estruturas de biomacromoléculas-alvo, produzindo resultados com acurácia média nas previsões do modo de ligação, realizando interface gráfica com o AutoDock Tools quase instantaneamente. Os termos baseados na mecânica molecular são multiplicados por coeficientes que são determinados por análise de regressão linear de complexos com estruturas 3D e energias livres de ligação conhecidas como:

Termo referente a VDW:

$$\Delta G_{vw} = W_{vw} \sum_{i,j} \left(\frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} \right), \quad (3)$$

Termo referente à Lei de Coulomb (eletrostático):

$$\Delta G_{el} = W_{el} \sum_{i,j} \left(\frac{q_i q_j}{\epsilon(r_{ij}) r_{ij}} \right), \quad (4)$$

Termos referente a torção: $\Delta G_{tor} = W_{tor} N_{tor}, \quad (5)$

onde N_{tor} é o número de todos os ângulos de rotação, exceto ligações de guanidina e amido, etc.

Termo referente à dessolvatação:

$$\Delta G_{des} = W_{des} \sum_{i,j} (S_i V_j + S_j V_i) e^{r_{ij}^2 / 2a^2}, \quad (6)$$

onde:

$$S_i = a_i + k |q_i|, \quad e \quad S_j = a_j + k |q_j|, \quad (7)$$

$$\Delta G_{des} = W_{des} \sum_{i,j} (a_i V_j + k |q_i| V_j + a_j V_i + k |q_j| V_i) e^{r_{ij}^2 / 2a^2}, \quad (8)$$

$$\Delta G_{des} = \Delta G_{des,pre} + \Delta G_{des,lig}, \quad (9)$$

$$\Delta G_{des,pre} = W_{des} \sum_{i,j} (a_i V_j + a_j V_i + k |q_j| V_i) e^{r_{ij}^2 / 2a^2}, \quad (10)$$

$$\Delta G_{des,lig} = W_{des} \sum_{i,j} k (|q_i| V_j) e^{r_{ij}^2 / 2a^2}, \quad (11)$$

$$\Delta G_{des,ligmp} = W_{des} \sum_{i,j} k (V_j) e^{r_{ij}^2 / 2a^2}, \quad (12)$$

$$\Delta G_{des,lig} = W_{des} |q_i| \Delta G_{des,ligmp}, \quad (13)$$

$$G = \Delta G_{VW} + \Delta G_{el} + \Delta G_{tor} + \Delta G_{des} + \Delta G_{lig}, \quad (14)$$

onde as variáveis da energia livre de Gibbs são: W_{VW} , W_{wb} , W_{tor} , W_{des} e W_{lig} .

$$\Delta G = EA. \quad (15)$$

Os ângulos de torção nos ligantes permitem a execução de DOC em todo o processo parametrizado. Após a simulação de DOC dos ligantes/receptores obtém-se os resultados em termos de interações e a estabilidade atingida. Sendo que todos os ângulos

de torção nos ligantes foram relaxados, permitindo a execução da DOC flexível, enquanto os receptores permaneceram rígidos durante todo o processo.

3.2 Preparação dos receptores

As estruturas cristalinas mostradas na figura 3 das proteínas M-pro, S-gly e a E-pro (PDB ID: 6M2N, 7BW4 e 7K3G) foram extraídas do Protein Data Bank (PDB) (<https://www.rcsb.org>) repositório [105,106]. As estruturas foram preparadas usando o software GaussView 6 [107] e posteriormente minimizadas usando o campo de força de construção assistida de modelo com refinamento de energia (AMBER) ff14SB [108,109].

Depois de minimizadas as estruturas foram submetidas a um processo de triagem virtual por DOC e DM. Os ligantes foram modelados nos softwares Nanotube Modeler (<http://www.jcrystal.com/products/wincnt/>), e todos os cálculos de otimização de geometria dos ligantes foram realizados usando o software Gaussian 09W [110]. As otimizações de estruturas e os cálculos de energias de adsorção foram realizados utilizando o método da Teoria do funcional da densidade (DFT) [111,112], que apresentou resultados confiáveis, em relação a métodos computacionalmente mais caros [113,114]. Otimizações de todas as estruturas foram realizadas usando o método de cálculo quântico B3LYP que descreve as propriedades eletrônicas de um sistema molecular, por meio da TDF com a aproximação do gradiente generalizado de Becke (B3) e a função de troca intuitiva de Lee, Yang e Parr [115,116].

No entanto pode-se concluir que o método B3LYP em combinação com conjuntos de bases padrão 6-311G disponível no Gaussian é amplamente utilizada para cálculos de estrutura eletrônica, conhecidas como funções de orbitais, usadas para representar os orbitais eletrônicos dos átomos na molécula. A notação 6-311G tem o número 6 indicando o conjunto de funções dos orbitais internos do átomo 1s e 2s. O número 3 indica o conjunto de funções dos orbitais valência do átomo, 2p e o número 1 indica uma função adicional, chamada de função difusa, que tem o intuito de melhorar a descrição de elétrons em regiões distantes do núcleo.

A metodologia empregada foi baseada em conjuntos básicos por causa de nossos recursos computacionais limitados e devido ao estudo de grandes sistemas. No entanto, cálculos de efeito de ponto único e solvente foram feitos usando o método DFT mais apropriado, o conjunto de base 6-311G para obter valores mais confiáveis. Este método é um dos melhores métodos DFT para estudar as interações intermoleculares. Todas as simulações foram realizadas com base no modelo receptor + ligante [117], onde três

estruturas de receptores foram selecionadas (E-pro, M-pro e S-gly) do Protein Data Bank (PDB; (www.rcsb.org/pdb)) [118].

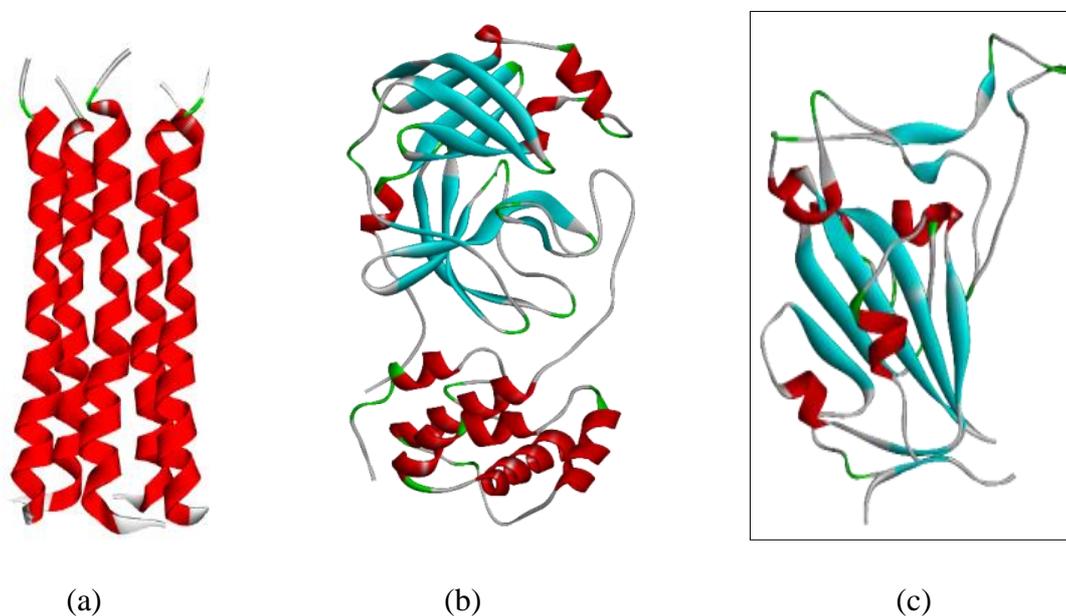


Figura 3. Estrutura molecular de: a) M-pro (PDB ID: 7K3G), b) S-gly (PDB ID: 7BZ5) e c) E-pro (PDB ID: 6LU7). Fonte: Adaptado do site PDB.

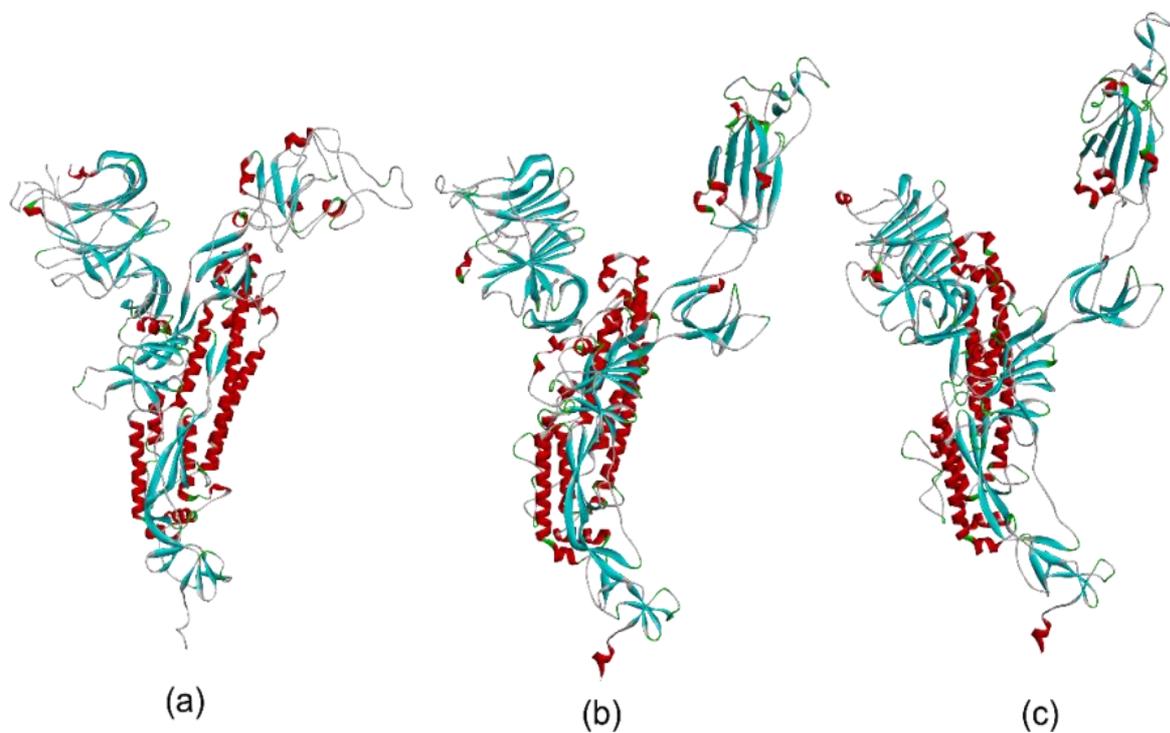


Figura 4: Macroestruturas utilizadas: a) Omicron (B.1.1.529); b) Kappa (B.1.617.1); c) Delta (B.1.617.2).

Todas as simulações foram realizadas com base no modelo receptor + ligante, sendo que para as interações com os OGs se utilizou como ligantes três tipos de proteínas S-gly mostradas na figura 4, as quais são: S-GLY-OMICRON (PDB-ID: 7qoq) [117], S-GLY-KAPPA (PDB-ID:7v7g) [118] e S-GLY-DELTA (PDB-ID:7v7v) [119] estruturas do banco de dados de proteínas (PDB) que foram selecionadas; (www.rcsb.org/pdb).

Para encontrar as condições ideais que satisfazem os vários receptores predefinidos, surge uma complexidade adicional para tarefas que envolvem experimentação ou cálculos computacionais. Em condições ideais, neste sentido, utilizamos dentro da plataforma CHGUI o campo de força AMBERFF14SB [120] para obter a estrutura com a melhor conformação baseada no conjunto de moléculas [121].

3.3 Preparação dos ligantes NTCs e OGs

Os ligantes foram os 3 NTCs com diferentes formatos geométricos e 5 OGs. As estruturas dos receptores de NTCs mostrados na figura 5 foram otimizadas usando-se o software Chimera 1.15.6 (CHM) [122] para encontrar as condições ideais que satisfizessem os vários locais predefinidos, a complexidade adicional surge para tarefas que envolvem experimentação ou cálculos computacionais [123].

Usamos CHM como uma realização escalar de propósito geral função para otimização multialvo, onde as avaliações são o fator limitante e seu desempenho foi bem estabelecido usando diferentes algoritmos de otimização de propósito único.

Os resultados indicam que o CHM permite que uma ampla classe de algoritmos de otimização encontre rapidamente as condições ideais, neste sentido utilizamos o campo de força (AMBER)ff14SB [124]. O DOC foi realizado usando o software AutoDock Vina 4.2.6 (ADV) [125]. Nesse cálculo, os ligantes foram considerados flexíveis, enquanto os receptores foram tratados como uma estrutura rígida.

Nessas interações, consideramos a mudança na energia de afinidade (kcal/mol). Porém, para os três ligantes investigados, 30 poses ao longo das macroestruturas foram geradas a partir do algoritmo genético do ADV que avalia a energia de afinidade de ligação à proteína usando uma função de pontuação com base.

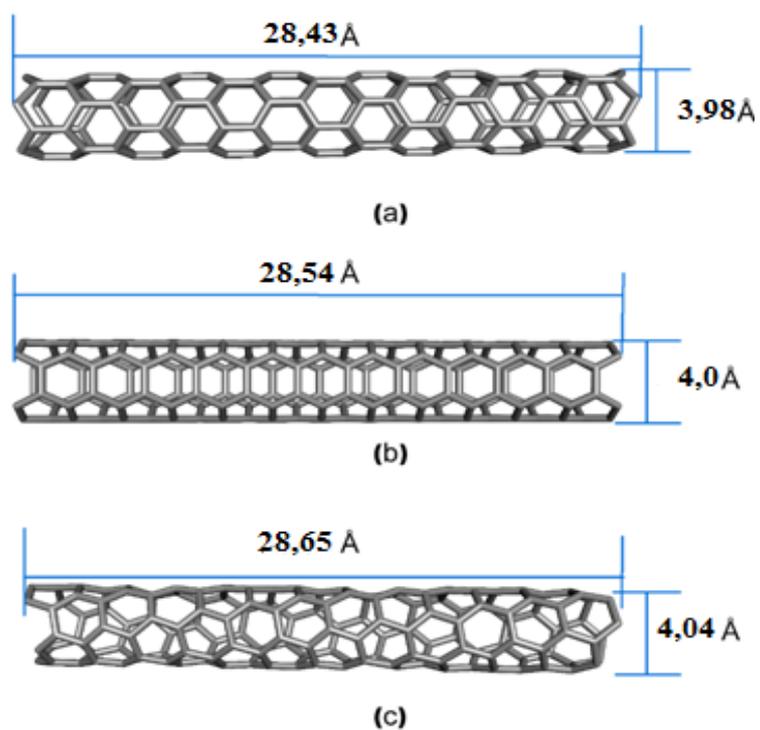


Figura 5. Estruturas de NTCPUs 3D usadas no estudo *in silico*: a) zigzag, b) armchair e c) chiral.

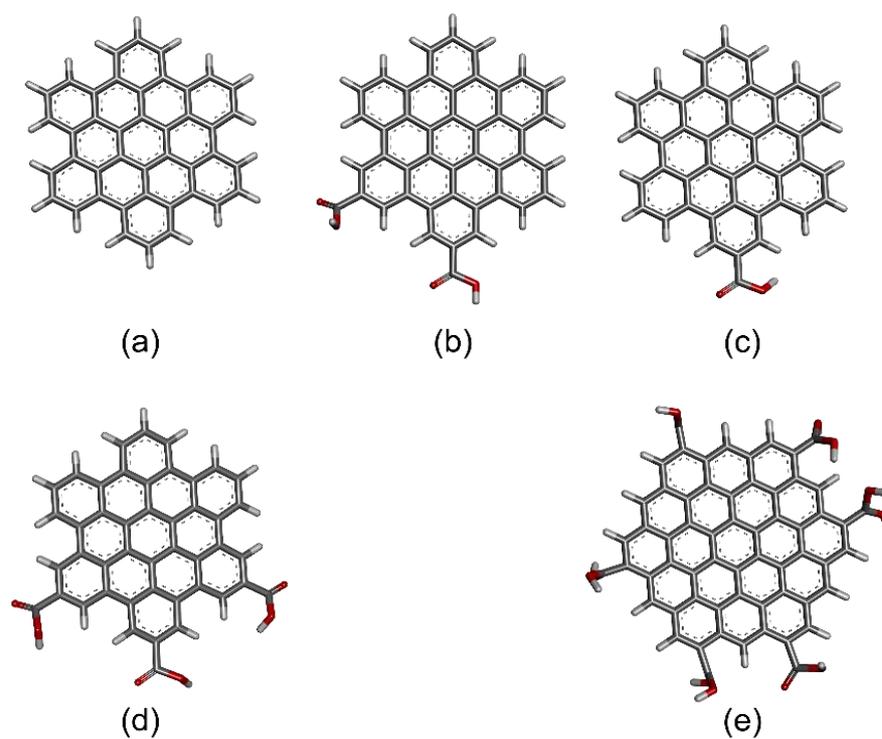


Figura 6: Macroestruturas de OGs utilizadas: a) OG-A; b) OG-B; c) OG-C; d) OG-D; e) OG-E.

As dimensões dos NTCPUs correspondem aos seguintes valores, 3,98 Å de raio e 28,43 Å de comprimento para o CNTPU zigzag, 4,00 Å de raio e 28,54 Å de comprimento para o NTCPU armchair e por fim 4,04 Å de raio e 28,65 Å de comprimento para o NTCPU chiral. Os NTCPUs obtiveram diâmetro médio de 12,04 Å e comprimento de 28,54 Å, com variação percentual de 2,4% e 0,8% para o raio e o diâmetro respectivamente.

Já os cinco tipos de receptores OGs foram otimizados usando o servidor CHARM-GUI (CHGUI), o qual é uma ferramenta da área de DM. Sua aplicação se dá na preparação e configuração de sistemas moleculares complexos por meio de uma interface gráfica com intuito da realização de simulações. Dessa forma se produz a montagem de um sistema biológico com adição de solventes e íons [126]. O algoritmo usado no CHGUI possui um esquema de interpolação eficiente e seleção automática do tamanho do passo. As estruturas tridimensionais dos ligantes foram construídas no software Gauss View 06 [127] na conformação mais estável de cada ligante que foi pesquisado conforme a Figura 6. Para a otimização das estruturas mostrada na figura 6, foi utilizado o software Gaussian 09W [128], utilizando o método funcional da teoria da densidade (DFT).

O melhor conformador foi escolhido e otimizado pela abordagem DFT com o método B3LYP / LANL2DZ (d, p) que inclui interações de dispersão [129], no software gaussiano 09W [130]. Após este estudo, foi realizada a otimização da geometria, encontrando o arranjo espacial mais adequado, correspondente à menor energia, para o propósito específico deste estudo consideramos apenas este resultado obtido do gaussiano 09W. As estruturas otimizadas de todos os OGs foram salvas no formato de arquivo pdb.

3.4 Protocolo de Ancoragem Molecular (Autodock Vina)

O principal objetivo do projeto de droga baseada em estrutura é encontrar um ligante que se conecte ao seu sítio ativo com alta afinidade e especificidade. O acoplamento computacional proteína-ligante ganhou popularidade no pipeline de descoberta de drogas, pois é usado para prever conformações de ligação e energias de ligação livre de ligantes de moléculas pequenas a alvos macromoleculares [131].

3.4.1 Protocolo de Ancoragem Molecular NTCs/receptor

Após os processos de minimização dos receptores e otimização dos ligantes, as estruturas tridimensionais das proteínas foram adicionadas à plataforma DOC como

formatos PDB. O acoplamento molecular foi realizado utilizando o pacote de software ADV e AutoDock Tools (ADT) (<http://autodock.scripps.edu/>) [132], o procedimento foi realizado utilizando um ligante em um protocolo de sítio ativo flexível, onde o ligante foi permitido ser flexível, com torção dentro de uma caixa de grade que engloba a cavidade de conexão do ligante de cada receptor previsto pelos algoritmos. Após cada execução, o ADV forneceu um conjunto de poses de DOC para o ligante com afinidades de ligação calculadas em que a pose de ajuste com a melhor afinidade foi escolhida para representar o conjunto e submetida à análise pós-*snap*. A visualização e análise da conformação do complexo ligante-receptor foram realizadas no BIOVIA Discovery Studio (versão 4.1) [19].

Todos os ângulos de torção no ligante foram relaxados, permitindo que a ancoragem flexível fosse realizada, enquanto os receptores permaneceram rígidos durante todo o processo. Com os hidrogênios polares adicionados à proteína, o modelo de cargas parciais dos átomos de Kollman unidos foi atribuído ao ligante e aos receptores. O Gridbox [33], que define o potencial de Lennard-Jones com fatores eletrostáticos e fornece valores para todos os átomos receptores, foi utilizado para as simulações e teve as seguintes dimensões: $80 \text{ \AA} \times 60 \text{ \AA} \times 48 \text{ \AA}$ para M-pro, $82 \text{ \AA} \times 56 \text{ \AA} \times 42 \text{ \AA}$ para S-gly e $40 \text{ \AA} \times 30 \text{ \AA} \times 20 \text{ \AA}$ para E-pro, e para as direções x, y e z respectivamente para o sítio de ligação de cada uma das macromoléculas.

A função empírica da energia livre e o algoritmo genético Lamarckiano (LGA) foram utilizados para simulações de ancoragem de acordo com os parâmetros recomendados [93]. Com base nos resultados obtidos no DOC, 40 conformações principais foram selecionadas através do software para cada sistema ligante-receptor. Para cada sistema molecular, escolhemos uma conformação com menor energia de afinidade (EA) e com ligações quimicamente razoáveis, ou seja, com comprimentos adequados para as ligações químicas. Nesta etapa, utilizamos os parâmetros dos sítios ativos especificados no arquivo de entrada para o método de ajuste, que é aceitável e capaz de recuperar a estrutura e as interações de um complexo conhecido [86].

Assim, este processo computacional envolveu a posição original do ligante na primeira simulação dos complexos de forma induzida, para avaliar se as posições e parâmetros de ajuste obtidos pelos diversos programas eram capazes de recuperar a estrutura e as interações de um complexo conhecido e também seu sítio ativo.

3.4.2 Protocolo de Ancoragem Molecular OGs/ligantes

Todos os parâmetros necessários foram especificados usando o Autodock Vina Software (ADV) [133]. O espaço de busca foi especificado, os parâmetros da caixa de grade foram definidos para as três macromoléculas em seus respectivos sítios ativos como 64 Å x 68 Å x 62 Å para incluir cada segmento das macroestruturas no espaço de busca ADV foi selecionado para o algoritmo de busca genética de Lamarck (LGA) [134] devido ao número de conexões rotativas e à magnitude dos ligantes [135].

Um protocolo de DOC típico consistia em quatro etapas principais, que eram executadas. Primeiro, a preparação do linker e do alvo (às vezes isso requer etapas sofisticadas, dependendo da natureza do linker e/ou alvo). A estrutura cristalina de S-GLY-OMICRON, S-GLY-KAPPA e S-GLY-DELTA em complexo com as cinco espécies de OGs. S-GLY-OMICRON, S-GLY-KAPPA e S-GLY-DELTA em complexo com as cinco espécies de OGs. A estrutura cristalina de S-GLY-OMICRON possui 1144 resíduos de aminoácidos, S-GLY-KAPPA 1117 e S-GLY-DELTA também possui 1146 resíduos de aminoácidos.

Em segundo lugar, a preparação dos parâmetros de DOC e pontuação (os seguintes arquivos devem ser criados para executar o Autodock: parâmetros de arquivo de grade, arquivos de configuração e arquivos de parâmetro de DOC). Em terceiro lugar, executando o programa de DOC usando uma interface gráfica ou um terminal de interface de linha de comando, a interface usada neste estudo foi do AutoDock Tools[128]. Em quarto lugar, a análise e avaliação dos resultados de ancoragem (comparando as poses de ancoragem com o ligante cristalizado).

A avaliação de energia do local de conexão é obtida usando um procedimento de cálculo de rede com base no Grid BOX definido. Em seguida, a energia do linker é avaliada com os valores gerados a partir dos termos de interação atribuídos a partir dos cálculos das grades de afinidade [136].

Na interação ligante/receptor a etapa final é encaixar o vinculador usando vários algoritmos de pesquisa. Um dos padrões e métodos eficientes para buscar a conformação de ligação ideal dos ligantes é o LGA implementado no AutoDock. Para resultados visuais mais coesos, utilizamos a ferramenta Discovery Studio Visualizer 2021 [137] para manipular e visualizar complexos ligantes de proteínas, esta ferramenta possui uma excelente relação com os arquivos gerados no ADV.

3.5 Método potencial eletrostático de superfície (MEP)

Os mapas de potencial eletrostático permitem visualizar as distribuições de carga das moléculas e as propriedades relacionadas à carga das moléculas [138]. Também nos permite visualizar o tamanho e a forma das moléculas. O primeiro passo envolvido na criação de um mapa de potencial eletrostático é coletar um tipo muito específico de dados: energia potencial eletrostática [139].

Se usou o software Gaussian 09W para calcular a energia potencial eletrostática à distância do núcleo da molécula e Gauss View 6 [140] para visualizar mapas de potencial eletrostático (MEP). A energia potencial eletrostática é uma medida da força de cargas, núcleos e elétrons próximos em uma determinada posição. Para analisar com precisão a distribuição de carga de uma molécula, uma grande quantidade de valores de energia potencial eletrostática deve ser calculada.

A melhor maneira de transmitir esses dados é representá-los visualmente, como um MEP. Os dados são calculados em um modelo eletrônico de densidade da molécula derivado da equação de Schrödinger [141]. Para facilitar a interpretação dos dados de energia potencial eletrostática, um espectro de cores, com o vermelho como o menor valor de energia eletrostática e o azul como o mais alto, é empregue para transmitir as intensidades variadas dos valores de energia potencial eletrostática [142].

O MEP também ilustra informações sobre a distribuição de carga elétrica de uma molécula [143] devido as propriedades do núcleo e à natureza da energia potencial eletrostática [144].

Assim, um alto potencial eletrostático mostra a relativa ausência de elétrons existentes, e um baixo potencial eletrostático mostra uma abundância de elétrons. Esta propriedade de potenciais eletrostáticos também pode ser extrapolada para estruturas moleculares.

3.6 Abordagem sobre DOC e DM

Após o processo DOC, foram utilizadas as poses como conformações iniciais nas simulações do processo de DM, ajudando a entender a predição da posição em que poderia estar o sítio ativo das macromoléculas e as interações essenciais para predizer a estabilidade do ligante complexo-receptor. Para isso, foram criadas quatro caixas octaédricas com espaçamento de 10 Å entre o soluto e cada face octaédrica, com aproximadamente 14.496 moléculas de água utilizando o modelo TIP3P para a solvatação

dos sistemas [49]. Em seguida, íons, Na⁺ e Cl⁻ foram adicionados para neutralizar os terminais de aminoácidos para garantir a carga líquida neutra dos sistemas.

As condições de contorno periódicas foram realizadas usando o método Particle Mesh Ewald (PME) [34, 49] para garantir que o soluto (ligante-receptor) fosse imerso no solvente não apenas durante a minimização, mas também na MD. Os sistemas foram mantidos fixos com restrições posicionais de 50 kcal/mol.Å², com um corte de 10 Å para truncar as interações de longo alcance de VDW, com volume constante por NVT (conjunto canônico - moles (N), volume (V) e temperatura (T) conservados) [88], garantindo assim condições de contorno periódicas otimizadas em 20,000 ciclos, onde 10,000 ciclos foram através do algoritmo de descida mais íngreme [145] e 10,000 ciclos por o algoritmo de gradiente conjugado [79]. O sistema passou pela etapa de aquecimento por 10 ns com tempo de integração de 2 fs utilizando o algoritmo SHAKE [37], restringindo e fixando os comprimentos de ligação dos átomos de hidrogênio. Para entender o comportamento dinâmico de todos os complexos de pontuação mais alta, a simulação DM foi empregue usando o software GROMACS 2021.1 [96].

Os principais resultados com as melhores propriedades de energia de afinidade foram selecionados e posteriormente analisados por simulações de DM usando GROMACS 2021.1 [146]. A minimização de energia dos sistemas foi realizada usando a descida de step descendent de 5.000 passos (número máximo de etapas de minimização a serem realizadas) para remover os contatos referentes a energia de VDW. A minimização de energia foi interrompida quando a força máxima foi inferior a 1,0 kJ/mol. O sistema foi ainda balanceado para 50 ps em volume constante e temperatura de 300 K. As simulações de DM foram executadas para 100 ns e para cada complexo proteína-ligante, onde as coordenadas foram salvas a cada intervalo de 2 ps. As interações de VDW foram definidas em 1,6 nm. O algoritmo Linear Constraint Solver (LINCS) foi aplicado para restringir ligações covalentes incluindo ligações pesadas de átomos de hidrogênio durante simulações de DM [146]. Os resultados da DM foram usados para calcular os RMSD, RMSF, Rg e SASA, respectivamente. Finalmente, as trajetórias foram salvas para análise posterior usando o Xmgrace.

Simulações DM de OGs ligadas a macromoléculas de superfície SARS-CoV-2 foram realizadas usando o campo de força CHARMM36 [147] implementado no Gromacs 2022.2 [146] em uma solução aquosa explícita. A caixa foi preenchida com 12628 moléculas de água de carga de ponto único (CPU) [147], e íons de sódio e cloreto também foram adicionados ao sistema, para torná-lo equilibrado.

As posições aninhadas fornecidas pelo ADV foram usadas como estruturas iniciais e colocadas em uma caixa dodecaédrica. As estruturas iniciais foram posteriormente minimizadas em termos de energia com um método de descida mais íngreme [148].

