



INTERAÇÕES DE FTALOCIANINAS DE Co, Cu E NÃO METÁLICAS COM ESTRUTURAS EXTERNAS DE SARS-COV-2 UTILIZANDO *DOCKING* E DINÂMICA MOLECULAR

Wilson Luna Machado Alencar

Exame de defesa de doutorado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Naturais da Amazônia, ITEC, da Universidade Federal do Pará, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Engenharia de Recursos Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Maia de Jesus
Chaves Neto. (PRODERNA – ITEC - UFPA)

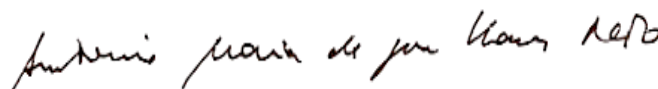
Belém, PA - Brasil
Dezembro de 2021

"INTERAÇÕES DE FTALOCIANINAS DE Co, Cu E NÃO METÁLICAS COM ESTRUTURAS EXTERNAS DE SARS-CoV-2 UTILIZANDO DOCKING E DINÂMICA MOLECULAR"

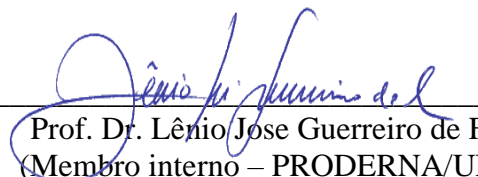
Wilson Luna Machado Alencar

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

Aprovada por:



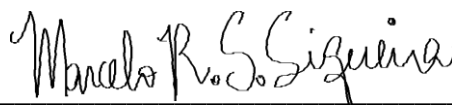
Prof. Dr. Antônio Maia, de Jesus Chaves Neto
(Orientador - PRODERNA/UFPA)



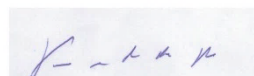
Prof. Dr. Lênio Jose Guerreiro de Faria
(Membro interno – PRODERNA/UFPA)



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



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



Prof. Dr. Tarciso Silva de Andrade Filho
(Membro Externo à Instituição – UNIFESSPA)

Belém, PA - Brasil
Dezembro de 2021

**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)**

ALENCAR, WILSON LUNA MACHADO.
INTERAÇÕES DE FTALOCIANINAS DE Co, Cu E NÃO
METÁLICAS COM ESTRUTURAS EXTERNAS DE SARS-
COV-2 UTILIZANDO DOCKING E DINÂMICA MOLECULAR
/ WILSON LUNA MACHADO ALENCAR. — 2021.
86 f. : il. color.

Orientador(a): Prof. Dr. Antonio Maia de Jesus Chaves Neto
Neto

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de
Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de
Recursos Naturais na Amazônia, Belém, 2021.

1. Ftalocianina. 2. COVID-19. 3. SARS-CoV-2. 4.
Docagem Molecular. 5. Dinâmica Molecular. I. Título.

CDD 620

Resumo de defesa de doutorado apresentado ao PRODERNA/UFPA como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Doutor em Engenharia de Recursos Naturais (D. Eng.)

Interações de ftalocianinas de Co, Cu e não metálicas com estruturas externas de SARS-CoV-2 utilizando *docking* e dinâmica molecular

Wilson Luna Machado Alencar - 12/2021

Orientador: Antonio Maia de Jesus Chaves Neto

Área de Concentração: Transformação de Recursos Naturais

O novo coronavírus, SARS-CoV-2, provocou a pandemia do COVID-19, caracterizada pela elevada taxa de contaminação, capacidade de propagação e índice de letalidade. Neste trabalho abordamos a utilização de ftalocianinas como possível inibidor do SARS-CoV-2, por apresentar propriedades das ftalocianinas de Cobalto (CoPc), Cobre (CuPc) e sem grupo metálico (NoPc) as quais podem interagir com o SARS-CoV-2, apresentando potencial para serem utilizadas como filtragem por adsorção em tintas nas paredes, máscaras, roupas e filtros de ar condicionado. Foram utilizadas técnicas de modelagem molecular por meio de *Docking* Molecular e Dinâmica Molecular, onde o alvo foram as estruturas externas do vírus, mais especificamente as proteases E-pro, M-pro e S-gly. Utilizando o módulo g_MM-GBSA, e com isto os estudos de *docking* molecular mostraram que os ligantes têm características de interação capaz de adsorver as estruturas. Através da dinâmica molecular obtemos informações da raiz do desvio quadrático médio das posições atômicas com valores entre 1 e 2,5 Å. Foram utilizados o modelo de solvatação implícita de Born generalizado, energia livre de Gibbs e abordagem da área de superfície acessível do solvente. Dentre os resultados obtidos por meio da dinâmica molecular, percebeu-se que as interações ocorrem, visto que as ftalocianinas foram capazes de se ligar aos resíduos do sítio ativo das macromoléculas, demonstrando boas interações; em particular com a CoPc. Os acoplamentos moleculares e energia livre mostraram que os resíduos do sítio ativo da S-gly, interagiram fortemente com as ftalocianinas com os valores -182,443 kJ/mol (CoPc), 158,954 kJ/mol (CuPc), e -129,963 kJ/mol (NoPc). As possíveis interações das ftalocianinas com o SARS-CoV-2, podem prever alguns candidatos promissores a antagonistas ao vírus, que se confirmados por meio de abordagens experimentais, podem contribuir para resolver a crise global da pandemia de COVID-19.

Palavras-chave: COVID-19, SARS-CoV-2, Docagem Molecular, Dinâmica Molecular, Ftalocianina.

Abstract of thesis presented to PRODERNA/UFGA as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Natural Resources Engineering (D.Sc.)

Interactions of Co, Cu and Non-metal phthalocyanines with external structures of SARS-CoV-2 using *docking* and molecular dynamics

Wilson Luna Machado Alencar - 12/2021

Advisor: Antonio Maia de Jesus Chaves Neto Research

Area: Process modeling and simulation

The new coronavirus, SARS-CoV-2, caused the COVID-19 pandemic, characterized by a high rate of contamination, propagation capacity and lethality rate. In this work, we approach the use of phthalocyanines as a possible inhibitor of SARS-CoV-2, as they present properties of Cobalt (CoPc), Copper (CuPc) and non-metallic group (NoPc) phthalocyanines as which can interact with SARS-CoV-2, cut potentially used as adsorption filtration in paints on walls, masks, clothing and air conditioning filters. Molecular modeling techniques through Molecular Docking and Molecular Dynamics were used, where the target was the external structures of the virus, but specifically with the proteases E-pro, M-pro and S-gly. Using the g_MM-GBSA module, and with it the molecular docking studies that the ligands have characteristics capable of adsorbing the structures. Through molecular dynamics we obtain information on the deviation of the root mean square of atomic positions with values between 1 and 2.5 Å. The generalized Born implicit solvation model, Gibbs free energy and solvent accessible surface area approach were used. Among the results obtained through molecular dynamics, it is sought that interactions occur, since phthalocyanines were able to bind to the active residues of macromolecules, demonstrating good interactions; in particular with a CoPc. Molecular couplings and excellent free energy for S-gly active site residues interacted strongly with phthalocyanines with values of -182.443 kJ/mol (CoPc), 158.954 kJ/mol (CuPc), and -129.963 kJ/mol (NoPc). The possible interactions of phthalocyanines with SARS-CoV-2 may predict some promising candidates for antagonists to the virus, which if confirmed through experimental approaches, could contribute to resolve the global crisis of the COVID-19 pandemic.

Keywords: COVID-19, SARS-CoV-2, Molecular Docking, Molecular Dynamics, Phthalocyanine.

DEDICATÓRIA

À DEUS

À Daisy Flavia Souza Barbosa (esposa)

À José Wilson Luna Barbosa Alencar (filho)

À Jucilene Teixeira Machado (mãe)

À Zelião Luna Alencar (pai)

À Nizoleia Teixeira Machado (tia)

À Wiles Luna Machado Alencar (irmão)

Ao professor Maia e o Tiago Arouche

AGRADECIMENTO

Ao Prof. Dr. Antonio Maia de Jesus Chaves Neto, pela orientação e por participar como membro desta banca de defesa de tese de doutorado.

A todos os integrantes e ex-integrantes do grupo do Laboratório de Preparação e Computação de Nanomateriais (LPCN), em especial ao Tiago Arouche, que me proporcionaram grandes aprendizados e debates sobre a ciência como um todo além de muitos momentos felizes em minha vida.

Ao financiamento proveniente do IFPA, Campus Castanhal..

Aos Professores Lênio, Tarciso, Fabio Paranhos e Marcelo Siqueira por participarem da banca com observações e sugestões para a tese e pelo grande apoio.

Ao PRODERNA por todo o suporte e estrutura das quais me utilizei nestes quatro anos.

Ao professor Dr. Eduardo Braga, coordenador do PRODERNA pelo auxílio constante nos trâmites administrativos, juntamente com a senhora Syglea.

A minha família pelo apoio emocional nos momentos difíceis, especialmente minha mãe Jucilene Machado, minha esposa, Daisy Flávia e meu filho José Wilson.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1: Estrutura da ftalocianina M= Co, Cu e sem metal.....	15
Figura 1.2: Macroestruturas do SARS-CoV-2 utilizadas: (a) E-pro; (b) M-pro (c) S-gly.....	16
Figura 2.1: Estrutura do SARS-Cov-2 (S-gly, E-pro, M-pro e N).....	19
Figura 2.2: Estrutura molecular da ftalocianina de base livre (NoPc).....	23
Figura 2.3: Porfirina.....	24
Figura 2.4: (a) CuPc e (b) CoPc.....	25
Figura 4.1: E-pro interagindo com: a) CoPc, b) CuPc, e c) NoPc.....	44
Figura 4.2: M-pro interagindo com: a) CoPc, b) CuPc, e c) NoPc.....	45
Figure 4.3: S-gly interagindo com: a) CoPc, b) CuPc, e c) NoPc.....	47
Figura 4.4: MEP para: a) CoPc, b) NoPc, e c) CuPc, com o nível teórico B3LYP / LANL2DZ..	48
Figura 4.5: MEP da interação da E-pro com: a) CoPc, b) CuPc e c) NoPc; M-pro com: d) CoPc, e) CuPc. e f) NoPc; e S-gly com: g) CoPc, h) CuPc e i) NoPc), com o nível teórico B3LYP/ LANL2DZ	50
Figura 4.6: RMSD versus tempo dos ligantes com a) E-pro; b) M-pro e c) S-gly.....	53
Figura 4.7: Resultados SASA: a) E-pro b) M-pro, e c) S-gly.....	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Simulações de pontuação MolDock.....	43
Tabela 2: Componentes de energia e desvios.....	57

LISTA DE ABREVIACOES e SIMBOLOS

Pc = ftalocianina

CoPc = ftalocianina de cobalto

CuPc = ftalocianina de cobre

NoPc = ftalocianina não metlica

CoV = coronavírus

MM = Modelagem Molecular

DOC = Docagem Molecular

DM = Dinâmica Molecular

DFT = Teoria do Funcional de Densidade

TFD = Terapia fotodinâmica

E-pro = Proteína envelope

M-pro = Proteína da membrana

S-gly = Glicoproteína de pico

N-pro = Nucleocapsídeo viral

RMSD = Raiz do desvio quadrático médio

GB = Born generalizado

G = Energia livre de Gibbs

SASA = rea superficial acessível ao solvente

T = Temperatura

R = Constante dos gases ideais.

fs = fentossegundo

ns = nanosegundo

MVD = Molegro Virtual Docker

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO	13
1.1 CONTEXTO GERAL.....	13
1.2 MOTIVAÇÃO	15
1.3 OBJETIVOS	16
1.3.1 Objetivo Geral	16
1.3.2 Objetivos Específicos	17
CAPÍTULO 2 – REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1 SARS-CoV-2 e COVID-19.....	18
2.1.1 A estrutura do SARS-CoV-2	19
2.1.1.1 Glicoproteína de pico.....	20
2.1.1.2 Proteína da membrana ou matriz	20
2.1.1.3 Proteína Envelope	21
2.1.2 Adsorção dos SARS-CoV-2 em superfícies	22
2.2 FTALOCIANINAS.....	23
2.3 MODELAGEM MOLECULAR.....	26
2.3.1 Teoria do Funcional de Densidade	26
2.3.2 Docking Molecular	28
2.3.3 Mapa de Potencial Eletrostático	30
2.3.4 Dinâmica Molecular	31
2.3.4.1 Raiz do desvio quadrático médio.....	33
2.3.4.2 Área de superfície acessível ao solvente.....	33
2.3.4.3 Energia livre de Gibbs	34
CAPÍTULO 3 – METODOLOGIA DA PESQUISA	36
3.1 DOC	36
3.1.1 Preparação do alvo	36

3.1.2	Preparação do ligante	37
3.1.3	Protocolo de encaixe usado no Molegro Virtual Docker	37
3.1.4	Método do Mapa de Potencial Eletrostático.....	38
3.2	DM	39
3.2.1	Protocolo para Simulações de DM.....	39
3.2.2	Método SASA e modelo de solvatação implícita de GB	40
CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DISCUSSÕES.....		42
4.1	RESULTADOS DA DOCAGEM MOLECULAR.....	42
4.1.1	Resultados obtidos pelo Molegro	42
4.1.2	Análise do MEP	48
4.2	RESULTADOS DA DINÂMICA MOLECULAR.....	51
4.2.1	RMSD	51
4.2.2	SASA.....	54
4.2.3	Energia Livre de Gibbs de ligação	56
CAPÍTULO 5 - CONCLUSÕES.....		60
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....		62
APÊNDICE 1.....		84
APÊNDICE 2.....		86

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO

Neste capítulo faremos uma breve abordagem sobre a pandemia da COVID-19 provocada pelo SARS-CoV-2, o que ocasionou a busca por novas tecnologias e métodos de tratamento, além da possível utilização de ftalocianinas (Pc) de Cobalto (CoPc), Cobre (CuPc) e não metálicas (NoPc) para o combate desta doença. Do mesmo modo, serão introduzidas as motivações deste estudo juntamente com seus objetivos, ou seja, as principais questões relacionadas ao tema e de que forma esses objetivos elencados no trabalho pretendem auxiliar na solução.

1.1 CONTEXTO GERAL

No final do ano de 2019, foi reconhecido o SARS-CoV-2 (YAMAMOTOYA *et al.*, 2021; LAM *et al.*, 2020), um novo coronavírus (CoV), causando uma síndrome respiratória aguda grave (YANG *et al.*, 2021), e seu surto provocou uma pandemia conhecida como COVID-19 (MURRAY *et al.*, 2021; SUPPAKITJANUSANT *et al.*, 2021), ocasionando uma grande preocupação para a população devido a elevada taxa de contaminação, capacidade de propagação e índice de letalidade (ZHOU *et al.*, 2020; ZHU *et al.*, 2020).

A COVID-19 vem causando um grande impacto na sociedade e na economia, tornando-se um evento crítico de biossegurança (YU *et al.*, 2020), atingindo uma taxa de letalidade de 4,01% no ápice da pandemia na China (LI *et al.*, 2020). Sabe-se que a COVID-19 é transmitida principalmente pelas vias respiratórias, de forma que a disseminação humana se dá por gotículas expelidas pela tosse, espirro, até mesmo pela respiração e fala normal de uma pessoa infectada (LEUNG *et al.*, 2020; CHUA *et al.*, 2020).

Bloqueios (HAUG *et al.*, 2020) e restrições (SPELTA e PAGNOTTONI, 2021). foram impostos para impedir a disseminação da COVID-19, já que o controle de uma doença infecciosa é baseado no conhecimento de seu modo de transmissão (LEUNG *et al.*, 2020). Nesta situação, as melhores formas de se evitar a transmissão da COVID-19, são por meios das medidas de distanciamento social (KWON *et al.*, 2021; SAHI *et al.*, 2021) ou seja, reduzindo o contato próximo entre indivíduos (BENZELL *et al.*, 2020; CHU, *et al.*, 2020). Mas quando o distanciamento social não é possível, algumas medidas de higiene pessoal (MUKHERJEE *et al.*, 2021) devem ser mantidas, assim como o uso de máscaras (CATCHING *et al.*, 2021; VAN STRATEN *et al.*, 2021).

Com o andamento da pandemia do COVID-19, podemos destacar a importância da ciência dos materiais, na busca por novas ferramentas e tecnologias para pesquisa de antivirais e desenvolvimento de tratamento para combater o SARS-CoV-2 (TANG *et al.*, 2020). Uma das

formas de pesquisa é a realização de simulações de computador (TABARI *et al.*, 2020) com dados relacionados, usando Modelagem Molecular (MM) (LIU *et al.*, 2021; ARANTES *et al.*, 2020) através de *Docking* Molecular (DOC) e Dinâmica Molecular (DM).

O DOC se destaca como uma ferramenta muito importante para prever a afinidade de uma molécula por outra, ou seja, uma biomacromolécula (VIJESH *et al.*, 2013; KUMAR *et al.*, 1992). Embora as simulações de DOC sejam ferramentas muito úteis, elas carecem de informações sobre a dinâmica de biomoléculas e complexos de ligantes. Ao realizar simulações de DM, o comportamento dinâmico de arranjos (GOWERS *et al.*, 2016) podem ser monitorados e sondados em diferentes escalas de tempo, permitindo estudos de movimentos internos rápidos e mudanças conformacionais lentas para processos complexos, como ligação de ligante a um sítio ativo ou dobramento de proteína (HOLLINGSWORT e DROR, 2018; CHILDERS e DAGGETT, 2017). O número de aplicações de DM em medicamentos está sempre aumentando e seria quase impossível nomear todas. Quando empregados em conjunto, os procedimentos *in silico* e experimentais oferecem conhecimento das características elaboradas do reconhecimento intermolecular, tornando tal procedimento geralmente uma boa prática na descoberta de agentes inibidores do vírus (ANAYA-PLAZA *et al.*, 2019).

Na busca por possíveis inibidores do SARS-CoV-2, podemos destacar o desenvolvimento de um antisséptico bucal derivado de ftalocianinas (Pc) que surge como uma alternativa promissora para a redução da carga viral e a melhora clínica de pacientes infectados que apresentavam sintomas leves e moderados (da SILVA SANTOS *et al.*, 2021; ORCINA *et al.*, 2021; VILHENA *et al.*, 2021). As Pc são compostos químicos com aplicações em vários sistemas tecnológicos, como, pigmentos (SCHREIVER *et al.*, 2015), catalisadores (MACKINTOSH *et al.*, 2008; WANG *et al.*, 2019; KESHIPOUR *et al.*, 2021), biossensores (MPHUTHI *et al.*, 2017; KERMAN *et al.*, 2008), sensores químicos (VALLI, 2005), corantes (KIMURA *et al.*, 2013) e terapia fotodinâmica (TFD) (LI *et al.*, 2018; KILINC *et al.*, 2020; VELAZQUEZ *et al.*, 2019; SHARMA *et al.*, 2020), devido as suas diversas propriedades eletrônicas e ópticas (AZIM-ARAGHI *et al.*, 2012).

A utilização das Pc como corantes fotossensibilizantes em TFD (CHEN *et al.*, 2021), possui finalidade para tratamentos: antimicrobianos (AHMAD *et al.*, 2019; AL-AZMI *et al.*, 2019), antivirais (REMICHKOVA *et al.*, 2017), ceratose actínica, doença de Bowen, câncer de pele ou micose fungóide em estágio I ou II (BARON *et al.*, 2010). O estudo da aplicação das Pc como inativadores virais vem mostrando excelentes resultados quando testados nos vírus da diarreia viral bovina (BVDV), vírus influenza A (H3N2), poliovírus tipo 1 (PV-1) e tipo de adenovírus humano 5 (HadV5) (NIKOLAEVA-GLOMB *et al.*, 2017), vírus da imunodeficiência tipo 1 (HIV-1), HIV-2 e cepas do vírus da imunodeficiência símia em vários

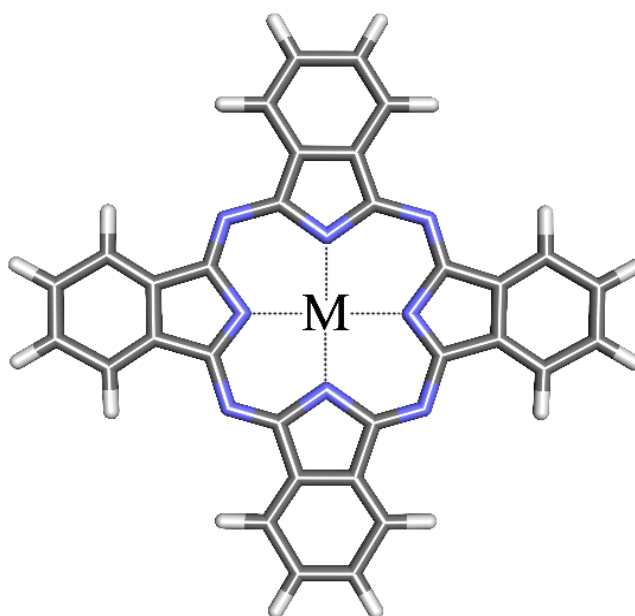
tipos de células (FRANÇOIS *et al.*, 2009). Alguns trabalhos com abordagem computacional, mostram que as Pc, quando associadas com outros compostos (MURUGAN *et al.*, 2020), podem se ligar simultaneamente à protease semelhante a 3C (3CLpro), protease semelhante à papaína (PLpro), RNA polimerase dependente de RNA (RdRp) e a proteína spike (S), podendo servir como drogas de alvos múltiplos; além da alta sensibilidade do SARS-CoV-2 à inativação fotodinâmica por Pc solúvel em água (Zn-PcChol₈₊), como forma de erradicar patógenos em lesões localizadas, meios líquidos infectados e em várias superfícies (SHARSHOV *et al.*, 2021).

1.2 MOTIVAÇÃO

Em todos os processos biológicos, as interações entre as biomoléculas desempenham um papel fundamental, pois constituem redes regulatórias e metabólicas, que são requisitos básicos para a vida. As técnicas de MM visam monitorar e analisar essas interações e também prever interações ou estruturas desconhecidas de biomoléculas em interação. Portanto, é imperativo que o DOC combinado com outras técnicas computacionais e a DM forneçam resultados confiáveis.

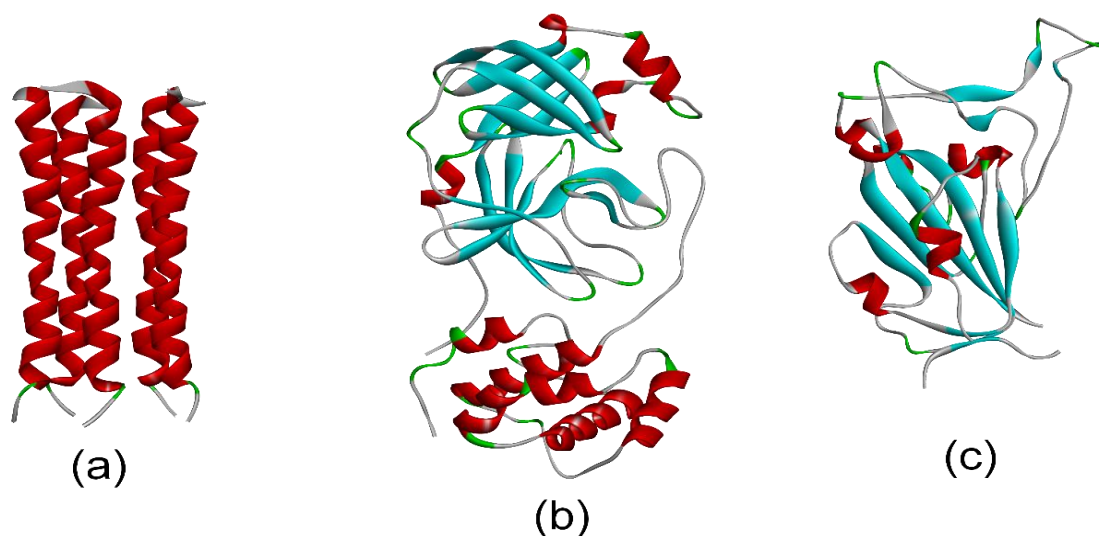
Visando a confiança destes resultados e na possibilidade de se obter possíveis inibidores do SARS-CoV-2, este trabalho se propõe a fazer uma análise da interação das Pc de Cobalto (CoPc), Cobre (CuPc) e sem grupo metálico (NoPc) (figura 1.1) com as estruturas da superfície (E-pro, M-pro e S-gly) dos SARS-CoV-2 (figura 1.2).

Figura 1.1: Estrutura da ftalocianina M= Co, Cu e sem metal.



Fonte: Próprio autor.

Figura 1.2: Macroestruturas do SARS-CoV-2 utilizadas: (a) E-pro; (b) M-pro (c) S-gly.



Fonte: www.rcsb.org/pdb.

Arıcı e seus co-autores (2013) sintetizaram e investigaram algumas propriedades eletroquímicas e espectroquímicas de metalftalocianinas (MPc). Os autores descobriram que CuPc e CoPc realizam melhores reações de transferência de elétrons do que a NoPc, mostrando uma melhora no comportamento REDOX dos anéis aromáticos da Pc. Assim, pode-se entender que a adição de metais de transição no centro da Pc, de fato, proporciona a passagem de corrente elétrica em sua estrutura molecular. Este aumento no comportamento do REDOX em moléculas é muito importante para diversas aplicações, especialmente para eletrocatalise e eletrossensores. Segundo Yu e seus co-autores (2016), as Pc poderão ser utilizadas como filtragem por adsorção em tintas nas paredes, máscaras, roupas e filtros de ar condicionado.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo Geral

Avaliar as interações das ftalocianinas de cobalto, cobre e sem metal com as estruturas externas do SARS-CoV-2 através de Docking e Dinâmica Molecular na tentativa de analisar uma possível inibição ou inativação do vírus.

