UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA MESTRADO EM ENGENHARIA QUÍMICA

AGUINALDO PANTOJA DE ALMEIDA

Interações de Quantum Dot com estruturas externas de vírus Nipah utilizando *docking* e dinâmica molecular

Belém-Pará
2023

AGUINALDO PANTOJA DE ALMEIDA

Interações de Quantum Dot com estruturas externas de vírus Nipah utilizando *docking* e dinâmica molecular

Apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química – PPGEQ, do Instituto de Tecnologia – ITEC, da Universidade Federal do Pará – UFPA, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Maia de Jesus Chaves Neto
Coorientador: Prof. Dr Mozaniel Santana de Oliveira.

Belém-Pará
2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

A447i Almeida, Aguinaldo Pantoja de.
Interações de Quantum Dot com estruturas externas de vírus Nipah utilizando docking e dinâmica molecular / Aguinaldo Pantoja de Almeida. — 2023.
85 f. : il. color.

Orientador(a): Prof. Dr. Antonio Maia de Jesus Chaves Neto
Coorientador(a): Prof. Dr. Mozaniel Santana de Oliveira
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Belém, 2023.

1. Pontos quânticos . 2. Nipah. 3. Nanotecnologia. 4. Dinâmica Molecular. 5. Docagem Molecular. I. Título.

CDD 620.5

AGUINALDO PANTOJA DE ALMEIDA

INTERAÇÕES DE QUANTUM DOT COM ESTRUTURAS EXTERNAS DE VÍRUS NIPAH UTILIZANDO *DOCKING* E DINÂMICA MOLECULAR

Defesa de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal do Pará, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Data da Aprovação: 30/01/2023

BANCA EXAMINADORA:

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

Dr. Mozaniel Santana de Oliveira
(MPEG – Coorientador)

Prof. Dr. Raul Nunes de Carvalho Junior
(PPGEQ/ITEC/UFPA – Membro)

Prof. Dr. José Francisco da Silva Costa
(UFPA – Membro)

Dr. Ossalin de Almeida
(UFPA – Membro)

Agradecimentos

A Deus por me dar forças e coragem para enfrentar e superar os desafios da vida.

À Universidade Federal do Pará e a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação – PROPESP e FAPESPA-Fundação Amazônia de Amparo a Estudos e Pesquisas, por me dar a oportunidade de realizar minha Pós-Graduação e pelo seu auxílio financeiro na concessão de bolsa.

Agradeço ao meu orientador, professor Dr. Antonio Maia de Jesus Chaves Neto e o coorientador Prof. Dr Mozaniel Santana de Oliveira por ter aceitado e ajudado neste projeto. Os seus empenhos foram indispensáveis para a minha motivação à medida que as dificuldades iam surgindo ao longo do percurso.

Agradeço também ao PPGEQ, a professora Samira Leão pelo auxílio nesse processo de aprendizado, ao secretário Sr. Daniel Goes e a todos os professores desta pós-graduação.

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

A Aline Lopes Ferreira e ao Jardel H. Mendes dos Santos e alunos do PPGEQ 2020, pela ajuda na época de pandemia com os trabalhos de métodos matemáticos.

Ao Tiago da Silva Arouche pela ajuda nos programas e pesquisas que foram essenciais na produção desse trabalho.

Ao Anderson Yuri Martins da Silva pelo auxílio e ensino na forma de pesquisar.

Agradeço aos membros da Banca, ao Prof. Dr. Raul Nunes de Carvalho Junior, Prof. Dr. José Francisco da Silva Costa e ao Dr. Ossalin de Almeida pelas contribuições neste trabalho.

A todos aqueles que contribuíram, de alguma forma, para a realização deste trabalho.

A todos que participaram, direta ou indiretamente do desenvolvimento deste trabalho de pesquisa, enriquecendo o meu processo de aprendizado.

Dedicatória

Dedico este trabalho em especial aos meus pais, Adinaldo Lopes Almeida e Maria Mirian Neris Pantoja que me incentivaram e me deram formas para conseguir completar mais esse processo.

Aos meus irmãos Analdo Pantoja de Almeida e Adriano Pantoja Almeida com seus apoios emocional.

Dedico esta dissertação a Deus que me dá forças sempre.

Aos meus Avós Olizete Pantoja e seu marido Tomé Pantoja e minha falecida avó Alzerina Lopes pelos incentivos e dedicação.

“Um verdadeiro mestre é um eterno aprendiz.”

Master Yi

Interações de Quantum Dot com estruturas externas de vírus Nipah utilizando docking e dinâmica molecular

AGUINALDO PANTOJA DE ALMEIDA

Orientador: Prof. Dra. Antonio Maia de Jesus Chaves Neto
Coorientador: Prof. Dr Mozaniel Santana de Oliveira.
Área de concentração: Engenharia de Processos Orgânicos

Resumo

Realizando a interação da proteína mais externa do vírus Nipah com quatorze estruturas com possível potencial para a emissão de pontos quânticos, utilizando de ancoragem e dinâmica molecular, utilizando as plataformas de docagem molecular: CB Docking, Swiss DOCK, AutoDock Vina 4.2.6 para realizar um comparativo de resultados explicitando os melhores valores, além de utilizar o Gromacs 2022 fazer cálculos das trajetórias dos ligantes em relação ao tempo. Os complexos demonstram principalmente interações hidrofóbicas no sítio de ligação do receptor. Os resultados de energia de afinidade obedeceram às cargas parciais das pontas as quais apresentaram melhor estabilidade, os resultados de RMSD também respeitaram essa premissa. Assim, o conjunto formado por combinações de proteínas com quantum dot tem potencial para adsorver de forma mais eficiente os componentes proteicos do vírus. Os estudos de docagem e dinâmica molecular e verificação da energia de ligação revelaram a ligação forte e estável entre o para o QD-K e QD-G e QD-F com a macroestrura do vírus NIPAH. Foi estabelecido nos estudos de docagem, que os ligantes têm pontuações de energia de afinidade de -13,658 kcal/mol, -13.6 kcal/mol, -13,9 kcal/mol, para K, G e F respectivamente. O mesmo resultado se replicou no estudo de verificação de energia livre de Gibbs com valores para F de 239,00 kcal/mol, G de 246,65 kcal/mol e K de 259,52 kcal/mol.

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

Quantum Dot interactions with Nipah virus external structures using docking and molecular dynamics

AGUINALDO PANTOJA DE ALMEIDA

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

Co-advisor: Prof. Dr. Mozaniel Santana de Oliveira.

Concentration Area: Organic Process Engineering

Abstract

Performing the interaction of the outermost protein of the Nipah virus with fourteen structures with possible potential for the emission of quantum dots, using anchoring and molecular dynamics, using molecular docking platforms: CB Docking, Swiss DOCK, AutoDock Vina 4.2.6 to perform a comparison of results explaining the best values, in addition to using Gromacs 2022 to make ligand trajectories in relation to time. The mostly hydrophobic complexes at the receptor binding site. The tolerance energy results tolerated the partial loads of the tips which showed better stability, the RMSD results also respected this premise. Thus, the set formed by combining proteins with a quantum dot has the potential to more efficiently adsorbing of the protein components of the virus. Molecular dynamics and docking studies and verification of binding energy revealed strong and stable binding between para QD-K and QD-G and QD-F with the macrostructure of NIPAH virus. It was established in the docking studies, that the binders have emission energy scores of -13,658 kcal/mol, -13.6 kcal/mol, -13.9 kcal/mol, for K, G and F respectively. The same result was applied in the Gibbs free energy verification study with values for F of 239.00 kcal/mol, G of 246.65 kcal/mol and K of 259.52 kcal/mol.

Keyword: Quantum dots; Nipah; Nanotechnology; Molecular Dynamics; Molecular Docking.

Lista de Figuras

Figura 1: Representação da estrutura do Niv.....15
Figura 2: Domínio da Proteína G. 19
Figura 3: QDs utilizados neste estudo 22
Figura 4: Resultado da melhor interação com: a) QD-A, b) QD-B, c) QD-C, d) QD-D, e) QD-E, f) QD-G, g) QD-G, h) QD-H, i) QD-I, j) QD-J, k) QD-K, l) QD-L, m) QD-M e n) QD-N 45
Figura 5: Resultado do MEP: a) QD-A, b) QD-B, c) QD-C, d) QD-D, e) QD-E, f) QD-G, g) QD-G, h) QD-H, i) QD-I, j) QD-J, k) QD-K, l) QD-L, m) QD-M e n) QD-N. 49
Figura 6: Resultados do RMSD versus tempo deligantes com a protease G. 52

Lista de Tabelas

Tabela 1: Energias de afinidade calculadas com as diferentes plataformas 40
Tabela 2: Detalhes de distância, categoria e tipo das possíveis ligações químicas 66

Lista de abreviaturas e siglas

Å: Angstrom.

ADV: Software Autodock Vina.

B3LYP: Funcional de densidade híbrida.

DFT: Teoria do Funcional de Densidade.

Fs: Fentosegundos**.**

Gaussian: Pacote de software de química computacional.

GROMACS: GROningen MAchine for Chemical Simulations.

K: Kelvin.

Niv: vírus Nipah.

NiV-G: glicoproteína G de ligação ao receptor.

MDoc: Docagem Molecular.

MDin: Dinâmica Molecular**.**

MM: Modelagem Molecular.

MPE: Mapa de potencial eletrostático.

Ns: Nanosegundos.

QDs: Pontos Quânticos.

RMSD: Raiz do desvio quadrático médio.

T: Temperatura.

Sumário

Capítulo I

1. Introdução… 15
1.1. Objetivos..... 18
1.1.1.Objetivo Geral… 18
1.1.2.Objetivos Específicos… 18

Capítulo II

2. Referencial Teórico…..... 19
1. Análise estrutural da Protease.....19
1.1. Domínio da Proteína Envelope…..... 19
2. QDs.....21
3. Modelagem Molecular.....23
3.1. DFT.....23
3.2. MDoc.....24
3.3. Mapa de Potencial Eletrostático 26
3.4. MDin clássica 27
3.5. MM/PBSA.....31

Capítulo III

3. Metodologia.....34
1. Receptor.....34
2. Ligantes 34
3. Plataformas de Ancoragem Molecular 35
3.1. Software AutoDock Vina 35
3.2. CB Docking… 35
3.3. SwissDOCK.....36
3.4. Dinâmica Molecular… 37
3.3.4.1 Protocolo para simulações MDin… 37

Capítulo IV

4. Resultados e Discussão.....39
1. Energia de afinidade da MDoc 39
2. Interações com melhores resultados de energia de afinidade…… 40
3. Mapa de potencial eletrostático 47
4. Análise de Dinâmica Molecular 50
4.1. RMSD.....50
4.2. Análise energia livre 52
4.3. Sítios Ativos 54

Capítulo V

5. Conclusão…..... 55

Referências 57

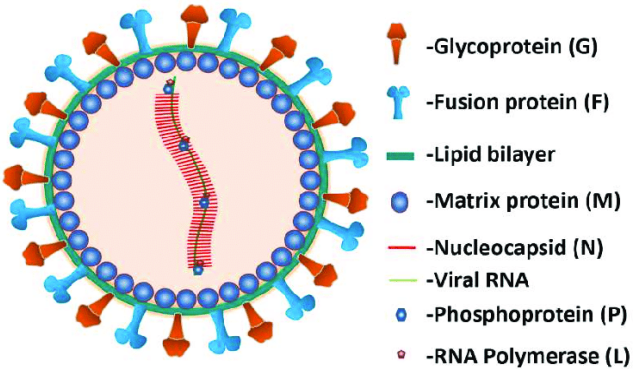
ANEXOS **.....** 66

CAPÍTULO I

1. Introdução

O vírus Nipah (Niv), é classificado como segundo membro o gênero Henipavirus da família *Paramyxoviridae*, foi descoberto em setembro de 1998, (ANG *et al.*, 2018) apresenta sintomas extremamente preocupantes, entre eles está a encefalite febril aguda associada a alta mortalidade, sua primeira localização conhecida ficava na região da Malásia Ocidental em 1998 também chamada de Península Malaia, estado de Peraque, local onde apresenta uma forte indústria de suinocultura, no surto de 14 a 29% dos infectados apresentaram problemas respiratórios (tosse, pneumonia sem encefalite), mas não está totalmente claro se fazia parte de sintomas virais ou problemas decorrente da utilização da ventilação mecânica. (CHUA, 2003) Em março de 1999 Singapura, houve 11 (onze) casos sendo que 2 desenvolveram sintomas respiratórios e não desenvolveram encefalite, os casos continuaram até o fevereiro de 1999 (CHUA, 2003; CDC, 1999; CHEW *et al.*, 2000).

Figura 1: Representação da estrutura do Niv.



Fonte: SOMAN PILLAI, KRISHNA, VALIYA VEETTIL, 2020.

Nos casos de Bangladesh em 2001, localizado no sul da Ásia no Golfo de Bengala e Índia de 50 a 60% contraíram maior envolvimento respiratório, sendo que alguns pacientes desenvolveram síndrome do desconforto respiratório agudo, os casos de Malásia e Cingapura desenvolveram uma taxa de mortalidade de 32–41% e de Bangladesh e Índia a mortalidade foi muito maior, chegando entorno de 70%. Há variação no período de encubação sendo que mais de 90% dos pacientes desenvolveram em duas semanas, os sintomas apresentados foram: febre, cefaleia, tontura e vômitos, que mais

tarde evoluiu a um quadro de encefalite grave (SHARMA *et al.*, 2018).

Nos surtos de Niv, procurou-se o hospedeiro naturais do vírus, para controle e prevenção da doença, a procura foi desenvolvida em animais domésticos (galinhas, gatos, cães, cabras e cavalos) como também em animais silvestres (javalis, roedores, aves e morcegos), evidências sorológicas afirmam que os animais domésticos, principalmente gatos, cães e porcos estavam infectados pelo vírus e acreditava-se que os infectados eram a fonte de infecção para essas espécies, e que todos eram efetivamente hospedeiros "sem saída", encontrou-se o vírus em morcegos em especial a pequena raposa voadora (*Pteropus Hypomelanus*) e a grande raposa voadora (*Pteropus Vampyrus*) (CHUA, 2003).

Com o surgimento desse vírus, a importância para combater se destaca, em especial as ciências dos materiais surgi como uma busca por fármacos e tecnologias em pesquisas antivirais e fármacos eficazes na luta contra a doença. Existem várias formas de se pesquisar os vírus, as que se destacam são: realizando simulações computacionais (TABARI *et al.*, 2020) usando conhecimentos relacionados, utilizando docagem, também conhecido como *molecular docking* (MDoc) e utilizando a dinâmica molecular (MDin).

Especialmente o MDoc, utilizado como um instrumento extremamente importante na previsão de possíveis afinidades de uma determinada molécula por outra, isto é, uma biomacromolécula (VIJESH *et al.*, 2013). As análises de MDoc são ferramentas extremamente úteis (MORRIS *et al.*, 2009), elas preveem e informam sobre o movimento de biomoléculas e os complexos de ligantes. Ao executar simulações de MDin, os comportamentos dinâmicos de arranjos podem ser acompanhados e investigados em variações de tempo diferentes, permitindo assim a observação de trajetórias internas rápidas e desvios conformacionais lentos para métodos extremamente complexos, como a ligação de um ligante a uma região de sítio ativo ou dobramento de proteína (CHILDERS, DAGGETT, 2017). A variação de aplicabilidade de MDin em fármacos está constantemente variando, modificando e aumentando. Ao utilizar as técnicas *in silico* e experimentais em união, oferece informações dos aspectos intermolecular, em geral um ótimo aprendizado na descoberta de prováveis agentes inibidores do vírus (ANAYA-PLAZA *et al.*, 2019).

Desta forma, vamos analisar pontos quânticos de grafeno, ou Quantum Dot (QD) (ABDELSALAM; ELHAES; IBRAHIM, 2018; ZHANG *et al.*, 2012), têm sido enormemente estudados devido à baixa citotoxicidade, sua boa biocompatibilidade e alta área de superfície específica, possui efeito de borda e efeito de tamanho, uma excelente solubilidade, fotoluminescência estável, isso torna-os potenciais de aplicação nas áreas

de sistemas de sensores e bioimagem. (LIU *et al.*, 2021) Assim, considerando a importância do tratamento do Niv, que contém duas glicoproteínas ancoradas na membrana em seu envelope, a glicoproteína de fusão (F) e a glicoproteína (G) de ligação ao seu receptor, a estrutura computacional G facilitadora da ligação às células hospedeiras foi escolhida e examinada, tendo em mente a importância de possíveis resultados.

Logo, foram utilizados os procedimentos computacionais, utilizando o processo de MDoc no servidor SwissDock, servidor CB-Dock (DARAPANENI; JALDANI, 2022; SHARMA; KAUR, 2020), e programa AutoDock Vina (HUEY *et al.*, 2012; GOODSELL; OLSON, 1990)**.** Servidor SwissDock utiliza mecanismos EADock DSS, mecanismo que foi desenvolvido para ser utilizado em designers de medicamentos (GROSDIDIER *et al.*, 2011), o servidor de rede possui incríveis taxas de sucesso possui links rígidos e pequenos, usando menos de 10 links rotativos flexíveis, interage com proteínas alvo, prevê a posição mais conveniente situando dentro de 3Å para estruturas cristalinas e possui uma margem de 77% de compatibilidade com estudos experimentais (GROSDIDIER *et al.*, 2011).

O servidor CB-Dock usado para o estudo de MDoc, utiliza procedimentos de encaixe cego de ligante de proteína, usa detector de cavidades e isso prevê regiões de ligação da proteína estudada, baseado em curvatura e o procedimento de encaixe molecular que foram baseados em AutoDock Vina no servidor CB-Dock.

O desenvolvimento do procedimento de Dinâmica Molecular (MDin) nesta etapa, usamos o software GROMACS 2022 (BAUER *et al*, 2022), para as análises de MDin (HANSSON *et al*, 2002, KARPLUS *et al*, 2002) que poderiam mostrar conhecimento em relação ao desvio do quadrado médio da raiz das posições atômicas (RMSD) (SARGSYAN *et al*, 2017), cálculos usando o modelo generalizado de solvatação implícita de Born (GB) (NAMBA *et al*, 2008) e energia livre de Gibbs (ΔG) (GILDEMYN *et al*, 2017). Sendo assim, é imprescindível que o MDoc, combinado com outros métodos computacionais, forneça resultados confiáveis ao fazermos estudos de MDin. A quantidade de aplicação de MDin em fármacos está constantemente evoluindo e seria muito difícil informar todos. Utilizando em conjunto, os procedimentos *in silico* e os experimentais fornecem informações sobre os atributos formados da identificação intermolecular, possibilitando esse procedimento um ótimo estudo na exploração de agentes inibidores de vírus. Assim, pretendemos explorar as interações dos QD com a estrutura externa do NiV utilizando uma análise virtual na tentativa de inibição ou inativação viral.

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivos Geral

- Analisar a interações intermoleculares dos QDs de carbono com a Glicoproteína de Ligação G do Vírus Nipah.

1.1.2. Objetivos específicos

- Aplicar técnicas de dinâmica molecular e docagem molecular com o software GROMACS, com nanoestruturas inorgânicas com o vírus Niv;

- Investigar e forças de interação do QDs de carbono - Proteína do complexo G do vírus para fins de projetar sensores;

- Identificar qual o tipo QDs de carbono é o melhor que tem a maior capacidade de interação com o vírus.