Os resultados desta minimização produziram as estruturas iniciais para simulações DM. Cada sistema continha uma média de cerca de 13.750 átomos no total. Assim as simulações de DM foram então realizadas com um número constante de partículas, pressão e temperatura, ou seja, configuração NPT.

O algoritmo SETTLE [149] foi usado para restringir o comprimento e o ângulo de ligação das moléculas de água. As interações eletrostáticas de longo alcance foram calculadas usando o método Particle-Mesh-Ewald (PME) [150]. Uma pressão constante de 1 bar foi aplicada e moléculas de água e íons foram acoplados separadamente a um banho a 303 K com uma constante de acoplamento de 0,1 fs [151] e a equação de movimento foi integrada a cada 2 etapas do tempo fs.

Cada simulação foi realizada por 200 ns e os sistemas foram balanceados nos primeiros 20 ns. A análise das trajetórias e estruturas simuladas foi realizada com as ferramentas incorporadas do programa GROMACS 2022.2.

Utilizando a ferramenta CPPTRAJ [152], foi possível extrair as informações necessárias para a criação dos gráficos RMSD e tabelas de potência livre, tudo de acordo com o tempo. O RMSD mostra o quanto a estrutura da proteína muda durante uma simulação, e a estrutura inicial geralmente é cristalográfica.

Através do módulo TRJCONV [153], foram extraídas as informações necessárias para a criação de gráficos de valores RMSD em função do tempo. Esses valores indicam os desvios das estruturas geradas durante a simulação sobre a estrutura inicial obtida através da ancoragem molecular, ou seja, a estabilidade e equilíbrio do sistema considerando a dimensão do tempo.

A energia livre define as afinidades de ligação das interações proteína-proteína-proteína e proteína-ligante, e a eficiência da possível ligação também quantifica muitos outros processos importantes, como reação enzimática, transferência de elétrons, transporte de íons através de membranas, e seleção de moléculas pequenas. Usamos os scripts do método MM/PBGSA [154] para executar automaticamente todas as etapas necessárias para estimar a energia livre da ligação complexa usando esses métodos.

No entanto, é geralmente estimado que nenhuma mudança conformacional significativa ocorre após a conexão, de modo que instantâneos das três espécies podem ser obtidos a partir de uma única trajetória [155].

O algoritmo MMPBSA.py é flexível o suficiente para acomodar as necessidades da maioria dos usuários. Vários métodos podem ser usados para calcular a energia livre de solvatação, como PB [81], GB [81] e RISM [154], neste manuscrito usaram apenas GB, por razões de capacidade de processamento. Além disso, ao usar um modelo GB, parte do sistema pode ser tratada quântica.

Interações específicas podem ser analisadas usando varredura estrutural ou decomposição de energia livre. A entropia do soluto é aproximada usando um modelo de rotor rígido no qual as frequências vibracionais podem ser calculadas usando o modo normal ou abordagens quase harmônicas. Para maior flexibilidade, as entradas de nossas simulações forneceram variáveis suficientes para análise no arquivo de entrada MMPBSA.py [155].

3.7 Desvio quadrático médio e flutuação quadrática média

O RMSD é calculado com precisão a partir de uma simulação. Em biologia computacional há a necessidade de sobrepor a estrutura de uma proteína em outra de forma a minimizar o erro RMSD [156]. Sendo o RMSD de certos átomos em uma molécula em relação a uma estrutura de referência calculado e essa medida de distância entre moléculas interagentes define-se pela equação 16.

$$RMSD = \sqrt{\frac{1}{N_0} \sum_{i=1}^N \delta_i^2}. \quad (16)$$

Onde N_0 define o número de átomos e δ é a distância entre um átomo i e uma adotada estrutura de referência. Entretanto dados dois conjuntos de n pontos v e w , o RMSD passa a ser definido da seguinte forma (equação 17).

$$RMSD = \sqrt{\frac{1}{N_0} \sum_{i=1}^N \|v_i - w_i\|^2}. \quad (17)$$

Então reescrevendo em coordenadas tem-se a equação 18.

$$RMSD = \sqrt{\frac{1}{N_0} \sum_{i=1}^N \left[(v_{ix} - w_{ix})^2 + (v_{iy} - w_{iy})^2 + (v_{iz} - w_{iz})^2 \right]}. \quad (18)$$

Então, descreve-se a distância entre cada par de átomos sobrepostos. Uma matriz também pode ser feita com o RMSD em função do tempo, o que dá uma boa interpretação gráfica de uma trajetória ocorrida.

Para realizar os cálculos de RMSD e RMSF utilizou-se a ferramenta CPPTRAJ, incluída no pacote GROMACS [157]. As informações necessárias foram extraídas através do módulo do programa para a criação de gráficos de valores de RMSD em função do tempo (100 ns). Os valores de RMSD indicam os desvios das estruturas geradas durante a simulação de DM em relação à estrutura inicial, ou seja, a estabilidade e equilíbrio do sistema ao longo do tempo, correspondendo às conformações de um determinado conjunto de pontos já obtidos, fornecendo uma medida da diferença na posição inicial desses mesmos conjuntos, quanto maior o valor de RMSD, maior a diferença entre as estruturas [158]. O cálculo do RMSF refere-se ao deslocamento de um determinado átomo ou grupo de átomos em relação à estrutura de referência, contribuindo para o entendimento da região do complexo ligante-receptor que está tendo comportamento flutuado durante a simulação, desta forma o resultado é o cálculo da flexibilidade de cada resíduo, obtendo-se assim uma visão da extensão em que a ligação do ligante afeta a flexibilidade da proteína [158].

O RMSF mostra possíveis efeitos alostéricos, os quais são as alterações conformacionais de uma proteína causadas pela ligação de uma molécula reguladora em um local que não é o sítio ativo da enzima. Essas alterações conformacionais podem alterar a atividade catalítica da enzima, tanto aumentando como diminuindo sua eficiência.

Existem dois tipos principais de efeitos alostéricos: positivo e negativo. No efeito alostérico positivo, a ligação do regulador aumenta a afinidade da enzima pelo substrato, resultando em um aumento na atividade catalítica. Já no efeito alostérico negativo, a ligação do regulador diminui a afinidade da enzima pelo substrato, resultando em uma diminuição na atividade catalítica [158].

Um exemplo conhecido de um efeito alostérico é o da enzima fosfofrutoquinase-1 (PFK-1) na via glicolítica. A concentração de ATP, um produto da via, é um regulador alostérico negativo da PFK-1. Quando a concentração de ATP é alta, a ligação de ATP à PFK-1 diminui sua afinidade pelo seu substrato, a frutose 6-fosfato, e conseqüentemente, reduz a velocidade da via glicolítica.

Em resumo, os efeitos alostéricos são mecanismos importantes de regulação enzimática, permitindo que as enzimas respondam rápida e eficientemente às mudanças nas condições celulares.

3.8 Raio de giro e área de superfície acessível ao solvente

Rg e SASA foram calculados a partir das trajetórias DM para os quatro sistemas para medir a interação entre complexos proteína-ligante e solventes usando o software GROMACS. [157]. O Rg mede a força do sistema macromolecular, através da raiz quadrada média da distância entre o eixo de rotação e o centro de massa obtida na simulação de DM, o parâmetro indica as mudanças ao longo do tempo na estrutura da proteína, avaliando a compactação e estabilidade do sistema [108]. A área de superfície calculada é a área de superfície canônica SASA e inclui a área de superfície hidrofóbica, hidrofílica e total acessível ao solvente da molécula de proteína, a extensão em que os aminoácidos interagem com o solvente e o núcleo da proteína é proporcional à área de superfície exposta ao solvente. As áreas de superfície polar e não polar são frequentemente definidas usando cargas atômicas parciais retiradas do potencial molecular utilizado, essas cargas parciais diferem significativamente entre os campos de força, a opção de resíduo do módulo Rg e SASA do pacote GROMACS o qual é amplamente utilizado em simulações de DM e também para desenvolver modelagem de sistemas moleculares. O GROMACS permite estudar o comportamento de sistemas moleculares ao longo do tempo de tal forma que se possa entender como as moléculas se movem, interagem e mudam de conformações.

A extensão em que as proteínas interagem com o solvente e o núcleo da proteína é proporcional à área de superfície exposta ao solvente. Existem dois modelos de solvatação que podem ser utilizados para realizar simulações de DM de sistemas solvatados: o modelo de solvatação explícita e o modelo de solvatação implícita [159]. Na abordagem SASA, a energia livre de solvatação do soluto é expressa como a soma das contribuições atômicas, ponderada pelas suas áreas expostas ao solvente [160]. O modelo de solvatação contínuo tem se destacado para descrever a solvatação eletrostática. Nesta abordagem o soluto é considerado como uma cavidade embebida em um meio dielétrico.

3.9 Energia livre

Para realizar automaticamente todas as etapas necessárias para estimar a energia de ligação livre do complexo, usamos os scripts MM/PBGBSA (MM: Molecular Mechanics; PB: Poisson–Boltzmann; GB: Generalized Born; SA: Surface Area) [108] incluídos no GROMACS [157]. No entanto, geralmente espera-se que nenhuma mudança conformacional significativa ocorra após a conexão, então instantânea das três espécies

podem ser obtidos de uma única trajetória. As energias de ligação livre dos complexos complexados com os compostos de sucesso mais promissores foram calculadas usando o método MM-GBSA (Molecular Mechanics Poisson-Boltzmann Surface Area) [81].

Autodock Tools (ADT) e o servidor Swissdoc (SWD) realizarão a DOC para aproximar os nanotubos (armchair, zig-zag e quiral) o máximo possível do sítio ativo das proteínas (S-gly, M-pro ou E-pro) do vírus da SARS-CoV-2. O tamanho da população e o número máximo de iterações (minimização em cada etapa do algoritmo) devem ser fixados e o número de poses definido. O uso da DOC é necessário para fornecer resultados mais confiáveis.

As simulações da DM de NTCPUs ligado a macromoléculas de superfície do SARS-CoV-2 serão realizadas usando o campo de força CHM conforme implementado no GROMACS versão 2021.2 em uma solução aquosa explícita. A caixa será preenchida com moléculas de carga de água de ponto único. As posições alinhadas em Angstroms são contidas em uma caixa, para E-pro, S-gly e M-pro. As simulações de DM então se desenvolvem com um número constante de partículas, pressão e temperatura. Cada simulação deve ser executada por 100 ns e os sistemas balanceados pelos primeiros 10 ns. A análise das trajetórias e estruturas simuladas se realizará com as ferramentas integradas do programa GROMACS. Já para os resultados obtidos o RMSD mostra o quanto a estrutura da proteína muda durante uma simulação, sendo a estrutura inicial geralmente cristalográfica. Esses valores indicam os desvios das estruturas geradas durante a simulação em relação à estrutura inicial obtida através da ancoragem molecular, ou seja, a estabilidade e o equilíbrio do sistema considerando a dimensão do tempo. A energia livre define as afinidades de ligação das interações proteína-ligante.

3.10 Protocolo para realização da DM

Após a conclusão do processo de DOC, os arquivos de topologia dos complexos foram separados para serem aplicados aos campos de Força AMBER ff14SB e Geral Amber (GAFF). Três caixas octaédricas foram criadas com espaçamento de 10 Å entre o soluto e cada face do octaedro, contendo moléculas de água TIP3P [161]. O processo de solvatação proporcionou forças de VDW, que são forças atrativas entre moléculas, átomos ou íons, sendo estas significativamente mais fracas do que as forças de ligação covalente e inversamente proporcionais à sétima potência da distância entre os átomos ou moléculas. Além disso, foram consideradas forças eletrostáticas iniciais para os sistemas. Condições de contorno periódicas foram aplicadas utilizando o método da malha de partículas de

Ewald (PME) [162]. É relevante mencionar que essas condições foram empregadas para garantir que o soluto (ligante-receptor) fosse imerso no solvente não apenas durante a minimização, mas também durante a DM. O método PME cria réplicas do sistema central em cada face do octaedro, de modo que qualquer molécula que se mova no sistema seja replicada nas células, e, se alguma molécula cruzar os limites do octaedro, ao ser replicado retornará ao sistema central [163].

As etapas de minimização constituem um procedimento prévio à DM para obter um sistema soluto-solvente (complexos, íons e moléculas de água) com a energia global mínima necessária para a convergência na DM. O sistema foi aquecido de 10K a 315K, devido à temperatura média do corpo, com restrições vibracionais aplicadas ao soluto (Complexo-ligante-íons) com uma força constante de 83,60 kJ/mol.Å² e o solvente (moléculas de água) sem restrições [164].

As interações eletrostáticas de longo alcance foram calculadas por meio do método Particle-Mesh-Ewald (PME). Sob pressão constante de 1 bar, as moléculas de água e os íons foram acoplados separadamente a um banho térmico a 303 K, com uma constante de acoplamento de 0,1 fs [165]. A equação do movimento foi integrada a cada 2 etapas de tempo fs. Cada simulação teve duração de 100 ns, com os sistemas equilibrados nos primeiros 10 ns. A análise das trajetórias e estruturas simuladas foi realizada utilizando as ferramentas integradas do programa GROMACS. Por meio do programa CPPTRAJ [157], o qual é usado principalmente para análise estrutural e manipulação das trajetórias de simulações da DM, dessa forma permite também algumas funcionalidades como calcular propriedades estruturais de sistemas moleculares, como distâncias interatômicas e ângulos de ligação [166], do CPPTRAJ foram também extraídas as informações necessárias para criar gráficos do Root Mean Square Deviation (RMSD, MSD e RDG) [166] e tabelas de energia livre em função do tempo. O RMSD indica a variação estrutural da proteína durante a simulação, sendo a estrutura inicial geralmente obtida por cristalografia.

Esses resultados revelam os desvios das estruturas geradas durante a simulação em relação à estrutura inicial obtida por ancoragem molecular, representando a estabilidade e o equilíbrio do sistema ao longo do tempo. A energia livre define as afinidades de ligação das interações proteína-ligante e quantifica a eficiência da possível ligação, bem como outros processos importantes, como reações enzimáticas, transferência de elétrons, transporte de íons através das membranas [167] e solvatação de pequenas moléculas. Os scripts do método MM/PBGSA foram usados para automatizar todas as etapas necessárias para estimar a energia livre de ligação complexa por meio desses métodos. No

entanto, é geralmente assumido que nenhuma mudança conformacional significativa ocorra após a conexão, permitindo a obtenção de instantâneos das três espécies a partir de uma única trajetória [168].

Uma abordagem detalhada dos resultados obtidos por meio da simulação é apresentada no capítulo subsequente.

CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo, são realizadas análises e comparações de todos os resultados obtidos, visando aprimorar as interações. Um aspecto de extrema relevância nessa análise é a energia livre de ligação.

4.1 Análise de DOC

4.1.1 Para os ligantes NTCs

Os NTCPUs foram considerados como ligantes flexível e os receptores E-pro, M-pro e S-gly foram tratados como corpos rígidos, dessa forma o espaço de busca ficou limitado ao sítio ativo dos receptores como é apresentado na Figura 7. Neste caso, a flexibilidade do ligante pode ser abordada usando um conjunto calculado de conformações do ligante ou permitindo um grau de sobreposição átomo-átomo entre a proteína e o ligante.

As energias de afinidade (EAs) obtidas para as interações entre essas moléculas demonstraram a formação de um complexo favorável, uma vez que as EAs apresentaram valores relativamente baixos como mostra a tabela 2 com os valores de EA para todas as simulações. Verifica-se que os melhores resultados apresentados são para a S-gly, a glicoproteína mais externa e sequencialmente para as proteínas M-pro e E-pro, as quais são mais internas.

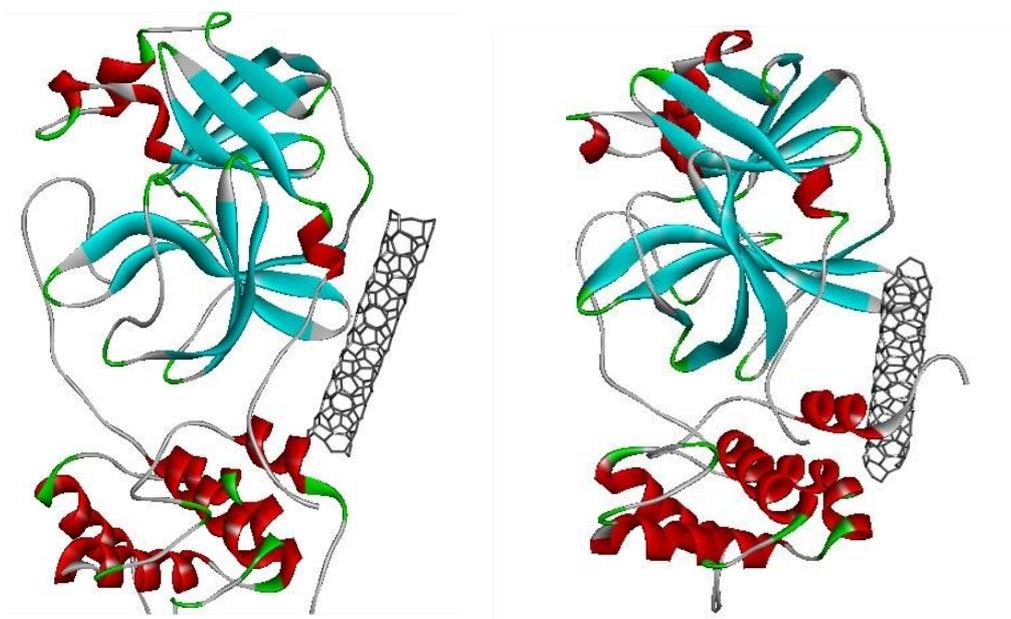
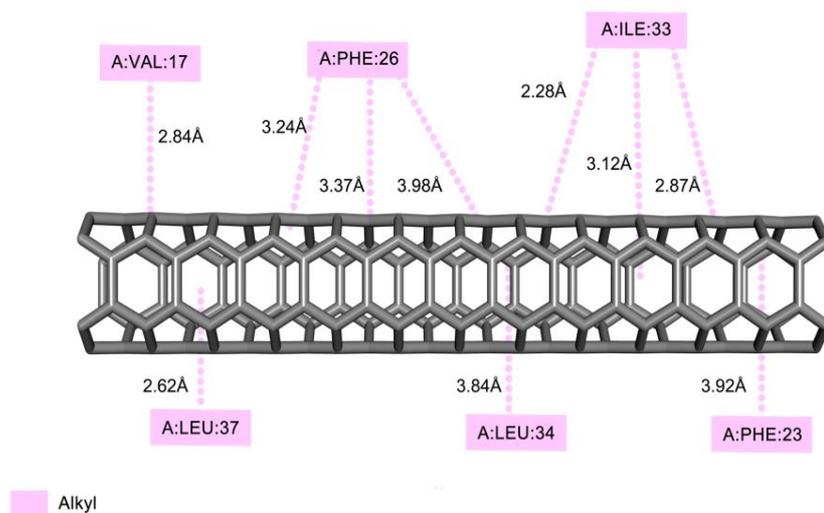


Figura 7. Interação pelo processo de DOC do sítio ativo da proteína S-gly com o NTCPU chiral. (Fonte: AutoDock Vina 4.2.6.)

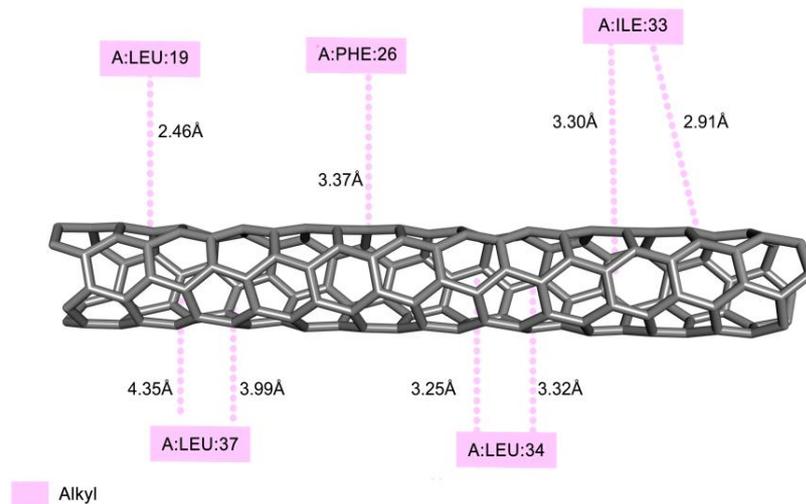
Tabela 2: Simulações de pontuação MolDock.

Proteínas	NTCs	Energia de Afinidade (kcal/mol)
E-pro	zigzag	-9,48
	armchair	-8,29
	chiral	-6,54
M-pro	zigzag	-9,98
	armchair	-9,06
	chiral	-7,14
S-gly	zigzag	-10,08
	armchair	-9,49
	chiral	-8,23

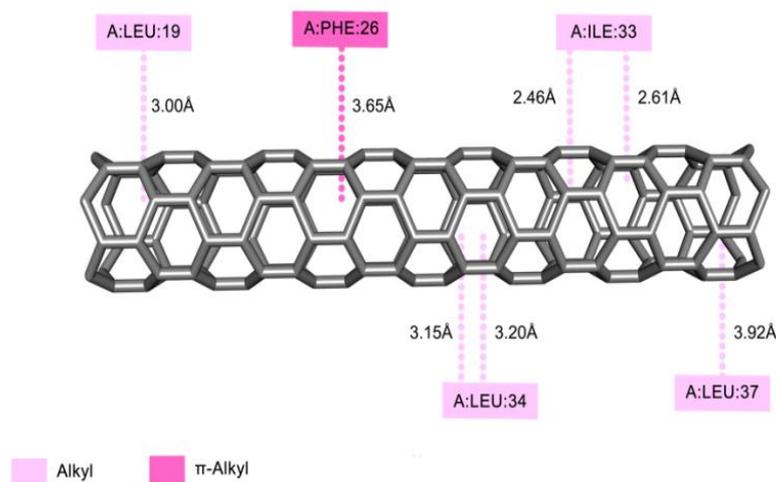
As figuras 8, 9 e 10 mostram as ligações das interações entre os NTCs e as proteínas externas do SAR-CoV-2.



(a)



(b)



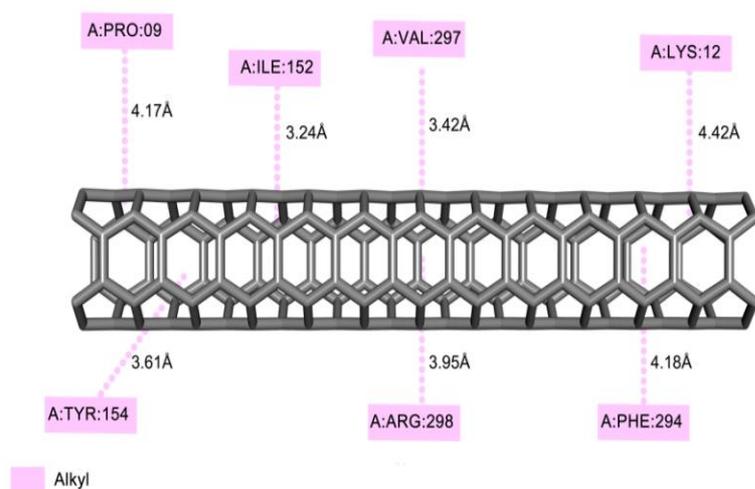
(c)

Figura 8. Interações de NTCPUs com E-pro: a) armchair, b) chiral e c) zigzag.

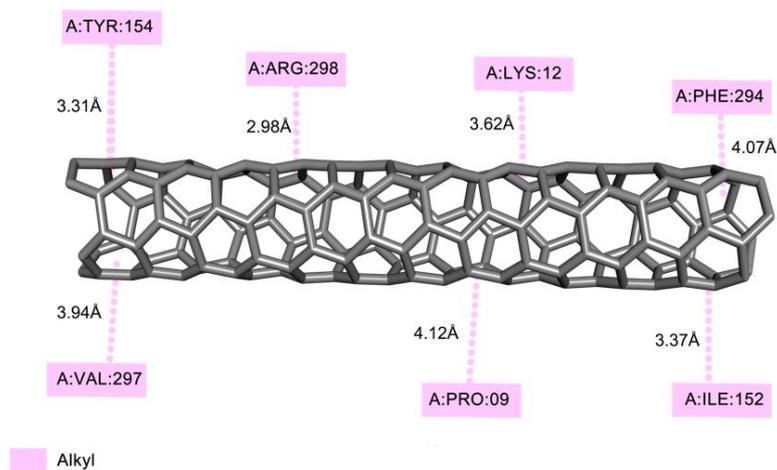
A Figura 8 mostra as interações entre os três tipos de NTCPUs e a E-pro, escolhida com base na pose final com o valor de EA mais favorável entre as 40 conformações obtidas. Na interação houve no mínimo quatro interações do tipo alquila, em rosa e duas π – Alkyl envolvendo PHE23 e PHE26.

Analisando as quatro interações dos resultados de DOC, observa-se que o modo de interação previsto pelas poses de DOC dos compostos selecionados na inspeção visual foi semelhante às poses das estruturas cristalográficas no sítio de ligação com a estrutura externa E-pro.

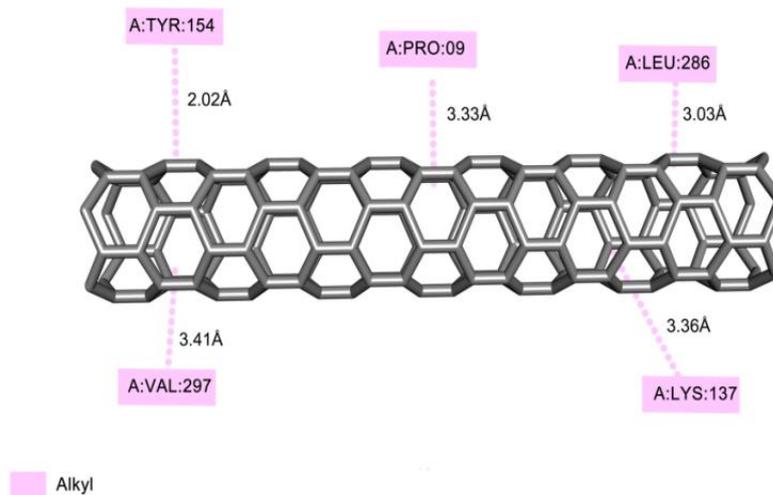
Na sequência a Figura 9 mostra as interações entre os três tipos de NTCPUs com a M-pro, onde o sítio de interação possui características hidrofóbicas e esse tipo de interação estão presentes no composto analisado. Assim, levando em consideração as distâncias de tais conexões, os resultados do DOC revelaram um total de sete interações para o NTCPU armchair, cinco para o zigzag e sete para o chiral, interações da protease onde pode haver maior ocorrência de reação.



(a)

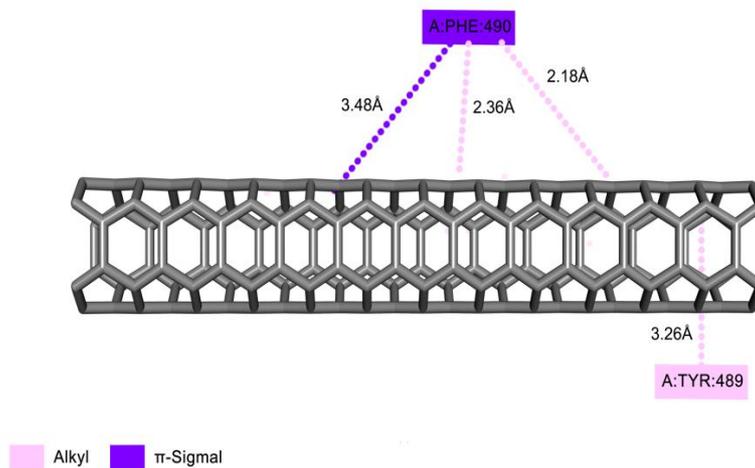


(b)

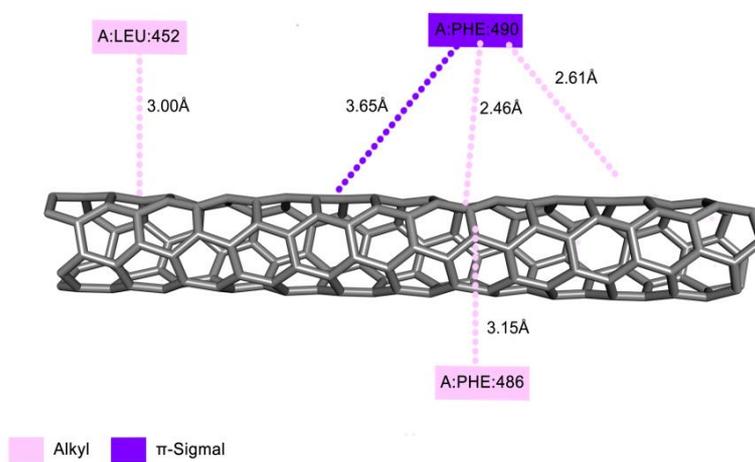


(c)

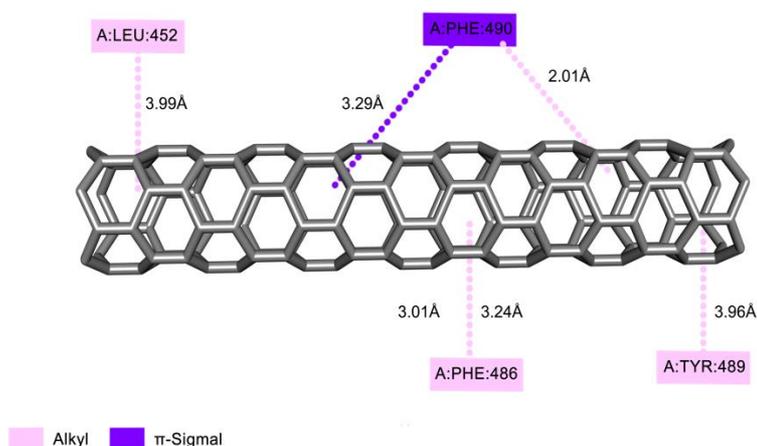
Figura 9. Interações de NTCPUs com M-pro: a) armchair, b) chiral e c) zigzag.