1.3.2 Objetivos Específicos

- a) Otimizar as moléculas CoPc, CuPc e NoPc funcionalizando através da Teoria do Funcional de Densidade (DFT);
- b) Otimizar os resíduos das proteínas E-pro, M-pro e S-gly do SARS-CoV-2;
- c) Determinar o sítio ativo de interação entre a E-pro, M-pro e S-gly do SARS-CoV-2 ao interagirem com CoPc, CuPc e NoPc através do DOC por meio do Software Molegro.
- d) Aplicar DM aos complexos formados após a DOC, por meio do Software GROMACS;
- e) Indicar por meio da raiz do desvio quadrático médio (RMSD) das posições atômicas, cálculos utilizando o modelo de solvatação implícita de Born generalizado (GB), energia livre de Gibbs (G) e abordagem da área de superfície acessível ao solvente (SASA) o complexo (receptor/ligante) mais favorável ao processo de adsorção.

Apresentados esses elementos que justificam e norteiam o estudo, é pertinente também discorrer sobre o vírus SARS-CoV-2 e mais detalhadamente sobre MM, apresentando algumas definições e propriedades. Essa abordagem de revisão da literatura será realizada no capítulo seguinte.

CAPÍTULO 2 – REVISÃO DA LITERATURA

Nesta revisão resumimos o entendimento atual da natureza do SARS-CoV-2 e da COVID-19; abordaremos sobre as Pc e a aplicação de MM, a partir da DFT, DOC e DM.

2.1 SARS-CoV-2 e COVID-19

No final de 2019, um novo CoV designado como SARS-CoV-2 surgiu na cidade de Wuhan, China, e causou um surto de pneumonia viral incomum. Por ser altamente transmissível, essa nova doença coronavírus, também conhecida como doença coronavírus 2019 (COVID-19), se espalhou rapidamente por todo o mundo (WU *et al.*, 2020), tornando-se uma pandemia global (ZHU *et al.*, 2020) de forma que o surto contínuo de COVID-19 representa uma ameaça extraordinária à saúde pública global (DENG e PENG, 2020). A alta eficiência de transmissão do SARS-CoV-2 e a abundância de viagens internacionais possibilitaram a rápida disseminação da COVID-19 em todo o mundo (HU *et al.*, 2021).

O SARS-CoV-2 é transmitido via fômites e gotículas durante o contato próximo e desprotegido entre o infectado e o não infectado. Pacientes sintomáticos e assintomáticos são a principal fonte de infecção. O vírus também pode se espalhar por meio de transmissão por contato indireto. Gotículas contendo vírus contaminam as mãos, as pessoas então entram em contato com as membranas mucosas da boca, nariz e olhos, causando infecção. A transmissão do SARS-CoV-2 não se limita ao trato respiratório (DU *et al.*, 2020). Alguns estudos (TANG *et al.*, 2020; LIMA *et al.*, 2021) demonstraram a transmissão por aerossol do SARS-CoV-2. Durante o surto de COVID-19, LIU *et al.* (2020) investigaram a natureza aerodinâmica do SARS-CoV-2 medindo o RNA viral em aerossóis em dois hospitais de Wuhan, indicando que o SARS-CoV-2 tem potencial para se espalhar por meio de aerossóis. Pode haver a possibilidade de transmissão aérea em instalações de saúde devido a aerossóis gerados por procedimentos médicos. Segundo CHAN *et al.* (2020), a disseminação do COVID-19, a transmissão aerotransportada é a rota dominante.

As manifestações clínicas diferem com a idade; WANG *et al.* (2020) indicam que os casos com mais de 60 anos apresentam níveis mais elevados de nitrogênio ureico no sangue, indicadores inflamatórios e mais lesões bilaterais em lóbulos. Os pacientes com mais de 60 anos têm maior chance de insuficiência respiratória e cursos mais longos da doença. No entanto, naqueles com menos de 60 anos, a gravidade é mais leve (LIU *et al.*, 2020).

A COVID-19 foi rapidamente descoberta como sendo causada por um CoV posteriormente denominado síndrome respiratória aguda grave coronavírus 2 (SARS-CoV-2) (ZHU *et al.*, 2020), que pertence à família dos beta coronavírus. É o sétimo CoV conhecido a

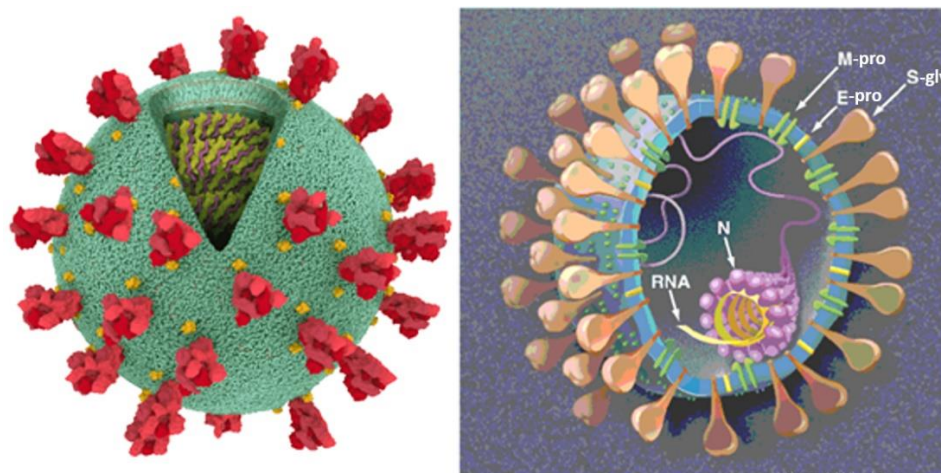
infectar humanos; quatro desses CoV (229E, NL63, OC43 e HKU1) causam apenas leves sintomas de resfriado comum. Por outro lado, os outros três, SARS-CoV, MERS-CoV e SARS-CoV-2, são capazes de causar sintomas graves e até a morte, com taxas de letalidade de 10%, 37% e 5%, respectivamente (HUANG *et al.*, 2020).

2.1.1 A estrutura do SARS-CoV-2

O SARS-CoV-2 é um vírus com envelope de RNA de fita simples (LU *et al.*, 2020). Uma abordagem de sequenciamento de próxima geração metagenômica baseada em RNA foi aplicada para caracterizar todo o seu genoma, que tem 29.881 pb de comprimento (GenBank no. MN908947), codificando 9.860 aminoácidos (CHEN *et al.*, 2020). O RNA do SARS-CoV-2 possui 96% de similaridade com o genoma do CoV de morcego RaTG13 (GenBank: MN996532.1), com 79,5% e 50% de identidade com SARS-CoV BJ01 (GenBank: AY278488.2) e MERS-CoV HCoV-EMC (GenBank: MH454272.1), respectivamente, e pertence à mesma família de vírus que causou SARS e MERS (MITTAL *et al.*, 2020). Isso sugere que os morcegos são possivelmente os hospedeiros de origem 2019-nCoV, e pode ter sido transmitido diretamente dos morcegos ou através de um hospedeiro intermediário desconhecido para infectar humanos (ZHU *et al.*, 2020; GUO *et al.*, 2020).

O material genético do SARS-CoV-2 é representado por uma única molécula de RNA positivo (RNA+). Todo o seu genoma contém menos de 30.000 nucleotídeos, cada um deles formado por uma molécula de açúcar (ribose), um ácido fosfórico e uma base nitrogenada (UZUNIA, 2020). Por ser um vírus RNA, as bases nitrogenadas são adenina, citosina, guanina e uracila.

Figura 2.1: Estrutura do SARS-Cov-2 (S-gly, E-pro, M-pro e N).



Fonte: Uzunia, 2020.

Aproximadamente 29 diferentes proteínas virais são identificadas; entre elas, as mais relevantes são a glicoproteína de pico (S-gly), proteína de envelope (E-pro), proteína de membrana (M-pro) e nucleocapsídeo viral (N), que são as proteínas estruturais (BRIAN e BARIC, 2005) como mostra a figura 2.1.

2.1.1.1 Glicoproteína de pico

A Glicoproteína de pico (S-gly) é uma estrutura grande, com comprimento em torno de 9 a 12 nm, sendo ela quem media a entrada do CoV nas células hospedeiras (LI *et al.*, 2005). As S-gly formam homotrímeros que se projetam da superfície viral, caracterizam por serem a porta de entrada dos CoV, portanto, é um alvo antiviral atraente.

A S-gly é composta por duas subunidades funcionais, incluindo as subunidades S1 e S2. A subunidade S1 consiste no domínio N-terminal (NTD) e no domínio de ligação ao receptor (RBD). A função da subunidade S1 é ligar-se ao receptor na célula hospedeira. A subunidade S2 contém o peptídeo de fusão (FP), a repetição do heptal 1 (HR1), a hélice central (CH), o domínio conector (CD), a repetição do heptado 2 (HR2), o domínio transmembranar (TM) e a cauda citoplasmática (CT). A função da subunidade S2 é fundir as membranas dos vírus e células hospedeiras. O local de clivagem na fronteira entre as subunidades S1 e S2 é denominado local de clivagem da protease S1 / S2. Para todos os CoV, as proteases do hospedeiro clivam a glicoproteína de pico no local de clivagem S2 para ativar as proteínas que são críticas para fundir as membranas dos vírus e células hospedeiras por meio de alterações conformacionais irreversíveis. Os glicanos ligados a N são críticos para o dobramento adequado, neutralizando anticorpos e decorando extensivamente os trímeros de proteína de pico (WALLS *et al.*, 2020; WRAPP *et al.*, 2020).

MARIANO *et al.*, (2020) esclarecem que a S-gly tornou-se um alvo importante para o desenvolvimento de medicamentos e vacinas. Na verdade, desde a emergência repentina de SARS-CoV-2, numerosos estudos relataram a estrutura da S-gly em vários estados (pré-fusão, pós-fusão e / ou em complexo com ACE2).

2.1.1.2 Proteína da membrana ou matriz

A Proteína da membrana (M-pro), também conhecida como 3Clpro, é a principal protease codificada pelo SARS-CoV-2 (YANG e RAO, 2021). A M-pro é a mais abundante dos CoV, com um domínio do terminal NH₂ curto fora do vírus e um terminal COOH longo (domínio citoplasmático) dentro do vírus (THOMAS, 2020). A M-pro é um importante componente que desempenha um papel destacável no tamanho, na forma e na manutenção do vírus, auxiliando na formação da S-gly, E-pro e N-pro e participa do processo de brotação (MAHTARIN *et al.*, 2020). A M-pro compõe a membrana do vírus, através de três

transmembranas previstas em formato helicoidal. Seu papel é conduzir a estruturação de novos vírus dentro das células hospedeiras (MARIANO *et al.*, 2020).

Os CoV formam complexos, que apresentam um comportamento de vírus como partícula através da interação de M-pro e E-pro ou M-pro e N, e a combinação é obrigatória para organização do VLP, bem como seu transporte e liberação; além disso, a interação M-pro e S-gly auxilia na fixação desta última ao vírus (MAHTARIN *et al.*, 2020).

A M-pro promove a clivagem proteolítica em 11 sítios diferentes de poliproteínas não funcionais de CoV. A partir de tais clivagens são formadas proteínas virais funcionais, incluindo RNA-polimerase dependente de RNA, helicase (proteína de ligação a RNA de fita simples), exoribonuclease, endoribonuclease e 2-O-ribose-metiltransferase. Todas consideradas essenciais nos processos de replicação e infecção viral. Desta forma, a inibição da M-pro emerge como estratégia promissora para intervenção terapêutica e obtenção de novos antivirais contra infecções por CoV (FAN *et al.*, 2004).

2.1.1.3 Proteína Envelope (E-pro)

A E-pro é uma pequena proteína de membrana integral envolvida em vários aspectos do ciclo de vida do vírus: formação, brotamento, envelopamento e patogênese (SCHOEMAN e FIELDING, 2019). A análise topográfica estrutural de superfície demonstrou que a mesma opera como um poro na membrana do vírus, canalizando íons e interagindo com as demais estruturas que compõem o vírus e as células hospedeiras (BIANCHI *et al.*, 2020).

A E-pro possui em sua constituição uma transmembrana de domínio (TMD), capaz de oligomerizar outras proteínas, interagir com suas outras estruturas, formando um canal iônico (MARIANO *et al.*, 2020). Realiza interação por meio do terminal C com outra E-pro, além de interagir com a M-pro servindo de intermediário com o Retículo endoplasmático de Golgi, chamado de ERGIC, iniciando assim o brotamento dos vírus nas células hospedeiras (SCHOEMAN e FIELDING, 2019).

A ação da E-pro, durante o ciclo de replicação viral, necessita que a mesma esteja presente em abundância no interior da célula do infectado, embora uma pequena porção é incorporada ao envelopamento do vírus. A maioria da proteína é encontrada no tráfego intracelular, por meio do ERGIC, onde participa da formação e do brotamento do vírus. Estudos demonstraram que quantidades reduzidas de E-pro nos vírus prejudica a maturação viral prejudicada, ou seja, impede o espalhamento viral, provando a importância da E-pro na produção e maturação do vírus (SCHOEMAN e FIELDING, 2019).

A E-pro é uma proteína de membrana curta e integral de 76-109 aminoácidos, variando de 8,4 a 12 kDa de tamanho. A estrutura primária e secundária revela que E tem um terminal

amino hidrofílico (terminal N), carregado negativamente, curto, constituído por 7 a12 aminoácidos, seguido por um grande domínio transmembranar hidrofóbico (TMD) extremamente hidrofóbico, composto por 25 aminoácidos e uma segunda extremidade, formada por carboxila longa (terminal C), de carga variável, e característica hidrofílica/hidrofóbica, dependendo da carga momentânea, que compreende maior parte da proteína (SCHOEMAN e FIELDING, 2019).

A E-pro em um meio com pH variando entre 6,0 e 7,4, torna-se ativa, enquanto em pH entre 8,0 a 9,0, a sua atividade é reduzida. Dessa forma, fatores eletrofisiológicos, pode-se encontrar inibidores da E-pro, *in vitro*, sendo potenciais no tratamento contra o SARS-CoV-2 (CABRERA-GARCIA et al., 2021).

2.1.2 Adsorção dos SARS-CoV-2 em superfícies

Foi de suma importância a descoberta de que a contaminação de superfícies possui grande influência em termos de transmissão de SARS-CoV-2 (SANTARPIA *et al.*, 2020). A avaliação dos mecanismos de adesão do SARS-CoV-2 em diferentes fômites são cruciais para prevenir a deposição e projetar métodos de remoção. A aderência físico-química e a persistência de SARS-CoV-2 difere com as características das fômites e da superfície externa do vírus, bem como nas condições ambientais circundantes, como temperatura do ar, umidade relativa (UR) e luz solar (REN *et al.*, 2020).

O mecanismo de adesão do SARS-CoV-2 em superfícies ambientais ainda não foi adequadamente delineado, mas foi previsto que é impulsionado principalmente por atrações eletrostáticas (por exemplo, pH, ponto isoelétrico (pI) e força iônica), em seguida, efeitos hidrofóbicos e ligações menos covalentes (por exemplo, forças de van der Waals) que poderiam promover a ligação da S-gly a superfícies sólidas (JONES *et al.*, 2020). Uma vez que a carga superficial dos vírus difere com a variação do pH, a interrupção das interações eletrostáticas entre vírus e fômites geralmente envolvem a alteração do pH, pI e força iônica para manipular a persistência do vírus (VASICKOVA *et al.*, 2010). O vírus é excepcionalmente estável em uma ampla faixa de pH (3–10), enquanto mostra baixa estabilidade em valores de pH (3–5) em comparação com pHs alcalinos (9–12) (CHIN *et al.*, 2020).

Além disso, a redução na força iônica do meio circundante entre os vírus e a fômite resulta em interações eletrostáticas ampliadas e reduz a agregação de superfície de vírus aderidos (CASTAÑO *et al.*, 2020). As forças de van der Waals também desempenham um papel menor na adsorção física na curta distância entre o vírus e as fômites (FUHS *et al.*, 1985). A E-pro é uma camada lipídica altamente hidrofóbica do SARS-CoV-2 protegendo todo o vírus e alterando a hidrofobicidade da superfície pode inibir a aderência do mesmo às superfícies enquanto inativa

esta proteína (SIDDIQUE *et al.*, 2020). Com efeitos hidrofóbicos, a adesão pode ser minimizada na interface entre a água e as superfícies apolares dos vírus, reduzindo assim a ligação, diminuindo a apolaridade dele (ARMANIOUS *et al.*, 2016).

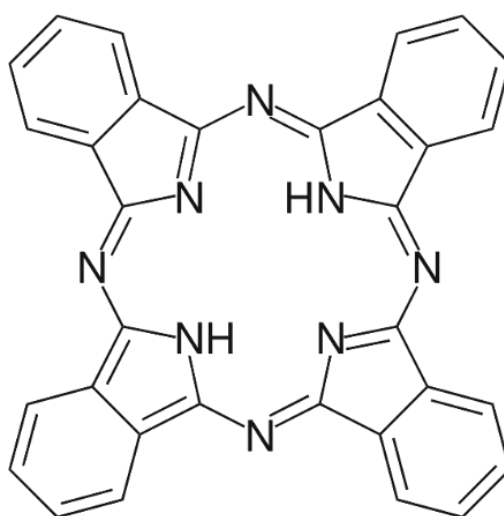
Esse conhecimento é importante não apenas no que diz respeito ao desenvolvimento de revestimentos antivirais, mas também para adaptar os protocolos de esterilização e desinfecção durante surtos epidêmicos, quando a falta de equipamentos de proteção e desinfetantes ocorre por profissionais de saúde, como foi o caso durante os primeiros meses da pandemia COVID-19 (XIN *et al.*, 2021).

Nanomateriais exibem altas afinidade de superfície ajustável para vírus. A adsorção de vírus por nanomateriais é um tópico interessante para removê-los, e proteger os seres humanos de infecções que ameaçam a vida (LI *et al.*, 2020). Compreender as interações moleculares entre os vírus e as superfícies sólidas externas às proteínas são cruciais para controlar a transmissão ambiental e projetar processos de remoção e estratégias de tratamento.

2.2 FTALOCIANINAS

As Ftalocianinas (Pc) são compostos orgânicos de fórmula $C_{32}H_{16}N_8$, com uma estrutura planar que inclui um anel constituído por oito átomos de nitrogênio e oito de carbono unidos mediante ligações duplas conjugadas como ilustra a Figura 2.2. A primeira Pc foi sintetizada acidentalmente em 1907 como um composto azul não identificado quando a o-cianobenzamida foi aquecida a alta temperatura e essa substância é atualmente conhecida para ser a ftalocianina livre de metal (base livre) (BRAUN e TCHERNIAC *apud* VAN STADEN, 2015).

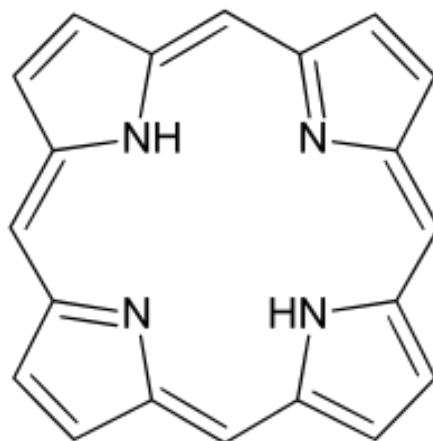
Figura 2.2: Estrutura molecular da ftalocianina de base livre (NoPc).



Fonte: PEREIRA (2009).

As Pc, apesar de terem uma estrutura semelhante às porfirinas naturais (figura 2.3), como por exemplo a hemoglobina, a vitamina B12 ou a clorofila, não se encontram na natureza, devido ao fato dos seus precursores não serem de origem natural (TOMÉ, 2015).

Figura 2.3: Porphirina.



Fonte: PEREIRA (2009).

As Pc formam complexos de coordenação com grande parte dos metais, formando as ftalocianinas metálicas (MPc), as mais exploradas são as sintetizadas com metais da primeira série de transição, pela maior facilidade de serem obtidas (KASUGA e TSUTSUI *apud* SCHEIDT, 2018).

As MPc exibem uma série de propriedades que as tornam de grande interesse em diferentes áreas científicas e tecnológicas apresentando alta estabilidade térmica e química, absorção óptica, condutividade elétrica, fotocondutividade, propriedades semicondutoras, larga faixa de absorção dentro da região visível e habilidade em formar filmes finos bem ordenados (YUHAI-LING *apud* SCHEIDT, 2018). Para algumas aplicações, as moléculas de Pc devem ser adsorvidas nas superfícies. A adsorção muitas vezes acarreta mudanças nas propriedades moleculares genuínas, que podem levar a novas características benéficas ou são prejudiciais às atraentes propriedades da molécula livre (KRÖGER *et al.*, 2018).

Estruturalmente as Pc são macrocíclicos planares que comportam no seu centro de simetria um átomo metálico, fixado por ligações covalentes ou eletrostáticas, dependendo o tipo de metal. Alguns metais que podem ocupar o centro deste ligante são: Mg, Pb, Ni, Sb, Pt, Zn, Hg, Sn, Pd, Co, Cu, Na e Li (STOLBERG, 2000).

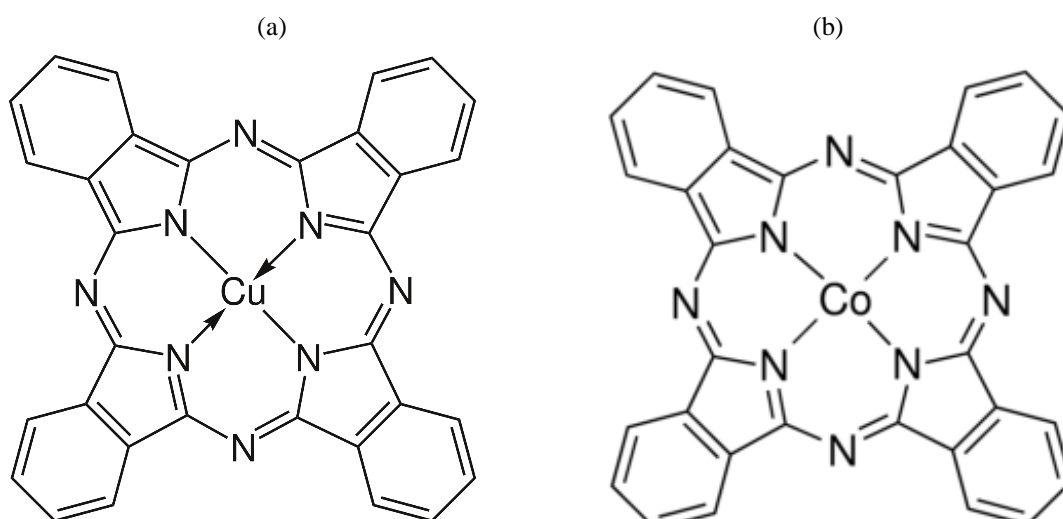
É válido ressaltar que neste estudo, foram utilizadas a MPc de Cobre (CuPc), Cobalto (CoPc) e a NoPc, como descrito no capítulo anterior.

Para se obter a MPc de Cobre e Cobalto, deve ser realizada uma síntese, com relativa facilidade, a partir de anidrido ftálico em presença de amônia ou de qualquer derivado nitrogenado do ácido ftálico, como a ftalimida, ftalonitrilo e ftalamida, quando aquecidos com os próprios metais ou derivados seus (STOLBERG, 2000). As NoPc normalmente são preparadas via a desmetalização de uma MPc alcalino ou um metal alcalino terroso, que são formados através de reações com o ftalonitrilo e um sal metálico ou outros reagentes formadores do macrociclo (SCHEIDT, 2018).

A CuPc (ilustrada na figura 2.4a) foi acidentalmente sintetizada em 1927 (DIESBACH e VON DER WEID *apud* VAN STADEN, 2015); elas oferecem excelente resistência ao calor e a luz, a ataques ácidos ou alcalinos e por isso estão presentes em praticamente todos os tipos de tintas para impressão e pinturas em geral, plásticos, tecidos, argamassas, sabões, detergentes e outros produtos de limpeza. São pigmentos de cor azul que podem adquirir tons de verde ou mesmo tomarem-se verdes sendo clorados ou bromados (STOLBERG, 2000).

A CoPc (ilustrada na figura 2.4b) é revelada há muito tempo, para grande parte de reações químicas como catalisador heterogêneo e homogêneo. Funcionando assim como um catalisador de potencial redox em que o estado de oxidação tem bastante variação do complexo metálico gerando um ciclo catalítico (LEITE, 2016). Essa atividade catalítica do referido complexo é dependente de um íon metálico no centro da estrutura química e ainda, da oxidação total do complexo. O uso do macrocíclico na confecção de eletrodos de tinta de carbono quimicamente modificados tem se revelado como uma ótima aplicação analítica (NASCIMENTO *apud* LEITE, 2016).

Figura 2.4: (a) CuPc e (b) CoPc.



Fonte: STOLBERG (2000) E LEITE (2016)

As propriedades fotofísicas das Pc são fortemente influenciadas pela presença e natureza do elemento metálico central (TEDESCO *et al.*, 2016), amplamente utilizados em procedimentos teranósticos devido às suas propriedades fototerapêuticas e fotodiagnósticas (ANSARI *et al.*, 2014) além de aumentar a fototoxicidade da molécula em sistemas biológicos (TEDESCO *et al.*, 2016).