CAPÍTULO II

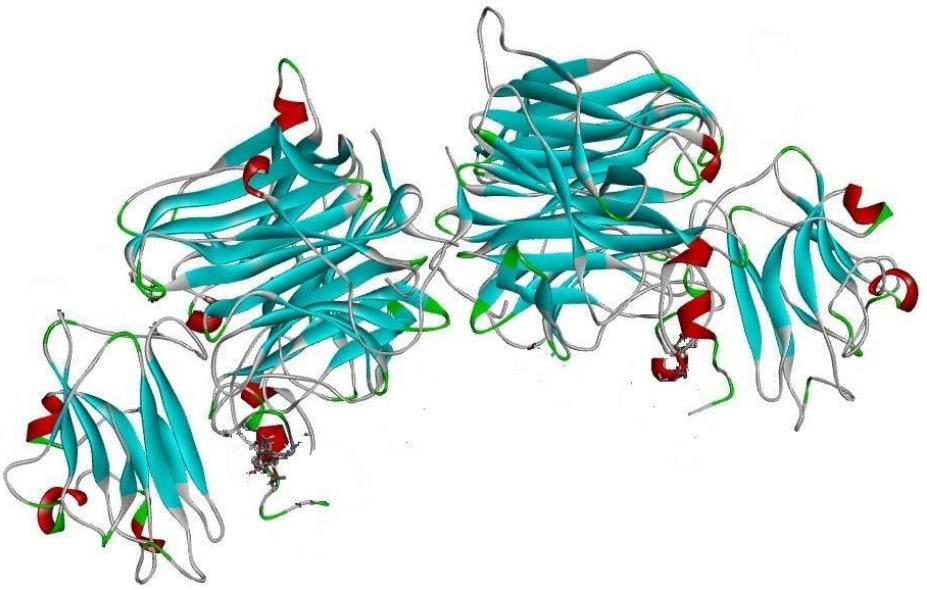
2. Referencial Teórico

Este capítulo apresenta as principais partes teóricas desenvolvidas na pesquisa e que estão intimamente relacionadas ao estudo. Este trabalho se concentra na interação com a proteína de membrana do vírus causador da Niv, tornando possível a inativação do vírus. Desta forma, analisamos a estrutura G obtida do Banco de Dados de proteína chamado Protein Data Bank (www.rcsb.org).

2.1.Análise estrutural da Protease

2.1.1 Domínio da Proteína Envelope

Figura 2: Domínio da Proteína G.



Fonte: Autor (2022).

A Glycoprotein (G) tem o principal papel identificar e ligar o vírus aos receptores celular exemplo, Efrina-B2 e Efrina-B3 (descoberto que servem de receptores), dentro da membrana da célula hospedeira, mas também facilita é responsável o procedimento de fusão da membrana mediado por glicoproteína de fusão (F) através de um mecanismo ainda indefinido que é iniciado através da ligação ao seu receptor cognato.

NiV-G possui características de uma cabeça globular C-terminal que se estendendo da sua membrana viral em uma haste (LAMB, PARKS, 2007). Uma hélice β

com seis lâminas circundando sua cavidade central, em geral possui semelhança às glicoproteínas de ligação viral hemaglutinina-neuraminidase (HN estruturalmente caracterizadas). A glicoproteína G é dividido em quatro partes (BOSSART *et al.*, 2005). A glicoproteínas G do paramixovírus trabalha em conjunto para facilitar o procedimento de fusão da membrana, e a preponderância dos dados até o momento sugere que elas se associam dentro da membrana viral. Foi sugerido que a região da haste da glicoproteína G está principalmente envolvida nestas interações com as suas glicoproteínas F parceiras (IORIO; MAHON, 2008).

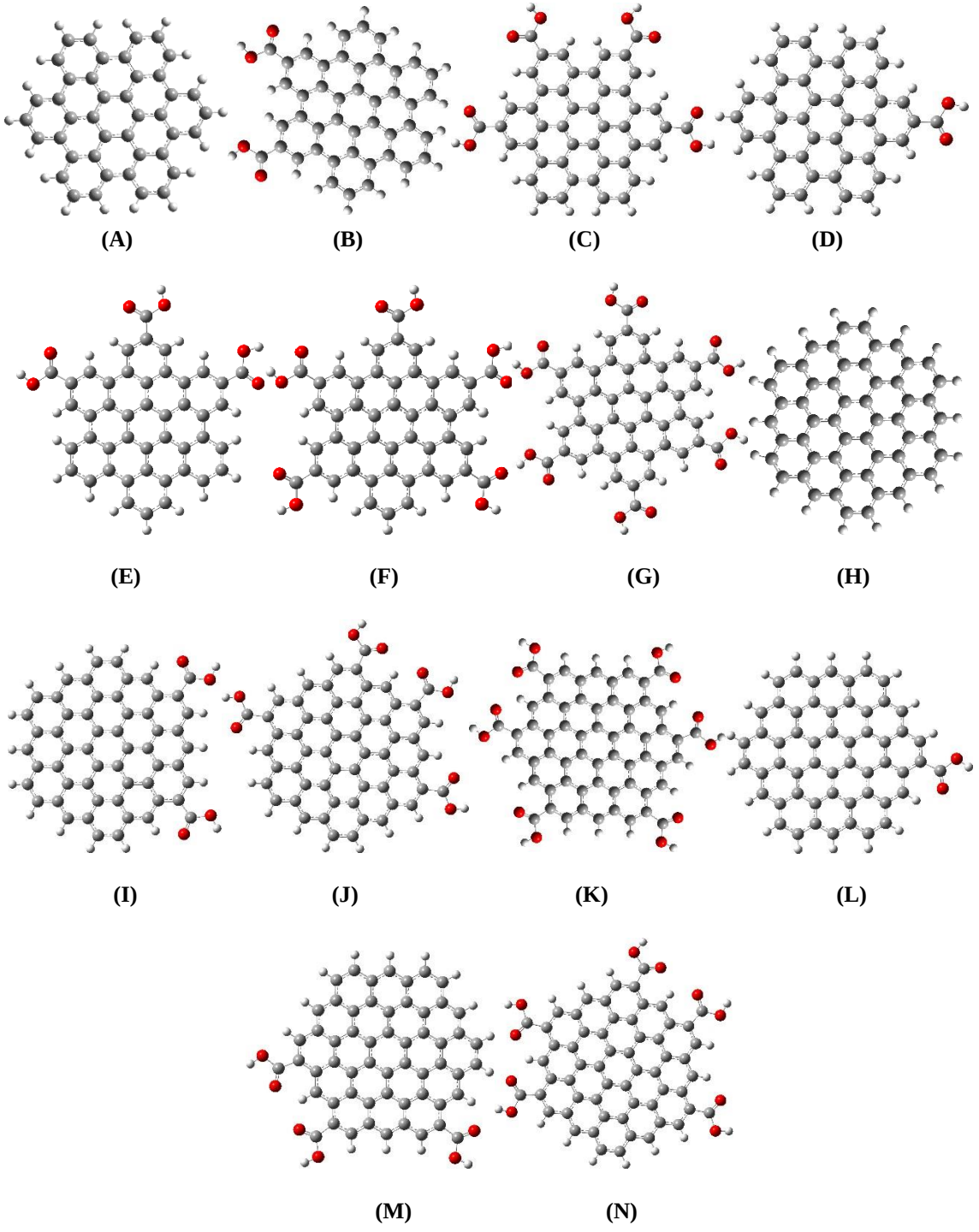
2.2.QDs

Pontos quânticos semicondutores derivados de carbono (ex: grafeno) com estrutura em forma hexagonal têm QDs estimulado o interesse dos pesquisadores devido a sua melhor característica eletrônica (LIM *et al.*, 2015; LI, 2019) e ópticas especiais (NAZRI, 2021) nesses anos.

A propriedades dos QDs aparecem devido a prisão de elétrons no acúmulo de grafeno de tamanho pequeno e limitado levando a uma abertura de energia e à quantização dos níveis de energia eletrônica. Estes QDs em diferentes formatos geométricos cortados geram criação de QDs que possuem diferentes formas e arestas. A lacuna de energia está implicitamente ligada à sua forma escolhida, arestas e devidos ao tamanho que foram selecionados previamente, os estados de borda surgem em regiões de baixa energia que dependem da sua forma (quadrática, triangular ou hexagonal) e tamanho selecionados (ziguezague versus poltrona). Os cálculos de ligação apertada (TB) (ZHENG *et al.*, 2015; CAMPUZANO; PINGARRÓN, 2019) concordam com a veracidade de dois tipos de estados de borda na forma hexagonal, com terminação em ziguezague e estados de energia zero (ZES) que são degenerados e estão localizados justamente no nível de Fermi e estados de energia dispersos (DES) que preenchem a baixa energia e se distribuem de forma simétrica em torno dela. ZES surgem em GQDs triangulares, enquanto DES em outras formas QDs hexagonais e circulares. (AONO *et al.*, 2003)

Devido as funcionalidades químicas dos QDs as propriedades ópticas e eletrônicas podem ser estabelecidas, propriedades eletrônicas e estrutura geométrica do grafeno carboxilado mostraram mudanças consideráveis na estrutura dos QDs após a ligação de grupos COOH à superfície (KELARAKIS, 2015), as propriedades de fotoluminescência de QDs podem ser configuradas precisamente ao anexar funcionalidades químicas. (TANG *et al*., 2019)

Figura 3: QDs utilizados neste estudo.



Fonte: Autor (2022).

2.3.Modelagem Molecular

2.3.1.DFT

DFT (MATTA *et al.*, 2002; MOHAMMAD *et al.*, 2016; SÜLEYMANOĞLU *et al.*, 2021), é conhecido como um dos modelos químicos quânticos, que são capazes de fazer cálculos em uma série de propriedades e por exibir resultados teóricos relativamente próximos aos dados experimentais e frequentemente permitindo entender sobre a forma da geometria, as propriedades espectroscópicas e eletrônicas dos sistemas estudados, informando e dirigindo ao cálculo de suas propriedades moleculares. DFT tem em importância o conceito de funcional, podendo ser classificado como uma função dependente de outra.

A energia da molécula é fornecida pelo funcional da densidade ρ (Eq. 2.1),

$$Energia = F[\rho(x, y, z)]. \quad (2.1)$$

A DFT procura descobrir o valor de funcional F. A suposição de Kohn-Sham, que no que lhe diz respeito representa a densidade eletrônica e suas posteriores conexões com energias moleculares, é fornecida de forma compreensível na (Eq. 2.2).

$$E_{DFT} = T(\rho) + E_{ne}(\rho) + J(\rho) + E_{\mathrm{x}}(\rho) + E_C(\rho), \quad (2.2)$$

onde, E: energia total, E_{ne}: energia de atração coulombiana núcleo-elétron, E_x e E_c: satisfazem, simultaneamente, às energias de troca e correlação, elétron-elétron, J: energia de repulsão elétron-elétron, T: energia cinética dos elétrons.

Os termos da Eq. 2.2 são classificados como uma função da densidade eletrônica ρ, assim cada energia E_{ne}, J, T, E_c e E_x é denominada um funcional e seu propósito representa o problema da teoria DFT. Os três primeiros termos iniciais podem ser encontrados de forma razoável ao utilizar métodos semi-empíricos ou *ab initio* (STOKBRO *et al.*, 2010). Contudo os termos de conversão e correspondência eletrônica são manifestados de forma dissemelhante na DFT.

O funcional B3LYP, é um dos funcionais de DFT mais usado e grandemente apontado na literatura, sendo um funcional híbrido, apresenta um complexo conjuntos de bases que possuem uma boa extração de atributos moleculares constituídas de carbono, oxigênio, hidrogênio e nitrogênio. Neste trabalho usamos a função de base B3LYP/LANL2DZ (d, p).

2.3.2.MDoc

A MDoc é considerada como um modelo computacional que o principal propósito é prever a forma de ligação e a afinidade de moléculas pequenas dentro de um determinado sítio ativo de um receptor desejado, podendo medir a energia de interação utilizado funções de pontuação (NADENDLA, 2004).

A definição física do conjunto deve possuir um equilíbrio praticável com precisão e tempo computacional, o que consiste um enorme assunto de estudo na área. A interação de forma reversível entre um ligante e um receptor pode ser medida utilizando a constante de ligação (K_A), expressa para um receptor (R), interagindo com um ligante (L) o que resulta em um complexo ligante-receptor (RL), como sendo mostrado nas Eq. 2.3 e 2.4:

$$[\mathrm{R}] + [\mathrm{L}] \rightleftharpoons [\mathrm{RL}], \tag{2.3}$$

$$K_A = \frac{[RL]}{[R][L]}. \tag{2.4}$$

A mudança na energia livre devida à ligação (ΔG), energia livre de ligação, relacionada à constante de ligação, como informada na Eq. 2.5:

$$\Delta \mathrm{G} = -\mathrm{RT}\ln K_A, \tag{2.5}$$

onde, R: seria constante dos gases ideais, J/mol.K, T: temperatura, K.

Em simulações de MDoc, procura-se estudar a interação molecular para estimar ΔG, isso permiti uma classificação dos principais ligantes inserido em um determinado conjunto de moléculas. Desenvolveu-se a MDoc nos anos de 1980 e evoluiu tornando-se um dos principais instrumentos na área de planejamento de medicamentos (STANZIONE; GIANGRECO; COLE, 2021), é considerado uma organização apurada na estrutura mais usados na identificação da configuração de minúsculas moléculas ligantes no sítio ativo do alvo desejado. (GURUNG *et al*., 2021) Possui habilidade e rapidez em realizar a verificação de enormes bibliotecas de compostos e analisar potenciais compostos que consigam ou não modular a função biológica das proteínas ou enzimas receptoras a torna um método muito valioso para a triagem virtual.

Frente dessa carência de explorar a região conformacional e prever com boa exatidão a afinidade de ligação, os softwares de MDoc acabam mostrando a seus usuários a dúvida de selecionar entre a exatidão da solução e a velocidade do algoritmo usado. A

conformação computacional é um estímulo para a docagem de proteína-ligação favorável à complexidade da amostragem exaustiva de prováveis deslocamentos na orientação relativa e conformação do ligante, bem como mudanças estruturais da proteína. A MDoc em sua essência é baseada na ideia de ‘chave e fechadura’ e numa lógica para a previsão dos ajustes e orientações dos ligantes com um sítio de ligação alvo normalmente utilizados nos estudos de modelagem estrutural e predição da atividade (LUO *et al.*, 2016). A MDoc pode ser usada em análises envolvendo acontecimentos moleculares importantes tais como, as formas uma ligação do ligante e de suas equivalentes interações intermoleculares que efetivam o complexo receptor-ligante, previsões numerativas das energias de ligação, trazendo uma classificação dos compostos com base na sua afinidade de ligação dos complexos receptor-ligante (SULIMOV; KUTOV; SULIMOV, 2019).

Os modelos de MDoc geralmente lidam com a incrível flexibilidade de ligantes e proteínas de maneiras distintas, em virtude da sua estrutura e valores de graus de liberdade em uma proteína está novamente se tornando um dos principais desafios para MDoc molecular. Portanto, a aptidão de um algoritmo para acomodar a flexibilidade molecular inerente de um sistema e uma maneira satisfatória de projetar interações proteína-ligante é um dos maiores déficits dos atuais programas MDoc atualmente em combinação com funções de pontuação (GÜNER, 2000). A versatilidade dos conjuntos biomoleculares pode ser vista de três maneiras distintas nos estudos MDoc: *i)* a proteína sendo considerada inflexível e somente os graus de liberdade rotacional e translacional do ligante serão explorados; *ii)* a proteína é considerada inflexível e quaisquer graus de liberdade do ligante são explorados, ou *iii)* a proteína é considerada totalmente ou de forma moderadamente flexível e todos os graus de liberdade do ligante são explorados (NADENDLA, 2004).

Parametrizar com eficiência essas funções de pontuação é um trabalho extremamente complexo, devido a uma grande gama de princípios como aproximações matemáticas, complexidade em parametrizar termos e eventos moleculares (SAPUNDZHI, 2014). Se for maior o número de parâmetros físico-químicos estudados, maior a será a precisão da função de pontuação, porém o custo computacional eleva-se de forma proporcional a quantidade de parâmetros, portanto deve-se buscar uma estabilidade entre a quantidade de parâmetros avaliados e a sua velocidade de cálculo (FRENKEL, 1997).

Funções de pontuação separam-se em: bases de campo de força, bases empíricas, bases de conhecimento e bases de consenso. Aqueles baseados no campo de força calculam a energia de ligação, termos de ligação e não ligação em uma função principal)

(MORRIS; LIM-WILBY, 2008). As interações de ligante-receptor são regularmente descritas usando os elementos de van der Waals, energia e eletrostática (SHOICHET; LEACH; KUNTZ, 1999). A definição de energia de van der Waals é fornecido segundo o potencial de Lennard-Jones e os termos eletrostáticos retratados pela formulação coulômbica parecida à uma função dielétrica que depende da distância (SAPUNDZHI, 2014). Poucas restrições das funções de pontuação controlada no campo de força são: a não inclusão de termos entrópicos e de solvatação, sobretudo da carência de introduzir distâncias de corte para o tratamento de relaxantes não ligantes, o que dificulta a abordagem precisa a gama de efeitos envolvidos no link (SPITALERI *et al*., 2018).

2.3.3.Mapa de Potencial Eletrostático (MEP)

O MEP é considerado um conceito fundamental que será abordado nesta pesquisa é a correlação da atividade estrutural dos inibidores pesquisado utilizando as características do MEP. É necessário que a visualização do MEP mostre informações estimatório referente as moléculas, como a interação entre um ligante e o receptor. Para as estruturas estudadas, os valores de V foram analisados a partir da seguinte equação:

$$V(r) = \Sigma_A \frac{z_i}{|R_A - r|} - \int \frac{\rho(r')}{|r' - r|} dr', \quad (2.6)$$

onde r(r’): função da densidade eletrônica da molécula; Z_i: carga do núcleo A, localizada em RA; r’: variável de integração simulada.

O potencial eletrostático é considerado uma característica regional tridimensional podendo ser estudada em qualquer ou em todos os pontos do espaço do sistema. É muito natural calcular e observar uma enorme área envolvendo a superfície tridimensional de uma molécula. A escala em que essa suposição é válida em sistemas aromáticos específicos pode ser analisada a partir das conexões entre os resultados de MEP e quantidades teóricas ou experimentais alternativas, que são familiares por dependerem de cargas locais variáveis. Por designação, constantes substituintes experimentais (TASI, PÁLINKÓ, 1995) refere-se as características locais de distintas posições do anel (VENANZI; PLANT; VENANZI, 1992). As boas correlações entre as reatividades do local e os resultados de MEP conseguem ser consideradas como uma sugestão de uma contribuição dominante das variações locais de carga nas mudanças de MEP nas respectivas posições antes do MDoc.

O potencial eletrostático é uma quantidade quântica bem determinada (TOMASI, 1981). Podendo ser analisado de maneira experimental, utilizando-se de estudos de difração de raios X (ROFOUEI, 2011). Mais adiante de definição estrita, um benefício do uso do potencial eletrostático molecular é a habilidade de apontar características regionais (ou sítios) por meio da avaliação de resultados de MEP em pontos específicos do espaço molecular. Se demonstrou em inúmeras aplicações (BAYOUMY; IBRAHIM; OMAR, 2020) que os dados de MEP mostram uma forma para estimar a reatividade em posições particulares de uma molécula, para reações químicas e serve também para interações intermoleculares (exemplo seria ligações de hidrogênio). O vínculo entre grandeza de MEP e cargas regionais só poderão ser qualitativas e aplicáveis a situações em que a distância entre o grupo substituinte e um determinado centro de reação é possa ser considerável.

2.3.4.MDin clássica

A simulação baseada em MDin é considerada um modelo computacional mais versátil para a pesquisa de macromoléculas biológicas (BERNARDI; MELO; SCHULTEN, 2015). No design racional de medicamentos apurado em estrutura, as simulações de MDin contribuíram amplamente em diferentes estágios do processo, reforçando a esperada abordagem de planejamento baseado em mecanismo de ação (SALMASO; MORO, 2018).

Os métodos MDin são baseados nos princípios fundamentais da mecânica clássica estabelecendo bases sobre o desempenho, movimento dinâmico e dependente do tempo dos átomos individuais que constituem o sistema (CRAIG; MANOLOPOULOS, 2004). Para adquirir características dos deslocamentos microscópicos de importância, é necessária a utilização da mecânica estatística, que tem a habilidade de fazer cálculos de propriedades macroscópicas observáveis como: volume, energia interna, pressão, entropia, temperatura e a energia livre de outras microscópicas.

