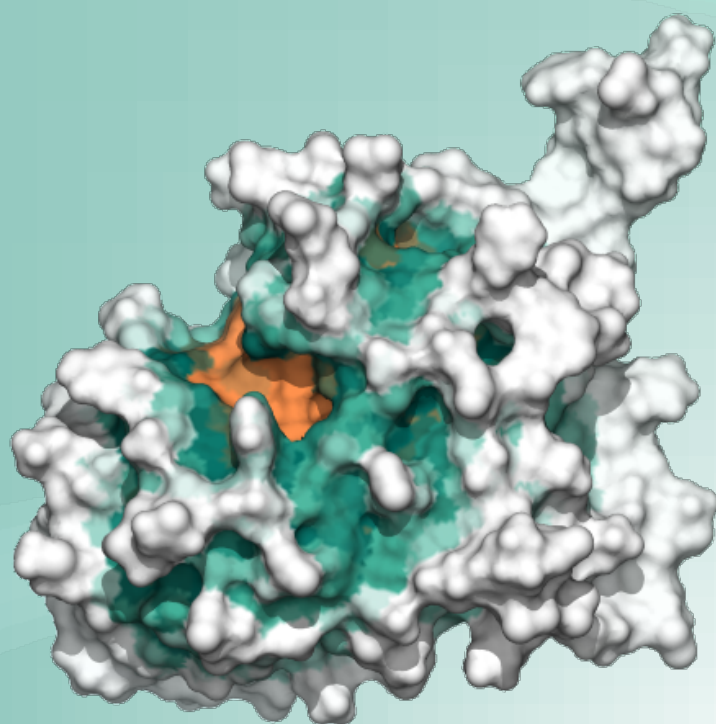




# Anais da XI Escola de Modelagem Molecular de Sistemas Biológicos

Laboratório Nacional de Computação Científica  
Petrópolis, Rio de Janeiro  
19 a 23 de agosto de 2024







# Comissão Organizadora

---

Laurent Emmanuel Dardenne

Ernesto Raúl Caffarena

Pedro Geraldo Pascutti

Isabella Alvim Guedes

Priscila Vanessa Zabala Capriles Goliatt

Manuela Leal da Silva

Camila Silva de Magalhães

Pedro Henrique Monteiro Torres

Fábio Lima Custódio

Maurício Garcia de Souza Costa

Matheus Müller Pereira da Silva

Leon Sulfierry Corrêa Costa



# Sumário

---

## Apresentação Oral

Página	Título
2	Family of YcgR homologs that binds c-di-GMP in Leptospirales
3	Estabilidade e Reconhecimento Molecular de Compostos de Inclusão de $\beta$ -CD e Complexos de Platina(II) com Atividade Antitumoral
4	Integração de aprendizagem de máquina e computação evolutiva para otimização da afinidade de anticorpos.
5	Avaliação Computacional de Derivados Benzotiazóis como Inibidores da Enzima Pteridina Redutase 1 em Leishmania major
6	Uso de Ferramentas Computacionais na Análise de Inibidores Farmacológicos Derivados de Aminoquinolinas Para SARS-CoV-2, Tendo como Alvo a Proteína Main-Like Protease.
7	Identificação e Estudos Farmacocinéticos de Derivados de Monoterpenos Como Agonistas do Receptor 5-HT <sub>1A</sub> com Potencial Atividade Antidepressiva por Triagem Virtual.
8	Explorando Estratégias In Silico Direcionadas ao Desenvolvimento de Novos Inibidores da via PD-1 e PD-L1
9	Cadeias de moléculas de água são cruciais para a catálise na polimerase de DNA do Thermococcus kodakarensis
10	Modelagem 3D de Proteínas de Interesse na Indústria Farmacêutica e Nutracêutica à Base de Insumos Lácteos
11	Exploração do espaço de sequências de ligantes peptídicos utilizando aprendizagem ativa
12	Estudo in silico do impacto da mutação PRKAG2-H401Q na afinidade da AMPK por AMP e ATP
13	Estudos Computacionais da Plasticidade Conformacional da

<b>Página</b>	<b>Título</b>
	Glicoproteína Spike de Coronavírus
14	Inibição da Adenilosuccinato Liase (LmASL) de Leishmania major: Aplicações de Triagem Virtual na Proposição de Reposicionamento de Fármacos
15	Desenvolvimento de um Novo Modelo de PI4K de Plasmodium falciparum e Validação por Cálculos Alquímicos
16	Parametrização de campos de força intramolecular e obtenção de parâmetros de RMN em complexos de Pt(II)-carboxilados

## **Apresentação de Pôster**

<b>Página</b>	<b>Título</b>
18	Análise de Interações Não Covalentes e Cálculos de Entalpia de Ligação e Energia Livre para Inibidores da Enzima LmPTR1
19	Re-ranking binding mode predictions using graph neural networks with protein-ligand contact map
20	Comparison Of Optimal PH And Single Mutation Analysis Of SARS-CoV-2 Spike Protein: Insights from Brazilian Data
21	Seleção de ligantes para as proteínas do envelope de chikungunya via docking molecular
22	Benchmarking das interações intermoleculares em receptores opioides: uma comparação entre energias calculadas por MM e por SAPT
23	Estudos de Interações Proteína-Ligante de Subtipos de Cruzipaínas com Inibidores de Cruzaína
24	Refinamento de Estruturas de Docking Molecular Usando Abordagem QM/MM e QM/QM
25	Novos derivados de 1,2,4-oxadiazol: Potencial antileishmania e simulações de acoplamento e dinâmica molecular de proteínas-alvo de Leishmania infantum
26	Reposicionamento de fármacos e busca por novos antiplaquetários com potencial modo de ação no receptor P2Y12
27	Identification of molecular hits of natural products with a satisfactory profile to act on wild-type Mpro and its variants K90R, P99L, P108S, and N151D
28	What are the Structural and Dynamic Mechanisms Underlying the

<b>Página</b>	<b>Título</b>
	Influence of Chikungunya nsP2 Protease on the Helicase Domain?
29	Análise da Interação Entre o Inibidor DM43 e a Metalloendopeptidase de Veneno de Serpente BaP1
31	Exploring the effect of local energetic frustration in the folding mechanism of repeat-proteins
32	Investigating the Role of Tyrosine Y73 Mutation on Cellulose Degradation in <i>Thermobifida fusca</i> Endoglucanase Cel6A: A Molecular Dynamics Approach
33	Validação do Docking na Tripanotiona Redutase de <i>Trypanosoma cruzi</i> (TcTR)
34	Protein modeling and structure-based drug design for novel mgmt inhibitors: overcoming glioblastoma treatment resistance
35	CavID: Identificando Cavidades na Superfície Proteica e sua Identidade em Relação a Sequências Homólogas
36	Estudos Computacionais de Novos Análogos de LASSBio-2208 Planejados Como Inibidores Duais de HDAC/PI3K
37	Serine to Cysteine Protease-like mechanism of HtDLH: A new perspective for a thermostable PET cleavage using QM/MM
38	Virtual Screening de Compostos Naturais para o Desenvolvimento de Potenciais Inibidores para a Enzima SAP5 da <i>Candida albicans</i>
39	Dinâmica Molecular Aplicada ao Estudo da Enzima N-Acetyl-L-Glutamate Kinase Associada à Super-Resistência Bacteriana em <i>Klebsiella Pneumoniae</i>
40	Análise de Substituições de Aminoácidos na Proteína VP1 de Enterovírus da Espécie B
41	Estudo de seletividade de design de novo em receptores de serotonina 5-HT <sub>2A</sub> , 5-HT <sub>6</sub> e 5-HT <sub>7</sub>
42	Caracterização do sítio ativo da Dihidrofolato Redutase de <i>M. tuberculosis</i> quanto às interações intermoleculares
43	TARDIS: Uma ferramenta de modelagem de redes metabólicas em escala genômica para prospecção de alvos no desenvolvimento de fármacos contra doenças infecciosas
44	Comparative Analysis of Fusicoocin Binding to 14-3-3 Isoforms $\sigma$ and $\beta$ : Implications for Selective Inhibitor Development
45	De Novo Design of Antiviral Proteins: Targeting the Viral Entry Mechanisms of SARS-CoV-2, Chikungunya, and Dengue

<b>Página</b>	<b>Título</b>
46	Caracterização Termodinâmica da Resposta Imune Humoral Contra a Proteína Envelope do Vírus da Dengue
47	Artificial Intelligence Applied to Virtual Screening to Create a Consensus Score
48	Busca de Alvos Antiparasitários do Fármaco Zileuton por Triagem Virtual Invertida Baseada em Ligante
49	Molecular Dynamics and Quantum Biochemistry Reveal PHO36 as a Novel Membrane Receptor Target for Synthetic Peptides in <i>Candida albicans</i>
50	Predição por dinâmica molecular do calor de vaporização de solventes orgânicos voláteis de alta toxidez
51	Planejamento por Modelagem e Dinâmica Molecular de Inibidores de <i>Leishmania amazonensis</i> e <i>Leishmania major</i> .
52	Abordagem Computacional no Desenvolvimento de Testes Rápidos Para Detecção de Novas Substâncias Psicoativas
53	Estudos de Modelagem Molecular para a Descoberta de Potenciais Inibidores da Enzima PI4KIII $\beta$ de <i>Plasmodium falciparum</i> : Triagem Virtual e Métodos de Aprendizado de Máquina
54	Avaliação do Modo de Interação dos Derivados Canabinoides no Receptor 5-HT1A
55	Estudo Conformacional de Proteases do HIV-1 Multirresistentes às Drogas: Abertura Assimétrica Revelada por Dinâmica Molecular
56	Identificação e Caracterização de Sítios Alostéricos e Crípticos e Descoberta de Potenciais Inibidores Seletivos para SRPK2
57	Triagem Virtual Invertida Baseada na Estrutura do Receptor de Quinolinas com Potencial Atividade Leishmanicida
58	Estudo do mecanismo de contração de bacteriocinas
59	Estudo In Silico e In Vitro de Imidazotiazóis e Imidazopiridinas Seleniladas para o Tratamento de Cânceres
60	Modelagem Estrutural e Avaliação da Interação Molecular entre as Proteínas Ras e Plexina de <i>Hartaetosiga balthica</i>
62	Desenvolvimento De Conjuntos De Teste $\beta$ CD-Ligante E Avaliação Usando DockThor
63	Comparação Computacional e Experimental entre a Protease Romboide Mitocondrial Pcp1 em <i>Sacharomyces cerevisiae</i> e a Protease Romboide GlpG em <i>Escherichia coli</i>

<b>Página</b>	<b>Título</b>
64	Estudo de Docking Molecular de Constituintes da Croton Heliotropiifolius Kunth com Potencial Ação Anticonvulsivante
65	Evaluation of an encapsulated pharmacophore for drug delivery purposes using molecular dynamic simulation
66	Estudo In Silico da Interação do CO <sub>2</sub> com Superfícies de TiO <sub>2</sub> (001) Anatase
67	Predição de sinergia de Peptídeos Antimicrobianos com outros agentes usando aprendizagem de máquina supervisionado
68	Computational Modeling of Vasoactive Intestinal Peptide Binding to Receptor Variants VPAC1 and VPAC2
69	Estudo de Docking Molecular para Investigar o Modo de Ligação de Complexos de Cobre(II) como Potenciais Inibidores da Tio redoxina Redutase
70	Caracterização computacional do mecanismo de ação das HIUases
71	Análise da duplicação gênica nas cinco espécies de Plasmodium causadoras da malária humana
72	Seleção de Conformações Representativas da Proteína Mpro do Vírus SARS-CoV-2 Visando a Descoberta de Novos Tratamentos para a Covid-19
73	Mapeamento E Caracterização De Sítios Alostéricos Da Tripanotona Redutase De Trypanosoma Cruzi Auxiliado Por Métodos Computacionais
74	Estudo computacional de propriedades físico-químicas e eletrônicas de complexos de paládio(II) com potencial antitumoral
75	Avaliação in silico de tiazóis como potenciais inibidores da proteína n do vírus SARS-CoV-2
76	Proposição de Candidatos à Inibidores da Mpro de SARS-CoV-2 a partir da Modelagem Molecular de Tiazóis



# Apresentação Oral

---

## Family of YcgR homologs that binds c-di-GMP in Leptospirales

Aline Biazola Visnardi<sup>1§</sup>, Rodolfo Alvarenga Ribeiro<sup>1</sup>, Anacleto Silva de Souza<sup>1</sup>,  
Tania Geraldine Churasacari Vinczes<sup>2</sup>, Edgar E. Llontop<sup>3</sup>, Anielle Salviano de  
Almeida Ferrari<sup>1</sup>, Gabriela Roberto Silva<sup>1</sup>, Chuck Shaker Farah<sup>3</sup>, Rogerio Corte  
Sassonia<sup>4</sup>, Roberto K. Salinas<sup>3</sup>, Cristiane Rodrigues Guzzo<sup>1\*</sup>, Robson Francisco  
de Souza<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Microbiology, Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, Brazil

<sup>2</sup> Department of Parasitology, Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, Brazil

<sup>3</sup> Department of Biochemistry, Institute of Chemistry, University of São Paulo, São Paulo, Brazil

<sup>4</sup> Federal University of São Paulo, Department of Chemistry, São Paulo, Brazil

### INTRODUÇÃO

The Leptospiraceae family, which includes the genera *Leptospira*, *Leptonema*, and *Turneriella* within the order Spirochaetales, is a diverse group characterized by the presence of spirochetes, particularly the versatile *Leptospira* species. These spirochetes, comprising both saprophytic and pathogenic strains, demonstrate adaptability to various environments. Genome analysis of *Leptospira interrogans*, a pathogenic species, revealed the presence of proteins containing PilZ domains, whose expression has been confirmed by proteomics and may play a significant role in spirochete biology. PilZ domain proteins have the potential to bind to the second messenger cyclic diguanylate monophosphate (c-di-GMP), a key regulator of various cellular processes, including biofilm formation, motility, and virulence factors.

### OBJETIVOS

The aim of this study is to investigate, through structural and biochemical methods, whether the PilZ domains of *L. interrogans* retain the ability to bind c-di-GMP.

### METODOLOGIA

Initially, we started by cloning the gene with locus\_tag LIC\_11920 into an expression vector, where the gene is fused to a 6×His tag at its N-terminal end. The gene was expressed in *E. coli* BL21(DE3)-RIL cells and purified using

chromatography techniques. We evaluated the ability of this protein to dimerize using SEC-MALS (Size Exclusion Chromatography – Multiple Angle Light Scattering) assays to determine its experimental molecular mass. To test the protein's affinity for c-di-GMP, we performed ITC (Isothermal Titration Calorimetry).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

As a result, we can state that LIC\_11920 is a monomeric protein in solution, and ITC analyses showed that LIC\_11920 has a high affinity for c-di-GMP.

### CONCLUSÕES

To expand the analysis, we also intend to study the paralogs of this protein that contain the same domain architecture: LIC\_10049, LIC\_12723, LIC\_12994, and LIC\_14002.

# Estabilidade e Reconhecimento Molecular de Compostos de Inclusão de $\beta$ -CD e Complexos de Platina(II) com Atividade Antitumoral

Lisandra Paulino dos Santos<sup>1</sup>, Leonardo Baptista<sup>2</sup>, Leonardo A. De Souza<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ

<sup>2</sup>Faculdade de Tecnologia de Resende – FAT- UERJ

## INTRODUÇÃO

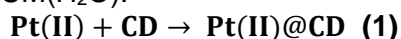
O câncer é uma doença com alta incidência ao redor do mundo e as previsões indicam um aumento generalizado do número de casos. A cisplatina e seus derivados apresentam grande eficácia no tratamento de diversos tipos de tumores e são amplamente utilizados. Devido à baixa seletividade do íon metálico esses fármacos apresentam diversos efeitos colaterais que limitam seu uso. Uma proposta de aprimoramento é o encapsulamento dessas moléculas, sendo as ciclodextrinas um substrato usualmente empregado nesse processo. A técnica de RMN possibilita a confirmação do encapsulamento devido a alteração dos deslocamentos químicos dos núcleos de  $^1\text{H}$  tanto do hospedeiro quanto da molécula hospedeira [1].

## OBJETIVOS

Avaliar a estabilidade molecular dos compostos de inclusão formados pela  $\beta$ -ciclodextrina e os fármacos cisplatina, carboplatina e oxaliplatina a partir de cálculos da teoria do funcional da densidade.

## METODOLOGIA

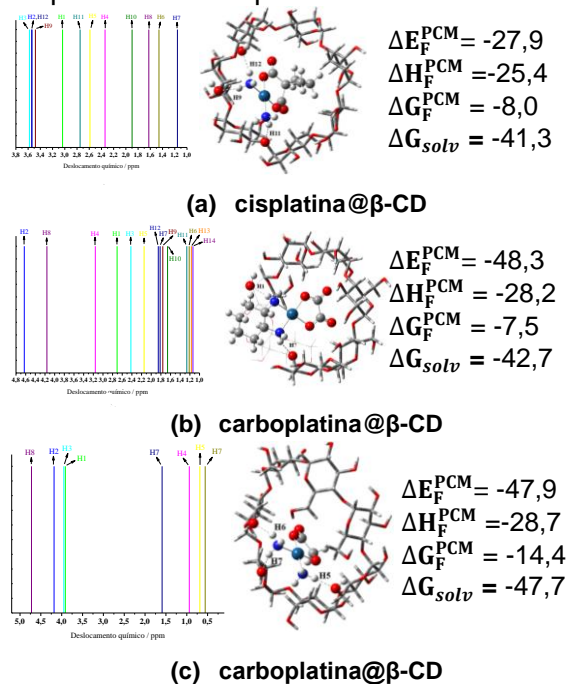
A energia total e os parâmetros termodinâmicos de formação dos compostos de inclusão foram obtidos de acordo com a reação química (Eq. 1), utilizando o nível teórico M06-2X/LANL2DZ/def2-SVP/PCM( $\text{H}_2\text{O}$ ).



Os deslocamentos químicos de RMN de  $^1\text{H}$  foram obtidos a partir de cálculos da constante de blindagem do núcleo de  $^1\text{H}$  empregando o nível M06-2X/LANL2DZ/def2-TZVP-PCM( $\text{H}_2\text{O}$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

**Figura 1** – Estruturas otimizadas e seus deslocamentos químicos de  $\delta^1\text{H}$  dos complexos dos compostos de inclusão.



Todos os valores apresentados são em  $\text{kcal mol}^{-1}$ .

## CONCLUSÕES

O modelo de reação adotado revelou que a formação de todos os compostos de inclusão foi termodinamicamente favorável em meio aquoso. Os cálculos de deslocamento químico em fase aquosa revelaram ser possível estimar a posição relativa do complexo na cavidade da ciclodextrina e identificar as deformações sofridas pela macromolécula hospedeira.

## REFERÊNCIAS

[1] RAHIM, N. Y. e ELLEAS, N. A. E. "Characterization of inclusion complex  $\beta$ -cyclodextrin/isoniazid using spectroscopic method." *M. J. of Anal. Sci.*, v. 24, p. 862-872, 2020.

## Integração de aprendizagem de máquina e computação evolutiva para otimização da afinidade de anticorpos.

João Sartori<sup>1</sup>, Eduardo Krempser<sup>3</sup>, Elton José Ferreira Chaves<sup>4</sup>, Roberto D. Lins<sup>4</sup>, Ana Carolina Ramos Guimarães<sup>1</sup>, Lucas de Almeida Machado<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Genômica Aplicada e Bioinovações/Instituto Oswaldo Cruz – LAGABI/IOC

<sup>2</sup> Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira – IFF

<sup>3</sup> Plataforma Institucional Biodiversidade e Saúde Silvestre - Pibss/Presidência/Fiocruz

<sup>4</sup> Instituto Aggeu Magalhães/Fiocruz Pernambuco – IAM

### INTRODUÇÃO

Os anticorpos monoclonais (mAbs) são cruciais para a terapia e diagnóstico devido à sua especificidade antigênica. Devido à tamanha relevância de mAbs e fragmentos de anticorpos tanto na área de tratamento quanto de diagnóstico, estratégias que visam otimizar a afinidade de mAbs são muito exploradas. Alcançar essas modificações geralmente envolve a mutação em regiões determinantes de complementaridade (CDR). Nesse contexto, métodos computacionais baseados em mecânica molecular, como dinâmica molecular, *docking* molecular, MM-PBSA (Molecular Mechanics Poisson-Boltzmann Surface Area) podem ser utilizados como forma de triagem. No entanto, navegar pelo vasto espaço mutacional é um desafio, devido ao grande número de possibilidades de sequências. Dessa forma, abordagens mistas baseadas em computação evolutiva, como um Algoritmo Genético (GA), e aprendizagem de máquina podem ajudar a encontrar sequências ótimas de maneira mais eficiente e com custo reduzido.

### OBJETIVOS

Gerar um protocolo misto de meta-heurística com aprendizagem de máquina para otimizar a afinidade de anticorpos e fragmentos derivados a partir da evolução iterativa de suas CDRs.

### METODOLOGIA

Utilizamos como caso de estudo o complexo formado pelo cetuximabe e receptor do fator de crescimento anti-epidérmico (EGFR) (PDB: 1YY9). A partir dessa estrutura inicial, o algoritmo

gera uma população inicial contendo Fabs com mutações aleatórias nas CDRs. O modelo de aprendizagem de máquina *Protein Binding Energy Estimator* (PBEE - <https://github.com/chavesejf/pbee>) é utilizado como função objetivo, predizendo o  $\Delta G_{\text{Ligação}}$  de cada indivíduo da população. Em seguida, o programa realiza seleção por torneio, e as sequências são submetidas a *crossing-over*, seguido de uma etapa de mutações. As novas sequências são concatenadas à população anterior, e os melhores indivíduos passam a compor a nova população, e o ciclo se repete de maneira iterativa.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi implementado ao GA o modelo PBEE, como opção no cálculo da função objetiva (<https://github.com/izzetbiophysicist/GAPO>). Implementações anteriores do programa utilizavam métodos de mecânica molecular apenas, calculando a função objetivo a partir da estimativa de  $\Delta G$  calculada pelo campo de forças do software PyRosetta. Com a nova implementação, além de reduzir o custo computacional, esperamos também obter predições de afinidade mais precisas. As sequências geradas pelo GA estão sendo analisadas no momento.

### CONCLUSÕES

A partir da integração de métodos de aprendizagem de máquina e computação evolutiva, esperamos conseguir explorar o espaço mutacional de anticorpos com menor custo computacional e maior precisão, a fim de otimizar a afinidade de anticorpos e fragmentos a antígenos.

## Avaliação Computacional de Derivados Benzotiazóis como Inibidores da Enzima Pteridina Redutase 1 em *Leishmania major*

Jéssika de Oliveira Viana<sup>1</sup>, Karen Cacilda Weber<sup>1</sup>, Luiz Eduardo Gomes da Cruz<sup>1</sup>, Rhayane de Oliveira Santos<sup>1</sup>, Gerd Bruno Rocha<sup>1</sup>, Alessandro Kappel Jordão<sup>2</sup>, e Euzébio Guimarães Barbosa<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química, Universidade Federal da Paraíba - UFPB

<sup>2</sup>Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN

### INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de inibidores eficazes é essencial para o avanço de novas terapias contra a Leishmaniose. Em estudo recente, derivados benzotiazóis foram avaliados como inibidores da enzima Pteridina redutase 1 (PTR1) de *Leishmania major*, crucial para o parasita<sup>[1]</sup>. Técnicas computacionais, como Relação Quantitativa Estrutura-Atividade (QSAR), *docking* e dinâmica molecular foram utilizadas para identificar e otimizar novos inibidores ao modelar suas interações frente ao alvo biológico<sup>[2]</sup>.

### OBJETIVOS

Determinar características estruturais importantes para novos inibidores da *LmPTR1*, aplicando técnicas computacionais baseadas em ligantes e receptor a uma série de benzotiazóis.

### METODOLOGIA

69 derivados benzotiazóis, inibidores da *LmPTR1*, foram otimizados no MOPAC. Descritores 2D e 3D foram calculados no PaDEL e submetidos ao 3D-QSARpy para construção do modelo QSAR. O *docking* foi validado usando RMSD e curva ROC dos ativos e inativos no Autodock Vina. Os *dockings* dos benzotiazóis foram realizados usando o mesmo protocolo. Novas estruturas similares foram buscadas no ZINC e PubChem, sendo triados usando SwissADME, *docking* e predição do valor de  $pIC_{50}$ . Complexos do melhor composto triado e do inibidor cristalizado com a PTR1 foram submetidos a 100 ns de simulações de dinâmica molecular usando GROMACS.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises de QSAR e *docking*

apresentaram resultados semelhantes. O modelo QSAR foi capaz de identificar os descritores híbridos (2D e 3D) com uma precisão superior a 95%, demonstrando que descritores de autocorrelação, carga topológica, potencial de Lennard-Jones, ligações hidrofóbicas e de hidrogênio são essenciais para a atividade. O *docking* molecular foi validado com previsão de 91% ao avaliar a pontuação correta de compostos ativos versus inativos. Os resultados do *docking* indicaram que o mecanismo de ação envolve a interação com os resíduos Phe113, His241, Leu188, Met183 e Leu226. Ainda, indicaram que fragmentos eletronegativos próximos ao núcleo 2-aminobenzotiazol e a massa molecular podem aumentar o  $pIC_{50}$ . Com base nos modelos, a triagem virtual indicou o composto Zinc 72229720 como o de melhor pontuação de *docking*, melhor previsão do  $pIC_{50}$ , melhores propriedades ADME, e estabilidade do complexo na simulação de dinâmica molecular, sendo melhor que o inibidor co-cristalizado e demais derivados.

### CONCLUSÕES

A integração das técnicas utilizadas identificou características importantes para a otimização de novos compostos como inibidores da *LmPTR1*.

### REFERÊNCIAS

- [1] S. Ferrari, et al., "Virtual Screening Identification of Nonfolate Compounds, Including a CNS Drug, as Antiparasitic Agents Inhibiting Pteridine Reductase," *J. Med. Chem.* vol. 54, pp. 211-221, **2011**.
- [2] J. Panteleev, et al., "Recent applications of machine learning in medicinal chemistry" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* Vol. 28, pp. 2807-2815, **2018**.

## Uso de Ferramentas Computacionais na Análise de Inibidores Farmacológicos Derivados de Aminoquinolinas Para SARS-CoV-2, Tendo como Alvo a Proteína *Main-Like Protease*.

Maria Luiza Pereira Baltazar<sup>1</sup>, Matheus José Novais Landim<sup>1</sup>, Vinicius Carius de Souza<sup>1</sup> e Priscila Vanessa S. Zabala Capriles<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Modelagem Computacional Aplicada, Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF

### INTRODUÇÃO

O coronavírus causou grande alarde por desencadear uma pandemia da síndrome respiratória aguda grave 2 (SARS-CoV-2). Em meio à massiva tentativa de vacinar a população, a fim de impedir o contágio, observou-se também a necessidade de desenvolver medicamentos antivirais por meio de moléculas inibidoras da replicação do SARS-CoV-2. Essa medida mostrou-se pertinente uma vez que tais medicamentos seriam essenciais no combate às variantes virais e nos problemas relacionados à distribuição da vacina.

### OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi analisar, por meio de *Docking* Molecular, a efetividade de moléculas derivadas de 4-aminoquinolinas na inibição da *Main-Like Protease* ( $M^{pro}$ ), proteína crucial para a replicação do genoma viral do SARS-CoV-2.

### METODOLOGIA

Inicialmente, foi feita a modelagem por homologia da estrutura da  $M^{pro}$ . Essa proteína é biologicamente ativa em sua forma dimérica, sendo assim foram utilizados dois templates monoméricos do PDB (PDB6Y2E e PDB6Y2G). O programa modeller v9.23 foi utilizado para completar a porção C-terminal da cadeia polipeptídica e construir o dímero. Em seguida, o modelo construído foi submetido à simulação de dinâmica molecular na qual obteve como resultado as conformações preferenciais da  $M^{pro}$ . Com relação aos ligantes, os compostos controle foram obtidos nos repositórios PubChem e Zinc, já os nove derivados de 4-aminoquinolina desenvolvidos pelo departamento de química da UFJF foram desenhados pelo

software do ChemSketch. Em seguida foi feita a otimização dos ligantes na sua forma 3D pelo programa Avogadro e submetidos à ferramenta Epik (Schrödinger) para obter suas cargas em pH fisiológico. Para realizar o *docking* foram utilizados os programas Autodock Vina e DockThor, em ambos foi feita previamente a definição do centro da *gridbox* tendo como foco as coordenadas dos resíduos catalíticos H41 e C145. As conformações da  $M^{pro}$  foram preparadas de acordo com cada programa de *docking* utilizado.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao analisar os resultados, observou-se as interações feitas entre os ligantes e os resíduos de aminoácidos da  $M^{pro}$  bem como os valores de energia. Acerca dos inibidores, aquele que apresentou ser mais efetivo foi a molécula Q4b em contraste com o controle positivo utilizado no estudo. O ligante Q4b apresentou interações do tipo polar com a H41 e hidrofóbicas com a C145. Além disso, o *score* dessa molécula obteve resultado de  $-8.2128$  kcal/mol e o cKi igual a  $1.1617$   $\mu M^{[1]}$ .

### CONCLUSÕES

Tais resultados foram validados experimentalmente por laboratório parceiro da FIOCRUZ-RJ indicando que estes derivados de 4-aminoquinolinas são promissores para inibição da  $M^{pro}$  e consequente replicação do SARS-CoV-2.

### REFERÊNCIAS

[1] Glanzmann N, Oliveira TKF, de Souza VC, et al. Potent and selective inhibitory effect of 4-aminoquinoline derivatives on SARS-CoV-2 replication. *Innov Med Omics*. 2024;1(1):3442. doi: 10.36922/imo.3442

## Identificação e Estudos Farmacocinéticos de Derivados de Monoterpenos Como Agonistas do Receptor 5-HT<sub>1A</sub> com Potencial Atividade Antidepressiva por Triagem Virtual.

João Pedro Araujo dos Santos<sup>1</sup>, Raissa A. Conceição<sup>1</sup>, Gustavo S. Martins<sup>1</sup>, Bruno M. S. Santos<sup>2</sup>, Fernanda Gadini Finelli<sup>2</sup>, Ivana Correia R. Leal<sup>1</sup>, Carlos Rangel Rodrigues<sup>1</sup>, Alessandra Mendonça Teles de Souza<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ – Brasil.

<sup>2</sup>Instituto de Pesquisa em Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ – Brasil.

### INTRODUÇÃO

A teoria mais aceita acerca da depressão é de que a doença é causada pelo desequilíbrio dos neurotransmissores no Sistema Nervoso Central (SNC)<sup>1</sup>. Por esse motivo, estudar moléculas que agem no SNC é de grande interesse clínico. O beta-pineno é um monoterpene encontrado no arbusto *Litsea glaucescens*, utilizado na medicina tradicional para reduzir sintomas associados à ansiedade e à depressão<sup>2</sup>. Neste trabalho, o beta-pineno foi estudado como agonista do receptor 5-HT<sub>1A</sub> e precursor para o planejamento de novas moléculas como protótipos de fármacos antidepressivos.

### OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo identificar por abordagens *in silico* os derivados de beta-pineno com biodisponibilidade oral favorável, que permeiem a barreira hematoencefálica (BHE) e tenham potencial atividade agonista no receptor 5-HT<sub>1A</sub>.

### METODOLOGIA

Uma série de 102 derivados do beta-pineno foi inicialmente avaliada quanto a habilidade de permeação da BHE e biodisponibilidade oral segundo às regras de Lipinski por modelo de QSAR implementado no software ADMET Predictor™ (v11.0). Em seguida, os derivados foram submetidos à triagem virtual (TV) por *docking* molecular no sítio de ligação do receptor 5-HT<sub>1A</sub> (PDB 7E2Z). A estrutura tridimensional da proteína foi obtida por criomicroscopia eletrônica<sup>3</sup>. Para a TV, foi usado o

programa GOLD (v2023.2.0) com a função de pontuação CHEMPLP, após validação por *redocking*.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise do potencial de permeação da BHE, 8 derivados apresentaram baixo potencial de permeação e foram excluídos. Nenhum derivado violou a R5. Após a validação do método de *docking* molecular, 94 derivados junto ao beta-pineno foram submetidos à TV e ranqueados com base na pontuação GOLD com valores entre 32-69. À exceção de 1 derivado, todos os demais tiveram pontuações superiores ao de seu precursor, indicando maior afinidade ao receptor. Os 10 melhores derivados foram selecionados considerando seu alto valor de pontuação, capacidade de permear a BHE e não violação a R5 e foram submetidos à avaliação do seu modo de ligação, onde observou-se principalmente ligações de hidrogênio e interações de Van der Waals.