Várias Pc foram estudadas quanto à sua capacidade de inativação fotodinâmica (PDI) de vírus (vírus da estomatite vesicular, VSV), seja intracelular ou vírions livres (BEN-HUR *et al.*, 1992). Pc catiônicas com alumínio demonstraram uma capacidade marcante de inativar o vírus Sindbis, VSV e o vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) em concentrados de sangue vermelho (RYWKIN *et al.*, 1992).

A PDI é uma terapia que envolve a combinação sinérgica de um composto fotossensibilizador, oxigênio molecular e luz a um comprimento de onda adequado. Essa combinação pode resultar na formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) que possuem ação tóxica a biomoléculas vizinhas, sendo assim, capaz de matar os microrganismos patogênicos (TAKIUCHI *et al.*, 2005). Uma grande vantagem na fotoinativação viral é a possibilidade de destruição completa do material genético do vírus, não permitindo a recuperação da viabilidade viral, evitando o desenvolvimento da resistência. Os vírus são parasitas intracelulares obrigatórios e causam diversas doenças nos seres humanos e nos animais, desde uma simples gripe até infecções fatais. Os efeitos colaterais de sua infecção e a baixa eficiência de fármacos em seu combate requerem uma busca por novas alternativas e/ou abordagens terapêuticas que sejam eficazes na eliminação viral (OLIVEIRA, 2016).

2.3 MODELAGEM MOLECULAR

2.3.1 Teoria do Funcional de Densidade

A teoria do funcional da densidade, DFT (da sigla inglesa *Density Functional Theory*), é um dos métodos químicos quânticos, que permite calcular uma gama de propriedades por apresentar resultados teóricos próximos aos experimentais e muitas vezes permite compreender sobre a geometria, propriedades eletrônicas e espectroscópicas dos sistemas em análise, levando aos cálculos de propriedades moleculares (ORIO *et al.*, 2009). De acordo com COHEN *et al.* (2012), o sucesso por trás desta teoria está na correlação de troca funcional, que utiliza a densidade eletrônica para descrever intrinsecamente o efeito de muitos corpos com o formalismo de uma única partícula.

A elevada precisão dos resultados eletrônicos calculados utilizando DFT, além da baixa sobrecarga computacional, houve a difusão deste método, fazendo com que ele se tornasse um dos mais populares métodos computacionais utilizados (KADUK *et al.*, 2012). O Método DFT se apresenta adequado para descrever com precisão estruturas moleculares complexas, que requer aproximações mais acuradas.

A DFT leva em consideração o conceito de funcional, que pode ser definido como uma função que depende de outra função. Neste caso, a energia da molécula é dada pelo funcional da densidade ρ (eq. 2.1)

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

Assim, a DFT busca encontrar o valor do funcional F. A teoria de Kohn-Sham, a qual descreve as densidades eletrônicas e suas subseqüentes correlações com energias moleculares, é dada na sua forma mais simples (eq. 2.2) como

$$E_{DFT}[\rho] = T[\rho] + E_{ne}[\rho] + T[\rho] + E_x[\rho] + E_c[\rho] \quad , \quad (2.2)$$

onde,

E: energia total,

T :energia cinética dos elétrons,

E_{ne} : energia de atração coulômbica núcleo-elétron,

J: energia de repulsão elétron-elétron,

E_x e E_c : correspondem, respectivamente, às energias de troca e correlação elétron-elétron.

Uma vez que cada termo da eq. 2.2 é uma função da densidade eletrônica ρ , cada uma das energias T, E_{ne} , J, E_x e E_c é um funcional e sua determinação representa o desafio da teoria DFT. Os três primeiros termos podem ser obtidos razoavelmente bem utilizando métodos ab initio ou semi-empíricos. Porém, os termos de troca e correlação eletrônica são descritos de forma diferente na DFT.

A maior fonte de erro em DFT está na natureza aproximada da energia de troca e de correlação. Por isso, numerosos esquemas têm sido desenvolvidos para obter formas aproximadas do funcional para esta energia, sendo que atualmente ainda há esforços na busca por funcionais mais precisos para aplicação em áreas específicas (ATKINS e FRIEDMAN, 2005).

Em especial o funcional B3LYP, que é atualmente um dos funcionais de DFT mais utilizado e citado na literatura (XIN *et al.*, 2017; BECKE, 1993), é um funcional híbrido, com um sofisticado conjunto de bases que apresentam bom desempenho na obtenção de propriedades de moléculas formadas por carbono (C), nitrogênio (N), oxigênio (O) e hidrogênio (H).

Uma das aproximações usadas em essencialmente todos os métodos computacionais é a introdução de um conjunto base. Expandir uma função desconhecida, como um orbital molecular (OM), em um conjunto de funções conhecidas não é uma aproximação se o conjunto base for completo. Entretanto, um conjunto base completo significa que um número infinito de funções precisa ser usado, o que é impossível em termos práticos. O tipo das funções de base usadas também influencia na exatidão. Quanto melhor uma única função-base é para representar a função desconhecida, menos funções de base serão necessárias para atingir um dado nível de precisão. Sabendo que o esforço computacional dos métodos *ab initio* é formalmente proporcional à quarta potência do número de bases utilizadas, é de suma importância reduzir ao máximo o conjunto de bases sem comprometer a qualidade dos resultados (FERMI *apud* FARIAS, 2015).

Neste trabalho utilizamos a função de base B3LYP / LANL2DZ (d, p) que de acordo com KRUSE *et al.* (2012) ela inclui interações de dispersão; a mesma foi escolhida por ser uma boa descritora de moléculas envolvendo metais de transição (HAY e WADT, 1985). A otimização de geometria das espécies em estudo é o primeiro passo na maioria dos estudos teóricos/computacionais, e a utilização do DFT para tal propósito, é confiável, pois há uma concordância com resultados obtidos experimentalmente (ORIO *et al.*, 2009).

2.3.2 *Docking* Molecular

O *Docking* Molecular (DOC) é um método computacional que têm como principal objetivo prever o modo de ligação e a afinidade de pequenas moléculas dentro do sítio ativo de um receptor de interesse, permitindo estimar a energia de interação a partir de funções de pontuação ou de *scoring* (CHAUDHARY e MISHRA, 2016), com base na afinidade de ligação, sendo esta energeticamente favorável (MORRIS e LIM-WILBY, 2008).

Os métodos de DOC para investigar a afinidade de ligação de moléculas com atividade biológica com seus receptores são compostos por dois componentes principais: o algoritmo de busca e a função de avaliação, responsáveis respectivamente por pesquisar diferentes conformações e orientações dos ligantes dentro da proteína alvo; e responsável por estimar as afinidades de ligação das conformações geradas, classificando-as e identificando o(s) modo(s) de ligação mais favorável do ligante ao receptor (COUTINHO e MORGON 2007).

Tratando-se de uma metodologia computacional, a evolução do poder de processamento tem sido essencial para cálculos mais extensos, e mais precisos, permitindo desde uma descrição de complexidade maior do sistema ou mesmo a possibilidade de utilização de grandes bancos de dados, normalmente com milhões de compostos (MUNIZ, 2018). Tendo em vista esses fatores, a descrição física do sistema deve encontrar um equilíbrio praticável entre acurácia e tempo computacional, o que representa um grande tema de estudo na área, abordando particularmente as funções de pontuação (MUNIZ, 2018). A interação reversível entre um ligante e um receptor pode ser quantificada a partir da constante de ligação (K_A), expressa para um receptor (R), interagindo com um ligante (L) e resultando em um complexo ligante-receptor (RL), como mostrado nas eq. 2.3 e 2.4:



$$K_A = \frac{[RL]}{[R][L]} . \quad (2.4)$$

A variação na energia livre devida à ligação (ΔG), ou simplesmente energia livre de ligação, está correlacionada à constante de ligação, como indicado na eq. 2.5:

$$\Delta G = -RT \ln K_A , \quad (2.5)$$

onde,

T: temperatura, K

R: constante dos gases ideais, J/mol.K.

Conforme MUNIZ (2018), em uma simulação de DOC, almeja-se a avaliação de interações moleculares de forma a estimar ΔG , permitindo assim um ranqueamento dos melhores ligantes dentro de um sistema de moléculas.

Atualmente, há diversas metodologias e pacotes de software disponíveis para DOC automatizado que fornecem previsões aliadas a bom desempenho e rapidez com baixo custo computacional (GUEDES *et al.*, 2014). Alguns programas possibilitam uma combinação de algoritmos de busca e funções de pontuação, por exemplo, o programa Molegro Virtual Docker (MVD) (THOMSEN e CHRISTENSEN, 2006; HEBERLE e AZEVEDO, 2011).

Neste trabalho utilizamos o MVD por ser um programa de simulação de acoplamento de proteína-ligante que nos permite realizar simulações de acoplamento em um pacote computacional totalmente integrado. O MVD foi aplicado com sucesso a centenas de proteínas diferentes, com desempenho de docking semelhante a outros programas de docking, como AutoDock4 e AutoDock Vina (BITENCOURT-FERREIRA e AZEVEDO, 2019).

BADAVATH *et al.* (2020) relatam a triagem virtual, por meio da DOC, de 118 compostos com 16 frações heterocíclicas distintas em comparação com 5 produtos naturais e 7 drogas reaproveitadas; inibidores que têm uma ampla diversidade estrutural e incluem uma variedade de estruturas para gerar um grande conjunto de potenciais inibidores da M-pro.

2.3.3 Mapa de Potencial Eletrostático

O Mapa de Potencial Eletrostático (MEP) é um importante conceito que será explorado neste estudo é a correlação da atividade da estrutura dos inibidores estudados através das características do MEP. O MEP permite a utilização de uma análise qualitativa para localizar sítios reativos numa molécula, e determinar os papéis desempenhados por ambos os efeitos eletrônicos e estéricos (tamanho/forma) sobre a sua potência. É de fundamental importância que a visualização do MEP forneça informações qualitativas sobre as moléculas, tais como o comportamento da interação entre um ligante e o receptor. O MEP num dado ponto (x, y, z) na vizinhança de uma molécula é definida em termos da energia de interação entre a carga elétrica gerada a partir dos elétrons das moléculas, núcleos e uma carga de teste positivo (um próton) situado em r. Para os compostos estudados, os valores V(r) foram calculadas pela equação abaixo (POLITZER e MURRAY 2002):

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

onde,

Z_A : carga do núcleo A, localizada em R_A ;

$\rho(r')$: função da densidade eletrônica da molécula;

r' : variável de integração simulada.

O potencial eletrostático V(r) é uma propriedade local tridimensional que pode ser avaliada em qualquer ou todos os pontos r no espaço de um sistema (exceto para as posições R_A dos núcleos, nas quais os denominadores na soma da eq. 2.6 são zero). Os resultados podem ser exibidos de várias maneiras, dependendo do que for de interesse: em um ponto específico r, ao longo de algum eixo através da molécula, como uma ligação, em um plano bidimensional e assim por diante. É bastante comum calcular e mostrar V(r) em uma grade espaçada cobrindo uma superfície externa tridimensional da molécula. Tal superfície pode ser definida (arbitrariamente) de várias maneiras, por exemplo, em termos de esferas sobrepostas centradas

nas posições dos núcleos e tendo alguns raios (DU e ARTECA, 1996; CONNOLLY, 1998). Nossa preferência é seguir a sugestão de BADER *et al.* (1987) e tomar a superfície da molécula como um contorno externo de sua densidade eletrônica $\rho(r)$.

As superfícies tridimensionais dos MEP são geradas após a sobreposição na molécula de uma partícula carregada positivamente que percorre a superfície de contato de van der Waals e ao revelar uma região de repulsão, representa o potencial positivo, de coloração azul, e uma região de atração representa o potencial negativo de coloração vermelha.

2.3.4 Dinâmica Molecular

A Dinâmica Molecular (DM) é uma das técnicas computacionais mais versáteis para o estudo de macromoléculas biológicas (NOBERG e NILSSON, 2003; ALONSO *et al.*, 2006). A metodologia da DM é fundamentada nos princípios da Mecânica Clássica (MC) e fornece informações sobre o comportamento dinâmico microscópico, dependente do tempo, dos átomos individuais que compõem o sistema (FRENKEL e SMIT, 2001). Para se obter as propriedades macroscópicas de interesse a aplicação da Mecânica Estatística é requerida, a qual tem a função de calcular propriedades observáveis macroscópicas (pressão, energia interna, volume, temperatura, entropia, energia livre, etc), a partir de outras microscópicas.

A simulação faz-se necessária na ausência do experimental, e, assim como o experimental, a simulação de comportamento de substâncias, é embasada em obtenção de dados dos sistemas, composto por indivíduos quando expandidos gerem um conjunto representativo do mesmo, considerando o equilíbrio termodinâmico, na leitura de parâmetros físicos, por se tratar de um sistema, e não trajetórias atômicas individuais (LINDAHL, 2008). A DM possui a vantagem em relação ao DOC por reproduzir com precisão cinética propriedades mesmo que não estejam em equilíbrio termodinâmico, como difusão ou dobramento. A simulação do equilíbrio é forçada pela aplicação de forças de intensidade elevada, sobre o sistema, quando necessário, para atingi-lo. Geralmente, é necessário a minimização de energia do sistema antes da simulação de DM (LINDAHL, 2008).

Com base na Mecânica Molecular, as moléculas são tratadas como uma coleção de átomos que pode ser descrita por forças newtonianas, ou seja, são tratadas como uma coleção de partículas mantidas unidas por forças harmônicas ou elásticas. Um conjunto completo dos potenciais de interação entre as partículas é referido como “campo de força” (BROOKS *et al.*, 1988). O campo de força empírico, tal como é conhecido como uma função energia potencial, permite que a energia potencial total do sistema, $V(r)$, seja calculada como a partir da estrutura tridimensional (3D) do sistema. $V(r)$ é descrito como a soma de vários termos de energia,

incluindo os termos para átomos ligados (comprimentos e ângulos de ligação, ângulos diedros) e os termos para átomos não ligados (interações de van der Waals e de Coulomb). Um típico campo de força é representado pela eq. 2.7:

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

onde,

V_l : energia de estiramento da ligação em relação a seu valor de equilíbrio (ou ideal);

V_θ : energia de deformação do ângulo de ligação em relação a seu valor de equilíbrio;

V_ϕ : energia devido à torção em torno de uma ligação;

V_{vdW} : energia das interações de van der Waals e

V_{elec} : energias de atração ou repulsão eletrostática entre duas cargas.

Todos os campos de força comuns subdividem funções potenciais em duas classes: As interações de ligação e as interações de não-ligação. As de ligação se referem a ligação covalente, flexão em ângulo, potenciais de torção, rotação e torção imprópria fora do plano. As interações de não ligação abrangem repulsão Lennard-Jones e dispersão eletrostática Coulombiana (LINDAHL, 2008).

Para minimizar a energia, o algoritmo de *steepest descent* desloca cada átomo por uma curta distância na direção de diminuição de energia, enquanto a DM é realizada pela integração de equações de Newton do movimento (CHANDLER, 1987).

Simulações biomoleculares típicas usam condições de contorno periódicas para evitar falsa superfície, de modo que uma molécula de água que sai para a direita reaparece à esquerda; E se a caixa é suficientemente grande, as moléculas não irão interagir significativamente com suas cópias periódicas. Isso está intimamente relacionado às interações não ligadas, que idealmente deveriam ser somadas a todos os vizinhos no sistema periódico infinito resultante (LINDAHL, 2008).

Com intuito de facilitar a aplicação desta metodologia de implementação campos de forças para DM, utilizamos o software de livre acesso GROMACS, onde pode-se simular uma ampla faixa de moléculas e estruturas, desde materiais biológicos até estruturas inorgânicas, em que são adicionados parâmetros para que o programa possa ler os dados de forma automática. O GROMACS é um dos códigos de software livre e de código aberto mais amplamente usados em trabalhos computacionais, usado principalmente para simulações dinâmicas de biomoléculas. Ele fornece um rico conjunto de tipos de cálculo, ferramentas de preparação e análise. Várias técnicas avançadas para cálculos de energia livre são suportadas.

2.3.4.1 Raiz do desvio quadrático médio

A Raiz do desvio quadrático médio ou *root-mean-square deviation* (RMSD) indica o quanto a estrutura da proteína muda durante uma simulação, sendo a estrutura inicial, geralmente cristalográfica. A estabilidade das estruturas geradas pela simulação pode ser avaliada pelo cálculo do RMSD. A análise baseia-se na escolha de uma estrutura de referência qualquer (geralmente a estrutura inicial, $t=0.0\text{ns}$) e então o desvio é calculado para cada estrutura gerada pela simulação (AIER *et al.*, 2016). Quanto mais distantes estiverem as estruturas analisadas, maior será o valor do desvio.

Por meio do módulo do programa CPPTRAJ, foram extraídas as informações necessárias para a criação dos gráficos dos valores RMSD em função do tempo. Esses valores indicam os desvios das estruturas geradas durante a simulação em relação à estrutura inicial obtida através da DOC, ou seja, a estabilidade e equilíbrio do sistema considerando a dimensão do tempo. A equação que o rege é:

$$\text{RMSD} = \sqrt{\frac{\sum_{i=0}^N [m_i (X_i - Y_i)^2]}{M}}, \quad (2.8)$$

onde,

N: número de átomos;

M_i: massa do átomo *i*;

X_i : vetor coordenado para o átomo alvo *i*;

Y_i : vetor coordenado para o átomo de referência *i* e

M : massa total do sistema.

Caso o RMSD não possuir peso em massa, considera-se que todos $m_i = 1$ e $M = N$.

O RMSD corresponde às conformações de um determinado conjunto de pontos já obtidos, fornecendo uma medida da diferença na posição inicial desses mesmos conjuntos. O objetivo deste cálculo é validar se as estruturas geradas com a DM estão em equilíbrio, fazendo uma comparação entre todas as estruturas obtidas durante o processo de DM, e suas posições em relação ao receptor.

2.3.4.2 Área de superfície acessível ao solvente

A área de superfície acessível ao solvente (ASAS) ou SASA (*Solvent Accessible Surface Areas*) de uma biomolécula é uma forma de quantificar a superfície molecular, na qual a área

descreve o contato entre a proteína e o solvente. A área dos resíduos hidrofóbicos, hidrofílicos e área total (hidrofóbicos + hidrofílicos) exposta ao solvente são computadas por átomos, resíduos e em função do tempo (VIEIRA, 2007). Métodos empíricos, tais como a SASA, muitas vezes constituem formas simples e rápidas de avaliação da energia de solvatação com uma precisão comparável aos modelos teóricos (FERRARA *et al.*, 2002). Na abordagem SASA, a energia livre de solvatação do soluto é expressa como a soma das contribuições atômicas, ponderada pelas suas áreas expostas ao solvente (FERRARA *et al.*, 2002).

2.3.4.3 Energia livre de Gibbs

A energia livre define as afinidades de ligação das interações proteína-proteína e proteína-ligante, e a eficiência das ligações possíveis também quantifica muitos outros processos importantes, como reações enzimáticas, transferência de elétrons (NOLL e HUGHES, 2018), transporte de íons através das membranas (GUIDELLI e BECUCCI, 2011) e solvatação de pequenas moléculas (LINDLEY, 1967).

O método de MM-PBSA é utilizado para determinar a Energia livre de Gibbs, sendo resultado da combinação entre a metodologia de MM de área superficial de Poisson-Boltzmann (MM-PBSA) com MM de área superficial generalizada de Born (MM-GBSA), são usados tradicionalmente em simulações de bio-DM em projeto de fármacos (KERRIGAN, 2013).

A energia livre de Gibbs de ligação do complexo solvatado, pelo método MM-PBSA, pode ser expresso como:

$$\Delta G_{\text{ligação}} = G_{\text{complexo}} - (G_{\text{receptor}} + G_{\text{ligante}}), \quad (2.9)$$

onde,

G_{complexo} : energia livre total do complexo receptor-ligante;

G_{receptor} : energia totalmente livre do receptor isolado;

G_{ligante} : energia totalmente livre do ligante em solvente.

A energia livre para cada entidade individual pode ser dada por

$$G_x = \langle E_{MM} \rangle - TS + \langle G_{\text{solvatação}} \rangle, \quad (2.10)$$

onde,

x: receptor ou ligante ou complexo receptor-ligante;

$\langle E_{MM} \rangle$: energia potencial média da mecânica molecular no vácuo;

TS: contribuição entrópica para o energia no vácuo onde T e S denotam a temperatura e entropia, respectivamente;

$\langle G_{\text{solvatação}} \rangle$: energia livre de solvatação.

A $\langle E_{MM} \rangle$, inclui a energia das interações ligadas e não ligadas, e é calculada com base nos parâmetros de campo de força da MM a seguir:

$$E_{MM} = E_{\text{ligação}} + E_{\text{não-ligação}} = E_{\text{ligação}} + (E_{vdW} + E_{elec}), \quad (2.11)$$

onde,

$E_{\text{ligação}}$: são interações ligadas que consistem em interações de ligação, ângulo, diedro e impróprias;

$E_{\text{não-ligação}}$: são as interações não ligadas que incluem interações eletrostáticas (E_{elec}) e van der Waals (E_{vdW}) e são modeladas usando uma função potencial de Coulomb e Lennard-Jones (LJ), respectivamente. Na abordagem de trajetória única, a conformação do receptor e do ligante nas formas ligada e não ligada são consideradas idênticas. Assim, $E_{\text{ligação}}$ é sempre considerado zero (HOMEYER e GOHLKE, 2012).

A $\langle G_{\text{solvatação}} \rangle$ é a energia necessária para transferir um soluto do vácuo para o solvente. Na abordagem MM-PBSA, é calculado usando um modelo implícito de solvente. A $\langle G_{\text{solvatação}} \rangle$ é expressa como os dois termos a seguir:

$$G_{\text{solvatação}} = G_{\text{polar}} + G_{\text{não-polar}}, \quad (2.12)$$

onde G_{polar} e $G_{\text{não-polar}}$ são as contribuições eletrostáticas e não eletrostáticas para a energia livre de solvatação respectivamente.

CAPÍTULO 3 – METODOLOGIA DA PESQUISA

O capítulo anterior introduziu de maneira mais abrangente alguns pontos abordados neste estudo, para a utilização da DOC e da DM. Neste capítulo, serão abordados, de maneira mais específica, alguns aspectos relacionados à metodologia utilizada na pesquisa, apresentando os recursos computacionais, bem como a teoria que subsidia esse tratamento.

3.1 DOC

O DOC é uma ferramenta muito importante para prever a afinidade de uma molécula por outra. Para a análise das interações das Pc em estudo com as estruturas da superfície dos SARS-CoV-2, citadas anteriormente, utilizamos o software Molegro Virtual Docker 4.2 (MVD) (BITENCOURT-FERREIRA e AZEVEDO, 2019; PUSPANGTYAS, 2015). A função de pontuação do Molegro (PUSPANGTYAS, 2015) se aplica a todos os átomos pesados no ligante e na proteína, incluindo os átomos do cofactor (RAMALHO *et al.*, 2011; FREITAS *et al.*, 2009). A seguir é mostrado os atributos adotados para realizar o DOC, desde a preparação do alvo e do ligante até o protocolo de encaixe entre ambos no Molegro.

3.1.1 Preparação do alvo

Todas as simulações foram realizadas com base no modelo receptor + ligante (GUEDES *et al.*, 2014), onde três estruturas foram selecionadas E-pro (PDB ID: 7K3G), M-pro (PDB ID: 6LU7) e S-gly (PDB ID: 7BZ5) do repositório Protein Data Bank (PDB) (www.rcsb.org/pdb) (BERMAN *et al.*, 2002). Os receptores foram otimizados usando o software Chimera 1.15.6 (CHM) (GODDARD *et al.*, 2005) para encontrar as condições ideais que satisfizeram os vários alvos predefinidos; a complexidade adicional surge para tarefas que envolvem experimentação ou cálculos computacionais (WHITEHEAD *et al.*, 1977; FELLER, 1996; COSTA *et al.*, 2019; SILVA *et al.*, 2019).

Usamos a função *minimize structure* do CHM, com o objetivo de limpar pequenas estruturas de moléculas e melhorar as interações localizadas em sistemas maiores. Foi utilizado a minimização da descida mais íngreme para primeiro para aliviar os confrontos altamente desfavoráveis, seguida pela minimização do gradiente conjugado, que é muito mais lenta, mas mais eficaz em atingir um mínimo de energia após o alívio dos choques severos.

Os estados de protonação potencialmente ambíguos ou raros (pKa deslocado), especialmente em locais de ligação e resíduos não padronizados, devem ser verificados e corrigidos antes que as cargas sejam atribuídas. Por exemplo, os hidrogênios extras podem ser excluídos e os tipos de átomos podem ser editados (antes da adição do hidrogênio). Utilizamos

os valores padrão para as etapas de descida ingrimmes e gradiente conjugado padrão como uma função de realização escalar de propósito geral para otimização de múltiplos alvos, onde as classificações são o fator limitante e seu desempenho foi bem estabelecido usando diferentes algoritmos de otimização de propósito único, essa permite que uma ampla classe de algoritmos de otimização encontre rapidamente. Em condições ideais, neste sentido, utilizamos o campo de força AMBERFF14SB (SANDY e WIKE, 2021) padrão para obter a estrutura com a melhor conformação baseada no conjunto, onde também calculamos suas cargas de potencial eletrostático restrito (RESP) ((NINHAM e PARSESIAN, 1971; YU *et al.*, 2004).

3.1.2 Preparação do ligante

Os ligantes foram selecionados baseados em sua estabilidade quanto aos softwares utilizados. As estruturas 3D dos ligantes foram construídas no GaussView 6.0 (ZHENG *et al.*, 2009) e o conformador mais estável de cada ligante foi pesquisado (MEYERS, 2016) empregando o método DFT (de OLIVEIRA *et al.*, 2020; SOUZA *et al.*, 2020; MOTA *et al.*, 2018; MACHADO *et al.*, 2009). O melhor conformador foi escolhido e otimizado pela abordagem DFT com o funcional B3LYP/LANL2DZ (d, p) através do software Gaussian09. As estruturas otimizadas de todos os ligantes foram salvas no formato de arquivo pdb. Todos os metais coordenados para Pc neste estudo estavam no estado 2+ (APOSTOLI e CATALANI, 2015).