(a)



(b)



(c)

Figura 10. Interações de NTCPUs com S-gly: a) armchair, b) chiral e c) zigzag.

O DOC entre os NTCPUs e a S-gly obteve maior valor de EA de acordo com a tabela 1. A figura 10 abaixo mostra os resultados das ligações obtidas nas interações: a ligação π - Sigmal envolvendo PHE490 e as TYR489 LEU 452 e PHE486, foram mantidas e foram suavemente mais próximo após a ligação com os NTCPUs devido às forças VDW. Somente nesta interação foram observadas ligações do tipo π - Sigmal (PHE490), em roxo na Figura 10, sendo capaz de se ligar aos bolsões ativos da interface proteica.

Os NTCPUs possuíram certo grau de liberdade de translação, vibração e rotação, por isso o processo DOC foi posicionado no sítio ativo dos receptores. Sendo as ligações que envolvem o sistema π rico em elétrons com outro sistema π , ânion, cátion ou mesmo com outras moléculas. Entre todas as interações π investigadas neste estudo, as ligações π - Sigmal têm a força de ligação mais forte devido às maiores sobreposições de seus orbitais s [160].

As interações foram capazes de produzir mudanças na distribuição de carga do ligante, o que favoreceu o aparecimento de dipolos elétricos em suas extremidades. Dados de pesquisa do DOC sugerem que os ligantes têm potencial de intercalação para formar um complexo com os três receptores, devido à interação com os sítios ativos de ligação de cada um.

4.1.2 Resultados de Autodock Vina para os ligantes OGs

Para avaliar os resultados de DOC entre OGs e variantes da proteína S-gly como ilustrado nas figuras: 11, 12 e 13, é convencional usar a melhor pontuação de DOC. Os dados da Tabela 3 mostram os resultados da EA.

Estes resultados indicam que a presença de hidroxilas na composição dos OGs interagindo com as estruturas externas do SARS-CoV-2, altera sua capacidade de interação, sendo notável que na estrutura OG-A onde não há a presença de hidroxila, houve valores modulares de EA mais baixos.

Tabela 3: Energia de afinidade de ligantes interagindo com proteínas S-gly.

Óxido de Grafeno	Energia de afinidade (Kcal/mol)		
	S-GLY-OMICRON	S-GLY-KAPPA	S-GLY-DELTA
OG-A	-11,4	-11,0	-11,0
OG-B	-11,7	-11,1	-11,6
OG-C	-11,4	-10,7	-11,4
OG-D	-11,9	-11,8	-11,8
OG-E	-12,6	-11,9	-12,0

Estes resultados indicam que a presença de hidroxilas na composição dos OGs interagindo com as estruturas externas do SARS-CoV-2, altera sua capacidade de interação, sendo notável que na estrutura OG-A onde não há a presença de hidroxila, houve valores modulares de EA mais baixos.

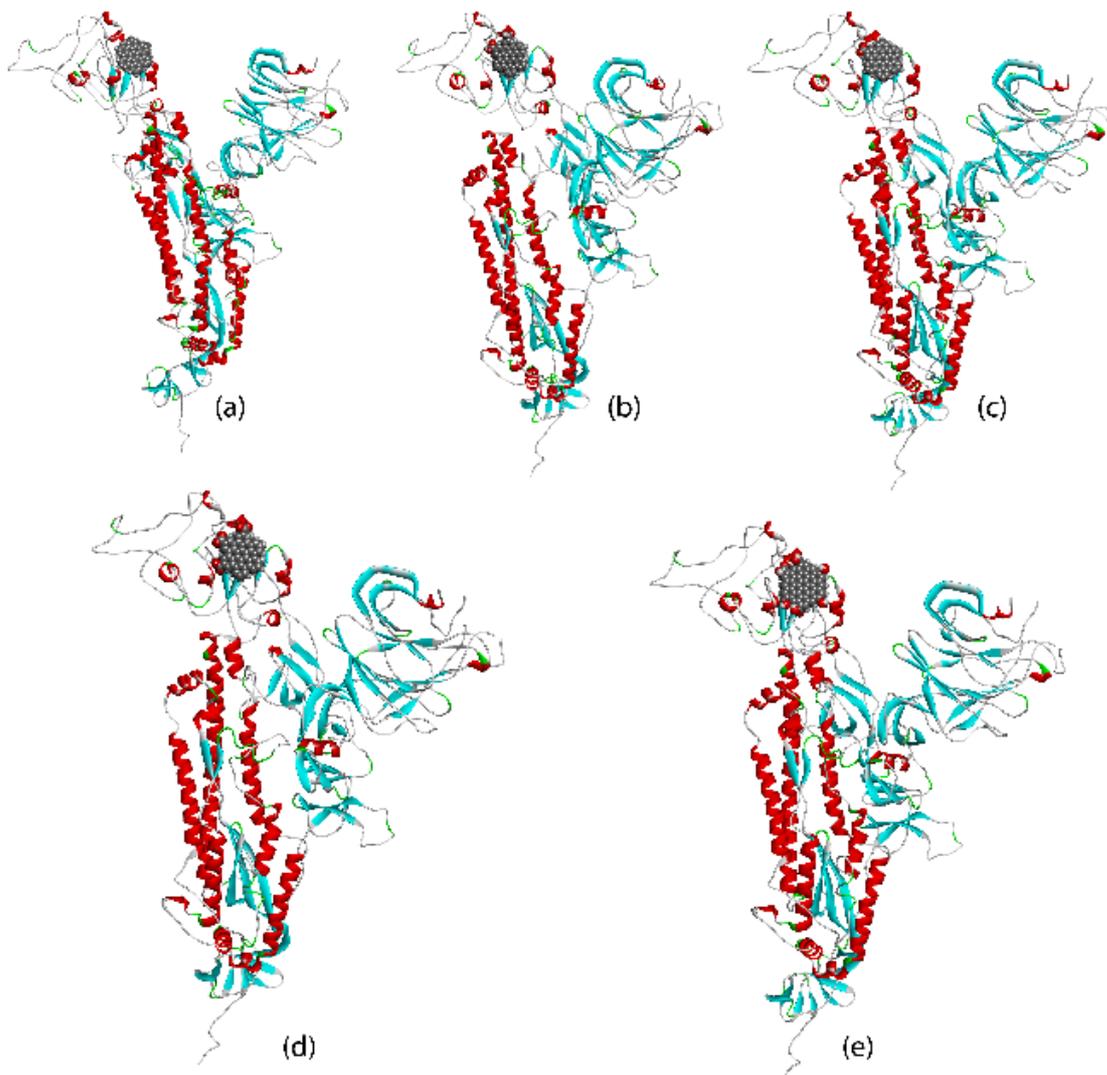


Figura 11: Interação da proteína Spike-Omicron com: a) OG-A, b) OG-B, c) OG-C, d) OG-D e e) OG-E.

A presença do grupo OH aumentou a vinculação, o OG-E mostra maior possibilidade de interação em relação ao OG-A e OG-C, para as três proteínas consideradas neste estudo. O ADT identificou automaticamente potenciais sites de ligação (também chamados de poços ou sites ativos) usando seu algoritmo de detecção de poços. Com estruturas cristalinas para complexos, o software geralmente identificou diferentes locais de ligação onde o menor valor de pontuação foi considerado o melhor resultado.

Os resultados da simulação de EA fornecem informações sobre a afinidade de ligação, o modo de ligação e assim como energia da interação ligante/receptor. A saída de um cálculo de DOC normalmente inclui um conjunto de poses de ligação previstas para o ligante, classificadas por sua afinidade de ligação prevista. A pose de classificação mais

alta é considerada o melhor modo de ligação e normalmente é visualizada em 3D com o receptor de proteína também.

A energia de ligação ou energia de afinidade de cada OG que é mostrada na tabela 3, vem a ser a medida de quão fortemente o ligante se liga ao receptor, ou seja, maior intensidade de interação. A energia de ligação é tipicamente expressa em termos da variação da energia livre de Gibbs (ΔG) do processo de ligação, que está relacionada com a estabilidade termodinâmica do complexo.

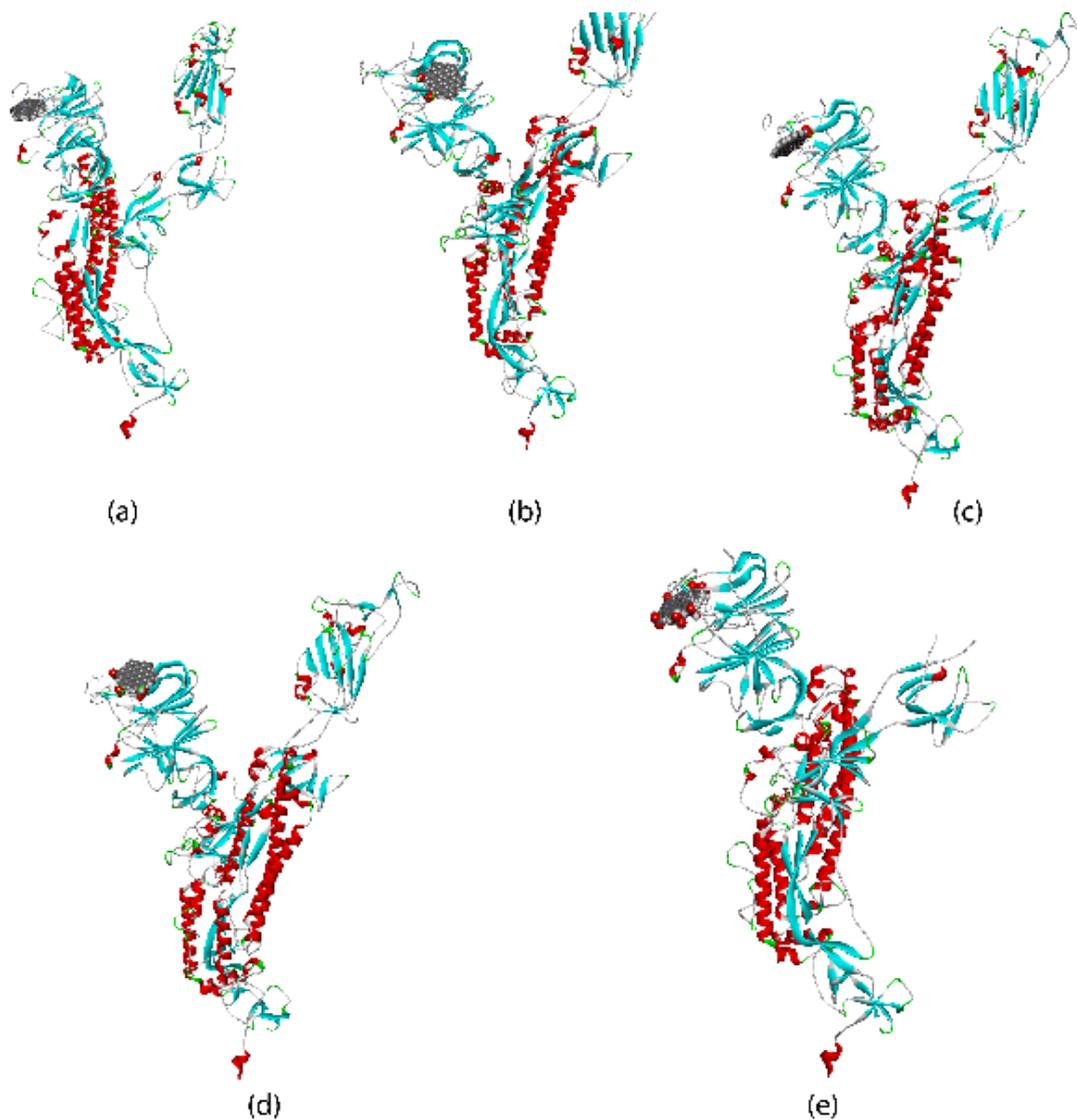


Figura12: Interação da proteína Spike-Kappa com: a) OG-A, b) OG-B, c) OG-C, d) OG-D e e) OG-E.

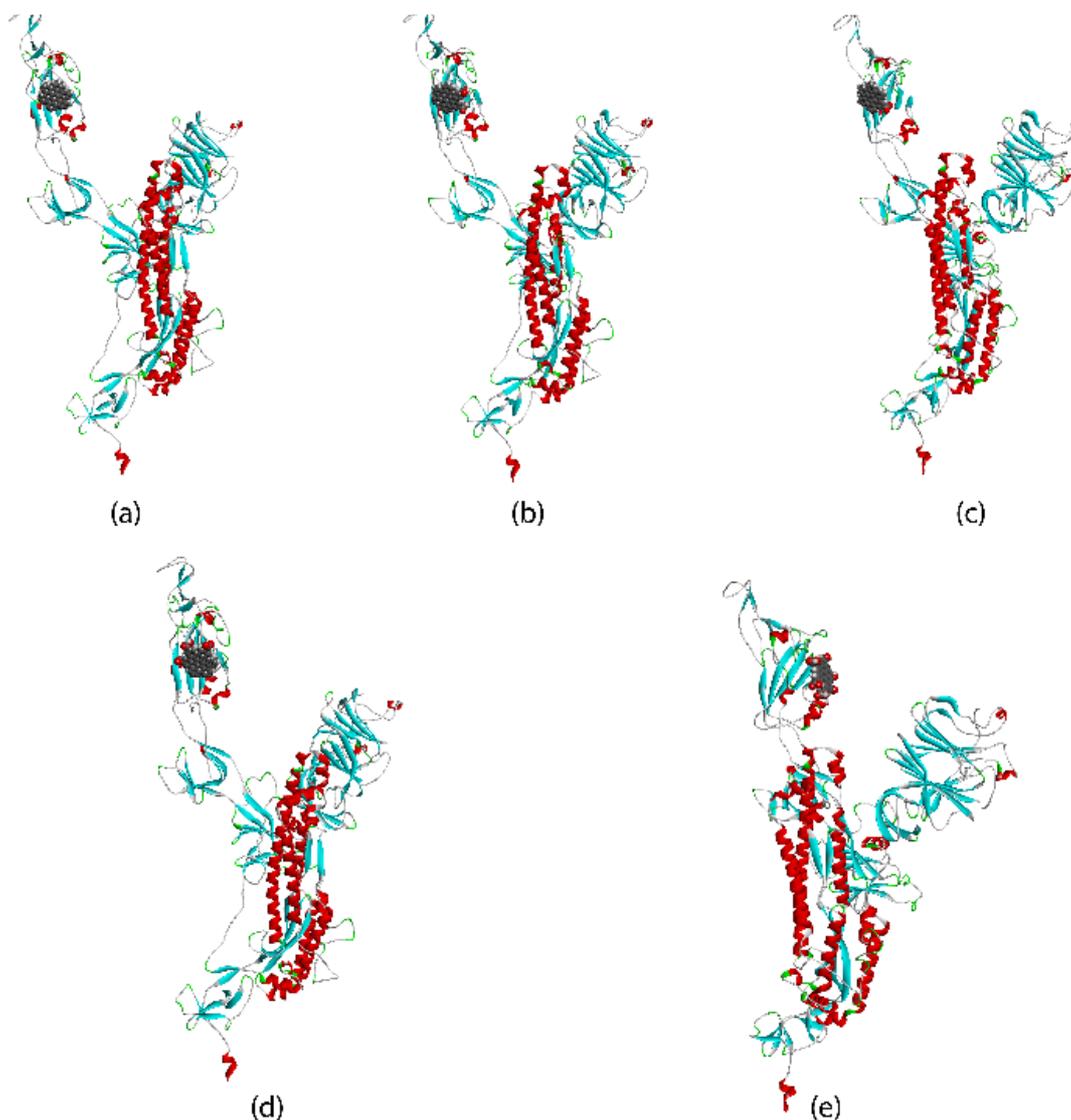


Figura13: Interação da proteína Spike-Delta com: a) OG-A, b) OG-B, c) OG-C, d) OG-D e e) OG-E.

Os resultados de um cálculo de EA nem sempre são precisos, especialmente quando a proteína alvo possui regiões flexíveis ou quando o ligante possui múltiplas conformações. Portanto, os resultados dos cálculos de EA devem sempre ser validados experimentalmente. Ao realizar o acoplamento de ligantes proteicos, a conformação do ligante quando ligado à proteína receptora é avaliada, e a energia de ligação entre eles é quantificada por meio de várias equações de campo de força.

A Figura 14 mostra a ancoragem molecular das interações de forma restrita aos aminoácidos. A interação do S-GLY-DELTA com os OGs obteve interações eletrostáticas e hidrofóbicas, como pode ser descritas as ligações dos tipos Pi-Cation, Pi-Anion, Pi-Pi T-shaped, Pi-Alkyl, Pi-Cation, ligação de hidrogênio convencional e poucas interações Pi-

Sigma. Sendo quatro interações do tipo π -Alkyl onde há uma interação da nuvem eletrônica em um grupo aromático e um grupo de elétrons do grupo Alkyl gerando ligações do tipo hidrofóbico.

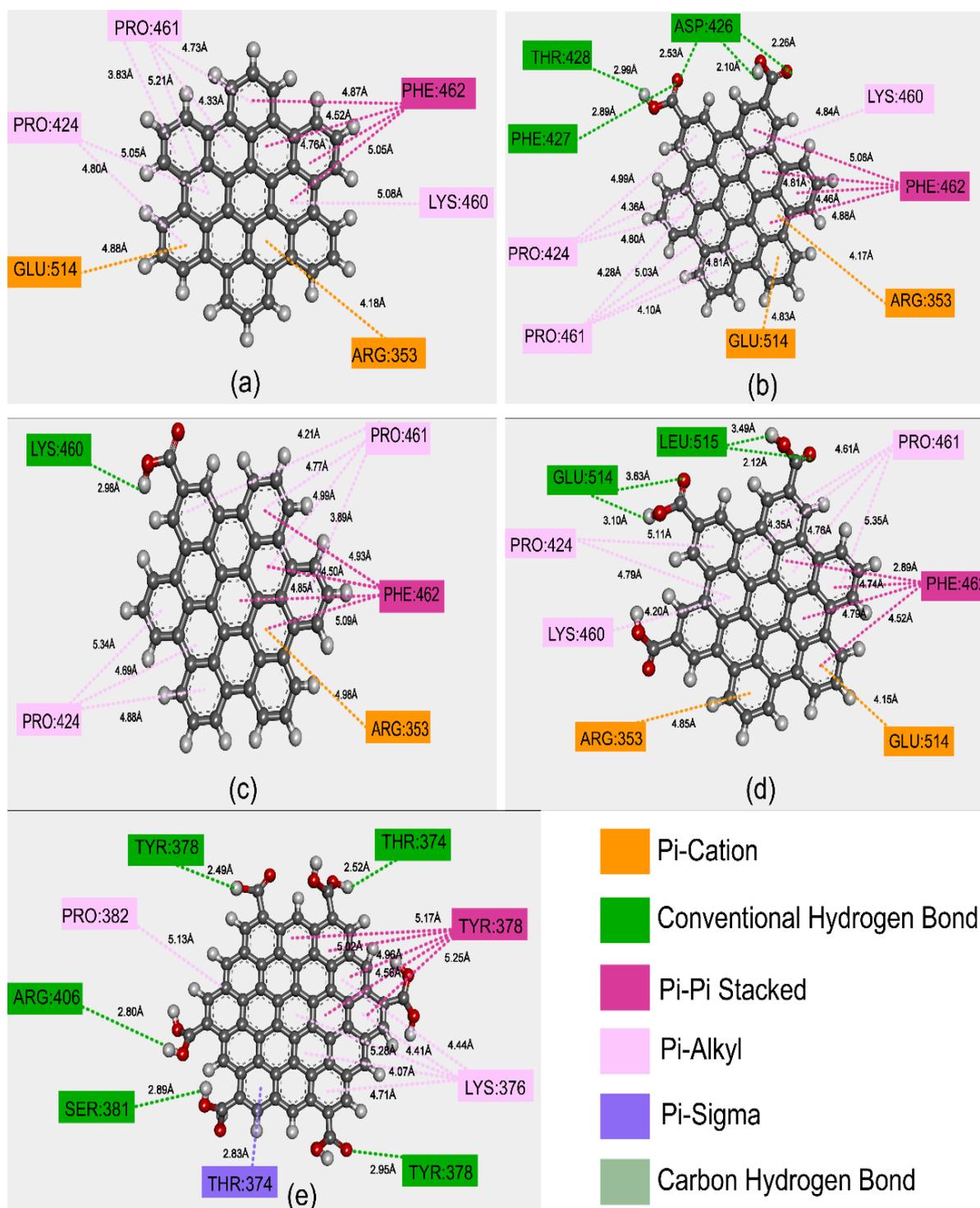


Figura 14: Variante Delta: a) OG-A, b) OG-B, c) OG-C, d) OG-D e e) OG-E.

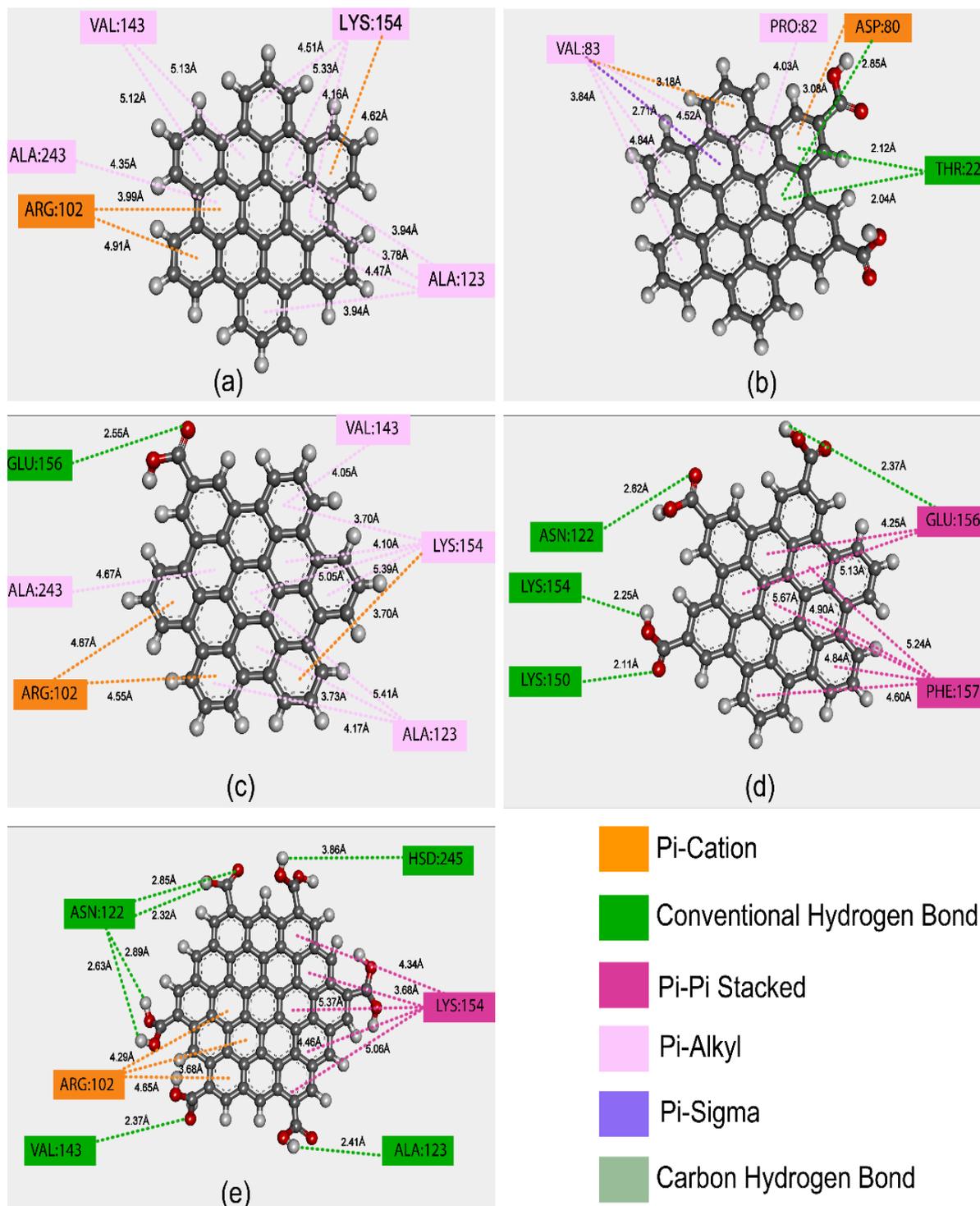


Figura 15: Variante Kappa: a) OG-A, b) OG-B, c) OG-C, d) OG-D e e) OG-E.

As interações do tipo Pi-Pi-T-Shaped, que são interações entre os anéis aromáticos dos OGs, observou-se que essa interação é importante na organização de moléculas e acoplamentos de ligantes, como dobramento de proteínas e reconhecimento molecular. Uma descrição detalhada das ligações π e hidrogênio concorda com a análise de

acoplamento, verificou-se então que há afinidade de vínculo, o que pode indicar um grau de influência desse tipo de interação para a energia de afinidade.

A Figura 15 mostra que a ancoragem molecular com, as interações ficaram restritas aos aminoácidos. As interações do S-GLY-DELTA com os OGs se mostraram dos tipos eletrostáticas e hidrofóbicas, como mostra a interação com os OG, além das interações amide- π -Stacked, π -alkyl e π - π -T-Shaped.

Podemos observar que em sua maioria as ligações são do tipo hidrofóbico e que a quantidade de ligações de hidrogênio aumentou conforme a adição de grupos carbonila e hidroxila, o que condiz com os dados de energia de afinidade demonstrados na tabela 5. Semelhantes a essas outras ligações não covalentes, as interações π -cátion desempenham um papel significativo na natureza, particularmente na estrutura proteica, reconhecimento molecular e catálise enzimática.

A porção central desse ligante, assim como os ligantes anteriores, apresentou interações intramoleculares favoráveis, o que se deve ao fato de que esses grupos se adaptam de maneira mais adequada ao sítio ativo da proteína, facilitando a interação com os aminoácidos presentes. A Figura 15 ilustra as interações com a proteína S-gly da variante Kappa, que ocorreram no local catalítico da protease, onde os aminoácidos VAL:143, LYS:154, ALA:123, GLU:156 e ASN:122 são predominantes. Devido ao papel crucial da proteína S-gly no processo de infecção pelo SARS-CoV-2, essa componente estrutural pode ser um alvo para a neutralização mediada por anticorpos ou pequenas moléculas. Informações em nível atômico são essenciais para orientar o projeto e o desenvolvimento de agentes inibidores.

Entretanto na figura 16 que mostra as interações com a proteína S-gly da Variante Omicron o OG-A apresentou somente interações de ligações Pi-PiStacked e Pi-Alkyl. Essas interações são caracterizadas pelo alinhamento dos orbitais pi de dois anéis aromáticos, permitindo a formação de ligações pi-pi. Podendo resultar na estabilização de uma molécula e é uma característica comum em muitas moléculas biológicas.

O OG-B mostrou ligações de hidrogênio, que ocorrem entre um átomo de hidrogênio e um átomo altamente eletronegativo, como nitrogênio, oxigênio ou flúor. Essa ligação é caracterizada por uma carga parcial positiva no átomo de hidrogênio e uma carga parcial negativa no átomo eletronegativo, resultando em uma forte atração eletrostática.

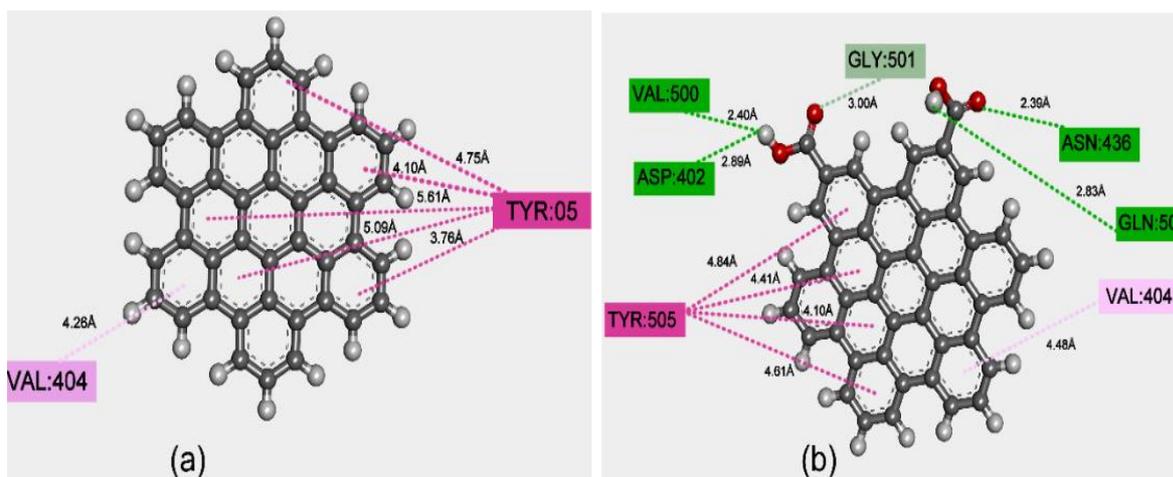
O OG-C apresentou ligações Carbon Hydrogen Bond. Essa ligação covalente ocorre entre um átomo de carbono e um átomo de hidrogênio, sendo comum em compostos

orgânicos e desempenhando um papel crítico na estabilidade de muitas biomoléculas, como carboidratos, lipídios e ácidos nucleicos.