### CONCLUSÕES

Considerando o ranqueamento dos derivados, os mesmos serão sintetizados, caracterizados e testados para confirmação de sua atividade agonista do receptor 5-HT<sub>1A</sub>. Como resultado, essas moléculas postulam como candidatos promissores para o tratamento da depressão.

### REFERÊNCIAS

- 1 Diniz, J.P. et al. Ação dos Neurotransmissores Envolvidos na Depressão. *Ensaio e Ciência*, 24, 437, 2020.
- 2 Guzmán-Gutiérrez, S.L, et al. Linalool and  $\beta$ -pinene exert their antidepressant-like activity through the monoaminergic pathway. *Life Sci.*, 1, 24, 2015.
- 3 Xu, P, et al. Structural insights into the lipid and ligand regulation of serotonin receptors. *Nature* 592, 469, 2021.

## Explorando Estratégias *In Silico* Direcionadas ao Desenvolvimento de Novos Inibidores da via PD-1 e PD-L1

Luca Milério Andrade<sup>1,3\*</sup>, Aline de Oliveira Albuquerque<sup>2,3</sup>, Andrielly Henriques dos Santos Costa<sup>1,3</sup>,  
Geraldo Rodrigues Sartori<sup>3</sup>, João Hermínio Martins da Silva<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Programa de pós-graduação em Biologia Computacional e Sistemas – IOC (Fiocruz)

<sup>2</sup>Programa de pós-graduação em Biotecnologia de Recursos Naturais – UFC

<sup>3</sup>Grupo de Biologia Estrutural e Funcional em Biofármacos – Fiocruz Ceará

### INTRODUÇÃO

O câncer representa um grande desafio no contexto da saúde pública, com significativas limitações no diagnóstico e tratamento. Durante o processo oncogênico, a interação entre a Proteína de Morte Celular Programada 1 (PD-1) e seu ligante (PD-L1) resulta no escape imunológico do tumor. A utilização de pequenas moléculas se caracteriza como uma alternativa ao uso de anticorpos, dado o baixo custo de produção e alta penetração tecidual. Anteriormente, identificamos um ligante potencial denominado 1508 capaz de induzir mudança conformacional em PD-1 não observada no complexo PD-1<sub>PD-L1</sub>.

### OBJETIVOS

Identificar, por meio de ensaios *in silico*, novas conformações de PD-1 induzidas por 1508 que podem ser impeditivas para a formação do complexo com PD-L1; analisar energeticamente o processo de ligação e reconhecimento de 1508 com PD-1 e atestar o prejuízo na formação do complexo ternário (PD-1<sub>1508</sub> e PD-L1).

### METODOLOGIA

Utilizamos dinâmica molecular acelerada gaussiana (GaMD) e análise de componente principal (PCA) para verificar o impacto estrutural de 1508 em PD-1, avaliando a existência de novas conformações impeditivas para a formação do complexo ternário. A curva de energia livre de 1508 foi obtida a partir de ensaios de *Umbrella Sampling*, considerando a posição inicial do ligante no sítio e a aplicação de um potencial de restrição direcionado à sua saída. Os complexos ternários foram formados pelo acoplamento das conformações impeditivas de PD-1<sub>1508</sub> via Haddock 2.4 e avaliados por dinâmica molecular convencional (cMD) e aquecida (hMD).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de GaMD demonstraram a

manutenção da estrutura secundária de PD-1 e a estabilidade de 1508 no sítio, estabelecendo novas interações relevantes com os resíduos D85 e E84. A análise de PCA permitiu a descoberta de 11 conformações inexploradas de PD-1<sub>1508</sub> e não amostradas pelo complexo controle PD-1<sub>PD-L1</sub>. Através do ensaio de *Umbrella Sampling*, identificamos estados energéticos intermediários entre as conformações ligada e não ligada de 1508. Além disso, observamos uma tendência favorável à interação de 1508 no sítio, sugerindo afinidade pela cavidade presente na alça C'D de PD-1. Os complexos ternários mostraram uma alteração de interface que levou a mudanças no Haddock Score, indicando uma interação menos favorável entre PD-1 e PD-L1. As cMDs confirmaram a estabilidade de 1508 no complexo ternário, dado o baixo RMSD ao longo das simulações. Além disso, rastreamos uma quantidade menor de ligações de hidrogênio entre PD-1 e PD-L1 ao longo do tempo. A natureza transitória dessas interações polares, em conjunto com alterações no RMSD de interface e na área de superfície acessível ao solvente detectadas também via hMDs, apontam para uma redução na afinidade do complexo. Finalmente, detectamos em quatro complexos (E6-IFII, E8-IFIII, 6-2 e 17-1) eventos de dissociação entre PD-1<sub>PD-L1</sub>.

### CONCLUSÕES

Nossas descobertas apontam o perfil promissor do 1508 como um novo inibidor de PD-1, sugerindo-o como um agente terapêutico valioso no tratamento de doenças caracterizadas por evasão imunológica mediada por PD-1<sub>PD-L1</sub>.

### REFERÊNCIAS

[1] Andrade, L. et al. "Exploring new sites and potential ligands for PD-1 through molecular dynamics and virtual screening." *J. Chem. Inf. Model.* 62(5), 1236-1248, 2022.

## Cadeias de moléculas de água são cruciais para a catálise na polimerase de DNA do *Thermococcus kodakarensis*

Marcos Veríssimo-Alves<sup>1,3</sup>, Vitor Bernardes Pinheiro<sup>2</sup> e Ulf Ryde<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal Fluminense - UFF, Brasil;

<sup>2</sup>Katholieke Universiteit Leuven - KU Leuven, Bélgica;

<sup>3</sup>Lunds Universitet - LU, Suécia

### INTRODUÇÃO

Desoxirribonucleotídeos trifosfatados naturais (dNTP) são processados acurada e eficientemente pela polimerase de DNA (DNAp) do *Thermococcus kodakarensis* (KOD), tornando-a ideal para aplicações como RT-PCR [1]. Compreender como ela seleciona dNTP e ácidos nucleicos xenobióticos (XNAs) permitiria transformá-la em uma polimerase de XNA (XNAp), com novas possibilidades para biocontenção e terapias personalizadas [2].

### OBJETIVOS

Neste trabalho, conduzimos um extenso estudo computacional visando compreender detalhadamente a catálise de dNTPs pela forma *wild-type* (WT) da DNAp KOD.

### METODOLOGIA

Realizamos cálculos de 300 ns de dinâmica molecular clássica (MD) e QM/MM com os softwares AMBER 22 [3] e ORCA 5.0.4 [4], respectivamente, usando a estrutura PDB 5OMF, com três íons  $Mg^{2+}$ . Para MD e MM, empregamos o potencial AMBER ff19SB, e para QM, o funcional de correlação e troca TPSS com base ma-def2-SVP. Calculamos as barreiras de energia de reação,  $\Delta E$ , com o método *Nudged Elastic Band* (NEB).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nossos cálculos sugerem um mecanismo catalítico sequencial em três etapas. A MD sugere que a primeira etapa é (i) uma rotação da ligação 3'OH do *primer* de DNA, que a alinha com o átomo  $O_{2\alpha}$  do dNTP. Ela sugere também a influência da interação de duas moléculas de água,  $W_1$  e  $W_2$ , com o átomo  $O_{2\beta}$  do dNTP. A NEB QM/MM sugere que, em seguida, há (ii) a transferência de um  $H^+$  para o átomo  $O_{2\alpha}$  do dNTP e (iii) a transferência deste  $H^+$  para uma cadeia

próxima de moléculas de água, com saltos posteriores em direção ao átomo  $O_{2\beta}$  do dNTP. A quebra da ligação  $P_{\alpha}-O_{\beta}$  ocorre antes do protonamento do pirofosfato pelo  $H^+$ , que é energeticamente desfavorável. A etapa (ii) limita a taxa de reação, com  $\Delta E$  entre 83 e 91 kJ/mol, dependendo da presença de  $W_1$  e  $W_2$ . A etapa (iii) ocorre espontaneamente com  $W_1$  e  $W_2$  presentes.

### CONCLUSÕES

Nossos cálculos sugerem que inicialmente o dNTP atua como base genérica no desprotonamento do *primer* de DNA e que o próprio *primer* de DNA atua como ácido genérico. A barreira energética para a etapa (ii) é significativa, porém a barreira para a etapa (iii) é muito baixa, o que mostra que cadeias de moléculas de água são cruciais para a catálise na DNAp KOD WT. Não é necessário protonar o dNTP para quebrar a ligação  $P_{\alpha}-O_{\beta}$ . As funções de localização eletrônica (ELFs) nas diferentes etapas do processo mostrarão os resíduos cruciais para a catálise e auxiliarão experimentos de evolução direcionada para transformar a DNAp KOD WT em uma XNAp.

### REFERÊNCIAS

- [1] A.M. Elshawadfy *et al.*, "DNA polymerase hybrids derived from the family-B enzymes of *Pyrococcus furiosus* and *Thermococcus kodakarensis*: improving performance in the polymerase chain reaction," *Frontiers in Microbiology*, vol. **224**, no. 5, pp. 34–47, **2014**.
- [2] P. Handal-Marquez, V.B. Pinheiro, "Life orthogonal," *Biochem.*, vol **6**, no. 43, pp. 40–43, **2021**.
- [3] D. A. Case *et al.*, "Amber2022," **2022**.
- [4] F. Neese, "Software update: The ORCA program system–Version 5.0," *WIREs Comput Mol Sci.*, **12**:e1606, **2022**.

## Modelagem 3D de Proteínas de Interesse na Indústria Farmacêutica e Nutracêutica à Base de Insumos Lácteos

Matheus José Novais Landim<sup>1</sup>, Ana C. S. Pires<sup>2</sup> e Priscila V. Z. C. Goliatt<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF

<sup>2</sup>Universidade Federal de Viçosa – UFV

### INTRODUÇÃO

O Brasil possui uma cadeia de produtos lácteos altamente desenvolvida. Dentre as proteínas presentes no leite, destacam-se os biopolímeros de transporte como a  $\beta$ -lactoglobulina,  $\alpha$ -lactoalbumina e lactoferrina<sup>1</sup>. Essas proteínas podem carrear moléculas e íons, sendo potencialmente úteis na veiculação de moléculas bioativas, produção e purificação de produtos da indústria farmoquímica, além do desenvolvimento de nutracêuticos.

### OBJETIVOS

Predizer a estrutura tridimensional de proteínas de interesse industrial, otimizá-las, realizar modificações pós-traducionais e avaliar seus perfis eletrostáticos em diferentes pHs. Também visa avaliar a confiabilidade do AlphaFold nos testes iniciais de predição estrutural.

### METODOLOGIA

A presença de peptídeo sinal foi avaliada com o servidor SignalP v.3.0. Os modelos de lactoferrina foram obtidos utilizando os templates PDB1BLF e PDB4OQO, e para o modelo de  $\beta$ -lactoglobulina foram utilizados os templates PDB3NPO e PDB6FXB. Para a avaliação da  $\alpha$ -lactoalbumina foram utilizados os modelos PDB1F6R e PDB1F6S. Os modelos foram gerados com o Modeller v.10.5 e avaliados por DOPE score, MOLPDF e gráfico de Ramachandran, obtido por meio dos servidores Molprobitry e SAVES-Procheck. As predições de glicosilações foram realizadas por meio do NetCGlyc e NetGPI, e a glicosilação foi realizada utilizando o CHARMM-GUI. O pKa foi analisado com PROPKA e o perfil eletrostático foi obtido por meio do PDB2PQR e APBS, nos pHs de 4.6, 6.6 e 9.0 para  $\beta$ -lactoglobulina e

$\alpha$ -lactoalbumina, e 4.6, 7.0 e 9.0 para a lactoferrina. Os modelos foram comparados com estruturas obtidas pelo AlphaFold.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sequências de peptídeo sinal foram removidas antes de se obter as estruturas das proteínas. A  $\beta$ -lactoglobulina foi modelada na forma dimérica e com conformação aberta em um dos coils, priorizando a sua estabilidade e viabilidade nos testes futuros. A lactoferrina foi modelada com os dois lobos de ligação com o Fe<sup>++</sup>, compreendendo todos os seus domínios de interesse, além de passar por glicosilações posteriores. Dois modelos foram utilizados para a  $\alpha$ -lactoalbumina, um com e outro sem íon, devido a diferenças estruturais nas formas apo e holo. O perfil eletrostático das proteínas variou significativamente com o pH, destacando a importância da avaliação precisa desse parâmetro. O AlphaFold não contemplou integralmente as diferenças estruturais das conformações apo e holo, ressaltando a importância da modelagem comparativa.

### CONCLUSÕES

A modelagem computacional se mostra uma ferramenta complementar essencial aos estudos experimentais. A avaliação estrutural, perfil eletrostático e ionização dos resíduos em diferentes pHs reforça a importância do refinamento das estruturas antes de testes mais rebuscados, evitando resultados desfavoráveis devido à ausência da avaliação desses parâmetros.

### REFERÊNCIAS

[1] BABA, Waqas N.; et. al. Whey protein–polyphenol conjugates and complexes: Production, characterization, and applications. **Food Chemistry**, v. 365, p. 130455, 2021.

## Exploração do espaço de sequências de ligantes peptídicos utilizando aprendizagem ativa

Paula Fernandes da Costa Franklin<sup>1</sup>, Elton José Ferreira Chaves<sup>4</sup>, Roberto D. Lins<sup>4</sup>, Eduardo Krempser<sup>3</sup>, Ana Carolina Ramos Guimarães<sup>1</sup>, Lucas de Almeida Machado<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Genômica Aplicada e Bioinovações – LAGABI/IOC

<sup>2</sup> Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira – IFF

<sup>3</sup> Plataforma Institucional Biodiversidade e Saúde Silvestre - Pibss/Presidência/Fiocruz

<sup>4</sup> Instituto Aggeu Magalhães/Fiocruz Pernambuco – IAM

### INTRODUÇÃO

Peptídeos são biomoléculas cruciais para processos como transporte e sinalização, além de serem usados para tratar diversas doenças, incluindo autoimunes, infecciosas, cardiovasculares, diabetes e câncer. O desafio em desenhar peptídeos para uma dada tarefa reside no vasto número de possibilidades de sequências, conhecido como "Espaço de Sequências". Abordagens computacionais, como as baseadas em aprendizagem de máquina, têm sido empregadas para otimizar a busca por biomoléculas de interesse devido às suas vantagens, como menor tempo para predições. Essas abordagens podem inclusive melhorar em acurácia com a utilização de técnicas como o aprendizagem ativa, que permite aos modelos de aprendizagem de máquina direcionar melhor a exploração de regiões desconhecidas, aumentando assim suas capacidades preditivas.

### OBJETIVOS

Criar um metamodelo capaz de estimar dados energia livre de ligação ( $\Delta G_{\text{Ligação}}$ ) gerados pelo modelo *Protein Binding Energy Estimator* (PBEE) a partir de descritores físico-químicos, que são menos dispendiosos computacionalmente, e, através da aprendizagem ativa, fazer com que esse metamodelo seja capaz de identificar quais regiões do espaço de sequências explorar.

### METODOLOGIA

Neste trabalho, utilizamos como prova de conceito o problema de otimização de ligação ao complexo principal de histocompatibilidade (MHC) classe I. Para

isso, o complexo de código PDB 3MRE, contendo um nonapeptídeo e o MHC foi utilizado. Nosso algoritmo consiste em 6 etapas: i. gerar um banco inicial de sequências aleatórias, para que o modelo possa buscar em diferentes regiões do espaço de sequências; ii. calcular o  $\Delta G_{\text{Ligação}}$  usando o modelo de aprendizagem de máquina *Protein Binding Energy Estimator* (PBEE), para que isso possa ser usado para treinar e testar os modelos gerados; iii. converter as sequências em descritores de propriedades físico-químicas; iv. treinar modelos de floresta aleatória usando esses descritores físico-químicos como entrada; v. testar os modelos; e vi. usar um protocolo de aprendizagem ativa para decidir quais novas sequências gerar com base no  $\Delta G_{\text{Ligação}}$  calculado pela função de pontuação.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste trabalho, desenvolvemos um *pipeline* que utiliza a aprendizagem ativa para a uma melhor busca por proteínas e peptídeos de interesse (<https://github.com/paulafranklinn/ALPS.git>).

### CONCLUSÕES

A partir do uso da abordagem de aprendizagem ativa, espera-se que os modelos gerados apresentem um menor erro de predição conforme as iterações (ciclos) avançam. Embora utilize dados provenientes de abordagens computacionais, o objetivo do projeto é criar uma ferramenta capaz de direcionar experimentos *in vitro*, reduzindo, assim, custos na etapa de produção de proteínas e peptídeos.

## Estudo *in silico* do impacto da mutação PRKAG2-H401Q na afinidade da AMPK por AMP e ATP

Karine Terra de Souza<sup>1</sup>, Jorge Hernandez Fernandez<sup>1</sup> e Glauber Monteiro Dias<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF

### INTRODUÇÃO

A proteína quinase ativada por AMP (AMPK) é uma proteína heterotrimérica composta por uma subunidade catalítica ( $\alpha$ ) e duas subunidades regulatórias ( $\beta$  e  $\gamma$ ). A subunidade  $\gamma$  possui três isoformas e contém quatro repetições CBS (cistationina- $\beta$ -sintase) que geram quatro locais potenciais de ligação a AMP, ADP ou ATP no centro da subunidade, nomeados sítios 1-4. Esta enzima monitora o estado energético celular, ativando-se em resposta ao estresse energético, indicado pelo aumento de AMP e/ou ADP e diminuição de ATP. A síndrome do PRKAG2 é uma doença genética resultante de mutações no gene que codifica a subunidade  $\gamma 2$  da AMPK cardíaca, causando acúmulo de glicogênio nos cardiomiócitos.

### OBJETIVOS

O trabalho visa identificar as afinidades da subunidade  $\gamma 2$  da AMPK selvagem e com uma mutação missense (PRKAG2 p.His401Gln) pelos ligantes AMP e ATP.

### METODOLOGIA

Por meio de modelagem por homologia, geramos um modelo da subunidade  $\gamma 2$  da AMPK humana, e realizamos experimentos de metadinâmica no Desmond-Maestro com simulações de 60 ns no campo de força OPLS-2005. Realizamos a análise de duas variáveis nos complexos hAMPK-AMP e hAMPK-ATP, para as estruturas selvagem e mutante His401Gln. Coletamos duas variáveis: (i) a distância entre os centros de massa do ligante no sítio de ligação e o resíduo Arg<sub>148</sub>; e (ii) o diedro C-N-C-O localizado entre a base nitrogenada e a ribose. Os valores de energia livre ( $\Delta G$ ) obtidos para o sítio de ligação (SL) e a zona de contato inicial com a proteína (ZC) foram comparados e as trajetórias foram visualizadas no Desmond-Maestro 22-4.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram realizadas cinco repetições para os potenciais sítios de ligação a AMP e ATP para cada complexo, selvagem e mutante. Especificamente no sítio 3, a análise de variância (ANOVA;  $P \leq 0,001$ ) do  $\Delta G$  de ligação do ATP obtidas para o complexo selvagem (SL =  $-16,2 \pm 0,6$  kcal/mol e ZC =  $-8,7 \pm 0,8$  kcal/mol) e mutante (SL =  $-8,6 \pm 0,9$  kcal/mol e ZC =  $-10,90 \pm 1,9$  kcal/mol) mostrou-se estatisticamente diferente.

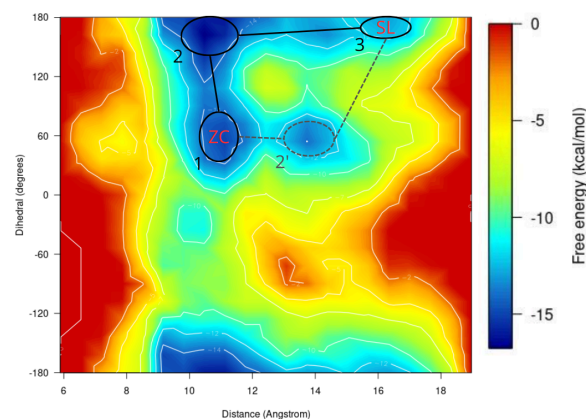


Figura 1: Análise de metadinâmica do ATP no sítio 3 da subunidade gama mutante.

O  $\Delta \Delta G$  negativo entre a zona de contato inicial (ZC) e o sítio 3 de ligação (SL) de ATP do complexo selvagem sugere a acomodação do ligante. Já no complexo mutante esse valor é positivo, sugerindo que não há acomodação do ligante no sítio 3.

### CONCLUSÕES

A diferença dos valores de  $\Delta \Delta G$  sugere comportamentos diferentes do ATP no sítio 3 da AMPK selvagem e mutante His401Gln. Para uma melhor compreensão deste fenômeno serão realizados estudos de dinâmica essencial com esses complexos.

# Estudos Computacionais da Plasticidade Conformacional da Glicoproteína Spike de Coronavírus

Yago Ferreira e Silva<sup>1,2</sup> e Paulo Ricardo Batista<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Computação Científica, Fundação Oswaldo Cruz - RJ, <sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Computacional e Sistemas do IOC - Fiocruz - RJ

## INTRODUÇÃO

A glicoproteína S (*spike*) do beta coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2 (SARS-CoV-2) (1) é uma proteína de superfície crucial no seu ciclo viral. Ela interage com a enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) (2), ativando a entrada do vírus na célula hospedeira. É o principal antígeno reconhecido por anticorpos (3). Dada sua relevância na infecção, durante a pandemia milhares de estruturas da spike foram resolvidas. A spike é a principal proteína mutada em suas variantes. Essas mutações influenciam na sua estrutura, dinâmica e afinidade com ligantes.

## OBJETIVOS

O trabalho proposto busca estudar: *i.* a influência da interação da spike com ligantes; *ii.* como mutações e suas variantes impactam na sua estrutura; e *iii.* a plasticidade conformacional da spike do SARS-Cov2 e de outros coronavírus.

## METODOLOGIA

A primeira etapa consistiu na criação de um *ensemble* com as estruturas experimentais da spike à partir do *PDB*. Para a avaliação da plasticidade estrutural foi realizada PCA. Para predição da sua dinâmica intrínseca, foi feita a análise dos modos normais. Análises de redes dinâmicas foram feitas baseadas nos movimentos da spike. Foram calculados modos normais do ensemble, que levam em conta todas as estruturas. Cálculos de energia livre conformacional foram realizados a partir de simulação de dinâmica molecular com os modos normais excitados (MDeNM) (4).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O principal movimento da spike do SARS-Cov2 concentra-se na abertura e fechamento dos domínios NTD e RBD, e é cerca de 90% da flexibilidade da proteína. Os modos normais da spike predizem este movimento, que é conservado em outros coronavírus (SARS-CoV-1 e MERS-CoV). A interação com receptores estabiliza o RBD na conformação aberta. Simulações de 10  $\mu$ s de dinâmica molecular não amostraram a mudança conformacional no RBD. Em contraste, com a MDeNM, obtivemos a exploração completa do espaço conformacional do *ensemble* experimental. As estruturas da variante ômicron apresentaram uma dinâmica diferenciada, com uma rede de interação distinta.

## CONCLUSÕES

A plasticidade da spike se encontra principalmente na região do RBD, que é estabilizada pela interação com receptores. Avaliamos a influência de mutações e variantes na estrutura da spike: a omicron apresenta uma dinâmica diferenciada. Através de simulações híbridas conseguimos amostrar o espaço conformacional experimental completo e calcular a energia livre conformacional.

## REFERÊNCIAS

1. DOI: [10.1016/j.ijantimicag.2020.105946](https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105946).
2. DOI: [10.1038/s41586-020-2180-5](https://doi.org/10.1038/s41586-020-2180-5).
3. DOI: [10.1038/s41586-020-2380-z](https://doi.org/10.1038/s41586-020-2380-z).
4. DOI: [10.1021/acs.jctc.5b00003](https://doi.org/10.1021/acs.jctc.5b00003).

# Inibição da Adenilosuccinato Liase (*Lm*ASL) de *Leishmania major*: Aplicações de Triagem Virtual na Proposição de Reposicionamento de Fármacos

Maria Eduarda Souza Dias Lino<sup>1</sup> e Otavio Henrique Thiemann<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Universidade de São Paulo – USP

## INTRODUÇÃO

A enzima adenilosuccinato liase (ASL) desempenha um papel crucial na biossíntese de nucleotídeos e é vital para a sobrevivência da *Leishmania sp.*, o parasita causador da leishmaniose [1]. Estudos indicam que os Kinetoplastida, ao contrário dos humanos (*Hs*ASL), não possuem a via de síntese *de novo* de purinas [2]. Neste cenário, a ASL (*Lm*ASL) é essencial nesse processo e sua inibição pode interromper o ciclo de vida do parasita, pois inibidores da ASL podem apresentar potencial para interromper especificamente o ciclo de vida do parasita, oferecendo uma via promissora para o desenvolvimento de novos tratamentos contra a leishmaniose e talvez tripanossomíase.

## OBJETIVOS

Realizar estudos de simulação molecular em triagem virtual de ligantes comerciais selecionados, a fim de propor a co-cristalização com os ligantes energeticamente mais potentes para inibir a ação da proteína *Lm*ASL.

## METODOLOGIA

A docagem molecular foi realizada através do *software* Gold em uma triagem com 100 compostos aleatórios de classificações variadas (antifúngicos, antivirais e antibacterianos) para a proteína *Lm*ASL. O ensaio com os melhores resultados foi realizado para sua homóloga humana (*Hs*ASL, PDB 2J91).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A série de 100 compostos comerciais avaliados por seus resultados de Score e S(PLP) indicaram excelente atividade inibitória em ensaios *in silico*. A Tabela 1 apresenta o ranqueamento dos 3 melhores compostos para a docagem em *Lm*ASL e *Hs*ASL.

Tabela 1 – Ranqueamento comparativo da docagem

Compound	Score	S(PLP)
Antifúngico_ <i>Lm</i> ASL	74,39	-76,94
Antibacteriano_ <i>Lm</i> ASL	69,01	-69,2
Antiviral_ <i>Lm</i> ASL	67,38	-66,85
Antifúngico_ <i>Hs</i> ASL	81,62	-77,59
Antibacteriano_ <i>Hs</i> ASL	70,50	-65,64
Antiviral_ <i>Hs</i> ASL	60,70	-64,76

Fonte: Elaborada pela autora (2024)

Os ligantes ranqueados apresentaram resultados satisfatórios de classificação e reclassificação para *Lm*ASL quando comparados à docagem em *Hs*ASL. Apesar de valores maiores serem observados para a *Hs*ASL, os efeitos colaterais desses medicamentos podem refletir na elevada afinidade de ligação observada. No entanto, a utilização do fármaco para tratar outra doença não implicaria em efeitos colaterais desconhecidos, o que permitiria o reposicionamento de um fármaco com parâmetros já conhecidos. A afinidade de ligação foi avaliada utilizando a energia livre de ligação ( $\Delta G$ ) calculada durante a simulação de docagem molecular. Estudos posteriores de atividade inibitória enzimática e dinâmica molecular estão em curso.

## CONCLUSÕES

A participação na XI EMMSB permitirá avançar em conhecimento para a elucidação da ação dos fármacos candidatos ao reposicionamento em *Lm*ASL, buscando melhor compreensão de sistemas moleculares virtuais para a validação do alvo em estudo.

## REFERÊNCIAS

- [1] Silva I.R., et. al. Artigo submetido, 2024.
- [2] Boitz, J.M., Ullman, B., Jardim, A., and Carter, N.S. *Trends in Parasitology*, v. 28, p. 345-352, 2012.

## Desenvolvimento de um Novo Modelo de PI4K de *Plasmodium falciparum* e Validação por Cálculos Alquímicos

Vinicius Bonatto<sup>1</sup>, Gabriela S. de Oliveira<sup>1</sup>, Gabriela D. Noske<sup>1</sup> e Rafael V. C. Guido<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Física de São Carlos/Universidade de São Paulo – IFSC/USP

### INTRODUÇÃO

Apesar dos avanços no combate à malária, a resistência do parasito aos antimaláricos tem aumentado. Logo, novos candidatos a fármacos com modos de ação distintos são necessários. A PI4KIII $\beta$  de *Plasmodium falciparum* (PI4K) é uma enzima essencial para o desenvolvimento do parasito e foi validado como alvo atrativo para a descoberta de inibidores como candidatos a fármacos antimaláricos. Atualmente, há um inibidor de PI4KIII $\beta$  em fase clínica 2. [1,2] Entretanto, ensaios bioquímicos com PI4K são desafiadores, utilizando-se frequentemente a enzima homóloga de *P. vivax* (PvPI4K), que possui a região catalítica conservada. Portanto, o desenvolvimento de um modelo de PI4K é essencial para o avanço de novos inibidores contra essa quinase plasmodial.

### OBJETIVOS

Modificar a sequência de aminoácidos da PI4K para facilitar a modelagem computacional e potencialmente facilitar a expressão e purificação da proteína. Gerar o modelo da PI4K utilizando o AlphaFold. Realizar simulações MD para avaliar a estabilidade da PI4K gerada nas formas apo e holo. Validar o modelo da PI4K por meio de cálculos de perturbação de energia livre comparando os resultados com dados experimentais de inibidores conhecidos.

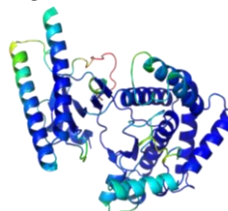
### METODOLOGIA

Para a construção do novo modelo da PI4K, removemos os loops ricos em sequências repetitivas e regiões não enoveladas, mantendo os domínios de alfa-hélice e quinase. A nova sequência foi predita pelo AlphaFold. Simulações MD de 100 ns em triplicata foram realizadas para as formas apo e com um inibidor. Cálculos de energia livre de ligação relativa (RBEF), também em triplicata, verificaram a precisão do modelo comparado com dados experimentais. As dinâmicas usaram ff19SB+OPC+GAFF2.2 e a FEP ff14SB+TIP3P+GAFF2.2 [3], todos no Amber22.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O modelo gerado pelo AlphaFold (Figura 1)

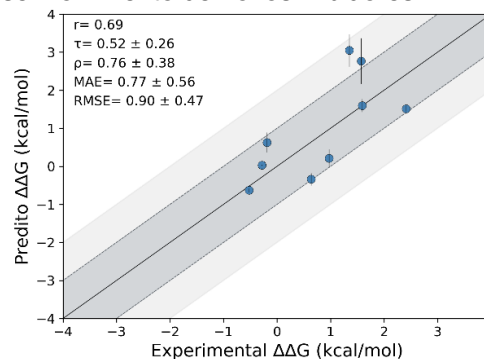
apresentou alta confiabilidade, com pLDDT indicando excelente confiança na predição da estrutura. As simulações MD em triplicata na forma apo e holo demonstraram a estabilidade da proteína em ambas as formas, com RMSD e RMSF médios < 3 Å.



Azul escuro: pLDDT > 90  
Azul claro: 90 > pLDDT < 70  
Amarelo: 70 > pLDDT < 50  
Vermelho: pLDDT < 50

**Figura 1:** Novo Modelo estrutural da enzima PI4K.

Os cálculos de FEP mostraram uma correlação significativa com os dados experimentais (Figura 2). Esses resultados indicam que o modelo predito captura de forma precisa e confiável as RBEFs, validando a utilidade do modelo de PI4K para o desenvolvimento de novos inibidores.



**Figura 2:** Comparação do  $\Delta\Delta G$  para transformações químicas para uma série de inibidores conhecidos.

### CONCLUSÕES

Um novo modelo de PI4K foi validado com cálculos de MD e FEP. Como perspectivas, mais transformações RBEF estão sendo feitas. O planejamento de novos inibidores antimaláricos está em execução empregando este modelo da enzima.

### REFERÊNCIAS

- [1] McNamara, C.W., *et al. Nature*, vol. 508, pp. 248–253, 2013.
- [2] Siqueira-Neto, J.L., *et al. Nat. Rev. Drug Discov.*, vol. 22, pp. 807-826, 2023.
- [3] Zhang, H., Kim, S., Im, W., *J. Chem. Info. Model.*, vol. 62, pp. 6084–6093, 2022.