Segundo a estudos de mecânica molecular (MM) (RAPPE; CASEWIT, 1997), as forças newtonianas descrevem as moléculas como coleções de átomos. O grupo de potenciais de interação entre partículas é denominado de “campo de força” (HASHEM;AUFFINGER, 2009), o campo de força empírico é considerado uma função da energia potencial de todo o sistema, V(r), calculada utilizando a estrutura tridimensional (3D) do conjunto do sistema. V(r) é apresentado como a adição de muitos termos de energia e isto inclui os termos para os átomos que estão ligados e termos para

os átomos não estão ligados, como as interações de Coulomb e van der Waals. O campo de força empírico é exposto na equação 2.7:

$$V(r) = \Sigma V_l + \Sigma V_\theta + \Sigma V_{vdW} + \Sigma V_{elet}, \quad (2.7)$$

V_l é chamada de energia de estiramento da ligação em relação a seu valor de equilíbrio (ou ideal), V_θ seria a energia de mudança do ângulo de ligação em relação a seu valor de equilíbrio, V_φ é a energia devido à torção ao redor de uma ligação V_{vdW}, corresponde a energia da interação de van der Waals e V_{elet} tem significado de energia de repulsão ou atração eletrostática.

O exemplo usado para construir os potenciais harmônicos é acertado às oscilações dos ângulos e comprimentos das ligações em relação ao valor de equilíbrio é o uso da lei de Hooke, que é apresentada nas equações 2.8 e 2.9:

$$V_l = k_l(l - l_0)^2, \quad (2.8)$$

$$V_\theta = k_\theta(\theta - \theta_0)^2, \quad (2.9)$$

onde l e θ são comprimentos e ângulos de ligação, l_0 e θ_0 são valores consistentes com dados de equilíbrio e k_l e k_θ são valores constantes de força para equilíbrio. A forma da função padrão que apresenta a energia potencial de torque é fornecida na Equação 2.10:

$$V_\emptyset = \frac{V_n}{2}(1 + cos(n\emptyset - \gamma)), \quad (2.10)$$

onde V_n é o bloqueio de energia de torção, *n* é o valor podendo ser máximo ou mínimo de energia de uma torção completa, ∅ é o ângulo diedro e γ é classificado como o ângulo de fase (a desaceleração do ângulo diedro é o ponto mínimo ou máximo em ∅ = 0) (ELBER, 1996). Um número *n* deve ter um tipo conhecido de torção. As interações entre pares de átomos ligados não covalentemente (i,j) são retratadas pelos potenciais compostos de van der Waals e os termos eletrostáticos descritos pelo potencial de Lennard-Jones (Eq. 2.11) e o potencial de Coulomb (Eq. 2.12), respectivamente. Será

$$V_{vdW} = 4\mathcal{E}_{ij}\left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}}\right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}}\right)^{6}\right], \quad (2.11)$$

$$V_{elet} = \frac{q_i q_j}{4\pi\mathcal{E}_0\mathcal{E}_r r_{ij}}. \quad (2.12)$$

A Equação 2.11, ε_{ij} é o valor potencial entre os bloqueios atrativo e repulsivo, e σ_{ij} é a longitude finita a qual o potencial intermolecular é considerado zero. Para interações eletrostáticas (Equação 2.12), q_i e q_j são relacionados à importância de uma carga pontual específicas em átomos, r_{ij} já é a distância entre cargas, ε_0 é a permissividade do espaço livre e ε_r é o valor constante dielétrica e a permissividade relativa do meio. Os campos de forças que existentes foram elaborados de forma independente e usa todos os conjuntos de parâmetros específicos. Alguns apresentam outros tipos de termos para o acoplamento vibracional entre ângulos e os comprimentos de ligação para descrever especificamente a ligação de hidrogênio ou para melhor corresponder aos espectros vibracionais (LEIMKUHLER; MATTHEWS, 2015).

O Mdin permite que os átomos e moléculas se comuniquem ao longo de um período temporal, isto possibilita a análise e evolução dinâmica de todo o sistema em análise. A versão mais comum da órbita é determinada pelos cálculos numéricos das equações de movimento de Newton, para sistemas atômicos simples, isso pode ser explicado pela Equação 2.13.

$$F_i(t) = m_i a_i \;\; = - \, grad\,(V_i)\,. \tag{2.13}$$

F_i é a força atuante em toda partícula do conjunto no tempo t, a_i é a aceleração do átomo i de massa m_i. e V_i é o potencial total do átomo i. Uma vez determinado o campo de força, as forças que agem em cada átomo podem ser calculadas tomando a primeira derivada da energia potencial resultante do campo de força selecionado em relação à posição desses átomos. A Equação 2.13 constitui claramente a aceleração da partícula. Daí em diante, integrando as equações do movimento, podemos conseguir as velocidades que integrando, nos fornece as variações de posição do átomo. A integração das equações de movimento é feita usando algoritmo baseado no método da diferença finita, no qual a integração é separada em curtos intervalos de tempo Δt, o que permite simular movimentos de maior frequência do sistema, que geralmente são vibrações das ligações.

O algoritmo de Verlet (OMELYAN; MRYGLOD; FOLK, 2002) reduz o grau de falhas nos cálculos da posição seguinte de um objeto, a partir da posição anterior, sem utilizar a velocidade, que utiliza localizações e acelerações de átomos no tempo t e as posições da etapa anterior, $r(t - \Delta t)$, para determinar as novas localizações no tempo $t + \Delta t$, conforme a Equação 2.14:

$$r(t + \Delta t) = 2r(t) - r(t - \Delta t) + a(t)\Delta t^2. \quad (2.14)$$

O algoritmo pode ser achado utilizando da expansão da série de Taylor, primeiramente para frente (Equação 2.15) e em seguida para trás (Equação 2.16). Adicionando as duas e isolar *r(t + Δt),* encontra-se a Equação 2.16.

$$r(t + \Delta t) = r(t) + v(t)\Delta t + \frac{1}{2}a(t)\Delta t^2 + \cdots, \quad (2.15)$$

$$r(t + \Delta t) = r(t) + v(t)\Delta t + \frac{1}{2}a(t)\Delta t^2 - \cdots. \quad (2.16)$$

Obviamente, antes de começar os cálculos de MDin, o conjunto deverá passar pelo processo de minimização para ser eliminados muitos contatos entre os átomos. A minimização de energia, é chamada de otimização de geometria, é uma metodologia que permite achar um conjunto de coordenadas que minimizem a energia potencial do conjunto total interessado.

O sistema minimizado tem uma pequena força por átomo e, serve como uma estrutura para iniciar as simulações MDin. Os algoritmos de minimização mais frequentemente utilizados são: o método de descida íngreme (MEZA, 2010), o método de gradiente conjugado (PAYNE, 1992) e o método de Newton-Raphson (AMARAL; SOUZA; CATALAN, 2015).

O método de descida usa a primeira derivada para ajustar a direção para o mínimo. A metodologia de gradiente conjugado usa conhecimentos de primeiras derivadas anteriores para determinar a direção da busca inicial. O método de Newton-Raphson utiliza tanto as primeiras derivadas quanto as segundas da função, usando não apenas os estudos do gradiente como a curvatura para prever onde a função mudará de direção ao longo do gradiente. Após a diminuição da energia do sistema, é gradualmente aquecido a uma temperatura interna T_0, as velocidades iniciais de todas as partículas são determinadas pela distribuição de Maxwell-Boltzmann.

Nas investigações MDin também é executável fazer cálculos do desvio médio quadrado (RMSD) (SARGSYAN *et al*, 2017; KNAPP, 2011). No processamento da trajetória de simulação, a oscilação do sistema ocorre durante o tempo decorrido de uma dinâmica específica. O RMSD é uma precaução de similaridade amplamente adotada no estudo de estruturas e dinâmicas macromoleculares. Meio de grande excelência, porque pequenas oscilações de RMSD relacionam à posição de equilíbrio do sistema, doravante

mudanças súbitas no meio provocam enormes modificações na conformação e instabilidade de interação molecular de uma dada molécula. A Equação 2.17 refere-se ao RMSD de um sistema.

$$RMSD = \left[\frac{1}{N}\sum_{i=1}^{N}[r_i(t) - r_i(0)^2]\right]^{\frac{1}{2}}. \quad (2.17)$$

De forma respectivas, e N é a numeração de átomos no domínio de importância (em geral Cα ou átomos da cadeia principal) onde são as coordenadas do i-ésimo átomo no passo de tempo j, suas posições médias e t é o tempo de simulações, expresso como o número total de passos de tempo coletados, r_i (t) e $r_i(0)$ referem-se as coordenadas do i-ésimo átomo no tempo *t* e 0.

2.3.5.MM/PBSA

A afinidade de ligações de interações proteína-ligante, proteína-proteína e a eficácia de ligações prováveis também pode medir outros processos de suma importância, como por exemplo: possíveis reações enzimáticas, transferência de elétrons, transporte de íons através das membranas e solvatação de pequenas moléculas, todos tem relação com a energia livre e utilizado o método de MM/PBSA podemos calculá-la. (ZAMPIERI *et al.*, 2007).

O método de ponto final MM/PBSA (MM significa mecânica molecular, PB é Poisson-Boltzmann e solvatação de área de superfície) (ZAMPIERI *et al.*, 2007). Neste modelo estima-se o $\Delta G_{\text{ligante}}$ usando a energia livre do produto e dos reagentes da reação na equação 2.18.

$$\Delta G_{\text{ligante}} = \langle G_{PL}\rangle - \langle G_P\rangle - \langle G_L\rangle . \quad (2.18)$$

Foi um método produzido por Kollman *et al.* no final 1990 (MASSOVA; KOLLMAN, 2000), e o modelo tem sido grandemente usado em programas no design de proteína (WANG *et al.*, 2019), análises de interações proteína-proteína (CHEN *et al*. 2016), possíveis análises de estabilidade de conformador (SANTO, 2019) e repontuação (HE *et al*, 2021). No MM/PBSA, calcula-se a energia livre de um estado utilizando P, L ou PL (ZAMPIERI *et al*., 2007):

$$G = E_{bnd} + E_{el} + E_{vdW} + E_{pol} + E_{np} - TS. \quad (2.19)$$

Os primeiros três termos advêm da energia MM padrão das interações ligadas (ângulo, diedro e ligação), van der Waals e eletrostáticas. Os termos G_{pol} e G_{np} configuram-se colaborações polares e apolares para as energias livres de solvatação. O termo G_{pol} é regularmente encontrado ao resolver a equação PB ou utilizando o modelo popularizado de Born (GB) (dando a abordagem MM/GBSA), os termos não polares são calculados seguindo relações lineares utilizando a área de superfície acessível ao solvente (SASA). A temperatura absoluta, *T* é o último termo na equação que é multiplicada pela entropia, *S,* que foi estimada por análises das frequências vibracionais. Gohlke e Case revelaram que a equação precisava de uma pequena correção pois a entalpia translacional e rotacional (3*RT*) precisava ser levada em conta nos cálculos e ser medida com um estado padrão de concentração de 1 M para ser comparável às estimativas experimentais (PAISSONI *et al*, 2015).

A rigor, as médias da equação 2.18 devem ser calculadas utilizando três simulações separadamente, assim sendo, as simulações dos complexos, dos ligantes livres e do receptor não ligado, conseguimos assim a nova equação 2.20 (WANG *et al,* 2019).

$$\Delta G_{\text{ligante}} = \langle G_{PL} \rangle_{PL} - \langle G_P \rangle_P - \langle G_L \rangle_L. \tag{2.20}$$

Mas é normal calcular a simulação do complexo e fazer a criação da média do conjunto do receptor livre e ligando retirando os átomos apropriados, obtendo assim:

$$\Delta G_{\text{ligante}} = \langle G_{PL} - G_P - G_L \rangle_{PL}. \tag{2.21}$$

Uma média MM/PBSA (1A-MM/PBSA). Necessitando de menos simulações, aumenta a precisão e leva ao cancelamento de E_{bnd} na equação 2.21, ignoradas possíveis mudanças na estrutura do receptor e ligante depois da ligação do ligante, podendo ser possíveis fatores de importância para a afinidade (WONG *et al*., 2009), os cálculos de MM/PBSA podem ser fundamentados em estruturas únicas minimizadas, contrário de um enorme número de instantâneos MDin.

De forma normal economiza o desempenho computacional, mas a desvantagem é que excluirá os possíveis efeitos dinâmicos, tornando assim o desempenho dependente da estrutura inicial, sobretudo os cálculos referentes da precisão estatística do método serão perdidos. Contudo as estruturas minimizadas de forma geral mostram resultados tão excelentes quanto as simulações MDin (KUMARI *et al*, 2014). O método de MM/PBSA

foi inicialmente estabelecido para o software AMBER (RASTELLI *et al*., 2010). E atualmente existe script automático para o software GROMACS (KUMARI *et al*, 2014).

CAPÍTULO III

O capítulo anterior apresentou alguns pontos que serão tratados neste estudo, para a utilização da MDoc e da MDin. Neste capítulo, serão tratados, de maneira mais particular, alguns dos aspectos que estão relacionados à metodologia utilizada na pesquisa, apresentando os recursos computacionais utilizados, bem como a teoria que subsidia os procedimentos.

3. METODOLOGIA

3.1.Receptor

Todo o processo de simulações foi realizado empregando como base o modelo de receptor + ligante, onde a estrutura da glicoproteína G (PDB ID:3D12) (NiV-G) foi selecionada do repositório de Banco de Dados de Proteínas (Protein Data Bank; PDB; http://www.rcsb.org/pdb/) que foi utilizado como receptor, enquanto a os ligantes foram as moléculas de quatorze QD. A estrutura do receptor foi otimizada usando o servidor CHARMM-GUI (JO *et al.,* 2008) para descobrir as condições que eram ideais e que satisfizessem os variados alvos predeterminados, a complexidade adicional surge para tarefas que envolvem experimentação ou cálculos computacionais. Usamos CHARM-GUI como uma função escalar de realização de propósito geral para otimização multi-alvo, onde as avaliações são o fator limitante e seu desempenho foi bem estabelecido usando diferentes algoritmos de otimização, neste sentido, usamos o campo de força AMBERFF14SB (MAIER *et al.,* 2015), para obter a estrutura com a melhor conformação.

3.2.Ligantes

Os QD foram selecionados baseados em sua estabilidade, foram desenhados utilizando o software GaussView 6.0 (DENNINGTON *et al.,* 2016) o conformador mais estável de cada ligante foi pesquisado ao empregar o método DFT (MATTA *et al.,* 2002; MOHAMMAD *et al.,* 2016; SÜLEYMANOĞLU *et al.,* 2021), e utilizado com o funcional B3LYP/LANL2DZ (d, p) através do software Gaussian 09. As estruturas otimizadas de todos os ligantes foram salvos no formato de arquivo pdb, foi também calculado o Mapa de potencial eletrostático (MEP) utilizando funções do GaussView 6.0.

3.3.Plataformas de Ancoragem Molecular

3.3.1.Software AutoDock Vina

Prever a ligação entre macromoléculas e pequenas moléculas é uma fase crucial no campo do design de potenciais ligantes. O AutoDock Vina (ADV), um dos softwares de docagem mais usados lançado em 2009 (GAILLARD, 2018; TROTT, OLSON, 2010), usa uma função de pontuação empírica para avaliar a afinidade de ligação entre moléculas e emprega o otimizador global de busca local iterada para otimização global, alcançando velocidade significativamente mais rápida. melhor e melhor precisão.

O software ADV utiliza o algoritmo genético, nesta etapa, os ligantes são considerados flexíveis, enquanto os receptores são tratados como uma estrutura rígida. Nessas interações, consideramos a mudança como sendo a mudança na energia de afinidade (kcal/mol). No entanto, para os quatorze ligantes investigados, 30 poses ao longo das macroestruturas foram geradas a partir do algoritmo de ancoragem ADV (TROTT, OLSON, 2010), onde a melhor pose para cada ligante (sistema de menor energia) foi selecionada como a conformação a ser analisada. ADV avaliou a energia de afinidade proteína-ligante usando uma função de pontuação baseada no campo de força Amber (ARAÚJO, 2021). No ADV foi feito um caixa de grade medindo 58Å x 68Å x 34Å, foram obtidas 20 poses para cada QD onde o maior valor de energia livre de afinidade em módulo foi escolhido.

3.3.2.CB Docking

O CB-Dock é uma ferramenta de encaixe de ligante de proteína que verifica automaticamente as regiões de ligação, calcula o centro e o tamanho, personaliza o tamanho da caixa de encaixe de acordo com os ligantes de consulta e, em seguida, executa o MDoc com o AutoDock Vina de larga escala (NOOIJ *et al.*, 2018; FARHAN, 2022) mostram que o acoplamento focado na cavidade pode aumentar a taxa de acerto e a precisão do acoplamento cego. Assim, o CB-Dock pode facilitar o procedimento de acoplamento e melhorar a precisão ao prever os locais de ligação das proteínas alvo usando nossa abordagem de detecção de cavidade baseada em curvatura (CurPocket) (LIU *et al.*, 1999; CAO *et al.*, 2014) e as poses de ligação usando o AutoDock Vina.

O CB-Dock é uma versão aprimorada da ferramenta de encaixe cego de ligante de proteína que herda o procedimento de detecção de cavidade baseado em curvatura e o procedimento de encaixe molecular baseado em AutoDock Vina no servidor CB-Dock.

O fluxo de trabalho completo do CB-Dock feito realizado onde acessamos o servido Cadd.labshare.cn, tomamos a glicoproteínas G como receptor e os 14 QD's como ligantes e realizamos uma busca com 50 cavidades após o desenvolvimento, sendo para a proteína e o ligante enviados pelo usuário, o CB-Dock irá recuperar do banco de dados de complexos proteína-ligante armazenados em um servidor com modelos de topologia de alta similaridade (FP2 ≥ 0,4) (LIU *et al.,* 1999) a primeira vez. Se estiver presente, será calculada a semelhança entre a proteína de consulta e as proteínas complexadas com os ligantes de modelo selecionados. O método de ajuste usado neste procedimento é o FitDock (YANG *et al.,* 2022), um método desenvolvido internamente que ajusta a conformação inicial ao modelo dado usando uma abordagem hierárquica de alinhamento multi-característica, então explora as possíveis conformações e, finalmente, gera poses de ajuste refinado.

3.3.3.SwissDOCK

A maioria dos programas de acoplamento são máquinas computacionais complexas e requerem parâmetros adicionais de amostragem ou pontuação adicionais específicos aos quais eles podem ser muito sensíveis. Uma vez definidos todos os parâmetros, os cálculos geralmente são iniciados a partir de uma interface de linha de comando que pode desencorajar não-especialistas, e pode exigir poder de computação além do de computadores pessoais comuns.

SwissDock é um servidor de rede de encaixe que aborda as limitações descritas acima. A estrutura da proteína alvo, assim como a do ligante, pode ser automaticamente preparada para acoplamento (GROSDIDIER *et al*., 2011). Além disso, a sintaxe pesada do motor de acoplamento está escondida atrás de uma interface de rede limpa que fornece conjuntos alternativos razoáveis de parâmetros, bem como arquivos de entrada de amostra. Todos os cálculos são realizados no lado do servidor, de modo que as corridas de acoplamento não requerem qualquer poder computacional do usuário. A interpretação dos resultados de acoplamento e sua integração em pipelines de pesquisa existentes é muito facilitada pela visualização perfeita de previsões de acoplamento no visualizador molecular UCSF Quimera (PETTERSEN *et al.*, 2004.), que pode ser lançado diretamente do navegador.

SwissDock é baseado no software de acoplamento EADock DSS (GROSDIDIER *et al*., 2011). Seu algoritmo consiste nos seguintes passos. Primeiro, muitos acoplamentos (tipicamente de 5000 a 15 000) são gerados, seja em uma caixa definida pelo usuário

(acoplamento local) ou nas proximidades das cavidades-alvo de toda a superfície proteica (acoplamento cego). Simultaneamente, suas energias CHARMM (GROSDIDIER *et al*., 2011) são estimadas em uma grade. Em seguida, as energias mais favoráveis são classificadas, levando em conta o efeito solvente utilizando o modelo de solvatação implícita FACTS (KUMARI *et al.,* 2021), e agrupadas. Finalmente, os aglomerados mais favoráveis são despejados no arquivo de resultado. Esta combinação única de recursos permite que ensaios de acoplamento precisos sejam realizados em poucos minutos.

Uma vez que os ensaios de acoplamento são realizados no campo de força de todo o hidrogênio CHARMM22/27 (ZOETE *et al,* 2011), proteínas-alvo e ligantes que foram carregados como arquivos formatados CHARMM podem ser usados como está. Por outro lado, proteínas e ligantes que foram submetidos no formato PDB ou Mol2. Acessamos o endereço http://www.swissdock.ch/docking , e na plataforma inserimos os 14 ligantes e o receptor, esta plataforma deu a possibilidade de realizar o procedimento de forma automática.