No caso do OG-D, a proximidade da ligação de hidrogênio refere-se à distância e orientação de uma molécula ou grupo de átomos em relação a um potencial doador e receptor de ligação de hidrogênio. Para que uma ligação de hidrogênio se forme, a distância entre o doador (normalmente um átomo de nitrogênio, oxigênio ou enxofre) e o receptor (normalmente um átomo de nitrogênio, oxigênio ou enxofre) deve ser próxima o suficiente, geralmente entre 2-3 Angstroms, e os átomos deve estar orientado de tal forma que a carga parcial positiva no átomo de hidrogênio seja direcionada para a carga parcial negativa no átomo receptor. A proximidade de uma molécula ou grupo de átomos a uma ligação de hidrogênio potencial pode afetar a estabilidade e a função de uma biomolécula, como exemplificado na estrutura de uma proteína.

O OG-E a partir da interação entre o receptor e os ligantes, considerando tais interações, os resultados do DOC revelaram interações com o chamado local ativo Glicoproteína, onde há maior chance de ligação ligada aos sítios ativos moleculares em questão.

Analisando as distâncias das interações interatômicas e dos resultados do DOC, observa-se que o modo de interação previsto pelas posições pode indicar que ele tem alta capacidade de interação.



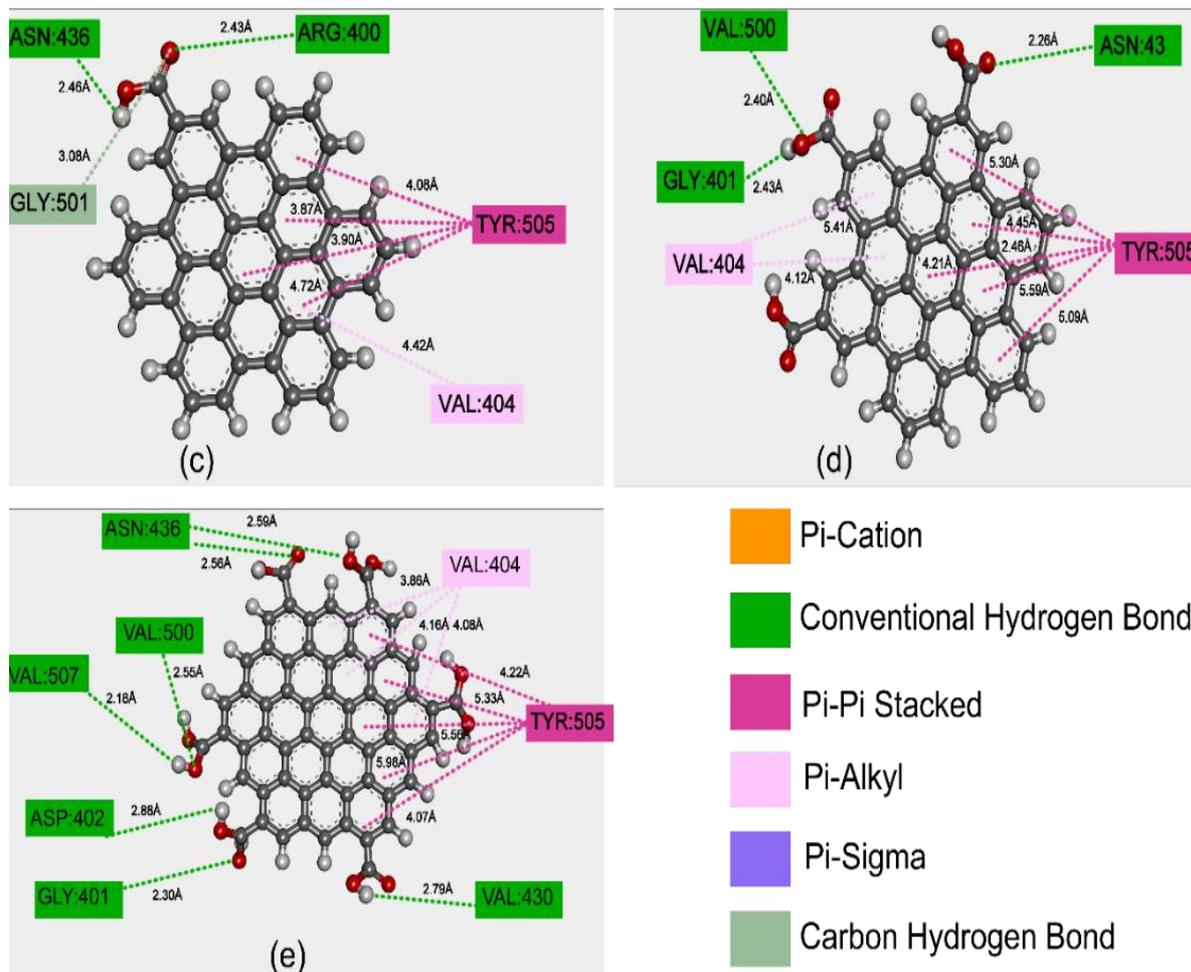


Figura 16: Variante Omicrom: a) OG-A, b) OG-B, c) OG-C, d) OG-D e e) OG-E.

A formação de ligações de hidrogênio em quase todas as interações foi observada em todos os ligantes, enquanto as forças londrinas (forças dispersivas ou de VDW, surgem da flutuação nas distribuições eletrônicas de uma molécula podendo induzir flutuações na distribuição eletrônica da molécula vizinha) são formadas com grupos alifáticos (grupos de carbono compostos por cadeias de carbono aberta).

As posições assumidas pelos ligantes no local ativo permitem interações com os aminoácidos presentes. Na figura 16 se observa que cada posição tomada pode levar a associações com diferentes aminoácidos locais. Quanto melhores as energias de ligação, mais fortes são as interações que ocorrem entre as moléculas de ligantes e os aminoácidos.

4.1.3 MEP para OG-A, OG-B, OG-C, OG-D e OG-E a nível B3LYP/LANL2DZ

A melhor pose resultante do estudo de acoplamento molecular foi selecionada para gerar os mapas de potencial eletrostático. O potencial eletrostático molecular (MEP) desempenha um papel fundamental na etapa inicial da conformação bioativa, explicando as interações entre o receptor e os ligantes.

Na representação dos diferentes valores de potencial eletrostático na superfície, cores distintas são empregadas: o vermelho indica regiões com potencial eletrostático mais negativo, o azul representa regiões com potencial eletrostático mais positivo, e o verde indica regiões com potencial moderado.

A progressão de cores vai de vermelho, laranja, amarelo, verde até azul. O vermelho, verde e azul indicam o alto acúmulo de carga negativa, região neutra e região positivamente carregada, respectivamente, conforme exemplificado na Figura 14. A região negativamente carregada dos pontos centrais (PCs) e dos grupos circunvizinhos desempenha um papel fundamental na interação com as macroestruturas.

O MEP de uma molécula é uma representação da distribuição de elétrons dentro dela e pode ser utilizado para prever a reatividade e o comportamento químico da molécula. O MEP do GO representa a densidade de elétrons e a distribuição do potencial eletrostático na superfície do material.

O GO é uma forma de grafeno produzida pela introdução de grupos funcionais contendo oxigênio, como grupos carboxila e hidroxila, na superfície da folha de grafeno. Esses grupos funcionais conferem ao GO uma superfície altamente polar, resultando em um alto MEP na sua superfície. Esse alto MEP torna a superfície do óxido de grafeno altamente reativa, podendo influenciar as propriedades químicas e físicas do material.

É importante mencionar que o MEP fornece informações com base em cálculos de química quântica ou métodos semiempíricos, onde a distribuição de cargas é determinada pela solução da equação de Schrödinger, que descreve o comportamento temporal de uma função de onda, uma entidade matemática que contém informações probabilísticas para encontrar uma partícula em diferentes estados quânticos. A forma mais geral dessa equação é em função do tempo.

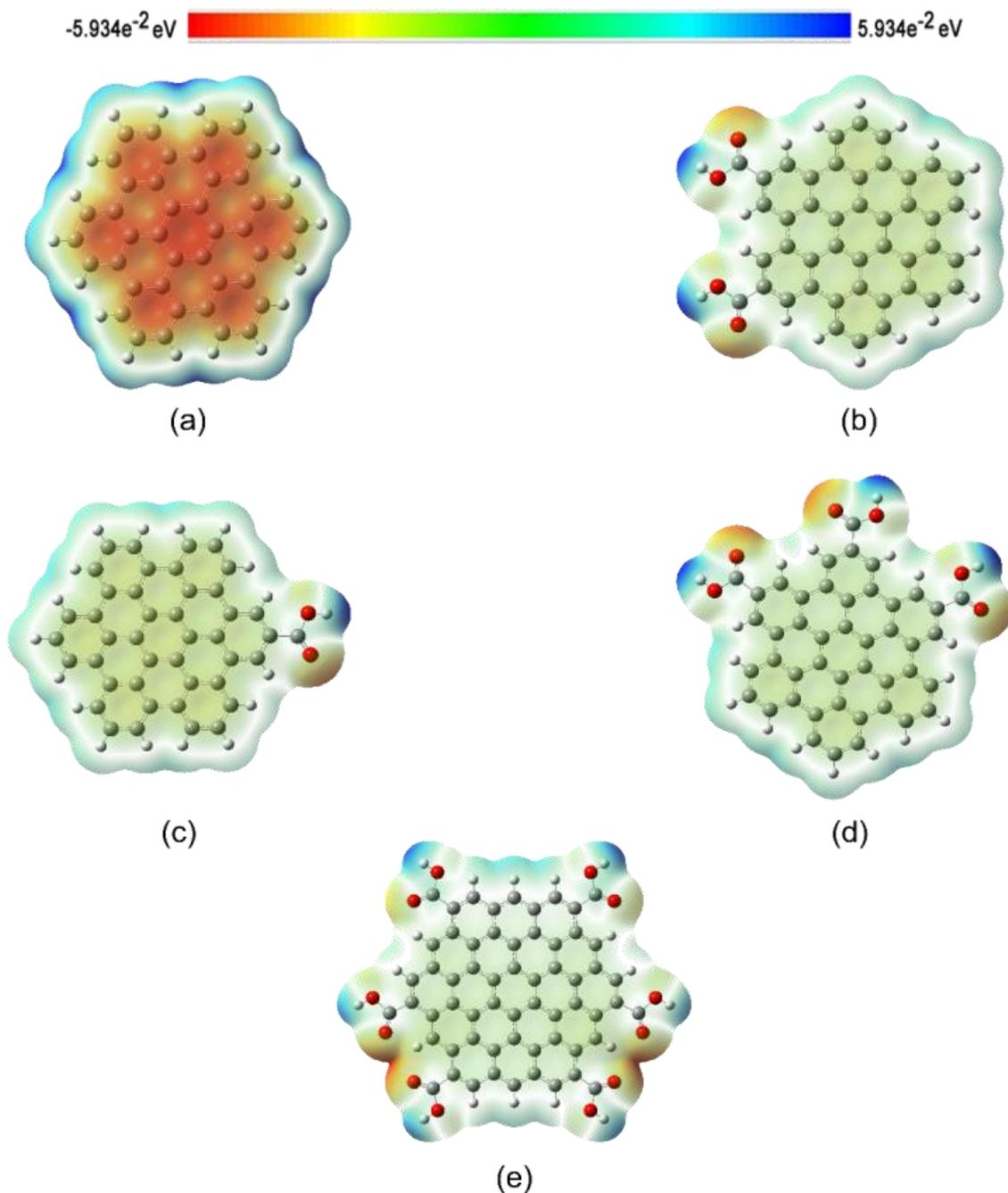


Figura 17: O potencial eletrostático molecular para cada OG estudado.

Na Figura 17.a, pode-se observar que o contorno molecular da OG-A é mais eletropositivo devido à ausência de hidroxilas, o que resulta em uma contribuição limitada para o deslocamento eletrônico em suas estruturas moleculares. Essa propriedade é modificada após a adição das hidroxilas, que atuam como bases ao aceitarem prótons (OH^+) e formarem íons hidróxidos (OH^-). Além disso, a introdução do grupo carbonila, altamente reativo, composto por um átomo de carbono duplamente ligado a um átomo de oxigênio ($\text{C} = \text{O}$) e, em conjunto com a hidroxila no mesmo carbono- COOH , pode doar um

próton (íon H⁺), devido à eletronegatividade do oxigênio.

Por outro lado, observa-se que a adição das OH e C = O causa uma alteração nas regiões eletronegativas do complexo. Os elétrons, inicialmente dispostos em anéis aromáticos, passam a ser atraídos para os prótons OH⁺ e H⁺, como observado nas Figuras 17.b, 17.c, 17.d e, em maior quantidade, na Figura 17.e, devido à presença de um maior número de OH e C = O. Verifica-se que a presença dos grupos OH e C = O aumenta a estabilidade do complexo por meio da energia livre de ligação.

A confirmação dessas interações para os inibidores estudados nem sempre foi obtida por meio da medição das distâncias de ligações de hidrogênio. No entanto, os resultados obtidos por meio dessas abordagens devem ser corroborados por cálculos mais avançados utilizando o funcional de densidade LANL2DZ com B3LYP, que leva em consideração mais variável eletrônica para uma melhor descrição do complexo molecular. Portanto, é importante realizar cálculos mais sofisticados para validar as interações observadas nos inibidores estudados.

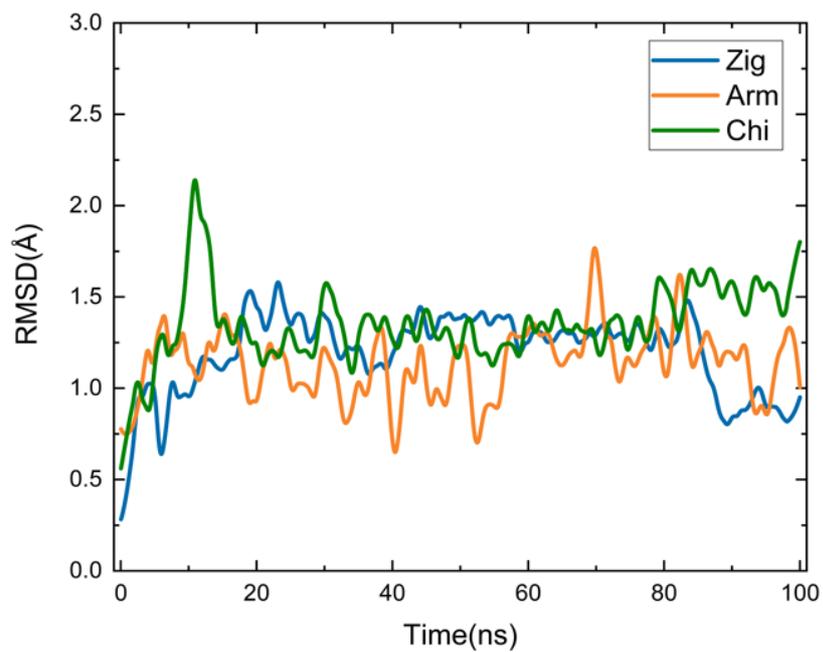
Os resultados obtidos por meio das aproximações das distâncias de ligações de hidrogênio devem ser corroborados com cálculos mais avançados usando o funcional de densidade LANL2DZ com B3LYP que leva em consideração mais variável eletrônica para uma melhor descrição do complexo molecular.

4.2 Análise de DM para os ligantes NTCPUs

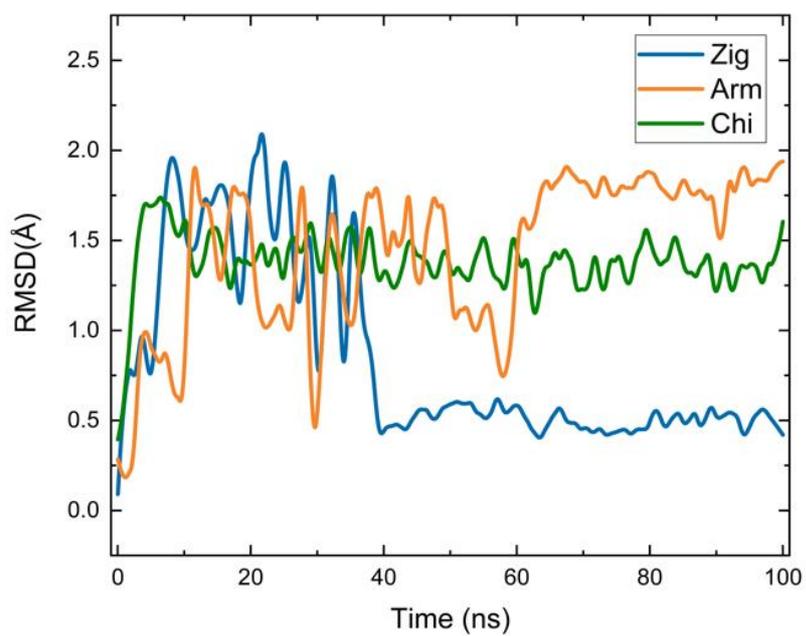
4.2.1 RMSD

Os valores Root Mean Square Deviation (RMSD) dos átomos da estrutura principal dos receptores foram analisados com o objetivo de avaliar a estabilidade dos complexos. Os resultados são apresentados na Figura 18 que mostrando o RMSD em função do tempo. Inicialmente, observou-se um aumento gradual do RMSD no início da simulação de DM. Esse comportamento era esperado, uma vez que, em geral, a interação do inibidor com a proteína tende a reduzir a flexibilidade.

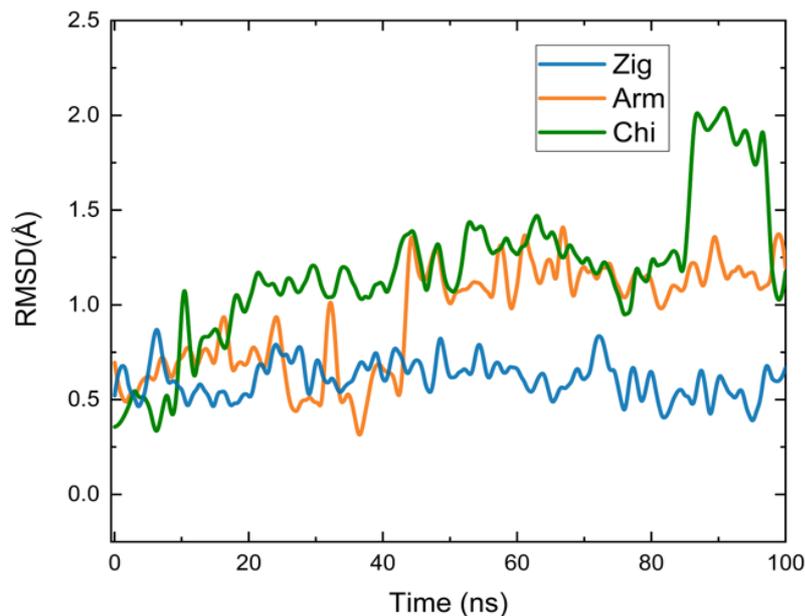
No entanto, foi possível identificar uma diminuição na flexibilidade da região de ligação do substrato, indicando a influência dos inibidores com os resíduos das macroestruturas para os NTCPUs zigzag e armchair. Essa análise de RMSD fornece informações cruciais sobre a dinâmica conformacional dos complexos formados entre os inibidores e os receptores do SARS-CoV-2.



(a)



(b)



(c)

Figura 18: RMSD: a) E-pro, b) M-pro e c) S-gly.

A redução da flexibilidade na região de ligação do substrato sugere uma interação estabilizadora entre os inibidores e os resíduos-chave do sítio ativo das proteínas, o que é altamente relevante para o desenvolvimento de potenciais agentes inibidores. No entanto, é importante realizar análises mais aprofundadas para confirmar e compreender plenamente as implicações dessas observações na atividade inibitória dos compostos em estudo.

As simulações de DM descritas neste estudo permitem que os átomos do sistema atinjam velocidades consistentes com o equilíbrio térmico. A interação eletrostática desempenha um papel fundamental na estabilidade dinâmica temporal do complexo ligante-proteína. Variações no RMSD das estruturas são utilizadas para ilustrar as flutuações conformacionais em torno da média, tornando-se uma ferramenta essencial para estudar a estabilidade das proteínas durante as simulações de DM. As simulações de DM foram consideradas concluídas quando os valores dos átomos de carbono α das principais cadeias proteicas e RMSD dos átomos ligantes, excluindo os átomos de hidrogênio.

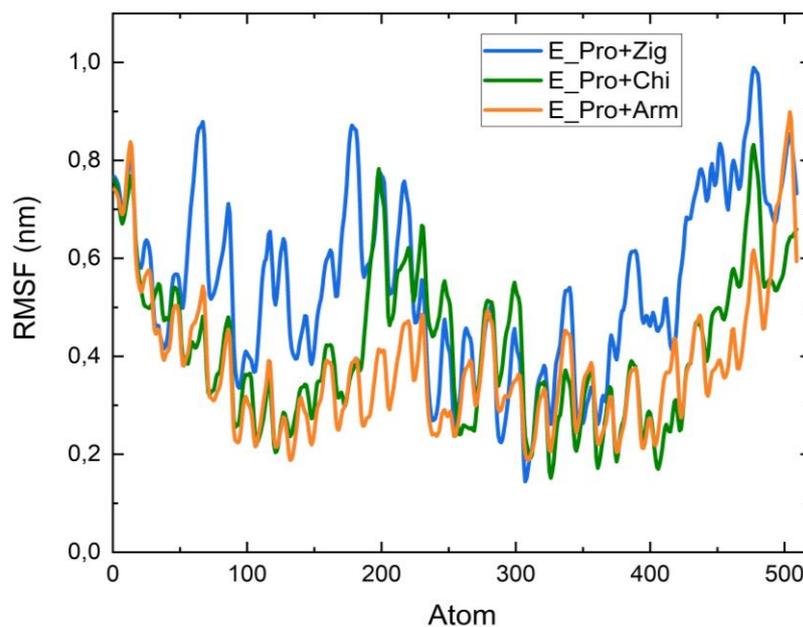
De modo geral, os NTCPUs permaneceram posicionados na região do sítio ativo dos receptores durante a maior parte do tempo das simulações, apresentando comportamentos variados quando comparados os valores de RMSD. Na simulação com a proteína E-pro, não foram observadas alterações significativas nas posições iniciais dos NTCPU em nenhum dos receptores. Entretanto, houve uma tendência de crescimento com

alguns desvios para o NTCPU chiral, bem como algumas flutuações para o armchair. O NTCPU zigzag, por sua vez, apresentou um padrão de estabilidade melhor e manteve-se mais estável em relação à proteína S-gly ao longo do tempo. Esse comportamento pode ser relacionado à grande quantidade de interações hidrogênio e interações hidrofóbicas que ocorreram entre o ligante e os aminoácidos das proteases.

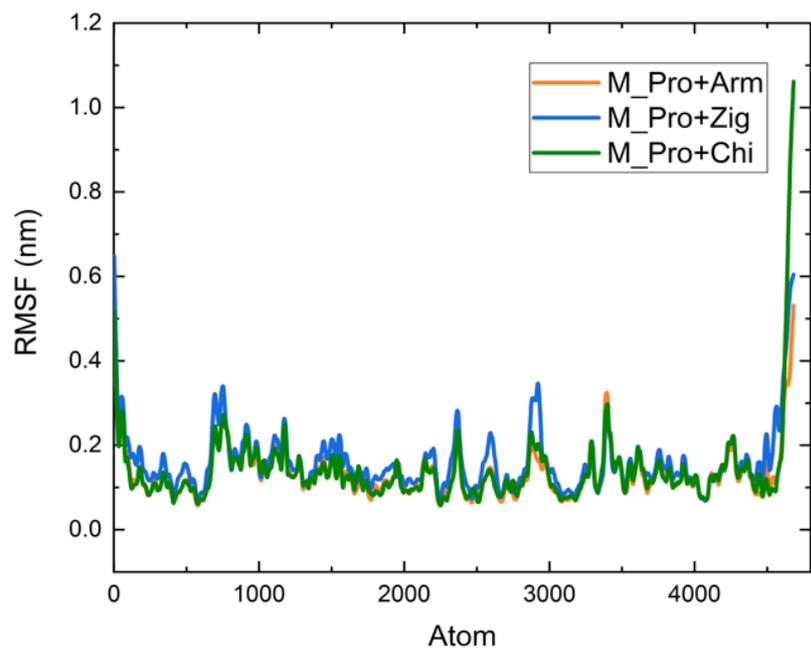
Na conformação com a proteína M-pro, todos os ligantes apresentaram-se inicialmente instáveis, com RMSD variando entre 0,5 e 2 Å. A partir de 40 ns, os NTCPUs começaram a se estabilizar, sendo que o nanotubo chiral apresentou um aumento significativo em sua trajetória, o armchair manteve-se entre 1,0 e 1,5 Å e houve uma redução na distância inicial do nanotubo zigzag, demonstrando maior estabilidade em relação à estrutura inicial. Os complexos NTCPUs+S-gly mostraram estabilidade no início da simulação e um potencial crescimento para os NTCPU chiral e armchair, apesar das flutuações observadas. No entanto, eles permaneceram estáveis nos estágios finais, resultando em um RMSD de 2,0 a 2,5 Å durante a simulação.

4.2.2 Flutuação quadrática média (RMSF)

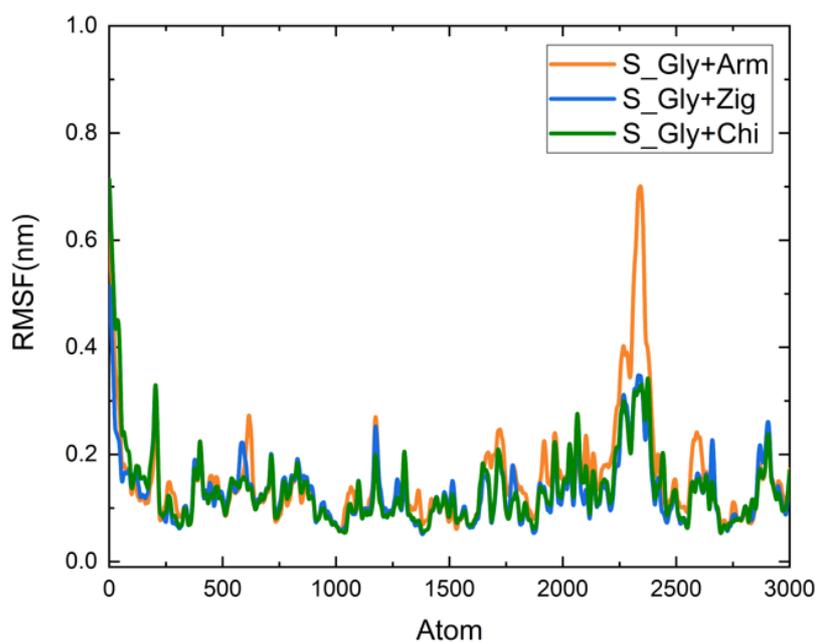
A simulação de DM desenvolveu-se por 100 ns para cada proteína com o intuito de entender as mudanças conformacionais que a proteína sofre após interagir com diferentes ligantes. As estatísticas obtidas da trajetória auxiliaram na investigação do RMSF em função do tempo mostrado na figura 19 para os nove complexos realizada.



(a)



(b)



(c)

Figura 19: RMSF dos complexos, mostrando as variações produzidas nos diferentes subdomínios e os possíveis efeitos alostéricos produzidos nas proteínas: a) E-pro, b) M-pro e c) S-gly.

Durante a DM, as flutuações de RMSF dos resíduos do sítio de ligação foram analisadas para determinar o resultado dos ligantes na dinâmica dos resíduos do sítio ativo da proteína. Na análise gráfica do comportamento dos valores de RMSF, observou-se um padrão de comportamento dos NTCPUs com a M-pro e S-gly, mostrando claramente o movimento dinâmico que ocorre nas regiões do sítio catalítico onde há aberturas mais significativas demonstrando assim maior flexibilidade do que a outra macroestrutura. Durante as simulações, com a E-pro o RMSF possui maior instabilidade e conseqüentemente menor mobilidade e flexibilidade. Os resultados da simulação DM para o complexo e para os receptores são analisados na escala de tempo de 100 ns para entender o comportamento dinâmico e a estabilidade.