3.1.3 Protocolo de encaixe usado no Molegro Virtual Docker

Todos os parâmetros necessários foram especificados usando o Molegro Docking Wizard (BITENCOURT-FERREIRA e AZEVEDO, 2019). O espaço de pesquisa, foi especificado; um valor de raio é necessário no Molegro, que foi definido como 30 Å, para incluir todos o segmento das macroestruturas no espaço de busca. “MolDock SE” foi selecionado para o algoritmo de busca devido ao número de ligações giratórias e à magnitude dos ligantes (DE AZEVEDO e WALTER, 2010). O MolDock faz uso de um algoritmo de busca que acopla o algoritmo de predição de cavidade ao método de evolução diferencial (TOTROV e ABAGYAN, 2008). Este algoritmo híbrido é conhecido como evolução diferencial guiada. O tamanho da população e o número máximo de iterações (minimização em cada etapa do algoritmo MolDock SE) foram definidos em 150 e 2500, respectivamente (de AZEVEDO e WALTER, 2010). O número de poses foi ajustado para trinta onde corridas de encaixe independentes foram executadas. A principal superioridade do Molegro é a conclusão do reconhecimento de metais

(WANG *et al.*, 2014; KHOSA *et al.*, 2014). Portanto, o uso de Molegro é considerado para fornecer resultados mais confiáveis em relação a ligantes contendo metais diferentes. Uma vez que as pontuações de docking obtidas pelo Molegro não se referem a valores de energia, uma transformação para constantes de ligação não foi realizada. As pontuações foram avaliadas de forma relativa.

3.1.4 Método do Mapa de Potencial Eletrostático

Os MEP permitem visualizar as distribuições de carga das moléculas e as propriedades relacionadas à carga das moléculas (BAYOUMY *et al.*, 2020). Ele também nos permite visualizar o tamanho e a forma das moléculas. Em química orgânica, os MEP são inestimáveis na previsão do comportamento de moléculas complexas (WANG *et al.*, 2000). A primeira etapa envolvida na criação de um MEP é coletar um tipo de dados muito específico: a energia potencial eletrostática (ZHENG *et al.*, 2009). Utilizamos o Gaussian 09 (MAZZIOTTI, 1998) para calcular a energia potencial eletrostática a uma determinada distância dos núcleos da molécula. A energia potencial eletrostática é fundamentalmente uma medida da força das cargas, núcleos e elétrons próximos, em uma posição particular. Para analisar com precisão a distribuição de carga de uma molécula, uma quantidade muito grande de valores de energia potencial eletrostática deve ser calculada. A melhor maneira de transmitir esses dados é representá-los visualmente, como em um MEP. Os dados calculados em um modelo de densidade de elétrons da molécula derivada da equação de Schrödinger (FABRIZIO *et al.*, 2019; WEINER *et al.*, 1982). Para tornar os dados de energia potencial eletrostática fáceis de interpretar, um espectro de cores, com vermelho como o valor de energia potencial eletrostático mais baixo e azul como o mais alto, é empregado para transmitir as intensidades variáveis dos valores de energia potencial eletrostático (WEINER *et al.*, 1982). MEP molecular também ilustram informações sobre a distribuição de carga de uma molécula (POLITZER e MURRAY, 2002). MEP transmitem informações sobre a distribuição de carga de uma molécula por causa das propriedades do núcleo e da natureza da energia potencial eletrostática (SUN *et al.*, 2016). Assim, um alto potencial eletrostático indica a ausência relativa de elétrons e um baixo potencial eletrostático indica uma abundância de elétrons. Essa propriedade dos potenciais eletrostáticos também pode ser extrapolada para as moléculas.

3.2 DM

No procedimento adotado para a aplicação da DM, partimos em busca de fornecer informações do RMSD das posições atômicas (COHEN e STERNBERG, 1980; KUZMANIC e ZAGROVI, 2010), cálculos utilizando o modelo de solvatação implícita de GB (LÜTTGE, 2010; REDMILL *et al.*, 2009), energia livre de G (SHUKLA *et al.*, 2018; SHI *et al.*, 2018) e abordagem SASA (HEFFERNAN *et al.*, 2017; HANSON *et al.* 2019).

3.2.1 Protocolo para Simulações de DM

Simulações de DM das Pc ligadas as macromoléculas superficiais do SARS-CoV-2 foram realizadas usando o campo de força CHARM36 (WANG *et al.*, 2006) conforme implementado no programa GROMACS versão 2021.2 (LUNDBORG e LINDAHL, 2015) em solução aquosa explícita. A caixa foi preenchida com moléculas de água de carga de ponto único (SPC) (HUANG e TSAI, 2018). Os íons sódio e cloreto também foram adicionados ao sistema. As posições encaixadas fornecidas pelo Molegro foram usadas como estruturas iniciais e colocadas em uma caixa cúbica com dimensões de 3.2 Å, 2.8 Å e 2.2 Å, para E-pro, S-gly, e M-pro. As estruturas iniciais foram posteriormente minimizadas em termos de energia com um método de descida mais íngreme (JAILLET *et al.*, 2011). Os resultados dessas minimizações produziram as estruturas iniciais para as simulações DM. Cada sistema continha em média cerca de 12.200 átomos no total. As simulações de DM foram realizadas com um número constante de partículas, pressão e temperatura, ou seja, um sistema NPT. O algoritmo SETTLE (MIYAMOTO e KOLLMAN, 1992) foi usado para restringir o comprimento da ligação e o ângulo das moléculas de água. As interações eletrostáticas de longo alcance foram calculadas pelo método Particle-Mesh Ewald (PME) (DARDEN *et al.*, 1993). Foi aplicada uma pressão constante de 1 bar, moléculas de água e íons foram acoplados separadamente a um banho a 303 K com uma constante de acoplamento de 0,1 ps (HANSSON *et al.*, 2002). A equação do movimento foi integrada a cada 2 passos de tempo fs (KARPLUS e MCCAMMON, 2002). Cada simulação foi executada por 100 ns e os sistemas foram equilibrados durante os primeiros 10 ns. A análise das trajetórias e estruturas simuladas foram realizadas com as ferramentas embutidas do programa GROMACS. O método PME foi aplicado para calcular as interações eletrostáticas e o algoritmo do gradiente conjugado (YUAN *et al.*, 2020; YUAN *et al.*, 2019) foi usado para restringir ligações covalentes envolvendo hidrogênio. Utilizando a ferramenta CPPTRAJ (ROY *et al.*, 2017), foi possível extrair as informações necessárias para a criação de gráficos de RMSD (DA SILVA *et al.*, 2020; BELL e ZHANG, 2019) e tabelas de energia livre

(PENG *et al.*, 2015), todos em função do tempo. O RMSD indica o quanto a estrutura da proteína muda durante uma simulação, sendo a estrutura inicial, geralmente cristalográfica.

Por meio do módulo TRJCONV (SEYLER e BECKSTEIN, 2018), foram extraídas as informações necessárias para a criação dos gráficos dos valores RMSD em função do tempo. Esses valores indicam os desvios das estruturas geradas durante a simulação em relação à estrutura inicial obtida através da ancoragem molecular, ou seja, a estabilidade e 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 das ligações possíveis também quantifica muitos outros processos importantes, como reações enzimáticas, transferência de elétrons (PIOTROWIAK *et al.*, 2001), transporte de íons através das membranas (NEUBERT, 1989) e solvatação de pequenas moléculas (BARONE e POLIMENO, 2007). Usamos os scripts do método MM/PBGBSA (KUMARI e KUMAR, 2018; REN *et al.*, 2020) para realizar automaticamente todas as etapas necessárias para estimar a energia livre de ligação do complexo usando tais métodos. No entanto, é geralmente aproximado que nenhuma mudança conformacional significativa ocorre após a conexão, de modo que instantâneos das três espécies podem ser obtidos a partir de uma única trajetória (COLE *et al.*, 2010; GULZAR *et al.*, XUE *et al.*, 2019).

3.2.2 Método SASA e modelo de solvatação implícita de GB

A SASA é calculada a partir das trajetórias da DM (ZHENG *et al.*, 2019); ela inclui a área de superfície hidrofóbica, hidrofílica e total acessível ao solvente da molécula de proteína. A área de superfície calculada é a área de superfície canônica (ISLAM *et al.*, 2021). A extensão em que os aminoácidos interagem com o solvente e o núcleo da proteína é proporcional à área de superfície exposta ao solvente. Existem dois modelos de solvatação que podem ser utilizados para realizar simulações de DM de sistemas solvatados: o modelo de solvatação explícita e o modelo de solvatação implícita (LONG *et al.*, 2021). Métodos empíricos, tais como o modelo de SASA (CHAKRABORTY *et al.*, 2021; DALLIN e LEHN, 2019), muitas vezes constituem formas simples e rápidas de avaliação da energia de solvatação com uma precisão comparável aos modelos teóricos. Na abordagem SASA, a energia livre de solvatação do soluto é expressa como a soma das contribuições atômicas, ponderada pelas suas áreas expostas ao solvente (PANDEY e LEITNER, 2017; HASEL *et al.*, 1988). O modelo de solvatação contínuo tem se destacado para descrever a solvatação eletrostática. Nesta abordagem o soluto é considerado como uma cavidade embebida em um meio dielétrico. A correspondente energia livre de solvatação eletrostática pode ser calculada rigorosamente através das soluções da Equação de

Poisson-Boltzmann (PB) (LUO *et al.*, 2002), ou aproximadamente pelo uso do modelo GB (BORUKHOV *et al.*, 1997). Em estudos de associação de macromoléculas biológicas com ligantes, o modelo de solvatação implícita GB é o mais aplicado devido ao seu menor custo computacional (WANG *et al.*, 2008; SANTOS *et al.*, 2015). A combinação GB/SA tem sido reconhecida como uma excelente escolha para o tratamento implícito de solvatação em simulações biomoleculares (TANNER *et al.*, 2012). Diversas otimizações dos métodos de solvatação implícita têm sido realizadas (WANG e HOU, 2012; BIZZARRI e CANNISTRARO, 2002) e encontram-se implementados em diversos pacotes de programas de modelagem molecular como CHARMM36 (LEE *et al.*, 2014), AMBER (WANG *et al.*, 2004) e XPLOR (SCHWIETERS *et al.*, 2006).

CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DISCUSSÕES

No capítulo anterior abordamos a metodologia de pesquisa deste trabalho, mostrando as técnicas de DOC e DM a serem utilizadas. Neste capítulo seguinte apresentamos os resultados obtidos, juntamente com as discussões do mesmos.

4.1 RESULTADOS DA DOCAGEM MOLECULAR

4.1.1 Resultados obtidos pelo Molegro

Para avaliar os resultados do *docking*, é convencional utilizar o *docking score* mais baixo que pode criar uma melhor ligação entre o ligante e a proteína (THOMSEN e CHRISTENSEN, 2006). Por outro lado, utilizamos a média ponderada de Boltzmann das energias de ligação para obter um resultado mais realista, uma vez que os estados com menor energia ocorrerão com maior probabilidade do que aqueles com maior energia em um Sistema (**APÊNDICE 1**). Propomos que tal abordagem seja mais racional no que diz respeito à utilização da média padrão das pontuações de ligação ou à seleção da melhor pontuação de ligação. Os dados da Tabela 1 indicam que a ausência de metal diminui a ligação, a CoPc demonstra maior possibilidade de interação em comparação com CuPc e NoPc, para as três proteínas consideradas neste estudo. Esse resultado pode estar relacionado às diferenças significativas na hibridização dos estados 3d dos elementos de transição Co e Cu com os estados nas bandas de valência e condução, conforme observado no estudo de KLYSKO e SYROTYUK (2021). Neste trabalho os pesquisadores analisaram algumas propriedades eletrônicas para ftalocianinas de metais de transição e observaram que a hibridização para CoPc é mais forte do que CuPc, aumentando a probabilidade de interação. O MVD identifica automaticamente os locais de ligação em potencial (também chamados de cavidades ou locais ativos) usando seu algoritmo de detecção de cavidades. No caso das estruturas cristalinas para complexos E-pro, M-pro e S-gly, o programa geralmente identificou locais diferentes de ligação de onde o menor valor do score foi obtido como melhor resultado. Destas cinco cavidades previstas, aquela com o maior volume, foi selecionada para consideração, uma vez que inclui a conformação do ligante. Em cada corrida de encaixe, as melhores poses foram selecionadas com base em suas pontuações de reclassificação MVD e a média das 30 pontuações de reclassificação foi então calculada como a pontuação final para cada composto. A pontuação MVD e as pontuações de reclassificação das melhores poses para cada um dos estudos de docking dos ligantes com as macroestruturas estão resumidas na Tabela 1. A energia mais baixa ocorre entre a proteína M-pro com os ligantes CoPc e CuPc, apresentando E_{score} de -205,899 kcal/mol e -202,862 kcal/mol, respectivamente.

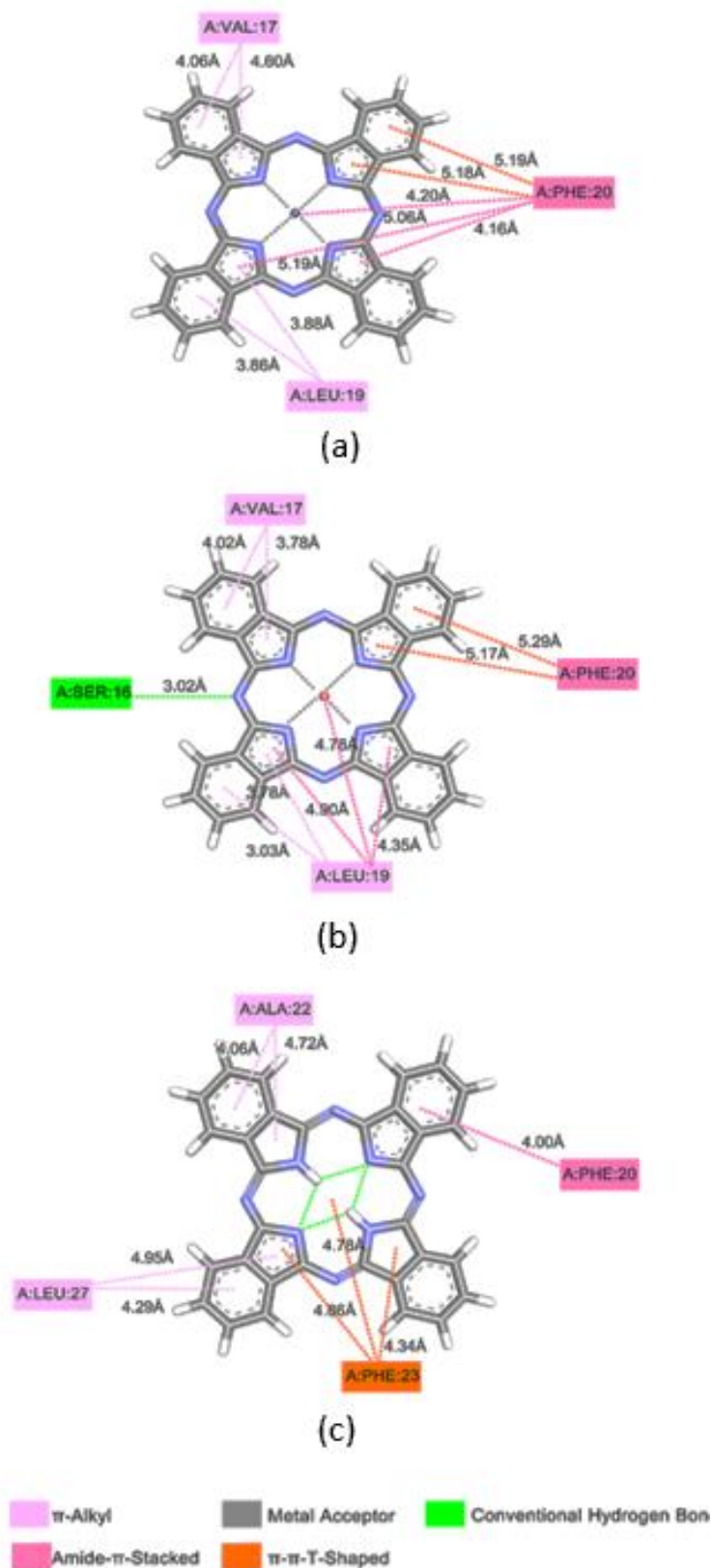
Tabela 1. Simulações de pontuação MolDock.

Complexos		MolDock Score (kcal/mol)
E-pro	CoPc	-129,007
	CuPc	-125,744
	NoPc	-102,827
M-pro	CoPc	-205,899
	CuPc	-202,862
	NoPc	-177,111
S-gly	CoPc	-142,843
	CuPc	-137,411
	NoPc	-118,795

A Figura 4.1 apresenta que a ancoragem molecular com E-pro, as interações se restringiram aos aminoácidos. A interação da E-pro com a CoPc apresenta um total de nove interações, sendo elas, quatro interações do tipo π -Alkyl onde há interação da nuvem de elétrons sobre um grupo aromático e um grupo de elétrons de qualquer do grupo Alkyl gerando ligações do tipo hidrofóbicas. Além de três interações do tipo Amide- π -Stacked e três do tipo π - π -T-Shaped, que é uma interação entre o anel aromático da LEU:19, foi observado que torna esta interação importante na organização de moléculas e acoplamentos de ligantes, como dobramento de proteínas e reconhecimento molecular. Uma descrição detalhada das ligações π e de hidrogênio está de acordo com a análise de acoplamento, verificou-se que existe afinidade da ligação, o que pode indicar um grau de influência deste tipo de interação para a energia de afinidade. A figura 4.1b mostra a interação da CuPc com a E-pro, nesta além das interações Amide- π -Stacked, π -alkyl e π - π -T-Shaped formou uma ligação convencional do hidrogênio com a SER:16, isso participa da formação de diferentes ligações químicas (como a força de van der Waals, ligações convencionais de hidrogênio e ligações carbono-hidrogênio) com a CuPc, além da presença da interação do metal presente na CuPc com a E-pro. A interação com a NoPc obteve quatro interações do tipo π -Alkyl e três do tipo π - π -T-Shaped, interação molecular não covalente entre a face de um sistema π rico em elétrons, as energias de ligação são significativas, com os valores da fase de solução caindo na mesma ordem de magnitude das ligações. Semelhante a essas outras ligações não covalentes, as interações cátion- π desempenham um papel importante na natureza, particularmente na estrutura da proteína, reconhecimento molecular e catálise enzimática. A parte central desse ligante obteve assim como as anteriores,

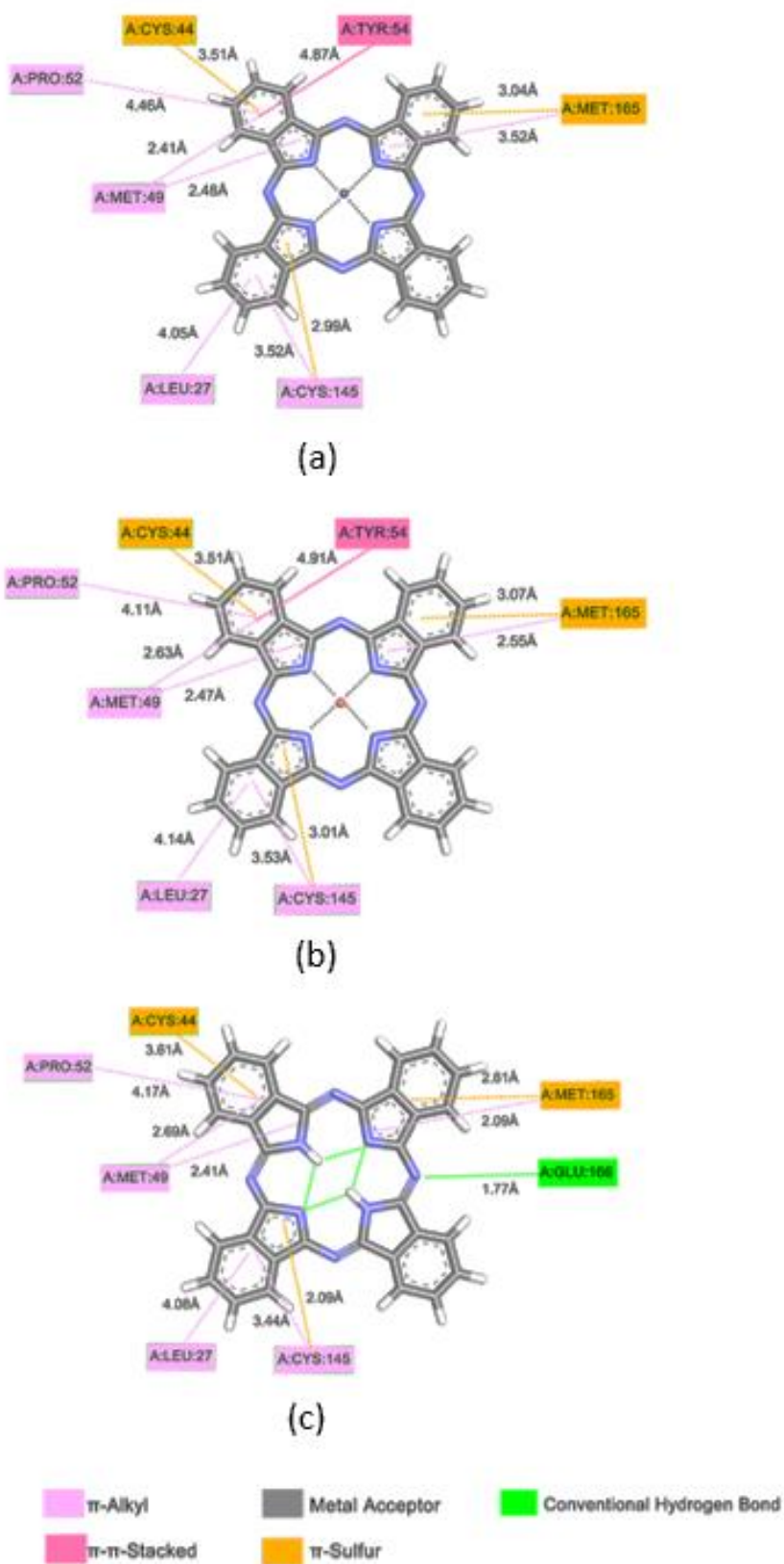
interações intramoleculares tais conexões exibiram valores de energia mais favoráveis. Isso porque esses grupos se adaptam melhor ao sítio do sítio ativo da proteína, facilitando a interação com os aminoácidos presentes.

Figura 4.1: E-pro interagindo com: a) CoPc, b) CuPc, e c) NoPc.



A figura 4.2 demonstra as interações das Pc's com a M-pro, tais interações ocorreram no sítio catalítico da protease onde estão localizados os aminoácidos MET49, LEU27, CYS145, CYS44, TYR54 e MET166.

Figura 4.2: M-pro interagindo com: a) CoPc, b) CuPc, e c) NoPc.

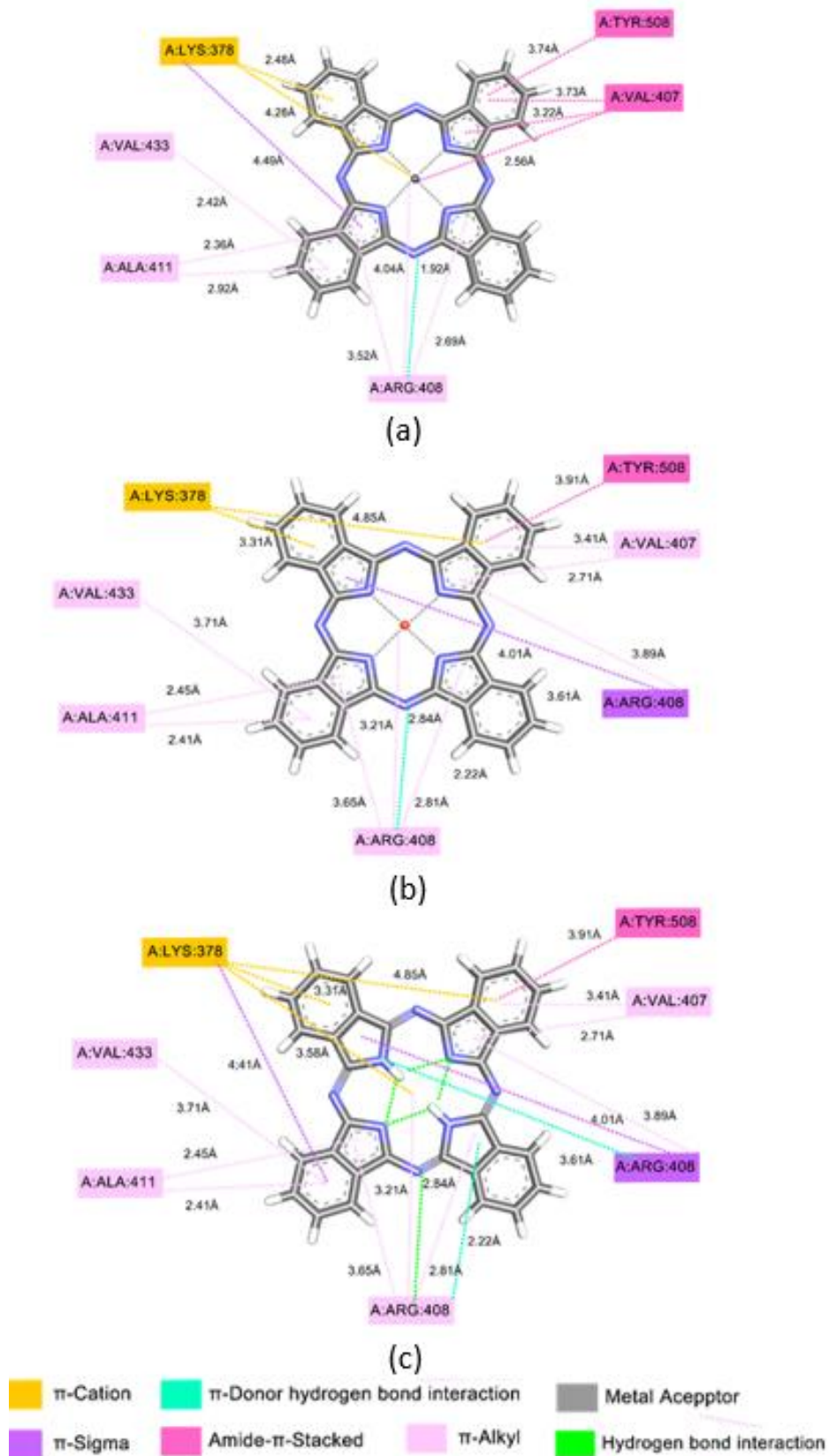


Sempre que realizamos docking proteína - ligante, o que basicamente verificamos é a conformação do ligante com o qual ele está se ligando à proteína receptora e tentamos quantificar essa energia de ligação entre eles usando várias equações de campo de força. Agora, sempre que o ligante interage com a proteína, em nível atômico, são os elétrons que estão envolvidos na formação de ligações covalentes ou não covalentes. Essas interações π -Sulfur, π -alkyl e π - π -T-Shaped vêm na ampla categoria de interações não covalentes. Nas interações π - π -alkyl, há interação da nuvem de elétrons sobre um grupo aromático e um grupo de elétrons de qualquer grupo alquil. Na interação em forma de π - π -T-Shaped há interação de nuvem de elétron entre dois grupos aromáticos, mas em forma de T, ou seja, nuvem de elétron lateral de 1 anel e na nuvem de elétron de outro anel. Na interação π -Sulfur, a nuvem de elétrons π do anel aromático interage com o par solitário de nuvem de elétrons do átomo de enxofre.