O servidor web SwissDock visa fornecer a uma ampla comunidade científica uma ferramenta de acoplamento livre e fácil de usar, mas de última geração. A configuração automática de estruturas de proteínas e ligantes, as diferentes predefinições de parâmetros e a conveniente visualização e análise das previsões de acoplamento o tornam acessível a um grande público. O motor EADock DSS por trás do SwissDock é especialmente adequado para o design de medicamentos, com taxas de sucesso muito boas para ligantes pequenos e relativamente rígidos com menos de 10 ligações rotativas flexíveis.

3.3.4. Dinâmica Molecular

3.3.4.1 Protocolo para simulações MDin

As Simulações MDin de QD ligadas a macromoléculas de superfície de proteínas foram realizadas utilizando um campo de força CHARMM36 (KLAUDA,2010) conforme foi colocado em execução pelo GROMACS versão 2022 (BAUER *et al.*, 2022) em uma solução aquosa explícita. Na caixa foi acrescentada moléculas de água que possui carga de ponto único (SPC) (BERENDSEN, 1981). Os íons cloreto e sódio também foram introduzidos nesse sistema. As posições aninhadas fornecidas pelo Autodock cujo obteve melhores valores de energia de afinidade segundo a Tabela 1. Posteriormente, as estruturas iniciais foram minimizadas em termos de energia utilizando o método de descida mais íngreme (MEZA, 2010).

As respostas destas minimizações foram capazes de produzir as estruturas iniciais para simulações de MDin. Cada sistema possuía uma média de aproximadamente de 12.200 átomos no total. Simulações MDin foram então realizadas com um número constante de partículas, pressão e temperatura, configuração NPT. O algoritmo SETTLE (MIYAMOTO, KOLLMAN, 1992) foi usado para reprimir o tamanho de ligação e o ângulo das moléculas de água. Interações eletrostáticas de longo alcance foram estimadas empregando o método Particle-Mesh-Ewald (PME) (ESSMANN *et al*, 1995).

Foi utilizada pressão constante de 1 bar, íons e moléculas de água foram reunidas separadamente a um banho a 303 K com aplicando uma constante de acoplamento de 0,1 Fs (BERENDSEN *et al*, 1984) a equação de movimento foi integrada a cada 2 etapas de tempo Fs (TUCKERMAN *et al*, 1991). Todos os estudos foram executados no intervalo de tempo de 100 Ns e ouve um balanceamento do sistema nos primeiros 10 Ns. Análises das trajetórias e estruturas simuladas foram realizadas com as ferramentas integradas do aplicativo GROMACS (VAN DER SPOEL, 2015). Aplicando o instrumento CPPTRAJ (ROE *et al*, 2013), foi concebível retirar as informações imprescindíveis para a criação de gráficos Raiz do Desvio Quadrado Médio (RMSD) (SARGSYAN *et al*, 2017, MAIOROV *et al*, 1994) e tabelas de energias livre em função do tempo. (GILDEMYN *et al*, 2017).

Através do módulo TRJCONV (BAILDYA *et al*, 2020), foram removidos os dados necessários para a elaboração dos gráficos dos valores de RMSD em função do tempo. Esses valores indicam os desvios das estruturas geradas durante a simulação em relação à estrutura inicial obtida por 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-proteína e proteína-ligante, e a eficiência da possível ligação também quantifica muitos outros processos importantes, como reações enzimáticas, transferência de elétrons (BRITIKOV, 2022), transporte de íons através das membranas (PARK *et al*, 2018) e solvatação de pequenas moléculas (HANKE *et al*, 2002).

Usamos os scripts do método MM/PBGBSA (GENHEDEN *et al*, 2015) para executar automaticamente todas as etapas necessárias para estimar a energia livre da ligação complexa usando esses métodos. No entanto, é geralmente aproximado que nenhuma mudança conformacional significativa ocorre após a conexão, então instantâneos das três espécies podem ser obtidos a partir de uma única trajetória (ALENCAR *et al*, 2022).

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1.Energia de afinidade da MDoc

No decorrer das simulações de MDoc, foram analisadas quais regiões das macroestruturas eram mais favoráveis ao estabelecimento de ligações não covalentes com os ligantes, com base nos cálculos realizados. A Tabela 1 mostra diferentes resultados de energia de afinidade em cada plataforma para cada interação investigada, as localizações mais favoráveis obtidas no processo de MDoc. analisou-se que todos os ligantes possuem uma maior afinidade com o sítio ativo dos receptores, indica que esta região tem uma maior afinidade química.

A MDoc esclareceu a relevância da flexibilidade da proteína na interação com o ligante e possibilitou a explorar as interações entre aquelas que foram selecionadas e apresentadas neste trabalho. Apenas as conformações proteína-ligante com as melhores pontuações nos resultados de docagem foram mostradas e examinadas. Na Tabela 1, os resultados do receptor com os ligantes, os valores de energia de afinidade alcançados, que são os resultados brutos originais da ferramenta de ajuste usada, representam os valores de energia de afinidade de ligação relativa.

Dentre as simulações com os QD's, o que apresentou o maior valor em módulo de escore de DOC, superando os demais resultados foi o QD-K, que obteve um valor de energia de afinidade de -13.9 kcal/mol para o AutoDock Vina, -12.4 kcal/mol para o CB Docking e -8.63 kcal/mol para o Swissdock. Esse resultado sugere que esses compostos possuem uma estrutura ancorada mais estável por conta da presença de hidroxilas em sua estrutura, possibilitando maiores interações intermoleculares dado que energia de afinidade diminui significativamente em estruturas que não apresentaram hidroxilas nas pontas.

Para avaliar os resultados de ajuste usando três métodos que são apresentados na Tabela 1 abaixo. Como convenção, use a pontuação de melhor ajuste, a energia de afinidade mais baixa em módulo. Por outro lado, usamos a comparação das energias de afinidade obtidas nas três plataformas para obter um resultado mais realista, na comparação dos resultados de energia de afinidade conseguimos demonstrar uma aproximação entre as plataformas mesmo utilizando algoritmos diferentes.

Uma vez que estados com energia mais baixa ocorrerão mais prováveis do que aqueles com energia mais alta em um conjunto. Sugerimos que tal apresentação seja mais racional no que confere ao uso da média padrão das pontuações de ligação ou à seleção da melhor pontuação de ligação. Para analisar os resultados de ajuste, é convencional usar a pontuação de ajuste mais baixa que pode produzir uma melhor ligação entre o ligante e a proteína.

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

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

4.2.Interações com melhores resultados de energia de afinidade

Classificamos as simulações com AutoDock Vina como o melhor resultado entre as três plataformas utilizadas pois apresentou a maior energia em modulo. Entre as conformações acopladas com a NiV-G, a conformação que estava próxima do ligante de

alta pontuação foi observada para interações ligante-proteína no Discovery Studio Visualizer 4.5 (VISUALIZER, 2017). Os ligantes ligam-se aos sítios ativos da macroestrutura, por meio de interações não covalentes fracas, sendo a mais proeminente as interações de ligação do tipo alquil, gerando ligações do tipo hidrofóbicas.

Em quase todas as simulações houve a formação de ligações de hidrogênio (não ouve no A, D e H), mas o QD-K, com sua alta quantidade de hidroxilas, superou os demais resultados, tanto em energia de afinidade quanto interações, por conta de sua estrutura podemos classificá-lo como altamente eletronegativo. A presença de ligações de hidrogênio torna-se relevante na organização de moléculas e acoplamentos de ligantes, como dobramento de proteínas e reconhecimento molecular. Uma descrição detalhada das ligações da figura 4k onde o QD-K apresenta 9 interações do tipo Π -alquil, 11 de hidrogênio, 3 Π -Ânion e 8 Π -Π -Empilhada as ligações do tipo Π -alquil e Π-Π-empilhada são hidrofóbicas e Π -Ânion são eletrostáticas, o que corrobora com a análise de acoplamento, analisou-se que existe afinidade de ligação, o que pode apresentar um grau de influência desse tipo de interação para a energia de afinidade no sítio ativo da NiV-G.

As interações com QD-A apresentaram o menor valor modular da energia de afinidade interação representando o menor QD que utilizamos, o QD-A não realizou interações de hidrogênio o que demonstra que sua interação é mais fraca, porém houve interações do tipo eletrostática o que pode indicar boa interação com o sítio ativo, portanto, podem ser utilizadas para um estudo comparativo. O QD-H por sua vez, obteve as mesmas interações que o QD-A exceto por fazer mais interações do tipo hidrofóbica, caracterizada com o seu momento dipolo devido sua estrutura, o que resulta em interação efetiva. Como esperado, entre outros inibidores, o que reafirma seu caráter de inibição eficiente demonstrando a possibilidade de interação e a influência dos grupos retiradores de elétrons, outros aspectos também foram analisados.

O QD-K, foi o QD que apresentou a maior parte das interações com hidrogênio com as hidroxilas da GLY:505, LYS:560 e ARG:236 o que implica em interações fortes, além de ter interações do tipo Alquil, e pi Alquil com os anéis aromáticos dos aminoácidos como o HSD127, e interações do tipo eletrostática demonstrando que a molécula por ter interação eletrostática.

As figuras 4g, 4f, 4n e 4j mostram que a ancoragem molecular com NiV-G, as interações foram restritas aos aminoácidos. A interação do QD-J mostrou um total de seis interações do tipo alquila, onde há a interação da nuvem eletrônica em um grupo

aromático e um grupo de elétrons de qualquer um dos grupos alquil, gerando ligações hidrofóbicas. A Figura 4f mostra as interações com o NiV-G que apresenta ligações convencionais de hidrogênio e entre carbono e hidrogênio, analisou-se que essa interação é valiosa 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 o estudo de acoplamento, examinou-se que há afinidade de vínculo, o que pode indicar um grau de influência desse tipo de interação para a energia de afinidade. A parte central desse ligante obtida, como as anteriores, interações intramoleculares, tais conexões apresentaram valores energéticos mais convenientes, em especial na simulação com a interação da do QD-G com a NiV-G que conseguiu interações do tipo Pi- Ânion. Esses grupos se adaptam melhor ao local ativo da proteína, proporcionado a interação com os aminoácidos presentes. No processo MDoc, as moléculas de água e ligantes co-cristalizados foram retirados.

Os ligantes QD-N e QD-J se ligaram aos locais ativos da macroestrutura através de algumas interações fracas não covalentes, sendo a mais proeminente as interações de ligação do tipo alquil, gerando ligações hidrofóbicas, porém poucas interações de hidrogênio. O composto formado de hidrogênio se liga apenas com a presença desse tipo de interação torna-se significativa na organização de moléculas e acoplamentos de ligantes, como dobramento de proteínas e reconhecimento molecular. Um esclarecimento detalhado das ligações π e hidrogênio concorda com o estudo de acoplamento, exibiu-se que há afinidade de vínculo, podendo mostrar um grau de influência desse tipo de interação para a energia de afinidade.

Determinar a energia de ligação e adequação dos inibidores ao local ativo da enzima e extrair seu local de ligação. Nossos dados (Tabela 1) mostram que as energias de ligação da aptidão dos inibidores, QD-K exibiu o melhor resultado de energia de afinidade, representando uma interação com potencial para se ligar ao local ativo da proteína, consequentemente, poderia ser usada para uma análise comparativa. O ligante tem características hidrofóbicas de ligantes, como um momento dipolo dos inibidores, resultando em interação efetiva.

A Figura 4c mostra que nas conformações que com o QD-C obteve no sítio catalítico foram restritas aos aminoácidos, apresentando interações do tipo Π - Alquil, Π -Ânion e interações Π -Sigma ocorreram, onde há a interação da nuvem eletrônica em um grupo aromático e um grupo de elétrons de qualquer um do grupo alquil, gerando ligações

hidrofóbicas. Apresentou interações de hidrogênio com bem como uma interação de carbono com QD-M, QD-E, QD-I e NiV-G que é covalentemente ligado, significando que o carbono compartilha seus elétrons de valência exterior, dentre todas as interações não houve interações metálicas indicando a falta de cargas presentes nos ligantes.

Na interação molecular não covalente entre a face de um sistema π rico em elétrons, as energias de ligação são relevantes, com os valores de fase da solução indo na mesma ordem de magnitude que as ligações. Como essas outras ligações não covalentes, as interações π exercem um papel importante na natureza, particularmente na estrutura proteica, reconhecimento molecular e catálise enzimática. Interações com NiV-G demonstram evidências de uma interação atrativa líquida entre uma região eletrolítica.

As interações com QD-B e QD-D, demonstraram poucas interações com a NiV-G, isso se dá pela sua estrutura e posição na simulação de MDoc, tais interações aconteceram no local catalítico da proteína. Para o resto das interações, sempre que fazemos proteína- ligante MDoc, o que analisamos é a conformação do ligante que ele está ligado à proteína receptora, e buscamos escolher essa energia de ligação entre eles operando várias equações de campo de força. Agora, sempre que o ligante interage com a proteína, no nível atômico, são os elétrons que estão implicados na formação de ligações covalentes ou não covalentes.

Esta Π-Ânion, Π-Alquil, e interações metálicas vêm sob uma enorme classe de interações não covalentes. Nas interações Π-Π-alquil, há a interação da nuvem eletrônica sobre um grupo aromático e um grupo de elétrons de qualquer grupo alquil.

Verificou-se que o modo de interação do NiV-G previsto pelas posições pode demostrar que ele tem uma alta capacidade de interação. O QD-K mostrou a maior quantidade de ligações de hidrogênio, as principais interações de ligação molecular, e a energia de afinidade calculada foi usada para qualificar a confiabilidade do complexo previsto, e o MDoc conseguiu identificar uma conformação favorável. Outro ponto considerável a ser analisado é que o local catalítico das estruturas externas foi respeitado, conservando o padrão de interação ali. Uma descrição minuciosa das ligações π e hidrogênio concordam com o estudo de acoplamento, estudou-se que há afinidade de vínculo, podendo mostrar um grau de influência desse tipo de interação para a energia de afinidade.

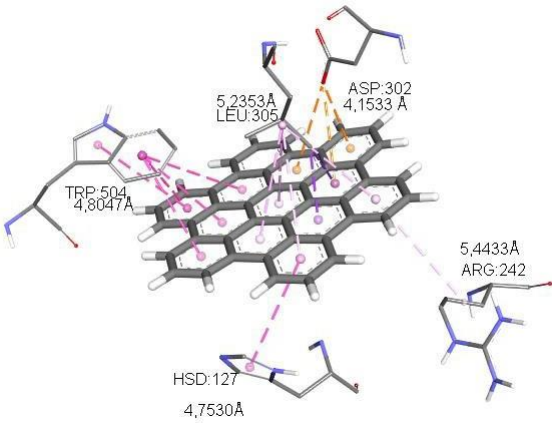
A formação de ligações de hidrogênio em quase todas as interações, foi vista em todos os ligantes, enquanto as forças de van der Waals são formadas com grupos alifáticos. Como as ligações são muito próximas e têm características atraentes e

hidrofóbicas, podem portanto, associar que tais interações com estruturas macromoleculares influenciaram para a construção de melhores associações, explorando as diferenças de eletronegatividade entre os átomos. As posições escolhidas pelos ligantes no local ativo admitem interações com os aminoácidos presentes.

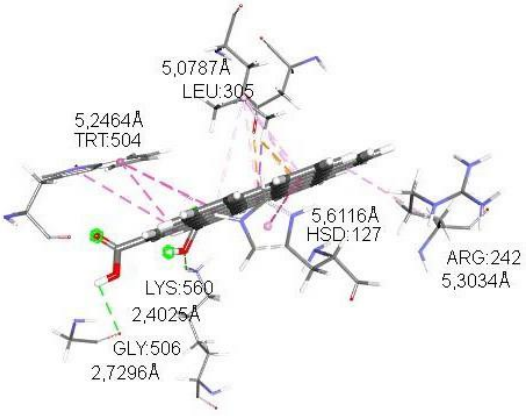
Cada posição escolhida pode levar a associações com diferentes aminoácidos locais. Quanto menor as energias de ligação, mais fortes são as interações que aconteceram entre as moléculas de ligante e os aminoácidos. Em todas as macroestruturas observaram-se interações π-alquil, podendo demonstrar a possibilidade de reação. Nesta averiguação, notamos que em todas as outras combinações entre receptor-ligante analisadas, foram conservadas interações hidrofóbicas do tipo π-alquil.

Isso demonstra que é possível a interação e tendências para um projeto terapêutico. Além do estudo sobre a influência de grupos de retirada de elétrons, outros aspectos também foram estudados. Devido ao papel crucial do NiV-G no processo de infecção do Niv, este componente estrutural pode representar um alvo de neutralização mediado por anticorpos ou pequenas moléculas, e a caracterização da estrutura possibilitou a obtenção de dados imprescindíveis de nível atômico para orientar o projeto e a elaboração de agentes inibidores.

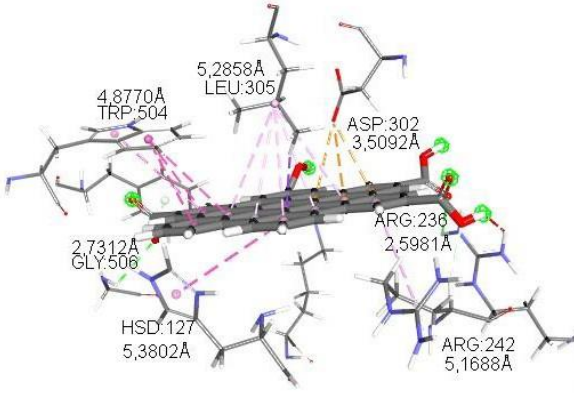
Figura 4: Resultado da melhor interação com: a) QD-A, b) QD-B, c) QD-C, d) QD-D, e) QD-E, f) QD-G, g) QD-G, h) QD-H, i) QD-I, j) QD-J, k) QD-K, l) QD-L, m) QD-M e n) QD-N.