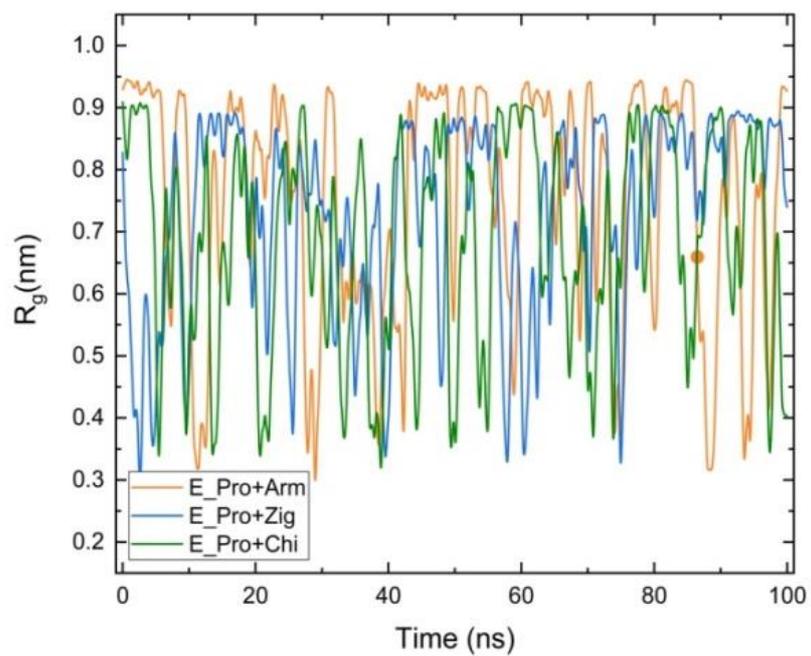
Sendo importante mencionar que nos espectros de RMSF combinados para os complexos simulados verifica-se que os valores medem o desvio médio de uma partícula ao longo do tempo a partir de uma posição de referência. Assim, a RMSF analisa as porções da estrutura que estão flutuando de sua estrutura média.

Em analogia, assumimos que flutuações estocásticas de macroestruturas podem facilitar a entrada dos NTCs no sítio ativo. É possível observar que os ligantes estabilizam rapidamente e acompanham as flutuações globais que a proteína sofre. Essas flutuações, como serão analisadas posteriormente em relação ao raio de giro, podem ser atribuídas a um movimento de rotação ou "respiração" da proteína.

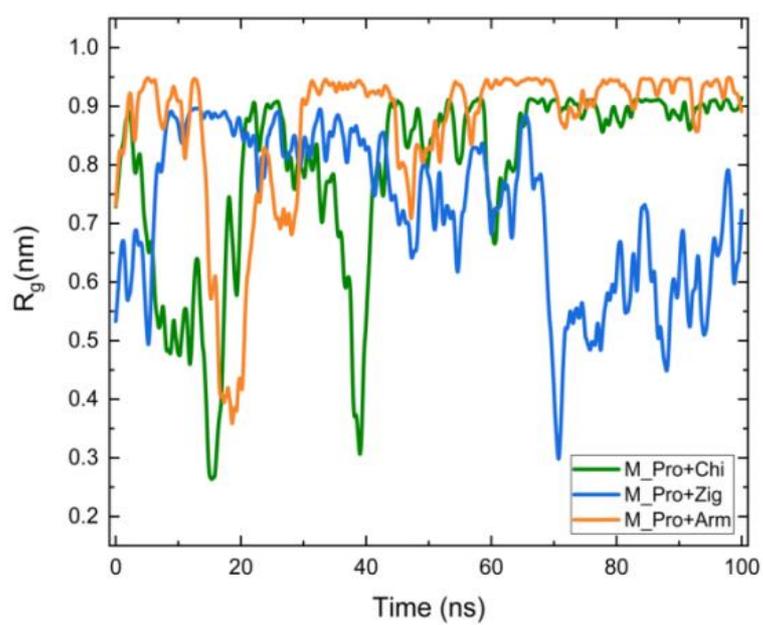
4.2.3 Raio de giro

O raio de giro nos dá informação a respeito da evolução da geometria da proteína, se esta gira ou se está realiza movimentos periódicos de contração e expansão (respiração). Estes movimentos de giro ou de contração acontecem quando o raio de giro com respeito aos eixos se cruza.

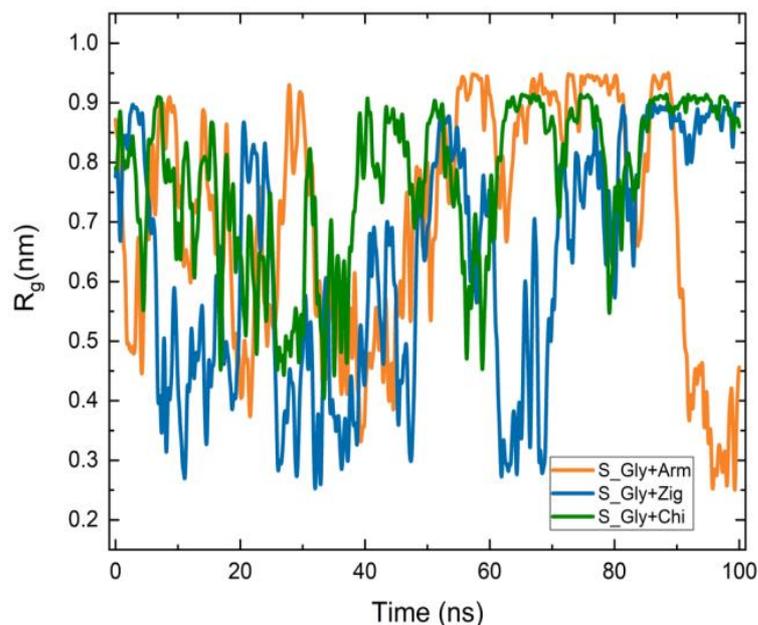
A seguir mostra-se na Figura 20 os cálculos do Rg em função do tempo para os nove complexos ligante/receptor. Quanto mais volumosa a proteína, maior o seu Rg. Nesse caso, pode-se dizer que quando a proteína está desnaturando, seu Rg aumenta.



(a)



(b)



(c)

Figura 20: R_g de NTCPU's com receptores: a) E-pro, b) M-pro e c) S-gly.

Nestas simulações os complexos apresentaram grandes movimentos de domínios, com oscilações e rotações. Porém, esses movimentos não são conclusivos, pois estamos analisando somente 100 ns e uma única simulação de cada complexo.

Assim, não temos amostragens temporais suficientes para descrever uma análise que mostre um comportamento bem mais concreto do raio de giro. Entretanto se verifica que o R_g para as nove simulações realizadas apresentou considerável instabilidade entre ligante-receptor, fato que leva a consideração de que as ligações de ambos os receptores envolvidos tendem para o desempacotamento de suas macroestruturas, e a sua possível desnaturação.

4.2.4 Análise da área de superfície acessível a solventes (SASA)

As áreas de superfície acessíveis aos solventes (SASA) foram calculadas para três sistemas complexados, com o objetivo de medir a interação entre os complexos proteína/ligante e os solventes em diferentes intervalos de tempo (figura 21). Esses cálculos foram realizados utilizando o pacote de software GROMACS 2021.1.

As áreas de superfície polar e não polar são frequentemente definidas com base nas cargas atômicas parciais retiradas dos potenciais moleculares utilizados nos campos de força. Essas cargas atômicas parciais diferem significativamente entre os campos de força.

Para evitar esta dependência do campo de força, recalculamos as áreas de superfície acessíveis aos solventes polares e apolares médias, somando as contribuições não de acordo com as cargas parciais dos átomos, mas de acordo como se esses átomos pertencem a resíduos hidrofóbicos ou hidrofílicos.

Observou-se que as superfícies acessíveis ao solvente dos aminoácidos terminais são significativamente maiores e não dependem dos campos de força, indicando que eles estão amplamente expostos ao solvente. Por outro lado, os resíduos que apresentam menor flutuação quadrática média, também possuem menor área exposta ao solvente, pois estão localizados na parte mais central da estrutura dos receptores e, portanto, protegidos do solvente.

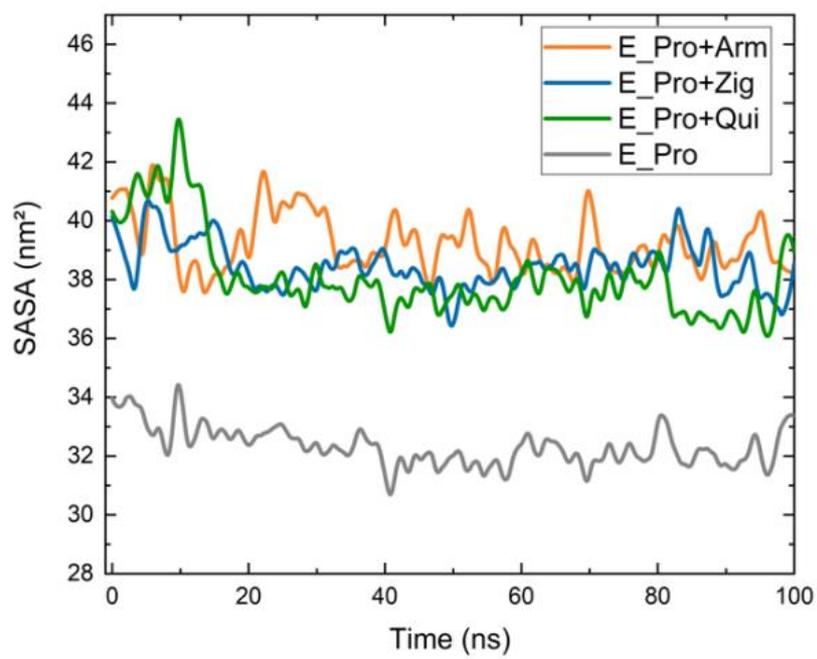
A energia livre de solvatação não polar de cada átomo em uma molécula é proporcional ao SASA. Esse termo não polar é responsável pelo rearranjo das moléculas de solvente em torno do soluto e pela interação de contato entre o soluto e as moléculas de solvente.

Esses resultados fornecem informações valiosas sobre a solvatação dos complexos estudados, ajudando a entender melhor as interações entre o complexo proteína/ligante e os solventes em diferentes momentos durante as simulações de DM.

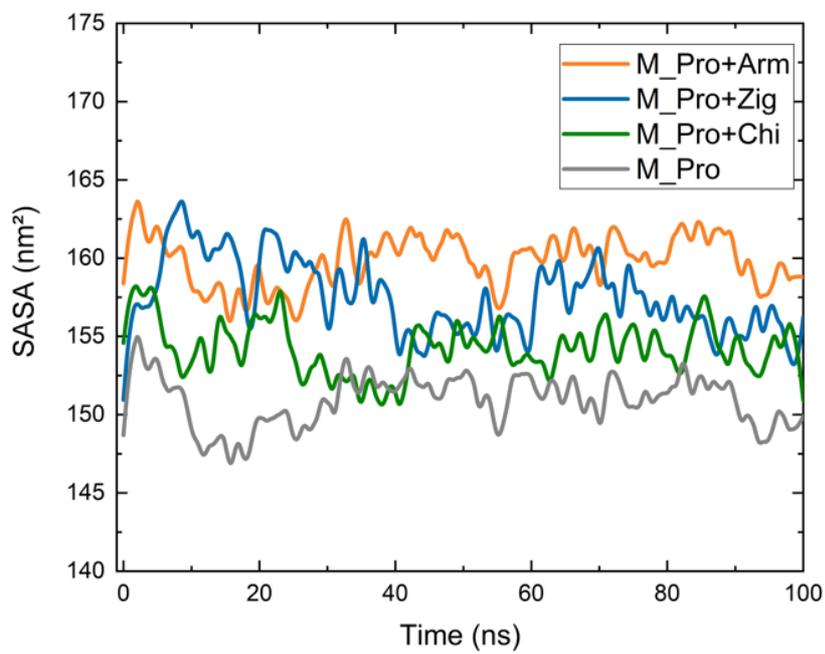
Mudanças conformacionais da proteína E-pro, foram modeladas ao longo do período de simulação foram estimadas usando cálculos de SASA. O valor de SASA médio calculado para E-pro durante a simulação de 100 ns foram relativamente estáveis, indicando que não houve mudanças significativas em sua estrutura, porém na interação com o NTCPU + zigzag houve variações significativas no período de 80 a 100 ns como visto na Figura 14.

Os resultados confirmaram a exposição e acessibilidade dos resíduos da M-pro ao solvente. O cálculo do SASA revelou que a interação com o NTC zigzag resultou em um intervalo de SASA entre 10 e 40 ns, indicando maior acessibilidade da superfície do receptor. Notavelmente, o NTCPU quiral demonstrou estabilidade no valor do SASA durante a interação. Por outro lado, para a interação M-pro + NTCPU armchair, o valor do SASA aumentou entre 30 e 50 ns.

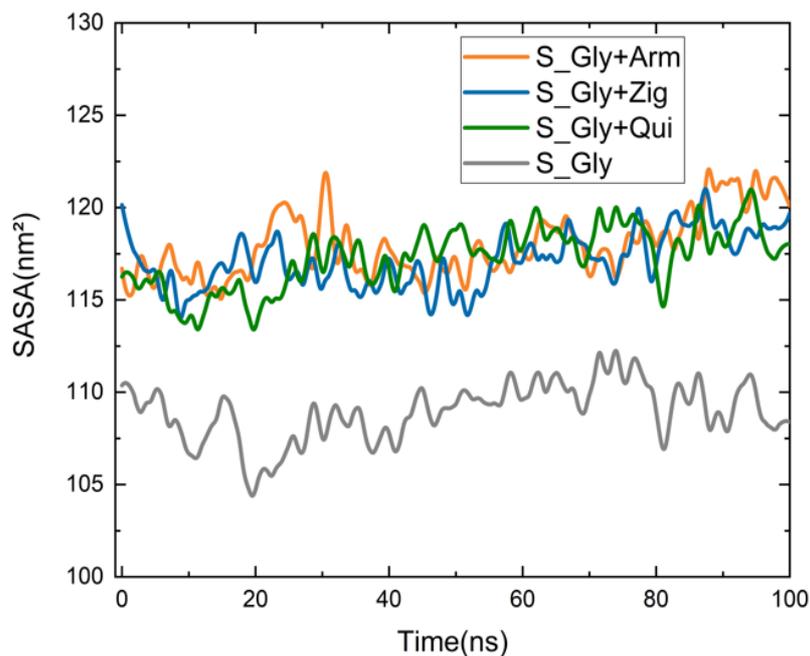
A análise da figura 16(c) mostrou que os complexos nessa simulação permaneceram mais estáveis, com pouca variação e diminuição da quantidade de proteína, indicando uma redução da área de superfície acessível ao solvente e, conseqüentemente, maior estabilidade da proteína. Em comparação com outras interações, o valor do SASA da estrutura formada pelos NTCPUs com a S-gly foi globalmente mais estável.



(a)



(b)



(c)

Figura 21. SASA em relação com: a) E-Pro, b) M-pro e c) S-gly.

O cálculo do SASA relativo permitiu prever mudanças conformacionais da proteína após a ligação dos ligantes. Observou-se que a ligação das macroestruturas com os NTCPUs induziu pequenas mudanças conformacionais nas estruturas virais, conforme estimado pelos cálculos de SASA. Esses resultados confirmaram a exposição e acessibilidade dos resíduos da macroestrutura ao solvente usando cálculos de SASA.

4.2.5 Análise da energia livre de Gibbs (ΔG)

A energia de ligação livre e os desvios padrões relativos em porcentagem de simulações de sistema único acima de 100 ns foram calculados assumindo que os complexos ligante-receptor estavam se movendo separadamente, no entanto, as simulações de sistema único ainda eram estáveis.

A partir da ΔG de ligação negativa total, os valores indicaram uma maior ocorrência de interações. A interação com os receptores é amplamente controlada pela adsorção que ocorre sobre eles, uma vez que a interação ocorre diretamente com o ligante adsorvido. Devido a essa adsorção, há uma mudança no ΔG do sistema, que diminui durante o processo de interação. As interações eletrostáticas entre os resíduos carregados apresentados pela superfície dos receptores com os NTCPUs têm contribuição para o ΔG negativo.

O comportamento dinâmico dos compostos selecionados é analisado para perfis de baixa energia usando o script gMM/PBSA, que utiliza o método MM/PBSA, que é usado para pós-processamento de estruturas acopladas junto com a confiabilidade da ligação do composto dentro do bolso de ligação flexível. Os 100 ns da simulação dos complexos proteína-ligante junto com a energia livre de ligação do MM/PBSA sugere que as moléculas principais se encaixam perfeitamente no local de ligação e são estruturalmente estáveis com um perfil de baixa energia.

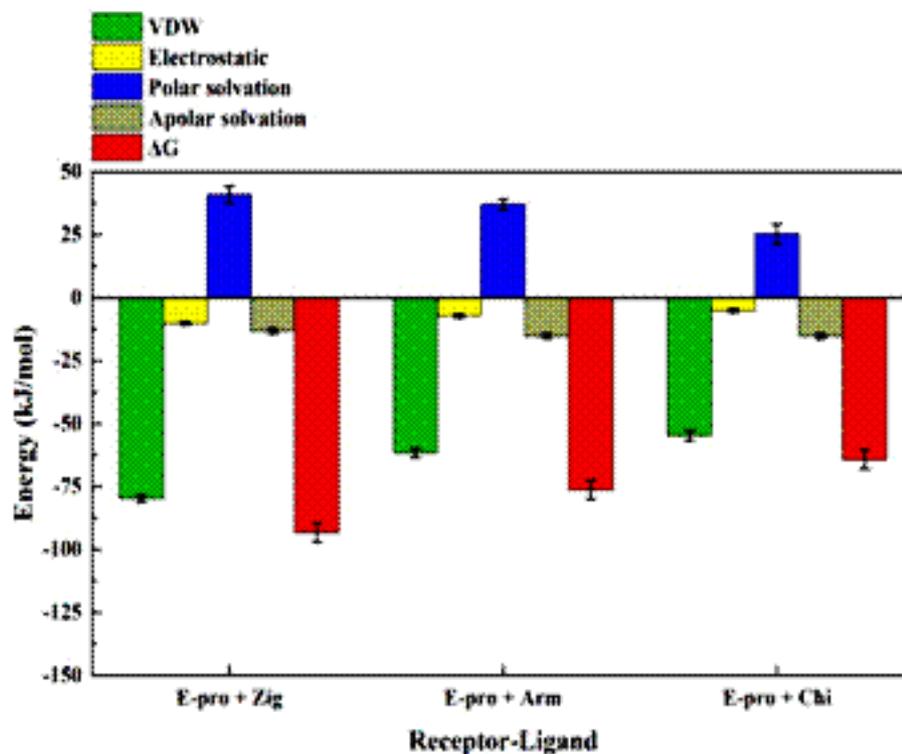
O gMM/PBSA fornece opções para usar três modelos não polares alternativos. A influência da escolha do modelo na energia de ligação foi, portanto, examinada. Os valores não polares foram calculados usando esses diferentes modelos não polares com os parâmetros mostrados na Tabela 4.

Tabela 4. Componentes de potência para todas as simulações (média \pm desvio padrão relativo %).

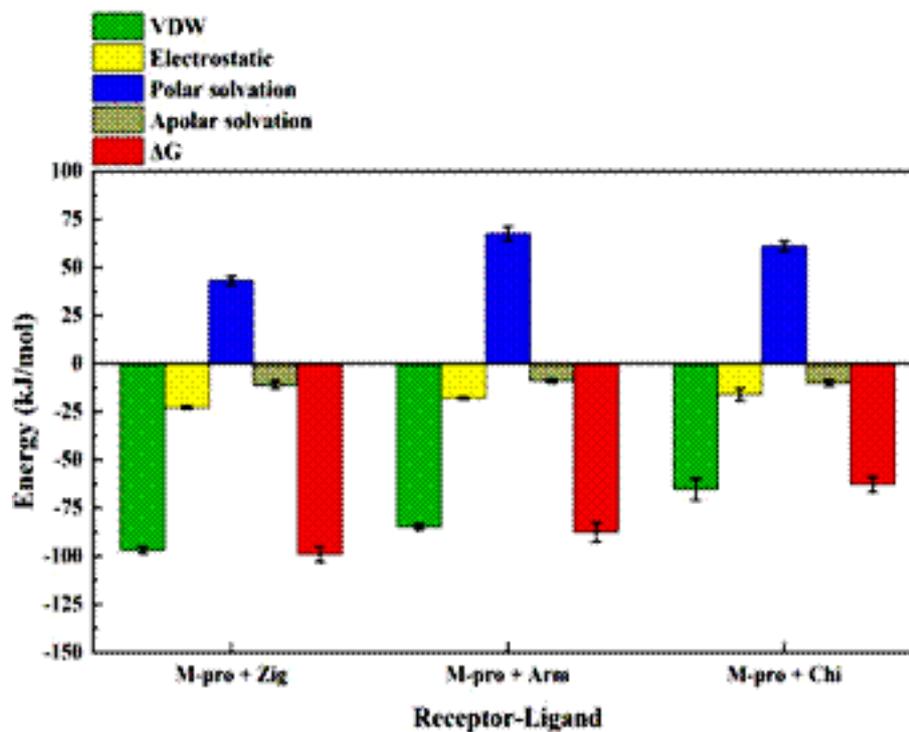
Complexo	VDW (kJ/mol)	Electrostática (kJ/mol)	Polar solvatação (kJ/mol)	Apolar solvatação (kJ/mol)	ΔG Ligação (kJ/mol)
E-pro + Zig	-79,71 \pm 1,31	-10,18 \pm 0,68	40,93 \pm 3,43	-13,31 \pm 1,03	-93,24 \pm 3,88
E-pro + Arm	-61,71 \pm 1,81	-7,16 \pm 0,71	37,04 \pm 2,03	-15,31 \pm 1,03	-76,24 \pm 3,86
E-pro + Chi	-54,82 \pm 1,91	-5,12 \pm 0,79	25,23 \pm 4,02	-15,31 \pm 1,03	-64,22 \pm 3,86
M-pro + Zig	-96,92 \pm 1,79	-22,84 \pm 0,70	43,10 \pm 2,45	-11,08 \pm 1,96	-99,09 \pm 3,92
M-pro + Arm	-84,92 \pm 1,45	-17,93 \pm 0,64	67,56 \pm 3,68	-9,08 \pm 0,96	-87,57 \pm 4,96
M-pro + Chi	-65,29 \pm 5,69	-15,94 \pm 3,10	60,93 \pm 2,57	-10,06 \pm 1,52	-62,73 \pm 3,89
S-gly + Zig	-166,29 \pm 4,68	-24,67 \pm 3,92	71,30 \pm 1,12	-10,06 \pm 1,52	-112,73 \pm 3,33
S-gly + Arm	-132,29 \pm 9,58	-16,51 \pm 2,94	63,28 \pm 3,62	-10,06 \pm 1,52	-94,38 \pm 3,45
S-gly + Chi	-107,29 \pm 2,57	-08,52 \pm 1,19	44,37 \pm 2,99	-10,06 \pm 1,52	-80,49 \pm 3,67

A análise da variação da energia VDW para essa interação visou investigar propriedades estruturais dos NTCPUs. Assim, as interações de VDW desempenham um papel importante nas propriedades dos sistemas nos quais interações dipolo-dipolo muito mais forte estão presentes na energia potencial no solvente. Incluindo termos vinculados, como, ângulo e energias de torção, bem como termos não vinculados, como VDW e interações eletrostáticas. O segundo termo é responsável pela dissolução das diferentes espécies. É quantificado pela soma de dois termos de energia, ou seja, as energias de solvatação polar e não polar usando um modelo de solvatação implícito.

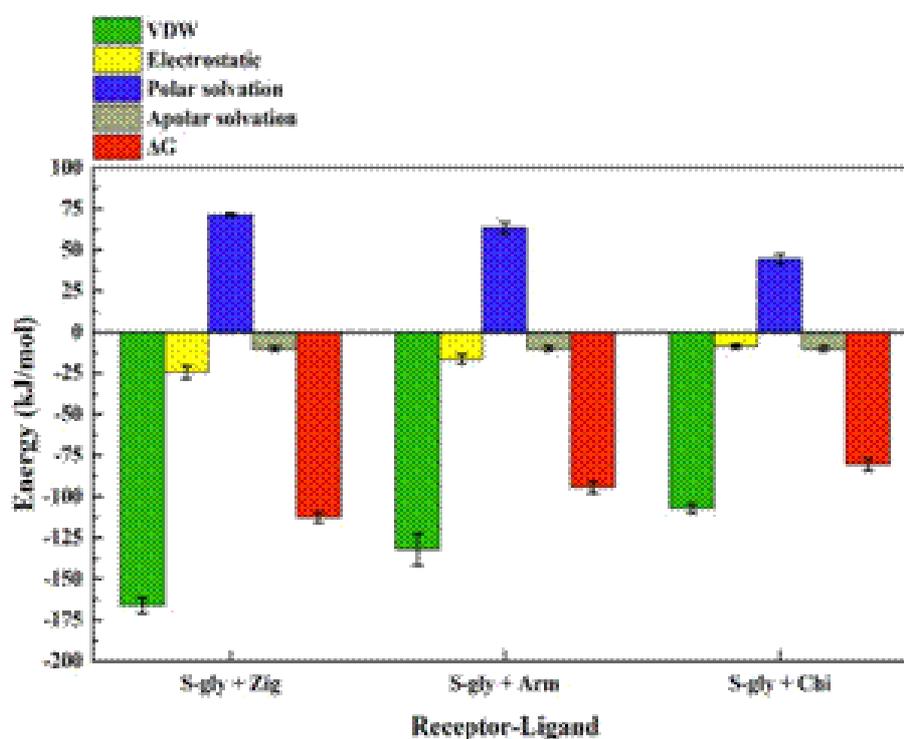
Os valores para a solvatação apolar na tabela 4 mostram um aumento acentuado conforme a interação se aproxima da superfície do SARS-CoV-2, indicando relaxamento estrutural. Assim, assumimos que os tempos de simulação 100 ns foram suficientes para amostrar sistemas equilibrados. O valor de energia apolar de solvatação mais alto é encontrado para a interação dos NTCPU com a S-gly. Os parâmetros para esses modelos foram otimizados com base em simulações explícitas de solvente e validados contra energias livres de solvatação. A análise gráfica das energias de ligação em função dos complexos de interação ligante/proteína em solução é mostrada por meio dos histogramas apresentados na Figura 22.



(a)



(b)



(c)

Figura 22. Energias de ligações em função das interações NTCs + estruturas externas do SARS-CoV-2.

No entanto pode-se observar que a energia eletrostática da interação dos NTCPUs aumentou conforme foram testadas estruturas ligantes mais a superfície do vírus, o que pode contribuir para a interação nesses locais. A atração eletrostática é considerada características comuns de todos os sistemas, dentre as simulações a S-gly + NTCPU zigzag demonstrou alto valor de energia de VDW, usando as estratégias de simulação.

A energia potencial de VDW varia principalmente por dois fatores, especificamente, área de superfície (geometria da molécula) e polarizabilidade elétrica, dentre os diversos tipos de energia calculados. Podemos relacionar isso a possibilidade de DOC em uma área mais externa da glicoproteína, além do NTCPU zigzag possuir propriedades elétricas [93]. Sendo importante mencionar que moléculas grandes geralmente estão associadas a uma maior polarizabilidade elétrica.

Os NTCPUs mais estáveis são mais polarizáveis, pois há uma melhor distribuição de carga para deformar e interagir. Os resultados da análise energética mostrado no gráfico da Figura 23 demonstra o comportamento dos valores de ΔG Ligação para os três tipos de proteínas.

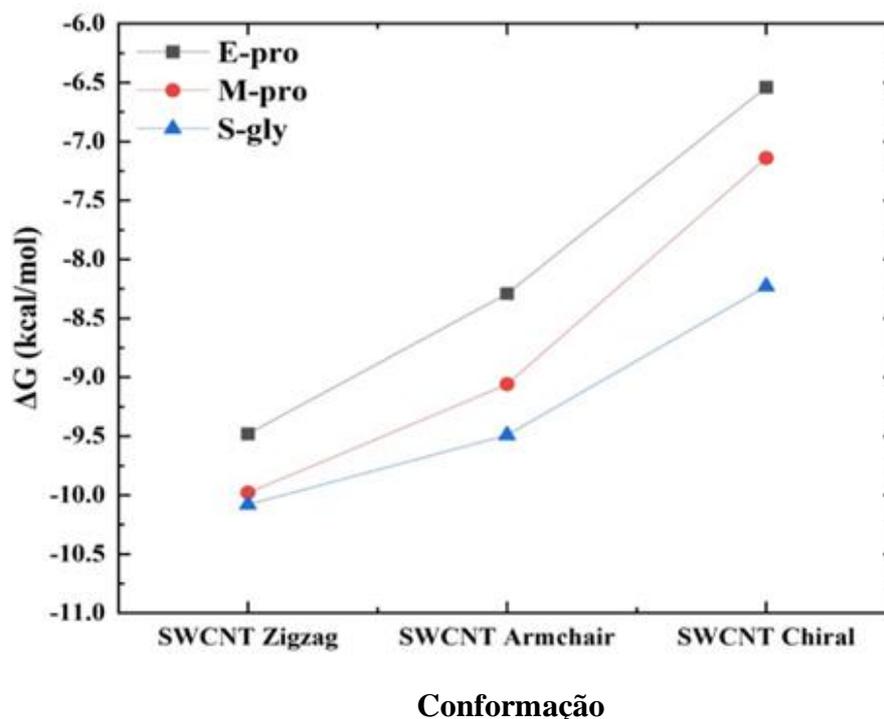


Figura 23. Comportamento dos valores da ΔG Ligação para as três proteínas.

Os valores da ΔG Ligação obtidos, mostram que as contribuições para o acoplamento do ligante foram os termos de solvatação polar, solvatação não polar e VDW. Esses inibidores identificados não representam quaisquer mudanças significativas em suas energias livres de ligação. Dentre as interações se destacam as com a proteína S-gly, os valores de ΔG apresentam a maior valor de afinidade, demonstrando a eficácia da interação com os resíduos da glicoproteína. A E-pro também mostra afinidade, os ligantes não interagem significativamente com os resíduos do local de ligação e também tem uma alta instabilidade, que se traduz em um elevado valor de desvio padrão, a interação com a M-pro fica com valor intermediário, mesmo assim demonstra estabilidade quando comparada a E-pro, esse último receptor não é tão adequado quando se trata de interação para a inibição das estruturas do SARS-CoV-2, porém a interação dentro do sítio de ligação persiste durante toda a simulação.