**AGRADECIMENTOS** – FAPESP (2023/09209-1)

## Parametrização de campos de força intramolecular e obtenção de parâmetros de RMN em complexos de Pt(II)-carboxilados

Diego F. S. Paschoal<sup>1</sup>, Leonardo O. Moura<sup>1</sup>, Júlio P. C. Oliveira<sup>1</sup>, Hélio F. Dos Santos<sup>2</sup>

<sup>1</sup>CM UFRJ-Macaé, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Macaé, RJ, Brasil - UFRJ

<sup>2</sup>Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brasil - UFJF

### INTRODUÇÃO

O câncer é considerado um dos maiores problemas de saúde pública mundial, sendo a quimioterapia a principal alternativa para o seu tratamento. Neste contexto, destaca-se o uso da cisplatina e dos fármacos de 2ª geração, os complexos de Pt(II)-carboxilados: carboplatina, oxaliplatina e nedaplatina. Visando a busca por novos complexos de Pt(II), métodos de Química Quântica e Dinâmica Molecular são importantes ferramentas, principalmente no que refere-se à estudos envolvendo o mecanismo de reação e a caracterização destes compostos. Porém, devido à dificuldade intrínseca de se estudar compostos de metais de transição, o desenvolvimento e aplicação de protocolos computacionais é fundamental<sup>1</sup>.

### OBJETIVOS

O presente estudo apresenta o desenvolvimento de parâmetros de campo de força intramolecular, estudo da solvatação por Dinâmica Molecular e previsão dos parâmetros de RMN de complexos de Pt(II)-carboxilados.

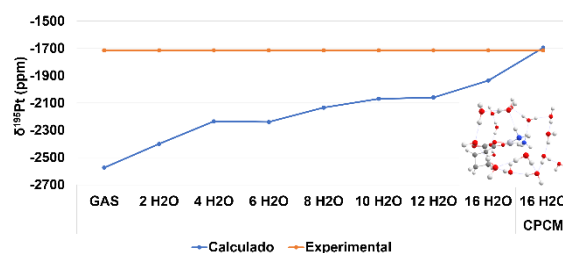
### METODOLOGIA

A carboplatina foi selecionada como modelo para avaliação de protocolos visando a parametrização do campo de força intramolecular. As constantes de força de ligação e ângulo, assim como o espectro vibracional foram avaliadas (Gaussian). Posteriormente, simulações de dinâmica molecular considerando água como solvente foram realizadas (Amber) e, a partir de modelos explícitos de solvatação obtidos, o deslocamento químico em RMN dos núcleos de H-1, N-15 e Pt-195 foram calculados por métodos de Química Quântica (ORCA).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O protocolo computacional que apresentou a melhor descrição da estrutura e espectro vibracional da carboplatina foi LC-wPBE / LANL2TZ(f) /6-31+G(2d) / IEF-PCM(UFF). O campo de força obtido foi empregado em simulações de dinâmica molecular com clusters contendo de 2 a 16 moléculas de água sendo selecionados para a previsão do  $\delta^{195}\text{Pt}$ . Os resultados obtidos para o  $\delta^{195}\text{Pt}$  (Fig. 1) mostraram um erro de apenas 1,1% em relação ao valor experimental, mostrando o papel da interação soluto-solvente na previsão do RMN (SC-ZORA/LC-PBE/SARC-ZORA-TZVP/ZORA-def2-TZVP).

Fig. 1:  $\delta^{195}\text{Pt}$  (ppm) calculado para a carboplatina isolada e com clusters contendo de 2 a 16 moléculas de água



### CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no trabalho mostram que os parâmetros de campo de força desenvolvidos para os complexos de Pt(II)-carboxilados são uma excelente alternativa para a realização de simulações de dinâmica molecular destes complexos. Por fim, os  $\delta^1\text{H}$  e de  $\delta^{15}\text{N}$  também serão avaliados.

### AGRADECIMENTOS

FAPERJ (E-26/201.336/2022 – BOLSA, E-26/210.070/2022 – DCTR, E-26/201.272/2024 – BOLSA) e CAPES (Código de Financiamento 001).

### REFERÊNCIAS

[1] D. F. S. Paschoal; H. F. Dos Santos, *Theor. Chem. Acc.*, vol. 141, pp. 42, 2022.



# Apresentação de Pôster

---

# Análise de Interações Não Covalentes e Cálculos de Entalpia de Ligação e Energia Livre para Inibidores da Enzima LmPTR1

Luiz Eduardo Gomes da Cruz<sup>1</sup>, Jéssika de Oliveira Viana<sup>1</sup>, Karen Cacilda Weber<sup>1</sup> e Gerd Bruno Rocha<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química, Universidade Federal da Paraíba - UFPB

## INTRODUÇÃO

A prospecção de inibidores potentes é vital para o avanço de novas terapias contra a Leishmaniose. Recentemente, derivados de benzotiazóis foram analisados quanto à sua capacidade de inibir a enzima Pteridina Redutase 1 (PTR1) em *Leishmania major*, uma enzima essencial para a sobrevivência do parasita[1]. O entendimento das interações intermoleculares e os cálculos quânticos de afinidade proteína-ligante, tornam-se fundamentais para avaliação e prospecção de novos fármacos.

## OBJETIVOS

Elucidar interações intermoleculares entre a proteína e o ligante, fundamentais para novos inibidores da LmPTR1, aplicando cálculos de NCI. Bem como, avaliar o potencial de novos inibidores obtidos por Virtual Screening (VS) por métodos de cálculos quânticos semiempíricos (SQM) e métodos perturbativos de energia (FEP).

## METODOLOGIA

(1°) Foi realizado um VS para obtenção de novos inibidores da PTR1. (2°) Então foi realizada uma dinâmica molecular, (3°) seguida de uma clusterização. (4°) De posse da estrutura de equilíbrio, foram realizados os cálculos SQM e FEP.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de clusters de ligantes identificou um cluster representando 99% da trajetória para o ligante PDB 6QT e outro representando 90% para o ligante ZINC 72229720. Cálculos de Interações Não Covalente revelaram que três ligações de hidrogênio são cruciais para manter o ligante no sítio ativo, com a ligação ao cofator NADP sendo a mais importante.

Para o ligante ZINC 72229720, as interações diretas com os resíduos do sítio ativo apresentam uma importância maior, enquanto o PDB 6QT é mais suscetível a efeitos de solvatação. Foram identificadas

novas interações entre os anéis do ligante e os resíduos da proteína, mantendo a estabilidade do ligante.

Interações van der Waals mostraram que o ZINC 72229720 tem um valor mais alto, sugerindo que essas interações compensam o menor valor das interações mais fortes em comparação ao PDB 6QT. Cálculos de entalpia de ligação e energia livre absoluta, indicam que ambos os ligantes têm potencial significativo para inibição enzimática, com o ZINC 72229720 emergindo como um candidato promissor.

## CONCLUSÕES

Finalmente, cálculos de Interações Não Covalentes revelaram o surgimento de novas interações entre o ligante ZINC 72229720 e a enzima, resultando em um novo equilíbrio entre as forças que estabilizam o ligante no sítio ativo. Os cálculos de entalpia de ligação e energia livre indicaram que o ligante é um inibidor promissor para a enzima.

## REFERÊNCIAS

- [1] S. Ferrari, et al., "Virtual Screening Identification of Nonfolate Compounds, Including a CNS Drug, as Antiparasitic Agents Inhibiting Pteridine Reductase," *J. Med. Chem.* vol. 54, pp. 211-221, **2011**.
- [2] Stewart, J. J. P. Application of localized molecular orbitals to the solution of semiempirical self-consistent field equations. *Int. J. Quantum Chem.* 58, 133–146, **1996**.
- [3] Boto, R. A. et al. NCIPLOT4: A new step towards a fast quantification of noncovalent interactions. *ChemRxiv* 6498, 1–31, **2020**.
- [4] Bennett, C. H. Efficient estimation of free energy differences from Monte Carlo data. *Journal of Computational Physics*, 22(2), 245-268, **1976**.

# Re-ranking binding mode predictions using graph neural networks with protein-ligand contact map

LIMA, G. E.<sup>1</sup>; PANTALEÃO, S. Q.<sup>1</sup>; SCOTT, A. L.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do ABC – UFABC

## INTRODUCTION

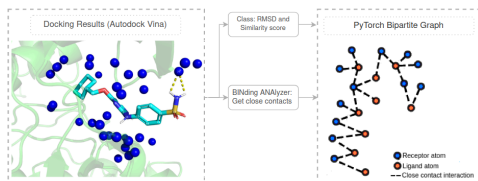
One challenge for docking protein-ligand is to find an ideal function score. Several works show that the best pose is not always between the best ranked. The use of models of Deep Learning to rank against the results can be very useful when we perform docking protein-ligand [1].

## OBJECTIVES

Develop a software to rank again results that comes from docking, performed with Autodock Vina using a Deep Learning technique.

## METHODOLOGY

We selected a set with 284 complexes protein-ligand from the core data set of PDBbind and carried out docking calculations, using AutoDock Vina [2]. Then, we took the first ten poses for each one and performed contact analysis with BINANA software. For each pose, a bipartite graph is created in which atoms are the nodes and they have some atomic descriptors. A training database was built, with a subset of complexes, where each pose is mapped to a graph with descriptors and labeled as the positive or negative class according to a combination of RMSD and native contacts [3].



BINANA software and Python script to detect close-contact atoms, where close contact refers to atoms within 4 Å of each other.

A Graph Attention Neural Network model was used to learn ligand-protein contact information.

## RESULTS AND DISCUSSION

The first results were promising. At this moment, we are trying to find the best set of descriptors to improve the performance of the model. In a second moment, when the descriptors are completely defined, the database for training and validation will be increased. We observed that the addition of pose rank, generated by Vina, added as a descriptor improved the results. When employing the core dataset for experimental purposes, the findings indicate the efficacy of the approach.

## CONCLUSIONS

The study, up until now, has worked with the core dataset and has demonstrated the benefit of employing a GAT model to enhance docking pose prediction accuracy and importance to consider the number of native contacts.

**KEYWORDS:** Docking, Re-ranking, Deep Learning

**FUNDING:** CAPES, Fapesp.

## REFERÊNCIAS

- [1] Guedes IA, Pereira FSS, Dardenne LE. *Front, Pharmacol* 9:10.3389/fphar.2018.01089, 2018.
- [2] Liu, Z. et al. *Bioinformatics* 31:405-12, 2015.
- [3] Morrone, J.A. et al. *J. Chem. Inf. Model.* 60(9), 4170–4179, 2020.

# Comparison Of Optimal PH And Single Mutation Analysis Of SARS-CoV-2 Spike Protein: Insights from Brazilian Data

Isabelle Alves Pereira<sup>1</sup> e Ana Lígia Scott<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Biologia Computacional e Biofísica, Universidade Federal do ABC – UFABC

## INTRODUÇÃO

The Spike glycoprotein of SARS-CoV-2 plays a critical role in the virus's ability to invade human cells, facilitating its entry and infection. Several Spike mutations were found in the virus variants, which are related to higher transmissibility, pathogenicity, and resistance to neutralization antibodies. Understanding the structural dynamics and functional motion of this protein is essential as the virus continues to evolve and adapt. Keeping monitoring and analyzing the virus not only increases the control, but may also improve therapeutic strategies.

## OBJETIVOS

Study the structural dynamics of the SARS-CoV-2 Spike glycoprotein, to have more knowledge about its favorable pH and the influence of single mutations to comprehend the metastates of this macromolecule.

## METODOLOGIA

Through the GISAID database we identified the frequent SARS-CoV-2 lineages in Brazil between May 2023 and May 2024. The genomic data was extracted from patients infected with these lineages, focusing on cases reported in Brazil, highlighting a set of mutations in all proteins of the virus (<https://gisaid.org/>) [1]. For the analysis, the data was filtered to show only the mutations in the Spike protein and a frequency count of each mutation was conducted, having eliminated those that appeared only once and selecting the top 5% most frequent mutations for further studies, resulting in a total of 40 mutations. A wild-type (WT) and apo Cryo-EM SARS-CoV-2 Spike structure with 2.90Å resolution (PDB: 6XR8) was rebuilt using CHARMM-Gui to complete the missing residues [2] and the Solution Builder was used to prepare the protein in different pHs (7.5; 8; 8.5; 9) to determine

the optimal pH for subsequent studies [3]. We performed a structural dynamics with Elastic Network Models using Prody.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

From the GISAID database we only extracted complete sequences and analyzed the Spike mutations, giving a total of 1.567 mutations. By counting their occurrences and eliminating those that appeared only once, we got the 5% most frequent, resulting in 40 mutations. Before advancing with the application of the mutations, the structure from PDB 6XR8 was completed on CHARMM-GUI and prepared in the solution builder through different pHs (7.5;8;8.5;9).

## CONCLUSÕES

To narrow the scope of this research we focused exclusively on sequences from Brazil and from a start we are evaluating the favorable pH state of the Spike protein to proceed with the analysis of the mutations. The analysis of structural dynamics and function motions on different pHs it is carrying on now.

## REFERÊNCIAS

- [1] S. Elbe, G. Buckland-Merrett, Data, disease and diplomacy: GISAID's innovative contribution to global health, *Glob Chall* 1 (2017) 33–46.
- [2] S. Jo, T. Kim, V.G. Iyer, W. Im, CHARMM-GUI: a web-based graphical user interface for CHARMM, *J. Comput. Chem.* 29 (2008) 1859–1865.
- [3] XIE, Y. et al. The pH effects on SARS-CoV and SARS-CoV-2 spike proteins in the process of binding to hACE2. 2021.

## AGRADECIMENTOS

UFABC, CAPES and FAPESP.

# SELEÇÃO DE LIGANTES PARA AS PROTEÍNAS DO ENVELOPE DE CHIKUNGUNYA VIA DOCKING MOLECULAR

Jordan Freitas Duarte<sup>1</sup> e Samuel Silva da Rocha Pita<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Bioinformática e Modelagem Molecular (LaBiMM), Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Farmácia da UFBA (PPGFAR/UFBA), Salvador-BA.

## INTRODUÇÃO

O vírus Chikungunya (CHIKV) causa a febre Chikungunya que afeta os indivíduos por anos a fio. Ela é uma doença negligenciada e recorrente no Brasil desde 2017<sup>[1]</sup>. Como não existem fármacos nem vacinas aprovadas para este tratamento<sup>[2]</sup>, a busca por moléculas bioativas com potencial de interação frente às proteínas do CHIKV tem sido empregada.

## OBJETIVOS

O objetivo deste estudo é utilizar o *Docking* e a Dinâmica Molecular (DM) na seleção de catecóis que interajam com as proteínas do envelope do CHIKV (E1 e E2).

## METODOLOGIA



## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de *Docking* mostraram que, no sítio A (*DrugScore*= 96%, *Consesus Cluster*= 12) o ligante MFCD00017433 apresentou o melhor  $\Delta G$  (-10,78 kcal/mol). No sítio B (*DrugScore*= 95%, *Consesus Cluster*= 16), o ligante MFCD00066625 apresentou o melhor  $\Delta G$  (-9,95 kcal/mol). Analisando os dados de eficiência de interação (LE, BEI, SILE, LLE e LELP), ambos apresentaram os melhores valores (Tab. 1). Tal fato destacando a correlação entre a interação calculada pelo Autodock e

os grupamentos interagentes destes compostos.

**Tabela 1.** Energias de interação ( $\Delta G$ - AutoDock) e eficiência de interação (LE, BEI, SILE, LLE e LELP) determinados para os catecóis melhores classificados frente a E1/E2.

Sítio A	Ligante	DG	MW	Nhev	LogP	LE	BEI	SILE	LLE	LELP
	MFCD00017433	-10,78	448,38	32,00	0,34	0,34	0,02	0,25	10,44	1,01
	MFCD00017654	-10,08	596,49	42,00	1,81	0,24	0,02	0,18	8,27	7,54
	MFCD00016783	-9,69	610,52	43,00	1,29	0,23	0,02	0,17	8,40	5,72
	MFCD00016933	-9,70	464,38	33,00	0,23	0,29	0,02	0,22	9,47	0,78
	MFCD00006830	-9,75	302,24	22,00	1,12	0,44	0,03	0,33	10,87	2,53

Sítio B	Ligante	DG	MW	Nhev	LogP	LE	BEI	SILE	LLE	LELP
	MFCD00066625	-9,95	610,52	43,00	1,29	0,23	0,02	0,17	8,66	5,57
	MFCD00019145	-9,83	285,21	21,00	1,23	0,47	0,03	0,35	11,06	2,63
	MFCD00017418	-9,41	470,34	33,00	1,00	0,29	0,02	0,21	8,41	3,51
	MFCD00030456	-9,24	335,34	23,00	0,52	0,40	0,03	0,30	9,76	1,29
	MFCD00017432	-9,19	448,38	32,00	0,44	0,29	0,02	0,21	8,75	1,53

## CONCLUSÕES

Demonstrou-se neste trabalho a potencialidade dos métodos *in silico* em identificar catecóis com as melhores interações com a E1/E2. Os dados de DM em curso auxiliarão na seleção dos compostos com maior potencial anti-CHIKV.

## REFERÊNCIAS

- [1] Nunes MR, Faria NR, de Vasconcelos JM, et al. Emergence and potential for spread of Chikungunya virus in Brazil. *BMC Med.* 2015;13:102.
- [2] KANTOR, Isabel N. Dengue, zika, chikungunya and the development of vaccines. *Medicina*, v. 78, n. 1, p. 23-28, 2018.

# **Benchmarking das interações intermoleculares em receptores opioides: uma comparação entre energias calculadas por MM e por SAPT**

Luana Lemos Reis<sup>1</sup>, Dr. Guilherme Duarte Ramos Matos<sup>1,2</sup> e Dr. Daniel Francisco Scalabrini Machado<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Modelagem de Sistemas Complexos, Instituto de Química, Universidade de Brasília

<sup>2</sup>Department of Applied Mathematics and Statistics, Stony Brook University.

## **INTRODUÇÃO**

Na química computacional, é fundamental equilibrar custo computacional e precisão de análise. O *docking* molecular é eficiente para triagens em larga escala e é capaz de gerar diversas poses de ligação para serem avaliadas por técnicas mais precisas. Uma forma comum de descrever a qualidade do *docking* se dá por meio do critério energético, em que se calcula as interações eletrostáticas e de dispersão entre o ligante e o receptor, normalmente por meio de campos de força, o que não é tão preciso quanto métodos baseados em mecânica quântica. A Teoria de Perturbação Adaptada por Simetria (SAPT), por exemplo, fornece análises detalhadas e precisas das forças intermoleculares, embora com maior custo computacional [1]. Comparar essas metodologias tem o potencial de auxiliar no aperfeiçoamento da *scoring function* do procedimento de *docking*.

## **OBJETIVOS**

Realizar uma comparação entre as interações calculadas via Mecânica Molecular (MM) e SAPT em receptores opioides [2]. Avaliaremos as magnitudes de diferença entre as técnicas para orientar o desenvolvimento de uma nova *scoring function*.

## **METODOLOGIA**

Os sistemas opioides MOR (PDB: 8F7R), KOR (PDB: 8F7W) e DOR (PDB: 8F7S) foram preparados usando o programa GROMACS com campos de força AmberFF14SB e GAFF2. As energias de interação foram calculadas pelo programa DOCK6 [3], sendo particionadas em interações por resíduo (*Footprint*

Energético), usando parâmetros não ligantes do campo AmberFF14SB e GAFF2. Com base nos *footprints* de interação entre os resíduos do receptor com o ligante, foram selecionados pares resíduo-ligante para cálculos de decomposição SAPT0 e FI/SAPT com função de base jun-cc-pvdz. As energias de interação eletrostáticas obtidas pelos métodos quânticos se revelaram maiores do que aquelas calculadas por MM.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A análise das energias eletrostáticas no *docking* revela uma precisão considerável em resíduos neutros, mas resíduos eletricamente carregados apresentam disparidades, como no sistema MOR, com GLN 126 e ASP 149, com discrepância de até 5,71 kcal·mol<sup>-1</sup>. A análise comparativa destacou a maior disparidade registrada para o resíduo ASP 149, aniônico, de aproximadamente 98,08 kcal·mol<sup>-1</sup>.

## **CONCLUSÕES**

Os achados desse estudo sugerem que poses mais adequadas possivelmente serão geradas ao se escalonar a magnitude das interações eletrostáticas.

## **REFERÊNCIAS**

- [1] D. G. A. Smith, L. A. et al., "Psi4 1.4: Open-Source Software for High-Throughput Quantum Chemistry," *J. Chem. Phys.*, vol. 152, no. 18, 184102 (2020).
- [2] Wang Y, et al., "Structures of the Entire Human Opioid Receptor Family," *J. Cell.*, vol. 186, no. 2, pp. 413-427.e17, 2023.
- [3] Allen WJ, et al., "DOCK 6: Impact Of New Features and Current Docking Performance," *J. Comput. Chem.*, vol. 36, no. 15, pp. 1132-1156, Jun 5, 2015.

## Estudos de Interações Proteína-Ligante de Subtipos de Cruzipaínas com Inibidores de Cruzaína

Ana Maria Valsani Leme Passos<sup>1#</sup>, Lucas Abreu Diniz<sup>1#</sup>, Estela Mariana Guimarães Lourenço<sup>1</sup> e Rafaela Salgado Ferreira<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Bioquímica e Imunologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG

### INTRODUÇÃO

A doença de Chagas é considerada uma das doenças tropicais negligenciadas mais prevalentes em todo mundo. Entretanto, seu esquema terapêutico ainda é limitado e marcado por numerosos efeitos adversos. As cruzipaínas vem sendo os alvos moleculares mais estudados na descoberta de novos fármacos antichagásicos, sendo a cruzipaína 1 a forma recombinante mais explorada. No entanto, estudos recentes evidenciaram a existência de diferentes subtipos de cruzipaína com alterações significativas entre seus sítios ativos<sup>1</sup>. A investigação da influência destas alterações estruturais pode, portanto, representar um avanço para a descoberta de inibidores mais efetivos.

### OBJETIVOS

Avaliar como as alterações de resíduos de aminoácidos entre os subtipos das cruzipaínas afetam a interação inibidor-proteína.

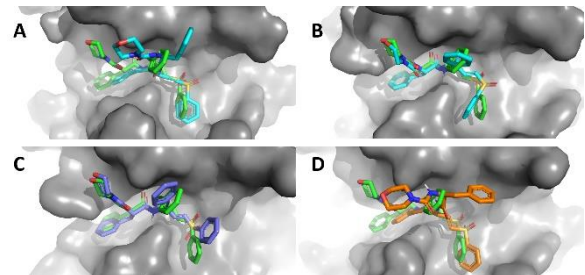
### METODOLOGIA

9 complexos cristalográficos cruzaína-inibidor obtidos do banco de dados RCSB Protein Data Bank foram utilizados para a predição de modelos tridimensionais dos subtipos de cruzipaína (czp.2.II.6\_EL, czp.3.II.4\_EL, czp.3.II.9\_NEL e czp.4.II.7\_NEL)<sup>1</sup>. O programa Modeller foi utilizado para o alinhamento das sequências e a predição estrutural dos subtipos. A modelagem comparativa foi realizada com transferência de ligante e 100 modelos foram gerados, sendo o de melhor DOPE score utilizado para as demais etapas de estudo. Os modelos preditos foram submetidos ao software YASARA para a minimização de energia e otimização geométrica do complexo, avaliados

pelo MolProbity. O docking dos inibidores contra os subtipos foi realizado com o programa Dock6.11 e as interações intermoleculares analisadas por inspeção visual.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

As alterações de resíduos de aminoácidos entre os diferentes tipos de cruzipaínas alteram o sítio ativo em polaridade e, conseqüentemente, possíveis interações intermoleculares<sup>1</sup>. A sobreposição da melhor pose das simulações de docking molecular com o ligante cristalográfico confirmam o impacto destas alterações no modo de interação ligante-receptor (**Figura 1**).



**Figura 1:** poses de docking previstas para o ligante cristalografado (verde, PDB: 1F29) nos subtipos czp.2.II.6\_EL (A), czp.3.II.4\_EL (B), czp.3.II.9\_NEL (C) e czp.4.II.7\_NEL (D).

### CONCLUSÕES

36 modelos com alta qualidade de predição e geometria foram gerados a partir de modelagem comparativa. Os dados de docking molecular confirmaram a alteração de interações intermoleculares ligante-receptor.

### REFERÊNCIAS

[1] Santos, V.C., Oliveira, A.E.R., Campos, A.C.B. *et al.* "The gene repertoire of the main cysteine protease of *Trypanosoma cruzi*, cruzipain, reveals four sub-types with distinct active sites" *Sci. Rep.* 11, 18231, Sep. **2021**

# Refinamento de Estruturas de Docking Molecular Usando Abordagem QM/MM e QM/QM

Luiz Eduardo Gomez da Cruz<sup>1</sup>, Ana Júlia Andrade da Silva Souza Freitas<sup>1</sup> e Gerd Bruno Rocha<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química, Universidade Federal da Paraíba - UFPB

## INTRODUÇÃO

A química computacional passa por uma fase de grande visibilidade da comunidade científica e uma das suas ferramentas mais utilizadas tem sido o *docking* molecular. Tal ferramenta têm sido cada vez mais empregada no processo de avaliação do *design* de novos fármacos. Assim, desenvolver e contribuir na evolução do *docking* é manter essa visibilidade contínua. Nesse plano de trabalho formulamos uma metodologia através de abordagens QM/MM e QM/QM para tratar estruturas de complexos proteína-ligante, vinda de resultados do programa de *docking* molecular DockThor<sup>1</sup>.

## OBJETIVOS

Refinar os resultados obtidos a partir da função de predição de afinidade proteína-ligante implementada no DockThor para o posicionamento dos ligantes nos respectivos alvos.

## METODOLOGIA

O protocolo de cálculo estabeleceu o uso de três métodos semiempíricos a serem avaliados na busca por uma melhor função custo: PM7, PM6-DH2X e PM6-D3H4X. Em ambas abordagens QM/QM e QM/MM fizemos uso da técnica MOZYME. Nos cálculos QM/MM foram avaliados dois raios de corte para a região QM em torno do ligante, 3 e 7 Å. O banco de dados contou com inibidores para a HIV-1 protease. As poses do docking foram obtidas no DockThor.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De modo geral o software DockThor obteve bons resultados na avaliação das poses do complexos estudados, com 89% dos resultados de RMSD abaixo de 2 Å. Neste caso, foi feito o refinamento com cálculos quânticos para os casos de falha que representaram 11% do banco de dados. E

para os casos de falha, apenas o método quântico semiempírico PM7 obteve sucesso na análise realizada. Isto pode ter ocorrido devido as diferentes inserções feitas no método, como a correção dos efeitos de dispersão da energia.

## CONCLUSÕES

O PM7 demonstrou ser o melhor método de cálculo semiempírico para refinar os resultados da predição da pose nos casos que o DockThor apresentou falha usando uma abordagem QM/QM. Por outro lado na abordagem QM/MM, todos os métodos falharam, o que nos leva a entender que a tentativa QM/MM não descreveu bem os valores de energia das poses dos ligantes. Uma sugestão para melhorar os resultados QM/MM poderia ser minimizar a pose do ligante.

## REFERÊNCIAS

- [1] Sulimov, Alexey V. *Advances in bioinformatics*, 2017, 2017.
- [2] Melo, Marcelo. C. *Nature methods*, 15, 351, 2018.
- [3] De Magalhães, Camila Silva. *Information Sciences* 289, 206, 2014.

# Novos derivados de 1,2,4-oxadiazol: Potencial antileishmania e simulações de acoplamento e dinâmica molecular de proteínas-alvo de *Leishmania infantum*

Deyzi Barbosa<sup>1</sup>, Vanderlan Holanda<sup>2</sup>, Elton Araújo<sup>3</sup>, Marton Cavalcante<sup>4</sup>, Maria de Castro<sup>4,5</sup>, Elton Chaves<sup>6</sup>, Gerd Rocha<sup>6</sup>, Carla Oliveira e Silva, Ronaldo Oliveira<sup>7</sup>, Regina Bressan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Aggeu Magalhães, Departamento de Microbiologia, Recife, PE, Brasil; <sup>2</sup>Centro Universitário de Vitória de Santo Antão, Vitória de Santo Antão, PE, Brasil; <sup>3</sup>Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Física, Recife, PE, Brasil; <sup>4</sup>Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Recife, PE, Brasil; <sup>5</sup>Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, PE, Brasil; <sup>6</sup>Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Química, João Pessoa, PB, Brasil; <sup>7</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Química, Recife, PE, Brasil.

## INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral (LV), causada por protozoários do gênero *Leishmania*, é uma preocupação de saúde pública devido à sua letalidade se não tratada. A quimioterapia atual tem limitações devido a efeitos colaterais e resistência a medicamentos. Derivados de 1,2,4-oxadiazol são promissores para novos medicamentos, por suas atividades diversas, incluindo antiprotozoária. O derivado Ox1, por exemplo, mostrou seletividade significativa nas formas promastigotas e amastigotas de *L. infantum*, e induziu alterações morfológicas graves e diminuição do potencial da membrana mitocondrial em promastigotas [1].

## OBJETIVOS

Investigar, *in silico*, a farmacodinâmica do derivado de 1,2,4-oxadiazol, Ox1, no sítio de ligação dos principais alvos moleculares de *L. infantum*: sterol 14-alpha demethylase, dihydroorotate dehydrogenase, trypanothione reductase, tyrosine aminotransferase e pteridine reductase.

## METODOLOGIA

A estrutura tridimensional dos alvos de *L. infantum* foram obtidas de bancos de dados públicos. A docagem molecular do Ox1 nos sítios de ligação foi realizada utilizando o software GOLD. Simulações de dinâmica molecular foram conduzidas utilizando o software NAMD para estudar a estabilidade das interações Ox1-alvo ao

longo do tempo. Análises das trajetórias de dinâmica molecular foram realizadas para identificar interações atrativas e ligações de hidrogênio entre Ox1 e os resíduos do sítio ativo dos alvos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A docagem molecular e as simulações de dinâmica molecular do Ox1 com proteínas-alvo relevantes de *L. infantum* revelaram que o Ox1 tem alta afinidade pela esterol 14-alfa desmetilase (CYP51). As análises das trajetórias de dinâmica molecular mostraram que o Ox1 interage fortemente com o sítio de ligação da CYP51 por meio de contatos hidrofóbicos e ligações de hidrogênio. O grupo amina (NH) do Ox1 doa uma ligação de hidrogênio ao átomo de oxigênio (estrutura principal) da Met329, enquanto o átomo N1 do Ox1 aceita uma ligação de hidrogênio do grupo hidroxila da cadeia lateral de Tyr74.

## CONCLUSÕES

A análise *in silico* indica que o Ox1 é um inibidor putativo da esterol 14-alfa desmetilase (CYP51) de *L. infantum* e, portanto, uma contramedida promissora para o tratamento da leishmaniose causada por esse parasita.

## REFERÊNCIAS

[1] SONI, Vandana et al. Novel Therapeutic Approaches for the Treatment of Leishmaniasis. In: Biomaterials and Bionanotechnology. Academic Press, 2019. p. 263-300.

## Reposicionamento De Fármacos e Busca Por Novos Antiplaquetários Com Potencial Modo De Ação No Receptor P2Y12

Caroline Reis Santiago Paschoal<sup>1,2</sup>, Pryscila Santiago Rodrigues<sup>1</sup>, Vinicius Schmitz Pereira Nunes<sup>3</sup>, Paula Alvarez Abreu<sup>2</sup>, Plínio Cunha Sathler<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio de Janeiro, LABHEX, Faculdade de Farmácia, Ilha do Fundão, CEP 21941-902, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

<sup>2</sup>Universidade Federal do Rio de Janeiro, LAMCIFAR, Instituto de Biodiversidade e Sustentabilidade NUPEM, CEP 27965-045, Macaé, RJ, Brasil.

<sup>3</sup>Universidade Federal do Rio de Janeiro, Programa de Pós-graduação em Produtos Bioativos e Biociências, CEP 27930-560, Macaé, RJ, Brasil.

### INTRODUÇÃO

A agregação plaquetária é um dos principais eventos envolvidos no processo de formação dos trombos vasculares. Atualmente, os agentes antiplaquetários em uso clínico possuem severos efeitos indesejáveis, o que evidencia a importância da identificação de novos antitrombóticos mais eficazes e menos tóxicos<sup>1</sup>.