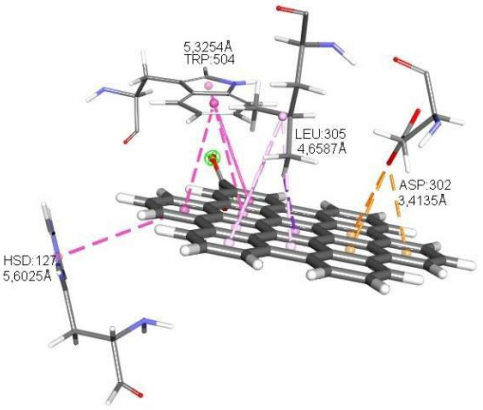
(a)



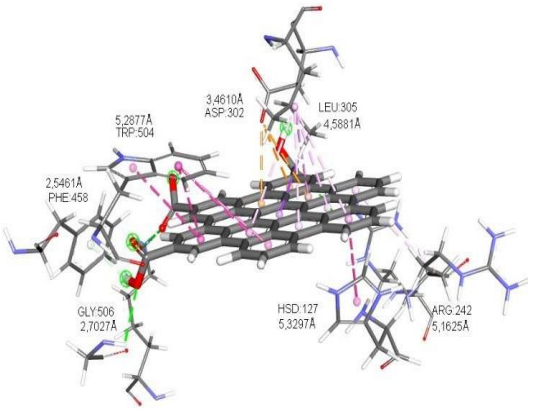
(b)



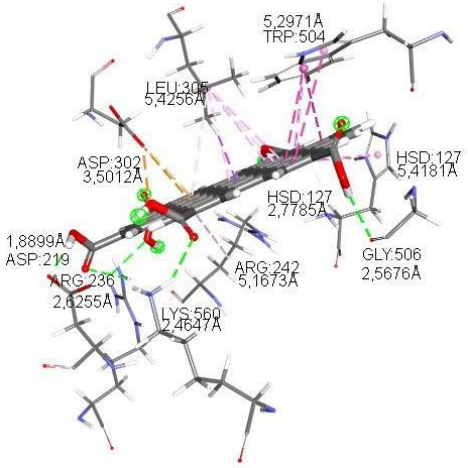
(c)



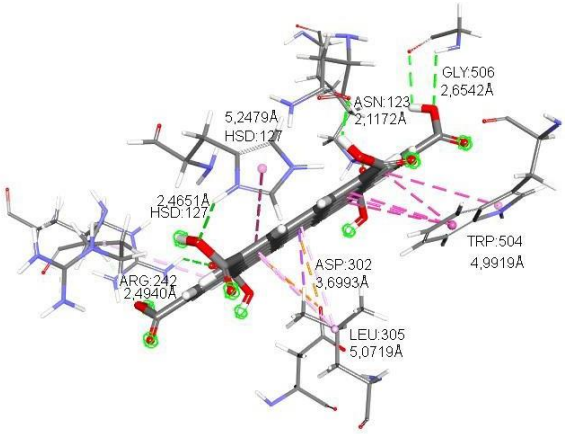
(d)


3,4610Å
ASP:302
LEU:305
4,5881Å
5,2877Å
TRP:504
2,5461Å
PHE:458
GLY:506
2,7027Å
HSD:127
5,3297Å
ARG:242
5,1625Å

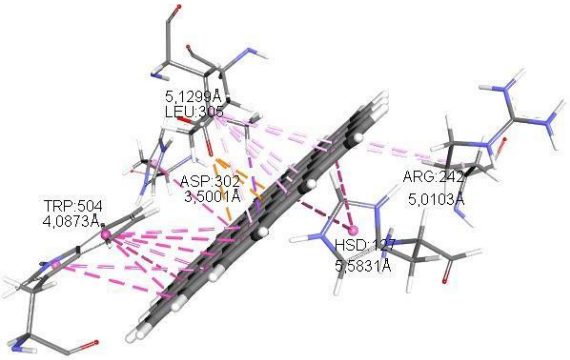
(e)


5,2971Å
TRP:504
LEU:305
5,4256Å
ASP:302
3,5012Å
HSD:127
5,4181Å
HSD:127
2,7785Å
1,8899Å
ASP:219
ARG:236
2,6255Å
ARG:242
5,1673Å
GLY:506
2,5676Å
LYS:560
2,4647Å

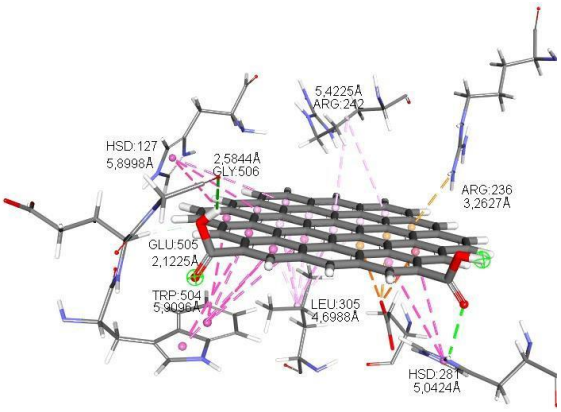
(f)


GLY:506
2,6542Å
ASN:123
2,1172Å
5,2479Å
HSD:127
2,4651Å
HSD:127
TRP:504
4,9919Å
ASP:302
3,6993Å
ARG:242
2,4940Å
LEU:305
5,0719Å

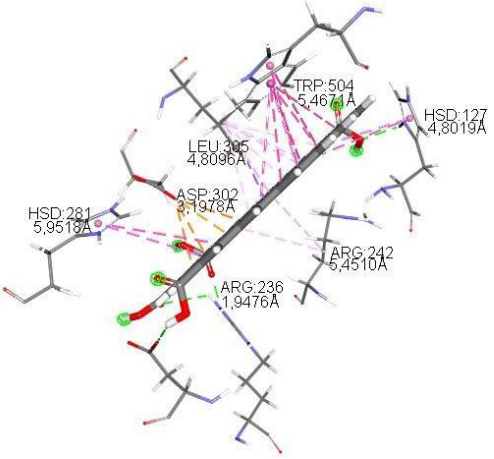
(g)


5,1299Å
LEU:305
ASP:302
3,5001Å
ARG:242
5,0103Å
TRP:504
4,0873Å
HSD:127
5,5831Å

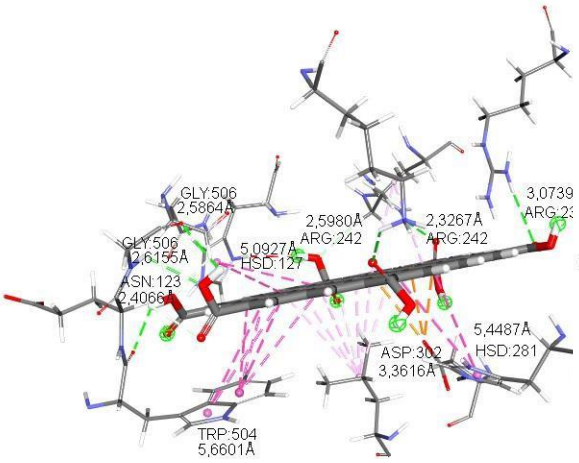
(h)


5,4225Å
ARG:242
HSD:127
5,8998Å
2,5844Å
GLY:506
ARG:236
3,2627Å
GLU:505
2,1225Å
TRP:504
5,9096Å
LEU:305
4,6988Å
HSD:281
5,0424Å

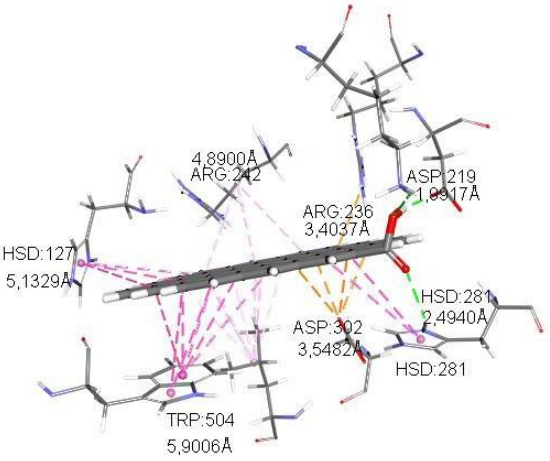
(i)


TRP:504
5,4674Å
HSD:127
4,8019Å
LEU:305
4,8096Å
ASP:302
3,1978Å
HSD:281
5,9513Å
ARG:242
5,4510Å
ARG:236
1,9476Å

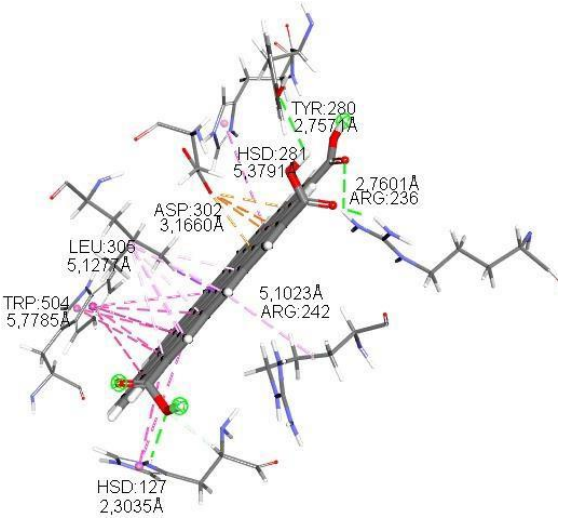
(j)



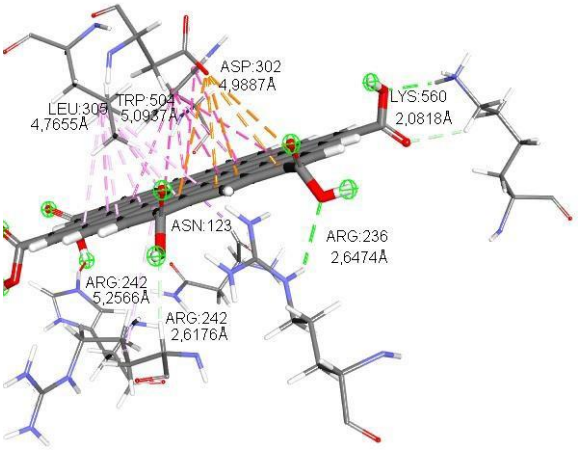
(k)



(l)



(m)



(n)

Fonte: Autor (2022).

4.3.Mapa de potencial eletrostático

O estudo de MDoc observou que a região conformacional acessado pelos QD's bastante desigual. A melhor posição de estudo de DOC molecular foi escolhida para produzir os mapas de potenciais eletrostáticos. Regiões capazes de alojar os inibidores estruturalmente e eletrostaticamente diversos, utilizando um grupo analítico de interações com cada ligante.

O MEP foi usado para analisar e fazer previsão do procedimento reativo das reações eletrofílicas e nucleofílicas. O MEP possui um papel importante no processo inicial da conformação bioativa informando a interação entre os receptor-ligante. Os diferentes resultados do potencial eletrostático na superfície são mostrados por cores diferentes; vermelho informa as regiões de potencial eletrostático que são mais negativas, azul representa locais de potencial eletrostático que são mais positivas e verde representa locais de potencial moderado. Aumentos potenciais na ordem vermelho, laranja, amarelo, verde e azul.

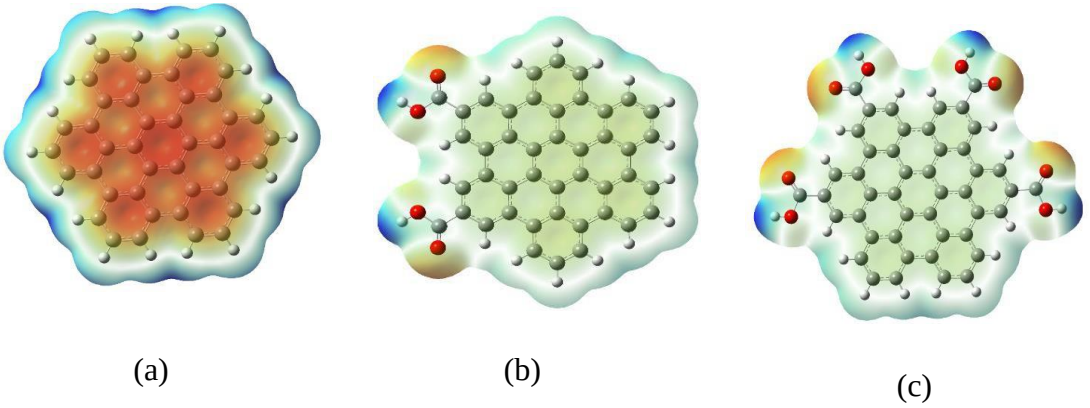
As cores vermelha, verde e azul informam o alto acúmulo de carga negativa, região neutra e região de carga positiva, respectivamente como visto na Figura 5. A região carregada negativa do QD-A e QD-H e os grupos circundantes desenvolve um papel importante na interação com as macroestruturas, a Figura 5a e 5h demonstra que há concentração de carga isolada no centro desse ligantes. Assim, o potencial eletrostático dos inibidores desenvolve um papel importante na interação e, como consequência, influencia o efeito de inibição. O MEP plotado para as estes QD mostrou o local de potencial mais eletronegativa (cor vermelha) sobre o átomo de oxigênio nas possíveis interações químicas presentes.

O MEP para moléculas polares como os QD que possuem mais hidroxilas em sua estrutura revela locais de poços que são mais ricos em elétrons em suas pontas e mais pobres em elétrons no seu meio. No entanto, os verdadeiros mapas de potencial eletrostático de moléculas polares geralmente fazem um excelente trabalho prevendo a possibilidade de interações carga-dipolo, dipolo-dipolo e quadrupolo-dipolo. A superfície eletrostática potencial é amplamente utilizada como um mapa de reatividade exibindo as regiões mais prováveis para o ataque eletrofílico de reagentes semelhantes a pontos carregados em moléculas orgânicas.

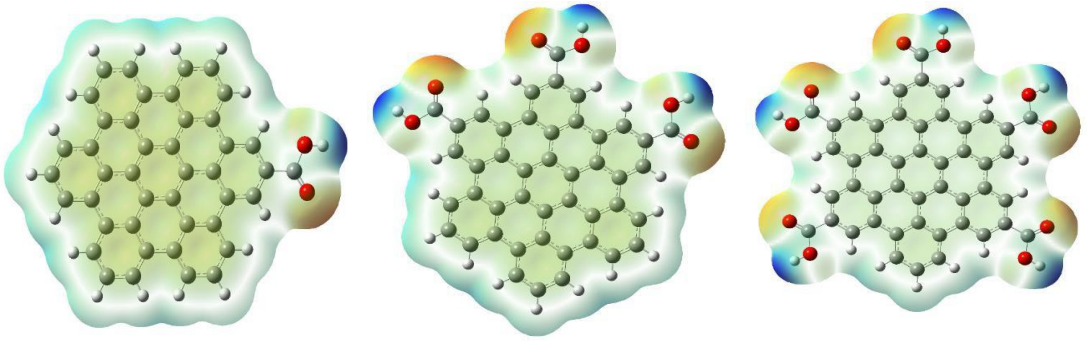
O MEP do composto do título é obtido com base no resultado otimizado com a base B3LYP/6-31G. Os QD's G e K, possuem quatro locais possíveis para ataque eletrolítico. As regiões negativas são parciais nas ligações duplas carbono-carbono dentro do anel e principalmente sobre a região entre H, C, O, e os metais; enquanto os QD's D, E, F, J, L e M apresentam variações de eletronegatividade em sua superfície. Como mencionamos anteriormente, o potencial eletrostático tem sido usado principalmente para

prever locais e reatividades relativas para o ataque eletrolítico, e em estudos de reconhecimento biológico e interações de ligações de hidrogênio.

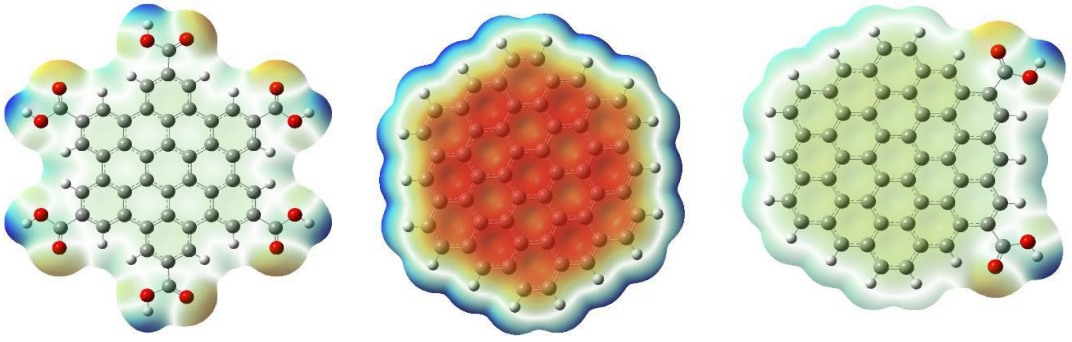
Figura 5: Resultado do MEP: a) QD-A, b) QD-B, c) QD-C, d) QD-D, e) QD-E, f) QD-G, g) QD-G, h)
QD-H, i) QD-I, j) QD-J, k) QD-K, l) QD-L, m) QD-M e n) QD-N.



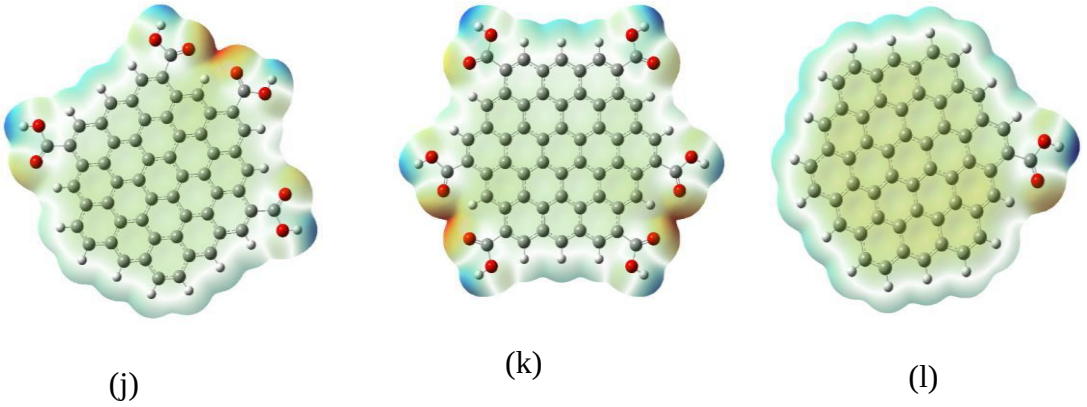
(a) (b) (c)



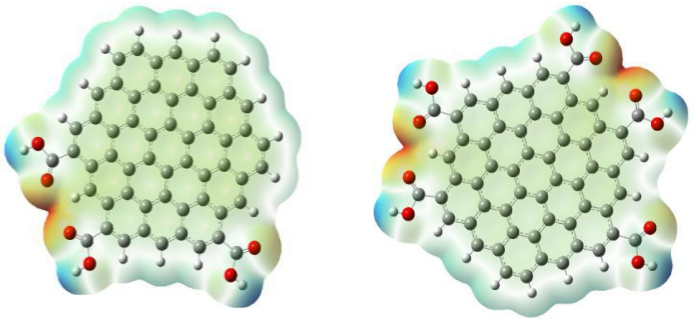
(d) (e) (f)



(g) (h) (i)



(j) (k) (l)



(m) (n)

Fonte: Autor (2022).

4.4.Análise De Dinâmica Molecular

4.4.1.RMSD

Os resultados de RMSD fornecem dados sobre o equilíbrio do conjunto, quer dizer, o instante em que o conjunto converge para sua conformação média mais estável. No começo da MDin, os resultados podem a aumentar de maneira acentuada enquanto as estruturas tentam se equilibrar até conseguirem atingir um platô sugerindo que o conjunto da estrutura atingiu o equilíbrio. Como os resultados de RMSD são dados em função do tempo, esse estudo permite analisar o intervalo de tempo que as estruturas levam para se estabilizar.

Aqui, a diferença foi medida entre os átomos da estrutura principal inicial (o modelo retirado da etapa de MDoc) e cada estrutura obtida durante os quadros subsequentes da trajetória de simulação. Para validar e confirmar a estabilidade dos complexos de proteína-ligante sugeridos, realizamos simulação MDin em 100 Ns para os quatorze QD’s com cada estrutura de G do Niv.

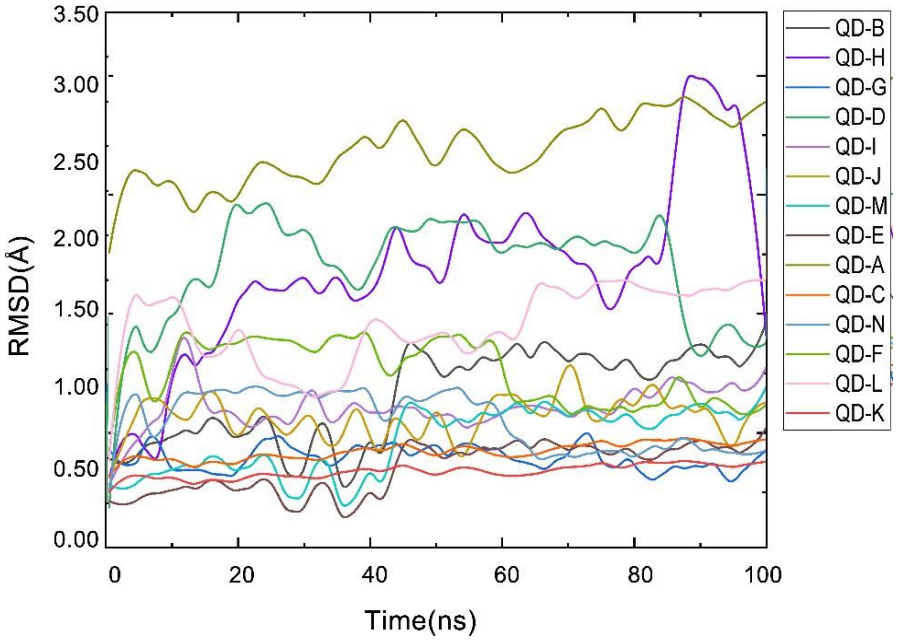
O RMSD para os QD’s foi calculado (Figura 6). O valor de RMSD pode informar e prever a estabilidade do complexo ligante de corridas de MDin. Um resultado de RMSD menos elevado informa maior estabilidade do complexo proteico. Calculamos o RMSD dos complexos referentes ao átomo de Cα em relação ao tempo de simulação MDin. No geral, o RMSD médio para todos os complexos foi baixo, variando de 0.5 a 3.45 Å. Assim, os cálculos das análises RMSD da trajetória de estruturas em complexo foram comparados baseados na diferença de suas estruturas.