A energia potencial de VDW varia principalmente por dois fatores, especificamente, área de superfície (geometria da molécula) e polarizabilidade elétrica (tamanho molecular), entre os diferentes tipos de energia calculados. Moléculas grandes estão geralmente associadas a uma maior polarizabilidade elétrica. A energia potencial eletrostática é influenciada pela polaridade das moléculas que interagem que pode ser expressa por um momento de dipolo. Quanto maior a diferença nos valores de eletronegatividade dos átomos ligados, maior o momento de dipolo elétrico. A existência de heteroátomos centrais desempenha um papel significativo no aumento da polaridade da molécula.

4.3 Análises de DM para os ligantes QDGs

4.3.1 RMSD

Os valores de RMSD forneceram informações sobre o equilíbrio do sistema, ou seja, o momento em que a estrutura converge em sua conformação média mais estável. No início da simulação, os valores tendem a aumentar acentuadamente à medida que as estruturas tentam se equilibrar até atingirem um nível que sugere que as estruturas atingiram o equilíbrio.

Como os valores de RMSD são dados em função do tempo, essa análise permite observar o período que as estruturas levam para se estabilizar. Aqui, a diferença foi medida entre os átomos da estrutura inicial retirada da simulação DM e cada estrutura obtida durante os 150 quadros subsequentes da trajetória da simulação.

Para validar e confirmar a estabilidade dos complexos proteína/ligante sugerida, realizamos simulação DM de 150 ns para as três macromoléculas com os OGs. O RMSD foi calculado para cada complexo (Figura 24). O valor de RMSD pode prever a estabilidade do complexo de ligantes de corridas de DM. Um valor de RMSD mais baixo indica maior estabilidade do complexo proteico. Calculamos o RMSD dos complexos em relação ao átomo de C α em relação ao tempo de simulação DM.

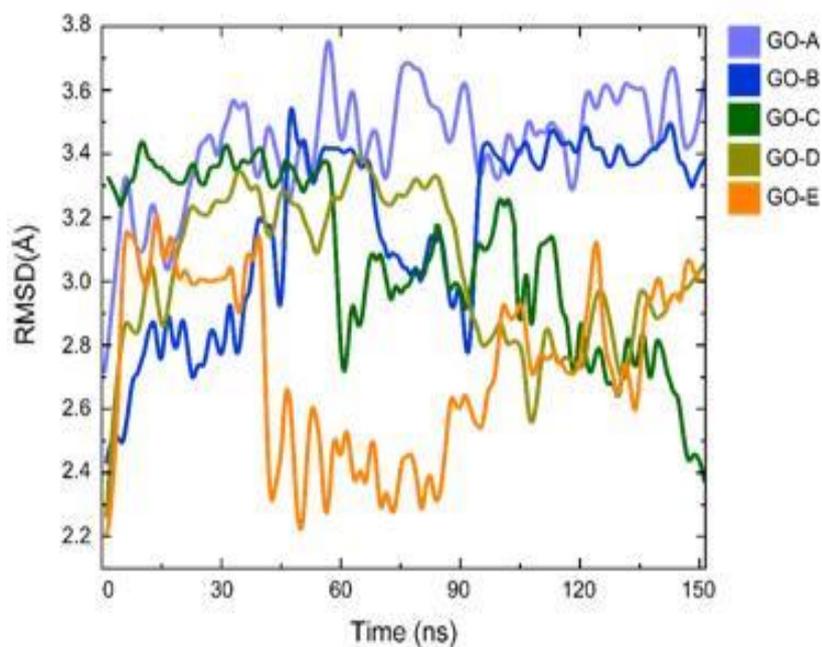
O OG-A com o S-GLY-KAPPA figura 24a apresentou certa distância no início da simulação e instabilidade entre 25 e 50 ns, a partir dos 55 ns sua trajetória ficou mais estável, mas entre todos os OGs simulados, foi a que apresentou maior distância, devido à falta de interações do oxigênio, que não está presente em sua estrutura. Com o S-GLY-DELTA a figura 24b apresentada manteve o comportamento inicial da simulação anterior mas obteve instabilidade ao longo do período simulado, demonstrando assim imprecisão em sua posição ao longo do tempo. Com o S-GLY-OMICRON figura 24c o OG-A, apresentou estabilidade entre 10 e 65 ns, mas obteve um rápido aumento em sua distância, devido às forças intermoleculares dentro do sítio de conexão.

O OG-B com o S-GLY-KAPPA figura 24a apresentou certa distância no início da simulação e instabilidade entre 0 e 85 ns, a partir de 90 ns sua trajetória ficou mais estável. Com o S-GLY-DELTA figura 24b, o OG-B manteve o comportamento inicial de aumentar o RMSD da simulação anterior, mas obteve instabilidade ao longo do período, focando nos períodos entre 60 e 90 ns onde houve queda e logo após 91 ns houve um aumento acentuado em suas trajetórias ao longo do tempo. Com o S-GLY-OMICRON figura 24c o OG-B, apresentou estabilidade entre 10 e 65 ns, mas obteve um rápido aumento em sua distância, devido às forças intermoleculares dentro do sítio de conexão.

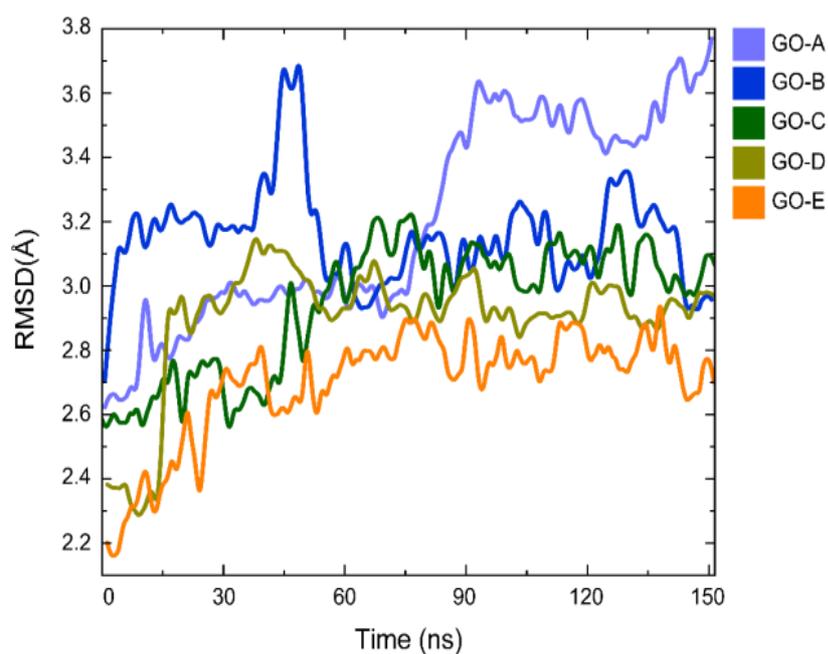
OOG-C com o S-GLY-KAPPA figura 24a apresentou certa distância no início da simulação, sem ficar estável por um breve período, entre 20 e 35 ns, a partir dos 70 ns sua trajetória ficou mais instável com um pico entre 40 e 60 ns seguindo uma trajetória com muitos desvios. Já com o S-GLY-DELTA figura 24b, o OG-C manteve o comportamento inicial de aumentar o RMSD da simulação anterior, mas obteve estabilidade até 60 ns, e longos períodos de queda e capacidade de instalação estando entre os demais simulados no final da simulação aquele que obteve menor média de RMSD. Com o S-GLY-OMICRON figura 24c o OG-B, apresentou um aumento entre 10 e 60 ns, mas obteve comportamento semelhante ao linear apresentando um pequeno pico.

O OG-D com o S-GLY-KAPPA da figura 24a, obteve o comportamento esperado nos primeiros 20 ns de simulação, apresentou uma queda de 40 para 65 ns, e permaneceu

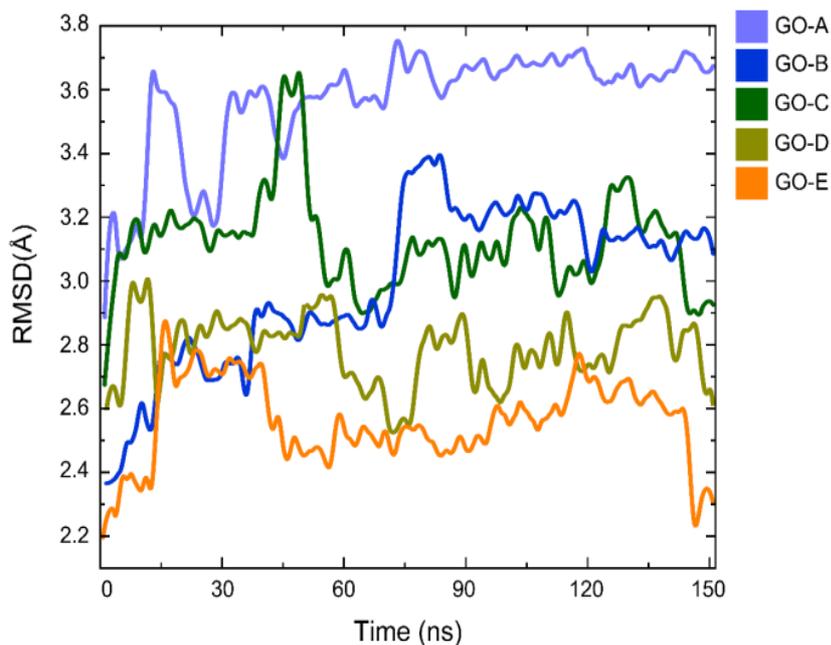
com variações em sua posição durante a simulação sem grandes mudanças em sua trajetória, com o S-GLY-DELTA apresentou comportamento de acordo com o outro OG, com maior variação no período de 70 a 130 ns, e com o S-GLY-OMICRON o OG-D apresentou uma trajetória mais estática com pequenas variações.



(a)



(b)



(c)

Figura 24: RMSD versus tempo de: a) S-GLY-KAPPA, b) S-GLY-DELTA e c) S-GLY-OMICRON.

O OG-E com o S-GLY-KAPPA figura 24a obteve um aumento de seu RMSD entre 15 e 20 ns estabilidade parcial, aproximação de 40 a 60 ns, estabilidade de 60 a 120 ns terminando com uma diminuição em sua estrutura, com S-GLY-DELTA apresentou novamente como o OG anterior, maior variação sobre sua posição inicial, com saltos maiores entre 40 e 60 ns, e com o S-GLY-OMICRON o comportamento foi de incapacidade parcial ao comparar o conjunto de simulações, é entenderam que as simulações com o OG-E foram as mais estáveis, isso se deveu a sua estrutura com maior presença de hidroxilas se mantém, ocasionando a maior formação de pontes de hidrogênio.

Sendo relevante mencionar por meio de interpretação da figura 24a que os OGs com interações mais estáveis, ou seja, com menores valores de RMSD, foram as estruturas com maior presença de oxigênio. Este resultado está de acordo com os resultados previstos nas simulações de DOC, pois após a adição de grupos contendo ácidos carboxílicos passaram a apresentar ligações mais fortes.

No entanto, fazendo uma análise mais detalhada da flexibilidade da estrutura OG-A observa-se esta apresentou uma maior amplitude de movimento que ocorreu devido à concentração de carga em seu interior causando uma menor interação com as macroestruturas.

Os OGs mais estáveis apresentam melhor distribuição de carga para deformar e interagir. O resultado da análise energética da Figura 25 mostra os valores de ΔG Ligação para os cinco OGs.

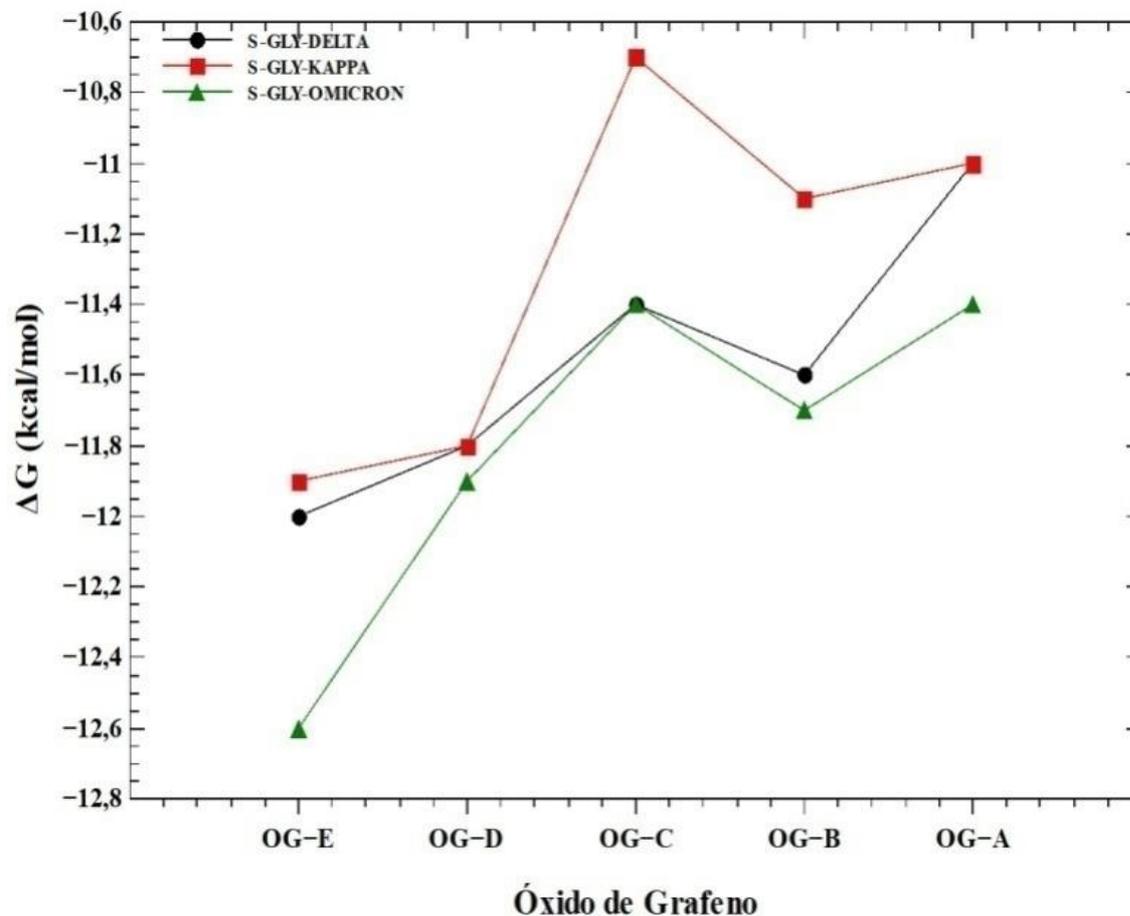


Figura 25: Valores da ΔG Ligação para as três proteínas variantes da S-gly.

As interações da proteína S-GLY-OMICRON, apresentaram maior valor de afinidade com os ligantes de OGs, isso demonstrando a eficácia da interação com os resíduos da glicoproteína. A S-GLY-KAPPA também mostra afinidade, entretanto os ligantes não interagem significativamente com os resíduos do local de ligação. A interação com a S-GLY-DELTA fica com valor intermediário, mesmo assim demonstra estabilidade quando comparada a S-GLY-KAPPA, esse último receptor é o menos interagente, porém a interação dentro do sítio de ligação persiste durante toda a simulação.

Na figura fica evidente que o ligante de maior afinidade é o OG-E, fato que se relaciona ao maior número de hidrogênio em sua estrutura.

4.3.2 Energia Livre

O comportamento dinâmico dos compostos selecionados é analisado para perfis de baixa energia por meio do script G_MM/PBSA, utilizando o método MM/PBSA, que é empregado para o pós-processamento de estruturas acopladas, com o intuito de avaliar a confiabilidade da ligação do composto dentro do sítio ativo das proteínas. As simulações de 150 ns dos complexos de ligação de proteínas, juntamente com os cálculos de energia livre de ligação MM/PBSA, sugerem que as moléculas principais se encaixam perfeitamente no sítio de ligação e são estruturalmente estáveis, apresentando um baixo perfil de energia. Vale ressaltar que a energia de VDW é um tipo de energia de interação intermolecular não ligada, que surge de forças atrativas ou repulsivas entre átomos ou moléculas vizinhas.

No contexto do SARS-CoV-2, a energia de VDW da S-gly pode desempenhar um papel crucial na determinação de sua estabilidade e função. Ao analisar a energia de VDW, observamos que os menores valores foram atribuídos aos OGs com pouco ou nenhum átomo de oxigênio em sua estrutura, sendo o menor valor de -94,8062 kcal/mol para OG-A com S-GLY-KAPPA e -159,5883 kcal/mol para OG-E com S-GLY-OMICRON. Essas informações nos fornecem insights sobre as interações intermoleculares entre diferentes regiões da S-gly e seus efeitos na estabilidade global da molécula. Esses conhecimentos podem ser valiosos para o desenvolvimento de medicamentos antivirais e vacinas que visam regiões específicas da S-gly.

É importante mencionar que quanto maior for a diferença nos valores de eletronegatividade dos átomos ligados, maior será o momento de dipolo. A presença de heteroátomos centrais desempenha um papel significativo no aumento da polaridade da molécula. Ao analisar a variação da energia VDW para essa interação, nosso objetivo foi investigar as propriedades estruturais dos OGs, com o intuito de definir sua capacidade de atuar como QDGs. Assim, as interações VDW desempenham um papel crucial nas propriedades dos sistemas em que ocorrem, especialmente quando há interações dipolo-dipolo mais fortes presentes.

As simulações dos complexos OGs-Macromoléculas em sua fase mais estável sob condições padrão consistem em fortes ligações intracamadas covalentes de grupos carboxílicos da estrutura do OG, tornando-o uma geometria hexagonal plana e fraca interação de VDW entre as camadas no estado bulk, conforme mostrado nas figuras 24a, 24b e 24c. Há também interação eletrostática devido à diferença de eletronegatividade

entre os átomos de oxigênio conforme mostra a figura 6 entre as camadas adjacentes da superfície. Ao contrário da distribuição de elétrons na ligação C-C do grafeno, os elétrons na ligação O-H se movem em direção aos átomos eletronegativos das proteínas, não ocupam os átomos O e O-H e fornecem um caráter iônico parcial através da polarização do grupo funcional, fornecendo assim propriedades dos QDGs.

Os valores de energia SASA na Tabela 4 mostram um aumento acentuado à medida que a interação se aproxima da superfície do SARS-CoV-2, indicando relaxamento estrutural. Assim, assumimos que os tempos de simulação de 150 ns foram suficientes para mostrar sistemas balanceados. O maior valor de energia SASA é encontrado para a interação de OG-E com S-GLY-OMICRON. Vários modelos alternativos de solvatação não polar, juntamente com o amplamente utilizado modelo SASA, também estão incluídos. A energia SASA fornece informações sobre a exposição de diferentes partes de uma molécula ao solvente, o que é necessário para entender sua estabilidade, reatividade e interações com outras moléculas.

Os valores de energia SASA com S-gly do SARS-CoV-2 apresentaram o mesmo padrão encontrado na simulação DM. A proteína S-gly é a principal componente do vírus responsável pela ligação às células hospedeiras e pelo início da infecção. A área de superfície acessível ao solvente (SASA) da S-gly pode fornecer informações sobre suas regiões expostas e acessíveis, que estão envolvidas em interações com outras moléculas, incluindo receptores do hospedeiro. A compreensão da SASA da S-gly é notória para o desenvolvimento de medicamentos antivirais e vacinas, pois pode ajudar a identificar os locais-alvo para essas terapias. No entanto, a SASA da S-gly é uma propriedade complexa e dinâmica que pode mudar com base no estado conformacional da proteína, na presença de outras moléculas e nas condições do ambiente.

A energia eletrostática molecular refere-se à energia associada à distribuição de espécies carregadas dentro de uma molécula. No contexto do SARS-CoV-2, a energia eletrostática molecular da S-gly, uma componente-chave do vírus responsável pela ligação às células hospedeiras e pelo início da infecção, pode desempenhar um papel crucial na determinação da estabilidade e função da proteína. Ao calcular a energia eletrostática molecular, obtivemos informações sobre as interações entre os diferentes resíduos carregados na S-gly e seu efeito no potencial eletrostático geral da molécula.

A análise da energia eletrostática da interação do OG mostrou um aumento significativo com a adição dos grupos carboxílicos, resultando em valores variando de 28,290 a 74,492 kcal/mol. A falta de mudanças nas afinidades de ligação indica que a

amostragem da paisagem de energia livre usando MMPBSA é amplamente afetada pelos movimentos de domínio observados. Em todos os casos, os valores presentes em termos eletrostáticos são compensados, resultando em mudanças mínimas na estrutura. A atração eletrostática é considerada características comuns a todos os sistemas iônicos, empregando ambas as estratégias de simulação.

A ΔG de ligação dos OGs foi utilizada para avaliar a estabilidade do OG em contato direto com macroestruturas, sendo utilizado para estudar a reatividade do grafeno e suas interações. A energia livre de Gibbs é uma propriedade termodinâmica importante do grafeno e suas interações com outros materiais, e uma compreensão abrangente do grafeno requer a consideração de muitos outros fatores também.

Os valores de ΔG de ligação obtidos com os OGs, devido às suas propriedades superiores adequadas para uma ampla gama de aplicações, foram demonstrados pelos valores de ΔG na tabela 4 características de hidrofiliabilidade do OG, que podem ser ajustadas diminuindo ou aumentando o tamanho das partículas de OG para a escala de poucos nanômetros, QDGs são candidatos promissores para aplicações biomédicas devido à sua falta de toxicidade, bem como sua hidrofiliabilidade e alta eficiência de emissão de luz que se originam de confinamento quântico e efeitos de borda associados a seus grupos funcionais contendo oxigênio.

Sendo ΔG de ligação (kJ/mol) predominantemente responsável pela interação e validação das simulações obtidas em cada sistema. Os resultados da análise energética dos complexos fornecidos na Tabela 5 mostram que os OGs identificados representaram grandes mudanças em suas energias de ligação livre quando houve uma mudança em sua estrutura.

O OG-E possui um tamanho maior e maior quantidade de oxigênio, tornando assim mais aceitável sua interação e seus resultados de componentes de energia, indicando também que o tamanho do OG influencia em sua interação já que há uma disparidade de tamanho em relação aos outros OGs.

Tabela 5: Componentes de Energia OGs com cinco S-glys.

Macromolecula	OG	VDW (kJ/mol)	Electrostática (kJ/mol)	SASA (kJ/mol)	$\Delta G_{\text{Ligação}}$ (kJ/mol)
S-GLY-KAPPA	OG-A	-94,80622 +/- 6,544	28,290 +/- 1,955	-11,584 +/- 1,723	-65,41629 +/- 4,108
	OG-B	-100,3700 +/- 6,933	29,950 +/- 2,077	-14,710 +/- 3,845	-69,25530 +/- 6,009
	OG-C	-121,3682 +/- 8,372	36,216 +/- 2,509	-18,078 +/- 1,247	-83,74406 +/- 3,226
	OG-D	-124,2896 +/- 8,581	37,088 +/- 2,568	-19,045 +/- 2,568	-85,75982 +/- 4,108
	OG-E	-157,0058 +/- 10,833	46,850 +/- 3,235	-21,222 +/- 3,845	-108,3340 +/- 2,019
S-GLY-DELTA	OG-A	-138,4170 +/- 9,553	41,303 +/- 2,856	-18,056 +/- 1,521	-95,50773 +/- 2,019
	OG-B	-146,5402 +/- 10,114	43,727 +/- 3,024	-22,166 +/- 1,412	-101,1127 +/- 6,180
	OG-C	-177,1975 +/- 12,238	52,875 +/- 3,652	-35,106 +/- 2,957	-122,2662 +/- 2,180
	OG-D	-181,4628 +/- 12,529	54,148 +/- 3,743	-36,176 +/- 2,858	-125,2093 +/- 4,108
	OG-E	-229,2284 +/- 15,829	68,401 +/- 4,722	-42,126 +/- 2,845	-158,1676 +/- 6,019
S-GLY-OMICRON	OG-A	-150,7418 +/- 10,408	44,981 +/- 3,104	-32,334 +/- 1,712	-104,0118 +/- 2,898
	OG-B	-159,5883 +/- 11,014	47,621 +/- 3,291	-33,346 +/- 3,020	-110,1159 +/- 4,988
	OG-C	-192,9754 +/- 13,324	57,583 +/- 3,972	-38,956 +/- 3,045	-133,1530 +/- 3,588
	OG-D	-197,6204 +/- 13,645	58,969 +/- 4,072	-41,996 +/- 2,145	-136,3580 +/- 3,018
	OG-E	-249,6392 +/- 17,232	74,492 +/- 5,143	-44,728 +/- 2,215	-172,2510 +/- 2,019

A figura 26 mostra em ordem crescente o comportamento da energia ligação calculada para cada complexo interagente tanto com ligantes NTCPU quanto para os OGs. Para os NTCPUs/proteínas todos os resultados obtidos foram distintos. Enquanto para os complexos OGs/proteínas vários resultados iguais ocorreram para os valores de energia.

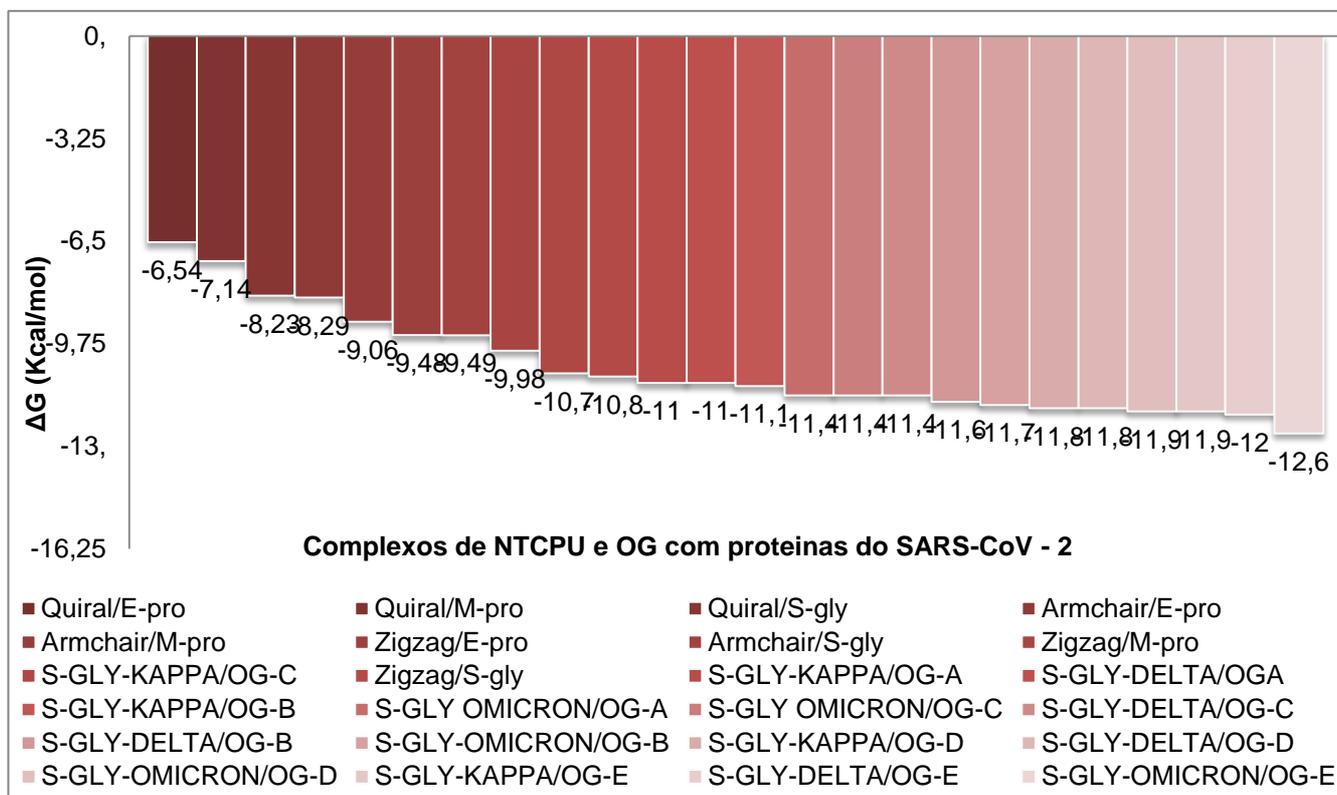


Figura 26: Evolução da energia livre dos complexos em ordem crescente de valores.

O que se observa analisando a figura 26 é que os OGs apresentaram os melhores resultados em geral comparando-se com os NTCPU. Sendo que o menor resultado dos OGs/proteínas que é o S-GLY-KAPPA/OG-C (-10,7 Kcal/mol) é equivalente ao melhor resultado dos NTCPUs/proteínas que corresponde ao zigzag/S-gly (-10,8 Kcal/mol).

No capítulo seguinte é feita a conclusão em relação aos resultados obtidos pela simulação realizada.

CAPÍTULO 5 - CONCLUSÃO

A interação entre os NTCPUs e as três proteínas externas do SARS-CoV-2, por meio de uma abordagem de simulação computacional, as quais são geralmente focadas na adsorção de um único NTCPU em uma superfície, que é essencialmente representativa de partículas em uma solução foi o foco do estudo *in silico*.