### OBJETIVOS

O trabalho tem como objetivo a busca de novos candidatos a fármacos com ação antiplaquetária no receptor P2Y12.

### METODOLOGIA

Inicialmente, a modelagem comparativa do receptor P2Y12 foi feita com o Modeller usando o molde do PDB 4NTJ. Buscou-se antagonistas reversíveis conhecidos para prever a melhor pose bioativa, validada com Autodock Vina. Realizou-se triagem virtual baseada no farmacóforo com o servidor Pharmit. O servidor FAFDrugs protonou as moléculas e removeu as duplicadas. O docking molecular foi feito com Autodock Vina 1.1.2, seguido pela análise das propriedades físico-químicas no Spartan<sup>10</sup> e das características farmacocinéticas e toxicológicas nos servidores admetSAR e FAFDrugs. As substâncias mais promissoras foram testadas *in vitro* para agregação plaquetária e hemólise e, por fim, foram avaliadas por dinâmica molecular com o AMBER 18.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi construído um modelo farmacofórico e

realizada a triagem virtual no banco de dados da empresa Sigma Aldrich, DrugBank e NuBBE, resultando em 18.604 moléculas. Após análise no servidor FAFDrugs, inspeção visual, análise das interações, e disponibilidade para compra, 15 compostos foram priorizados. Desta forma, duas moléculas foram obtidas, o composto 5-Cloro-2-Metoxi-N-[2-(4-Sulfamoilfenil)etil]-benzamida (mol 1) e o fármaco doxasozina (mol 2). Ambos foram testados quanto a sua agregação plaquetária induzida com ADP apresentando valores de concentração inibitória (IC<sub>50</sub>) de 65,8 µM e 92,5 µM, respectivamente. Após estudos de dinâmica molecular, observou-se que essas substâncias interagem com resíduos hidrofóbicos importantes para sua atividade, além de se ligarem ao resíduo R241, envolvido na ativação do receptor, o que pode explicar os seus baixos valores máximos de agregação.

### CONCLUSÕES

Dois compostos, mol 1 e mol 2 foram testados para agregação plaquetária induzida por ADP, com IC<sub>50</sub> de 65,8 µM e 92,5 µM, após triagem virtual. Estudos de dinâmica molecular mostraram interação com o resíduo R241, justificando a baixa inibição, e contatos com os resíduos apolares F237 e L269, contribuindo para a hidrofobicidade.

### REFERÊNCIAS

[1] AL-NAJJAR, B. O.; SAQALLAH, F. G.; ABBAS, M. A.; AL-HIJAZEEN, S. Z.; SIBAI, O. A. European Journal of Medicinal Chemistry, v. 227, p. 113924, 2022.

# IDENTIFICATION OF MOLECULAR HITS OF NATURAL PRODUCTS WITH A SATISFACTORY PROFILE TO ACT ON WILD-TYPE MPRO AND ITS VARIANTS K90R, P99L, P108S, AND N151D.

Nicole Alice Guardia Danni<sup>1</sup>, Patricia Gasparini<sup>1</sup>, Yolanda Maria Barros Marcello<sup>1</sup> Eric Allison Philot<sup>2</sup>, Rafael Plana Simões<sup>3</sup> Angelo José Magro<sup>3</sup>, Simone Queiroz Pantaleão<sup>1\*\*</sup>, Ana Ligia Scott<sup>1\*\*</sup>

<sup>1</sup>Computational Biology and Biophysics Laboratory, Federal University of ABC – (UFABC), Santo André, São Paulo, Brazil.

<sup>2</sup>Hospital de Amor, Centro de Pesquisa em Oncologia Molecular – (CPOM), Barretos, SP, Brazil.

<sup>3</sup>Department of Bioprocesses and Biotechnology, School of Agriculture (FCA), (UNESP), Botucatu, São Paulo, Brazil.

<sup>\*</sup>These authors contributed equally to this work. | <sup>\*\*</sup>Corresponding author: [simone.qrzp@gmail.com](mailto:simone.qrzp@gmail.com) and [analogiascott@gmail.com](mailto:analogiascott@gmail.com)

## INTRODUCTION

Severe acute respiratory syndrome is caused by SARS-CoV-2, a highly contagious viral infection that leads to many deaths. Its main protease is called Mpro or 3CLpro and it has many mutations, requiring ligands that can be bioactive in the different variants.

**OBJECTIVES** To detect hits molecules from natural products with a physicochemical profile suitable for acting on Mpro variants containing the mutations: K90R, P99L, P108S, and N151D.

**METHODOLOGY** Firstly, we evaluated Mpro's natural substrate (peptide (AVKQLQNNE)) in terms of the following parameters: (i) molecular lipophilicity potential (MLP) and polar surface area (PSA) with Molinspiration and (ii) highest occupied molecular orbital (HOMO) and lowest unoccupied molecular orbital (LUMO) with WebMO, whose information was applied in the virtual screening, we used the NuBBE natural products database in AutoDockVina, containing the following flexible residues: HIS41, MET49, CYS145, HIS164, GLU166, LEU167, ASP187, GLN189. The Mpro structures used in the screening were selected in a previous study, being wild-type Mpro, and the variants: K90R, P99L, P108S, and N151D. The main filters applied were: binding energy; calculation of ligand efficiency; a combination of types of at least 03 or more types of molecular interactions indicated by BINANA; simulation of ADME-Tox properties (absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity), using the tools SwissADME; pkCSM; ADMETLab; EmolTox and exploration of the chemical space of the candidate molecules with PHARMIT. Molecular dynamics was used to check the stability of the complexes formed

using the NAND software.

**RESULTS AND DISCUSSION** The four natural products (NuBBE\_120; NuBBE\_567; NuBBE\_1067 and NuBBE\_1770) proved to be hits for Mpro, where it was observed that NuBBE\_120 showed hydrogen bonds and greater catalytic reactivity in the K90R and P108S mutations. It was found that the Phe140 residue is necessary for nucleophilic attack with the substrate and appears in interactions with natural products. Some properties related to electrostatic potential are positioned throughout the length of the ligand, leading to a combination of properties essential for biological activity. The four natural products showed points of synergy of physicochemical properties, which are supposed to compensate for the natural binding activity of the natural peptide substrate (chemical properties that are supposed to compensate for the natural binding activity of the peptide substrate (AVKQLQNNE)).

**CONCLUSIONS** Four hits were detected (NuBBE\_120; NuBBE\_567; NuBBE\_1067 and NuBBE\_1770) which showed good binding affinity for wild-type Mpro and the K90R, P99L, P108S, and N151D mutations, as well as an adequate ADME-Tox profile with good stability of the complexes.

## REFERENCES

[1] Gasparini, P. et al. "Unveiling mutation effects on the structural dynamics of the main protease from SARS-CoV-2 with hybrid simulation methods". *Journal of Molecular Graphics & Modelling*, v. 121, p. 108443-14, **2023**.

## ACKNOWLEDGMENTS

CNPq (Grant number: 423717/2021-9), FAPESP (Grant Number: 2023/01920-8).

# What are the Structural and Dynamic Mechanisms Underlying the Influence of Chikungunya nsP2 Protease on the Helicase Domain?

Matheus Fernandes Bittencourt<sup>1</sup>, Manuela Leal da Silva<sup>1,2</sup>, Alexandre Suman de Araujo<sup>3</sup> e Ernesto Raúl Caffarena<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Programa em Biologia Computacional e Sistemas, Instituto Oswaldo Cruz – BCS/IOC*

<sup>2</sup>*Instituto de Biodiversidade e Sustentabilidade, Universidade Federal do Rio de Janeiro– NUPEM/UFRJ*

<sup>3</sup>*Departamento de Física, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, SP - UNESP*

## INTRODUCTION

Chikungunya virus is the causative agent of Chikungunya fever, a high morbidity disease for which there is no specific treatment. For the virus to replicate in the host, its RNA must be unwound by nsP2 helicase. The essential role of this enzyme makes it a promising target for antiviral drugs. nsP2 is a multifunctional protein with two functional domains. The N-terminal region acts as both an RNA helicase and an NTPase, whereas the C-terminal region functions as a protease. To guarantee the proper functioning of helicase, it is crucial that both domains are physically connected (1). However, since no experimental structure exists for the complete nsP2, only its two domains are available separately, making it unclear how one domain is positioned relative to the other.

## OBJECTIVES

Model the complete nsP2 and evaluate the dynamics of the two domains and their possible impact on the RNA binding site.

## METHODS

The reference sequence of the Chikungunya genome, contained in GenPept, was used to extract the complete sequence of nsP2, on which molecular modeling was based. To evaluate the conservation of residues in the linker region between the two domains, a BLAST alignment was performed against the clustered non-redundant protein sequence bank (clustered nr). Modeling was done using AlphaFold2 from ColabFold2 to build the complete nsP2. Molecular Dynamics simulations were performed using Amber22 with ff19SB force field and OPC water

molecules. As an expanded sampling strategy, the Gaussian accelerated molecular dynamics (GaMD) method was applied (2). Trajectory analyzes were performed using the cpptraj program from AmberTools.

## RESULTS AND DISCUSSION

Early findings suggest that there is no direct interaction between the two domains, implying that the influence of the C-terminal region on the helicase domain is allosteric in nature.

## PERSPECTIVES

Upon understanding this mechanism thoroughly, it will be feasible to conduct more precise assessments of helicase dynamics, not only for Chikungunya, but also for other alphaviruses, since they seem to share a similar mode of operation. A subsequent step would involve searching for potential inhibitors of this crucial enzyme through virtual screening and molecular dynamics simulations.

## REFERENCES

1. Law Y-S, Wang S, Tan YB, Shih O, Utt A, Goh WY, et al. Interdomain Flexibility of Chikungunya Virus nsP2 Helicase-Protease Differentially Influences Viral RNA Replication and Infectivity. Heise MT, editor. *J Virol*
2. Wang J, Arantes PR, Bhattarai A, Hsu R V., Pawnikar S, Huang YM, et al. Gaussian accelerated molecular dynamics: Principles and applications. *WIREs Comput Mol Sci* n

## Análise da Interação Entre o Inibidor DM43 e a Metalloendopeptidase de Veneno de Serpente BaP1

Yago Inocencio Vieira de Pinho<sup>1</sup>, Barbara da Silva Soares<sup>1</sup>, Surza Lucia Gonçalves da Rocha<sup>1</sup>,  
Teresa Escalante<sup>2</sup>, Ana Gisele da Costa Neves Ferreira<sup>1</sup>, Francisco Gomes-Neto<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Toxinologia, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil

<sup>2</sup> Instituto Clodomiro Picado, Universidade da Costa Rica, San Jose, Costa Rica;

### INTRODUÇÃO

O envenenamento ofídico é uma condição de saúde negligenciada com altas taxas de mortalidade e morbidade [1]. A administração de soro antiveneno pode neutralizar os efeitos sistêmicos, mas os efeitos locais são apenas parcialmente neutralizados e podem levar à amputação do membro afetado [2]. Portanto, novas abordagens terapêuticas são necessárias para reduzir as altas taxas de morbidade associadas às picadas de cobra. O estudo de inibidores naturais de venenos ofídicos é promissor para o desenvolvimento de drogas complementares à soroterapia. Neste trabalho, analisamos a interação entre a proteína anti-hemorrágica DM43 isolada do gambá *Didelphis aurita* e a Metalloendopeptidase (SVMP) BaP1, utilizando uma abordagem de crosslinking associada à espectrometria de massas de alta resolução.

### OBJETIVOS

Produzir um modelo estrutural do complexo DM43:BaP1 que seja condizente com os dados experimentais de crosslinking.

### METODOLOGIA

O complexo BaP1:DM43, e os controles BaP1 e DM43 livres em solução, foram submetidos à reação de crosslinking monitorada por eletroforese em gel de poliacrilamida. Em seguida, as amostras foram enviadas para digestão proteolítica com LYS-C e tripsina, seguida de análise nLC-MS/MS em espectrômetro de massas QExactive HF\_X. Os dados de nLC-MS/MS foram analisados utilizando o software Spectrum Identification Machine for Crosslinked Peptides e validados manualmente. Os crosslinks identificados

foram utilizados para derivar restrições de distância, validadas topologicamente em modelos estruturais aplicando o software Topolink v19.156. Como o DM43 não possui estrutura experimental, modelamos-o usando AlphaFold v3.0, enquanto para BaP1 utilizamos a estrutura cristalina disponível no banco de dados PDB sob o número de acesso 1ND1. Os modelos estruturais do complexo BaP1:DM43 foram gerados por simulações de docking molecular com restrição de distância aplicando Haddock v2.4. Finalmente, a estabilidade da estrutura de BaP1 e do modelo de DM43 foram testadas em protocolos de simulação de dinâmica molecular (MD) aplicando Gromacs v2024.2, monitorando o número de crosslinks validados em função do tempo de simulação. A visualização e análise de modelos estruturais, estruturas cristalinas e simulações de dinâmica molecular foram realizadas pelo software VMD v1.9.4.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os perfis eletroforéticos confirmaram a presença do complexo DM43-BaP1 estabilizado covalentemente. O mapa de interação para o Modelo DM43 apresentou sete crosslinks, e a estrutura BaP1 apresentou 5. O complexo de inibição DM43-BaP1 apresentou 17 crosslinks, 2 para D1:BaP1, 4 para D2:BaP1 e 11 para D3:BaP1. Investigamos a validação de crosslinks do modelo DM43 e da estrutura BaP1 usando o conjunto de dados anterior, aplicando simulações MD. Como a maioria dos crosslinks identificados estão em regiões flexíveis, estados de maior validação de crosslinks foram detectados apenas em conformações minoritárias em MD, mostrando aproximadamente 40% mais validações de crosslinks do que a

média durante a simulação. A primeira tentativa de docking entre DM43 e BaP1 ocorreu pelo domínio D3, pois uma parte significativa das informações de crosslinking está neste domínio. O melhor modelo apresentou 50% de validação de crosslinking.

### **CONCLUSÕES**

À medida que aprofundamos nossa compreensão da estrutura de DM43 e sua interação com BaP1, buscamos modelos estruturais do complexo DM43:BaP1 que se ajustem melhor aos dados experimentais. Esses modelos revelarão as regiões peptídicas de DM43 responsáveis pelo processo de inibição, levando potencialmente ao desenvolvimento de novos medicamentos que podem ser usados juntamente com a terapia antiveneno.

### **REFERÊNCIAS**

- [1] Gutiérrez, J. M., J. J. Calvete, A. G. Habib, R. A. Harrison, D. J. Williams and D. A. Warrell (2017). "Snakebite envenoming." *Nat Rev Dis Primers* 3: 17063.
- [2] Battellino, C., R. Piazza, A. M. M. da Silva, Y. Cury and S. H. P. Farsky (2003). "Assessment of efficacy of bothropic antivenom therapy on microcirculatory effects induced by Bothrops jararaca snake venom." *Toxicon* 41(5): 583-593.

## Exploring the effect of local energetic frustration in the folding mechanism of repeat-proteins

Camargo, J.B.<sup>1</sup>; Viegas, R.G.<sup>1</sup>; Adolfo, L.M.<sup>1</sup>; Sanches, M.N.<sup>1</sup>; Ferreiro, D.U.<sup>2</sup>; Leite, V.B.P<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - UNESP, São José do Rio Preto, SP, Brasil.  
([bueno.camargo@unesp.br](mailto:bueno.camargo@unesp.br))

<sup>2</sup> Faculdade de Ciências Exatas e Naturais - UBA, Buenos Aires, Argentina.

### INTRODUÇÃO

Protein folding is essential for robust biological function and long-term evolution. The energy landscape theory of protein folding recognizes the importance of minimizing energetic conflicts between amino acids for successful folding. This theory assumes that protein sequences minimize frustration, resulting in rough funnel-like energy landscapes where native interactions are more favorable than non-native ones. However, this is not the case for repeat proteins, which are composed of tandem arrays of similar amino acid stretches. Being quasi-one-dimensional, the folding of the complete array is dominated by the local energetics within each repeat and its local neighbors, making the folding sensitive to small perturbations that may lead to the breakdown of cooperativity and the appearance of stable intermediates and subdomains.

### OBJETIVOS

In this study, we examine the effect of local energetic frustration on the folding dynamics of ankyrin (ANK) repeat proteins, the most abundant repeat-protein family.

### METODOLOGIA

We employ a structure-based model in which local frustration modulates the force field. The frustration of each amino acid in its native state is quantified using the FrustratometeR [1], allowing modulation by swapping contacts designated as frustrated and non-frustrated. We analyze the effects of these perturbations on ANK repeat protein folding using the energy landscape visualization method (ELViM) [2], which offers a representation of the

conformational phase space.

### CONCLUSÕES

Our findings elucidate how frustration influences the energy landscape and folding pathways, enhancing our understanding of local frustration's impact on protein folding and aiding in designing repeat proteins with specific folding properties.

### REFERÊNCIAS

- [1] Rausch, Atilio O., et al. "FrustratometeR: an R-package to compute local frustration in protein structures, point mutants and MD simulations." *Bioinformatics* 37.18 (2021): 3038-3040.
- [2] Viegas, Rafael Giordano, et al. "ELViM: Exploring Biomolecular Energy Landscapes through Multidimensional Visualization." *Journal of Chemical Information and Modeling* 64.8 (2024): 3443-3450.

# Investigating the Role of Tyrosine Y73 Mutation on Cellulose Degradation in *Thermobifida fusca* Endoglucanase Cel6A: A Molecular Dynamics Approach

Shabir Ahmad<sup>1</sup>, Munir S. Skaf<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Chemistry; University of Campinas, 13083-970, Campinas, São Paulo, Brazil*

## INTRODUCTION

Glycoside hydrolase Family 6 (GH6) cellulases are essential enzymes for biomass degradation, specifically targeting cellulose, a robust component of plant cell walls. GH6 cellulases operate by "inverting" the cellulose molecules, cleaving them at their non-reducing ends to produce simpler sugars.

## OBJECTIVES

This study examines the cellulose-degrading capabilities of the endoglucanase Cel6A from *Thermobifida fusca*, focusing on its catalytic domain through molecular dynamics simulations.

## METHODOLOGY

We utilized crystallographic structures from the Protein Data Bank (PDB) for both wild-type and mutant variants. The system was prepared using the CHARMM36m forcefield, and simulations were conducted with the GPU version of Amber20 software.

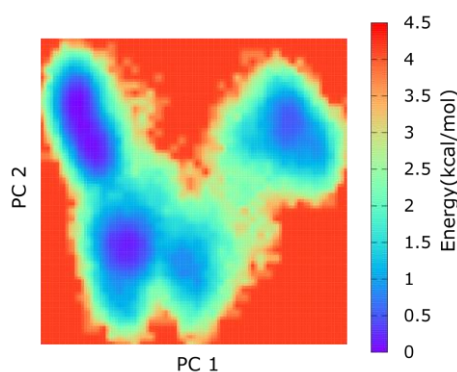


Figure 1: Free Energy landscape for the wild-type enzyme

## RESULTS AND DISCUSSION

We investigated molecular interactions in both wild-type and mutant systems with a cellobiose substrate over 600 ns of molecular dynamics simulation. Results indicated that Tyr73 induced a distortion in the ring structure when present in the protein's -1 subsite region. In contrast, the mutant system displayed a chair conformation, providing insights into cellulose breakdown mechanisms. A mutation of Tyr73 to serine removed Tyr73's influence as a key factor in subsite -1 ring distortion.

## CONCLUSIONS

These findings hold significant implications for enzyme optimization via bioengineering, advancing strategies for more efficient biomass utilization.

## REFERENCES.

- Wu, M., et al., 2007. *Nucleic acids Research*, 35(suppl\_2), W522-W525.  
 Huang, J., & MacKerell Jr, A. D. 2013. *Journal of Computational Chemistry*, 34(25), 2135-2145.  
 D.A. Case., et al. 2005. *J. Computat. Chem.* 26, 1668-1688

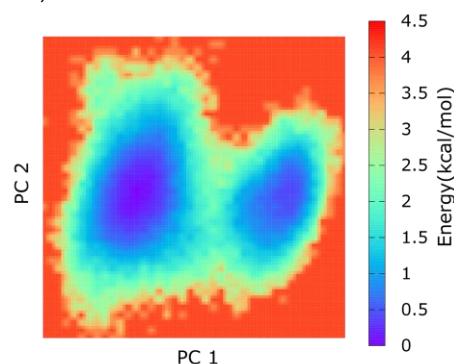


Figure 2: Free Energy landscape for the mutant-type enzyme

## Validação do *Docking* na Tripanotona Redutase de *Trypanosoma cruzi* (TcTR)

Jonhy Herbert G. Evangelista<sup>2</sup>; Samuel Silva da Rocha Pita<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Farmácia – UFBA

<sup>2</sup>Laboratório de Bioinformática e Modelagem Molecular – LaBiMM, Faculdade de Farmácia - Avenida Barão Jeremoabo, Salvador

### INTRODUÇÃO

O *docking* vem sendo empregado na seleção dos ligantes para a Tripanotona Redutase de *Trypanosoma cruzi* (TcTR)<sup>1</sup>. De forma a auxiliar no entendimento da atividade biológica dos derivados tiazolidina-2,4-diona empregamos o *docking* e a Dinâmica Molecular (MD)<sup>2</sup>.

### OBJETIVOS

Este trabalho analisou quatro programas de *docking* molecular e suas funções de classificação para entender qual descreve as interações com a TcTR. Em seguida, os melhores complexos foram analisados via MD no GROMACS-2021.3.

### METODOLOGIA

As estruturas dos derivados tiazolidina-2,4-diona foram desenhadas no Marvin Sketck® e posteriormente convertidas em PDBQT e SDF/mol2. A estrutura da TcTR (PDB ID:1BZL, 2,40 Å) teve o pKa dos aminoácidos calculados no Propka 3.1. Após o *redocking*, *energy-docking* e a análise de *decoys* (ROC, RIE) no Autodock, Vina, GOLD e DockThor, empregou-se o PyMol para análise visual. Os complexos com a melhor atividade biológica foram submetidos a MD no GROMACS-2021.3 no CENAPAD-SP.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram que as tiazolidina-2,4-diona interagem por ligação hidrogênio com os resíduos catalíticos (His461, Glu466 e 467) e estabelecem contatos hidrofóbicos adicionais com o sítio Y<sup>2</sup> e Z.

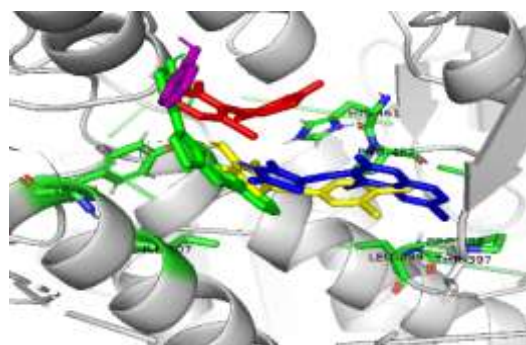


Figura 1: Conformações dos cinco melhores compostos no sítio ativo da TcTR.

A MD (t=40 ns- produção) indicou equilíbrio em todos os sistemas (RMSD, RMSF, Raio de Giro e DSSP) e que os compostos mais ativos acessaram os sítios catalítico, Z e Y enquanto os derivados com menor atividade acessaram apenas um destes sítios.

### CONCLUSÕES

Identificou-se o programa/função de pontuação que descreveu a melhor energia de interação dos derivados de tiazolidino-2,4-dionas e a DM indicou quais sítios foram mais acessados esclarecendo os dados de atividade biológica.

### AGRADECIMENTOS:

CAPES, CNPq, FAPESB, CENAPAD-SP, PPGFAR-UFBA.

### REFERÊNCIAS:

- [1] Paixão, V. e Pita, SSRP. *Rev Virtual Quim*, 8 (5): 1289–1310 (2016).
- [2] Paixão, V. e Pita, SSRP. *Comp Biol and Chem*, 79: 36–47 (2019).

# PROTEIN MODELING AND STRUCTURE-BASED DRUG DESIGN FOR NOVEL MGMT INHIBITORS: OVERCOMING GLIOBLASTOMA TREATMENT RESISTANCE

Aryel José Alves Bezerra<sup>1</sup>, Eric Allison Philot<sup>1</sup>, Simone Queiroz Pantaleão<sup>3</sup>, Daniel Antunes Moreno<sup>1</sup>, Rui Manuel Vieira Reis<sup>1,2</sup>, Luciane Sussuchi da Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Molecular Oncology Research Center, Barretos Cancer Hospital – CPOM

<sup>2</sup>Life and Health Sciences Research Institute, University of Minho – ICVS

<sup>3</sup>Center for Mathematics, Computing and Cognition – UFABC

## INTRODUCTION

Glioblastoma (GBM) is the most aggressive primary malignant tumor of the central nervous system in adults. Treatment consists in surgical resection, followed by radiotherapy and chemotherapy with an alkylating agent named Temozolomide (TMZ). TMZ acts on the methylation of O<sup>6</sup>-Guanines, promoting DNA damage and triggering cell apoptosis. Around half of GBM patients express an enzyme called MGMT that repairs DNA damage caused by TMZ, leading to treatment resistance. Therefore, inhibiting MGMT has the potential to significantly improve treatment response for GBM.

## OBJECTIVES

Build three-dimensional structure models of MGMT and design new inhibitors based on the enzyme catalytic site through molecular docking and molecular dynamics simulations

## METODOLOGY

The MGMT protein structural models will be created by using the following softwares: Modeller (homology), I-Tasser (threading), AlphaFold and RoseTTAFold (artificial intelligence). The best models will be selected to predict pKa for titratable residues and perform molecular dynamics simulations. Subsequently, molecular docking will be carried out to search molecules with potential to interact with active site binding region, followed by analysis of the physicochemical and pharmacological properties of selected compounds.

## RESULTS AND DISCUSSION

Four MGMT's structural models were built, the model with the best evaluation of the quality control metrics was the one built by homology with the Modeller program. This model has 0.248 Å of RMSD aligned to 1EH6 pdb structure of MGMT, therefore it was selected to the next steps with the pKa prediction of titratable residues, molecular dynamics simulation and molecular docking.

## CONCLUSION

The best model following the alignment and energy parameters was the one built by Modeller program. The pKa prediction identified that some amino acids have pKa levels that can interfere in the protein-ligand interactions. Finally, the structure-based drug design next steps will be carried out using this model.

## REFERENCES

- [1] Bai *et al.* The dual role of DNA repair protein MGMT in cancer prevention and treatment. *DNA Repair (Amst)*, 2023.
- [2] Shaw *et al.* MGMT in TMZ-based glioma therapy: Multifaceted insights and clinical trial perspectives. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2024.
- [3] Zhao *et al.* A novel compound EPIC-0412 reverses temozolomide resistance via inhibiting DNA repair/MGMT in glioblastoma. *Neuro Oncol*, 2023.
- [4] Mohanty M, Mohanty PS. Molecular docking in organic, inorganic, and hybrid systems: a tutorial review. *Monatsh Chem*, 2023.

## CavID: Identificando Cavidades na Superfície Proteica e sua Identidade em Relação a Sequências Homólogas

Mariana Simões Ferreira (marianasf@biof.ufrj.br) e Pedro Geraldo Pascutti  
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho IBCCF – UFRJ

### INTRODUÇÃO

Abordagens computacionais são essenciais para a descoberta de novos fármacos, por reduzir o tempo e os custos envolvidos. Uma estratégia de sucesso é o Desenho de Fármacos Baseados em Estruturas (do inglês, *Structure-Based Drug Design*), onde um alvo terapêutico de organismo infectante tem sua estrutura explorada para encontrar ou desenhar um composto que seja capaz de bloquear a sua função, por exemplo<sup>1</sup>. Dada a possibilidade de existir certo grau de identidade entre este alvo e macromoléculas humanas, o aparecimento de efeitos adversos é comum durante o tratamento medicamentoso<sup>2</sup>.

### OBJETIVOS

Neste trabalho buscamos desenvolver um programa em python3 que permita a identificação das cavidades mais promissoras para o desenho de fármacos, verificando potencial toxicidade pela identidade dos resíduos pertencentes a cavidades alvo em enzimas de agentes infecciosos com a contraparte humana em enzimas homólogas.

### METODOLOGIA

CavID foi desenvolvido em python3 e utiliza as bibliotecas “os”, “numpy” e “pandas” para calcular a identidade entre a sequência de resíduos de uma cavidade potencialmente drogável de um alvo molecular em relação à sequência em macromoléculas homólogas de humanos. Esse programa utiliza como entrada arquivos obtidos no servidor Cavity Plus<sup>3</sup> a partir da submissão da estrutura da proteína em estudo e um alinhamento de múltiplas sequências com a de proteínas homólogas humanas. Os dados obtidos incluem tabelas e figuras que indicam, com destaques, a identidade dos resíduos, bem como o volume em Å<sup>3</sup>, para permitir a escolha da melhor cavidade a ser explorada visando a inibição enzimática alostérica.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A capacidade do CavID em varrer as sequências das diversas proteínas homólogas ao alvo terapêutico e retornar o percentual de identidade e os resíduos idênticos entre eles foi testada em um grupo de cisteíno-proteases semelhantes à papaína. Usamos diferentes conformações de vivapaínas do *Plasmodium vivax* como alvo terapêutico. Já as enzimas humanas utilizadas na triagem foram 15 sequências de catepsinas. As tabelas foram exportadas em imagens .png, com cores atreladas às cavidades, e destacando valores de identidade maior que o *cut-off* de 50%, bem como dos resíduos idênticos nas mesmas posições do alinhamento. Ainda, o *cut-off* para o volume dos sítios foi definido em 200 Å<sup>3</sup>, mínimo para adequada drogabilidade.

### CONCLUSÕES

O CavID foi capaz de retornar tabelas e imagens que permitam avaliar, junto aos *scores* de alosteria vindos do servidor CavityPlus, quando é o caso, a escolha de cavidades com menor identidade em relação às enzimas humanas. Pretendemos ampliar o escopo de enzimas comparáveis com àquelas presentes em espécies ameaçadas de extinção, que são impactadas pela exposição ao uso de fármacos e seus metabólitos.

### REFERÊNCIAS

- <sup>1</sup>SIMÕES, R. S et al. Computational Modeling in Virus Infections and Virtual Screening, Docking, and Molecular Dynamics in Drug Design. In: da SILVA, F A B et al. **2020**: 301- 37, doi:10.1007/978-3-030-51862-2\_12
- <sup>2</sup>BORAN A.D., IYENGAR R. Systems pharmacology. Mt Sinai J Med. **2010** 77(4):333-344, doi:10.1002/msj.20191
- <sup>3</sup>XU, Y. et al. CavityPlus: A web server for protein cavity detection with pharmacophore modelling, allosteric site identification and covalent ligand binding ability prediction. **2018**, 46(1):374–79, doi:10.1093/nar/gky380

# Estudos Computacionais de Novos Análogos de LASSBio-2208 Planejados Como Inibidores Duais de HDAC/PI3K

Alef D S Lima<sup>1,2,3</sup>, Pedro S M Pinheiro<sup>1,3</sup>, Carlos A M Fraga<sup>1,3</sup> e Lúcia M Lima<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas – LASSBio

<sup>2</sup>Programa de Pós-graduação em Química – PGQu

<sup>3</sup>Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ

## INTRODUÇÃO

A descoberta de inibidores da histona desacetilase (HDAC) é importante na terapia anticâncer, devido ao sucesso clínico e à versatilidade no *design* de compostos híbridos com perfis multi-alvo. A molécula LASSBio-2208 (**Fig. 1**) mostrou potência na faixa de baixo nanomolar e os efeitos bioquímicos na modulação de HDAC6 e Pan-PI3K [1]. Contudo, ensaios *in vitro* mostraram que o efeito antitumoral só se apresenta em altas concentrações do composto, sugerindo a participação de outras isoformas de HDAC neste mecanismo.

## OBJETIVOS

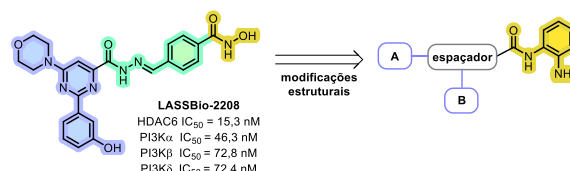
Avaliar *in silico* as possíveis interações de novas moléculas, planejadas a partir da estrutura de LASSBio-2208 (**Fig.1**) como inibidores duais de HDACs de classe I e Pan-PI3K, com seus respectivos alvos.