Devido ao papel crucial da S-gly no processo de infecção do SARS-CoV-2, este componente estrutural pode representar um alvo para neutralização mediada por anticorpos ou pequenas moléculas, sendo que a caracterização da estrutura de pré-fusão S permitiu a obtenção de informações essenciais do nível atômico para orientar o projeto e desenvolvimento agentes inibidores. Os aminoácidos essenciais do sítio ativo S-gly foram comparados com o relatado antes do estudo de docking para validar a seleção da bolsa de ligação correta. A Figura 4.3 mostra as interações que os ligantes tiveram na glicoproteína S Com a CoPc, a glicoproteína teve interações dos tipos π -alquil, π -cátion, π -sigma, amide- π -stacked, π -doador de hidrogênio e metal aceitador sendo esta última intramolecular. Da interação entre o receptor e os ligantes, levando em consideração tais interações, os resultados do DOC revelaram interações com o chamado sítio ativo Glicoproteína, onde há maior chance de ligação anexada aos alvos moleculares em questão. Analisando as distâncias das interações interatômicas e a partir dos resultados de DOC, observa-se que o modo de interação predito pelas posições pode indicar que possui alta capacidade de interação. A NoPc apresentou a maior quantidade de ligações, como hidrogênio, as principais interações de ligação molecular e a energia de afinidade calculada foram utilizadas para avaliar a confiabilidade do complexo previsto, o DOC foi capaz de identificar uma conformação promissora. Outro aspecto importante a ser observado é que o sítio catalítico S-gly possui características hidrofóbicas. Uma descrição detalhada das ligações π e de hidrogênio está de acordo com a análise de acoplamento, verificou-se que existe afinidade da ligação, o que pode indicar um grau de influência deste tipo de interação para a energia de afinidade. A formação de ligações de hidrogênio em quase todas as interações, exceto a S-gly, foi observada em todos os ligantes, enquanto as forças de van der Waals são formadas com grupos alifáticos. Como as ligações são muito próximas e possuem características atrativas e

hidrofóbicas, elas, portanto, podem relacionar que tais interações com estruturas macromoleculares contribuíram para a formação de melhores associações, explorando as diferenças de eletronegatividade entre os átomos.

Figure 4.3: S-gly interagindo com: a) CoPc, b) CuPc, e c) NoPc.

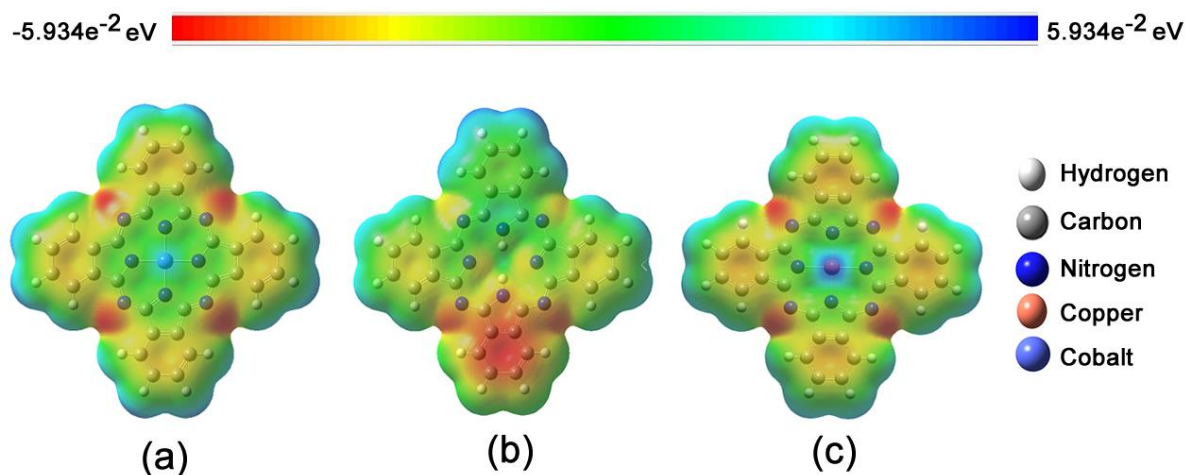


As posições assumidas pelos ligantes no sítio ativo permitem interações com os aminoácidos presentes. Cada posição tomada pode levar a associações com diferentes aminoácidos locais. Quanto menores forem as energias de ligação, mais fortes serão as interações que ocorrem entre as moléculas do ligante e os aminoácidos.

4.1.2 Análise do MEP

O MEP desempenha um papel fundamental na fase inicial da conformação bioativa (LUQUE *et al.*, 2000), explicando as interações receptor-ligante. As cores vermelha, verde e azul indicam o alto acúmulo de carga negativa, região neutra e região carregada positivamente, respectivamente, como pode ser visto na figura 4.4.

Figura 4.4: MEP para: a) CoPc, b) NoPc, e c) CuPc, com o nível teórico B3LYP / LANL2DZ.



A região de carga negativa dos Pc's e os grupos circundantes desempenham um papel fundamental na interação com as macroestruturas de forma que os potenciais eletrostáticos dos inibidores influenciem o efeito de inibição. O MEP plotado para as Pc mostrou a região potencial mais eletronegativa (cor vermelha) no átomo de oxigênio nas interações químicas presentes. O MEP para moléculas polares como Pc revela sítios que são mais ricos em elétrons e mais pobres em elétrons.

Na Figura 4.4, é possível observar que o contorno molecular da NoPc é mais eletropositivo e, portanto, pouco contribui para o deslocamento eletrônico em suas estruturas moleculares (Figura 4.4b). Esta propriedade permanece após a adição dos metais de transição à Pc, embora os átomos de Co e Cu, quando inseridos na molécula, também se tornem regiões pontualmente eletropositivas. Por outro lado, observa-se que a adição de metais de transição (Co e Cu) gera uma alteração nas regiões eletronegativas da molécula NoPc. Os elétrons dispostos

inicialmente em anéis aromáticos (figura 4.4b), foram transferidos para os quatro átomos de nitrogênio, posicionados simetricamente na estrutura molecular (figuras 4.4a e 4.4c). Portanto, verifica-se que os metais de transição invertem o sinal de carga elétrica desses átomos de nitrogênio, gerando um quadrupolo nas geometrias moleculares de CoPc e CuPc.

No entanto, o MEP de moléculas polares verdadeiras geralmente fazem um excelente trabalho prevendo a possibilidade de interações dipolo-carga e dipolo-dipolo. O MEP é amplamente utilizado como um mapa de reatividade mostrando as regiões mais prováveis de ataque eletrofílico por reagentes, semelhantes a pontos carregados em moléculas orgânicas, além de fornecer uma maneira simples de prever como diferentes geometrias podem interagir.

O MEP do complexo é obtido com base no resultado otimizado com a base B3LYP / LANL2DZ. CoPc e CuPc têm cinco locais possíveis para o ataque eletrolítico. As regiões negativas são parciais às ligações duplas carbono-carbono dentro do anel e principalmente sobre a região entre H, C, O e os metais; enquanto NoPc apresenta variações de eletronegatividade em sua superfície. Como mencionamos anteriormente, o potencial eletrostático é usado principalmente para prever localizações relativas e reatividade ao ataque eletrolítico e em estudos de reconhecimento biológico e interações de ligações de hidrogênio. Em todos os casos, as magnitudes do MEP próximas ao átomo de oxigênio do grupo C2-OH (O2) são bastante aumentadas. Comparado com a magnitude em outras áreas.

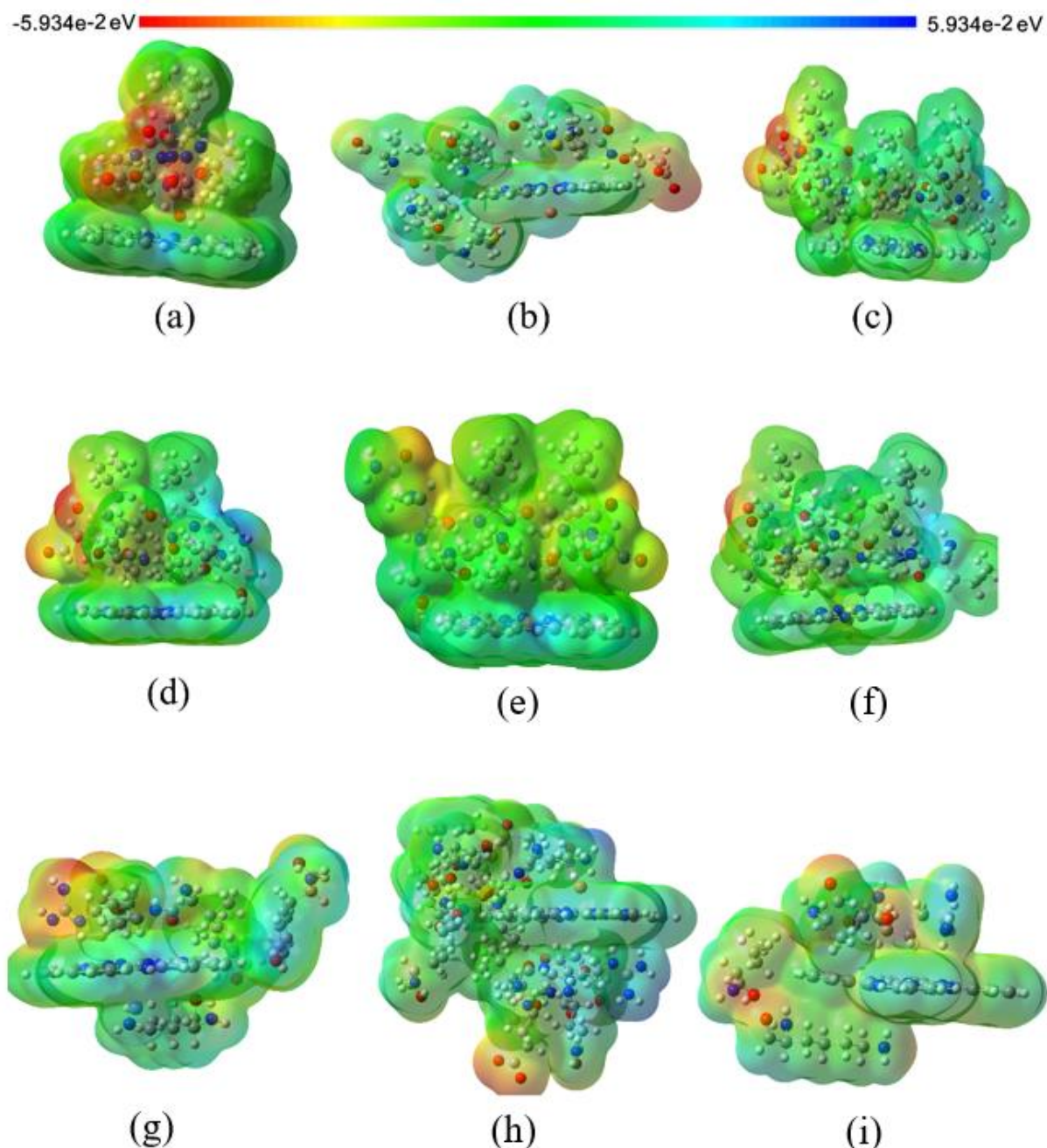
O MEP é um descritor muito útil na compreensão de sítios de ataque eletrofílico e reações nucleofílicas e para estudar o processo de reconhecimento biológico. A Figura 4.5 fornece uma apresentação visual dos sítios quimicamente ativos e reatividade comparativa dos átomos de metal quando as Pc interagem com os sítios ativos de cada macroestrutura proposta. O potencial tem sido muito útil como um indicador dos locais ou regiões do receptor que são inicialmente atraídos pela aproximação eletrófilo / nucleófilo, e também tem sido aplicado com sucesso para determinar a melhor orientação relativa de cada ligante.

O valor do potencial eletrostático é amplamente responsável pela ligação de um substrato aos seus locais de ligação ao receptor, uma vez que o receptor e o ligante correspondente se reconhecem em sua superfície molecular. No presente estudo, consideramos as interações de Pc com aminoácidos próximos a certos locais em uma série de moléculas obtidas usando densidade eletrônica contínua e são bem conhecidas por serem medidas confiáveis de suas forças relativas de aceitação de ligações de hidrogênio.

As técnicas do MEP têm sido utilizadas como estratégias independentes no estudo de compostos ativos e levam à proposição de novas moléculas para síntese e testes biológicos. As aplicações conjuntas dessas poderosas ferramentas foram cuidadosamente descritas para desvendar a relação estrutura-atividade dos compostos bioativos, conseqüentemente propondo

novas moléculas. Na figura 4.5 observamos que nas interações de E-pro com CoPc e NoPc existem regiões de tendência de reatividade eletrofílica e nucleofílica, enquanto na interação com CuPc mostra apenas uma tendência de reatividade eletrofílica, sendo também possível observar que a presença de Co influencia o aumento da densidade de carga na E-pro.

Figura 4.5: MEP da interação da E-pro com: a) CoPc, b) CuPc e c) NoPc; M-pro com: d) CoPc, e) CuPc. e f) NoPc; e S-gly com: g) CoPc, h) CuPc e i) NoPc), com o nível teórico B3LYP / LANL2DZ.



O MEP foi sensível a pequenas distorções atômicas e verificou-se que a orientação das moléculas de água entre as camadas é influenciada por mudanças nela. O MEP foi analisado na faixa de $-5,934 \times 10^{-2}$ eV a $5,934 \times 10^{-2}$ eV, o que indica que a superfície é principalmente eletrofílica

por natureza. A Figura 4.5 mostra o MEP da interação das Pc's com a M-Pro, onde a carga negativa é compensada por um próton presente no local da ponte de oxigênio. Embora a topografia geral dos mapas do MEP seja semelhante, ainda existem algumas mudanças pequenas, mas sutis. Pode-se verificar através dos cálculos de potencial eletrostático obtidos pelo método B3LYP / LAN2DZ, que o par de elétrons não ligados do átomo de nitrogênio está presente. Ainda na figura 4.5 observamos que nas interações de S-gly com CoPc, CuPc e NoPc existem regiões de tendência de reatividade eletrofílica e nucleofílica onde é possível observar que a presença de Co possivelmente influencia no aumento da densidade de carga em E- pro em relação aos resultados obtidos no MoldockScore, conforme visto acima na Tabela 1.

Através dos resultados da tabela 1, podemos verificar que quanto menor o valor do MoldockScore, o ligante + receptor tem maior afinidade, explicando assim a concentração de as cargas na E-pro serem mais altas ao interagir com o CoPc e mais baixas com o NoPc. A maior concentração de cargas torna o receptor uma maior tendência à reatividade para possíveis ligações. Esse resultado mostra que nem sempre as moléculas do inibidor devem ter essencialmente os mesmos grupos químicos encontrados no substrato original presente no sítio catalítico, o que, no caso das proteínas quinases, favorece a evolução dos sinais celulares.

A corroboração dessas interações para os inibidores estudados nem sempre foi alcançada através da medição das distâncias de ligações de hidrogênio. No entanto, os resultados obtidos por meio dessas aproximações devem ser corroborados com cálculos mais avançados usando o funcional de densidade LANL2DZ com B3LYP que leva em consideração mais variáveis eletrônicas para uma melhor descrição do complexo molecular.

4.2 RESULTADOS DA DINÂMICA MOLECULAR

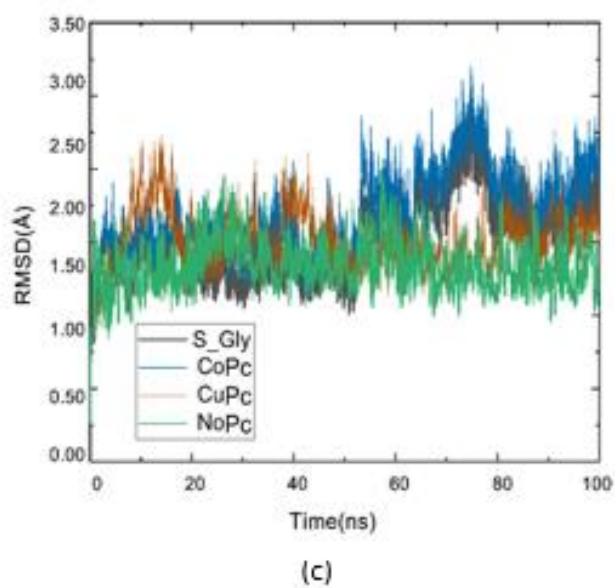
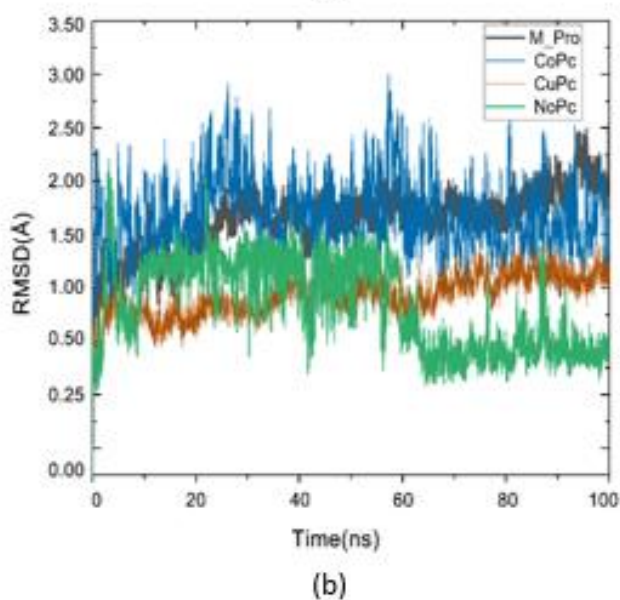
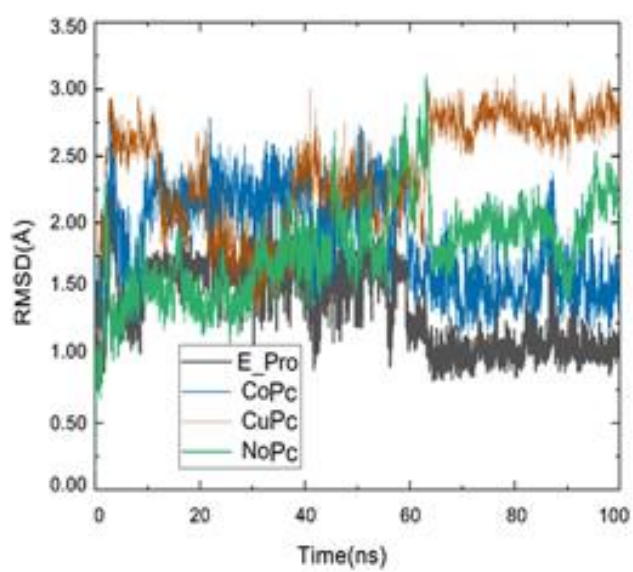
4.2.1 RMSD

O RMSD mede a distância média entre átomos de estruturas sobrepostas, assim sendo comumente utilizado para comparação de similaridade. Além disso, os valores de RMSD podem também trazer informações sobre a equilíbrio do sistema, isto é, o momento no qual a estrutura passa a convergir sobre sua conformação média mais estável. De modo geral, no início da simulação os valores tendem a aumentar bruscamente enquanto as estruturas buscam equilibrar-se até alcançarem um platô que sugere que as tais atingiram o equilíbrio. Como os valores de RMSD são dados em função do tempo, essa análise permite observação do período de tempo que as estruturas levam para se estabilizar. Neste caso, a diferença foi medida entre os átomos do *backbone* estrutura de partida (o modelo cristalográfico) e cada estrutura obtida durante os frames subsequentes da trajetória de simulação. Para validar e confirmar a estabilidade dos

complexos de proteína-ligante sugeridos, realizamos simulação de DM a 100 ns para as três Pc com cada estrutura de proteína da superfície do SARS-CoV-2 identificadas em nossos estudos de DOC. Foram calculados o RMSD para cada complexo (Figura 4.6). O valor RMSD pode prever a estabilidade do complexo de ligante das execuções de DM. Um valor RMSD mais baixo indica uma maior estabilidade do complexo de proteínas. Calculamos o RMSD dos complexos em relação ao átomo C α em relação ao tempo de simulação da DM. No geral, o RMSD médio para todos complexos foi baixo, variando de 1.12 a 3.33 Å. Assim, os resultados das análises de RMSD da trajetória para as estruturas em complexo com a E-pro foram comparados aos da proteína a fim de se notar as diferenças de comportamento no equilíbrio e estabilidade das estruturas como pode ser visto na figura 4.6a. Observou-se para E-pro que os valores do RMSD foram crescentes durante a trajetória, principalmente para a CuPc e NoPc. A simulação com a CoPc obteve valores de RMSD mais estáveis em relação a E-pro. Na Figura 4.6a, pode-se observar que as moléculas CoPc e CuPc apresentam interações mais estáveis, com valores de RMSD mais baixos em comparação com a molécula NoPc. Esse resultado está de acordo com os resultados previstos nas simulações de *docking*, discutidas anteriormente no item 4.1.1, uma vez que após a adição dos metais de transição, a molécula de Pc passou a apresentar ligações mais fortes com o E-pro.

Os gráficos de RMSD foram calculados tomando como referência estruturas correspondentes aos tempos de 0 ns de simulação. Na Figura 4.6b as curvas referentes a CoPc se mostram acompanhando o trajeto da proteína o que prediz que houve interação de menor distanciamento entre receptor-ligante. Em comparação com as curvas de RMSD dos fragmentos de CuPc e NoPc, observa-se que as curvas desses fragmentos atingem um patamar de desvio maior, porém ainda se mantêm próximos da M-pro. A figura 4.6b compara as curvas de RMSD das três Pc's em estudo. De maneira geral, a S-gly permaneceu mais estável na presença das Pc ligadas quando comparadas à sua conformação inicial. Conforme mostrado na Figura 4.6c, o RMSD de todos os três complexos obteve equilíbrio aumentou ligeiramente em torno de 70 a 80ns posteriormente se estabilizou gradualmente até o fim da no início da simulação DM. Após cerca de 100ns, os valores RMSD convergiram entre 1.0 – 2.5 Å. A estabilidade do RMSD inicial nos complexos era esperada devido à interação do inibidor com a proteína que diminuiu a flexibilidade geral da proteína. Isso é possivelmente devido ao melhor perfil de interação do composto com o sítio catalítico. No entanto, uma análise mais detalhada da flexibilidade do esqueleto da proteína foi possível a partir da maior amplitude de movimento que ocorreu por uma diminuição da flexibilidade na região de ligação ao S-gly, o que revelou a influência das interações da glicoproteína sobre os ligantes.

Figura 4.6: RMSD versus tempo dos ligantes com a) E-pro; b) M-pro e c) S-gly.