Através de simulações computacionais de DM a partir da DOC realizada pela interação entre NTCPUs (ligantes) e proteínas (receptor) com o objetivo de mostrar a potencialidade dos NTCPUs como inibidores do SARS-CoV-2. Tal intuito mostrou resultados muito relevantes de interação. Pois se verificou que todos os NTCPUs nas suas três diferentes formas geométricas interagiram com as três estruturas de proteínas externas E-pro, M-pro e S-gly do SARS-CoV-2. Então, de acordo com os resultados das simulações se pode fazer a seguinte análise descritiva.

Os resultados obtidos por meio do RMSD mostram o comportamento global dos complexos, permitindo assim acompanhar dinamicamente as variações ocorridas. Logo se verificou que os complexos S-gly + zigzag e E-pro + zigzag apresentaram menores flutuações e estabilizaram-se a partir dos 10 ns, tempo correspondente ao aquecimento do complexo, quanto ao complexo M-pro + zigzag a estabilização começa a partir dos 40 ns. Entretanto os complexos S-gly + chiral e M-pro + armchair, são os que sofreram maior flutuação, isso pode ser devido a um movimento de rotação da proteína.

Quanto aos resultados do RMSF, os quais descrevem o quanto a posição de cada átomo da estrutura protéica varia sua posição, se observou que a E-pro apresentou menor flexibilidade e flutuação na interação com os NTCPUs. Entretanto S-gly e M-pro apresentaram maior estabilidade devido maior flexibilidade na interação com os NTCPUs.

Em relação aos resultados do Rg nas simulações verificou-se que os complexos apresentaram grandes oscilações e rotações no intervalo de tempo de 100 ns fato que pode ter ocorrido devido a proteína está desnaturada produzindo assim um aumento no Rg. Já os resultados obtidos para o SASA confirmaram que para a interação NTCPU armchair +M-pro o SASA se torna maior entre 30 e 50 ns. Podemos analisar em todos os gráficos da figura 21, que os complexos nesta simulação permaneceram mais estáveis possibilitando pouca presença de variações logo se evidencia que os valores de SASA dos complexos NTCPUs + S-gly são globalmente mais estáveis quando comparado ao das outras interações. O SASA relativo pode prever as mudanças conformacionais da proteína após a ligação dos ligantes.

A estrutura das proteínas do SARS-CoV-2 foi avaliada quanto à sua versatilidade conformacional e estabilidade. Essa análise foi realizada por meio da caracterização dos RMSD, RMSF e SASA de cada receptor proteico ligado aos diferentes tipos de NTCPUs.

Observou-se que ao longo do tempo, os ligantes interagem de maneira distinta, demonstrando diferentes níveis de afinidade. Em particular, o ligante NTCPU zigzag exibiu interações mais favoráveis. Por meio dos testes de dinâmica molecular (DM), constatou-se que a proteína S-gly apresentou a melhor interação com as estruturas de NTCPUs, estabelecendo ligações π - Sigma. Esses complexos formados entre as proteínas e os NTCPUs demonstraram uma postura mais estável em comparação com os demais sistemas analisados.

No entanto isso é percebido por meio dos resultados obtidos para as energias de VDW e ΔG , fato que estabelece a ligação mais forte entre ligante e receptor. Dentre as proteínas externas a que apresentou melhor adsorção dos ligantes de carbono, foi a S-gly, esse comportamento ótimo pode estar relacionado às interações hidrofóbicas e ligações de hidrogênio que ocorreram entre o sítio ativo do receptor e as hidroxilas presentes no ligante, evidenciando um comportamento mais estável do ligante neste complexo, com várias torções na estrutura em torno de sua estrutura primária e uma maior tendência à estabilidade.

Sendo de fundamental importância mencionar que a proteína S-gly é a mais externa do vírus e a principal facilitadora da entrada do vírus na célula hospedeira para que ocorra o processo de replicação do vírus, logo esse resultado é muito bom, pois as variantes ou cepas surgem quando um vírus sofre uma série de mudanças no decorrer do seu processo de replicação no interior da célula infectada.

Fazendo um comparativo nos resultados se observou que o NTCPU chiral foi o ligante que obteve na conformidade da simulação a menor interação com as três proteínas externas, sendo menos atraente que o NTCPU armchair e o zigzag. E dentro dessa óptica sua menor interação se deu com a proteína E-pro fato que se explica devida ser a proteína menos externa do SARS-CoV-2. Entretanto na sequência do raciocínio ficou evidenciado que a E-pro foi a proteína que teve menor interação com três ligantes da simulação devido aos resultados obtidos para as energias de afinidade VDW e ΔG .

No entanto pode-se concluir que a pesquisa por análise de simulação computacional da DM alcançou seu objetivo, justamente por mostrar que houve interação entre os NTCPUs e as Proteínas externas do SARS-CoV-2. Mostrando uma otimização para a

interação NTCPUs zigzag + S-gly e sequencialmente NTCPUs armchair + S-gly e NTCPUs chiral + S-gly.

Conforme demonstrado por meio desta abordagem integrada, a predição computacional para inibição das estruturas externas principais do SARS-CoV-2, que resultou em algumas pistas promissoras para o combate do vírus no campo da prevenção. Espera-se que os resultados e previsões *in silico* obtidos neste estudo, incluindo os potenciais ensaios clínicos, possam facilitar a descoberta de materiais inibidores e por meio destes produzir, EPIs, Sprays e soluções impermeabilizantes em geral. Desta forma os NTCPUs vêm somar no combate a pandemia da COVID 19.

Em relação aos ligantes de OG, dentre essas interações, destacam-se as S-GLY-OMICRON, os valores de ligação de ΔG possuem forte valor de afinidade, demonstrando a eficácia da interação com resíduos de glicoproteínas. O OG-E também tem um forte valor de afinidade, os ligantes não interagem de forma significativa com os resíduos do sítio de ligação e também apresenta uma elevada instabilidade, o que se traduz num valor de desvio padrão elevado, a interação com o OG-A mantém-se com um valor intermédio valor, ainda demonstra estabilidade quando comparado ao E-pro, este último receptor não é tão adequado quando se trata de interação para inibição de SARS-CoV-2, mas a interação dentro do sítio de ligação persiste ao longo da simulação.

A simulação envolveu a previsão computacional da orientação relativa e afinidade de ligação dos OGs às estruturas de S-gly. O objetivo do manuscrito foi alcançado para fazer um estudo de estruturas com potencial para se tornarem QDGs para determinar o modo de ligação mais estável e energeticamente favorável. O espaço de busca foi bem definido com base no sítio de ligação da proteína. As simulações de DM envolvem a busca no espaço de busca definido para o modo de ligação mais apropriado entre a pequena molécula e a proteína. Esta etapa envolve a avaliação da energia de interação entre a proteína e o ligante e a determinação da afinidade de ligação do complexo.

As simulações de DOC são uma ferramenta úteis na descoberta e desenvolvimento de medicamentos, mas as previsões feitas por essas simulações nem sempre são precisas e devem ser validadas experimentalmente. Esta informação pode ser útil para o desenvolvimento de técnicas de detecção viral que visam regiões específicas da S-gly. A energia de VDW, eletrostática, SASA e Gibbs são apenas aspectos da complexa biofísica do SARS-CoV-2 e sua S-gly, e uma compreensão abrangente do vírus requer consideração de muitos outros fatores também.

Fazendo uma comparação entre os dois ligantes, o que se evidência foi uma melhor afinidade da interação S-GLY-OMICRON/OG-E com $\Delta G = - 172,2510$ KJ/mol, em comparação com a melhor afinidade dos NTCPUs, que foi entre S-gly/zig-zag com $\Delta G = - 112,73$ KJ/mol. Agora se compararmos o resultado de pior afinidade tem-se que ocorreu entre M-pro/chiral com $\Delta G = - 62,73$ KJ/mol em comparação com a interação S-GLY-KAPPA/OG-A com $\Delta G = - 65,4163$ KJ/mol. Os resultados mostram que os OGs, apresentam-se como ótimos ligantes dessas proteases.

Esta pesquisa demonstra uma possível relação entre os resultados de ancoragem obtidos, indicando que os oito ligantes têm uma tendência a se ligar ao sítio ativo das macroestruturas, sugerindo uma maior afinidade química nessa região. Os NTCPUs e os OGs têm mostrado potencial como agentes antivirais devido à sua capacidade de interagir com proteínas virais e inibir sua atividade.

Simulações de DM têm sido empregues para investigar a interação entre nanopartículas e diversas proteínas virais, incluindo a S-gly do SARS CoV-2, o vírus causador da COVID-19. Esses estudos revelaram que os NTCPUs e os OGs são capazes de se ligar à proteína spike do SARS-CoV-2.

Estudos de DOC têm sido utilizados para prever a afinidade de ligação entre nanopartículas e proteínas virais, identificando resíduos de aminoácidos específicos que desempenham papel vital nessa interação. No entanto, a validade do potencial inibidor das nanopartículas e suas aplicações preventivas no combate ao vírus ainda requer uma fase empírica. Serão necessário confirmar os resultados teóricos experimentalmente e explorar possíveis aplicações dessas nanopartículas na indústria de biotecnologia para desenvolver equipamentos e produtos inibidores do SARS-CoV-2.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Murray, J., Hogan, R.J., Martin, D.E. et al. Probenecid inhibits SARS-CoV-2 replication in vivo and in vitro. *Sci Rep* 1, 18085 (2021). doi.org/10.1038/s41598-021-97658-w.
2. Suppakitjanusant, P., Sungkanuparph, S., Wongsinin, T. et al. Identifying individuals with recent COVID-19 through voice classification using deep learning. *Sci Rep* 11, 19149 (2021). doi.org/10.1038/s41598-021-98742-x.
3. Zhou, F., Yu, T., Du, R. et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 395:10229. (2020). doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3.
4. Zhu, N., Zhang, D., Wang, W., et al. China Novel Coronavirus Investigating and Research Team. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med.*, 382(8):727-73 (2020). <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001017>.
5. Ismail M., Verma, A. K., Abdulkadir, A. et al., 2020, “Possible Mechanical Transmission of SARS-CoV-2 Causing COVID-19 by Insects: Infection, Prevention, Implications, and Control”, *Open Journal of Medical Microbiology*, v.10, pp. 89-101.
6. Pradhan, D., 2020, “A Review of Current Interventions for COVID-19 Prevention. *Archives of Medical Research. Elsevier*”, v.51 ,n.5, pp. 363-3745.
7. Beaulieu, Pierre L. Filibuvir, a non-nucleoside NS5B polymerase inhibitor for the potential oral treatment of chronic HCV infection. *IDrugs: the researchal drug journal* , v. 13, n. 12, pág. 938-948, 2010.
8. Liang, W., Bockrath, M., Bozovic, D., Hafner, JH, Tinkham, M., & Park, H. (2001). Fabry - Interferência de Perot em um guia de ondas de elétrons de nanotubos. *Nature*, 411(6838), 665–669. doi:10.1038/35079517.
9. Rajendra, J., Baxendale, M., Dit Rap, L G e Rodger, A. (2004). Dicroísmo linear de fluxo para sondar a ligação de moléculas aromáticas e DNA a nanotubos de carbono de parede simples. *Jornal da American Chemical Society*, 126(36), 11182 – 11188. doi:10.1021/ja048720j.

10. Singh, R., Pantarotto, D., McCarthy, D., Chaloin, O., Hoebeke, J., Partidos, C. D., Kostarelos, K. (2005). Binding and Condensation of Plasmid DNA onto Functionalized Carbon Nanotubes: Toward the Construction of Nanotube-Based Gene Delivery Vectors. *Journal of the American Chemical Society*, 127(12), 4388–4396. doi:10.1021/ja0441561.
11. Li, W.; Gräter, F. (2010). Atomistic Evidence of How Force Dynamically Regulates Thiol/Disulfide Exchange. *Journal of the American Chemical Society*, 132(47), 16790–16795. doi:10.1021/ja104763q.
12. Berman, H., Henrick, K., & Nakamura, H. (2003). Announcing the worldwide Protein Data Bank. *Nature Structural Biology*, 10(12), 980. doi.org/10.1038/nsb1203-980.
13. Bezerra, F. W.F., W.F., do N. Bezerra, P., de Oliveira, M. S., da Costa, W. A., Ferreira, G. C., & de Carvalho Jr, R. N. (2020). Bioactive compounds and biological activity of Croton species (Euphorbiaceae): An overview. *Current Bioactive Compounds*, 16(4), 383–393. doi.org/10.2174/1573407215666181122103511.
14. Bezerra, F. W. F., Salazar, M. de L. A. R., Freitas, L. C., de Oliveira, M. S., dos Santos, I. R. C., Dias, M. N. C., Carvalho Jr, R. N. de (2020). Chemical composition, antioxidant activity, anti-inflammatory and neuroprotective effect of Croton matourensis Aubl. Leaves extracts obtained by supercritical CO₂. *Journal of Supercritical Fluids*, 165, 104992. doi.org/10.1016/j.supflu.2020.104992.
15. Srivastava, A. K., Dwivedi, N., Dhand, C., Khan, R., Sathish, N., Gupta, M. K. & Kumar, S. (2020). The potential of graphene-based materials to combat COVID-19: properties, perspectives, and prospects. *Materials Today Chemistry*, 18, 100385.
16. Huang, B., Li, Z., Liu, Z., Zhou, G., Hao, S., Wu, J. & Duan, W. (2008). Adsorption of gas molecules on graphene nano ribbons and its implication for nano scale molecule sensor. *The Journal of Physical Chemistry C*, 112(35), 13442-13446.
17. Kong, L., Enders, A., Rahman, T. S., & Dowben, P. A. (2014). Molecular adsorption on graphene. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 26(44), 443001.
18. Gordillo, M. C., & Martí, J. (2010). Effect of Surface Roughness on the Static and Dynamic Properties of Water Adsorbed on Graphene. *The Journal of Physical Chemistry B*, 114(13), 4583-4589. doi.org/10.1021/jp9114332

19. Chang, C. H., Fan, X., Li, L. J., & Kuo, J. L. (2012). Band gap tuning of graphene by adsorption of aromatic molecules. *The Journal of Physical Chemistry C*, 116(25), 13788-13794.
20. Huang, J., Zheng, Q., Kim, J. K., & Li, Z. (2013). A molecular beacon and graphene oxide-based fluorescent biosensor for Cu^{2+} detection. *Biosensor and Bioelectronics*, 43, 379-383.
21. Sun, X., Liu, Z., Welsher, K., Robinson, J. T., Goodwin, A., Zaric, S., & Dai, H. (2008). Nano-graphene oxide for cellular imaging and drug delivery. *Nano research*, 1, 203-212.
22. Wang, H. X., Wang, Q., Zhou, K. G., & Zhang, H. L. (2013). Graphene in light: design, synthesis and applications of photo-active graphene and graphene-like materials. *Small*, 9(8), 1266-1283.
23. Rhazouani, A et al. Can the application of graphene oxide contribute to the fight against COVID-19? Antiviral activity, diagnosis and prevention. *Current research in pharmacology and drug discovery*, v. 2, p. 100062, 2021. doi.org/10.1016/j.crphar.2021.100062
24. Gosai, A., Khondakar, K. R., Ma, X., & Ali, M. A. (2021). Application of functionalized graphene oxide-based biosensors for health monitoring: Simple graphene derivatives to 3D printed platforms. *Biosensors*, 11(10), 384.
25. Sametband, M. et al. Herpes simplex virus type-1 attachment inhibition by functionalized graphene oxide. *ACS applied materials & interfaces*, v. 6, n. 2, p. 1228-1235, 2014. doi.org/10.1021/am405040z
26. Weng, J. et al. Revealing thermodynamics and kinetics of lipid self-assembly by Markov state model analysis. *Journal of the American Chemical Society*, v. 142, n. 51, p. 21344-21352, 2020. doi.org/10.1021/jacs.0c09343
27. Biovia, D. S. (2020). BIOVIA Workbook, Release 2018, BIOVIA Pipeline Pilot. San Diego: Dassault Systèmes.
28. Bofill, J. M. (1995). A Conjugate Gradient Algorithm with a Trust Region for Molecular Geometry Optimization. *Molecular Modeling Annual*, 1(1), 11-17. <https://doi.org/10.1007/s008940050002>.

29. David, A. C., Thomas III, E. C. Tom, G. H. D., Ray Jr, M. K. M. L., & Onufriev Alexey, S. C. (2005). Wang Bing, and Woods Robert J. *The Amber biomolecular simulation programs. Journal of Computational Chemistry*, 26(16), 1668-1688. doi.org/10.1002/jcc.20290.
30. Cavalcanti, A. B., Zampieri, F. G., Rosa, R. G., Azevedo, L. C. P., Veiga, V. C., Avezum, A., Berwanger, O. (2020). Hydroxychloroquine with or without Azithromycin in Mild-to-Moderate Covid-19. *New England Journal of Medicine*, 383(21), 2041–2052. doi.org/10.1056/nejmoa2019014.
31. Bofill, J. M. (1995). A Conjugate Gradient Algorithm with a Trust Region for Molecular Geometry Optimization. *Molecular Modeling Annual*, 1(1), 11–17. https://doi.org/10.1007/s008940050002.
32. Gabriela P., Ileana G. S., Omar G. O., & Sergio R. M. (2020) Can nanotechnology help in the fight against COVID-19?, *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 18:9, 849-864, doi: 10.1080/14787210.2020.1776115
33. Backer, J. A.; Klinkenberg, D.; Wallinga, J. Incubation period of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infections among travellers from Wuhan, China, 20–28 January 2020. *Eurosurveillance*, v. 25, n. 5, p. 2000062, 2020. doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.5.2000062.
34. Thakur, A. K., et al. A case study of SARS-CoV-2 transmission behavior in a severely air-polluted city (Delhi, India) and the potential usage of graphene based materials for filtering air-pollutants and controlling/monitoring the COVID-19 pandemic. *Environmental Science: Processes & Impacts*, v. 23, n. 7, p. 923-946, 2021. doi.org/10.1039/D1EM00034A
35. Cao, B. et al. A trial of lopinavir–ritonavir in adults hospitalized with severe Covid-19. *N. Engl. J. Med.*, v. 382, p. 1787–1799, 2020. doi: 10.1056/NEJMoa2001282.
36. Moshfegh, F. et al. Therapeutic and Diagnostic Approaches for SARS-CoV-2. *Voice of the Publisher*, v. 7, p. 63-79, 2021.
37. Pandey, P., et al. Targeting SARS-CoV-2 spike protein of COVID-19 with naturally occurring phytochemicals: an in silico study for drug development. *Journal of*

Biomolecular Structure and Dynamics, v. 39, n. 16, p. 6306-6316, 2021. doi.org/10.1080/07391102.2020.1796811

38. Yinon, M. B., Flamholz, R. P. A., Ron, M. (2020) Science Forum: SARS-CoV-2 (COVID-19) by the numbers *eLife* 9: e57309. doi: 10.7554 / eLife.57309

39. Puspaningtya, S., Ayik R. Molekular Docking dengan Metode Molegro Virtual Docker Turunan Kalkon sebagai Antimikroba. STOMATOGNATIC-Jurnal Kedokteran Gigi, v. 9, n. 1, p. 39-47, 2015. jurnal.unej.ac.id/index.php/STOMA/article/view/2104

40. Cornell, W. D., Cieplak, P., Bayly, C. I., Gould, I. R., Merz, K. M., Ferguson, D. M. Kollman, P. A. (1995). A Second-Generation Force Field for the Simulation of Proteins, Nucleic Acids, and Organic Molecules. *Journal of the American Chemical Society*, 117, 5179–5197. doi.org/10.1021/ja00124a002.

41. Dennington, R. D., Keith, T. A., & Millam, J. (2009). GaussView 6 reference. Gaussian, Inc.

42. Kumar, S. et al. Morphology, Genome Organization, Replication, and Pathogenesis of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)*, v. 2020, p. 23–31, 2020. Doi :10.1007/978-981-15-4814.

43. Guo, T., Nikolaev, P., Thess, A., Colbert, D. T., Smalley, R.E. Catalytic growth of single-walled nanotubes by laser vaporization. *Chem. Phys. Lett.*, v.243, p.49-54,1995.

44. Raval, B., Srivastav, A. K., Gupta, S. K., Kumar, U., Mahapatra, S. K., Gajjar, P. N., & Banerjee, I. (2022). Synthesis of exfoliated multilayer graphene and its putative interactions with SARS-CoV-2 virus investigated through computational studies. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 40(2), 712-721. doi.org/10.1080/07391102.2020.1817788

45. Frisch, M. J., G. W., T., Schlegel, H. B., Scuseria, G. E., Robb, M. A., Cheeseman, J. R., Fox, D. J. (2009). Gaussian 09, Revision E.01. Inc., Wallingford CT.

46. Fuhrmann, J., Rurainski, A., & Neumann, H. P. L. D. (2010). A New Lamarckian Genetic Algorithm for Flexible Ligand-Receptor Docking. *Journal of Computational Chemistry*, 31(9), 1911–1918. https://doi.org/10.1002/jcc.

47. Genheden, S., & Ryde, U. (2015). The MM/PBSA and MM/GBSA methods to estimate ligand-binding affinities. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 10(5), 449–461. <https://doi.org/10.1517/17460441.2015.1032936>.
48. Golub, G. H., & Ye, Q. (1999). Inexact preconditioned conjugate gradient method with inner-outer iteration. *SIAM Journal of Scientific Computing*, 21(4), 1305–1320. <https://doi.org/10.1137/S1064827597323415>.
49. Gottlieb, O. R., Koketsu, M., Magalhães, M. T., Maia, J. G. S., Mendes, P. H., Rocha, A. I., Silva, M. L., Wiiberg, V. C. (1981). Óleos essenciais da Amazônia VII. (1). *Acta Amazônica*, 11(1), 143–148. doi.org/10.1590/1809-43921981111143
50. Graef, E. R., Liew, J. W., Putman, M. S., Simard, J. F., Sirotych, E., Berenbaum, F., Sparks, J. A. (2020). Festinalente: Hydroxychloroquine, COVID-19 and the role of the rheumatologist. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 79(6), S734–S736. doi.org/10.1136/annrheumdis-2020-217480.
51. Habibzadeh, P., & Stoneman, E. K. (2020). The novel coronavirus: A bird's eye view. *International Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 11(2), 65–71. doi.org/10.15171/ijoem.2020.1921.
52. Silva H. M., Lorane. I., Federico, L. B., Oliveira, N. K. S., Francisco, V. C. C., Correia, L. C., de Lima, H. B. & Francischini, I. A. G. (2020). Virtual screening, ADME/Tox predictions and the drug repurposing concept for future use of old drugs against the COVID-19. *Life Sciences*, 256, 117963.. doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117963.
53. Aldeghi, M.; Heifetz, A.; Bodkin, M. J.; Knapp, S.; Biggin, P. C. (2017). Predictions of Ligand Selectivity from Absolute Binding Free Energy Calculations. *Journal of the American Chemical Society*, 139(2), 946–957. [doi:10.1021/jacs.6b11467](https://doi.org/10.1021/jacs.6b11467).
54. Harvey, A. L., Edrada-Ebel, R., & Quinn, R. J. (2015). The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era. *Nature Reviews Drug Discovery*, 14, 111–129. doi.org/10.1038/nrd4510.
55. Herlem, D., & Khuong-Huu, F. (1997). Chemistry of Larixol. II - Hemisynthesis of (-)-Borjatriol. *Tetrahedron*, 53(2), 673–680. [doi.org/10.1016/S0040-4020\(96\)00999-4](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(96)00999-4).

56. Wall, M. E.; Calabró, G.; Bayly, C. I.; Mobley, D.L; Warren, G. L. (2019). Biomolecular Solvation Structure Revealed by Molecular Dynamics Simulations. *Journal of the American Chemical Society*, jacs.8b13613–. doi:10.1021/jacs.8b13613.
57. Schlick, T., Zhu, Q., Dey, A., Jain, S., Yan, S., &Laederach, A. (2021). To Knot or Not to Knot: Multiple Conformations of the SARS-CoV-2 Frameshifting RNA Element. *Journal of the American Chemical Society*, 143(30), 11404–11422. doi:10.1021/jacs.1c03003.
58. Bottaro, S., Bussi, G., & Lindorff-Larsen, K. (2021). Conformational Ensembles of Noncoding Elements in the SARS-CoV-2 Genome from Molecular Dynamics Simulations. *Journal of the American Chemical Society*, 143(22), 8333–8343. doi:10.1021/jacs.1c01094.
59. Jo, S., Kim, S., Shin, D. H., & Kim, M. S. (2020). Inhibition of SARS-CoV 3CL protease by flavonoids. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 35(1), 145–151. doi.org/10.1080/14756366.2019.1690480.
60. Kandula, V. R., Khanlou, H., & Farthing, C. (2005). Tipranavir: A novel second-generation nonpeptidic nonpeptidic protease inhibitor. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 3(1), 9–21. doi.org/10.1586/14787210.3.1.9.
61. Kim, D., & Fessler, J. A. (2016). Optimized first-order methods for smooth convex minimization. *Mathematical Programming*, 159, 81–107. doi.org/10.1007/s10107-015-0949-3.
62. Kobayashi, J., & Murata, I. (2020). Nitric oxide inhalation as an interventional rescue therapy for COVID-19-induced acute respiratory distress syndrome. *Annals of Intensive Care*, 10(1), 9–10. doi.org/10.1186/s13613-020-00681-9.
63. Kolafa, J., & Perram, J. W. (1992). Cutoff Errors in the Ewald Summation Formulae for Point Charge Systems. *Molecular Simulation*, 9(5), 351–368. doi.org/10.1080/08927029208049126.
64. Kruse, H., Goerigk, L., & Grimme, S. (2012). Why the standard B3LYP/6-31G* model chemistry should not be used in DFT calculations of molecular thermochemistry:

Understanding and correcting the problem. *Journal of Organic Chemistry*, 77, 10824–10834. <https://doi.org/10.1021/jo302156p>.

65. Kumar, D., Kumari, K., Vishvakarma, V. K., Jayaraj, A., Kumar, D., Ramappa, V. K. Singh, P. (2021). Promising inhibitors of main protease of novel corona virus to prevent the spread of COVID-19 using docking and molecular dynamics simulation. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39(13), 4671–4685. doi.org/10.1080/07391102.2020.1779131.

66. Lan, J., Ge, J., Yu, J., Shan, S., Zhou, H., Fan, S. Wang, X. (2020). Estrutura do domínio de ligação ao receptor SARS-CoV-2 spike ligado ao receptor ACE2. *Natureza*. [doi:10.1038/s41586-020-2180-5](https://doi.org/10.1038/s41586-020-2180-5).

67. Leão, I. M. S., Andrade, C. H. S., Pinheiro, M. L. B., Da Rocha, A. F. I., Machado, I. L., Craveiro, A. A., Matos, F. J. A. (1998). Essential oil of *Croton lanjouwensis* Jablonski from brazilianamazonian region. *Journal of Essential Oil Research*, 10, 643–644. doi.org/10.1080/10412905.1998.9700995.

68. Machado, S. F., Camiletti, G. G., Neto, A. C., Jorge, F. E., & Jorge, R. S. (2009). Gaussian basis set of triple zeta valence quality for the atoms from K to Kr: Application in DFT and CCSD (T) calculations of molecular properties. *Molecular Physics*, 107(16), 1713–1727. doi.org/10.1080/00268970903042258.

69. Machireddy, B., Kalra, G., Jonnalagadda, S., Ramanujachary, K., & Wu, C. (2017). Probing the Binding Pathway of BRACO19 to a Parallel-Stranded Human Telomeric G-Quadruplex Using Molecular Dynamics Binding Simulation with AMBER DNA OL15 and Ligand GAFF2 Force Fields. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 57(11), 2846–2864. doi.org/10.1021/acs.jcim.7b00287.

70. Maier, J. A., Martinez, C., Kasavajhala, K., Wickstrom, L., Hauser, K. E., & Simmerling, C. (2015). ff14SB: Improving the Accuracy of Protein Side Chain and Backbone Parameters from ff99SB. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 11(8), 3696–3713. doi.org/10.1021/acs.jctc.5b00255.

71. Oliveira, F. S., Bisker, G., Naveed, A., Bakh, S. L., Gibbs, M. P., Landry, M. S. Strano, Protein functionalized carbon nanomaterials for biomedical applications, *Carbon*, Volume 95, 2015, Pages 767-779, ISSN 0008-6223. doi.org/10.1016/j.carbon.2015.08.076.

72. Souza, F. A. & Fagan, S. Funcionalização de nanotubos de Carbono. *Quimica Nova - Química Nova*. 30, 2007. 10.1590/S0100-40422007000700037. <https://www.researchgate.net/publication/244750915>
73. Saifuddin, N., Raziah, A. Z., Junizah, A. R. "Carbon Nanotubes: A Review on Structure and their Interaction with Proteins ", *Journal of Chemistry*, vol. 2013, Artigo ID 676815, 18 páginas, 2013. doi.org/10.1155/2013/676815.
74. Eltaher, M. A., Almalki, T. A., Almitani, K. H., et al. Modal participation of fixed-fixed singlewalled carbon nanotube with vacancies. *Int J Adv Struct Eng* 11, 151–163 (2019). doi.org/10.1007/s40091-019-0222-8.
75. Marchesan, S., & Prato, M. (2015). Sob a lente: nanotubos de carbono e interação de proteínas em nanoescala. *Chemical Communications*, 51(21), 4347 – 4359. doi: 10.1039/c4cc09173f 10.1039/c4cc09173f.
76. Schroeder, V., Savagatrup, S., Ele, M., Lin, S., Swager, TM. Carbon Nanotube Chemical Sensors. *Chem. Rev.* 2019, 119 (1), 599 - 663, doi: 10.1021/acs.chemrev.8b00340.
77. Aasi, A. et al. Pt-, Rh-, Ru-, and Cu-Single-Wall Carbon Nanotubes Are Exceptional Candidates for Design of Anti-Viral Surfaces: A Theoretical Study. 2020. *Int. J. Mol. Sci.*, v. 21, n. 15, p. 5211, 2020. doi:10.3390/ijms21155211.
78. Du, J.; Ge, C.; Liu, Y.; Bai, R.; Li, D.; Yang, Y.; Liao, L.; Chen, C. The Interaction of Serum Proteins with Carbon Nanotubes Depend on the Physicochemical Properties of Nanotubes. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2011, 11, 10102–10110.
79. Guedes, I. A.; Magalhães, C. S.; Dardenne, L. E. Receptor-ligand molecular docking. *Biophysical Reviews*, 6(1), p.75-87 (2014). <https://doi.org/10.1007/s12551-013-0130-2>.
80. Whitehead R. R., Watt A., Cole B. J., Morrison I. Computational Methods for Shell-Model Calculations. *Adv. Nucl. Phys.*, 9. (1977). doi.org/10.1007/978-1-4615-8234-2_2.