## METODOLOGIA

Os compostos do estudo foram desenhados no programa Spartan e os complexos cristalográficos foram extraídos do *Protein Data Bank*. Para os estudos de ancoragem molecular utilizou-se o programa GOLD, realizando-se a validação do método a partir do reancoramento do ligante co-cristalizado nas enzimas. Os complexos obtidos na ancoragem foram otimizados no programa MOPAC, onde também se calculou as energias de interação dos mesmos.

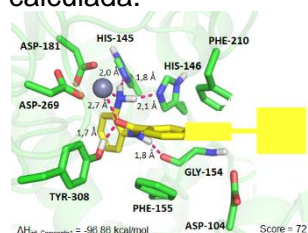
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os compostos foram planejados seguindo estratégias clássicas da química medicinal e estão representados na **Figura 1** abaixo.



**Figura 1** – Estrutura de LASSBio-2208 e representação dos compostos planejados.

O grupo ácido hidroxâmico foi trocado pela 2-aminoanilida, buscando seletividade com HDACs de classe I. O fragmento A fará interação no *hinge* de PI3K, enquanto serão exploradas subunidades no grupo B para interação no sítio de afinidade de PI3K. É possível observar pela **Figura 2** as possíveis interações de um análogo em HDAC2, bem como os valores de *score* e da entalpia de interação calculada.



**Figura 2** – Modo de interação do análogo 1 em HDAC2 (Código PDB: 4LY1)

## CONCLUSÕES

Por meio dos complexos obtidos nos estudos de ancoramento molecular, os compostos apresentaram as principais interações esperadas para um inibidor dual de HDACs de classe I e PI3K. Os valores de energia calculados também sugerem possíveis interações bastante favoráveis.

## REFERÊNCIAS

[1] RODRIGUES, Daniel A. et al. Design, synthesis, and pharmacological evaluation of first-in-class multitarget N-acylhydrazone derivatives as selective HDAC6/8 and PI3Kα inhibitors. **ChemMedChem**, v. 15, n. 6, p. 539-551, 2020.

# Serine to Cysteine Protease-like mechanism of *HtDLH*: A new perspective for a thermostable PET cleavage using QM/MM

Alberto M. dos Santos<sup>1</sup>, Wanius Garcia<sup>2</sup>, Fabio M. Squina<sup>3</sup> e Munir S. Skaf<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Center for Computing in Engineering and Sciences, Campinas State University, Campinas, São Paulo, Brazil

<sup>2</sup> Centro de Ciências Naturais e Humanas (CCNH), Universidade Federal do ABC, SP, Brazil

<sup>3</sup> Program of Technological and Environmental Processes, University of Sorocaba (UNISO), Sorocaba, São Paulo, Brazil

## INTRODUCTION

The environmental challenge posed by PET plastic waste necessitates innovative enzymatic solutions for its degradation. *Ideonella sakaiensis* PETase (*IsPETase*) has gained attention for its ability to hydrolyze PET. Recently, Dienelactone hydrolase (*HtDLH*) from *Hydrogenobacter thermophilus*, a thermostable enzyme, showed catalytic activity towards polyethylene terephthalate (PET) monomers, including BHET. This study aims to explore the molecular mechanisms and dynamics of *HtDLH* and compare its properties with those of *IsPETase*, with a focus on enhancing PET degradation capabilities.

## OBJECTIVES

- Understand the binding interactions and catalytic processes of *HtDLH* in cleaving the BHET molecule.
- Identify and characterize structural and functional differences between *HtDLH* and *IsPETase*.
- Explore the impact of mutating the catalytic cysteine in *HtDLH* to histidine on the enzyme's thermodynamic properties.
- Explore a critical loop in *HtDLH* to enhance its capacity to degrade longer PET polymers.

## METHODS

Molecular Docking and Molecular dynamics simulations were initially used to predict BHET binding within the active site of *HtDLH*. We conducted the PMF calculations using a hybrid QM/MM approach, where quantum mechanics (QM) described a small region using the AM1/d-PhoT potential, and molecular mechanics (MM) CHARMM36m

force field represented the protein and solvent environment. Also, Molecular Dynamics (MD) simulations were used to explore significant regional and residue-specific fluctuation patterns and Cys211Ser impacts on the overall structure of the enzyme.

## RESULTS AND DISCUSSION

The comparison between *IsPETase* and *HtDLH* provides insights into the structural and functional differences underlying their catalytic mechanisms. The thermostability of *HtDLH*, coupled with its unique catalytic triad, makes it a valuable model for developing enhanced PETases. The discovery and modification of a key loop in *HtDLH* offers new ways to create enzymes that can break down longer PET polymers. *IsPETase* and *HtDLH* share 25% identity and 38% similarity. Despite low sequence homology, both enzymes can cleave the BHET molecule. *HtDLH* demonstrated superior stability compared to *IsPETase*, with no reliance on disulfide bonds.

## CONCLUSIONS

This study offers a new perspective on the potential of cysteine protease-like mechanisms for thermostable PET cleavage. By leveraging the unique properties of *HtDLH*, we propose strategies for enhancing PET degradation, contributing to more effective solutions for plastic waste management.

## ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by FAPESP (grant number 2022/04695-2). We thank the computational resources of the COARACI provided by CCES/UNICAMP.

## Virtual Screening de Compostos Naturais para o Desenvolvimento de Potenciais Inibidores para a Enzima SAP5 da *Candida albicans*

Amanda Almeida Morais<sup>1</sup>, Leonardo Pereira de Araújo<sup>1</sup> e Nelson José Freitas da Silveira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL

### INTRODUÇÃO

A *Candida albicans* é uma levedura que vive no corpo humano de forma comensal. No entanto, certos distúrbios podem resultar em candidíase. Nesse contexto, a SAP5 desempenha um papel crucial na virulência do fungo, tornando essencial a descoberta de compostos que a inibam [1].

### OBJETIVOS

Realizar *virtual screening* de compostos naturais, bioisosterismo e análises ADME-Tox a fim de identificar potenciais inibidores da enzima SAP5 do fungo *C. albicans*.

### METODOLOGIA

Inicialmente baixou-se a estrutura tridimensional da proteína pelo PDB e os compostos naturais do ZINC20. Feito isso, ambos foram preparados usando o software MGLTools e análises de *molecular docking* e *redocking* foram realizadas por Autodock Vina. Posteriormente, foram feitas análises ADME-Tox via pkCSM. Feito isso, se fez necessário a realização de bioisosterismo pelo software XunDrug e novas análises ADME-Tox foram feitas. Por fim, foram verificadas por meio do software LigPlot+ as interações entre os compostos com a enzima.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O *redocking* apresentou energia de ligação de  $-7,4$  kJ/mol e o *molecular docking* teve energia de ligação variando entre  $-3,3$  a  $-13,2$  kJ/mol, ambos com RMSD  $< 2\text{Å}$ . Dentre os compostos iniciais (84.215), 200 apresentaram energia de ligação superior ao controle. Assim, esses foram submetidos a análises ADME-Tox, onde se averiguou a necessidade de realizar bioisosterismo nas

20 moléculas com os resultados mais favoráveis. Feito isso, novas análises ADME-Tox e *molecular docking* foram realizadas, bem como as análises de interação de cada bioisómero com a enzima. Por fim, foram selecionados 5 bioisómeros.

Tabela 1. ADME-Tox dos 5 bioisómeros.

ID	VD	AMES	DMT	HP	IRC
bio_1	0,177	Não	0,649	Não	86
bio_2	0.378	Não	0,200	Não	100
bio_3	0,473	Não	0,322	Não	100
bio_4	-0,18	Não	0,367	Não	100
bio_5	0,478	Não	0,393	Não	100

Legenda: VD = volume de distribuição (L/kg); DMT = dose máxima tolerada (mg/kg/dia); HP = hepatotoxicidade; IRC = interação resíduos catalíticos (%).

### CONCLUSÕES

Todos os 5 bioisómeros apresentaram resultados promissores. Além disso, como a enzima atua em infecções superficiais e sistêmicas, todas as moléculas são previstas para serem eficazes em ambos os casos, devido aos valores de VD. Futuras análises *in vitro* e *in vivo* são necessárias para validar esses resultados.

### REFERÊNCIAS

[1] S.S. Meenambiga, R. Venkataraghavan and R. Abhishek Biswal, " In silico analysis of plant phytochemicals against secreted aspartic proteinase enzyme of *Candida albicans*", *J. Appl. Pharm. Sci.*, vol. 8, no. 11, pp. 140-150, Nov. 2018.

## Dinâmica Molecular Aplicada ao Estudo da Enzima N-Acetyl-L-Glutamate Kinase Associada à Super-Resistência Bacteriana em *Klebsiella Pneumoniae*

Ana Júlia Ferreira Fagundes<sup>1</sup>, Leon Sulfierry Corrêa Costa<sup>1</sup> e Laurent Emmanuel Dardenne<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório Nacional de Computação Científica - LNCC

### INTRODUÇÃO

A super-resistência bacteriana, especialmente em bactérias Gram-negativas como *Klebsiella pneumoniae*, é um problema global crítico devido à sua capacidade de resistir a múltiplos antibióticos. Encontrada no trato gastrointestinal e nasofaringe humana, *K. pneumoniae* é um patógeno oportunista significativo em infecções hospitalares. Esta bactéria possui o ciclo de produção de L-arginina, vital para a síntese de proteínas e armazenamento de energia. A N-acetilglutamato quinase (NAGK) é essencial para a fosforilação do N-acetilglutamato (NAG), uma reação do ciclo presente apenas em bactérias e plantas.

### OBJETIVOS

Este estudo visa analisar e aprofundar o entendimento da NAGK, identificando fenômenos e motivos importantes para seu funcionamento.

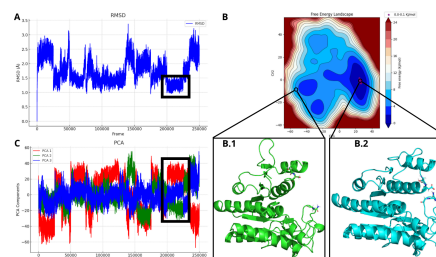
### METODOLOGIA

A estrutura da NAGK de *K. pneumoniae* foi modelada a partir de um homólogo de *E. coli* usando o Swiss-Model. Simulações de dinâmica molecular foram realizadas com o software Amber. A estabilidade estrutural, modos de movimento e conformações energeticamente favoráveis foram analisados por meio de gráficos de RMSD, PCA e FEL, baseados na trajetória e topologia geradas pela simulação. Análises qualitativas descreveram mudanças conformacionais na proteína e identificaram resíduos importantes para a estabilidade e funcionalidade da mesma.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises destacam entre 200.000 e 225.000 frames com os menores perfis

energéticos, caracterizados como conformações estáveis, cruciais para a atividade enzimática (Figura 1). A abertura e fechamento da pinça formada pela hélice G e o grampo das fitas  $\beta 3$  e  $\beta 4$  são importantes para a entrada dos substratos, essenciais para a fosforilação do NAG. Análises qualitativas revelaram mudanças conformacionais e identificaram resíduos críticos, como Asn63 e Thr211, Asp212, que são fundamentais para a estabilidade e funcionalidade da NAGK (Figura 1).



**Figura 1** - A) RMSD; B) FEL, onde B.1 corresponde à abertura da pinça e B.2 corresponde ao fechamento da pinça; C) PCA. As áreas destacadas correspondem à região de mínimo energético.

### CONCLUSÕES

Este estudo revelou mudanças conformacionais e interações essenciais para o funcionamento da NAGK. Alterações no grampo formado pelas fitas  $\beta 3$ ,  $\beta 4$  e hélice G são cruciais para sua função. As descobertas abrem possibilidades para o desenvolvimento de inibidores seletivos para a NAGK, visando combater a super-resistência da *K. pneumoniae*.

### REFERÊNCIAS

RAMÓN-MAIQUES, S. et al. Structure of Acetylglutamate Kinase, a Key Enzyme for Arginine Biosynthesis and a Prototype for the Amino Acid Kinase Enzyme Family, during Catalysis. **Structure**, v. 10, n. 3, p. 329–342, mar. 2002.

## Análise de Substituições de Aminoácidos na Proteína VP1 de Enterovírus da Espécie B

Miranda, A.S<sup>1</sup>, Sousa, I.P<sup>1</sup> e Gomes-Neto, Francisco<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Virologia e Parasitologia Molecular, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil – LVPM - IOC

<sup>2</sup>Laboratório de Toxinologia, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil – LATOX - IOC

### INTRODUÇÃO

Os Enterovírus (EV) são uma das principais causas de infecções humanas relacionadas a infecções do sistema nervoso central em todo o mundo, onde espécies de EV-B (EVB) estão frequentemente associadas. A estrutura do EVB associada ao seu receptor de desnudamento (FcRn) foram estabelecidas através da crio-microscopia eletrônica, esclarecendo sua patogênese viral e antigenicidade. No entanto, informações são limitadas sobre a interação do EVB com o seu receptor e do impacto de mutações observadas na proteína VP1, que é vital para o processo de remoção do revestimento do capsídeo.

### OBJETIVOS

Este estudo tem como objetivo avaliar através de análises *in silico* o efeito de substituições observadas na proteína VP1 e seu impacto na interação com o receptor de desnudamento do EVB.

### METODOLOGIA

Sequências dos dois EVBs mais relevantes que circulam no Brasil, Ecovírus 6 (E6) e Ecovírus 30 (E30), foram coletadas do banco de dados GenBank. Os conjuntos de sequências foram alinhadas via software MEGA 11 (versão 11.0.13) e separadas com base nas mutações identificadas e análise filogenética prévia. O algoritmo de predição SIFT foi utilizado para analisar o impacto na função da proteína. Modelos estruturais das sequências prototípicas e mutantes nos níveis de unidade assimétrica e eixo 5-fold foram gerados através da aplicação do software Pmut-Scan da suíte para modelagem macromolecular Rosetta (release-247 r247 2020.08) e VMD (v1.9.4). O alinhamento das sequências e estruturas

secundárias foram realizadas e analisadas pela ferramenta ESPript (v3.0). As alterações no mapa de superfície de potencial eletrostático foram geradas e analisadas pelo PyMOL (versão 2.6.0a0).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Identificamos substituições significativas nas sequências da proteína VP1, localizadas nas regiões dos *loops* BC, GH e EF, implicadas na interação com o receptor FcRn. Além disso, alterações significativas foram detectadas na região do C-terminal e da bolsa hidrofóbica das sequências. A análise comparativa dos mapas de superfície de potencial eletrostático das unidade assimétricas e dos eixos 5-fold revelou mudanças significativas nos perfis de carga superficial das posições mutadas. Além disso, análises de predição do SIFT sugerem que algumas substituições localizadas nos *loops* e em regiões de estrutura secundária podem ter afetado a função da proteína.

### CONCLUSÕES

Nossos resultados forneceram informações valiosas sobre alterações em regiões essenciais do capsídeo do vírus que poderiam levar a modificações na ligação ao receptor e talvez estar relacionadas ao neurotropismo desta espécie de EV. Mais análises através de dinâmica molecular são necessárias para fornecer mais informações sobre os impactos estruturais dessas substituições e como elas podem afetar a proteína e seu complexo.

## Estudo de seletividade de design *de novo* em receptores de serotonina 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>6</sub> e 5-HT<sub>7</sub>

Anelisa G. de Sousa<sup>1</sup>, Guilherme D. R. Matos<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Universidade de Brasília - UnB

<sup>2</sup>Stony Brook University - SBU

### INTRODUÇÃO

Receptores de serotonina são componentes importantes da transmissão de sinais biológicos no sistema nervoso e em tecidos não-neuronais. Dada a associação desses receptores à depressão, cognição e até mesmo ao uso de drogas recreativas, o design de novos ligantes deve tentar buscar seletividade com o receptor de serotonina de interesse. Este trabalho propõe o uso de design *de novo* para a geração de ligantes seletivos (potencialmente específicos) para três receptores de serotonina, 5-HT<sub>2A</sub> (PDB: 7WC6), 5-HT<sub>6</sub> (PDB: 7XTB) e 5-HT<sub>7</sub> (PDB: 7XTC).[1,2]

### OBJETIVOS

Avaliar a capacidade do método *de novo* na geração de ligantes seletivos para os receptores de serotonina 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>6</sub> e 5-HT<sub>7</sub>, por meio de cálculos de mecânica molecular para energias de interação ligante-receptor; experimentos computacionais de *cross-docking* para verificar a interação de cada receptor com ligantes gerados para outros receptores; e cálculo das diferenças de energia de interação para identificar indícios de seletividade entre as diversas combinações de ligantes e receptores.

### METODOLOGIA

A geração de novas moléculas foi realizada por meio do software DOCK6 [3] com o uso do algoritmo de design *de novo*. [4,5] Essa metodologia explora o espaço químico e cria moléculas a partir de uma biblioteca de fragmentos, levando em consideração propriedades de interesse (e.g.: energia de interação, descritores quimioinformáticos etc.) ao longo do processo de construção da molécula. O design foi executado no interior do sítio de ligação dos três receptores onde as moléculas geradas foram selecionadas

ou descartadas de acordo com as suas energias de interação com o sítio de ligação. Os ensembles moleculares gerados em cada receptor foram, então, submetidos a *cross-docking*, onde os ligantes de um sítio foram ancorados nos sítios dos outros receptores com o propósito de separar ligantes promíscuos de ligantes mais seletivos.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com o uso do D3N foram gerados 1202 ligantes para a proteína 5-HT<sub>2A</sub>, 488 para a proteína 5-HT<sub>6</sub> e 1212 ligantes para a proteína 5-HT<sub>7</sub>. Por meio da análise da energia de interação (energia eletrostática e energia contínua) entre os resíduos da proteína e os ligantes gerados foi feita a comparação entre ligantes capazes de se ligar a uma proteína de forma específica.

### CONCLUSÕES

O experimento conjunto de design *de novo* e *cross-docking* não revelou candidatos marcadamente seletivos para as proteínas 5-HT<sub>6</sub> e 5-HT<sub>7</sub>, mas encontrou bons candidatos para o receptor 5-HT<sub>2A</sub>. Ligantes escolhidos tem indicadores de seletividade quando as diferenças de energia de interação são grandes o suficiente para indicar uma interação preferencial. Estudos de energia livre por meio de cálculos alquímicos serão conduzidos para avaliar a estabilidade relativa das moléculas escolhidas no sítio ativo do receptor.

### REFERÊNCIAS

- [1] DOI: 10.1126/science.abl8615
- [2] DOI: 10.1016/j.molcel.2022.05.031
- [3] DOI: 10.1002/jcc.23905
- [4] DOI: 10.1002/jcc.25052
- [5] DOI: 10.1021/acs.jcim.3c01031

## Caracterização do sítio ativo da Dihidrofolato Redutase de *M. tuberculosis* quanto às interações intermoleculares

Beatriz Murta Rezende Moraes Ribeiro<sup>1</sup>, Maria Fernanda Liphau Almeida Negreli<sup>1</sup>,  
Marcio Vinicius Bertacine Dias<sup>2</sup> e Rafaela Salgado Ferreira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Minas Gerais– UFMG

<sup>2</sup>Universidade de São Paulo - USP

### INTRODUÇÃO

A tuberculose, causada pelo *Mycobacterium tuberculosis*, está associada a uma alta mortalidade global. O tratamento atual é longo, complexo e causa diversos efeitos adversos, dificultando a adesão dos pacientes e levando ao surgimento de cepas multirresistentes. Assim, há necessidade de desenvolver novos medicamentos<sup>1,2</sup>. A enzima dihidrofolato redutase de *M. tuberculosis* (Mt-DHFR), envolvida no metabolismo do folato, é essencial para o desenvolvimento bacteriano, sendo um alvo farmacológico<sup>3</sup>.

### OBJETIVOS

Caracterizar as estruturas tridimensionais da Mt-DHFR em relação as interações entre ligantes e sítio ativo. Criar uma base de ligantes para *docking* molecular.

### METODOLOGIA

As estruturas tridimensionais da Mt-DHFR em complexo com ligantes disponíveis no PDB foram avaliadas por clusterização comparativa. As interações entre ligantes e proteína foram realizadas pelo programa LUNA. Os ligantes ativos foram obtidos do PubChem, BindingDB e PDB. Para o último, foram utilizados os que obtiveram score de densidade eletrônica maior que 0,8, calculada pelo programa *electron density*. A partir do conjunto de ligantes ativos, foram gerados *decoys* pelo DUDE-Z.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

As estruturas tridimensionais da Mt-DHFR apresentaram alta similaridade global, com RMSD máximo de 1,2 Å. O LUNA identificou dez resíduos que mais interagem com os ligantes cristalográficos. Dentre eles, destacam-se ILE5 e ILE94 que interagem com todos ligantes analisados,

principalmente por meio de ligações de hidrogênio (figura 1).

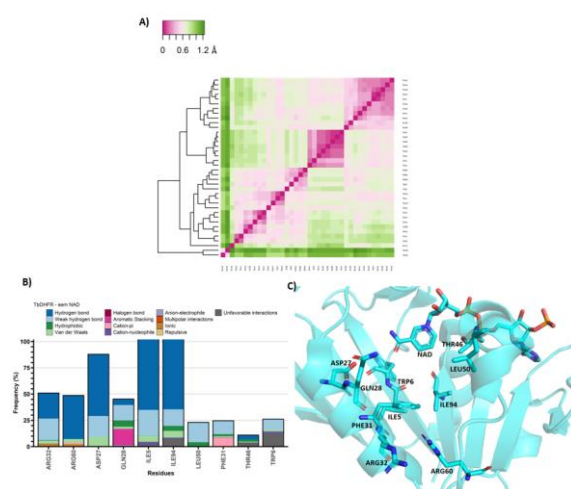


Figura 1. Análise das estruturas tridimensionais da Mt-DHFR. A) similaridade global das estruturas. B) Resíduos priorizados pelo LUNA e suas respectivas frequências e tipos de interação. C) Sítio ativo da Mt-DHFR com os resíduos priorizados em *sticks*.

Em relação a construção da base de dados, foram obtidos 70 ligantes ativos e gerados 1008 *decoys*.

### CONCLUSÕES

As análises das estruturas tridimensionais e a base de dados construída fornecem informações robustas para a construção de um protocolo de *docking*. Estudos de *docking* molecular e sua validação estão em desenvolvimento.

### REFERÊNCIAS

- [1] World Health Organization, "Global Tuberculosis Report 2023". World Health Organization, **2023**.
- [2] N. D. O. Rossini e M. V. B. Dias, "Mutations and insights into the molecular mechanisms of resistance of *Mycobacterium tuberculosis* to first-line", *Genet. Mol. Biol.*, vol. 46, n° 1 suppl 2, p. e20220261, **2023**
- [3] S. V. Vassiliades, *et al.* "Mycobacterium tuberculosis dihydrofolate reductase inhibitors: State of Art Past 20 Years", *Biointerface Research in Applied Chemistry*,

# TARDIS: Uma ferramenta de modelagem de redes metabólicas em escala genômica para prospecção de alvos no desenvolvimento de fármacos contra doenças infecciosas

Camila Rodrigues Chaves<sup>1</sup> e Pedro Henrique Monteiro Torres<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ

## INTRODUÇÃO

Infecções bacterianas são um problema de saúde pública mundial, principalmente quando atreladas ao desenvolvimento de estratégias adaptativas de resistência a antibióticos. Com o avanço da bioinformática, metodologias de planejamento de fármacos assistido por computador vêm sendo empregadas para reduzir o tempo e o custo necessários no desenvolvimento de novos medicamentos, essenciais para enfrentar uma nova epidemia. No entanto, esse campo sofre com a escassez de novos alvos de intervenção farmacológica, tornando necessário o desenvolvimento de novas metodologias para atender a essa demanda [1]. A modelagem de redes metabólicas é uma nova área que está sendo rapidamente desenvolvida e usada para a identificação de possíveis alvos farmacológicos, principalmente contra microorganismos.

## OBJETIVOS

Desenvolver um programa que encontre alvos de intervenção farmacológica em bactérias a partir de seu genoma utilizando modelagem de redes metabólicas.

## METODOLOGIA

TARDIS: TARGgets DIScoverer foi desenvolvido em Python e utiliza o software externo CarveMe [2] para criar o mapa metabólico e simular o crescimento bacteriano *in silico* através da Análise de Balanço de Fluxo (FBA) [3], implementada na biblioteca COBRAPy. Posteriormente, busca por potenciais alvos nesses mapas metabólicos, realizando análises de busca por genes essenciais para o crescimento bacteriano e reações de chokepoint [4] através da biblioteca CONTRABASS. Consideramos bons alvos as proteínas que I) são essenciais para o crescimento bacteriano e II) estão envolvidas em

reações de chokepoint.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Testamos a capacidade do TARDIS de identificar alvos para as cepas de referência de cinco patógenos do grupo ESKAPE, considerados pela Organização Mundial da Saúde como prioritários no desenvolvimento de novos antimicrobianos. O TARDIS identificou 22 alvos potenciais para *Acinetobacter baumannii*, 16 para *Enterococcus faecium*, 19 para *Klebsiella pneumoniae*, 28 para *Pseudomonas aeruginosa* e 21 para *Staphylococcus aureus*.

## CONCLUSÕES

Deste projeto, podemos concluir que o TARDIS é capaz de identificar alvos para o desenvolvimento de novos antimicrobianos de forma completamente automatizada. Ele gera mapas metabólicos através do software externo CarveMe, aplica análises de genes essenciais e reações de chokepoints para a identificação dos alvos e retorna para o usuário uma tabela com os nomes dos alvos e um diretório com as sequências no formato fasta.

## REFERÊNCIAS

- [1] Schmid, M. Do targets limit antibiotic discovery?. *Nat Biotechnol* 24, 419–420 (2006). <https://doi.org/10.1038/nbt0406-419>
- [2] Machado, D. et al. Fast automated reconstruction of genome-scale metabolic models for microbial species and communities. *Nucleic Acids Research* 46, 7542–7553 (2018).
- [3] Orth, Jeffrey D et al. What is flux balance analysis? *Nature biotechnology* 28, (2010)
- [4] Oarga, A. et al. Growth Dependent Computation of Chokepoints in Metabolic Networks. *Computational Methods in Systems Biology* (2020).

# Comparative Analysis of Fusicoccin Binding to 14-3-3 Isoforms $\sigma$ and $\beta$ : Implications for Selective Inhibitor Development

Ana Cláudia Souza Sérvalo<sup>1,2</sup>, Carlyle Ribeiro Lima<sup>1</sup> e Nicolas Carels<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centre for Technological Development in Health (CDTS), Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ), Rio de Janeiro 21040-900, Brazil.

<sup>2</sup>Graduate Program in Computational and Systems Biology, Oswaldo Cruz Institute (IOC), FIOCRUZ, Rio de Janeiro 21040-900, Brazil.

## INTRODUCTION

Despite significant advancements in cancer diagnosis and treatment in recent years, progress remains slow, with the global cancer mortality projected to reach a staggering 29 million by 2040. To identify potential drug targets in breast cancer, our investigation focused on malignantly up-regulated genes encoding hub proteins. The 14-3-3 proteins, a family of phospho-binding adaptor molecules, are known to form protein-protein interactions (PPIs) with numerous client proteins. In humans, the seven isoforms ( $\beta$ ,  $\epsilon$ ,  $\eta$ ,  $\gamma$ ,  $\theta$ ,  $\zeta$ , and  $\sigma$ ) are encoded by distinct genes (YWHAB, YWHAE, YWHAH, YWHAG, YWHAQ, YWHAZ, and SFN or Stratifin) and are expressed variably across different tissues. Fusicoccin (FC) represents a promising entry point for selective 14-3-3 PPI modulators due to its notable pro-apoptotic and neuroprotective effects in mammalian cell cultures. Although the spectrum of client proteins targeted by FC is understood, its effects on the activity of various 14-3-3 isoforms remain unclear.

## OBJECTIVES

To address this, we performed a comparative analysis of FC interactions with the  $\beta$  (YWHAB) and  $\sigma$  (YWHAZ) isoforms.

## METHODOLOGY

The FC- $\sigma$  complex was used as a control for the study. We employed (i) molecular docking using PLANTS v1.2 and Dock v6.11, (ii) molecular dynamics (MD) simulations with Gromacs v2024, and (iii) free energy calculations with gmx\_MMPBSA v1.6.3.

## RESULTS AND DISCUSSION

The re-docking of FC in the  $\sigma$  isoform yielded binding scores of -89.25 kcal/mol and -43.89 kcal/mol with PLANTS and Dock, respectively, and an RMSD of less than 0.7 Å. In the  $\beta$  isoform, FC docking scores were -68.89 kcal/mol and -38.56 kcal/mol with PLANTS and Dock, respectively, with RMSDs of less than 0.8 Å. MD simulations indicated that FC remained stable in the binding sites of both isoforms, with deviations of less than 1.2 Å for  $\sigma$  and 2.0 Å for  $\beta$ , and average RMSDs of 2.5 Å for both. However, the loop region between amino acids 60-90 exhibited RMSDs exceeding 4.0 Å and 5.0 Å for the  $\sigma$  and  $\beta$  isoforms, respectively. The FC component interacts with residues Ser44, Lys48, Lys120, and Asp214 in the  $\sigma$  isoform, while in the  $\beta$  isoform, it interacts only with Lys120 and Asp214. Binding free energies, calculated by assessing enthalpy change ( $\Delta H$ ) and entropy contribution ( $T\Delta S$ ), revealed the following: for FC in the  $\sigma$  isoform,  $-T\Delta S$  was  $8.91 \pm 0.05$  kcal/mol,  $\Delta H$  was  $-57.51 \pm 3.48$  kcal/mol, and  $\Delta G$  was  $-48.60 \pm 3.48$  kcal/mol; in the  $\beta$  isoform,  $-T\Delta S$  was  $10.71 \pm 0.22$  kcal/mol,  $\Delta H$  was  $-52.42 \pm 3.62$  kcal/mol, and  $\Delta G$  was:  $-41.71 \pm 3.56$  kcal/mol.

## CONCLUSIONS

These differences suggest that the lack of interaction between FC and Ser44 and Lys48 in the  $\beta$  isoform is responsible for the lower  $\Delta G$  in the FC- $\beta$  complex. Additionally, variations in amino acids in these isoforms contribute to FC's selectivity, enhancing its interaction with the  $\sigma$  isoform. Understanding how residues influence FC interactions, regardless of the isoform, could improve the development of inhibitors against 14-3-3 isoform.

# De Novo Design of Antiviral Proteins: Targeting the Viral Entry Mechanisms of SARS-CoV-2, Chikungunya, and Dengue

Matsubara, D.K.<sup>1</sup>; Park, P.<sup>1</sup>; Chaimovich, H.<sup>1</sup>; Cuccovia, I.M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Biochemistry, Institute of Chemistry, University of São Paulo - USP

---

## INTRODUCTION

Viral diseases are a global health concern. The constant emergence of new variants and protection of high-risk groups emphasizes the continuous need for novel antivirals. Here, we explore computational methods to design *de novo* protein binders targeting critical viral entry components of three viruses: SARS-CoV-2 RBD, Chikungunya virus (CHIKV) envelope, and Dengue virus (DENV) fusion loop, with the goal of identifying potential therapeutic candidates.

## OBJECTIVES

Develop novel, computationally designed protein binders targeting viral entry mechanisms of SARS-CoV-2, Chikungunya virus, and Dengue virus.

## METHODOLOGY

Target structures were taken from the PDB. The Rosetta software suite [1], RifDock [2] and ProteinMPNN neural network [3] were used to generate initial backbones, dock and calculate the most likely sequence for the binders. Models with high experimental viability were selected based on structural predictions for complexes and monomers (binder) performed using AlphaFold-Multimer [4] and AlphaFold2 [5], respectively; folding simulations for top binders were also carried out using Rosetta. Finally, MD simulations of selected complexes and monomers were performed using the GROMACS package [6].

## RESULTS AND DISCUSSION

Using the protocol developed here, 120 binders were identified for SARS-CoV-2, 92 for CHIKV, and 96 for DENV. Their designed complex and monomers were similar to predictions and present high confidence, indicating increased probability of

experimental success. In this work, we showcased one binder for each viral target. MD simulations of complexes showed stability of interaction. Simulations of the binders free in solution also demonstrated structural stability.

## CONCLUSION

The binders generated here represent potential biopharmaceuticals against selected viruses. Through experimental studies, *in-vitro* efficacy can be validated, and the protocol can also be improved. This approach can be applied to other target proteins of pharmacological interest.