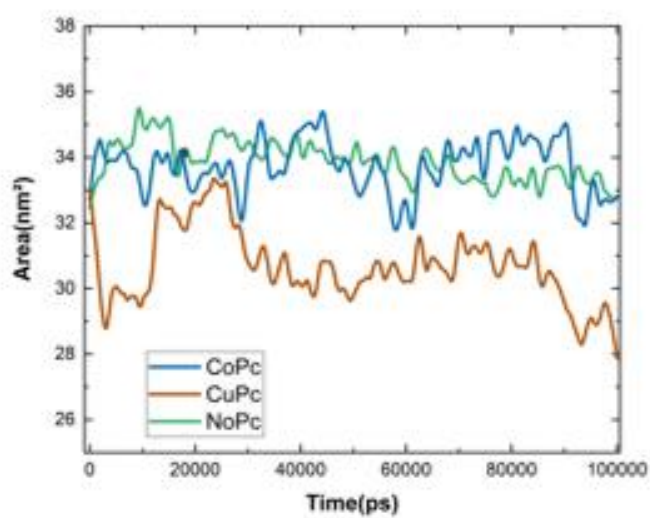


Os resultados acima também implicam que o campo de força OPLS-AA e campo de força CHARMM36 (sob o modelo de água tip3p) descrevem com precisão a estrutura dos complexos Pc+Receptor. Assim, S - Gly foi a proteína que teve as interações mais estáveis com Pc's. Este resultado também está de acordo com o que foi observado anteriormente nos resultados das simulações de docking, uma vez que S - Gly foi a proteína que apresentou mais interações com os Pc's. Consequentemente, durante a simulação DM, essas moléculas mostraram ter conformações mais estáveis

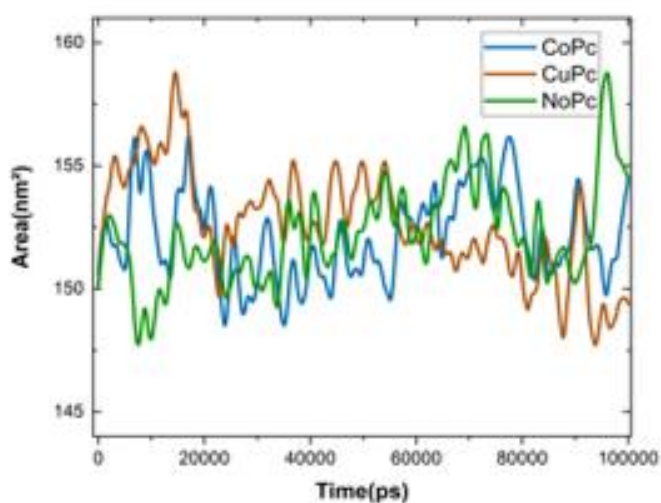
As interações das ligações químicas metálicas na CoPc e CuPc indica que as interações eletrostáticas de um grupo polar com seu entorno podem ser descritas por um modelo simples de um dipolo com momento constante sob a ação de um campo de força. Esta relação é empregada para desenvolver uma abordagem geral para gerar um modelo de carga baseado em energia eletrostática para moléculas contendo ligações químicas polares. As simulações de DM dos íons presentes nas Pc's com o sítio ativo das estruturas externas do SARS-CoV-2 fornecem uma representação melhor da interação eletrostática no ambiente de ligação, as simulações com campo de força CHARMM36 sugerem que as cargas também podem ter relação com a alteração do receptor em simulação.

4.2.2 SASA

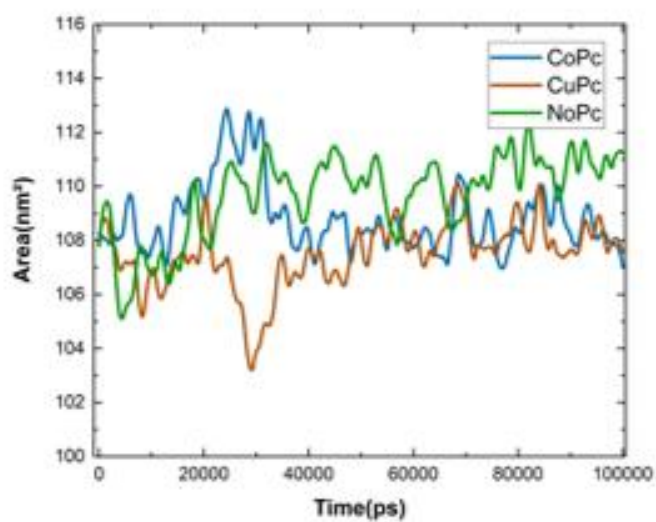
SASA foi calculado para três sistemas complexados para medir a interação entre os complexos proteína-ligante e solventes. Nas ferramentas de análise em pacotes GROMACS para calcular SASA, com o módulo `g_SAS`. As áreas de superfície polares e não polares são frequentemente definidas por meio de cargas atômicas parciais retiradas do potencial molecular utilizado. Essas cargas atômicas parciais diferem significativamente entre os campos de força. Para evitar esta dependência do campo de força, recalculamos as SASA polares e apolares médias, somando as contribuições não de acordo com as cargas parciais dos átomos, mas de acordo com se esses átomos pertencem a resíduos hidrofóbicos ou hidrofílicos. Isso pode ser feito usando a opção por resíduos na ferramenta `g_SAS`. As superfícies acessíveis ao solvente dos aminoácidos terminais são muito maiores e não dependem dos campos de força, indicando que eles estão amplamente expostos ao solvente (Figura 4.7). Os resíduos centrais que têm a menor flutuação quadrática média são também os resíduos que têm a menor área exposta ao solvente, pois estão na parte mais central da estrutura dos receptores e, portanto, protegidos do solvente. A energia livre de solvatação apolar foi estimada por meio do SASA. A energia livre da solvatação apolar de cada átomo em uma molécula é proporcional ao SASA. O termo apolar é responsável pelo rearranjo de moléculas de solvente em torno do soluto e interação do contato de van der Waals (vdW) entre o soluto e as moléculas de solvente.

Figura 4.7: Resultados SASA a) E-pro b) M-pro, e c) S-gly.

(a)



(b)



(c)

Mudanças conformacionais da E-pro modeladas ao longo do período de simulação foram estimadas usando cálculos SASA. O valor SASA médio calculado para E-pro para CuPc e NoPc durante a simulação de 100 ns foram relativamente estáveis, indicando que não houve mudanças significativas na estrutura da E-pro, porém na interação com a CoPc houveram variações significativas no período de 10 a 30 ns como visto na figura 4.7.

Os resultados confirmaram que os resíduos de M-pro estavam bem expostos e acessíveis ao solvente. Na figura 4.7, SASA apresenta a área de superfície dos receptores que é acessível a um solvente. O intervalo SASA desta estrutura de proteína para a interação com M-pro situa-se entre 15 a 20 ns e 60 a 80ns, onde a superfície do receptor se torna mais acessível. Podemos ver o valor SASA mais baixo na figura 4.7c para a CoPc para o tempo de 20 a 40 ns no início do período de simulação, para as outras duas interações o valor SASA dessa estrutura de proteína é pode ser considerado constante. Podemos analisar em todos os gráficos da figura 4.7 que o aumento do valor SASA mostrou diminuição na quantidade de proteína, o que indica que ela mostra uma diminuição na área de superfície acessível ao solvente, o que resulta em um aumento da estabilidade da proteína. A partir do gráfico, podemos ver que o valor SASA da estrutura formada por receptor+CoPc é globalmente maior quando comparado ao das outras interações, tornando a esta interação mais estável. O SASA relativo pode prever as mudanças conformacionais da proteína após a ligação dos ligantes. De acordo com os resultados do SASA; foi observado que a ligação das Pc induziu pequenas mudanças conformacionais das estruturas virais.

4.2.3 Energia Livre de Gibbs de ligação

O comportamento dinâmico dos compostos selecionados é analisado para perfis de baixa energia usando o *script* g_MM/PBSA, que utiliza o método MM/PBSA, que é usado para pós-processamento de estruturas acopladas junto com a confiabilidade da ligação do composto dentro do bolso de ligação flexível. Os 100 ns da simulação dos complexos proteína-ligante junto com a energia livre de ligação do MM-PBSA sugere que as moléculas principais se encaixam perfeitamente no local de ligação e são estruturalmente estáveis com um perfil de baixa energia. O método MM-GBSA foi calculado pela energia livre ($\Delta G_{\text{ligação}}$) das Pc com as estruturas virais, e isso foi feito usando a energia da área de superfície, energia de solvatação e minimização de energia dos complexos de ligante e receptor. A análise da variação da energia vdW para essa interação visou investigar propriedades estruturais das Pc. Assim, as interações de vdW desempenham um papel importante nas propriedades dos sistemas nos quais interações dipolo-dipolo muito mais fortes estão presentes. na energia potencial no solvente. Incluindo termos vinculados, como, ângulo e energias de torção, bem como termos não vinculados, como

vdW e interações eletrostáticas. O segundo termo é responsável pela dissolução das diferentes espécies. É quantificado pela soma de dois termos de energia, ou seja, as energias de solvatação polar e não polar usando um modelo de solvatação implícito.

Os valores para a energia SASA na tabela 2 mostram um aumento acentuado conforme a interação se aproxima da superfície do SARS-CoV-2, indicando relaxamento estrutural. Assim, assumimos que os tempos de simulação 100 ns foram suficientes para amostrar sistemas equilibrados. O valor de energia SASA mais alto é encontrado para a interação da CoPc com a S-gly. Vários modelos alternativos de solvatação não polar, juntamente com o modelo SASA amplamente usado, também estão incluídos. Além disso, a energia de ligação pode ser decomposta por resíduo. Em várias investigações recentes, a energia de solvatação não polar obtida usando o modelo SASA não se correlaciona bem com aquelas obtidas nas simulações de solvatação explícita. Vários outros modelos, no entanto, foram desenvolvidos para alcançar um acordo melhor. Os parâmetros para esses modelos foram otimizados com base em simulações explícitas de solvente e validados contra energias livres de solvatação. O g_MMPBSA fornece opções para usar três modelos apolares alternativos. A influência da escolha do modelo na energia de ligação foi, portanto, examinada. Os valores apolares foram calculados usando esses diferentes modelos apolares com os parâmetros mostrados na Tabela 2.

Tabela 2: Componentes de energia e desvios.

Receptor	Pc	Van der Waals (kJ/mol)	Eletrostática (kJ/mol)	Solvatação polar (kJ/mol)	SASA (kJ/mol)	$\Delta G_{\text{ligação}}$ (kJ/mol)
E	CoPc	-124.289 +/- 3.98%	-6.502 +/- 8.723%	72.304 +/- 3.026%	-18.056+/-3.172%	-92.730+/- 8.876%
	CuPc	-100.370 +/- 4.011%	-4.689 +/- 7.985%	68.806 +/- 3.099%	-11.776 +/- 1.239%	-83.842+/- 7.157%
	NoPc	-94.806 +/- 2.968%	-3.576 +/- 9.423%	64.655 +/- 5.248%	-9.045 +/- 2.858%	-49.772+/- 8.434%
M	CoPc	-157.004 +/- 5.387%	-9.564 +/- 7.584%	103.025 +/- 4.025%	-17.078+/- 3.027%	-102.568+/- 6.998%
	CuPc	-121.368 +/- 5.069%	-6.278 +/- 6.141%	96.837 +/- 3.532%	-12.776 +/- 6.613%	-87.842+/- 6.838%
	NoPc	-100.370 +/- 4.563%	-4.502 +/- 9.485%	68.806 +/- 5.067%	-11.776+/-5.681%	-64.842+/- 7.837%
S	CoPc	-179.720 +/- 3.884%	-12.442 +/- 6.747%	125.747 +/- 2.998%	-32.584+/-2.832%	-182.443+/- 3.799%
	CuPc	-133.370 +/- 0.768%	-9.502 +/- 4.167%	91.806 +/- 4.639%	-21.776 +/- 8.163%	-158.954+/-7.968%
	NoPc	-121.370 +/- 9.288%	-7.502 +/- 9.485%	85.806 +/- 7.231%	-18.126+/-4.665%	-129.963+/-4.967%

A energia eletrostática da interação das Pc aumentou significativamente conforme foram testadas estruturas mais a superfície do vírus, o que pode contribuir para o desvio para o vermelho observado dos máximos de emissão. A presença de íons no sistema pode ter provocado uma maior mudança nas energias eletrostáticas do estado fundamental deles. A falta de

mudanças nas afinidades de ligação indica que a amostragem 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 alterações mínimas na estrutura. A atração eletrostática é considerada característica comum de todos os sistemas iônicos, usando ambas as estratégias de simulação. O equilíbrio desses dois efeitos é predominantemente responsável pelo g_MMPBSA obtido para cada sistema. A energia eletrostática geral das Pc com íons $2+$ presentes na sua estrutura é quase independentemente do tipo ou das concentrações de íons. Os resultados da análise energética dos complexos fornecidos na tabela 2 demonstram que o $\Delta G_{\text{ligação}}$ foi de $-92,730$ kcal/mol (CoPc), $-83,842$ kcal/mol (CuPc) e $-49,772$ kcal/mol (NoPc), para a E-pro. Os valores de $\Delta G_{\text{ligação}}$ foram de $-102,568$ kcal/mol (CoPc), $-87,842$ kcal/mol (CuPc) e $-64,842$ kcal/mol (NoPc), para a M-pro. Para a S-gly os resultados obtiveram valores de $-182,443$ kcal/mol (CoPc), $-158,954$ kcal/mol (CuPc) e $-129,963$ kcal/mol (NoPc). Os resultados mostram que, as contribuições para o acoplamento do ligante foram os termos de solvatação polar, SASA e vdW. Esses inibidores identificados não representam quaisquer mudanças importantes em suas energias livres de ligação. Os detalhes do cálculo MM-PBSA dos complexos estão resumidos na Tabela 2. A energia potencial de van der Waals (E_{vdw}) varia principalmente por dois fatores, especificamente, área de superfície (geometria da molécula) e polarizabilidade eletrônica (tamanho molecular), dentre os diversos tipos de energia calculados, os que deram maior erro percentual foram os para a NoPc, isso pode se dar por conta da ausência do metal no seu meio. Podemos relacionar isso aos resultados da CoPc e CuPc que mostra que quando há a presença do metal maiores são as chances de mais interações vdW e $\Delta G_{\text{ligação}}$ e menor o erro percentual delas. Assim, pode-se sugerir que a S-gly é a proteína com maior capacidade de interagir com os Pc's, uma vez que sua energia livre de ligação foi a mais expressiva em comparação com as demais proteínas investigadas neste trabalho. Além disso, à medida que as interações aumentam gradativamente com a adição de metais de transição, de forma que o complexo Proteína + Ligante composto por S-gly e CoPc foram os que mais interagiram, observa-se que esses resultados apresentam excelente correlação com os dados de RMSD e simulações da DOC.

Moléculas grandes geralmente estão associadas a uma maior polarizabilidade. As Pc's com metal são mais polarizáveis pois há mais elétrons para deformar e interagir. A energia potencial eletrostática é influenciada pela polaridade das moléculas interagidas que podem ser expressas por um momento de dipolo. Quanto maior for a diferença nos valores de eletronegatividade dos átomos ligados, maior será o momento de dipolo. A existência de heteroátomos centrais desempenha um papel significativo no aumento da polaridade da molécula. Dentre as interações se destacam as com a S-gly, os valores de $\Delta G_{\text{ligação}}$ apresentam

um forte valor de afinidade, demonstrando a eficácia da interação com os resíduos da glicoproteína. A E-pro também mostra um forte valor de afinidade, os ligantes não interagem significativamente com os resíduos do local de ligação e também tem uma alta instabilidade, que se traduz em um elevado valor de desvio padrão, a interação com a M-pro fica com valor intermediária, mesmo assim demonstra estabilidade quando comparada a E-pro, esse último receptor não é tão adequado quando se trata de interação para a inibição do SARS-CoV-2, porém a interação dentro do sítio de ligação persiste durante toda a simulação.

CAPÍTULO 5 - CONCLUSÕES

Este estudo apresenta potenciais inibidores para as principais estruturas da superfície do SARS-CoV-2, por meio de uma abordagem computacional integrada para reposicionamento de agentes inibidores. Após nossos testes de DOC, uma postura divergente de ligantes foi gerada, e a postura com a pontuação de DOC ideal e interações de ligação foi considerada a melhor postura para processamento posterior e análise manual. O DOC de compostos para as estruturas superficiais foi visualizado 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 simulações de DM de cada tipo de Pc. As simulações são geralmente focadas na adsorção de uma única Pc em uma superfície, que é essencialmente representada por partículas em uma solução. A ancoragem molecular com múltiplas conformações de proteína seguidas, permitiu ajustes na conformação do receptor por meio da abordagem de DOC. Por meio do RMSD, vimos como os ligantes interagem com o passar do tempo e como essa interação se dá visto que as Pc foram capazes de se ligar aos resíduos do sítio ativo das macromoléculas, elas demonstraram boas interações; em particular, a CoPc. Com base nos estudos de simulação de DM, demonstrou-se valores próximos para a proteína de modo que a pose do ligante foi considerada como a mais estável para todas as interações. Assim, acreditamos que obter informações sobre o mecanismo molecular responsável pelo reconhecimento de proteína-ligante por meio deste estudo irá facilitar o desenvolvimento de equipamentos para o combate da doença COVID-19. As simulações também podem explicar a funcionalização da superfície e seu impacto nas interações com a proteína. Por meio do pós-processamento da trajetória, foi possível identificar as principais forças motrizes da adsorção (efeitos hidrofóbicos, ligações de hidrogênio e calcular as energias de interação para obter uma estimativa quantitativa das energias de ligação).

O modo de acoplamento dos ligantes foi conhecido para entender as propriedades de ligação e o mecanismo de ação das interações. A partir dos resultados combinados dos cálculos de acoplamento e energia livre, foi descoberto que os resíduos do sítio ativo da S-gly interagiram fortemente com as Pc. A previsão do local de ligação do glicoproteína poderia ajudar na descoberta e no projeto de diferentes novos antagonistas potentes. O trabalho relatado aqui aborda uma preocupação importante e necessidade urgente de medicamentos para o tratamento da infecção por SARS-CoV-2. Conforme demonstrado por meio desta abordagem integrada, a predição computacional para inibição das estruturas externas principais do SARS-CoV-2, que resultou em algumas pistas promissoras para validação experimental adicional. Esperamos que os resultados e previsões *in silico* obtidos neste estudo, incluindo os potenciais insights clínicos, possam facilitar a descoberta de inibidores altamente potentes da protease principal da SARS-

CoV-2. No geral, nossa estratégia computacional de reposicionamento das Pc prevê alguns candidatos promissores a medicamentos que, se confirmados por meio de abordagens experimentais e clínicas, podem contribuir para resolver a crise global da pandemia de COVID-19. Embora os resultados de tais simulações possam certamente contribuir para aumentar a compreensão e racionalizar os dados experimentais, esta abordagem também tem algumas limitações e desvantagens. Além disso, a simulação de DM foi usada para entender as mudanças conformacionais nos complexos de proteínas ligantes. Na análise de MM-GBSA, os estudos de DOC foram validados além de mostrar que os ligantes têm características de interação capaz de adsorver as proteínas. Estes estudos computacionais indicaram que as propriedades de ligação dos inibidores podem ser utilizadas como potenciais agentes terapêuticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aire, I., Varada, P., Rajá, U. Estrutural insights Into conformacional of both wild-type and mutant EZH2 receptor. *Sci Rep* 6, 34984 (2016). DOI:10.1038/srep34984.
2. Ahmad, A., Hayat A, Rahman MU, Khan J. Phthalocyanines Derivatives as Control Approach for Antimicrobial Photodynamic Therapy. *Am J Clin Microbiol Antimicrob.* 2(3): 1041 (2019). Disponível em: <<http://www.remedypublications.com/american-journal-of-clinicalmicrobiology-and-antimicrobials-abstract.php?aid=5492>>. Acesso em 12 de ago. de 2021.
3. Al-Azmi, A., Keshipour, S. Cross-linked chitosan aerogel modified with Pd(II)/phthalocyanine: Synthesis, characterization, and catalytic application. *Sci Rep* 9, 13849 (2019). DOI:10.1038/s41598-019- 50021-6.
4. Alonso, H., Bliznyuk, A.A., Gready, J.E. Combining docking and molecular dynamic simulations in drug design. *Med. Res. Rev.* 26(5):531-68 (2006). DOI: 10.1002/med.20067.
5. Anaya-Plaza, E., Aljarilla, A., Beaune, G. *et al.* Phthalocyanine–Virus Nanofibers as Heterogeneous Catalysts for Continuous-Flow Photo- Oxidation Proc. *Adv. Mater.*, 31(39): 1902582 (2019). DOI:10.1002/adma.201902582.
6. Ansari, C., Tikhomirov, G.A., Hong, S.H. *et al.* Development of novel tumor-targeted theranostic nanoparticles activated by membrane-type matrix metalloproteinases for combined cancer magnetic resonance imaging and therapy. *Small* 10:566–575, (2014). DOI:10.1002/sml.201301456.
7. Apostoli, P., Catalani, S. 11 Metal Ions Affecting Reproduction and Development. *In Metal ions in toxicology: Effects, interactions, interdependencies*, 263-304 (2011). DOI:10.1515/9783110436 624-016.
8. Arantes, P.R., Saha, A., Palermo, G. Fighting COVID-19 Using Molecular Dynamics Simulations. *ACS Central Science.* 6 (10): 1654-1656 (2020). DOI:10.1021/acscentsci.0c01236.

9. Arıcı, M., Arıcan, D., Ugur, A. L. *et al.* Electrochemical and spectroelectrochemical characterization of newly synthesized manganese, cobalt, iron and copper phthalocyanines. *Electrochim. Acta*, 87(1):554-566 (2013). DOI:10.1016/j.electacta.2012.09.045.
10. Armanious, A., Aeppli, M., Jacak, R. *et al.* Viruses at solid–water interfaces: a systematic assessment of interactions driving adsorption. *Environ. Sci. Technol.* 50: 732–743 (2016). DOI:10.1021/acs.est.5b04644.
11. Azim-Araghi, M.E., Baedi, J., Goodarzi, L. M. Electrical and optical properties of an organic semiconductor metal-free phthalocyanine (C₃₂H₁₈N₈). *Eur. Phys. J. Appl. Phys.*, 58: 30201 (2012). DOI:10.1051/epjap/2012120062.
12. Badavath, V.N., Kumar, A. *et al.* Determination of potential inhibitors based on isatin derivatives against SARS-CoV-2 main protease (M-pro): a molecular docking, molecular dynamics and structure-activity relationship studies. *J. biomol. Struct. Dyn.* 1-19 (2020). DOI:10.1080/2F07391102.2020.1845800.
13. Bader, R.F.W., Carroll, M.T., Cheeseman, J.R., Chang, C. Properties of atoms in molecules: atomic volumes. *J. Am. Chem. Soc.* 109:7968–7979 (1987). DOI:10.1021/ja00260a006.
14. Baron, E.D., Malbasa, C.L., Santo-Domingo, D. *et al.* Silicon phthalocyanine (Pc 4) photodynamic therapy is a safe modality for cutaneous neoplasms: results of a phase 1 clinical trial. *Lasers Surg Med.*, 42(10):728-35 (2010). DOI:10.1002/lsm.20984.
15. Barone, V., Polimeno, A. Integrated computational strategies for UV/vis spectra of large molecules in solution. *Chem. Soc. Rev.*, 36(11): 1724-1731 (2007). DOI:10.1039/B515155B.
16. Bayoumy, A.M., Ibrahim, M., Omar, A. Mapping molecular electrostatic potential (MEP) for fulleropyrrolidine and its derivatives. *Opt. Quant. Electron.*, 52(7): 1-13 (2020). Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11082-020-02467-6>>. Acesso em 15 de ago. de 2021.
17. Bell, E.W., Zhang, Y. DockRMSD: an open-source tool for atom mapping and RMSD calculation of symmetric molecules through graph isomorphism. *J. Cheminform.*, 11(1): 1-9 (2019). DOI:10.1186/s13321-019-0362-7.

18. Ben-Hur E, Hoeben, R.C., Van Ormondt, H. *et al.* Photodynamic inactivation of retroviruses by phthalocyanines: the effects of sulphonation, metal ligand and fluoride. *J Photochem Photobiol B*. 13(2):145-5 (1992). DOI:10.1016/1011-1344(92)85053-w.
19. Benzell, S.G., Collis, A., Nicolaides, C. Rationing social contact during the COVID-19 pandemic: transmission risk and social Benefits of US locations. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 117(26):14642–14644 (2020). DOI:10.1073/pnas.2008025117.
20. Berman, H.M., Battistuz, T., Bhat, T.N. *et al.* The protein data bank. *Acta Cryst.*, 58(6), 899-907 (2002). DOI:10.1107/S0907444902003451.
21. Bianchi, M., Benvenuto, D., Giovanetti, M. *et al.* “Sars-CoV-2 Envelope and Membrane Proteins: Structural Differences Linked to Virus Characteristics?”, *BioMed Res. Int.*, 2020: 1-6 (2020). DOI:10.1155/2020/4389089.
22. Bitencourt-Ferreira, G., de Azevedo, W. F. Molegro virtual docker for docking. In *Docking Screens for Drug Discovery. Humana, New York, NY* (2019). DOI:10.1007/978-1-4939-9752-7_10.
23. Bizzarri, A.R., Cannistraro, S. Molecular dynamics of water at the protein–solvent interface. *J. Phys. Chem. B*, 106(26): 6617-6633 (2002). DOI:10.1021/jp020100m.
24. Borukhov, I., Andelman, D., Orland, H. Steric effects in electrolytes: A modified Poisson-Boltzmann equation. *Phys. Rev. Lett.*, 79 (3): 435 (1997). DOI:10.1103/PhysRevLett.79.435.
25. Brian D.A., Baric R. S. Coronavirus genome structure and replication. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 287: 1–30 (2005). DOI:10.1007/3-540-26765-4_1.
26. Brooks, C.L., Karplus, M., Pettitt, B.M. Proteins: A theoretical perspective of dynamics structure and Thermodynamics. *Advances in chemical physics*, John Wiley & Sons, New York (1988). Disponível em: <<https://www.wiley.com/en-us/Proteins%3A+A+Theoretical+Perspective+of+Dynamics%2C+Structure%2C+and+Thermodynamics%2C+Volume+71-p-9780471529774>>. Acesso em 02 de set. de 2021.