Observou-se para os QD-I, QD-B, QD-D e QD-M os valores de RMSD oscilaram bastante durante a trajetória, principalmente para o QD-B, isso pode ser observado por conta de uma de suas extremidades conter hidroxilas que ao momento que elas se opõem a glicoproteína há uma interação e ela acaba se aproximando como o que ocorreu nos tempos de 80 a 100 Ns.

A simulação com as estruturas QD-A, QD-E, QD-L, QD-G e QD-F obtiveram maior instabilidade durante o início da simulação em torno de 70 Ns mantiveram a estabilidade durante o decorrer da simulação parte do tempo de simulação valores de RMSD mais estáveis em comparação com o primeiro grupo citado. E por fim os QD-C, QD-H, QD-J, QD-K, QD-N foram os que se mantiveram mais estáveis, com exposição do QD-K, que quase não modificou sua trajetória.

O RMSD não variou tanto em comparação com o segundo e terceiro grupo, Pela Figura 6, pode-se observar que as moléculas que contém mais hidroxilas são as que possuem comportamento de estabilidade mais presente, isso nos mostra que as interações intermoleculares compõem a atividade dos QD’s em relação a interação. Este resultado está de acordo com as soluções previstas nas simulações de docagem, discutidos anteriormente, pois após a presença de hidroxilas e a diferença na estrutura dos QD passa apresentar interações mais fortes com o Niv.

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



Fonte: Autor (2022).

Contudo, um estudo mais detalhado da flexibilidade do esqueleto proteico possível a partir da maior amplitude de movimento que ocorreu devido a uma diminuição da flexibilidade na região do sítio ativo de ligação da Niv, que revelou a influência das interações glicoproteicas nos ligantes. Os resultados abaixo também implicam que o campo de força OPLS-AA e o campo de força CHARMM36 (sob o modelo de água tip3p) descrevem com precisão a estrutura dos complexos Ligante + Receptor.

4.4.2. Análise energia livre

O comportamento dinâmico dos compostos selecionados é analisado para perfis de baixa energia usando o script G_MM/PBSA, que usa o método MM/PBSA, que é usado para pós-processamento de estruturas acopladas junto com a confiabilidade da ligação do composto dentro do sítio de ligação da glicoproteína. A simulação de 100 Ns dos complexos proteína-ligante juntamente com a energia livre de ligação de MM-PBSA sugere que as principais moléculas se encaixam perfeitamente no sítio de ligação e são estruturalmente estáveis com baixo perfil de energia.

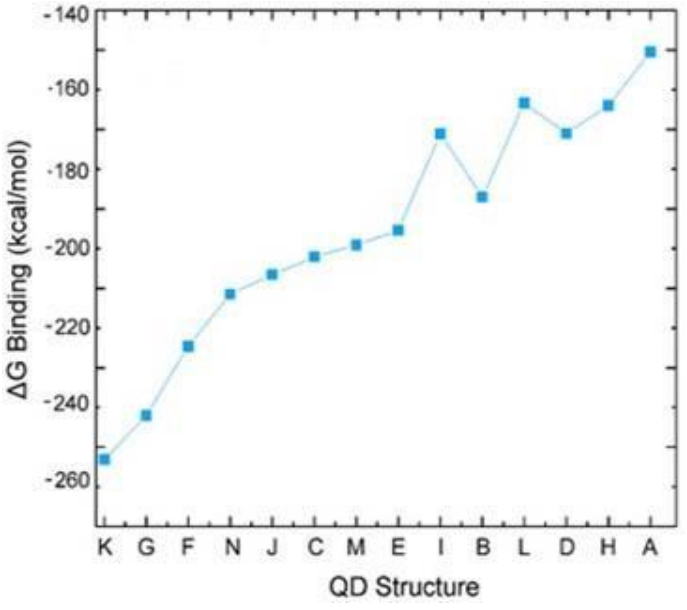
O método MM-GBSA foi calculado pela energia livre (ΔGBinding) dos QD com a estrutura viral, e isso foi feito usando a energia de área superficial, energia de solvatação e minimização de energia dos complexos ligante e receptor. A análise de energia

eletrostática da interação dos QD aumentou significativamente à medida estruturas ligantes menores e com a presença de um grupo funcional constituído pela ligação covalente entre átomos de oxigênio e de hidrogênio. Essa força intermolecular produzida ocorre entre moléculas polares que apresentam átomo de hidrogênio ligado diretamente a um átomo de oxigênio o qual interage com a estrutura da glicoproteína.

A falta de mudanças nas afinidades de ligação indica que a amostragem de paisagem de energia livre usando MM/PBSA é amplamente afetada pelos movimentos de domínio observados, em todos os casos os valores presentes nos termos eletrostáticos se compensam, resultando em mudanças mínimas na estrutura. A atração eletrostática é considerada uma característica comum a todos os sistemas iônicos, usando ambas as estratégias de simulação.

Os resultados da análise de energia dos complexos fornecidos na figura 7 demonstram que o ΔGBinding foi para o QD: A de 156.84 kcal/mol, H de 167.95 kcal/mol, D de 185.36 kcal/mol, L de 198.52 kcal/mol, B de 203.4 kcal/mol, I de 207.9 kcal/mol, E de 210.9 kcal/mol, M de 214.6 kcal/mol, C de 238.9 kcal/mol, J de 223.08 kcal/mol, N de 246.65 kcal/mol, F de 239.00 kcal/mol, G de 246.65 kcal/mol e K de 259.52 kcal/mol. Além disso, como as interações aumentam gradativamente com a adição hidroxilas reforçando a influência da polaridade na interação, de forma que o complexo Proteína + QD-K foi o que mais interagiu, observa-se que esses resultados têm uma excelente correlação com os dados de RMSD e de docagem das simulações.

Figura 7: Resultados das diferentes energias para os QDs.



Fonte: Autor (2022).

4.4.3 Sítios Ativos

Quanto aos sítios de ligações a região ASP:302 da proteína do NiV-G ligou-se a todos os QD's com ligações de categoria eletrostática e tipo Π-ânion, o sítio LEU:305 conseguiu ligações hidrofóbicas do tipo Π-sigma nos QD-B, QD-C, QD-D, QD-E, QD-F, QD-G e QD-H já nos QD-I, QD-J, QD-K, QD-L, QD-M e QD-N foram hidrofóbicas tipo Π-alquil e o QD-A obteve tanto ligações do tipo Π-ânion como também Π-alquil; TRP:504 obteve ligações hidrofóbicas em todos os QD'S com ligações Π -Π -Empilhada com variação no número de ligações na estrutura variando de 4-5 com detalhe para os QD-H, QD-J, QD-M e QD-N que tiveram 8 ligações e o QD-K que teve 1 ligação de hidrogênio; ARG:242 teve ligações hidrofóbicas tipo Π-alquil em todos os QD's excluindo QD-D que não apresentou ligação, nos QD-C, QD-G, QD-K obtiveram também ligações de hidrogênio em especial o QD-K que teve 2 ligações.

HSD:127 realizou ligações hidrofóbicas Π-Π-Empilhada em todos os QD'S, com os QD-K, QD-G, QD-J e QD-M conseguiram realizar ligação de hidrogênio; LYS:560 e GLY:506 fizeram ligações de hidrogênio com os QD-B, QD-C, QD-E, QD-F, QD-G e QD-K, LYS:560 apresentou ligação de hidrogênio também com os QD-L e QD-N, com os demais não apresentaram ligação; PHE:458 fez ligação somente nos QD-C e QD-E do tipo ligação de hidrogênio; ARG:236 obteve ligações de hidrogênio nos QD-E, QD-F, QD-G QD-J, QD-M e QD-N, nos QD-I e QD-L as ligações foram eletrostáticas, para os demais não apresentam ligações neste sítio; ASP:219 realizou ligação de hidrogênio com QD-F QD-J e QD-K, para os demais não apresentou ligações; ASN:123 ligação de hidrogênio nos QD-G e QD-K e no QD-N ligação hidrofóbica; HSD:281 realizou ligações hidrofóbicas nos QD-H, QD-I, QD-J, QD-K, QD-L e QD-M; GLU:505 realizou ligação de hidrogênio no QD-I e QD-K, não apresentado ligações nos demais QD's; d: TYR:280 apresentou ligação de hidrogênio somente no QD-M.

O QD que fez mais ligações com sítios ativos é o QD-K com 11, seguido de QD-C, QD-E, QD-F, QD-G, QD-I, QD-J, e QD-L com 9 sítios, QD-B e QD-N interagiram com 7 sítios, QD-A e QD-H com 5 sítios seguido do QD-D com 4 sítios.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSÃO

Neste trabalho sobre as interações de estruturas de Quantum Dot com a estrutura externa de vírus Nipah utilizando *docking* e dinâmica molecular, foram analisados fatos relevantes, como, por exemplo, as ligações relativamente próximas e a verificação de atributos atrativos, permitindo fazer uma relação de interações com estruturas macromoleculares, analisando as desigualdades de eletronegatividade entre os átomos.

As posições expostas pelos ligantes no sítio ativo admitem interações com os aminoácidos presentes. Toda posição fornecida pode encaminhar a associações com diferentes aminoácidos da região da proteína do vírus. Quanto melhores as energias de ligação, mais fortes são as interações que acontecem entre as moléculas do ligante e aminoácidos presentes. Entre as posições encontradas, as melhores energias de ligação possivelmente serão igualmente as posições reveladas no ambiente biológico.

Este estudo relata inibidores potenciais para a principal estrutura do Niv, usando de uma abordagem computacional integrada para reposicionamento de agentes inibidores. Após nossos testes de MDoc, uma posição divergente de ligantes foi gerada, e a posição com a pontuação de MDoc ideal e interações com QD's com distribuição de carga maior em suas superfícies de ligação foi considerada a melhor posição para sequência posterior e análise manual.

Os compostos para as estruturas superficiais foram visualizados em termos de interações nos bolsos de reconhecimento de substrato da proteína, e a estabilidade dinâmica dos contatos receptor-ligante foi avaliada por meio de cálculos computacionais de cada tipo de QD. Da análise exposta anteriormente, em termos gerais, pode-se concluir que os QD's têm um comportamento principalmente lipofílico, mas, por sua vez, certamente possuem características hidrofóbicas dada as suas interações no processo de MDoc. A estrutura do QD-K que teve maior interação com a NiV-G se justificasse pela capacidade de acoplamento dado que é uma estrutura com carga parcial nas pontas e se torna capaz de interagir com maior facilidade.

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

Conclui-se de a análise de encaixe que os novos ligantes têm alta afinidade para o

Niv. A estabilidade do complexo é verificada submetendo o complexo, com as pontuações de energia de afinidade, as quais se deram também por conta da estabilidade da interação é confirmada por parâmetros como RMSD, liga-se aos principais resíduos catalíticos nomeadamente.

Os resultados do estudo de simulação MDin são complementares a pesquisa de docagem. O estudo de simulação MDin é ainda validado pelo cálculo da energia livre de ligação por MM/PBSA; o complexo tem alta energia negativa. O benzeno presente nos QDs faz com que as características deles fiquem apolares, tendo uma maior facilidade para se misturarem do que a água que é polar e interagi com a macromolécula, por conta das forças intermoleculares de dipolo induzido existentes entre as moléculas apolares.

Conforme mostrado por meio dessa abordagem integrada, a previsão computacional para a inibição das principais estruturas externas do Niv henipavirus resultou em algumas pistas promissoras para validação experimental adicional. Além disso, a simulação MDin foi usada para entender as mudanças conformacionais nos complexos de proteína de ligação analisando o RMSD. Na análise de MM/GBSA, estudos de MDoc foram validados e foi demonstrado que os ligantes têm características de interação capazes de adsorver proteínas.

Verificou-se que os resultados de RMSD para o QD-I, QD-B, QD-D e QD-M variam significativamente ao longo da trajetória, principalmente para o QD-B. Isso pode ser explicado pelo fato de uma de suas extremidades conter hidroxilas, que interagem com a glicoproteína quando colocadas em oposição e fazem com que a partícula se aproxime, como ocorria em alguns momentos entre 80 e 100 Ns. A simulação contendo as estruturas QD-A, QD-E, QD-L, QD-G e QD-F obteve mais instabilidade no começo das simulações, em torno de 70 Ns, mas manteve a estabilidade ao longo da simulação, com RMSD mais estáveis valores do que o grupo descrito anteriormente.

Apresentamos uma abordagem que combina simulações de MDoc e MEP e MDin, com simulações de energia livre para obter resultados extremamente confiáveis e eficientes, uma vantagem sobre os estudos experimentais é a possibilidade de decompor energias livres gerais em contribuições de interações microscópicas. Esta análise de componentes é apresentada aqui para energias de afinidade. Vários princípios gerais para ligantes de ligação são ilustrados. Quando há uma interação na proteína ela induz alterações estruturais no sítio de ligação.

REFERÊNCIAS

ABDELSALAM, H.; ELHAES, H.; IBRAHIM, M.A. **Tuning electronic properties in graphene quantum dots by chemical functionalization: Density functional theory calculations.** Chemical Physics Letters, v. 695, p. 138-148, 2018.

ALENCAR, W.L.M; AROUCHE, T.S.; NETO, A.F.G; RAMALHO, T.C; CARVALHO JÚNIOR, R.N; NETO, AM.J.C**. Interactions of Co, Cu, and non-metal phthalocyanines with external structures of SARS-CoV-2 using docking and molecular dynamics**. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 1-20, 2022.

AMARAL, C.; SOUZA, M.; CATALAN, T. **Um estudo do método de newton-raphson.** Revista eletrônica matemática e estatística em foco, p. 42, 2015.

ANAYA-PLAZA, E.; ALJARILLA, A.; BEAUNE, G.; TIMONEN, J. V.; DE LA ESCOSURA, A.; TORRES, T., & KOSTIAINEN, M. A**. Phthalocyanine–Virus Nanofibers as Heterogeneous Catalysts for Continuous-Flow Photo-Oxidation Processes**. Advanced Materials, v.31, ed. 39, 2019.

ANG, B.S.P.; LIM, T.C.C.; WANG, L. **Nipah Virus Infection**. American Society for Microbiology Journal of Clinical Microbiology, v. 56, n. 6, p. 1-10, 2018.

ARAÚJO, H.D.C. *et al*. **Interações de carvão ativado, fármacos e libidibia ferrea contra o vírus SARS-COV-2**. 2021.

AONO, T.; GOLUB, A.; AVISHAI, Y. **Quantum dot in the Kondo regime coupled to p-wave superconductors**. Physical Review B, v. 68, n. 4, pág. 045312, 2003.

BAILDYA, N; GHOSH, N.N.; CHATTOPADHYAY, A.P. **Inhibitory activity of hydroxychloroquine on COVID-19 main protease: an insight from MD-simulation studies**. Journal of Molecular Structure, v. 1219, p. 128595, 2020.

BAUER P.; HESS B.; LINDAHL E. **GROMACS 2022.4 Manual (2022.4).** Zenodo. 2022.

BAYOUMY, A.M.; IBRAHIM, M.; OMAR, A. **Mapping molecular electrostatic potential (MESP) for fulleropyrrolidine and its derivatives**. Optical and Quantum Electronics, v. 52, n. 7, p. 1-13, 2020.

BERNARDI, R.C.; MELO, M.C.R.; SCHULTEN, K. **Enhanced sampling techniques in molecular dynamics simulations of biological systems**. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, v. 1850, n. 5, p. 872-877, 2015.

BERENDSEN, H. J. C. *et al*. **Intermolecular Forces, ed. B. Pullman**. Dordrecht, Reidel, p. 331, 1981.

BERENDSEN, H. J.; POSTMA, J. V.; VAN GUNSTEREN, W. F.; DINOLA, A. R. H. J.; HAAK, J. R. **Molecular dynamics with coupling to an external bath**. The Journal of chemical physics, v. 81, n. 8, p. 3684-3690, 1984.

BOSSART, K.N. *et al*. **Receptor binding, fusion inhibition, and induction of cross-reactive neutralizing antibodies by a soluble G glycoprotein of Hendra virus**. Journal of virology, v. 79, n. 11, p. 6690-6702, 2005.

BRITIKOV, V.V. *et al*. **Unusual Cytochrome c 552 from Thioalkalivibrio paradoxus: Solution NMR Structure and Interaction with Thiocyanate Dehydrogenase**. International Journal of Molecular Sciences, v. 23, n. 17, p. 9969, 2022.

CAMPUZANO, S.; YÁÑEZ-SEDEÑO, P.; PINGARRÓN, J.M. **Carbon dots and graphene quantum dots in electrochemical biosensing**. Nanomaterials, v. 9, n. 4, p. 634, 2019.

CAO, Y.; LI, L. **CB-Dock: a web server for cavity detection-guided protein–ligand blind docking**. Bioinformatics, Inglaterra, v. 30, n. 12, p. 1674-1680, 2014.
Centers for Disease Control and Prevention (CDC). **Update: outbreak of Nipah virus-Malaysia and Singapore,** 1999. National Library of Medice National Center for Biotecchnology Information, 1999.

CHEN, F. *et al.* **Assessing the performance of the MM/PBSA and MM/GBSA methods. 6. Capability to predict protein–protein binding free energies and re-rank binding poses generated by protein–protein docking**. Physical Chemistry Chemical Physics, v. 18, n. 32, p. 22129-22139, 2016.

CHEW, M.H.L.; ARGUIN, P.M.; SHAY, D.K.; GOH, K.T.; ROLLIN, P.E.; SHIEH, W.J.; ZAKI, S.R.; ROTA, P.A.; LING, A.E.; KSIAZEK, T.G.; ANDERSON, L.J. **Risk Factors for Nipah Virus Infection among Abattoir Workers in Singapore**. The Journal of Infectious Diseases, v. 181, n. 6, p. 1760–1763, 2000.

CHILDERS, M.C.; DAGGETT, V. **Insights from molecular dynamics simulations for computational protein design**. Molecular systems design & engineering, v. 2, n. 1, p. 9-33, 2017.

CHUA, K.B. **Nipah virus outbreak in Malaysia**. Journal of Clinical Virology, v. 26, n. 3, p. 265-275, 2003.

CRAIG, I.R.; MANOLOPOULOS, D.E. **Quantum statistics and classical mechanics: Real time correlation functions from ring polymer molecular dynamics**. The Journal of chemical physics, v. 121, n. 8, p. 3368-3373, 2004.

DARAPANENI, V.; JALDANI, A. **In silico binding site detection of ivermectin with influenza A virus NS1 protein.** DYSONA-Life Science, v. 3, n. 1, p. 36-40, 2022.

DENNINGTON, R. D. I. I.; KEITH, Todd A.; MILLAM, John M. **GaussView, version 6.0. 16.** Semichem Inc Shawnee Mission KS, 2016.
ELBER, R. **Novel methods for molecular dynamics simulations**. Current Opinion in Structural Biology, v. 6, n. 2, p. 232-235, 1996.

ESSMANN, U.; PERERA, L.; BERKOWITZ, M. L.; DARDEN, T.; LEE, H.; PEDERSEN, L. G. **A smooth particle mesh Ewald method**. The Journal of chemical physics, v. 103, n. 19, p. 8577-8593, 1995.

FARHAN, M.M. *et al*. **Synthesizes, characterization, molecular docking and in vitro bioactivity study of new compounds containing triple beta lactam rings**. Journal of Molecular Structure, v. 1269, p. 133781, 2022.

FRENKEL, D. *et al*. **Understanding molecular simulation**. Computers in Physics, v. 11, n. 4, p. 351-354, 1997.

GAILLARD, T. **Risk Factors for Nipah Virus Infection among Abattoir Workers in Singapore**. Journal of Chemical Information and Modeling, v. 181, n. 6, p. 1-10, 2018.