## REFERENCES

- [1] LEMAN, J. K. et al. Macromolecular modeling and design in Rosetta: recent methods and frameworks. *Nature Methods*, v. 17, n. 7, p. 665–680, 1 jun. 2020.
- [2] DOU, J. et al. De novo design of a fluorescence-activating  $\beta$ -barrel. *Nature*, v. 561, n. 7724, p. 485–491, 1 set. 2018.
- [3] DAUPARAS, J. et al. Robust deep learning-based protein sequence design using ProteinMPNN. *Science*, v. 378, n. 6615, p. 49–56, 7 out. 2022.
- [4] EVANS, R. et al. Protein complex prediction with AlphaFold-Multimer. *BioRxiv*, 4 out. 2021.
- [5] JUMPER, J. et al. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*, v. 596, n. 7873, p. 583–589, 15 jul. 2021.
- [6] ABRAHAM, M. J. et al. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *SoftwareX*, v. 1-2, p. 19–25, set. 2015.

# Caracterização Termodinâmica da Resposta Imune Humoral Contra a Proteína Envelope do Vírus da Dengue

Júlio C. M. Simões<sup>1</sup>, Emerson G. Moreira<sup>2</sup>, Whendel M. Santos<sup>1</sup>, Danilo F. Côelho<sup>1</sup>, Roberto D. Lins<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

<sup>2</sup>Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ)

## INTRODUÇÃO

O vírus da Dengue (DENV) é um patógeno significativo transmitido por mosquitos que afeta milhões de pessoas anualmente. [1] Há 4 sorotipos de DENV (D1, D2, D3, D4) e classicamente acredita-se que só é possível contrair infecção uma única vez por sorotipo. As respostas imunes humorais contra as proteínas de envelope (E) do DENV são cruciais para a neutralização do vírus e prevenção da doença. [2] Este estudo visa caracterizar as propriedades termodinâmicas das interações entre as proteínas de envelope de novas variantes do DENV e anticorpos (Abs) de mamíferos.

## OBJETIVOS

(1) Catalogar complexos E-Ab no Banco de Dados de Proteínas (PDB). (2) Avaliar as propriedades termodinâmicas dos complexos obtidos do PDB. (3) Realizar alinhamentos de sequências de aminoácidos das novas cepas do vírus da Dengue. (4) Modelar a estrutura das novas variantes da proteína E. (5) Caracterizar suas propriedades de ligação termodinâmica aos anticorpos e comparar com as cepas anteriores.

## METODOLOGIA

Catalogamos e obtivemos estruturas do PDB, realizamos inspeção e limpeza com os softwares PyMol e Rosetta, modelagem de PDBs com resíduos faltantes usando Swiss Model, e cálculo da variação de energia livre ( $\Delta\Delta G$ ) utilizando o protocolo FlexddG. [3] As sequências de RNA de variantes de DENV novas foram obtidas da Rede Genômica da FIOCRUZ e traduzidas para sequências de aminoácidos. Mutações foram realizadas no protocolo FlexddG adaptado supracitado, permitindo comparar o  $\Delta\Delta G$  das proteínas E antigas em relação

às novas frente a Abs.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Encontramos 25 estruturas de complexos E-Ab de DENV (5 D1, 10 D2, 6 D3, 4 D4), 8 das quais correspondentes a Abs humanos. Os resultados indicam variações significativas no  $\Delta\Delta G$  entre as novas variantes de D2 e anticorpos de mamíferos, sugerindo possíveis mecanismos de evasão imune.

## CONCLUSÕES

As variantes do DENV2 sequenciadas em 2023 e 2024 apresentaram mudanças significativas no  $\Delta\Delta G$  de interação E-Ab, o que pode contribuir para a evasão imunológica. Cálculos das propriedades de  $\Delta\Delta G$  para as demais variantes (D1, D3 e D4), encontram-se em execução. Além disso, planejamos implementar cálculo de  $\Delta\Delta G$  utilizando abordagem de Machine Learning, visando aumentar a precisão do cálculo. A hipótese será avaliada experimentalmente através de ensaios de neutralização viral frente a anticorpos.

## REFERÊNCIAS

- [1] BRASIL (2023). Informe Epidemiológico Arboviroses – SUS, semanas epidemiológicas 01 a 07 de 2024. Fonte de dados do Informe: Sinan On-line.
- [2] Sarker A, et al. "Dengue virus neutralizing antibody: a review of targets, cross-reactivity, and antibody-dependent enhancement". *Front Immunol.* 2023; 14:1200195. doi: 10.3389/fimmu.2023.1200195
- [3] Barlow KA, et al. "FlexddG: Rosetta Ensemble-Based Estimation of Changes in Protein-Protein Binding Affinity upon Mutation". *J. Phys. Chem. B*, 2018. doi: 10.1021/acs.jpcc.7b11367

# Artificial Intelligence Applied to Virtual Screening to Create a Consensus Score

Artur Duque Rossi<sup>1</sup>, Pedro Geraldo Pascutti<sup>1</sup> e Pedro Henrique Monteiro Torres<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Federal University of Rio de Janeiro - UFRJ

## INTRODUCTION

Nowadays, the use of molecular docking is a paramount step during the process of virtual drug discovery [1], and it is evaluated through the use of scoring functions (SFs) [2]. There are many kinds of SFs, and they behave differently across a multitude of complexes. This behaviour makes some SFs perform better than others, depending on the complex [3]. One way of getting around this problem is to use a consensus among a set of different SFs [4]. Here, we present a workflow written in python3, which is capable of using Artificial Intelligence (AI) to perform a consensus across various SFs and the molecular descriptors of the complexes.

## OBJECTIVES

The goal is to determine the AI algorithm which best suits the problem; along with the most relevant descriptors or dimensional reduction technique to feed the AI algorithm with.

## METHODOLOGY

Complexes from the PDBbind and DUDEz databases were downloaded, and then, for the DUDEz dataset, one representative protein for each CATH classification was picked to analyse the separation capability of the models. Finally, more than 400 descriptors for ligand, protein and complex were extracted, and the complexes have been submitted to diverse docking and rescoring software such as Autodock Vina, SMINA, PLANTS and ODDT. The full set of extracted data was fed to multiple supervised AI algorithms. Dimensionality reduction has also been tested to evaluate the impact of its changes in the final results. The goal used to calculate the error of the model was the real value of the interaction provided by PDBbind (yielding a Mean

Square Error metric) and the selected proteins from the DUDEz dataset were used to evaluate the separation capability of the model (yielding an Area Under Curve metric).

## RESULTS AND DISCUSSION

The preliminary results have shown that some ML methods outperforms others and, in great majority, they show smaller RMSE, greater separation, or both when compared to SFs alone.

## CONCLUSIONS

The library allows the users to import the submodules separately to perform docking automation simply. It was also possible to observe that the results indicate that the use of Machine Learning to perform SFs consensus yields promising results.

## REFERENCES

- [1] KAPETANOVIC, I. M. Computer-aided drug discovery and development (CADD): in silico-chemico-biological approach. **Chemico-Biological Interactions**, v. 171, n. 2, p. 165–176, 30 jan. 2008.
- [2] LI, J.; FU, A.; ZHANG, L. An overview of scoring functions used for protein-ligand interactions in molecular docking. **Interdiscip. Sci. Comput. Life Sci**, v. 11, p. 320–328, 2019.
- [3] MENG, X.-Y.; ZHANG, H.-X.; MEZEI, M.; CUI, M. Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. **Current Computer Aided-Drug Design**, v. 7 n. 2, p. 146–157, 2011.
- [4] PALACIO-RODRÍGUEZ, K.I LANS, I.; CAVASOTTO, C. N.; COSSIO, P. Exponential consensus ranking improves the outcome in docking and receptor ensemble docking. **Scientific Reports**, v. 9, n.1, p. 5142, 2019.

## Busca de Alvos Antiparasitários do Fármaco Zileuton por Triagem Virtual Invertida Baseada em Ligante

Estela Mariana Guimarães Lourenço<sup>1#</sup>, Mayra Fernanda Ricci<sup>1#</sup>, Rafaela das Dores Pereira<sup>1</sup>, Fabiana Simão Machado<sup>1</sup>, Rafaela Salgado Ferreira<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Bioquímica e Imunologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG

### INTRODUÇÃO

Descrita formalmente há mais de 110 anos, a doença de Chagas ainda é um desafio de saúde pública por sua alta taxa de mortalidade e tratamento com eficácia limitada e inúmeros efeitos adversos. A atividade anti-inflamatória do Zileuton (Zi), inibidor da 5-LO, é um efeito desejado em diferentes estágios da doença de Chagas, tornando-o um candidato para o tratamento desta doença. De forma pioneira, observamos que além dos efeitos de cardioproteção, o Zi foi capaz de reduzir a parasitemia em modelo *in vivo* da doença de Chagas. Entretanto, o mecanismo molecular responsável pela atividade antiparasitária ainda é desconhecido.

### OBJETIVOS

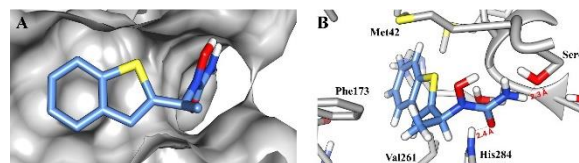
Investigar, por triagem virtual invertida baseada em ligante e docking molecular, possíveis alvos antiparasitários do Zileuton.

### METODOLOGIA

A estrutura do Zileuton (SMILES) foi submetida à ferramenta Swiss TargetPrediction<sup>1</sup>. Os dados de probabilidade de interação com os alvos são mensurados pela similaridade 2D e 3D, calculadas pelo coeficiente de Tanimoto e distância de Manhattan, respectivamente. Os melhores resultados foram selecionados para inspeção visual através de docking molecular com o programa DockThor<sup>2</sup>. A estrutura 3D da epóxido hidrolase (EH) de *T. cruzi* foi obtida por modelagem pelo AlphaFold2. O redocking utilizando a EH cristalografada com um híbrido do Zi (PDB: 6YL4) foi realizado para validação do protocolo de docking molecular.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A triagem virtual invertida apontou dez potenciais alvos biológicos para Zi, incluindo a 5-LO. Dentre eles, a EH se destacou pelos diversos efeitos biológicos conhecidos, além do alto número de inibidores potentes similares à Zi. De fato, híbridos sintéticos de Zi demonstraram alta inibição desta enzima, reforçando os achados *in silico*<sup>3</sup>. A pose predita por docking molecular confirma a possível interação entre Zi e EH, através da boa complementariedade com seu sítio ativo. Além de interações hidrofóbicas, ligações de hidrogênio podem ser formadas entre a porção quelante de ferro de Zi e os resíduos His284 e Ser44 (**Figura 1**).



**Figura 1:** Potencial modo de ligação do Zileuton no sítio ativo da EH de *T. cruzi* (A) e interações intermoleculares entre zi e os resíduos de aminoácidos (B).

### CONCLUSÕES

Os resultados de triagem virtual invertida, docking molecular e investigação de literatura reforçam a epóxido hidrolase como possível alvo antiparasitário de Zi.

### REFERÊNCIAS

- [1] Gfeller et al, "Swiss TargetPrediction: a web server for target prediction of bioactive small molecules," *Nucleic Acids Res.*, vol. 42, pp. 32–38, **2014**.
- [2] Guedes et al, "New Machine Learning and Physics-Based Scoring Functions for Drug Discovery" *Sci Rep.*, vol. 11, pp. 3198, **2021**.
- [3] Meirer et al, "Design, Synthesis and Cellular Characterization of a Dual Inhibitor of 5-Lipoxygenase and Soluble Epoxide.," *Molecules.*, vol. 22, pp. 45, **2016**.

# Molecular Dynamics and Quantum Biochemistry Reveal PHO36 as a Novel Membrane Receptor Target for Synthetic Peptides in *Candida albicans*

Francisco E. S. Lopes<sup>1</sup>, Pedro F. N. Souza<sup>1</sup>, Jackson L. Amaral<sup>2</sup>, Valder N. Freire<sup>1</sup>, Rossana A. Cordeiro<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Federal do Ceará (UFC)

<sup>2</sup>Universidade Federal do Piauí (UFPI)

## INTRODUCTION

Antimicrobial peptides (AMPs) are small molecules with various activities against yeasts, fungi, bacteria, and viruses [1]. Here, quantum biochemistry was used to understand if PHO36 could be a target for AMPs that already have experimentally proven anticandida activity *in vitro*. Molecular docking, molecular dynamics, and quantum biochemistry evaluation of the interaction region of the AMPs RcAlb-PepIII, PepGAT, and PepKAA with the PHO36 receptor were performed in this study.

## OBJECTIVES

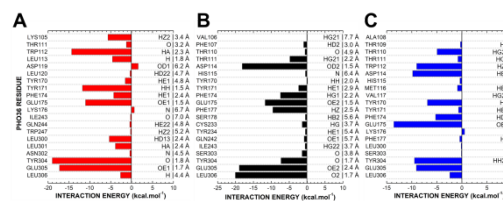
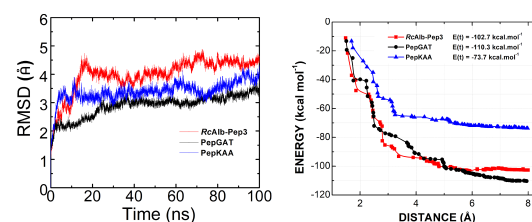
The study aimed to perform an *in silico* investigation, including molecular docking analysis, molecular dynamics, and quantum biochemistry of the PHO36 receptor with the synthetic peptides RcAlb-Pep3, PepGAT, and PepKAA, to understand the implications and individual contributions of amino acid residues in the interaction region.

## METHODOLOGY

Assays were performed using molecular modeling with SWISS-MODEL and AlphaFold, molecular docking (MD), and molecular dynamics simulation (MDS). The quantum biochemistry of the interface area, which is expressed by calculating the energy between two residues, was performed according to the following equation:

$$E_I(R_i - R_j) = E(C_{i-1}R_iC_{i+1}C_{j-1}R_jC_{j+1}) - E(C_{i-1}R_iC_{i+1}C_{j-1}C_{j+1}) - E(C_{i-1}C_{i+1}C_{j-1}R_jC_{j+1}) + E(C_{i-1}C_{i+1}C_{j-1}C_{j+1})$$

## RESULTS AND DISCUSSION



Studying these energies involved in peptide-receptor binding is necessary for understanding possible new mechanisms of cell apoptosis and contributing to the dissemination of areas such as quantum biochemistry and quantum microbiology.

## CONCLUSIONS

The quantum biochemistry of the interaction between the PHO36 receptor and RcAlb-Pep3, PepGAT, and PepKAA suggests that synthetic peptides derived from plant proteins may be promising future candidates for developing specific biotechnological tools.

## REFERENCES

[1] Lopes, F. E. S., da Costa, H. P. S., Souza, P. F. N., Oliveira, J. P. B., Ramos, M. V., Freire, J. E. C., Jucá, T. L., & Freitas, C. D. T. Peptide from thaumatin plant protein exhibits selective anticandidal activity by inducing apoptosis via membrane receptor. *Phytochemistry*, 159, 46–55, **2019**

# Predição por dinâmica molecular do calor de vaporização de solventes orgânicos voláteis de alta toxicidade

Guilherme Da Silva Salvalaio<sup>1</sup>, Arlan Da Silva Gonçalves<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Federal do Espírito Santo – IFES Vitória e Vila Velha

## INTRODUÇÃO

O calor de vaporização ( $\Delta_{\text{vap}}H$ ) é uma propriedade termodinâmica crucial para o estudo do equilíbrio líquido-vapor. A estimativa do  $\Delta_{\text{vap}}H$  é fundamental para diversos projetos na indústria química e farmacêutica, auxiliando na formulação de produtos e em processos de destilação e extração. No entanto, métodos experimentais tradicionais para determinar esta grandeza termodinâmica apresentam desafios, como alto custo e riscos associados à toxicidade. Para contornar essas limitações, técnicas computacionais como a dinâmica molecular (DM) emergem como alternativas promissoras.<sup>1,2</sup>

## OBJETIVO

Correlacionar propriedades estruturais e termodinâmicas teóricas e experimentais de solventes orgânicos voláteis de forma a se propor um modelo matemático para a estimativa teórica da entalpia de vaporização de líquidos.

## METODOLOGIA

- 1- Preparo das moléculas no Avogadro;
- 2- Minimização de energia através do AVOGADRO e o MOPAC, usando o método semi-empírico PM7;
- 3- Geração de caixas de simulação com Packmol;
- 4- Parametrização das moléculas com o ACPYPE e MKTOP;
- 5- Simulações por DM de 50 ns, com  $p = 1$  bar e  $T = (\text{Teb} - 10\% \text{ de Teb}, \text{Teb} \text{ e Teb} + 10\% \text{ de Teb})$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Resultados mostram que o ácido benzóico apresenta menores valores de raio de giro e de área acessível ao solvente, o que é explicado pelo maior número de ligações

hidrogênio formadas, durante os 50 ns de simulação por DM, o que aumenta o empacotamento dos agregados de ácido benzóico, em relação as outras moléculas, em estudo, Figura 1.

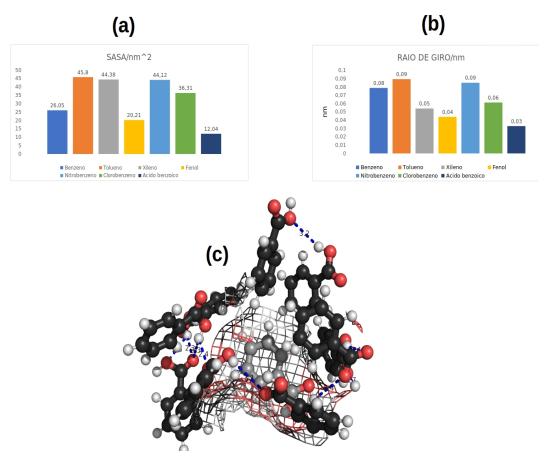


Figura 1–(a) SASA, (b) Rg, (c) Molécula de ácido benzóico envolvida por outras.

## CONCLUSÕES

As simulações por DM mostraram relevância para predizer a influência de grupos doadores e aceptores de ligações hidrogênio, tanto no grau de empacotamento dos agregados moleculares, como também na diminuição da área acessível ao solvente, sugerindo que moléculas voláteis que favorecem contatos polares entre si, possuem maiores calores de vaporização.

## REFERÊNCIAS

- [1] P. W. Atkins e J. de Paula, *Físico-Química*, volume 2. 9ª ed. Rio de Janeiro: LTC, 2012.
- [2] J. P. Hansen e I. R. McDonald, *Theory of Simple Liquids*. 4ª ed. Academic Press, 2013.

# Planejamento por Modelagem e Dinâmica Molecular de Inibidores de *Leishmania amazonensis* e *Leishmania major*.

Iago Rodrigues de Mattos<sup>1</sup>, Arlan da Silva Gonçalves<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Federal do Espírito Santo – IFES

## INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma doença infecciosa negligenciada causada por protozoários do gênero *Leishmania*. Os tratamentos disponíveis atualmente são insatisfatórios devido aos seus efeitos colaterais, tornando essencial a busca por novas alternativas terapêuticas<sup>[1,2]</sup>.

Assim, propõe-se neste trabalho a triagem do banco de dados *HitFinder* da Thermo Fisher, utilizando a técnica de docagem molecular, e, posteriormente, a realização da dinâmica molecular, tendo como alvo molecular a quinase NDK humana e dos parasitos.

## OBJETIVOS

Propor novos candidatos a fármacos para o tratamento da leishmaniose, através das técnicas de docagem e dinâmica molecular.

## METODOLOGIA

O fluxograma, Figura 01, detalha os procedimentos realizados nesta pesquisa.

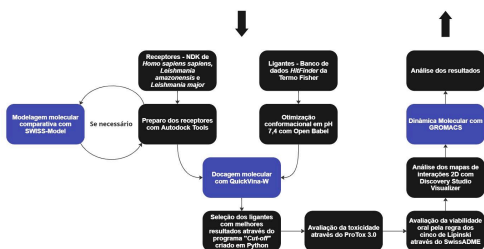


Figura 01: Metodologia aplicada na pesquisa.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Realizou-se a modelagem comparativa da NDK de *Leishmania amazonensis* (código: 5GO1), que apresentava lacunas em sua estrutura (Figura 02).

Executou-se a docagem molecular, totalizando 14.400 resultados (Figura 03). Filtrou-se os ligantes com maior seletividade às proteases dos parasitos em relação à protease humana (Figura 04).

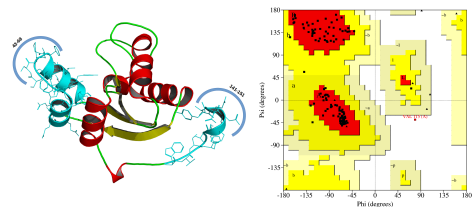


Figura 02: LaNDK completa por modelagem comparativa (esq.) e gráfico Ramachandran (dir.).

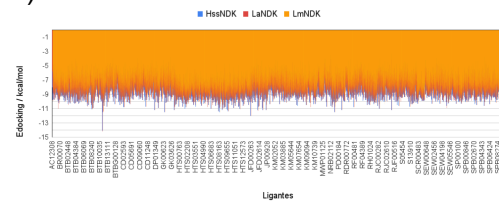


Figura 03: Resultados de docking totais.

Ligantes	Edocking / HsNDK / kcal/mol	Edocking / LaNDK / kcal/mol	Edocking / LmNDK / kcal/mol	Edocking (LaNDK - HsNDK) / kcal/mol	Edocking (LmNDK - HsNDK) / kcal/mol
HTS07587	-7,9	-9	-9	-1,1	-1,1
HTS09604	-7,9	-9,7	-9,7	-1,8	-1,8
JFD01583	-7,5	-9,3	-9,3	-1,8	-1,8
KM04847	-7,8	-9,4	-9,4	-1,6	-1,6
KM09064	-7,4	-9,7	-10	-2,3	-2,6
PD00035	-7,2	-8,8	-8,9	-1,6	-1,7
ADP	-8,4	-8,3	-8,3	0,1	0,1
ATP	-8,7	-8,8	-8,5	-0,1	0,2

Figura 04: Resultados selecionados para a dinâmica molecular.

## CONCLUSÕES

Foi possível selecionar seis ligantes com maior seletividade às proteases do parasito, que serão, posteriormente, avaliados sob ótica determinística da dinâmica molecular.

## REFERÊNCIAS

- [1] OLIVEIRA, R. G. Sentidos das Doenças Negligenciadas na agenda da Saúde Global: o lugar de populações e territórios. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 23, n. 7, p. 2291–2302, jul. 2018.[1] -
- [2] SILVA, A. P. et al. Doenças negligenciadas e indústria farmacêutica: o caso da Doença de Chagas. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, p. e21110212419, 10 fev. 2021.[2] -

# Abordagem Computacional no Desenvolvimento de Testes Rápidos Para Detecção de Novas Substâncias Psicoativas

José Renato D Fajardo,<sup>1,2</sup> Eliani Spinelli,<sup>1</sup> Leonardo Moreira da Costa,<sup>1</sup> José Walkimar de Mesquita Carneiro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal Fluminense – UFF

<sup>2</sup>Laboratório Nacional de Computação Científica – LNCC

## INTRODUÇÃO

A crescente prevalência de novas substâncias psicoativas (NPS) apresenta desafios para as agências de saúde pública e de aplicação da lei.<sup>1,2</sup> Portanto, este estudo destaca a aplicação da química computacional como ferramenta de suporte ao desenvolvimento de metodologias de detecção rápida de catinonas (Fig. 1), alcalóides sintéticos derivados da *Catha edulis* conhecidos como *bath salts*.<sup>1,2</sup>

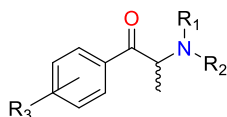


Fig. 1 – Esqueleto estrutural da família das catinonas.

## METODOLOGIA

Cálculos de DFT, aplicando o funcional B3LYP e o conjunto de base Def2TZV foram empregados para obter parâmetros moleculares das moléculas de interesse e otimizar suas geometrias. Utilizou-se uma rotina em Python para realizar Análise de Componentes Principais (PCA), com auxílio da biblioteca scikit-learn, identificando propriedades eletrônicas que poderiam correlacionar com o teste rápido positivo. Essa abordagem permitiu avaliar as propriedades químicas e eletrônicas relevantes, oferecendo suporte teórico aos resultados de detecção das novas substâncias.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As geometrias de 33 moléculas, incluindo diversos membros da família das catinonas e outras substâncias, foram otimizadas. A partir dos cálculos quânticos, foram obtidos parâmetros fundamentais, como potencial de redução, potencial de oxidação, energias de HOMO e LUMO e gap de banda (banda proibida). As substâncias com resultados positivos no teste rápido apresentaram um padrão de potencial de oxidação mais elevado do que da Batocuproína

(complexante do Cobre no método do teste rápido). Porém, de forma não exclusiva, visto que outras substâncias com resultado negativo apresentaram valores de potencial de oxidação similares. Para esclarecer essa tendência, utilizamos a técnica de PCA para reduzir a dimensionalidade dos dados. Os resultados da PCA são mostrados na Fig. 2.

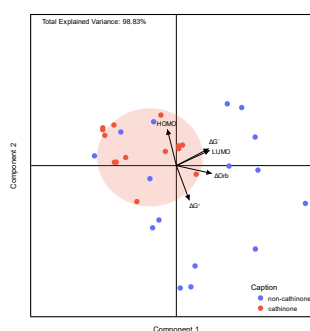


Fig. 2 – Gráfico de PCA.

A orientação vertical dos autovetores indica parâmetros que fortemente correlacionam com o resultado positivo do teste, enquanto a orientação horizontal representa parâmetros com impacto negligível no teste. Os autovetores mais correlacionados são o potencial de oxidação e a energia HOMO. A concentração de catinonas em um quadrante específico sugere que a energia HOMO desempenha um papel crucial nos resultados positivos do teste.

## CONCLUSÕES

A integração da modelagem molecular e quimiometria aprofundou o entendimento de propriedades eletrônicas das moléculas alvo. A energia de HOMO é o principal parâmetro correlacionado ao teste positivo de predição das drogas. Corroborando para o aprimoramento dos testes de detecção e sua aplicação em diversas áreas, incluindo química analítica e toxicologia.

## REFERÊNCIAS

- [1] Novel Psychoactive Substances, 2 ed., 333-380, 2022.
- [2] M. Philp, S. Fu, Drug Test. Anal., 2018, 20, 95-108.

# Estudos de Modelagem Molecular para a Descoberta de Potenciais Inibidores da Enzima PI4KIII $\beta$ de *Plasmodium falciparum*: Triagem Virtual e Métodos de Aprendizado de Máquina

Gabriela S. Oliveira<sup>1</sup>, Victor H. Rubesquine<sup>1</sup>, Alexandre V. Fassio<sup>1</sup>, João P. S. Martins<sup>1</sup> e Rafael V. C. Guido<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Física de São Carlos/Universidade de São Paulo – IFSC/USP

## INTRODUÇÃO

A malária é uma doença infecciosa de relevância global. A crescente resistência do parasito aos antimaláricos torna urgente o desenvolvimento de novos fármacos com mecanismos de ação inovadores. A enzima fosfatidilinositol-4-quinase do tipo III  $\beta$  de *Plasmodium falciparum* (PfPI4K) é um alvo atrativo e validado, sendo crucial para vários estágios do ciclo de vida do parasito<sup>1</sup>. Devido à complexidade dos ensaios biológicos com a PfPI4KIII $\beta$ , o desenvolvimento de estratégias *in silico* são essenciais para o avanço na descoberta de inibidores para a enzima.

## OBJETIVOS

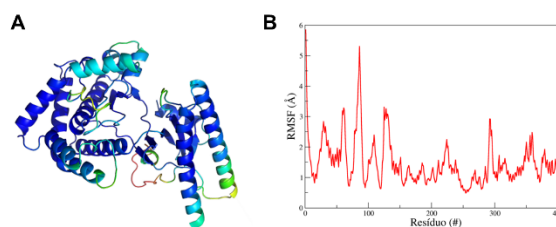
Construção de um modelo tridimensional validado da enzima PfPI4K e o utilizar para a descoberta de potenciais inibidores a partir da integração de técnicas de docagem molecular e triagem virtual com métodos de aprendizado de máquina (ML).

## METODOLOGIA

A estrutura tridimensional da PfPI4K foi predita através do algoritmo *AlphaFold v2.1.0*. A estrutura foi validada com simulações de dinâmica molecular (AMBER19), métrica pLDDT e alinhamento com a homóloga humana hPI4KIII $\beta$  (PDB ID: 4D0L). Para a triagem virtual, foram resgatados da base ChEMBL compostos com atividade biológica contra a enzima hPI4KIII $\beta$ . A docagem molecular foi realizada utilizando os *softwares* DOCK 6 (UCSF) e GOLD (CCDC). A validação do protocolo de triagem foi baseada na seletividade de interação entre ligantes conhecidos e *decoys* e para predição da atividade de compostos desconhecidos foram empregadas as técnicas de ML *Random Forest*, *Gradient Tree Boosting* e *SVM*.

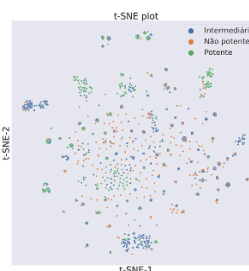
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O modelo predito apresentou alta confiabilidade (Figura 1A), com altos valores de pLDDTs e estabilidade estrutural confirmada pelas simulações de dinâmica molecular (MD) (Figura 1B).



**Figura 1:** (A) Modelo tridimensional predito para a PfPI4KIII $\beta$ . (B) RMSF (Flutuação média de cada resíduo durante a simulação).

Construiu-se um banco de dados diverso e equilibrado (Figura 2), usado para treinar um modelo que apresentou boa acurácia para triagem de moléculas sem atividade conhecida (Tabela 1).



**Figura 2:** Moléculas resgatadas do ChEMBL

Algoritmo	Acurácia
Random Forest	0,75 $\pm$ 0,06
Gradient Tree Boosting	0,74 $\pm$ 0,08
SVM (kernel = rbf)	0,74 $\pm$ 0,09
SVM (kernel = linear)	0,74 $\pm$ 0,08
SVM (kernel = poly)	0,74 $\pm$ 0,09
SVM (kernel = sigmoid)	0,8 $\pm$ 0,1

**Tabela 1:** Resultados dos algoritmos de ML

## CONCLUSÕES

Um modelo estrutural para a PfPI4K foi predito e validado com cálculos pLDDT e MD. O modelo de ML treinado a partir do banco de dados possibilitará a predição e descoberta de potenciais compostos líderes contra a malária.

## REFERÊNCIAS

[1] McNamara, C.W., et al. Nature, vol. 508, pp. 248–253, 2013.

## Avaliação do Modo de Interação dos Derivados Canabinoídes no Receptor 5-HT<sub>1A</sub>

Júlia Mendes Fortes Botelho Oliveira<sup>1</sup>, Raissa Alves da Conceição<sup>1</sup> e Alessandra Mendonça Teles de Souza<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ

### INTRODUÇÃO

A *Cannabis sativa* é utilizada há mais de 4.000A.C., onde a primeira evidência da planta foi descoberta na China [1], sendo utilizada para cultivo de fibras, para criar tecidos e papel, como também tinha aplicação medicinal, com indicações para dores reumáticas, constipação intestinal, malária, entre outros[2]. Com base nos efeitos centrais da *C. sativa*, como alívio de ansiedade e dor, um potencial alvo molecular para ação de derivados canabinoídes é o receptor de serotonina 5-HT<sub>1A</sub> [3].

### OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo avaliar o modo de interação dos dez principais derivados canabinoídes relatados na literatura com o receptor 5-HT<sub>1A</sub> por *docking* molecular, e realizar a análise da permeação da barreira hematoencefálica (BHE) e a glicoproteína-P.