27. Cabrera-Garcia, D., Bekdash, R., Abbott, G.W. et al. The envelope protein of SARS-CoV-2 increases intra-Golgi pH and forms a cation channel that is regulated by pH. *J Physiol.* 599(11):2851-2868 (2021). DOI:10.1113/jp281037.
28. Castaño, N., Cordts, S., Jalil, M.K. et al. Fomite transmission and disinfection strategies for SARS-CoV-2 and related viruses. *ACS Omega*, 6: 6509–6527 (2020). DOI:10.1021/acsomega.0c06335.
29. Catching, A., Capponi, S., Yeh, M.T. et al. Examining the interplay between face mask usage, asymptomatic transmission, and social distancing on the spread of COVID-19. *Sci Rep* 11, 15998 (2021). DOI:10.1038/s41598-021-94960-5.
30. Chakraborty, I., Kar, R.K., Sarkar, D. et al. Solvent Relaxation NMR: A Tool for Real-Time Monitoring Water Dynamics in Protein Aggregation Landscape. *ACS Chem. Neurosci.*, 12 (15): 2903-2916 (2021). DOI:10.1021/acchemneuro.1c00262.
31. Chan J. F., Yuan S., Kok K. H., et al. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. *Lancet (London England)* 395: 514–523 (2020). DOI:10.1016/s0140-6736(20)30154-9.
32. Chandler, D. Introduction to Modern Statistical Mechanics, Oxford University Press, New York, NY (1987). Disponível em: <[http://www.fulviofrisone.com/attachments/article/478/Chandler%20D.%20Introduction%20to%20modern%20statistical%20mechanics%20\(Oxford,%201987\)\(T\)\(286s\)>](http://www.fulviofrisone.com/attachments/article/478/Chandler%20D.%20Introduction%20to%20modern%20statistical%20mechanics%20(Oxford,%201987)(T)(286s)>)>. Acesso em: 28 de ago. de 2021.
33. Chaudhary, K. K.; Mishra, N. A review on molecular docking: novel tool for drug discovery. *JSM Chemistry*, 4 (3): 1-4 (2016). Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/308529147_A_Review_on_Molecular_Docking_Novel_Tool_for_Drug_Discovery>. Acesso em: 03 de set. de 2021.
34. Chen, L., Liu, W, Zhang, Q. et al. RNA based mNGS approach identifies a novel human coronavirus from two individual pneumonia cases in 2019 Wuhan outbreak. *Emerg Microbes Infect.* 9:313–9 (2020). DOI:10.1080/22221751.2020.1725399.
35. Chen, R., Huang, S., Lin, T. et al. Photoacoustic molecular imaging escorted adipose photodynamic–browning synergy for fighting obesity with virus-like complexes. *Nat. Nanotechnol.* 16, 455–465 (2021). DOI:10.1038/s41565-020-00844-6.

36. Childers, M.C., Daggett, V. Insights from molecular dynamics simulations for computational protein design. *Mol. Syst. Des. Eng.*, 2(1):9-33 (2017). DOI:10.1039/c6me00083e.
37. Chin, A.W.H., Chu, J.T.S., Perera, M.R.A. *et al.* Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions. *Lancet Microbe.* 1(10) (2020). DOI:10.1016/S2666-5247(20)30003-3.
38. Chu, D. K., Akl, E. A., Duda, S. *et al.* Physical distancing, face masks, and eye protection to prevent person-to- person transmission of SARS-CoV-2 and COVID-19: a systematic review and meta- analysis, *The Lancet*, 395(10242):1973–1987 (2020). DOI:10.1016/S0140-6736(20)31142-9.
39. Chua, M.H., Cheng, W., Goh, S.S. *et al.* Face Masks in the New COVID-19 Normal: Materials, Testing, and Perspectives. *Research (Wash D C)*. 7:7286735 (2020). DOI:10.34133/2020/7286735
40. Cole, D.J., Skylaris, C.K., Rajendra, E. *et al.* Protein-protein interactions from linear-scaling first-principles quantum-mechanical calculations. *Europhys. Lett.*, 91(3): 37004-6 (2010). DOI:10.1209/0295-5075/91/37004.
41. Connolly, M.L. Molecular surface and volume. In: Schleyer PvR, ed. *Encycl. Comput. Chem.* 3:1698–1703M (1998). Disponível em: <<http://www.ccl.net/cca/documents/molecular-modeling/node5.html>>. Acesso em: 03 de set. de 2021.
42. Costa, R.A., Cruz, J.N., Nascimento, F.C., *et al.* Studies of NMR, molecular docking, and molecular dynamics simulation of new promising inhibitors of cruzaine from the parasite *Trypanosoma cruzi*. *Medic. Chem. Res.*, 28(3): 246-259 (2019).. DOI:10.1007/s00044-018-2280-z.
43. Dallin, B.C., Lehn, R.C.V. Spatially Heterogeneous Water Properties at Disordered Surfaces Decrease the Hydrophobicity of Nonpolar Self-Assembled Monolayers. *J. Phys. Chem. Lett.*, 10 (14): 3991-3997 (2019). DOI:10.1021/acs.jpcllett.9b01707.
44. Darden, T., York, D., Pedersen, L. Particle mesh Ewald: An $N \cdot \log(N)$ method for Ewald sums in large systems. *J. Comput. Chem. Phys.*, 98(12), 10089-10092 (1993). DOI:10.1063/1.464397.

45. Da Silva Santos, P.S., da Fonseca Orcina, B., Machado, R.R.G. *et al.* Beneficial effects of a mouthwash containing an antiviral phthalocyanine derivative on the length of hospital stay for COVID-19: randomised trial. *Sci Rep* 11, 19937 (2021). DOI:10.1038/s41598-021-99013-5.
46. De Azevedo, J., Walter, F. MolDock applied to structure-based virtual screening. *Curr.t Drug Targets*, 11(3), 327-334 (2010). DOI:10.2174/138945010790711941.
47. De Oliveira, C. X., Mocellin, A., Menezes de Souza Lima, F. *et al.* DFT Study of L-Cysteine Fragmentation Route using a Novel Protocol. *ChemistrySelect*, 5(2): 439-447 (2020). DOI:10.1002/slct.201903453.
48. Deng, S. Q. Peng, H. J. Characteristics of and public health responses to the coronavirus disease 2019 outbreak in China. *J. Clin. Med.* 9, 575 (2020). DOI:10.3390/jcm9020575.
49. Du, Q., Arteca, G.A. Derivation of fused-sphere molecular surfaces from properties of the electrostatic potential distribution. *J Comp Chem.* 17:1258– 1268 (1996). DOI:10.1002/(SICI)1096-987X(19960730)17:10%3C1258::AID-JCC6%3E3.0.CO;2-N.
50. Du, R.H., Liang, L.R., Yang, C.Q. *et al.* Predictors of mortality for patients with COVID-19 pneumonia caused by SARS-CoV-2: a prospective cohort study. *Eur. Respirat. J.* 55, 2000524 (2020). DOI:10.1183/13993003.00524-2020.
51. Fabrizio, A., Grisafi, A., Meyer, B. *et al.* Electron density learning of non-covalent systems. *Chem. Sci*, 10(41): 9424-9432 (2019). DOI:10.1039/C9SC02696G.
52. Fan, K., Wei, P., Feng, Q. *et al.* Biosynthesis, Purification, and Substrate Specificity of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 3C-like Proteinase. *J. Biol. Chem.* 279(3):1637-42 (2004). DOI:10.1074/jbc.m310875200.
53. Feller, D. The role of databases in support of computational chemistry calculations. *J. Comput. Chem.*, 17(13): 1571-1586 (1996). DOI:10.1002/(SICI)1096-987X(199610)17:13%3C1571::AID-JCC9%3E3.0.CO;2-P.
54. Ferrara, P, Apostolakis, J., Caflisch, A. Evaluation of a fast implicit solvent model for molecular dynamics simulations. *Proteins.* 46(1):24-33 (2002). DOI:10.1002/prot.10001.

55. François, K.O., Pannecouque, C., Auwerx, J. *et al.* The phthalocyanine prototype derivative Alcian Blue is the first synthetic agent with selective anti-human immunodeficiency virus activity due to its gp120 glycanbinding potential. *Antimicrob Agents Chemother*, 53(11): 4852-9 (2009). DOI:10.1128/AAC.00811-09.
56. Freitas, R.F., Prokopczyk, I.M., Zottis, A. *et al.* Discovery of novel Trypanosoma cruzi glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase inhibitors. *Bioorg Med Chem.*, 17(6): 2476-2482 (2009). DOI:10.1016/j.bmc.2009.01.079.
57. Frenkel, D., Smit, B. Understanding Molecular Simulation. Academic Press, New York, NY (2001). DOI:10.1063/1.881812.
58. Fuhs, G.W., Chen, M., Sturman, L.S., Moore, R.S. Virus adsorption to mineral surfaces is reduced by microbial overgrowth and organic coatings. *Microb. Ecol.* 11: 25–39 (1985). DOI:10.1007/bf02015106.
59. Goddard, T.D., Huang, C.C., Ferrin, T.E. Software extensions to UCSF chimera for interactive visualization of large molecular assemblies. *Structure*, 13(3), 473-482 (2005). DOI:10.1016/j.str.2005.01.006.
60. Gowers, R.J., Linke, M., Barnoud, J. *et al.* MDAAnalysis: a Python package for the rapid analysis of molecular dynamics simulations. PROC. OF THE 15th PYTHON IN SCIENCE CONF, 98-105 (2016). DOI:10.25080/Majora-629e541a-00e.
61. Guedes, I. A.; Magalhães, C. S.; Dardenne, L. E. Receptor-ligand molecular docking. *Biophysical Reviews*, 6 (1), p. 75-87 (2014). DOI:10.1007/s12551-013-0130-2.
62. Gulzar, M., Ali, S., Khan, F.I. *et al.* Binding mechanism of caffeic acid and simvastatin to the integrin linked kinase for therapeutic implications: A comparative docking and MD simulation studies. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 37(16): 4327-4337 (2019). DOI:10.1080/07391102.2018.1546621.
63. Guo, Y.R., Cao, Q.D., Hong, Z.S. *et al.* The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak—an update on the status. *Mil Med Res.* 7(1):11 (2020). DOI:10.1186/s40779-020-00240-0.
64. Hansson, T., Oostenbrink, C., van Gunsteren, W. Molecular dynamics simulations. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 12(2): 190-196 (2002). DOI:10.1016/S0959-440X(02)00308-1.

65. Hasel, W., Hendrickson, T.F., Still, W.C. A rapid approximation to the solvent accessible surface areas of atoms. *Tetrahedron Comp. Methodol.*, 1 (2): 103-116 (1988). DOI:10.1016/0898-5529(88)90015-2.
66. Haug, N., Geyrhofer, L., Londei, A. *et al.* Ranking the effectiveness of worldwide COVID-19 government interventions. *Nat Hum Behav*, 4: 1303–1312 (2020). DOI:10.1038/s41562-020-01009-0.
67. Heberle, G., Azevedo, W.F. Bio-inspired algorithms applied to molecular docking simulations. *Curr. Med. Chem.* 18:1339–1352 (2011). DOI:10.2174/092986711795029573.
68. Hollingsworth, S.A., Dror, R.O. Molecular dynamics simulation for all. *Neuron*, 99(6): 1129-1143 (2018). DOI:10.1016/j.neuron.2018.08.011 69.
69. Homeyer, N., Gohlke, H. Free Energy Calculations by the Molecular Mechanics Poisson–Boltzmann Surface Area Method. *Mol. Inform.* 31: 114–122 (2012). DOI:10.1002/minf.201100135.
70. Hu, B., Guo, H., Zhou, P. *et al.* Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol* 19: 141–154 (2021). DOI:10.1038/s41579-020-00459-7.
71. Huang, I.S., Tsai, M.K. Interplay between polarizability and hydrogen bond network of water: reparametrizing the flexible single-point-charge water model by the nonlinear adaptive force matching approach. *J. Phys. Chem. A*, 122(19): 4654-4662 (2018). DOI:10.1021/acs.jpca.7b12726.
72. Huang, Y., Yang, C., Xu, Xf. *et al.* Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antiviral drug development for COVID-19. *Acta Pharmacol Sin.* 41: 1141–1149 (2020). DOI:10.1038/s41401-020-0485-4.
73. Islam, R., Parves, M.R., Paul, A.S. *et al.* A molecular modeling approach to identify effective antiviral phytochemicals against the main protease of SARS-CoV-2. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 39(9): 3213-3224 (2021). DOI:10.1080/07391102.2020.1761883.

74. Jaillet, L., Corcho, F.J., Pérez, J.J., & Cortés, J. Randomized tree construction algorithm to explore energy landscapes. *J. Comput. Chem.*, 32(16):3464-3474 (2011). DOI:10.1002/jcc.21931.
75. Jones, L., Walsh, K., Willcox, M. et al. The COVID-19 pandemic: important considerations for contact lens practitioners. *Cont. Lens. Anterior. Eye* 43: 196–203, (2020). DOI:10.1016/j.clae.2020.03.012.
76. Karplus, M., & McCammon, J.A. Molecular dynamics simulations of biomolecules. *Nat. Struct. Biol.*, 9(9): 646-652 (2002). DOI:10.1038/nsb0902-646.
77. Kerman, K., Saito, M., Tamiya, E., Yamamura, S., Takamura, Y. Nanomaterial-based electrochemical biosensors for medical applications. *TrAC Trends Anal. Chem.*, 27(7): 585-592 (2008). DOI:10.1016/j.trac.2008.05.004.
78. Keshipour, S., Mohammad-Alizadeh, S. Nickel phthalocyanine@graphene oxide/TiO₂ as an efficient degradation catalyst of formic acid toward hydrogen production. *Sci Rep* 11, 16148 (2021). DOI:10.1038/s41598-021-95382-z.
79. Khosa, M.A., Shah, S.S., Feng, X. Metal sericin complexation and ultrafiltration of heavy metals from aqueous solution. *Chem. Eng. J.*, 244: 446-456 (2014). DOI:10.1016/j.cej.2014.01.091.
80. Kilinc, N., Ozturk, Z.Z., Berber, S. Adsorption of Phthalocyanines on Stoichiometric and Reduced Rutile TiO₂ (110). *ECS J. Solid State Sci. Technol*, 9:061021 (2020). DOI:10.1149/2162-8777/aba7fe.
81. Kimura, M., Nomoto, H., Suzuki, H. *et al.* Molecular design rule of phthalocyanine dyes for highly efficient near-IR performance in dyesensitized solar cells. *Chemistry*, 19(23): 7496-502 (2013). DOI:10.1002/chem.201300716.
82. Kröger, N., Néel, R. Berndt, Y.F. *et al.* Exploring the Organic–Inorganic Interface With a Scanning Tunneling Microscope, *Encyclop. Interf. Chemi*, 81-98 (2018). DOI:10.1016/B978-0-12-409547-2.14144-7.
83. Kruse, H., Goerigk, L., Grimme, S. Why the standard B3LYP/6-31G* model chemistry should not be used in DFT calculations of molecular thermochemistry: understanding and correcting the problem. *J. Org. Chem.*, 77(23): 10824-10834 (2012). DOI:10.1021/jo302156p.

84. Kumar, S., Rosenberg, J.M., Bouzida, D. *et al.* The weighted histogram analysis method for free-energy calculations on biomolecules. I. *The method. J. Comput Chem.*, 13(8), 1011-1021 (1992). DOI:10.1002/jcc.540130812.
85. Kumari, R., Kumar, R. Open Source Drug Discovery Consortium, Lynn, A. g_mmpbsa - A GROMACS tool for high-throughput MM-PBSA calculations. *J. Chem. Inf. Model.*, 54(7): 1951-1962 (2014). DOI:10.1021/ci500020m.
86. Kwon, S., Joshi, A.D., Lo, C.H. *et al.* Association of social distancing and face mask use with risk of COVID-19. *Nat Commun*, 12, 3737 (2021). DOI:10.1038/s41467-021-24115-7.
87. Lam, T.T.Y., Jia, N., Zhang, Y.W. *et al.* Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature* 583, 282–285 (2020). DOI:10.1038/s41586-020-2169-0.
88. Lee, S., Tran, A., Allsopp, M. *et al.* CHARMM36 united atom chain model for lipids and surfactants. *J. Phys. Chem. B*, 118(2): 547-556 (2014). DOI:10.1021/jp410344g.
89. Leite, D.R.S. Desenvolvimento de sensor impresso nanoestruturado modificado com ftalocianina de cobalto para aplicação em imunossensores. *Dissertação de Mestrado*. Universidade Federal de Pernambuco (2016). Disponível em: <<https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/17897>>. Acesso em: 29 de ago. de 2021.
90. Leung, N.H.L., Chu, D.K.W., Shiu, E.Y.C. *et al.* Respiratory virus shedding in exhaled breath and efficacy of face masks. *Nat Med* 26, 676–680 (2020). DOI:10.1038/s41591-020-0843-2.
91. Li, F., Li, W., Farzan, M., Harrison, S.C. Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with receptor. *Sci. (N. Y. N.Y.)*. 309:1864–1868 (2005). DOI:10.1126/science.1116480.
92. Li, H., Liu, S.M., Yu, X.H. *et al.* Coronavirus disease 2019 (COVID- 19): current status and future perspectives. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 55(5):105951 (2020). DOI:10.1016/j.ijantimicag.2020.105951.

93. Li, R., Li, J., Sun, C. Straw input can parallelly influence the bacterial and chemical characteristics of maize rhizosphere, *Environmental Pollutants and Bioavailability*, 32(1):1-11 (2020). DOI:10.1080/26395940.2019.1710260.
94. Li, X., Lee, D., Huang, J. D., Yoon, J. Phthalocyanine-Assembled Nanodots as Photosensitizers for Highly Efficient Type I Photoreactions in Photodynamic Therapy. *Angew.Chem. Int.*, 57(31): 9885-9890 (2018). DOI:10.1002/anie.201806551.
95. Lima, A. A., Nunes, I. C. *et al.* Characteristics of SARS-CoV-2 aerosol dispersion in indoor air: scoping review. *Research, Society and Development*. 10 (4):44310414300(2021). DOI:10.33448/rsd-v10i4.14300.
96. Lindahl, E.R. Molecular Dynamics Simulations. *Molecular Modeling of Proteins*. 443: 3-23 (2008). DOI:10.1007/978-1-59745-177-2_1.
97. Liu, Y., Ning, Z., Chen, Y. *et al.* Aerodynamic analysis of SARS-CoV-2 in two Wuhan hospitals. *Nature* 582, 557–560 (2020). DOI:10.1038/s41586-020-2271-3
98. Liu J., Zhai Y., Liang L. *et al.* Molecular modeling evaluation of the binding effect of five protease inhibitors to COVID-19 main protease. *Chem. Phys.* 542 (2021). DOI:10.1016/j.chemphys.2020.111080.
99. Liu, Y., Mao, B., Liang, S. *et al.* Association between age and clinical characteristics and outcomes of COVID-19. *Eur. Respirat. J.* 55 (5): 2001112 (2020). DOI:10.1183/13993003.01112-2020.
100. Long, R., Xia, X., Zhao, Y. *et al.* Screening metal-organic frameworks for adsorption-driven osmotic heat engines via grand canonical Monte Carlo simulations and machine learning. *Iscience*, 24(1), 101914 (2021). DOI:10.1016/j.isci.2020.101914.
101. Lu, R., Zhao, X., Li, J. *et al.* Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*. 395:565–74 (2020). DOI:10.1016/S0140-6736(20)30251-8.
102. Lundborg, M., Lindahl, E. Automatic GROMACS topology generation and comparisons of force fields for solvation free energy calculations. *J. Phys. Chem. B*, 119(3): 810-823 (2015). DOI:10.1021/jp505332p.

103. Luo, R., David, L., Gilson, M.K. Accelerated Poisson–Boltzmann calculations for static and dynamic systems. *J. Comput. Chem.* 23 (13): 1244-1253 (2002). DOI:10.1002/jcc.10120.
104. Luque, F.J., Lopez, J.M., Orozco, M. Perspective on Electrostatic interactions of a solute with a continuum. A direct utilization of ab initio molecular potentials for the prevision of solvent effects. *Theor Chem Acc* 103: 343-345 (2000). DOI:10.1007/s002149900013.
105. Machado, S.F., Camiletti, G.G., Canal Neto, A. *et al.* Gaussian basis set of triple zeta valence quality for the atoms from K to Kr: Application in DFT and CCSD(T) calculations of molecular properties. *Mol. Phys.*, 107:1713-1727 (2009). DOI:10.1080/00268970903042258.
106. Mackintosh, H. J., Budd, P. M., McKeown, N. B. Catalysis by microporous phthalocyanine and porphyrin network polymers. *J. Mater. Chem.*, 18(5): 573-578 (2008). DOI:10.1039/B715660J.
107. Mariano, G., Farthing, R.J., Lale-Farjat, S.L.M, Bergeron, J.R.C. Estrutural Characterization of SARS-CoV-2: Where We Are, and Where We Need to Be. *Front Mol Biosci.* 7:605236 (2020). DOI:10.3389/fmolb.2020.605236.
108. Mazziotti, D.A. Contracted Schrödinger equation: Determining quantum energies and two-particle density matrices without wave functions. *Phys. Rev. A*, 57(6): 4219(1998). DOI:10.1103/PhysRevA.57.4219.
109. Meyers, J., Brown, N., Blagg, J. Mapping the 3D structures of small molecule binding sites. *J Cheminform*, 8(1): 1-13 . (2016). DOI:10.1186/s13321-016-0180-0.
110. Mittal, A., Manjunath, K., Ranjan, R.K. et al. COVID-19 pandemic: Insights into structure, function, and hACE2 receptor recognition by SARS-CoV-2. *PLoS Pathog* 16(8): e1008762 (2020). DOI:10.1371/journal.ppat.1008762.
111. Miyamoto, S., Kollman, P.A. Settle: An analytical version of the SHAKE and RATTLE algorithm for rigid water models. *J. Comput. Chem.*, 13(8), 952-962 (1992). DOI:10.1002/jcc.540130805.

112. Morgon, N. H., Coutinho, K. Métodos de Química Teórica e Modelagem Molecular. São Paulo: Livraria da Física (2007).
113. Morris, G. M., Lim-Wilby, M. Molecular docking. *Methods Mol. Biol.* 443: 365–382, (2008). DOI:10.1007/978-1-59745-177-2_19.
114. Mota, E.A.V., Neto, A.F.G., Marques, F.C. *et al.* Time-Dependent Density Functional Theory Analysis of Triphenylamine-Functionalized Graphene Doped with Transition Metals for Photocatalytic Hydrogen Production. *J. Nanosci. Nanotechnol.*, 18(7): 4987-4991 (2018). DOI:10.1166/jnn.2018.15277..
115. Mphuthi, N., Adekunle, A., Fayemi, O. *et al.* Phthalocyanine Doped Metal Oxide Nanoparticles on Multiwalled Carbon Nanotubes Platform for the detection of Dopamine. *Sci Rep* 7, 43181 (2017). DOI:10.1038/srep43181.
116. Mukherjee, U.K., Bose, S., Ivanov, A. *et al.* Evaluation of reopening strategies for educational institutions during COVID-19 through agent based simulation. *Sci Rep* 11, 6264 (2021). DOI:10.1038/s41598-021-84192-y.
117. Muniz, H.S., Métodos híbridos em docagem molecular: implementação, validação e aplicação. *Tese de Doutorado*. UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO (2018). Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/76/76132/tde-17092018-104828/pt-br.php>. Acesso em: 22 de ago. de 2021.
118. Murray, J., Hogan, R.J., Martin, D.E. *et al.* Probenecid inhibits SARS-CoV-2 replication in vivo and in vitro. *Sci Rep* 11, 18085 (2021). DOI:10.1038/s41598-021-97658-w.
119. Murray, J.S., Politzer, P. The Electrostatic Potential: An Overview. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Comput, Mol, Sci.*, 1, 153-163 (2011). DOI:10.1002/wcms.19.
120. Murugan, N.A., Kumar, S., Jeyakanthan, J. *et al.* Searching for targetspecific and multi-targeting organics for Covid-19 in the Drugbank database with a double scoring approach. *Sci Rep* 10, 19125 (2020). DOI:10.1038/s41598-020-75762-7 .
121. Neubert, R. Ion pair transport across membranes. *Pharm. Res.*, 6(9): 743-747 (1989). DOI:10.1023/a:1015963128124.