GENHEDEN, S.; RYDE, U. **The MM/PBSA and MM/GBSA methods to estimate ligand-binding affinities**. Expert opinion on drug discovery, v. 10, n. 5, p. 449-461, 2015.

GILDEMYN, S.; ROZENDAL, R.A.; RABAEY, K. **A Gibbs free energy-based assessment of microbial electrocatalysis**. Trends in biotechnology, v. 35, n. 5, p. 393-406, 2017.

GOODSELL, D.S.; OLSON, A.J. **Automated docking of substrates to proteins by simulated annealing**. Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics, v.*8*, ed.3, p.195-202. 1990.

GROSDIDIER, A.; ZOETE, V.; MICHIELIN, O. **Fast docking using the CHARMM force field with EADock DSS.** Journal of computational chemistry, v. 32, n. 10, p. 2149-2159, 2011.

GROSDIDIER, A.; ZOETE, V.; MICHIELIN, O. **SwissDock, a protein-small molecule docking web service based on EADock DSS**. Nucleic acids research, v.39, n. suppl_2, W270-W277, 2011.

GURUNG, A.B. *et al.* **An updated review of computer-aided drug design and its application to COVID-19**. BioMed research international, v. 2021, 2021.

GÜNER, O.F. (Ed.). **Pharmacophore perception, development, and use in drug design.** Internat'l University Line, 2000.

HANKE, C. G.; ATAMAS, N. A.; LYNDEN-BELL, R. M. **Solvation of small molecules in imidazolium ionic liquids: a simulation study. Green Chemistry**, v. 4, n. 2, p. 107-111, 2002.

HANSSON, T.; OOSTENBRINK, C.; VAN GUNSTEREN, W. **Molecular dynamics simulations**. Current opinion in structural biology, v. 12, n. 2, p. 190-196, 2002.

HASHEM, Y.; AUFFINGER, P. **A short guide for molecular dynamics simulations of RNA systems**. Methods, v. 47, n. 3, p. 187-197, 2009.

HUEY, R.; MORRIS, G.M.; FORLI, S. **Using AutoDock 4 and AutoDock vina with AutoDockTools: a tutorial**. The Scripps Research Institute Molecular Graphics Laboratory, Califórnia, p. 1-32, 2012.

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

JO, S.; KIM, T., IYER, V. G.; IM, W. **CHARMM-GUI: a web-based graphical user interface for CHARMM**. Journal of computational chemistry, v. *29, n.*11, 1859-1865, 2008.

KARPLUS, M.; MCCAMMON, J.A. **Molecular dynamics simulations of biomolecules**. Nature structural biology, v. 9, n. 9, p. 646-652, 2002.

KELARAKIS, A. **Graphene quantum dots: In the crossroad of graphene, quantum dots and carbogenic nanoparticles**. Current Opinion in Colloid & Interface Science, v. 20, n. 5-6, p. 354-361, 2015.

KLAUDA, J.B. *et al.* **Update of the CHARMM all-atom additive force field for lipids: validation on six lipid types**. The journal of physical chemistry B, v. 114, n. 23, p. 7830-7843, 2010.

KNAPP, B. *et al.* **Is an intuitive convergence definition of molecular dynamics simulations solely based on the root mean square deviation possible?.** Journal of Computational Biology, v. 18, n. 8, p. 997-1005, 2011.

KUMARI, A.; KUMAR, P.; KUMAR, M.; & KUMAR, J. **In silico analysis of Forskolin as a potential inhibitor of SARS-CoV-2. J** Pure Appl Microbiol, v. 15, n. 2, p. 709-715, 2021.
KUMARI, R. *et al*. **g_mmpbsa—A GROMACS Tool for High-Throughput MM-PBSA calculations**. Journal of chemical information and modeling, v. 54, n. 7, p. 1951-1962, 2014.

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

LEIMKUHLER, B.; MATTHEWS, C. **Molecular dynamics**. Interdisciplinary applied mathematics, v. 36, 2015.

LI, M. *et al*. **Review of carbon and graphene quantum dots for sensing**. ACS sensors, v. 4, n. 7, p. 1732-1748, 2019.

LIU, M.; YAZDANI, N.; YAREMA, M.; JANSEN, M.; WOOD, V.; SARGENT, E.H. **Colloidal quantum dot electronics**. Nature Electronics, v. 4, p. 548–558, 2021.

LIU, Y.; GRIMM, M.; DAI, W.T.; HOU, M.C.; XIAO, Z.X.; CAO, Y.; ACTA PHARMACOLOGICA SINICA. **CB-Dock: a web server for cavity detection-guided protein–ligand blind docking.** Frontiers in Microbiology, v. 41, p. 138–144, 1999.

LIM, S.Y.; SHEN, W.; GAO, **Zhiqiang. Carbon quantum dots and their applications**. Chemical Society Reviews**.** v. 44, n. 1, pág. 362-381, 2015.

LUO, H. *et al.* **Molecular docking for identification of potential targets for drug repurposing. Current topics in medicinal chemistry**, v. 16, n. 30, p. 3636-3645, 2016.

MAIER J. A.; MARTINEZ, C.; KASAVAJHALA, K.; WICKSTROM, L.; HAUSER, K. E.; SIMMERLING, C. **"ff14SB: Improving the accuracy of protein side chain and backbone parameters from ff99SB,"** J. Chem. Theory Comput. v.**11**, n. 18, p. 3696–3713, 2015.

MAIOROV, V.N.; CRIPPEN, G.M. **Significance of root-mean-square deviation in comparing three-dimensional structures of globular proteins**. Journal of molecular biology, v. 235, n. 2, p. 625-634, 1994.

MASSOVA, I.; KOLLMAN, P.A. **Combined molecular mechanical and continuum solvent approach (MM-PBSA/GBSA) to predict ligand binding**. Perspectives in drug discovery and design, v. 18, n. 1, p. 113-135, 2000.

MATTA, C. F.; GILLESPIE, R. J. **Understanding and interpreting molecular electron density distributions**. Journal of Chemical Education, v. 79, n. 9, p. 1141, 2002.

MEZA, J.C**. Steepest descent**. Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics, v. 2, n. 6, p. 719-722, 2010.

MIYAMOTO, S.; KOLLMAN, P.A. **Settle: An analytical version of the SHAKE and RATTLE algorithm for rigid water models**. Journal of computational chemistry, v. 13, n. 8, p. 952-962, 1992.

MOHAMMAD, R. K; MADLOL, R.A.; UMRAN, N.M.; SHARRA, F.I. **Structure and electronic properties of substitutionally doped cycloheptane molecule using DFT**. Results in physics, v. 6, p. 1036-1043, 2016.

MORRIS, G.M.; HUEY, R.; LINDSTROM, W. *et al.*, **Autodock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility**, Journal of Computational Chemistry, v.30, n. 16, p. 2785-2791, 2009.

MORRIS, G.M.; LIM-WILBY, M. **Molecular docking. In: Molecular modeling of proteins. Humana Press**, p. 365-382, 2008.

NADENDLA, R.R. **Molecular modeling: A powerful tool for drug design and molecular docking. Resonance**, v. 9, n. 5, p. 51-60, 2004.

NAMBA, A.M.; DA SILVA, V.B.; DA SILVA, C. H. T. P. **Dinâmica molecular: teoria e aplicações em planejamento de fármacos**. Eclética Química, v. 33, p. 13-24, 2008.

NAZRI, N.A.A *et al.* **Carbon quantum dots for optical sensor applications: A review.** Optics & Laser Technology, v. 139, p. 106928, 2021.

NOOIJ, S.; SCHMITZ, D.; VENNEMA, H.; KRONEMAN, A.; KOOPMANS, M.P.G. **Overview of Virus Metagenomic Classification Methods and Their Biological Applications**. Frontiers in Microbiology, p. 1-21, 2018.

OMELYAN, I. P.; MRYGLOD, I. M.; FOLK, R. **Optimized Verlet-like algorithms for molecular dynamics simulations**. Physical Review E, v. 65, n. 5, p. 056706, 2002.

PAISSONI, C. *et al*. **GMXPBSA 2.1: A GROMACS tool to perform MM/PBSA and computational alanine scanning**. Comput. Phys. Commun., v. 186, n. Supplement C, p. 105-107, 2015.

PARK, S.H *et al.* **Graphene Oxide Sieving Membrane for Improved Cycle Life in High-Efficiency Redox-Mediated Li–O2 batteries**. Small, v. 14, n. 34, p.1801456, 2018.

PAYNE, M.C. *et al.* **Iterative minimization techniques for ab initio total-energy calculations: molecular dynamics and conjugate gradients**. Reviews of modern physics, v. 64, n. 4, p. 1045, 1992.

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

RAPPE, A.K.; CASEWIT, C.J. **Molecular mechanics across chemistry**. University Science Books, 1997.

RASTELLI, G. *et al*. **Fast and accurate predictions of binding free energies using MM-PBSA and MM-GBSA**. Journal of computational chemistry, v. 31, n. 4, p. 797-810, 2010.

ROE, D.R.; CHEATHAM III, T.E. **PTRAJ and CPPTRAJ: software for processing and analysis of molecular dynamics trajectory data**. Journal of chemical theory and computation, v. 9, n. 7, p. 3084-3095, 2013.

ROFOUEI, M. K. *et al.* **Synthesis, X-ray crystallography characterization, vibrational spectroscopic, molecular electrostatic potential maps, thermodynamic properties studies of N, N′-di (p-thiazole) formamidine**. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, v. 78, n. 1, p. 88-95, 2011.

SALMASO, V.; MORO, S. **Bridging molecular docking to molecular dynamics in exploring ligand-protein recognition process: An overview**. Frontiers in pharmacology, v. 9, p. 923, 2018.

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

SAPUNDZHI, F. *et al*. **Comparative Evolution of four Scoring Functions with three models of Delta Opioid Receptor using Molecular Docking**. Biomath Communications, v. 1, n. 1, 2014.

SHARMA, V.; KAUSHIK, S.; KUMAR, R.; YADAV, J.P.; KAUSHIK, S. **Emerging trends of Nipah virus: A review**. Reviens in Medical Virology, v. 29, n. 1, p. 1-6, 2018.

SHARMA, A.D.; KAUR, I**. Eucalyptol (1,8 cineole) from Eucalyptus Essential Oil a Potential Inhibitor of COVID 19 Corona Virus Infection by Molecular Docking Studies. Preprints,** p. 1-8, 2020.

SHOICHET, B.K.; LEACH, A.R.; KUNTZ, I.D. **Ligand solvation in molecular docking**. Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics, v. 34, n. 1, p. 4-16, 1999.

SOMAN PILLAI, V.; KRISHNA, G.; VALIYA VEETTIL, **Mohanan. Nipah virus: past outbreaks and future containment**. Viruses, v. 12, n. 4, p. 465, 2020.

SÜLEYMANOĞLU, N.; KUBAŞIK, P.; DIREKEL, Ş. **DFT study and antiparasitic activity of some azo dyes containing uracil**. Journal of Chemistry, v. 2021, 2021.

SULIMOV, V.B.; KUTOV, D.C.; SULIMOV, A.V. **Advances in docking**. Current Medicinal Chemistry, v. 26, n. 42, p. 7555-7580, 2019.
STANZIONE, F.; GIANGRECO, I.; COLE, J.C. **Use of molecular docking computational tools in drug discovery.** Progress in Medicinal Chemistry, v. 60, p. 273-343, 2021.

STOKBRO, Kurt *et al*. **Semiempirical model for nanoscale device simulations.** Physical Review B, v. 82, n. 7, p. 075420, 2010.

SPITALERI, A. *et al*. **Fast dynamic docking guided by adaptive electrostatic bias: The MD-binding approach**. Journal of chemical theory and computation, v. 14, n. 3, p. 1727-1736, 2018.

TABARI, M.A.; KHOSHHAL, H.; TAFAZOLI, A.; KHANDANAB, M.; BAGHERI, A. **Applying computer simulations in battlingwith COVID-19, using pre-analyzed molecular and chemical data to face the pandemic**. Informatics in Medicine Unlocked, v. 21, p. 1-7, 2020.

TASI, G.; PÁLINKÓ, I. **Using molecular electrostatic potential maps for similarity studies**. Molecular Similarity II, p. 45-71, 1995.

TROTT, O.; OLSON, A. J. **AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading**. Journal of computational chemistry, v.31, n.2, 455-461, 2010.

TOMASI, J. **Use of the electrostatic potential as a guide to understanding molecular properties. In: Chemical applications of atomic and molecular electrostatic potentials**. Springer, Boston, MA, p. 257-294, 1981.

TUCKERMAN, M.B.B.J.M.; BERNE, B.J.; MARTYNA, G.J. **Molecular dynamics algorithm for multiple time scales: Systems with long range forces.** The Journal of chemical physics, v. 94, n. 10, p. 6811-6815, 1991.

VAN DER SPOEL, D. *et al*. GROMACS: fast, flexible, and free. **Journal of computational chemistry**, v. 26, n. 16, p. 1701-1718, 2005.

VENANZI, C.A.; PLANT, C.; VENANZI, T.J. **Molecular recognition of amiloride analogs: a molecular electrostatic potential analysis. 1. Pyrazine ring modifications.** Journal of medicinal chemistry, v. 35, n. 9, p. 1643-1649, 1992.
VIJESH, A. M. *et al.* Molecular docking studies of some new imidazole derivatives for antimicrobial properties. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 6, n. 2, p. 197-204, 2013.

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

WANG, E. *et al*. **End-point binding free energy calculation with MM/PBSA and MM/GBSA: strategies and applications in drug design**. Chemical reviews, v. 119, n. 16, p. 9478-9508, 2019.

WONG, S.; AMARO, R.E.; MCCAMMON, J. A. **MM-PBSA captures key role of intercalating water molecules at a protein− protein interface**. Journal of chemical theory and computation, v. 5, n. 2, p. 422-429, 2009.

YANG, X.; LIU, Y.; GAN, J.; XIAO, Z. X.; CAO, Y. **FitDock: protein–ligand docking by template fitting**. Briefings in Bioinformatics, v. 23, n. 3, 2022.

ZAMPIERI, D. *et al*. **Synthesis, antifungal and antimycobacterial activities of new bis-imidazole derivatives, and prediction of their binding to P45014DM by molecular docking and MM/PBSA method**. Bioorganic & medicinal chemistry, v. 15, n. 23, p. 7444-7458, 2007.

ZHANG, L. *et al.* **Preparation of graphene quantum dots for bioimaging application**. Journal of nanoscience and nanotechnology, v. 12, n. 3, p. 2924-2928, 2012.

ZHENG, X.T. *et al*. **Glowing graphene quantum dots and carbon dots: properties, syntheses, and biological applications**. small, v. 11, n. 14, p. 1620-1636, 2015.

ZOETE, V.; CUENDET, M.A.; GROSDIDIER, A.; MICHIELIN, O. **SwissParam: a fast force field generation tool for small organic molecules**. Journal of computational chemistry, v. 32, n. 11, p.2359-2368. 2011.

ANEXOS

Tabela 2: Detalhes de distância, categoria e tipo das possíveis ligações químicas.

A					
	Nome	cor	Distância	Categoria	TIPO
1	P:ASP302:OD2 - d:RES1		4,1533	Eletrostática	Π -Ânion
2	P:ASP302:OD2 - d:RES1		4,1907	Eletrostática	Π -Ânion
3	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,4370	Eletrostática	Π -Ânion
4	P:LEU305:CD1 - d:RES1		3,3361	Hidrofóbica	Π -Sigma
5	P:LEU305:CD1 - d:RES1		3,8981	Hidrofóbica	Π -Sigma
6	P:TRP504 - d:RES1		4,8047	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
7	P:TRP504 - d:RES1		5,1207	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
8	P:TRP504 - d:RES1		4,3309	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
9	P:TRP504 - d:RES1		4,8135	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
10	P:TRP504 - d:RES1		3,9209	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
11	P:HSD127 - d:RES1		4,7530	Hidrofóbica	Π -Π -Forma
12	d:RES1 - P:LEU305		5,0056	Hidrofóbica	Π -alquil
13	d:RES1 - P:LEU305		5,0179	Hidrofóbica	Π -alquil
14	d:RES1 - P:LEU305		5,2519	Hidrofóbica	Π -alquil
15	d:RES1 - P:ARG242		5,4433	Hidrofóbica	Π -alquil
16	d:RES1 - P:LEU305		5,2353	Hidrofóbica	Π -alquil

B					
	Nome	cor	Distância	Categoria	TIPO
1	P:LYS560:HZ1 - d:RES1:O45		2,4026	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
2	d:RES1:H66 - P:GLY506:O		2,7296	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
3	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,4598	Eletrostática	Π -Ânion
4	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,9281	Eletrostática	Π -Ânion
5	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,5373	Eletrostática	Π -Ânion
6	P:LEU305:HD11 - d:RES1		2,7996	Hidrofóbica	Π -Sigma
7	P:TRP504 - d:RES1		5,3631	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
8	P:TRP504 - d:RES1		4,9372	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
9	P:TRP504 - d:RES1		4,2167	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
10	P:TRP504 - d:RES1		5,2464	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
11	P:HSD127 - d:RES1		5,6116	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
12	d:RES1 - P:LEU305		5,4241	Hidrofóbica	Π -alquil
13	d:RES1 - P:LEU305		5,3955	Hidrofóbica	Π -alquil
14	d:RES1 - P:LEU305		4,6424	Hidrofóbica	Π -alquil
15	d:RES1 - P:LEU305		4,6261	Hidrofóbica	Π -alquil
16	d:RES1 - P:ARG242		5,3034	Hidrofóbica	Π -alquil

17	d:RES1 - P:LEU305		5,0787	Hidrofóbica	Π -alquil
C					
	Nome	cor	Distância	Categoria	TIPO
1	P:ARG236:HH21 - d:RES1:O65		2,5981	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
2	P:GLY506:HN - d:RES1:O62		2,7312	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
3	P:LYS560:HZ1 - d:RES1:O63		2,4663	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
4	P:ARG242:HA - d:RES1:O68		2,4330	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio de Carbono
5	P:ASP302:OD2 - d:RES1		4,0436	Eletrostática	Π -Ânion
6	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,5092	Eletrostática	Π -Ânion
7	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,5083	Eletrostática	Π -Ânion
8	d:RES1:H70 - P:PHE458		2,5230	Ligação de Hidrogênio	Pi-Doador Ligação de Hidrogênio
9	P:LEU305:HD11 - d:RES1		2,7415	Hidrofóbica	Π -Sigma
10	P:TRP504 - d:RES1		5,2724	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
11	P:TRP504 - d:RES1		4,8770	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
12	P:TRP504 - d:RES1		5,2732	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
13	P:TRP504 - d:RES1		4,1062	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada

14	P:HSD127 - d:RES1		5,3802	Hidrofóbica	Π -Π -Forma
15	d:RES1 - P:LEU305		5,4355	Hidrofóbica	Π -alquil
16	d:RES1 - P:LEU305		4,7064	Hidrofóbica	Π -alquil
17	d:RES1 - P:LEU305		4,6214	Hidrofóbica	Π -alquil
18	d:RES1 - P:LEU305		5,2858	Hidrofóbica	Π -alquil
19	d:RES1 - P:LEU305		5,1838	Hidrofóbica	Π -alquil
20	d:RES1 - P:ARG242		5,168	Hidrofóbica	Π -alquil

D					
	Nome	cor	Distância	Categoria	TIPO
1	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,4135	Eletrostática	Π -Ânion
2	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,6114	Eletrostática	Π -Ânion
3	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,4480	Eletrostática	Π -Ânion
4	P:LEU305:HD11 - d:RES1		2,9429	Hidrofóbica	Π -Sigma
5	P:TRP504 - d:RES1		5,3254	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
6	P:TRP504 - d:RES1		4,9783	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
7	P:TRP504 - d:RES1		4,2036	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
8	P:TRP504 - d:RES1		5,3398	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
9	P:HSD127 - d:RES1		5,6025	Hidrofóbica	Π -Π -Forma
10	d:RES1 - P:LEU305		5,4260	Hidrofóbica	Π -alquil

11	d:RES1 - P:LEU305		4,5798	Hidrofóbica	Π -alquil
12	d:RES1 - P:LEU305		4,6587	Hidrofóbica	Π -alquil
13	d:RES1 - P:LEU305		4,9597	Hidrofóbica	Π -alquil