### METODOLOGIA

A técnica de *docking* molecular foi realizada utilizando o programa GOLD. A proteína foi obtida a partir do Banco de Dados de Proteínas (PDB 7E2Z), e os ligantes foram extraídos do DrugBank. O preparo da proteína foi feito pelo servidor Playmolecule, e os ligantes utilizaram o programa Avogadro. O *docking* molecular foi realizado após o *redocking* com a função de pontuação CHEMPLP. As análises do modo de interação de cada canabinoíde com os aminoácidos da proteína foram realizadas nos programas PyMol e LigPLOT. As análises dos potenciais de permeação da BHE e substrato da glicoproteína-P foram feitas no programa ADMET Predictor<sup>TM</sup> v.11 e no servidor SwissADME.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir das análises *in silico*, foi possível prever que todos os derivados canabinoídes atravessam a BHE. Além disso, 9 compostos podem ficar retidos de acordo com o ADMET Predictor<sup>TM</sup> v.11, e 7 de acordo com o servidor SwissADME. Na análise pelo *docking* molecular, os derivados apresentaram valores de pontuação na faixa de 61,10-49,32 (CHEMPLP), comparável ao fármaco aripiprazol (69,34). Destacaram-se os canabinoídes CBC, DCBF, CBG, CBF e CBD devido às interações intermoleculares apresentadas, a exemplo do CBD que compartilhou ligações de hidrogênio com os resíduos ASP116 e TYR390, assim como o ligante original utilizado, aripiprazol.

### CONCLUSÕES

A partir das análises computacionais realizadas, avaliou-se a capacidade dos canabinoídes de maior relevância atravessarem a BHE para um efeito central. Além disso, os principais componentes do óleo de *Cannabis* tiveram o modo de interação com o receptor 5-HT<sub>1A</sub> elucidados.

### REFERÊNCIAS

- [1] Coelho, M. P. et al. The current role of cannabis and cannabinoids in health: A comprehensive review of their therapeutic potential. *Life Sci.*, 329, 121838, 2023.
- [2] Alsalamat, H. A. et al. Cannabis and cancer: unveiling the potential of a green ally in breast, colorectal, and prostate cancer. *J. Cannabis Res.*, 6, 24, 2024.
- [3] Martinez-Aguirre, C. et al. Cannabidiol Acts at 5-HT<sub>1A</sub> Receptors in the Human Brain: Relevance for Treating Temporal Lobe Epilepsy. *Front. Behav. Neurosci.*, 14, 2020.

# Estudo Conformacional de Proteases do HIV-1 Multirresistentes às Drogas: Abertura Assimétrica Revelada por Dinâmica Molecular

Larissa de Oliveira Bastos<sup>1,2</sup> e Mauricio Garcia de Souza Costa<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto Oswaldo Cruz/ Fundação Oswaldo Cruz – IOC/FIOCRUZ

<sup>2</sup>Programa de Computação Científica/ Fundação Oswaldo Cruz – PROCC/FIOCRUZ

## INTRODUÇÃO

O HIV/AIDS representa um desafio de saúde pública mundial, com a HAART e a ART sendo as estratégias predominantes no combate à pandemia. Os inibidores de protease são uma classe crucial de medicamentos usados nessas terapias, mirando a enzima protease do HIV, essencial para a maturação viral. A dinâmica das alças da protease, que regula a atividade do sítio ativo, é particularmente susceptível a mutações, representando um obstáculo para o desenvolvimento de novos inibidores. Neste estudo, realizamos simulações de 3  $\mu$ s para três variantes da PR: a forma selvagem, MDR-769 e PR20.

## OBJETIVOS

O objetivo foi avaliar o impacto das mutações na dinâmica das alças da enzima e no seu perfil conformacional.

## METODOLOGIA



## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste trabalho, ao revisarmos os parâmetros utilizados para simular as proteases por DM, encontramos

discordâncias acerca da análise estrutural das alças.

Dessa forma, levando em consideração a estrutura tridimensional da protease, propomos a medição da distância das alças a partir do cálculo da distância angular entre resíduos de cada cadeia.

$$\Delta\theta = |\theta_A - \theta_B| \quad (\text{Eq. 1})$$

O módulo da diferença da distância angular (eq. 1) nos permite evidenciar um estado ainda não descrito na literatura: a abertura assimétrica. Eventos de abertura assimétrica foram observados ao longo da dinâmica molecular das proteases MDR.

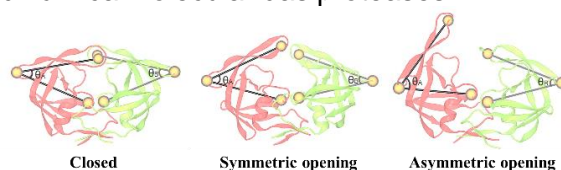


Fig. 1 – Descrição de estados conformacionais da protease. Fonte: Autores.

## CONCLUSÕES

A medida angular das alças da PR pode identificar conformações ainda não descritas na literatura. A correta descrição das características estruturais da protease pode elucidar possíveis padrões associados à resistência. Além disso, a descrição da protease ainda é uma questão em aberto, dadas as escalas de tempo necessárias para a correta descrição do equilíbrio conformacional. Ademais, métodos acoplados à dinâmica molecular clássica podem ajudar a resolver o problema da amostragem conformacional.

## REFERÊNCIAS



## Identificação e Caracterização de Sítios Alostéricos e Crípticos e Descoberta de Potenciais Inibidores Seletivos para SRPK2

Lucas Cecílio Vilar<sup>1</sup>, Mauricio Garcia de Souza Costa<sup>2</sup> e Rafaela Salgado Ferreira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG

<sup>2</sup>Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro – FIOCRUZ/RJ

### INTRODUÇÃO

Entre os principais grupos de doenças que necessitam de novos tratamentos estão as doenças tumorais. A cinase SRPK2 atua em funções-chave para o desenvolvimento de tumores e é um alvo para desenvolvimento de fármacos[1]. A superexpressão dessa proteína em diversos tipos de câncer já foi descrita[2]. No entanto, não há inibidores seletivos para esta enzima, em grande parte, devido a semelhança do sítio ativo com o de SRPK1. A busca por sítios alternativos é uma possibilidade para o desenvolvimento de inibidores seletivos de SRPK2.

### OBJETIVOS

Identificar e caracterizar possíveis sítios alostéricos e crípticos exclusivos em SRPK2 que permitam a descoberta de inibidores seletivos para essa proteína.

### METODOLOGIA

A estrutura utilizada no estudo foi gerada através de modelagem comparativa utilizando a ferramenta SwissModel. Como molde foi utilizada a estrutura obtida no *Protein Data Bank* sob o código 2X7G. Para a identificação de cavidades, foi realizada a investigação dos movimentos intrínsecos da enzima através da análise de modos normais, tanto na estrutura *apo*, quanto na estrutura *holo*, com a presença do ligante. Utilizaremos simulações por *umbrella sampling* para gerar conformações energeticamente relevantes. A busca por cavidades será realizada nas ferramentas FTMAP e PocketMiner. A estabilidade dos sítios será avaliada por dinâmica molecular em solvente bifásico. A busca por inibidores seletivos será realizada através do *software* DOCK6. A validação do protocolo de docking para o sítio ativo foi realizada ao

obter-se um RMSD  $< 2.0\text{Å}$  entre o ligante na estrutura cristalográfica e a pose gerada.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A validação do modelo gerado pelo SwissModel e estruturas *apo* e *holo* após minimização de energia foi realizada através das ferramentas PROCHECK, ERRAT e VERIFY-3D. Após a validação estrutural, o modelo *holo* minimizado foi selecionado para a validação do protocolo de *docking*. O *redocking* flexível obteve um RMSD de 1,56 Å. Análise dos modos normais mostrou que as flutuações por resíduos, considerando os 20 modos de mais baixa frequência, apresentaram uma alta similaridade tanto na estrutura *apo*, quanto *holo*, indicando que a presença do ligante não restringe, de maneira geral, os movimentos da proteína. A comparação dos modos gerados para ambas as estruturas revelou que os cinco modos de mais baixa frequência apresentaram um alto nível de similaridade, indicando uma preservação do movimento. Já os modos subsequentes, que descrevem movimentos mais localizados, apresentaram menor similaridade. Em seguida, haverá a seleção de estruturas para a busca por sítios únicos e será feita a triagem virtual no sítio ativo e nos sítios alternativos encontrados.

### CONCLUSÕES

Ao término do estudo, espera-se a identificação de sítios exclusivos em SRPK2, bem como de potenciais inibidores seletivos para esta cinase.

### REFERÊNCIAS

- [1] Jang, S.-W. et al. (2009). *Journal of Biological Chemistry*, 284, 24512–24525
- [2] Wang, J. et al. (2016). *Gene*, 586, 41–47

## Triagem Virtual Invertida Baseada na Estrutura do Receptor de Quinolinas com Potencial Atividade Leishmanicida

Marília C. da Silva<sup>1</sup>, Jéssika O. Viana<sup>1</sup>, Jayne M. S. Santos<sup>1</sup>, Elton J. F. Chaves<sup>1</sup>, Euzébio G. Barbosa<sup>2,3</sup>, Claudio G. Lima-Junior<sup>1</sup> e Karen C. Weber<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química, Universidade Federal da Paraíba – UFPB

<sup>2</sup>Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN

<sup>3</sup>Centro Multiusuário de Bioinformática, Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN

### INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma doença tropical negligenciada, sendo a forma visceral a mais severa [1]. Derivados quinolínicos têm demonstrado potencial terapêutico contra a leishmaniose, especialmente as ocorrências da doença causadas pelas espécies *Leishmania donovani* e *Leishmania infantum* [2]. No entanto, estudos baseados na estrutura do receptor para estes ligantes se encontram em seu estágio inicial na literatura. A maioria das investigações para identificar atividades biológicas desses compostos consistem em abordagens por tentativa e erro [3].

### OBJETIVOS

Identificar alvos moleculares de *L. donovani* para derivados quinolínicos por meio de simulações computacionais.

### METODOLOGIA

Uma triagem virtual invertida foi realizada por meio de docking molecular de um derivado quinolínicos com atividade biológica relatada na literatura, em uma base de dados contendo 23.000 estruturas cristalográficas, utilizando o Autodock Vina. Os dockings de uma série de 7 ligantes sintetizados por nossos colaboradores foram realizados no software GOLD, que demonstrou uma melhor reprodutibilidade da pose cristalográfica em testes de redocking. A curva ROC foi utilizada como parâmetro estatístico de validação. Simulações de dinâmica molecular foram realizadas para as enzimas LdNMT utilizando o programa Gromacs. Para estimar as energias livres dos sistemas foi

utilizado o software gmx\_MMPBSA.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Parte dos alvos melhor pontuados no docking foram específicos para *L. major*, com a enzima N-myristoyl transferase (NMT) sendo o principal alvo para esta espécie. Modelos farmacofóricos foram construídos para a LmNMT, considerando que a LdNMT e LmNMT compartilham 97.8% de identidade sequencial. O modelo baseado na estrutura de código PDB 2WSA apresentou o melhor resultado em termos estatísticos. As simulações de dinâmica molecular mostraram que os ligantes melhor pontuados apresentaram um RMSD menor que 2 Å, o que demonstra uma boa estabilidade dos complexos formados. Os resíduos Tyr217, Asn376 e Leu421, relatados na literatura como cruciais para *L. donovani*, formaram interações com os ligantes em estudo. Os resultados de MM/PBSA indicaram que dois compostos da série apresentam alta afinidade com a enzima LdNMT.

### CONCLUSÕES

Os resultados indicam a interação com a LdNMT como um possível mecanismo de ação para a série de quinolinas em estudo.

### REFERÊNCIAS

- [1] Hussain, H., et al., Chem. Rev. 114, 10369–10428, 2014.
- [2] Reynolds, A., et al., Mini Reviews in Medicinal Chemistry, 13, 730-743, 2013.
- [3] Abdelwahid, Mazin AS, et al. Journal of Chemistry, e2859637, 2019.

## Estudo do mecanismo de contração de bacteriocinas

Pedro Henrique Camargo Fischer<sup>1</sup>, Leticia M. S. Lery<sup>1</sup>, Paulo M. Bisch<sup>3</sup>, Paulo Ricardo Batista<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Instituto Oswaldo Cruz – Fiocruz - RJ, <sup>2</sup>Programa de Computação Científica - Fiocruz -RJ, <sup>3</sup>Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho - UFRJ

### INTRODUÇÃO

A resistência a antibióticos vem aumentando a um ritmo alarmante em todo o mundo, enquanto a descoberta de novos antibióticos está estagnada. Isto é ainda mais notável no caso das infecções causadas por bactérias Gram-negativas. Estas possuem uma membrana externa altamente impermeável, o que dificulta a entrada de várias classes de antibióticos, limitando opções terapêuticas, que são cada vez menos eficazes à medida que a resistência aos antibióticos existentes se espalha (1). Uma opção para o combate de bactérias resistentes vem sendo a utilização de proteínas denominadas bacteriocinas. Estas moléculas apresentam atividade microbida altamente específica, eliminando seletivamente cepas relacionadas às espécies produtoras (2). Bacteriocinas homólogas à cauda de bacteriófagos exercem sua ação por meio de um grande complexo macromolecular, que sofre uma drástica mudança conformacional. Esse processo envolve a contração da bainha externa, que acarreta na propulsão do tubo interno que perfura a membrana da célula-alvo, levando à sua morte.

### OBJETIVOS

Compreender os mecanismos moleculares envolvidos no processo de contração de bacteriocinas através de abordagens de modelagem molecular, predizendo a transição entre seus dois estados funcionais (pré e pós contração).

### METODOLOGIA

A análise de modos normais é um método computacional utilizado com grande sucesso para predição de mudanças conformacionais em proteínas (3). Os modos normais descrevem movimentos intrínsecos, frequentemente envolvidos nas funções biológicas das macromoléculas. Para simular a transição conformacional do complexo

macromolecular da bacteriocina é necessário o uso de técnicas avançadas de amostragem, uma vez que a dinâmica molecular (MD) convencional não é eficiente, pois este processo ocorre numa escala de tempo de milissegundos. Portanto, é necessário o uso de técnicas híbridas como a dinâmica molecular com modos normais excitados (MDeNM) (4). Esta técnica consiste em múltiplas réplicas de simulações curtas de MD, nas quais os movimentos descritos por um subconjunto de modos normais são cineticamente excitados. Isso permite o acoplamento eficiente entre movimentos lentos descritos pelos modos normais e os anarmônicos.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através de simulações preliminares usando um subconjunto da proteína da bainha, identificamos modos normais que descrevem a transição conformacional entre os estados pré e pós contração. Através de simulações multi-réplica de MDeNM, excitando especificamente estes modos, foi possível encontrar diversos caminhos prováveis que descrevem a transição entre os estados pré e pós contração da bainha.

### CONCLUSÕES

Através desse trabalho foi possível prever a mudança conformacional entre os estados pré e pós contração da bainha da bacteriocina. Como perspectiva, destacamos a realização de análises energéticas para avaliar esse processo.

### REFERÊNCIAS

- [1] DOI: [10.4137/PMC.S14459](https://doi.org/10.4137/PMC.S14459)
- [2] DOI: [10.1038/nrmicro1273](https://doi.org/10.1038/nrmicro1273)
- [3] DOI: [10.1093/protein/14.1.1](https://doi.org/10.1093/protein/14.1.1)
- [4] DOI: [10.1021/acs.jctc.5b00003](https://doi.org/10.1021/acs.jctc.5b00003)

## Estudo *In Silico* e *In Vitro* de Imidazotiazóis e Imidazopiridinas Seleniladas para o Tratamento de Cânceres

Sebastião da Silva Marcelino<sup>1</sup>, Jamal Rafique<sup>2</sup>, Sumbal Saba<sup>3</sup>, Fabiana Ourique da Silva<sup>1</sup> e Priscila Vanessa Zabala Capriles Goliatt<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF

<sup>2</sup>Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS

<sup>3</sup>Universidade Federal de Goiás – UFG

### INTRODUÇÃO

Segundo estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS) o câncer foi uma das principais causas de morte em 2019, emergindo como um grande desafio de saúde pública globalmente.<sup>[2]</sup>

Os imidazotiazóis e imidazopiridinas seleniladas representam importantes estratégias na química medicinal, devido a busca de moléculas contra os diferentes tipos de cânceres agressivos. Desta maneira, o núcleo imidazotiazol exhibe propriedades terapêuticas bem conhecidas, como antitumoral, fungicida, antiparasitária, antiviral, antibacteriana, antioxidante, entre outras.<sup>[1]</sup> Diante desse contexto, pesquisas com essa classe vêm sendo alvo para desenvolvimento de novos ligantes.

### OBJETIVOS

Construir computacionalmente os modelos tridimensionais (3D) da proteína alvo de interesse no tratamento de câncer para trabalhos futuros de *docking* molecular com compostos imidazotiazóis e imidazopiridinas seleniladas.

### METODOLOGIA

Para a previsão de possíveis alvos para os compostos imidazotiazólicos usamos os programas Way2Drug e SwissTarget. A seleção de *templates* para a construção dos modelos foi executada com auxílio dos sites UniProt e PDB, e ferramenta *Blastp*. Para a construção dos modelos, realizamos o alinhamento global de múltiplas sequências pelo Clustal Omega e a modelagem tridimensional das proteínas foi executada no Modeller (v10.5). Além disso, foram empregadas ferramentas para prever as

regiões de consenso de estrutura secundária (Quick2D, NetSurfP 3.0, PSIPRED, Jpred 4, PredictProtein, Frag1D) e de contatos (SVMcon e RFcon), além de predição de regiões de peptídeo sinal (SignalP3.0 e Phobius) e transmembrana (TMHMM).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da análise dos preditores *in silico*, o inibidor de tiorredoxina - enzima tiorredoxina redutase 1 citoplasmática (Q16881 - *Homo sapiens*) foi identificada como alvo promissor. Para esta proteína não foram identificadas regiões de peptídeo sinal nem regiões de transmembranas consideradas válidas.

O template 2J3N (Organismo: *Homo sapiens*; taxa de identidade: 98%; E-value: 0; região de cobertura: 10-519) foi selecionado juntamente ao template 8PDD (Organismo: *Schistosoma mansoni*; taxa de identidade: 56%; E-value: 1.206e-216; região de cobertura: 12-597) com o objetivo de aumentar a cobertura da modelagem comparativa.

### CONCLUSÕES

O modelo obtido com a adição de restrição de estruturas secundárias ainda apresenta regiões desestruturadas que estão em fase de análise e implementação de restrições de contato para a geração de novos modelos otimizados.

### REFERÊNCIAS

[\[Acesso às Referências Científicas\]](#)

## Modelagem Estrutural e Avaliação da Interação Molecular entre as Proteínas Ras e Plexina de *Hartaetosiga balthica*

Adriana da Silva Barbosa<sup>1</sup>, Matheus José Novais Landim<sup>1</sup>, Chrystian Junqueira Alves<sup>2</sup>, Roland H Friedel<sup>2</sup> e Priscila V. Z. C. Goliatt<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF, Juiz de Fora/BRA

<sup>1</sup>Friedman Brain Institute - Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York/USA

### INTRODUÇÃO

A superfamília RAS é um grupo de proteínas GTPases essenciais que funcionam como interruptores moleculares na regulação de várias vias de sinalização celular, influenciando processos como proliferação celular e diferenciação. Este estudo explora as características estruturais e interações das proteínas Ras e Plexina de *Hartaetosiga balthica*, com foco em modelagem e *docking* molecular.

### OBJETIVOS

Examinar as estruturas e interações das proteínas Ras e Plexina de *H. balthica*, incluindo predição de estrutura tridimensional (3D), identificação de regiões de interação, *docking* molecular, modificação pós-traducional e interação com membrana.

### METODOLOGIA

A predição da estrutura secundária e análise de regiões transmembranares foram realizadas com PORTER, Jpred, TMHMM e HMMTOP. Os modelos 3D das proteínas foram gerados utilizando o Modeller v.10.5 e otimizados utilizando o SwissPDBviewer. A escolha dos melhores modelos foi baseada nos parâmetros fornecidos pelo DOPEscore, Molprobit, Procheck e MOLPDF. Simulações de *docking* molecular foram realizadas com HawkDock, HDock e CLUSPRO, sendo CLUSPRO o mais eficaz em termos de energia e qualidade da interação. A prenicação da proteína Ras foi realizada utilizando o CHARMM-GUI. O modelo de interação com membrana também utilizou o CHARMM-GUI. O perfil eletrostático foi gerado utilizando os servidores PDB2PQR e APBS.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O servidor CLUSPRO revelou uma energia central de -1285,0 kcal/mol e a menor energia de interação de -1510,8 kcal/mol para a proteína Ras e a Plexina, obtidas dos clusters que destacam as conformações com menores energias médias para a interação proteína-proteína. A avaliação dos modos de interação foi realizada via PyMOL, confirmando a eficiência da modelagem 3D e dos resultados de *docking* obtidos.

### CONCLUSÕES

Os resultados *in silico* ajudaram a elucidar o modo e intensidade das interações entre as proteínas Ras e Plexina de *H. balthica* auxiliando no direcionamento de ensaios experimentais. Mais estudos estão em andamento para aprofundar a compreensão dessas interações em outras proteínas da superfamília RAS.

### REFERÊNCIAS

- [1]K. Wennerberg, K. L. Rossman, and C. J. Der, "A superfamília Ras em resumo," *Ciência Celular*, vol. 118, no. 5, pp. 843–846, Mar. 2005.
- [2]C. J. Alves, J. S. Ladeira, T. Hannah, R. J. P. Dias, P. V. Z. Capriles, K. Yotoko, H. Zou, and R. H. Friedel, "Evolução e diversidade de semaforinas e plexinas em coanoflagelados," *Genome Biol. Evol.*, vol. 13, no. 2, evab035, Feb. 2021.
- [3]J. Colicelli, "Human RAS Superfamily Proteins and Related GTPases," *Sci. STKE*, vol. 2004, no. 250, RE13, Sep. 2004.
- [4]D. Kozakov, D. Beglov, T. Bohnuud, S. Mottarella, B. Xia, D. R. Hall, e S. Vajda, "Quão bom é o encaixe automatizado de proteínas?" *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, vol. 81, no. 12, pp. 2159–2166, Dez. 2013.

- [5]P.Bandaru, N.H. Shah, M. Bhattacharyya, J. P. Barton, Y. Kondo, J. C. Cofsky, C. L. Gee, A.K.Chakraborty, T. Kortemme, R. Ranganathan, and J.Kuriyan, “Desconstrução do ciclo de comutação Ras através de mutagênese de saturação,” *eLife*, vol. 6, e27810, Jul. 2017.
- [6]Y. Wang, H. G. Pascoe, C. A. Brautigam, H. Ele, and X. Zhang, “Base estrutural para ativação e catálise não canônica do domínio da proteína ativadora da Rap GTPase da plexina,” *eLife*, vol. 2, e01279, Oct. 2013.
- [7]T. Magee and C. Marshall, “New Insights into the Interaction of Ras with the Plasma Membrane,” *Cell*, vol. 98, no. 1, pp. 9–12, Jul.1999.doi:0.1016/S0092-8674(00)80601-7.
- [8]Y. Zhou, P. Prakash, A. A. Gorfe, and J. F. Hancock, “Ras e a membrana plasmática: uma relação complicada,” *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, vol. 8, no. 10, a031831, Oct. 2018. doi: 10.1101/cshperspect.a031831.
- [9]J. F. Hancock and R. G. Parton, “Plataformas de sinalização da membrana plasmática Ras,” *Biochem. J.*, vol. 389, Pt 1, pp. 1–11, Jul. 2005. doi: 10.1042/BJ20050231.
- [10]I. M. Ahearn, K. Haigis, D. Bar-Sagi, and M. R. Philips, “Regulando o Regulador: Modificação Pós-Traducional de Ras,” *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, vol. 13, no. 1, pp. 1–15, Jan. 2012. doi: 10.1038/nrm3255.
- [12]Frente. Mol. Biosci., vol. 8, p. 673096, Jun. 2021. doi: 10.3389/fmolb.2021.673096
- [13]Modelagem de complexos proteína-proteína e proteína-peptídeo: CAPRI 6ª edição., Lensink MF, Velankar S, Wodak SJ. *Proteínas*. 85:359-3778 (2017).

## "Desenvolvimento De Conjuntos De Teste $\beta$ CD-Ligante E Avaliação Usando DockThor"

Juliana do Nascimento Amaral<sup>1</sup>, Letícia Cristina de Assis<sup>2</sup>, Isabella Alvim Guedes e Laurent Emmanuel Dardenne<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório Nacional de Computação Científica – LNCC

### INTRODUÇÃO

O programa DockThor foi desenvolvido pelo Grupo de GMMSB/LNCC para ancorar ligantes altamente flexíveis em receptores proteicos rígidos. Ele utiliza um algoritmo genético de solução múltipla e a função de pontuação MMFF94S para prever poses, além de classificar afinidades com a função *DockTScore*<sup>1</sup>. Avaliamos seu desempenho na predição do modo de ligação em um conjunto de teste de complexos de beta ciclodextrina-ligante ( $\beta$ CD-ligante), uma vez que as CDs são oligossacarídeos de grande interesse científico. Elas melhoram a solubilidade e a biodisponibilidade de medicamentos, além de reduzir a resistência e facilitar a penetração dos fármacos em tecidos<sup>2</sup>.

### OBJETIVOS

Desenvolver um conjunto de teste contendo complexos de  $\beta$ -CD-ligante e testá-lo por meio de ancoramento molecular, usando o programa DockThor.

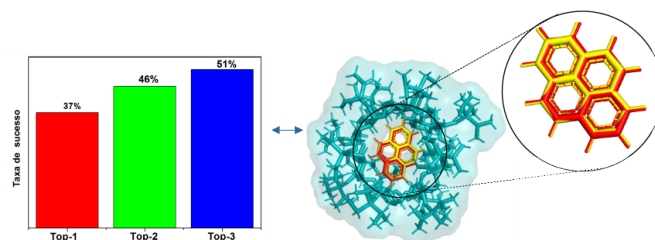
### METODOLOGIA

O conjunto "cdCSD2023" obtido do *Cambridge Structural Database*, possui 135 estruturas 3D de complexos de CD-ligantes. O CSD fornece detalhes cristalográficos e experimentais dos complexos, como valores pH, temperatura e entalpia. O foco foi na  $\beta$ CD, composta por 7 unidades de glicose. E os experimentos incluiu<sup>3</sup>: (i) Remoção de íons, moléculas metálicas incompatíveis com o DockThor, além de moléculas de água não participantes do complexo. (ii) Manutenção dos estados de protonação dos ligantes e receptores conforme o pH experimental (pH = 7, se não especificado). (iii) Avaliação do modo de ligação dos CD-ligantes pelo DockThor,

baseando-se em poses com rmsd mínimo ( $\geq 2,0$  Å) durante o reancoramento.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a filtragem, o "cdCSD2023" foi reduzido para 95 complexos. E, o DockThor obteve um desempenho de 50% de acertos no Top-3, com 37% de acertos no Top-1, como podemos observar na figura abaixo.



**Figura 1:** Taxa de acertos (%) para o programa DockThor (rmsd  $\geq 2,0$  Å) e complexo CD-ligante (**ABUTEY-CSD**).

### CONCLUSÕES

O conjunto de teste "cdCSD2023" é promissor, uma vez que obtivemos um resultado satisfatório usando o programa DockThor.

### REFERÊNCIAS

- [1] I.A.Guedes, et. al. "DockThor-VS: A Free Platform for Receptor-Ligand Virtual Screening," *J. Mol. Biol.*, pp. 168548, Mar. **2024**.
- [2] F. ALSHATI, et al. "Guest-host relationship of cyclodextrin and its pharmacological benefits". *Curr. Pharm. Des* v. 29, no. 36., Out. **2023**.
- [3] Q.Zhao, et al."Predicting complexation performance between cyclodextrins and guest molecules by integrated machine learning and molecular modeling techniques. *Acta Pharm. Sin. B* 9, pp. 1241–1252, Nov. **2019**

# Comparação Computacional e Experimental entre a Protease Romboide Mitochondrial Pcp1 em *Sacharomyces cerevisiae* e a Protease Romboide GlpG em *Escherichia coli*

Pammella Teixeira de Paula<sup>1</sup>, Lucas Bleicher<sup>1</sup> e Erich Tahara<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG

## INTRODUÇÃO

Proteases romboides fazem parte de uma superfamília de proteínas transmembrana envolvidas em inúmeras atividades biológicas relevantes. Essa superfamília é dividida em quatro grupos: o grupo das serino proteases, que apresentam atividade catalítica; e outros três grupos que não apresentam atividade catalítica. As funções e informações estruturais dessas proteínas são estudadas, majoritariamente, em *E. coli*, o que torna interessante o estudo sobre as proteases romboides em eucariotos, que possibilite traçar um paralelo comparativo observando a função, a estrutura e a evolução dessa superfamília. Entre as serino proteases, romboides com atividade catalítica, está a classe das romboides mitocondriais que são encontradas em todos os eucariotos e estão localizadas na membrana interna da mitocôndria. Em leveduras, que é o foco desse estudo, essa enzima é conhecida por PCP1 (processing of cytochrome c peroxidase protein 1).

## OBJETIVOS

Diante disso, esse estudo busca, a partir de dados computacionais e experimentais, comparar as proteases romboides em *E. coli* e em *S. cerevisiae*.

## METODOLOGIA

Para a comparação a partir de dados computacionais, as sequências foram obtidas no software Uniprot, usando o parâmetro UniRef90 para minimizar redundâncias e os alinhamentos foram feitos com o software Pfstats. Desses dados extraiu-se informações sobre as posições em que há conservação de grupos de resíduos com importância estrutural e funcional. Já na comparação com dados

experimentais, foi feita a amplificação dos genes que codificam a proteína PCP1 via PCR, e posterior transformação das leveduras e separação em grupos que serão comparados via spot test. Os grupos experimentais serão formados por um grupo wild type (com a proteína original) e grupos de mutantes (com a proteína com mutação quanto aos resíduos de interesse). Os grupos também serão submetidos a diferentes meios de cultura em que realizarão respiração ou fermentação em seu metabolismo.

## CONCLUSÕES

Com essas duas abordagens, será possível observar se os dados fenotípicos corroboram com os dados estruturais observados *in silico* e comparar com os estudos já publicados sobre *E. coli*, ampliando as informações sobre a superfamília das romboides, tão amplamente distribuída taxonomicamente.

## REFERÊNCIAS

Fonseca-Júnior, N. J., Afonso, M. Q., Oliveira, L. C., & Bleicher, L. (2018). PFstats: a network-based open tool for protein family analysis. *Journal of Computational Biology*, 25(5), 480-486.

Freeman, M. (2014). The rhomboid-like superfamily: molecular mechanisms and biological roles. *Annual review of cell and developmental biology*, 30, 235-254.

Lemberg, M. K. (2013). Sampling the membrane: function of rhomboid-family proteins. *Trends in Cell Biology*, 23(5), 210-217.

# Estudo de Docking Molecular de Constituintes da Croton *Heliotropiifolius* Kunth com Potencial Ação Anticonvulsivante

Maria Elane S. da Cunha<sup>1</sup>, Evandro Paulo S. Martins<sup>2</sup> e Ricardo M. Ramos<sup>3</sup>

<sup>1,2</sup>Universidade Estadual do Piauí – UESPI

<sup>3</sup>Instituto Federal do Piauí – IFPI

## INTRODUÇÃO

Nas crises epiléticas a ativação de receptores GABA A aumenta a ação do neurotransmissor inibitório GABA nos receptores diminuindo a intensidade das crises epiléticas, tornando-se assim alvo de muitos medicamentos de origem natural por apresentarem menos efeitos colaterais que os sintéticos. Espécies como a Croton *heliotropiifolius* Kunt [1] possuem compostos que já foram descritos por apresentarem ação anticonvulsivante. No planejamento de fármacos, abordagens *in silico* o docking molecular tem-se mostrando eficiente, além de otimizar o tempo na obtenção de resultados.

## OBJETIVOS

Realizar estudo de docking molecular de 33 compostos presentes no óleo essencial das folhas da Croton com o receptor GABA A buscando possíveis agentes anticonvulsivante.

## METODOLOGIA

A estrutura do receptor GABA A (PDB ID:6X3X) foi obtida do banco de dados RCSB e isolado os sítios de ligação dos benzodiazepínicos (BZDs). Realizou-se redocking com o ligante cristalográfico (diazepam) para validação do método (RMSD= 0,41 (DE), 0,46 (CD), 0,74 (AB) e 0,39 Å (AE). As estruturas 3D dos ligantes foram obtidas no PubChem e otimizadas usando DFT/B3LYP/6-311++G(d,p) em água. Para o docking molecular utilizou-se softwares do pacote AutoDockTools.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados indicam que os sesquiterpenos possuem maior afinidade pelos sítios DE, CD e AB do receptor, Tab. 1 quando comparados com os monoterpenos

presentes no óleo (-5.7 a -8.0 kcal/mol), possuindo afinidade similar pelo sítio padrão do medicamento controle diazepam, DE.