122. Nikolaeva-Glomb L, Mukova L, Nikolova N. *et al.* Photodynamic Effect of some Phthalocyanines on Enveloped and Naked Viruses. *Acta Virol.* 61(3):341-346 (2017). DOI:10.4149/av_2017_313.
123. Ninham, B.W., Parsegian, V.A. Electrostatic potential between surfaces bearing ionizable groups in ionic equilibrium with physiologic saline solution. *J. Theor. Bio.*, 31(3): 405-428 (1971). DOI:10.1016/0022-5193(71)90019-1.
124. Norberg, J., Nilsson, L.. Advances in biomolecular simulations: methodology and recent applications. *Q Rev Biophys.* 36(3):257-306 (2003). DOI:10.1017/s0033583503003895.
125. Oliveira, T.M.A. Avaliação de fotossensibilizadores para a fotoinativação do herpesvírus bovino 1. *Dissertação de Mestrado.* Universidade Federal de Goiás (2016). Disponível em: < <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/5851>>. Acesso em: 28 de jul. de 2021.
126. Orcina, B.F., Vilhena, F.V., de Oliveira, R.C. et al. A Phthalocyanine Derivate Mouthwash to Gargling/Rinsing as an Option to Reduce Clinical Symptoms of COVID-19: Case Series. *Clin. Cosmet. Investig. Dentistry*, 13:47-50 (2021).. DOI:10.2147/CCIDE.S295423 71.
127. Pandey, H.D., Leitner, D. M. Thermodynamics of Hydration Water around an Antifreeze Protein: A Molecular Simulation Study. *J. Phys. Chem. B*, 121 (41): 9498-9507 (2017). DOI:10.1021/acs.jpcc.7b05892.
128. Peng, X. L., Jiang, R., Jia, C.S. *et al.* Gibbs free energy of gaseous phosphorus dimer. *Chem. Eng. Sci.*, 190: 122-125 (2018). DOI:10.1016/j.ces.2018.06.027.
129. Pereira, A.M.V. Síntese de derivados oligoméricos de porfirinas e ftalocianinas. *Tese de Doutorado.* Departamento de Química - Universidade de Aveiro (2009). Disponível em:< <https://ria.ua.pt/handle/10773/3214>>. Acesso em: 12 de set. de 2021
130. Piotrowiak, P., Rodgers, M.A.J., Mattay, J., Astruc, D. Electron transfer in chemistry. Balzani (Ed.), 1: p-5. (2001). DOI:10.1002/9783527618248.
131. Politzer, P., Murray, J. S. The fundamental nature and role of the electrostatic potential in atoms and molecules. *Theor. Chem. Acc.*, 108(3): 134-142 (2002). DOI:10.1007/s00214-002-0363-9.

132. Puspaningtyas, A.R. Molekular Docking dengan Metode Molegro Virtual Docker Turunan Kalkon sebagai Antimikroba. *STOMATOGNATIC-Jurnal Kedokteran Gigi*, 9(1), 39-47 (2015). Disponível em: <<https://jurnal.unej.ac.id/index.php/STOMA/article/view/2104>>. Acesso em 12 de ago. de 2021.
133. Ramalho, T.C., Caetano, M.S., Josa, D. *et al.* Molecular modeling of Mycobacterium tuberculosis dUTpase: docking and catalytic mechanism studies. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 28(6): 907-917 (2011). DOI:10.1080/07391102.2011.10508617.
134. Remichkova M, Mukova L, Nikolaeva-Glomb L, *et al.* Virus inactivation under the photodynamic effect of phthalocyanine zinc (II) complexes. *Z Naturforsch C J Biosci*, 72(3-4):123-128. (2017). DOI:10.1515/znc-2016-0119.
135. Ren, J., Yuan, X., Li, J. *et al.* Assessing the performance of the g_mmpbsa tools to simulate the inhibition of oseltamivir to influenza virus neuraminidase by molecular mechanics Poisson–Boltzmann surface area methods. *J. Chin. Chem. Soc.*, 67(1): 46-53 (2020). DOI:10.1002/jccs.201900148.
136. Ren, S.Y., Wang, W.B., Hao, Y.G. *et al.* 2020 Stability and infectivity of coronaviruses in inanimate environments. *World J. Clin. Cases* 8: 1391–1399 (2020). DOI:10.12998/wjcc.v8.i8.1391.
137. Roy, A., Roe, D., Hall, M., Cheatham, T. Polyhedral Compilation Support for C++ Features: A Case Study with CPPTRAJ. *LCPC*, 11403: 26-35. Springer, Cham (2017). DOI:10.1007/978-3-030-35225-7_3.
138. Rywkin, S., Lenny, L., Goldstein, J. *et al.* Importance of type I and type II mechanisms in the photodynamic inactivation of viruses in blood with aluminum phthalocyanine derivatives. *Photochem Photobiol.* 56(4):463-9, (1992). DOI:10.1111/j.1751-1097.1992.tb02189.
139. Sahi, R.S., Schwyck, M.E., Parkinson, C. *et al.* Having more virtual interaction partners during COVID-19 physical distancing measures may benefit mental health. *Sci Rep* 11, 18273 (2021). DOI:10.1038/s41598-021-97421-1.
140. Sandy, S., Wike, I. In Silico Antimalarial 5, 7-dihydroxy-2--(4-hydroxyphenyl)--6-(3-methylbut-2-enyl) chromen-4-one (6-prenylapigenin) Plant Cannabis sativa

- L.(Cannabaceae) Enzyme Inhibitor of DHFR Plasmodium vivax. *Biomed. Pharmacol. J.*, 14(1): 445-454. (2021). DOI:10.13005/bpj/2144.
141. Santarpia, J.L., Rivera, D.N., Herrera, V.L. *et al.* Aerosol and surface contamination of SARS-CoV-2 observed in quarantine and isolation care. *Sci Rep* 10, 12732, 2020. DOI:10.1038/s41598-020-69286-3.
142. Santos, E.C., Neto, A.F., Maneschy, C.E. *et al.* A molecular dynamics of cold neutral atoms captured by carbon nanotube under electric field and thermal effect as a selective atoms sensor. *J. Nanosci Nanotechnol*, 15(5): 3677-3680 (2015). DOI:10.1166/jnn.2015.9491.
143. Scheidt, W.F. Caracterização físico-química de filmes finos de ftalocianinas metálicas. *Dissertação de Mestrado*, Universidade Estadual do Oeste do Paraná (2018). Disponível em: <<http://tede.unioeste.br/handle/tede/4154>>. Acesso em: 15 de ago. de 2021.
144. Schoeman, D., Fielding, B.C. Coronavirus envelope protein: current knowledge. *Virology* 16(1):69 (2019). DOI:10.1186/s12985-019-1182-0.
145. Schreiber, I., Hutzler, C., Laux, P. *et al.* Formation of highly toxic hydrogen cyanide upon ruby laser irradiation of the tattoo pigment phthalocyanine blue. *Sci Rep* 5, 12915 (2015). DOI:10.1038/srep12915.
146. Schwieters, C.D., Kuszewski, J.J., Clore, G.M. Using Xplor–NIH for NMR molecular structure determination. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectros.*, 48(1): 47-62 (2006). DOI:10.1016/j.pnmrs.2005.10.001.
147. Seyler, S., Beckstein, O. AdKGromacsTutorial Documentation. (2018) Disponível em:< <https://adkgromacstutorial.readthedocs.io/en/latest/>>. Acesso em: 14 de set. de 2021.
148. Sharma, R., Viana, S.M., Ng, D.K.P. *et al.* Photodynamic inactivation of *Leishmania braziliensis* doubly sensitized with uroporphyrin and diamino-phthalocyanine activates effector functions of macrophages in vitro. *Sci Rep* 10, 17065 (2020). DOI:10.1038/s41598-020-74154-1.
149. Sharshov, K., Solomatina, M., Kurskaya, O. *et al.* The Photosensitizer Octakis(cholinyl)zinc Phthalocyanine with Ability to Bind to a Model Spike Protein

- Leads to a Loss of SARS-CoV-2 Infectivity In Vitro When Exposed to Far-Red LED. *Viruses*, 13(4): 643 (2021). DOI:10.3390/v13040643.
150. Siddiquie, R.Y., Agrawal, A., Joshi, S.S. Surface alterations to impart antiviral properties to combat COVID-19. *Trans. Indian Natl Acad. Eng.* 5: 343–347 (2020). DOI:10.1007/s41403-020-00096-9.
 151. Silva, S.G., da Costa, R.A., de Oliveira, M.S. *et al.* Chemical profile of *Lippia thymoides*, evaluation of the acetylcholinesterase inhibitory activity of its essential oil, and molecular docking and molecular dynamics simulations. *PLoS One*, 14(3), e0213393. (2019). DOI:10.1371/journal.pone.0213393.
 152. Silva, T. U., Pougy, K. D. C., Albuquerque, M. G. *et al.* Development of parameters compatible with the CHARMM36 force field for [Fe4S4] 2+ clusters and molecular dynamics simulations of adenosine-5'-phosphosulfate reductase in GROMACS 2019. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 1-11. (2020). DOI:10.1080/07391102.2020.1847687.
 153. Souza, S. S., Martins, M. A. D. S., Neto, A. M. D. J. C. *et al.* Systematic Gauge-Including Atomic Orbital-Hybrid Density Functional Theory Linear Regressions for ¹³C NMR Chemical Shifts Calculation. *Adv. Sci. Eng. Med.*, 12(3), 364-370. (2020) DOI:10.1166/ asem.2020.2508.
 154. Spelta, A., Pagnottoni, P. Mobility-based real-time economic monitoring amid the COVID-19 pandemic. *Sci Rep* 11, 13069 (2021). DOI:10.1038/s41598-021-92134-x.
 155. Stolberg, J. Sorção de Compostos Policíclicos Aromáticos por Microesferas de Quitosana- PVA contendo Ftalocianina de Cobre(U) Tetrasulfonada. *Tese de Doutorado*. Universidade Federal de Santa Catarina (2000). Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/xmlui/handle/123456789/78535>>. Acesso em: 28 de jul. de 2021.
 156. Sun, W.B., Yan, P.F., Jiang, S.D. *et al.* High symmetry or low symmetry, that is the question—high performance Dy (III) single-ion magnets by electrostatic potential design. *Chem. Sci*, 7(1), 684-691 (2016). DOI:10.1039/C5SC02986D.
 157. Suppakitjanusant, P., Sungkanuparph, S., Wongsinin, T. *et al.* Identifying individuals with recent COVID-19 through voice classification using deep learning. *Sci Rep* 11, 19149 (2021). DOI:10.1038/s41598-021-98742-x.

158. Tabari, M.A.K., Khoshhal, H., Tafazoli, A. *et al.* Applying computer simulations in battling with COVID-19, using pre-analyzed molecular and chemical data to face the pandemic. *Inform. Med. Unlocked*, 21 (2020). DOI:10.1016/j.imu.2020.100458.
159. Tang, S., Mao, Y. *et al.* Aerosol transmission of SARS-CoV-2? Evidence, prevention and control. *Environ Int.* 144:106039 (2020). DOI:10.1016/j.envint.2020.106039.
160. Takiuchi, E., Medici, K.C., Alfieri, A.F., Alfieri, A.A. Bovine herpesvirus type 1 abortions detected by a semi-nested PCR in Brazilian cattle herds. *Res Vet Sci.* 79 (1):85-88 (2005). DOI:10.1016/j.rvsc.2004.11.005.
161. Tang, Z., Kong, N., Zhang, X. *et al.* A materials-science perspective on tackling COVID-19. *Nat Rev Mater* 5: 847–860. (2020). DOI:10.1038/s41578-020-00247-y.
162. Tanner, D.E., Phillips, J.C., Schulten, K. GPU/CPU algorithm for generalized Born/solvent-accessible surface area implicit solvent calculations. *J. Chem. Theory Comput.*, 8 (7): 2521-2530 (2012). DOI:10.1021/ct3003089.
163. Tedesco, C., Primo, F.L., Beltrame, M. Phthalocyanines: Synthesis, Characterization and Biological Applications of Photodynamic Therapy (PDT), Nanobiotechnology, Magnetohyperthermia and Photodiagnosis (Theranostics), *Ref. Mod. Mater. Sci. Mater. Eng* (2016). DOI:10.1016/B978-0-12-803581-8.02460-7.
164. Thomas, S. The Structure of the Membrane Protein of SARS-CoV-2 Resembles the Sugar Transporter SemiSWEET. *Pathog. Immun.* 5(1):342-363 (2020). DOI:10.20411/pai.v5i1.377.
165. Thomsen, R., Christensen, M.H. MolDock: a new technique for high-accuracy molecular docking. *J. Med. Chem.* 49:3315–3321 (2006). DOI:10.1021/jm051197e.
166. Tomé, V.A. Síntese de ftalocianinas biocompatíveis para potencial aplicação em imagiologia médica. *Dissertação de Mestrado*. Universidade de Coimbra (2015). Disponível em: <https://estudogeral.sib.uc.pt/handle/10316/29759>. Acesso em: 10 de ago. de 2021.
167. Totrov, M., Abagyan, R. Flexible ligand docking to multiple receptor conformations: a practical alternative. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 18(2), 178-184 (2008). DOI:10.1016/j.sbi.2008.01.004.

168. Uzunia, A. Coronavírus SARS-CoV-2 e COVID-19. *J. Bras. Patol. Med. Lab.* 56 (2020). DOI:10.5935/1676-2444.20200053.
169. Valli, L. Phthalocyanine-based Langmuir–Blodgett films as chemical sensors. *Adv Colloid Interface Sci.*, 116(1-3): 13-44 (2005). DOI:10.1016/j.cis.2005.04.008.
170. van Staden, J.F. Application of phthalocyanines in flow- and sequential-injection analysis and microfluidics systems: A review. *Talanta.* 139: 75-88 (2015). DOI:10.1016/j.talanta.2015.02.026.
171. van Straten, B., Ligtelijn, S., Droog, L. *et al.* A life cycle assessment of reprocessing face masks during the Covid-19 pandemic. *Sci Rep* 11, 17680 (2021). DOI:10.1038/s41598-021-97188-5.
172. Vasickova, P., Pavlik, I., Verani, M., Carducci, A. Issues concerning survival of viruses on surfaces. *Food Environ. Virol.* 2: 24–34 (2010). DOI:10.1007/s12560-010-9025-6.
173. Velazquez, F.N., Miretti, M., Baumgartner, M.T. *et al.* Effectiveness of ZnPc and of an amine derivative to inactivate Glioblastoma cells by Photodynamic Therapy: an in vitro comparative study. *Sci Rep* 9, 3010 (2019). DOI:10.1038/s41598-019-39390-0.
174. Vieira, D. S. Estrutura, termoestabilidade e atividade de xilanases: um estudo via simulação molecular. *Tese de Doutorado.* Universidade de São Paulo (2007). Disponível em: <http://bdtd.ibict.br/vufind/Record/USP_1c3b0db30d9ee825b84d68c10876683b>. Acesso em: 22 de ago. de 2021.
175. Vijesh, A.M., Isloor, A.M., Telkar, S., Arulmoli, T., Fun, H.K. Molecular docking studies of some new imidazole derivatives for antimicrobial properties. *Arab. J. Chem.*, 6(2), 197-204 (2013). DOI:10.1016/j.arabjc.2011.10.007.
176. Vilhena, F.V., Reia, V.C.B, Orcina, B.F. *et al.*. The use of antiviral Phthalocyanine mouthwash as a preventive measure against COVID-19. *GMS Hyg Infect Control*; 16:Doc24 (2021). DOI:10.3205/dgkh000395.
177. Walls, A.C., Park, Y.J., Tortorici, M. A. *et al.*, Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell*, 181: 281–292.e286 (2020). DOI:10.1016/j.cell.2020.02.058.

178. Wang, J., Cieplak, P., Kollman, P.A. How well does a restrained electrostatic potential (RESP) model perform in calculating conformational energies of organic and biological molecules? *J. Comput. Chem.*, 21(12): 1049-1074 (2000). DOI:10.1002/1096-987X(200009)21:12%3C1049::AID-JCC3%3E3.0.CO;2-F.
179. Wang, J., Hou, T. Develop and test a solvent accessible surface area-based model in conformational entropy calculations. *J. Chem. Inf. Model.*, 52 (5): 1199-1212 (2012). DOI:10.1021/ci300064d.
180. Wang, J., Liu, R., Zhang, P. *et al.* Spatial variation, environmental assessment and source identification of heavy metals in sediments of the Yangtze River Estuary. *Mar. Pollut. Bull.*, 87(1-2), 364-373 (2014). DOI:10.1016/j.marpolbul.2014.07.048.
181. Wang, J., Tan, C., Tan, Y. H. *et al.* Poisson-Boltzmann solvents in molecular dynamics simulations. *Commun Comput Phys*, 3(5): 1010-1031 (2008). Disponível em: <<https://www.global-sci.org/v1/cicp/issue/FULLPDF/3/1010/paper.pdf>>. Acesso em: 12 de ago. de 2021.
182. Wang, J., Wolf, R.M., Caldwell, J.W. *et al.* Development and testing of a general amber force field. *J. Comput. Chem.*, 25(9):1157-1174 (2004). DOI:10.1002/jcc.20035.
183. Wang, M., Torbensen, K., Salvatore, D. *et al.* CO₂ electrochemical catalytic reduction with a highly active cobalt phthalocyanine. *Nat. Commun.* 10, 3602 (2019). DOI:10.1038/s41467-019-11542-w.
184. Wang, M.Y., Zhao, R., Gao, L.J. *et al.* SARS-CoV-2: Structure, Biology, and Structure-Based Therapeutics Development. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 10: 724, 2020. DOI:10.3389/fcimb.2020.587269.
185. Wang, Z. X., Zhang, W., Wu, C. *et al.* Strike a balance: optimization of backbone torsion parameters of AMBER polarizable force field for simulations of proteins and peptides. *J. Comput. Chem.*, 27(6): 781-790 (2006). DOI:10.1002/jcc.20386.
186. Weiner, P.K., Langridge, R., Blaney, J.M. *et al.* Electrostatic potential molecular surfaces. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 79(12):3754-3758 (1982). DOI:10.1073/pnas.79.12.3754.

187. Whitehead R.R., Watt A., Cole B.J., Morrison I. Computational Methods for Shell-Model Calculations. *Adv. Nucl. Phys.*, 9. (1977). DOI:10.1007/978-1-4615-8234-2_2.
188. Wrapp, D., Wang, N., Corbett, K.S. et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Sci. (N. Y. N.Y.)* 367: 1260–1263 (2020). DOI:10.1126/science.abb2507.
189. Wu, J. T., Leung, K., Leung, G. M. Nowcasting and forecasting the potential domestic and international spread of the 2019-nCoV outbreak originating in Wuhan, China: a modelling study. *Lancet* 395, 689–697 (2020). DOI:10.1016/s0140-6736(20)30260-9.
190. Xin, Y., Grundmeier, G., Keller, A. Adsorption of SARS- CoV- 2 Spike Protein S1 at Oxide Surfaces Studied by High- Speed Atomic Force Microscopy. *Adv NanoBiomed Res*, 1(2):2170023 (2021). DOI:10.1002/anbr.202000024.
191. Xue, Y., Ward, J.M., Yuwen, T. *et al.* Microsecond time-scale conformational exchange in proteins: using long molecular dynamics trajectory to simulate NMR relaxation dispersion data. *J. Am. Chem. Soc.*, 134(5):2555-2562 (2012). DOI:10.1021/ja206442c.
192. Yamamotoya, T., Nakatsu, Y., Kanna, M. *et al.* Prolyl isomerase Pin1 plays an essential role in SARS-CoV-2 proliferation, indicating its possibility as a novel therapeutic target. *Sci Rep* 11, 18581 (2021). DOI:10.1038/s41598-021-97972-3.
193. Yang, H., Rao, Z. Estrutural biology of SARS-CoV-2 and implications for therapeutic development. *Nat Rev Microbiol.* 19: 685–700 (2021). DOI:10.1038/s41579-021-00630-8.
194. Yang, N., Liu, F., Li, C. *et al.* Diagnostic classification of coronavirus disease 2019 (COVID-19) and other pneumonias using radiomics features in CT chest images. *Sci Rep* 11, 17885 (2021). DOI:10.1038/s41598-021-97497-9.
195. Yu, M., Li, Y., Yang, W. *et al.* Enhanced electrocatalytic activity and antifouling performance by iron phthalocyanine doped filtration membrane cathode. *Chem. Eng. J.*, 413, 127536. (2021). DOI:10.1016/j.cej.2020.127536.
196. Yu, Y., Bu, F., Zhou, H. *et al.* Biosafety Materials: An Emerging New Research Direction of Materials Science from the COVID-19 Outbreak. *Mater. Chem. Front.* 4 (7): 1930-1953 (2020). DOI:10.1039/D0QM00255K.

197. Yu, Y.X., Wu, J.Z., Gao, G.H. Ionic distribution, electrostatic potential and zeta potential at electrochemical interfaces. *Chin. J. Chem. Eng.*, 12(5): 688-695 (2004). Disponível em: <<https://www.cheric.org/research/tech/periodicals/view.php?seq=477472>>. Acesso em: 02 de set. de 2021.
198. Yuan, G., Li, T., Hu, W. A conjugate gradient algorithm for large-scale nonlinear equations and image restoration problems. *Appl. Num. Math.*, 147: 129-141. (2020). DOI:10.1016/j.apnum.2019.08.022.
199. Yuan, G., Wei, Z., Yang, Y. The global convergence of the Polak–Ribière–Polyak conjugate gradient algorithm under inexact line search for nonconvex functions. *J. Comput. Appl. Math.*, 362: 262-275 (2019). DOI:10.1016/j.cam.2018.10.057.
200. Zheng, G.J., Sonnenberg, L., Hada, M. *et al.* Gaussian 09 (2009). Disponível em: <<https://gaussian.com/glossary/g09/>>. Acesso em: 15 de ago. de 2021.
201. Zheng, X., Pan, D., Chen, M. *et al.* Tunable hydrophile–lipophile balance for manipulating structural stability and tumor retention of amphiphilic nanoparticles. *Adv. Mater.*, 31(35), 1901586 (2019). DOI:10.1002/adma.201901586.
202. Zhou, F., Yu, T., Du, R. *et al.* Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet.* 395:10229. (2020). DOI:10.1016/S0140-6736(20)30566-3.
203. Zhu, N., Zhang, D., Wang, W. *et al.* A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med.* 382:727–33 (2020). DOI:10.1056/NEJMoa2001017.

APÊNDICE 1

A função de pontuação usada por MolDock Score (THOMSEN e CHRISTENSEN, 2006) deriva das funções de pontuação PLP, de forma que a energia de pontuação (E_{score}) é definida pelo somatório dos termos energéticos de interação ligante-proteína (E_{inter}) com a energia interna do ligante (E_{intra})

$$E_{score} = E_{inter} + E_{intra} \quad A-1$$

Nesta função de pontuação, a equação foi otimizada para melhorar a pontuação com um novo termo para ligações de hidrogênio e um novo esquema para cargas. Desse modo, a energia referente à interação ligante-proteína (E_{inter}) é definida como:

$$E_{inter} = \sum_i \sum_j \left[E_{PLP}(r_{ij}) + 332.0 \frac{q_i q_j}{4r_{ij}^2} \right] \quad A-2$$

O termo E_{PLP} é um potencial linear por partes que utiliza dois parâmetros, um para aproximar o termo estérico (van der Waals) entre átomos e um segundo para ligações de hidrogênio, sendo este um potencial mais forte. O segundo termo descreve as interações eletrostáticas entre átomos carregados, um potencial de Coulomb onde a constante dielétrica distância-dependente é definida por $D(r) = 4r$. A multiplicação pelo numeral 332.0 transforma as unidades de energia eletrostáticas para kcal/mol. Com objetivo de garantir que a contribuição (atração elétron-núcleo) não seja superior à penalidade por aproximação (repulsão núcleo-núcleo), a energia eletrostática é desconsiderada em distâncias menores a 2.0 Å.

$$E_{intra} = \sum_i \sum_j E_{PLP}(r_{ij}) + \sum_{flexiblebonds} A[1 - \cos(m\theta - \theta_0)] + E_{clash} \quad A-3$$

Onde,

θ – representa o ângulo de torção da ligação.

A energia interna do ligante (E_{intra}) é um somatório entre os pares de átomos do ligante, excluindo pares de átomos conectados por duas ligações ou menos. O segundo termo refere-se a energia de torção, sendo parametrizado segundo os tipos de hibridação dos átomos ligados. Caso muitas torções tenham sido determinadas, a média de contribuição das energias de torção da ligação é utilizada. O terceiro termo (E_{clash}), está relacionado a questão espacial de átomos pesados, atribuindo uma penalidade de 1000, caso a distância entre dois destes átomos for

inferior a 2.0 Å, e 10000 se o átomo pesado estiver fora do sítio de interação (delimitado pelo grid esférico). Após o software predizer uma ou mais poses promissoras, uma série de termos energéticos adicionais é calculado ao fim da corrida. Estes termos são combinados linearmente, gerando o “rerank score”.

APÊNDICE 2

O artigo foi submetido e aceito na revista *Scientific Reports*, Qualis A1 da CAPES, em 2021.

scientific reports**Interactions of Co, Cu, and Non-metal phthalocyanines with external structures of SARS-CoV-2 using docking and molecular dynamics**

Wilson Luna Machado Alencar ^{a,b,*}, Tiago .da Silva. Arouche ^a, Abel Ferreira Gomes Neto^a, Teodorico de Castro. Ramalho^f, Raul Nunes de Carvalho Júnior ^{b,c}, Antonio Maia de Jesus Chaves. Neto^{a,b,c,d}

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

^b *Pos-Graduation Program in Engineering of Natural Resources of the Amazon, ITEC, Federal University of Pará, C. P. 2626, 66.050-540, Belem, PA, Brazil.*

^c *Pos-Graduation Program in Chemical Engineering, ITEC, Federal University of Pará, C. P. 479, 66075-900 Belem, PA, Brazil.*

^d *Mestrado Nacional Profissional em Ensino de Física, Federal University of Pará, C. P. 479, 66075-110 Belem, PA, Brazil*

^e *Federal Institute of Pará (IFPA), C. P. BR 316, Km 61, 68740-970, Castanhal, PA, Brazil*

^f *Federal University of Lavras (UFLA), Chemistry Department, C.P. 3037, 37200000, Lavras, MG, Brazil.*

Abstract

The new coronavirus, SARS-CoV-2, caused the COVID-19 pandemic, characterized by its high rate of contamination, propagation capacity, and lethality rate. In this work, we approach the use of phthalocyanines as an inhibitor of SARS-CoV-2, as they present several interactive properties of the phthalocyanines (Pc) of Cobalt (CoPc), Copper (CuPc) and without a metal group (NoPc) can interact with SARS -CoV-2, showing potential be used as filtering by adsorption on paints on walls, masks, clothes, and air conditioning filters.