E					
	Nome	cor	Distância	Categoria	TIPO
1	P:ARG236:HH21 - d:RES1:O52		2,6724	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
2	P:GLY506:HN - d:RES1:O45		2,7027	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
3	P:LYS560:HZ1 - d:RES1:O49		2,3684	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
4	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,4610	Eletrostática	Π -Ânion
5	P:ASP302:OD2 - d:RES1		4,0351	Eletrostática	Π -Ânion
6	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,475	Eletrostática	Π -Ânion
7	d:RES1:H46 - P:PHE458		2,5461	Ligação de Hidrogênio	Pi-Doador Ligação de Hidrogênio
8	P:LEU305:HD11 - d:RES1		2,7200	Hidrofóbica	Π -Sigma
9	P:TRP504 - d:RES1		5,2877	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
10	P:TRP504 - d:RES1		4,8608	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
11	P:TRP504 - d:RES1		4,1326	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada

12	P:TRP504 - d:RES1		5,2235	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
13	P:HSD127 - d:RES1		5,3297	Hidrofóbica	Π -Π -Forma
14	d:RES1 - P:LEU305		5,4416	Hidrofóbica	Π -alquil
15	d:RES1 - P:LEU305		4,7045	Hidrofóbica	Π -alquil
16	d:RES1 - P:LEU305		5,2369	Hidrofóbica	Π -alquil
17	d:RES1 - P:LEU305		4,5881	Hidrofóbica	Π -alquil
18	d:RES1 - P:LEU305		5,1735	Hidrofóbica	Π -alquil
19	d:RES1 - P:ARG242		5,1625	Hidrofóbica	Π -alquil

F					
	Nome	cor	Distância	Categoria	TIPO
1	P:ARG236:HH12 - d:RES1:O67		2,7291	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
2	P:ARG236:HH21 - d:RES1:O64		2,6253	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
3	P:LYS560:HZ1 - d:RES1:O62		2,465	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
4	P:HSD127:HD1 - d:RES1:O69		2,2978	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
5	d:RES1:H75 - P:GLY506:O		2,5676	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
6	d:RES1:H74 - P:ASP219:OD2		1,8899	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional

7	P:HSD127:HA - d:RES1:O69		2,7785	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio de Carbono
8	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,5012	Eletrostática	Π -Ânion
9	P:ASP302:OD2 - d:RES1		4,0428	Eletrostática	Π -Ânion
10	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,521	Eletrostática	Π -Ânion
11	P:LEU305:HD11 - d:RES1		2,746	Hidrofóbica	Π -Sigma
12	P:TRP504 - d:RES1		5,2971	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
13	P:TRP504 - d:RES1		4,9128	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
14	P:TRP504 - d:RES1		4,1216	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
15	P:TRP504 - d:RES1		5,3119	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
16	P:HSD127 - d:RES1		5,4181	Hidrofóbica	Π -Π -Forma
17	d:RES1 - P:LEU305		5,4256	Hidrofóbica	Π -alquil
18	d:RES1 - P:LEU305		5,3140	Hidrofóbica	Π -alquil
19	d:RES1 - P:LEU305		4,7127	Hidrofóbica	Π -alquil
20	d:RES1 - P:LEU305		4,6474	Hidrofóbica	Π -alquil
21	d:RES1 - P:ARG242		5,1673	Hidrofóbica	Π -alquil
22	d:RES1 - P:LEU305		5,2030	Hidrofóbica	Π -alquil

G					
	Nome	cor	Distância	Categoria	TIPO
1	P:ARG236:HH21 - d:RES1:O65		2,5055	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
2	P:GLY506:HN - d:RES1:O72		2,6542	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
3	P:LYS560:HZ1 - d:RES1:O67		2,2472	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
4	P:HSD127:HD1 - d:RES1:O44		2,4651	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
5	d:RES1:H75 - P:ASN123:OD1		2,1172	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
6	d:RES1:H73 - P:GLY506:O		2,5581	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
7	P:ARG242:HA - d:RES1:O63		2,4940	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio de Carbono
8	P:ASP302:OD2 - d:RES1		4,1424	Eletrostática	Π –Ânion
9	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,6993	Eletrostática	Π -Ânion
10	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,6908	Eletrostática	Π -Ânion
11	P:LEU305:HD11 - d:RES1		2,8470	Hidrofóbica	Π -Sigma
12	P:TRP504 - d:RES1		5,1734	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
13	P:TRP504 - d:RES1		4,7067	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada

14	P:TRP504 - d:RES1		5,6160	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
15	P:TRP504 - d:RES1		4,9919	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
16	P:TRP504 - d:RES1		4,0831	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
17	P:HSD127 - d:RES1		5,2477	Hidrofóbica	Π -Π -Forma
18	d:RES1 - P:LEU305		4,5759	Hidrofóbica	Π -alquil
19	d:RES1 - P:LEU305		5,3149	Hidrofóbica	Π -alquil
20	d:RES1 - P:LEU305		4,7031	Hidrofóbica	Π -alquil
21	d:RES1 - P:LEU305		5,0719	Hidrofóbica	Π -alquil
22	d:RES1 - P:ARG242		5,1429	Hidrofóbica	Π -alquil

H					
	Nome	cor	Distância	Categoria	TIPO
1	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,1977	Eletrostática	Π -Ânion
2	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,5046	Eletrostática	Π -Ânion
3	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,5001	Eletrostática	Π -Ânion
4	P:LEU305:HD11 - d:RES1		2,6351	Hidrofóbica	Π -Sigma
5	P:TRP504 - d:RES1		5,7080	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
6	P:TRP504 - d:RES1		4,9184	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
7	P:TRP504 - d:RES1		5,6010	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
8	P:TRP504 - d:RES1		4,9208	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
9	P:TRP504 - d:RES1		5,4639	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada

10	P:TRP504 - d:RES1		4,0875	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
11	P:TRP504 - d:RES1		3,9404	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
12	P:TRP504 - d:RES1		5,3868	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
13	P:HSD281 - d:RES1		5,3672	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
14	P:HSD127 - d:RES1		5,5831	Hidrofóbica	Π -Π –Forma
15	P:HSD127 - d:RES1		4,6701	Hidrofóbica	Π -Π -Forma
16	d:RES1 - P:LEU305		4,7664	Hidrofóbica	Π -alquil
17	d:RES1 - P:LEU305		4,3052	Hidrofóbica	Π -alquil
18	d:RES1 - P:LEU305		4,8308	Hidrofóbica	Π -alquil
19	d:RES1 - P:ARG242		5,0104	Hidrofóbica	Π -alquil
20	d:RES1 - P:LEU305		5,0695	Hidrofóbica	Π -alquil
21	d:RES1 - P:ARG242		5,4112	Hidrofóbica	Π -alquil
22	d:RES1 - P:LEU305		5,2446	Hidrofóbica	Π -alquil
23	d:RES1 - P:LEU305		5,1307	Hidrofóbica	Π -alquil

I					
	Nome	cor	Distância	Categoria	TIPO
1	P:HSD281:HD1 - d:RES1:O74		2,3803	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
2	d:RES1:H78 - P:GLY506:O		2,5844	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional

3	P:GLU505:HA - d:RES1:O76		2,1225	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio de Carbono
4	P:ARG236:NH2 - d:RES1		3,2627	Eletrostática	Pi-Cátion
5	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,0124	Eletrostática	Π -Ânion
6	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,3264	Eletrostática	Π -Ânion
7	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,2683	Eletrostática	Π -Ânion
8	P:TRP504 - d:RES1		5,9096	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
9	P:TRP504 - d:RES1		5,5256	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
10	P:TRP504 - d:RES1		5,5426	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
11	P:TRP504 - d:RES1		5,3119	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
12	P:TRP504 - d:RES1		4,2818	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
13	P:TRP504 - d:RES1		4,5246	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
14	P:HSD281 - d:RES1		5,0424	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
15	P:HSD281 - d:RES1		4,8926	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
16	P:HSD127 - d:RES1		5,1804	Hidrofóbica	Π -Π -Forma
17	P:HSD127 - d:RES1		5,8998	Hidrofóbica	Π -Π -Forma
18	P:HSD127 - d:RES1		5,5518	Hidrofóbica	Π -Π -Forma
19	d:RES1 - P:LEU305		4,6988	Hidrofóbica	Π -alquil
20	d:RES1 - P:LEU305		4,3161	Hidrofóbica	Π -alquil
21	d:RES1 - P:LEU305		4,6662	Hidrofóbica	Π -alquil
22	d:RES1 - P:LEU305		4,9913	Hidrofóbica	Π -alquil

23	d:RES1 - P:ARG242		4,8870	Hidrofóbica	Π -alquil
24	d:RES1 - P:LEU305		5,2393	Hidrofóbica	Π -alquil
25	d:RES1 - P:ARG242		5,4225	Hidrofóbica	Π -alquil
26	d:RES1 - P:LEU305		4,9299	Hidrofóbica	Π -alquil
27	d:RES1 - P:LEU305		5,2107	Hidrofóbica	Π -alquil

J					
	Nome	cor	Distância	Categoria	TIPO
1	P:ARG236:HH12 - d:RES1:O76		1,9475	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
2	P:ARG236:HH22 - d:RES1:O74		2,6960	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
3	P:HSD127:HD1 - d:RES1:O79		2,2550	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
4	d:RES1:H84 - P:ASP219:OD1		2,2599	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
5	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,9220	Eletrostática	Π -Ânion
6	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,1978	Eletrostática	Π -Ânion
7	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,5273	Eletrostática	Π -Ânion
8	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,6398	Eletrostática	Π -Ânion
9	P:LEU305:HD11 - d:RES1		2,6049	Hidrofóbica	Π -Sigma

10	P:TRP504 - d:RES1		5,8235	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
11	P:TRP504 - d:RES1		5,1316	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
12	P:TRP504 - d:RES1		5,1118	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
13	P:TRP504 - d:RES1		5,7104	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
14	P:TRP504 - d:RES1		4,1767	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
15	P:TRP504 - d:RES1		5,4673	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
16	P:TRP504 - d:RES1		4,1152	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
17	P:TRP504 - d:RES1		5,6183	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
18	P:HSD281 - d:RES1		5,9518	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
19	P:HSD281 - d:RES1		5,3791	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
20	P:HSD127 - d:RES1		4,8019	Hidrofóbica	Π -Π -Forma
21	P:HSD127 - d:RES1		5,7551	Hidrofóbica	Π -Π -Forma
22	d:RES1 - P:LEU305		4,7332	Hidrofóbica	Π -alquil
23	d:RES1 - P:LEU305		4,2474	Hidrofóbica	Π -alquil
24	d:RES1 - P:LEU305		4,8096	Hidrofóbica	Π -alquil
25	d:RES1 - P:LEU305		4,9964	Hidrofóbica	Π -alquil
26	d:RES1 - P:LEU305		5,1554	Hidrofóbica	Π -alquil
27	d:RES1 - P:ARG242		5,0268	Hidrofóbica	Π -alquil
28	d:RES1 - P:LEU305		5,0590	Hidrofóbica	Π -alquil
29	d:RES1 - P:ARG242		5,4510	Hidrofóbica	Π -alquil

K					
	Nome	cor	Distância	Categoria	TIPO
1	P:ARG236:HH12 - d:RES1:O57		3,0739	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
2	P:ARG242:HH11 - d:RES1:O89		2,3267	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
3	P:GLY506:HN - d:RES1:O64		2,6155	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
4	P:LYS560:HZ1 - d:RES1:O78		2,1994	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
5	d:RES1:H83 - P:TRP504:O		2,3773	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
6	d:RES1:H77 - P:GLY506:O		2,5862	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
7	P:ARG242:HD1 - d:RES1:O89		2,3298	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio de Carbono
8	P:ARG242:HD2 - d:RES1:O84		2,5980	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio de Carbono
9	P:GLU505:HA - d:RES1:O63		2,7736	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio de Carbono
10	P:ASN123:HA - d:RES1:O82		2,5681	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio de Carbono
11	P:ASN123:HC - d:RES1:O82		2,4066	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio de Carbono

12	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,3616	Eletrostática	Π -Ânion
13	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,3569	Eletrostática	Π -Ânion
14	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,2099	Eletrostática	Π -Ânion
15	P:TRP504 - d:RES1		5,6601	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
16	P:TRP504 - d:RES1		5,5811	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
17	P:TRP504 - d:RES1		5,4716	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
18	P:TRP504 - d:RES1		4,9167	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
19	P:TRP504 - d:RES1		4,0636	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
20	P:TRP504 - d:RES1		4,5802	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
21	P:HSD281 - d:RES1		5,4487	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
22	P:HSD281 - d:RES1		5,1632	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
23	P:HSD127 - d:RES1		5,0927	Hidrofóbica	Π -Π -Forma
24	P:HSD127 - d:RES1		4,8265	Hidrofóbica	Π -Π -Forma
25	d:RES1 - P:LEU305		4,7608	Hidrofóbica	Π -alquil
26	d:RES1 - P:LEU305		4,5243	Hidrofóbica	Π -alquil
27	d:RES1 - P:LEU305		4,2722	Hidrofóbica	Π -alquil
28	d:RES1 - P:LEU305		4,6968	Hidrofóbica	Π -alquil
29	d:RES1 - P:ARG242		4,8028	Hidrofóbica	Π -alquil
30	d:RES1 - P:ARG242		4,9371	Hidrofóbica	Π -alquil
31	d:RES1 - P:LEU305		5,1475	Hidrofóbica	Π -alquil
32	d:RES1 - P:LEU305		5,2928	Hidrofóbica	Π -alquil

33	d:RES1 - P:LEU305		5,0757	Hidrofóbica	Π -alquil

L					
	Nome	cor	Distância	Categoria	TIPO
1	P:LYS560:HZ3 - d:RES1:O74		2,1151	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
2	P:HSD281:HD1 - d:RES1:O73		2,4940	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
3	d:RES1:H75 - P:ASP219:OD1		1,9917	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
4	P:ARG236:NH2 - d:RES1		3,4037	Eletrostática	Pi-Cátion
5	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,5482	Eletrostática	Π -Ânion
6	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,0198	Eletrostática	Π -Ânion
7	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,5959	Eletrostática	Π -Ânion
8	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,2316	Eletrostática	Π -Ânion
9	P:TRP504 - d:RES1		5,9070	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
10	P:TRP504 - d:RES1		5,2408	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
11	P:TRP504 - d:RES1		5,2703	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
12	P:TRP504 - d:RES1		4,2408	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
13	P:TRP504 - d:RES1		4,1869	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
14	P:TRP504 - d:RES1		5,7696	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada

15	P:TRP504 - d:RES1		5,5126	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
16	P:HSD281 - d:RES1		5,0287	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
17	P:HSD281 - d:RES1		5,4258	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
18	P:HSD127 - d:RES1		4,9244	Hidrofóbica	Π -Π -Forma
19	P:HSD127 - d:RES1		5,1329	Hidrofóbica	Π -Π -Forma
20	P:HSD127 - d:RES1		5,8401	Hidrofóbica	Π -Π -Forma
21	d:RES1 - P:LEU305		4,5956	Hidrofóbica	Π -alquil
22	d:RES1 - P:LEU305		4,6704	Hidrofóbica	Π -alquil
23	d:RES1 - P:LEU305		4,3055	Hidrofóbica	Π -alquil
24	d:RES1 - P:LEU305		4,8802	Hidrofóbica	Π -alquil
25	d:RES1 - P:LEU305		5,0222	Hidrofóbica	Π -alquil
26	d:RES1 - P:ARG242		5,4895	Hidrofóbica	Π -alquil
27	d:RES1 - P:LEU305		5,2851	Hidrofóbica	Π -alquil
28	d:RES1 - P:ARG242		4,8900	Hidrofóbica	Π -alquil
29	d:RES1 - P:LEU305		5,2174	Hidrofóbica	Π -alquil
30	d:RES1 - P:ARG242		5,4446	Hidrofóbica	Π -alquil

M					
	Nome	cor	Distância	Categoria	TIPO
1	P:ARG236:HH12 - d:RES1:O73		1,9201	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional

2	P:ARG236:HH22 - d:RES1:O77		2,7601	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
3	P:HSD127:HD1 - d:RES1:O79		2,3038	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
4	d:RES1:H75 - P:TYR280:OH		2,7571	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
5	P:HSD127:HA - d:RES1:O79		2,5844	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio de Carbono
6	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,1660	Eletrostática	Π -Ânion
7	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,5490	Eletrostática	Π -Ânion
8	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,5243	Eletrostática	Π -Ânion
9	P:ASP302:OD2 - d:RES1		3,9846	Eletrostática	Π -Ânion
10	P:LEU305:HD11 - d:RES1		2,6213	Hidrofóbica	Π -Sigma
11	P:TRP504 - d:RES1		5,7787	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
12	P:TRP504 - d:RES1		5,0285	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
13	P:TRP504 - d:RES1		4,9911	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
14	P:TRP504 - d:RES1		5,6386	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
15	P:TRP504 - d:RES1		4,1491	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
16	P:TRP504 - d:RES1		5,4818	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
17	P:TRP504 - d:RES1		4,0399	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
18	P:TRP504 - d:RES1		5,4762	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada

19	P:HSD281 - d:RES1		5,3791	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
20	P:HSD127 - d:RES1		4,7571	Hidrofóbica	Π -Π -Forma
21	P:HSD127 - d:RES1		5,7311	Hidrofóbica	Π -Π -Forma
22	d:RES1 - P:LEU305		4,7779	Hidrofóbica	Π -alquil
23	d:RES1 - P:LEU305		4,2280	Hidrofóbica	Π -alquil
24	d:RES1 - P:LEU305		4,7435	Hidrofóbica	Π -alquil
25	d:RES1 - P:LEU305		5,0265	Hidrofóbica	Π -alquil
26	d:RES1 - P:LEU305		5,1279	Hidrofóbica	Π -alquil
27	d:RES1 - P:ARG242		5,1025	Hidrofóbica	Π -alquil
28	d:RES1 - P:LEU305		4,9847	Hidrofóbica	Π -alquil

N					
	Nome	cor	Distância	Categoria	TIPO
1	P:ARG236:HE - d:RES1:O76		2,6472	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
2	P:LYS560:HZ1 - d:RES1:O83		2,0818	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio Convencional
3	P:ARG242:HA - d:RES1:O74		2,6173	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio de Carbono
4	P:LYS560:HE1 - d:RES1:O82		2,5113	Ligação de Hidrogênio	Ligação de Hidrogênio de Carbono
5	P:ASP302:OD2 - d:RES1		4,9441	Eletrostática	Π -Ânion
6	P:ASP302:OD2 - d:RES1		4,3214	Eletrostática	Π -Ânion

7	P:ASP302:OD2 - d:RES1		4,9889	Eletrostática	Π -Ânion
8	P:ASP302:OD2 - d:RES1		4,4619	Eletrostática	Π -Ânion
9	P:ASP302:OD2 - d:RES1		4,4414	Eletrostática	Π -Ânion
10	P:ASN123:HC - d:RES1		2,3643	Hidrofóbica	Π -Sigma
11	P:TRP504 - d:RES1		5,3840	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
12	P:TRP504 - d:RES1		4,8748	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
13	P:TRP504 - d:RES1		5,0937	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
14	P:TRP504 - d:RES1		4,6501	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
15	P:TRP504 - d:RES1		3,9360	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
16	P:TRP504 - d:RES1		5,0752	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
17	P:TRP504 - d:RES1		4,1424	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
18	P:TRP504 - d:RES1		5,4060	Hidrofóbica	Π -Π -Empilhada
19	d:RES1 - P:LEU305		5,0501	Hidrofóbica	Π -alquil
20	d:RES1 - P:LEU305		5,2107	Hidrofóbica	Π -alquil
21	d:RES1 - P:LEU305		4,2573	Hidrofóbica	Π -alquil
22	d:RES1 - P:LEU305		4,7405	Hidrofóbica	Π -alquil
23	d:RES1 - P:LEU305		5,0815	Hidrofóbica	Π -alquil
24	d:RES1 - P:LEU305		4,7655	Hidrofóbica	Π -alquil

25	d:RES1 - P:LEU305		4,5847	Hidrofóbica	Π -alquil
26	d:RES1 - P:ARG242		5,2566	Hidrofóbica	Π -alquil