81. Feller, D., The role of databases in support of computational chemistry calculations. *Journal of computational chemistry*, v. 17, n. 13, p. 1571-1586, 1996. doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(199610)17:13<1571::AID-JCC9>3.0.CO;2-P.
82. Ninham, B.W., Parsegian, V. A. Electrostatic potential between surfaces bearing ionizable groups in ionic equilibrium with physiologic saline solution. *J. Theor. Bio.*, 31(3): 405-428(1971). doi.org/10.1016/0022-5193(71)90019-1.
83. Yu, Y. X., Wu, J. Z., Gao, G.H. Ionic distribution, electrostatic potential and zeta potential at electrochemical interfaces. *Chin.J. Chem. Eng.*, 12 (5): 688-695(2004). <https://www.cheric.org/research/tech/periodicals/view.php?seq=477472>.
84. Eltaher M. A., El-borgi, S., Reddy J. N. (2016). Nonlinear analysis of size-dependent and material-dependent nonlocal CNTs. *Composite Structure* 153:902–913. doi.org/10.1016/j.compstruct.2016.07.013.
85. Kim, J., Park, S. J., Park, J., Shin, H., Jang, Y. S., Woo, J. S., & Min, D. H. (2021). Identification of a Direct-Acting Antiviral Agent Targeting RNA Helicase via a Graphene Oxide Nanobiosensor. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 13(22), 25715-25726.
86. Trippier, P. C., Balzarini, J., & McGuigan, C. (2011). Phenylboronic-acid-based carbohydrate binders as antiviral therapeutics: bisphenylboronic acids. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, 21(3), 129-142. doi.org/10.3851/IMP1
87. Zhao, J., Wang, Z., White, J. C., & Xing, B. (2014). Graphene in the aquatic environment: Adsorption, dispersion, toxicity and transformation. *Environmental science & technology*, 48(17), 9995-10009. doi.org/10.1021/es5022679
88. Zhao, J., Deng, B., Lv, M., Li, J., Zhang, Y., Jiang, H. & Fan, C. (2013). Graphene oxide-based antibacterial cotton fabrics. *Advanced Healthcare Materials*, 2(9), 1259-1266. doi.org/10.1002/adhm.201200437
89. Ji, Z., Dervishi, E., Doorn, S. K., & Sykora, M. (2019). Size-dependent electronic properties of uniform ensembles of strongly confined graphene quantum dots. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 10(5), 953-959. doi.org/10.1021/acs.jpcclett.9b00119
90. Xue, X., Ji, W., Mao, Z., Mao, H., Wang, Y., Wang, X. & Lombardi, J. R. (2012). Raman investigation of nanosized TiO₂: effect of crystallite size and quantum confinement. *The Journal of Physical Chemistry C*, 116(15), 8792-8797. doi.org/10.1021/jp2122196

91. Ramalingam, G., Kathirgamanathan, P., Ravi, G., Elangovan, T., Manivannan, N., & Kasinathan, K. (2020). Efeito de confinamento quântico de nanomateriais 2D. Em *Quantum Dots-Fundamental e Aplicações*. IntechOpen.
92. Güçlü, A. D., Potasz, P., Korkusinski, M., & Hawrylak, P. (2014). Graphene quantum dots (p. 29). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
93. Innocenzi, P., & Stagi, L. (2020). Carbon-based antiviral nanomaterials: Graphene, C-dots, and fullerenes. *A perspective Chemical science*, 11(26), 6606-6622. doi: 10.1039/D0SC02659A
94. Duan, L. L., Feng, G. Q., & Zhang, Q. G., (2016). Simulação de dinâmica molecular em larga escala: Efeito da polarização na energia de ligação trombina-ligante. *Scientific Reports*, 6 (1), 31488. doi.org/10.1038/srep31488.
95. Ting, G., Nikolaev, P., Rinzler, AG, Tomanek, D., Colbert, DT, & Smalley, R. E. (1995). Automontagem de plenitude tubular. *J. Física. Chem*, 99 (27), 10694-10697.
96. Yakobson, B. I., Smalley, R. E. Fullerene Nanotubes: C_{1,000,000} and Beyond. *Am. Scient.*, v.85, n.4, p.324-337, 1997.
97. Kroto, H. W., Heath, J. R., O'brien, S. C., Curl, R. F., Smalley, R. E. C-60 – Buckminster fullerene. *Nature*, v.318, p.162-163, 1985.
98. Thess, A., Lee, R., Nikolaev, P., Dai, H., Petit, P., Robert, J., Xu, C., Lee, Y. H., Kim, S. G., Rinzler, A. G., Colbert, D. T., Scuseria, G. E., Tamánek, D., Fischer, J. E., Smalley, R. E. Crystalline Ropes of Metallic Carbon Nanotubes. *Science*, v.276, p.483-487, 1996. doi:10.1126/science.273.5274.48
99. Ribeiro, H. Síntese e caracterização de compósitos nanoestruturados a base de nanofolhas de grafeno quimicamente modificadas. Preparação, Estudo da Estrutura e Propriedades Físico-Químicas. Tese de doutorado. Departamento de Química da UFMG. Belo Horizonte – MG. 2015.
100. Hu, X. *et al.* Covalently synthesized graphene oxide-aptamer nanosheets for efficient visible-light photocatalysis of nucleic acids and proteins of viruses. *Carbon*, v. 50, n. 8, p. 2772-2781, 2012. doi:10.1016/j.carbon.2012.02.038.

101. Timofeeva, T. E., et al. Ab initio calculations of energy and IR spectra of edge functionalized graphene quantum dots. In: AIP Conference Proceedings. AIP Publishing LLC, 2018. p. 020019. doi:10.1063/1.5079350.
102. Abdelsalam, H.; Elhaes, H.; Ibrahim, M. A. First principles study of edge carboxylated graphene quantum dots. *Physica B: Condensed Matter*, v. 537, p. 77-86, 2018. doi.org/10.1016/j.physb.2018.02.001.
103. Irvani, Siavash; Varma, Rajender S. Green synthesis, biomedical and biotechnological applications of carbon and graphene quantum dots. A review. *Environmental chemistry cards*, v. 18, p. 703-727, 2020. doi.org/10.1007/s10311-020-00984-0.
104. Barras, A. *et al.* High efficiency of functional carbon nanodots as entry inhibitors of herpes simplex virus type 1. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, v. 8, n. 14, p. 1, 2016. doi: 10.1021/acsami.6b01681.
105. Irvani, S.; Varma, R.S. Green, biomedical and biotechnological applications of carbon and graphene quantum dots. A review. *Environmental chemistry cards*, v. 18, p. 703-727, 2020.
106. Maroli, N., Bhasuran, B., Natarajan, J., & Kolandaivel, P. (2020). The potential role of procyanidin as a therapeutic agent against SARS-CoV-2: a text mining, molecular docking and molecular dynamics simulation approach. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 0(0), 1–16. doi.org/10.1080/07391102.2020.1823887.
107. Martínez, L. (2015). Automatic identification of mobile and rigid substructures in molecular dynamics simulations and fractional structural fluctuation analysis. *PLoS ONE*, 10(3), 1–10. doi.org/10.1371/journal.pone.0119264
108. Mlynsky, V., Kuhrová, P., Zgarbová, M., Jurecka, P., Walter, Nils G.W., Otyepka, M., Šponer, J. Banás, P. (2015). Reactive conformation of the active site in the hairpin ribozyme achieved by molecular dynamics simulations with ϵ/ζ Force Field Reparametrizations. *Journal of Physical Chemistry B*, 119(11), 4220–4229. doi.org/10.1021/jp512069n.

109. Nayeem, S. M., Sohail, E. M., Ridhima, G., & Reddy, M. S. (2021). Target SARS-CoV-2: computation of binding energies with drugs of dexamethasone/umifenovir by molecular dynamics using OPLS-AA force field. *Research on Biomedical Engineering*. doi.org/10.1007/s42600-020-00119-y.
110. Needle, D., Lountos, G. T., & Waugh, D. S. (2015). Structures of the Middle East respiratory syndrome coronavirus 3C-like protease reveal insights into substrate specificity. *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*, 71, 1102–1111. doi.org/10.1107/S1399004715003521.
111. Neto, A. F. G., Marques, F. C., Amador, A. T., Ferreira, A. D. S., & Neto, A. M. J. C. (2019). DFT and canonical ensemble investigations on the thermodynamic properties of Syngas and natural gas/Syngas mixtures. *Renewable Energy*, 130, 495–509. doi.org/10.1016/j.renene.2018.06.091.
112. Netz, R. R., & Orland, H. (2000). Beyond Poisson-Boltzmann: Fluctuation effects and correlation functions. *European Physical Journal E*, 1, 203–214. doi.org/10.1007/s101890050023.
113. Noguti, T., & Go, N. (1983). A Method of Rapid Calculation of a Second Derivative Matrix of Conformational Energy for Large Molecules. *Journal of the Physical Society of Japan*. doi.org/10.1143/JPSJ.52.3685.
114. Kulkarni, Y. S.; Amyes, T. L.; Richard, J.; Kamerlin, S. C. L. (2019). Uncovering the Role of Key Active Site Side Chains in Catalysis: An Extended Brønsted Relationship for Substrate Deprotonation Catalysed by Wild-Type and Variants of Triosephosphate Isomerase. *Journal of the American Chemical Society*, (), jacs.9b08713–. doi:10.1021/jacs.9b08713.
115. Oldfield, V., & Plosker, G. L. (2006). Lopinavir/ritonavir: A review of its use in the management of HIV infection. *Drugs*, 66(9), 1275–1299. doi.org/10.2165/00003495-200666090-00012.
116. Plana, J. L., Nadra, A. D., Estrin, D. A., Luque, F. J., & Capece, L. (2019). Thermal Stability of Globins: Implications of Flexibility and Heme Coordination Studied by Molecular Dynamics Simulations. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 59, 441–452. doi.org/10.1021/acs.jcim.8b00840.

117. Qi, R., Botello-Smith, W. M., & Luo, R. (2017). Acceleration of Linear Finite-Difference Poisson-Boltzmann Methods on Graphics Processing Units. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 13, 3378–3387. doi.org/10.1021/acs.jctc.7b00336.
118. Liu, Q., Sun, J., Gao, K., Chen, N., Sun, X., Ti, D. & Qu, L. (2020). Graphene quantum dots for energy storage and conversion: from fabrication to applications. *Materials Chemistry Frontiers*, 4(2), 421-436. doi:10.1039/C9QM00553F
119. Dave, K., & Gomes, V. G. (2019). Carbon quantum dot-based composites for energy storagend electrocatalysis: mechanism, applications, and future prospects. *Nano Energy*, 66, 104093. doi.org/10.1016/j.nanoen.2019.104093
120. Zahir, N., Magri, P., Luo, W., Gaumet, J. J., & Pierrat, P. (2022). Recent advanceson graphene quantum dots for electrochemical energy storage devices. *Energy & Environmental Materials*, 5(1), 201-214. https://doi.org/10.1002/eem2.12167
121. Wang, Y., Xu, C., Wang, Y. *et al.* Conformational dynamics of the Beta and Kappa SARS-CoV-2 spike proteins and their complexes with ACE2 receptor revealed by cryo-EM. *Nat Commun* 12, 7345 (2021). doi.org/10.1038/s41467-021-27350-0
122. Burley, S. K., Berman, H. M., Kleywegt, G. J., Markley, J. L., Nakamura, H., & Velankar, S. (2017). Protein Data Bank (PDB): the single global macromolecular structurearchive. *Protein crystallography: methods and protocols*, 627-641.
123. Rabaan, A. A., Al-Ahmed, S. H., Haque, S., Sah, R., Tiwari, R., Malik, Y. S. Rodriguez-Morales, A. J. (2020). SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV: a comparative overview. *Le Infezioni in Medicina*, 28(2), 174–184.
124. Ratha, S. K., Renuka, N., Rawat, I., & Bux, F. (2021). Prospective options of algae-derived nutraceuticals as supplements to combat COVID-19 and human coronavirus diseases. *Nutrition*, 83, 111089. doi.org/10.1016/j.nut.2020.111089.
125. Rodriguez-Torres, M., Yoshida, E. M., Marcellin, P., Srinivasan, S., Purohit, V. S., Wang, C., & Hammond, J. L. (2014). A phase 2 study of filibuvir in combination with pegylated IFN alfa and ribavirin for chronic HCV. *Annals of Hepatology*, 13(4), 364–375. https://doi.org/10.1016/s1665-2681(19)30843-9.

126. Schmith, V. D., Zhou, J., & Lohmer, L. R. L. (2020). The Approved Dose of Ivermectin Alone is not the Ideal Dose for the Treatment of COVID-19. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 108(4), 762–765. <https://doi.org/10.1002/cpt.1889>.
127. Verma, N. (2016). Targeting trehalose and methylglucoselipopolysaccharide biosynthetic pathways in *M. tuberculosis*-structural and functional characterisation, and early-stage drug discovery of Ots A and Rv3030 (Doctoral dissertation, University of Cambridge).
128. Yang, T. J., Yu, P. Y., Chang, Y. C., Chang, N. E., Tsai, Y. X., Liang, K. H. & Hsu, S. T. D. (2021). Structure-activity relationships of B. 1.617 and other SARS-CoV-2 spike variants. *BioRxiv*, 2021-09.
129. Jo, S., Kim, T., Iyer, V. G., & Im, W. (2008). CHARMM-GUI: a web-based graphical user interface for CHARMM. *Journal of computational chemistry*, 29(11), 1859-1865.
130. Bernstein, J., & Hagler, A. T. (1978). Conformational polymorphism. The influence of crystal structure on molecular conformation. *Journal of the American Chemical Society*, 100(3), 673-681.
131. Mumit, M. A., Pal, T. K., Alam, M. A., Islam, M. A. A. A., Paul, S., & Sheikh, M. C. (2020). DFT studies on vibrational and electronic spectra, HOMO–LUMO, MEP, HOMA, NBO and molecular docking analysis of benzyl-3-N-(2, 4, 5-trimethoxy phenyl methylene) hydrazine carbodithioate. *Journal of molecular structure*, 1220, 128715.
132. Hirao, H. (2011). Which DFT functional performs well in the calculation of methyl cobalamin? Comparison of the B3LYP and BP86 functionals and evaluation of the impact of empirical dispersion correction. *The Journal of Physical Chemistry A*, 115(33), 9308-9313.
133. Araújo, H. D. C. C., Arouche, T. S., de Carvalho Junior, R. N., Ramalho, T. C., Santos Borges, R. D., Oliveira, M. S. & Chaves Neto, A. M. J. (2021). Interactions of ozone-functionalized activated charcoal with SARS-cov-2 proteases using molecular docking and dynamics. *Journal of Nano science and Nanotechnology*, 21(12), 6060-6072.
134. Prasana, J. C., Muthu, S., & Abraham, C. S. (2019). Molecular docking studies, charge transfer excitation and wave function analyses (ESP, ELF, LOL) on valacyclovir :

A potential antiviral drug. *Computational biology and chemistry*, 78, 9-17. doi: 10.1016/j.compbiolchem.2018.11.014

135. Zhang, H., Chen, J. L., Lin, J. H., Lin, J. T., & Wu, Z. Z. (2020). Odorant-binding proteins and chemosensory proteins potentially involved in host plant recognition in the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*. *Pest Management Science*, 76(8), 2609-2618. doi: 10.1002/ps.5799

136. Azad, I., Khan, T., Maurya, A. K., IrfanAzad, M., Mishra, N., & Alanazi, A. M. (2021). Identification of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 inhibitors through *in silico* structure-based virtual screening and molecular interaction studies. *Journal of Molecular Recognition*, 34(10), e2918.

137. Mencía, R., Sierra, M. R., Mencía, C., & Varela, R. (2014). A genetic algorithm for job-shop scheduling with operators enhanced by weak Lamarckian evolution and search space narrowing. *Natural Computing*, 13, 179-192. doi:10.1007/s11047-013-9373-x

138. Morris, G. M., Goodsell, D. S., Halliday, R. S., Huey, R., Hart, W. E., Belew, R. K., & Olson, A. J. (1998). Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *Journal of computational chemistry*, 19(14), 1639-1662. doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(19981115)19:14<1639::AID-JCC10>3.0.CO;2-B

139. Yew S. O.; Keane, A.J. Meta-Lamarckian learning in memetic algorithms. *IEEE transactions on evolutionary computation*, v. 8, n. 2, p. 99-110, 2004. Kim, R., & Skolnick, J. (2008). Assessment of programs for ligand binding affinity prediction. *Journal of computational chemistry*, 29(8), 1316-1331. doi: 10.1109/TEVC.2003.819944

140. Sharma, S., Sharma, A., & Gupta, U. (2021). Molecular Docking studies on the Antifungal activity of *Allium sativum* (Garlic) against *Mucormycosis* (black fungus) by BIOVIA discovery studio visualizer 21.1. 0.0.

141. Nouredine, O. *et al.*. Estudos químicos quânticos sobre estrutura molecular, AIM, ELF, RDG e atividades antivirais da hidroxicloroquina híbrida no tratamento do COVID-19: docking molecular e cálculos DFT. *Journal of King Saud University-Science*, v. 33, n. 2, pág. 101334, 2021. See More. doi.org/10.1016/j.jksus.2020.101334

142. Zhang, Q.; Chan, A.B., Contagem de multidão 3d via fusão multi-view com kernels gaussianos 3d. In: Anais da Conferência AAAI sobre Inteligência Artificial . 2020. pág. 12837-12844. DOI: doi.org/10.1609/aaai.v34i07.6980
143. Santos, C. B., Lobato, C. C., Braga, F. S., Morais, S. S., Santos, C. F., Fernandes, C. P. & Carvalho, J. C. (2014). Application of Hartree-Fock method for modeling of bioactive molecules using SAR and QSPR. Computational Molecular Bioscience, 2014. DOI:10.4236/cmb.2014.41001
144. Guidara, S.; Feki, H.; Abid, Y. Structural, vibrational, NLO, MEP, NBO analysis and DFT calculation of bis 2, 5-dimethylanilinium sulfate. Journal of Molecular Structure , v. 1080, p. 176-187, 2015. doi.org/10.1016/j.molstruc.2014.09.084
145. Ren, J. *et al.* Fluorinated dopant-free hole-transporting material for efficient and stable perovskite solar cells with carbon cathode. Journal of Power Sources, v. 401, p. 29-36, 2018. doi.org/10.1016/j.jpowsour.2018.08.070
146. Duncan, W. T.; Bell, R. L.; Truong, T. N. The Rate: Program for ab initio direct dynamics calculations of thermal and vibrational-state-selected rate constants. Journal of Computational Chemistry, v. 19, n. 9, p. 1039-1052, 1998. doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(19980715)19:9<1039::AID-JCC5>3.0.CO;2-R
147. Huang, J., Mackerell J. R., Alexander D. CHARMM36 all-atom additive protein force field: Validation based on comparison to NMR data. Journal of computational chemistry, v. 34, n. 25, p. 2135-2145, 2013. doi.org/10.1002/jcc.23354
148. Lee, J. et al. CHARMM-GUI input generator for NAMD, GROMACS, AMBER, OpenMM, and CHARMM/OpenMM simulations using the CHARMM36 additive force field. Biophysical journal, v. 110, n. 3, p. 641a, 2016. [https://www.cell.com/biophysj/pdf/S0006-3495\(15\)04614-7.pdf](https://www.cell.com/biophysj/pdf/S0006-3495(15)04614-7.pdf)
149. Baker, C. M. (2015). Polarizable force fields for molecular dynamics simulations of biomolecules. Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science, 5(2), 241-254.
150. Ponder, J. W., & Richards, F. M. (1987). An efficient newton-like method for molecular mechanics energy minimization of large molecules. Journal of computational chemistry, 8(7), 1016-1024.

151. Levitt, M., & Lifson, S. (1969). Refinement of protein conformations using a macromolecular energy minimization procedure. *Journal of molecular biology*, 46(2), 269-279.
152. Miyamoto, S., & Kollman, P. A. (1992). Settle: An analytical version of the SHAKE and RATTLE algorithm for rigid water models. *Journal of computational chemistry*, 13(8), 952-962.
153. Feng, L., & Zhang, L. (2022). Enhanced prediction intervals of tunnel-induced settlement using the genetic algorithm and neural network. *Reliability Engineering & System Safety*, 223, 108439.
154. Onufriev, A. V., & Alexov, E. (2013). Protonation and pK changes in protein-ligand binding. *Quarterly reviews of biophysics*, 46(2), 181-209.
155. Henzler-Wildman, K., & Kern, D. (2007). Dynamic personalities of proteins. *Nature*, 450(7172), 964-972.
156. Lindahl, A. H. e Spoel, V. D. (2021). GROMACS Documentation 2021.
157. Abraham, M. J., Murtola, T., Schulz, R., Páll, S., Smith, J. C., Hess, B., & Lindahl, E. (2015). Gromacs: High-performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *SoftwareX*, 1-2, 19-25. doi.org/10.1016/j.softx.2015.06.001.
158. Long, R., Xia, X., Zhao, Y. et al. Screening metal-organic frameworks for adsorption-driven osmotic heat engines via grand canonical Monte Carlo simulations and machine learning. *I science*, 24(1), 101914 (2021). doi.org/10.1016/j.isci.2020.101914.
159. Luo, R., David, L., & Gilson, MK (2002). Cálculos de Poisson-Boltzmann acelerados para sistemas estáticos e dinâmicos. *Journal of Computational Chemistry*, 23(13), 1244-1253. doi:10.1002/jcc.10120.
160. Borukhov, I., Andelman, D., Orland, H. (1997). Efeitos Estéricos em Eletrólitos: Uma Equação de Poisson-Boltzmann Modificada. *Physical Review Letters*, 79(3), 435-438. doi:10.1103/physrevlett.79.435.

161. Wang, J., Tan, C., Tan, Y. H. et al. Poisson-Boltzmann solvents in molecular dynamics simulations. *CommunComput Phys*,3(5): 1010-1031(2008). <https://www.global-sci.org/v1/cicp/issue/FULLPDF/3/1010/paper.pdf>.
162. Lee, S., Tran, A., Allsopp, M., Lim, JB, Hénin, J., &Klauda, JB (2014). CHARMM36 Modelo de Cadeia de Átomos Unidos para Lipídios e Surfactantes. *The Journal of Physical Chemistry B*, 118(2), 547–556. doi:10.1021/jp410344g.
163. Liu, Y., Mao, B., Liang, S. et al. Association between age and clinical characteristics and outcomes of COVID-19. *Eur. Respirat. J.* 55 (5): 2001112 (2020). DOI:10.1183/13993003.01112-2020.
164. Machado, S. F., Camiletti, G. G., Neto, C. A. et al. Gaussian basis set of triple zeta valence quality for the atoms from K to Kr: Application in DFT and CCSD(T) calculations of molecular properties. *Mol. Phys.*, 107:1713-1727 (2009). DOI:10.1080/00268970903042258.
165. Maharaj, Y., & Soliman, M. E. S. (2013). Identification of Novel Gyrase B Inhibitors as Potential Anti-TB drugs: Homology Modelling, Hybrid Virtual Screening and Molecular Dynamics Simulations. *Chemical Biology & Drug Design*, 82(2), 205–215. doi:10.1111/cbdd.12152.
166. Yuan, G.; Wei, Z.; Yang, Y. The global convergence of the Polak–Ribière–Polyak conjugate gradient algorithm under inexact line search for nonconvex functions. *Journal of Computational and Applied Mathematics*, v. 362, p. 262-275, 2019. doi:10.1016/j.cam.2018.10.057.
167. Seyler, S., Beckstein, O. AdK Gromacs Tutorial Documentation. (2018). <https://adkgromacstutorial.readthedocs.io/en/latest/>.
168. Cole, D.J., Skylaris, C.K., Rajendra, E. et al. Protein-protein interactions from linear-scaling first-principles quantum-mechanical calculations. *Europhys. Lett.*, 91(3): 37004-pp6 (2010). <http://dx.doi.org/10.1209/0295-5075/91/37004>.

APÊNDICE

O artigo foi submetido e aceito para publicação na revista Journal of Molecular Structure, Qualis A3 da CAPES, em 2023. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.135604>

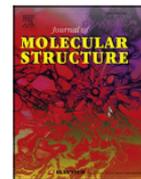
Journal of Molecular Structure 1286 (2023) 135604



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Molecular Structure

journal homepage: www.elsevier.com/locate/molstr



Interactions between carbon nanotubes and external structures of SARS-CoV-2 using molecular docking and molecular dynamics

Júlio Cesar Mendes Lobato^{a,b}, Tiago da Silva Arouche^a, Jordan Del Nero^c, Tarciso Andrade Filho^d, Rosivaldo dos Santos Borges^e, Antonio Maia de Jesus Chaves Neto^{a,c,f,*}

^a Laboratory of Preparation and Computation of Nanomaterials (LPCN), Federal University of Pará, C. P. 479, 66075-110, Belém, PA, Brazil

^b Proderma, Federal University of Pará, C. P. 479, 66075-110, Belém, PA, Brazil

^c Physics Faculty, Science Institute of Sciences (ICEN), Federal University of Pará, 66075-110, Belém, PA, Brazil

^d Federal University of the South and Southeast of Pará, 68507-590, Marabá - PA, Brazil

^e Pharmacy Faculty, Science Institute of Sciences (ICEN), Federal University of Pará, C. P. 479, 66075-110, Belém, PA, Brazil

^f Chemistry and Biochemistry, The University of Texas at Arlington, Box 19065, 700 Planetarium Place, Room 130, Arlington, TX 76019-0065

ARTICLE INFO

Keywords:

SARS-CoV-2
Carbon nanotube
Molecular docking, Molecular dynamics, DFT,
In silico study
Antiviral effect

ABSTRACT

Molecular modeling techniques are used to describe the process of interaction between nanotubes and the main structures of the Covid-19 virus: the envelope protein, the main protease, and the Spike glycoprotein. Molecular docking studies show that the ligands have interaction characteristics capable of adsorbing the structures. Molecular dynamics simulations provide information on the mean squared deviation of atomic positions between 0.5 and 3.0 Å. The Gibbs free energy model and solvent accessible surface area approaches are used. Through the results obtained through molecular dynamics simulations, it is noted that the zig-zag nanotube prefers to interact with E-pro, M-pro, and S-gly, respectively. Molecular couplings and free energy showed that the S-gly active site residues strongly interact with zigzag, chiral, and armchair nanotubes, in this order. The interactions demonstrated in this manuscript may predict some promising candidates for virus antagonists, which may be confirmed through experimental approaches.

1. Introduction

The emergence of the severe acute respiratory syndrome (SARS-CoV-2), which is a pleomorphic ribonucleic acid virus belonging to the family of coronaviruses, or Covid-19, originated in Wuhan, China, at the end of the year 2019. outbreak generated a global pandemic, [1,2] causing great concern to the population due to the high rate of contamination and the ability to spread lethality [3,4]. As their transmission is done through the air or by physical contact, they also propagate over short and/or longer distances, using aerosols, called aerial transmission [5]. Thus, preventive care against the spread of the virus, such as the proper use of masks and gloves, in addition to disinfection of surfaces [6].

Therefore, the use of graphene and its derivatives, such as carbon nanotubes (CNT) appear as potential materials for effective control of the spread and rapid detection of the virus. One can effectively use these materials in antiviral coatings and surface development to prevent contagious and virulent viral contamination in fabrics such as personal protective equipment (PPE), face masks, and gloves [7]. It is important

to mention that CNTs have excellent electrical conductivity due to their almost one-dimensional electronic structure. In SWNTs and MWNTs, electronic transport occurs ballistically (ie, without scattering) along the lengths of the nanotubes, allowing them to carry high currents essentially without heating [8,9]. CNTs also have an electrically conductive capacity and can during an interaction with a solute or solvent, generate an electrical current [10,81].

Thus, it can be considered that a SAR-CoV 2 protein, when approaching very close to the CNT during the interaction can produce an electrochemical potential, so that the virus, upon receiving an electrical current through the chemical bond made in the approximation in o instant when the CNT absorbs and emits light because of electronic jumps between layers of different energy levels. CNTs have previously been employed in drug delivery nanosystems and as an antiviral agent against a few viruses, including the SARS-CoV-2 virus and viral proteins [11,70–72].

The *in-silico* study of the therapeutic target compound present in a plant extract is an economical and rapid investigation tool through

* Correspondence author.

E-mail address: amchaves@ufpa.br (A.M.J.C. Neto).

<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.135604>

Received 8 January 2023; Received in revised form 1 April 2023; Accepted 17 April 2023

Available online 18 April 2023

0022-2860/© 2023 Published by Elsevier B.V.