Tabela 1: afinidade de interação dos compostos pelos sítios do BZDs nas cadeias do GABA A.

Compostos	Afinidade (kcal/mol)			
	DE	CD	AB	AE
$\alpha$ -bulneseno	-10.0	-8.2	-8.7	-7.5
$\delta$ -cadineno	-9.7	-9.0	-8.8	-8.1
iso-espatulenol	-9.2	-6.9	-7.0	-7.7
$\beta$ -bourboneno	-9.2	-7.6	-8.0	-7.4
germacreno D	-9.1	-8.2	-8.3	-6.5
guaiadieno	-9.1	-8.7	-8.7	-7.6
diazepam	-10.3	-9.7	-9.5	-8.7

Fonte: Autor (2024)

Além disso, interagem com o resíduo de aminoácido HIS102, que é descrito por ser crucial para a atividade anticonvulsivante dos BZDs [2]. O que sugere que esses compostos podem ter atividade similar ao medicamento padrão.

## CONCLUSÕES

Com base no estudo de docking realizado, os sesquiterpenos apresentaram altas afinidades pelos sítios ativos dos BZDs presentes no GABA A e interagindo com o resíduo de HIS102, podendo ser assim uma alternativa eficaz na busca por novos medicamentos anticonvulsivantes.

## REFERÊNCIAS

- [1] R. B. Marques *et al.*, "Pharmacokinetic and toxicological prediction of the chemical constituents of the essential oil of the leaves of Croton heliotropiifolius Kunth," *J. Toxicol. Environ. Heal. - Part A Curr. Issues*, 2023.
- [2] H. A. Wieland, H. Lüddens, and P. H. Seeburg, "A single histidine in GABAA receptors is essential for benzodiazepine agonist binding," *J. Biol. Chem.*, vol. 267, no. 3, pp. 1426–1429, 1992.

## Evaluation of an encapsulated pharmacophore for drug delivery purposes using molecular dynamic simulation

Renata Maria Silva Teixeira<sup>1</sup>, Othávio Rodrigues Reis<sup>1</sup>, Richard Gabriel Freitas Guedes<sup>2</sup>, Antonio Eduardo da Hora Machado<sup>2</sup>, Guedmiller Souza de Oliveira<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Biotechnology, Federal University of Uberlândia – UFU*

<sup>2</sup>*Institute of Chemistry, Federal University of Uberlândia – UFU*

### INTRODUCTION

The present study aims to evaluate three distinct drug delivery systems (DDSs), using 3-(ethoxycarbonyl)-2H-benzo[f][1]benzopyran-2-one (ECB-BFP) as a target. The ECB-BFP has a potential to be an anticancer drug pharmacophore in which its molecular structure was modeled within a capsule formed by two  $\beta$ -Cyclodextrins ( $\beta$ -CDs) for molecular dynamic (MD) simulation-based studies.

### OBJECTIVES

This research pursued to evaluate the molecular structure of the drug ECB-BFP encapsulated and structurally modified for drug delivery purposes.

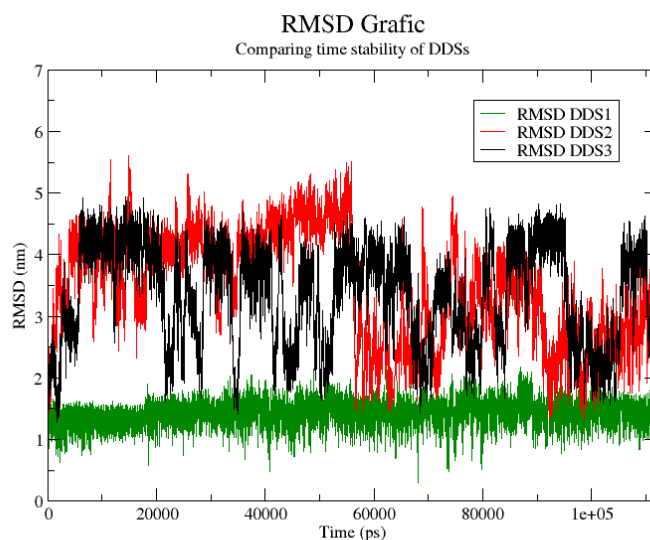
### METHODS

The NAMD 2.0 program was used for the minimization, thermalization, equilibration, and production of molecular dynamic trajectories aimed at simulating three Drug Delivery systems solvated with the encapsulation of the drug ECB-BFP. All were simulated using the CHARMM27 force field. Results from calculations of total energy, hydrogen bonds, and RMSD were performed and evaluated.

### RESULTS AND DISCUSSION

RMSD was calculated to assess the structural stability of the three systems. DDS1 achieved stability around 1-2 nm, while DDS2 exhibited significant fluctuations ranging from 1-6 nm. DDS3 also showed an initial increase in RMSD, with fluctuations ranging from 1 to 5 nm, but it was more stable than DDS2. The average number of hydrogen bonds and the average total energy were calculated and showed that the hydrophobicity of the drug in the system

follows the order: DDS2 > DDS3 > DDS1, as well as its energetic favorability: DDS2 > DDS3 > DDS1.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

### CONCLUSION

The inclusion of hydroxyl groups in the DDS3 system improved hydrogen bond formation and system solubility, crucial for drug delivery and therapeutic efficacy. Structural stability was crucial to ensure controlled drug release, reducing side effects. It is concluded that DDS3 represents the best combination of stability, solubility, and specificity, standing out as the most promising drug delivery system among those analyzed.

### REFERENCES

[1] Anjali Koli, M.; Fogolari, F. Exploring the role of cyclodextrins as a cholesterol scavenger: a molecular dynamics investigation of conformational changes and thermodynamics. *Scientific Reports*, v. 13, art. 21765, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-49217>

## Estudo *In Silico* da Interação do CO<sub>2</sub> com Superfícies de TiO<sub>2</sub> (001) Anatase

GUEDES, R. G. F.<sup>1</sup>; FRANCA, E. F.<sup>1</sup>; MIGUEL, G. F. S.<sup>2</sup>; TEIXEIRA, R. M. S.<sup>1</sup>; REIS, O. R.<sup>1</sup>; MACHADO, A. E. H.<sup>1</sup>; OLIVEIRA, G. S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Uberlândia – Laboratório de Cristalografia e Química Computacional (LCQC)

<sup>2</sup>Universidade Federal do Espírito Santo – Laboratório de Computação de Alto Desempenho (LCAD)

### INTRODUÇÃO

Por meio de recursos computacionais atrelados a métodos matemáticos baseados na mecânica quântica, é possível obter informações valiosas para a compreensão do comportamento do CO<sub>2</sub> em diferentes materiais. Dentre eles, o dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) vem sendo investigado há muito tempo, demonstrando ser um material promissor para adsorção do CO<sub>2</sub> devido às suas propriedades fotocatalíticas. Nesse contexto, esta pesquisa visa investigar a interação do CO<sub>2</sub> em superfícies de TiO<sub>2</sub> (001) anatase dopadas com metais de transição. Utilizou-se o pacote Quantum ESPRESSO (QE) e Extended Tight Binding (XTB) para o estudo *in silico*.

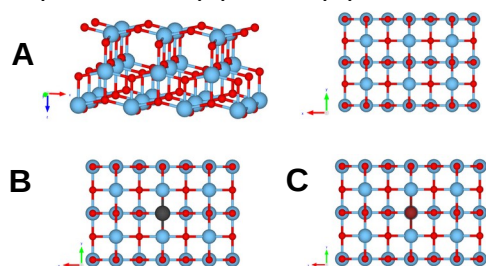
### OBJETIVOS

Avaliar as propriedades eletrônicas do TiO<sub>2</sub> anatase (001) dopado com diferentes metais de transição, visando entender o mecanismo de interação do CO<sub>2</sub> com tais superfícies modificadas.

### METODOLOGIA

Inicialmente, foram elaboradas superfícies de TiO<sub>2</sub> (001) anatase.

Figura 1 – (A) Superfície de TiO<sub>2</sub> (001) anatase e suas respectivas estruturas dopadas com (B) lítio e (C) cobre.



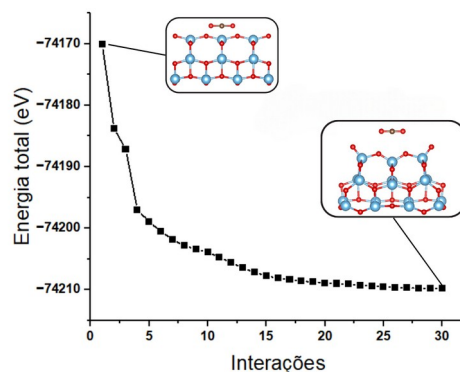
Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

A metodologia é baseada na Teoria do Funcional da Densidade (DFT). Para isso, o pacote QE foi utilizado para calcular a densidade eletrônica do sistema e para realizar a otimização geométrica por meio do Campo Autoconsistente (Self Consistent Field – SCF).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados preliminares indicam que a faceta (001) anatásica, sem modificações, não provocou quaisquer alterações significativas na molécula de CO<sub>2</sub>. Isso pode ser observado ao longo dos ciclos de interação do SCF, em que o CO<sub>2</sub> se afasta da superfície.

Figura 2 – Variação da energia total em função dos ciclos de interação calculados pelo SCF.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

### CONCLUSÕES

Portanto, a superfície de TiO<sub>2</sub> (001) anatase demonstrou não ser eficaz para a adsorção do CO<sub>2</sub>. As superfícies dopadas estão sendo calculadas a fim de ativar o TiO<sub>2</sub> para finalidades de adsorção.

### REFERÊNCIAS

[1] ZAVATSKI, S. Density functional theory for doped TiO<sub>2</sub>: current research strategies and advancements.

## Predição de sinergia de Peptídeos Antimicrobianos com outros agentes usando aprendizagem de máquina supervisionado

Alex F. Sanchez Yumbo<sup>1</sup>, Thiago Souza<sup>1</sup>, Isabella Alvim Guedes<sup>2</sup>, Laurent Emmanuel Dardenne<sup>2</sup> e Marisa Fabiana Nicolás<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Bioinformática, Laboratório Nacional de Computação Científica – LNCC

<sup>2</sup>Grupo de Modelagem Molecular de Sistemas Biológicos, Laboratório Nacional de Computação Científica – LNCC

### INTRODUÇÃO

A combinação de dois ou mais agentes antimicrobianos com efeito sinérgico promete exercer um efeito potenciado para combater a resistência antimicrobiana (AMR) [1]. Este efeito potencializa o efeito antimicrobiano, reduzindo o risco de gerar resistência. No entanto, uma validação experimental consome muitos recursos devido à abundância de combinações possíveis. Ferramentas de inteligência artificial podem identificar combinações novas e promissoras com base no conhecimento existente.

Neste estudo, exploramos o potencial sinérgico entre péptidos antimicrobianos (AMP) e antibióticos convencionais.

### OBJETIVO

Treinar um modelo de aprendizado de máquina supervisionado para prever se uma combinação AMP-antibiótico é sinérgica.

### METODOLOGIA

Os dados de combinações AMP-antibiótico foram recuperados de DBAASP. Recuperamos propriedades físico químicas e a sequência primária dos AMPs, e o Índice de Concentração Inibitória Fracionária (FICI) como medida de sinergia. As propriedades dos antibióticos foram tomadas do DrugBank [<https://www.drugbank.com/datasets>].

As features textuais, como a sequência, foram codificadas usando OHE [2]. Usamos o PCA para a redução da correlação das features ( $n = 75$ ). Os dados foram divididos em uma proporção de 80% de treinamento e 20% de validação. O valor de FICI se tomou como objetivo, tendo como combinação sinérgica um  $FICI < 0.5$ .

O modelo Light Gradient Boosting Machine Classifier foi treinado usando a validação

cruzada k-fold com  $k=5$ , com a variação dos hiperparâmetros.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o processo de treinamento, o modelo alcançou uma precisão de 80%, com um erro de validação cruzada de 4%. Na fase de teste, o modelo alcançou um desempenho de 77%. Estudos anteriores relataram precisões de 77,76% e 75,75% no treinamento e no teste, respectivamente [2]. Os modelos apresentaram melhor desempenho em relação aos publicados anteriormente. No entanto, a abordagem usada, especialmente a análise de PCA, cria novos features a partir dos existentes, formando combinações lineares. Esses features não correlacionados melhoram o desempenho, mas comprometem a interpretabilidade dos modelos.

### CONCLUSÕES

Na adição das sequências dos aminoácidos dos AMPs, normalização e PCA permitiram melhorar o desempenho dos modelos de classificação, embora a interpretação desses modelos continue desafiadora. Os próximos passos deste estudo envolvem a integração de informação estrutural dos compostos antimicrobianos como dados de treinamento, o uso de modelos de regressão em lugar de classificação, assim como uma análise de ruas metabólicas para priorizar potenciais combinações.

### REFERÊNCIAS

- [1] M. Tyers, "Drug combinations: a strategy to extend the life of antibiotics in the 21st century," *Nature Rev. MBio*. vol. 17, no. 3, pp. 141–155, Mar. 2019.
- [2] B. Olcay, "Prediction of the synergistic effect of antimicrobial peptides and antimicrobial agents via supervised machine learning," *BMC Biomedical Engineering*. vol. 6, no. 1. Jan. 2024

# Computational Modeling of Vasoactive Intestinal Peptide Binding to Receptor Variants VPAC1 and VPAC2

Matheus Henrique Reis<sup>1,3</sup>, Deborah Antunes<sup>1,2</sup> e Ernesto Raul Caffarena<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Instituto Oswaldo Cruz. Fundação Oswaldo Cruz – Fiocruz

<sup>2</sup> Laboratório de Genômica Aplicada e Bioinovações. Fundação Oswaldo Cruz - Fiocruz

<sup>3</sup> Programa de Computação Científica. Fundação Oswaldo Cruz - Fiocruz

## INTRODUCTION

Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) is a 28-amino acid neuropeptide belonging to the glucagon/secretin superfamily. VIP is widely distributed throughout the human body and mediates diverse biological functions, including anti-inflammatory and immunoregulatory roles in the immune system. Owing to these properties, VIP has been investigated for its potential therapeutic applications against viral infections such as HIV-1 and SARS-CoV-2. The biological functions of VIP are primarily transduced through three class B G protein-coupled receptors (GPCRs): VPAC1, VPAC2, and PAC1. These receptors exhibit genetic variants, and alterations in the GPCR structure can significantly affect ligand binding, G protein coupling, and downstream signaling.

## OBJECTIVES

The aim of this study was to predict the structural characteristics of the variants and investigate their VIP binding profiles in the VPAC1 and VPAC2 receptors, as these are specific receptors for the peptide.

## METHODOLOGY

The structural models were constructed using AlphaFold2 through ChimeraX software. The systems were prepared using CHARMM-GUI server and the protonation states assigned with PDB2PQR server. The Amber22 package was used to run 4-replicas simulations of 250 ns for each variant system. Trajectories were analyzed using the Gromacs package.

## RESULTS AND DISCUSSION

Our analyses revealed that isoform 2 of the VPAC2 receptor lacks a folded extracellular

domain owing to a complete structural disorder. Furthermore, we identified specific mutations that affected the presence of critical cysteine residues, which can destabilize the extracellular domain and modulate VIP binding affinity across VPAC1 variants. In addition, VIP tilt angles in VPAC1 variants can affect the interaction of the peptide's central residues with the extracellular loop 1 of receptor variants and binding affinity.

## CONCLUSIONS

These findings provide a comprehensive understanding of the structural and dynamic determinants governing VIP-receptor interactions, which can inform the rational design of novel therapeutics targeting these receptor systems.

## REFERENCES

- [1] Liao, C. et. al., (2021). Molecular Basis of Class B GPCR Selectivity for the Neuropeptides PACAP and VIP. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 8.
- [2] A. Couvineau et. Al., (1994). Human Intestinal VIP Receptor: Cloning and Functional Expression of Two cDNA Encoding Proteins with Different N-Terminal Domains. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 200(2), 769-776.

# Estudo de Docking Molecular para Investigar o Modo de Ligação de Complexos de Cobre(II) como Potenciais Inibidores da Tio redoxina Redutase

Suellen dos Reis<sup>1</sup>, Karin da Silva Caumo<sup>2</sup> e Lílian Sibelle Campos Bernardes<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Química Farmacêutica Medicinal, Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina

<sup>2</sup>Laboratório de Investigação Aplicada a Protozoários Emergentes, Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina

## INTRODUÇÃO

A ceratite por *Acanthamoeba* é uma inflamação da córnea rara e severa e surge como uma das principais causas de opacidade ocular e cegueira em todo o mundo. Atualmente, os protocolos de tratamento permanecem ineficazes, com altas taxas de toxicidade e longo tempo<sup>1</sup>. Ainda, o processo de desenvolvimento de fármacos permanece sendo longo, caro e complexo. Para otimizar este processo, diversas estratégias de estudos computacionais são aplicadas, como o estudo de docking molecular. Neste sentido, a enzima tio redoxina redutase (TrxR), a qual possui o cofator FAD e o agente redutor NADPH, tem sido empregada como um alvo molecular promissor na busca de novos fármacos para o tratamento de ceratite, devido a sua participação em diversas vias antioxidantes do parasito. Os compostos de coordenação CC01 e CC02 apresentaram atividade anti acanthamoeba promissora ( $9,4 \pm 1,9 \mu\text{M}$  e  $8,3 \pm 1,1 \mu\text{M}$ )<sup>2</sup>, respectivamente. Portanto, é de grande interesse do grupo de pesquisa, o estudo de docking molecular utilizando a região de ligação do cofator FAD.

## OBJETIVO

Explorar o sítio de ligação da enzima TrxR na região do cofator FAD por abordagem computacional de docking molecular empregando complexos de cobre (II) com atividade anti acanthamoeba.

## METODOLOGIA

Os estudos de *docking* molecular foram conduzidos no programa GOLD (versão

2024.0). Os ligantes foram desenhados no programa Chemdraw e otimizados nos programas DS Visualizer e Avogadro. Foram empregados os compostos de coordenação CC01 e CC02 e 3 fragmentos destes compostos. O cristal da enzima tio redoxina redutase utilizada é correspondente ao organismo *Plasmodium falciparum* (PBD 4J56) com identidade de 47,51% comparada a TrxR de *Acanthamoeba* spp.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As poses de melhor colocação permitiram a ocupação da cavidade próxima ao cofator, impedindo a aproximação do NADPH, bloqueando a troca eletrônica fundamental à redução do substrato. As principais interações realizadas nesta região foram com os aminoácidos Tyr232, Ile314, Arg316, Val362, Leu365, Glu364, Pro363, Lys338, Asn361, Val362, Ile393 e Ala405.

## CONCLUSÕES

Os estudos computacionais permitiram explorar o modo de interação dos compostos coordenados na enzima TrxR e trazer perspectivas sobre o mecanismo de ação na enzima TrxR de *Acanthamoeba*.

## REFERÊNCIAS

- [1] Leitsch et al., "An unusual thio redoxin system in the facultative parasite *Acanthamoeba castellanii*" *Cellular and Molecular Life Sciences*, vol. 78, pp. 3673–3689. 2021.
- [2] Silveira et al. "Anti-Acanthamoeba metallopharmaceuticals: Amoebicidal activity and synergistic effect of copper(II) coordination compound" *Biometals*, 2024.

## Caracterização computacional do mecanismo de ação das HIUases

Paulo Henrique Gomes dos Santos<sup>1</sup>, Lucas Bleicher<sup>1</sup> e José Fernando Ruggiero Bachega<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG

<sup>2</sup>Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre – UFCSPA

### INTRODUÇÃO

Nos EUA, Hipertensão e problemas cardiovasculares são uma das principais causas de morte anuais (WATANABE et al., 2002) e no Brasil cerca de 388 pessoas morrem por dia devido a complicações desencadeadas pela hipertensão (“Relatório lançado pela OMS detalha o impacto devastador da hipertensão e as formas de combatê-la”, [s.d.]). Isto se dá principalmente pela condição de Hiperuricemia, consequência do silenciamento da via de degradação do ácido úrico. Contudo, por que a evolução silenciaria genes que podem acarretar tais comorbidades? A hipertensão e as doenças cardiovasculares são consequências de hábitos alimentares modernos, causados pela dieta baseada em alimentos industrializados e o excesso de sódio (WATANABE et al., 2002). As principais hipóteses apontam que as mutações nesta via metabólica aconteceram no mioceno, e que a alimentação dos nossos ancestrais, baseada em frutas e baixa quantidade de sódio, propiciou o silenciamento deste gene (KRATZER et al., 2014; WATANABE et al., 2002). Sabendo disso, neste trabalho propomos investigar a bioquímica estrutural de uma proteína envolvida na degradação de intermediários dessa via metabólica. Vale ressaltar que já existem também iniciativas para utilizar enzimas da via das purinas como tratamento da gota, como, por exemplo, uricases (Li Z. et al, 2023; Lily T. et al, 2023 ).

### OBJETIVOS

Investigar o mecanismo de reação da enzima HIUase utilizando métodos híbridos QM/MM de simulação a fim de obter as barreiras de energia livre das etapas da reação química. Pretendemos comparar os valores calculados com os valores experimentais da HIUase de

*Klebsciella pneumoniae* obtidos através de ensaios enzimáticos.

### METODOLOGIA

A estrutura cristalográfica da HIUase de *Klebsiella pneumoniae* será obtida pelo banco de dados PDB através do código 3QVA. A partir desta estrutura estudaremos o complexo proteína-substrato, HIUase-5HIU. Para investigar o mecanismo de reação, iremos utilizar a interface gráfica EasyHybrid (BACHEGA et al., 2013) integrada ao software de simulação molecular pDynamo (FIELD, 2008) para realizar cálculos utilizando um hamiltoniano híbrido QM/MM.

### REFERÊNCIAS

[WATANABE, S. et al. Uric Acid, Hominoid Evolution, and the Pathogenesis of Salt-Sensitivity. *Hypertension*, v. 40, n. 3, p. 355–360, set. 2002.

KRATZER, J. T. et al. Evolutionary history and metabolic insights of ancient mammalian uricases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 111, n. 10, p. 3763–3768, 11 mar. 2014.

LI, Z. et al. Phylogenetic Articulation of Uric Acid Evolution in Mammals and How It Informs a Therapeutic Uricase. *Molecular Biology and Evolution*, v. 39, n. 1, p. msab312, 7 jan. 2022.

FIELD, M. J. The pDynamo Program for Molecular Simulations using Hybrid Quantum Chemical and Molecular Mechanical Potentials. *Journal of Chemical Theory and Computation*, v. 4, n. 7, p. 1151–1161, 1 jul. 2008.

BACHEGA, J. F. R. et al. GTKDynamo: A PyMOL plug-in for QC/MM hybrid potential simulations: Software News And Updates. *Journal of Computational Chemistry*, v. 34, n. 25, p. 2190–2196, 30 set. 2013.

## Análise da duplicação gênica nas cinco espécies de *Plasmodium* causadoras da malária humana

Samuel de Souza e Silva<sup>1</sup>, Newton de Medeiros Vidal<sup>2,3,4</sup>.

<sup>1</sup>Curso de Biotecnologia, Instituto de Biotecnologia, Universidade Federal de Uberlândia – UFU

<sup>2</sup>Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia – UFU

<sup>3</sup>Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Estrutural Aplicadas – UFU

<sup>4</sup>Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas – UFU

### INTRODUÇÃO

O gênero *Plasmodium*, pertencente ao filo Apicomplexa, possui mais de 200 espécies descritas, mas apenas 5 causam a malária humana: *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* e *P. Knowlesi*[1]. A duplicação gênica é um fenômeno no qual um gene dá origem a dois genes. Esse evento genético é crucial para o surgimento de novidade evolutiva, na medida que permite que as cópias do gene duplicado sofram mutação independentemente e possam adquirir funções especializadas ou novas[2].

### OBJETIVOS

O objetivo desse trabalho foi identificar e compreender como os genes duplicados podem estar associados à infecção dos *Plasmodium* causadores de malária humana.

### METODOLOGIA

Foram selecionados 13 genomas referência de Apicomplexa de diversos clados, incluindo as cinco espécies causadoras de malária humana, e dois genomas de cromerídeos como grupo externo: *Chromera velia* e *Vitrella brassicaformis*. Os grupos ortólogos (OGs, do inglês *ortholog groups*) foram identificados utilizando o programa OrthoMCL, que agrupa genes com base no resultado do BLAST das proteínas analisadas.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Obtiveram-se 14,257 OGs através do OrthoMCL. Dentre esses, foram selecionados os grupos que possuíam genes duplicados nos cinco *Plasmodium*

simultaneamente, obtendo-se 17 OGs. Cinco dos 17 grupos de ortólogos estão presentes apenas em hemosporídeos, e 4 grupos estão presentes apenas em *Plasmodium*. Ao pesquisar os genes no VEuPathDB[3], foi possível identificar as proteínas associadas aos quatro genes duplicados em *Plasmodium* como: cisteína protease, proteína de citoaderência ligada à fase assexual, proteína de ligação ao reticulócito e antígeno de repetição de serina (SERA). Essas proteínas já são descritas na literatura como responsáveis pela infecção e manutenção do ciclo de vida do parasita em humanos.

### CONCLUSÕES

Os cinco grupos ortólogos identificados codificam para proteínas com função associada à infecção e manutenção do ciclo de vida do parasita, evidenciando a importância da duplicação gênica para o surgimento de novidade evolutiva.

### REFERÊNCIAS

- [1] Garcia LS. Malaria. Clin Lab Med. 2010 Mar;30(1):93-129. doi: 10.1016/j.cl.2009.10.001. PMID: 20513543.
- [2] Magadum S, Banerjee U, Murugan P, Gangapur D, Ravikesavan R. Gene duplication as a major force in evolution. J Genet. 2013 Apr;92(1):155-61. doi: 10.1007/s12041-013-0212-8. PMID: 23640422.
- [3] <https://veupathdb.org/veupathdb/app>

# Seleção de Conformações Representativas da Proteína Mpro do Vírus SARS-CoV-2 Visando a Descoberta de Novos Tratamentos para a Covid-19

Julia Francisco<sup>1</sup>, Matheus Müller<sup>1</sup> e Laurent Emmanuel Dardenne<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório Nacional de Computação Científica - LNCC

## INTRODUÇÃO

A pandemia de SARS-CoV-2 e seu impacto social e econômico global marcaram a terceira introdução zoonótica de um coronavírus altamente patogênico na população humana [1]. É necessário compreendermos os mecanismos virais que levam ao ciclo de replicação do SARS-CoV-2. A enzima Mpro é uma cisteína protease com papel central na replicação viral. Ela é responsável por clivar poliproteínas, levando à liberação de proteínas virais funcionais [2]. O estudo da Mpro como alvo molecular, auxilia no desenvolvimento de novas moléculas a se tornarem fármacos, utilizando abordagens como o docking molecular para prever modos de ligação e afinidade de pequenas moléculas. Tendo em vista o grande conjunto de dados moleculares na bioinformática, é essencial o processo de clusterização, permitindo o alinhamento de estruturas similares.

## OBJETIVOS

Selecionar e preparar um conjunto de estruturas representativas da proteína Mpro de SARS-CoV-2, tendo em vista a vasta produção científica sobre este alvo como resposta dos esforços globais para o tratamento da COVID-19.

## METODOLOGIA

Coletamos dados da protease principal (Mpro) do SARS-CoV-2 a partir do Protein Data Bank (PDB). Utilizamos ferramentas de programação para filtrar esses dados e obter informações sobre os ligantes. Realizamos a clusterização dos complexos proteicos, alinhando as estruturas com o programa PyMOL em Python.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos dados estruturais da Mpro obtidos do PDB, foi construído um dataframe inicial com 1354 estruturas. Após separação por método experimental, obtivemos 1329 estruturas por difração de raios X, 4 por difração de nêutrons, e 1 por RMN. Os dados dos ligantes foram obtidos do PDB e filtrados para incluir apenas ligantes de interesse. Utilizamos a biblioteca RDKit em Python para calcular o peso molecular dos ligantes através de SMILES. Removemos estruturas com resolução acima de 2.0 Å (difração de raios X) e 4.0 Å (microscopia eletrônica). Estruturas sem ligantes e sem sequência Wild Type foram excluídas, resultando em 769 estruturas. Utilizando o PyMOL, aplicamos a técnica de clusterização nos resíduos do sítio ativo da cadeia A, alinhando todas as estruturas pelo resíduo C145 da díade catalítica Cis-His, afim de calcular o RMSD.

## CONCLUSÕES

Busca-se identificar possíveis inibidores desse alvo molecular, que possam atuar em novos fármacos para estabelecer um tratamento adequado para a COVID-19, inibindo a atividade da protease principal.

## REFERÊNCIAS

- [1] V'kovski, P., et al. "Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2." *Nat Rev Microbiol.*, 19(3):155-170. Mar. **2021**.
- [2] Guedes, I. A., et al. "Drug design and repurposing with DockThor-VS web server focusing on SARS-CoV-2 therapeutic targets and their non-synonym variants", *Scientific Reports*, 11(1), 5543. Mar. **2021**

# Mapeamento E Caracterização De Sítios Alostéricos Da Tripanotiona Redutase De *Trypanosoma Cruzii* Auxiliado Por Métodos Computacionais

SPELTA, G. I., FERREIRA, M. S. e PASCUTTI, P. G.

*Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho / CCS - Universidade Federal do Rio de Janeiro*

## INTRODUÇÃO

A doença de chagas (DC) é uma protozoose altamente debilitante e potencialmente letal que afeta, pelo menos, 1.9 milhões de brasileiros e cerca de 8 milhões de pessoas no continente americano. Enzimas que integram a via metabólica de controle do estresse oxidativo mediado pela tripanotiona (Try), como a tripanotiona redutase (TryR) se estabeleceram como alvos moleculares promissores, sobretudo em virtude da sua presença exclusiva em tripanossomatídeos e seu papel na sobrevivência e sucesso da infecção do parasito<sup>1</sup>.

## OBJETIVOS

O objetivo do presente estudo é o mapeamento e caracterização de sítios alostéricos explícitos e crípticos da TryR por meio de análises computacionais.

## METODOLOGIA

Foram realizadas simulações de Dinâmica Molecular (DM) da TryR de 100 ns em três réplicas por meio do programa NAMD3 para dois diferentes estados: A) Com seu sítio catalítico oxidado e na ausência de seu substrato Try; e B) Com seu sítio catalítico reduzido e na presença de seu substrato Try. Conformações obtidas ao longo das trajetórias de DM foram agrupadas por meio de análise de *clusters* conformacionais por intermédio do pacote de programas AmberTools23. Efetuou-se uma varredura por sítios alostéricos nas estruturas representativas por meio de análise de modos normais pelo módulo CorrSite2 do servidor CavityPlus. A correlação mecânica entre os potenciais sítios alostéricos e os sítios catalíticos foi avaliada por meio do cálculo do volume das cavidades ao longo das simulações com o programa POVME2. Por fim, foi realizada Triagem Virtual por ancoragem de pequenas moléculas de um subconjunto do banco de dados NUBBEdb, fazendo uso dos softwares Autodock Vina e

ODDT, além das funções de pontuação Vina e RFscore.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A TryR visitou três populações conformacionais majoritárias durante as simulações de DM do seu estado oxidado e apenas uma em seu estado reduzido. As estruturas representativas dessas conformações permitiram a identificação de 14 cavidades não detectáveis na estrutura cristalográfica da enzima. De todas as 35 cavidades identificadas, 8 apresentaram algum potencial alostérico ( $z$ -score  $> 0.5$ ) e volume mínimo superior a  $200 \text{ \AA}^3$  ao longo das simulações. Das cavidades potencialmente alostéricas, uma apresentou anti-correlação de volume com uma das cavidades catalíticas ao longo das simulações de DM. Por fim, dois compostos foram classificados em consenso por ambas as funções de pontuação da Triagem Virtual entre as 20 de menor energia de afinidade e ambas realizaram contatos hidrofóbicos com as cadeias laterais dos resíduos GLN242, PRO370, TYR408 E LYS409 da TryR.

## CONCLUSÕES

Foi possível identificar um sítio potencialmente alostérico promissor com anti-correlação volumétrica observável ao sítio catalítico da TryR nas simulações de DM. Além disso, foram discriminadas interações moleculares potencialmente determinantes para a ligação de pequenas moléculas ao sítio.

## REFERÊNCIAS

[1] BELTRAN-HORTELANO, Ivan; PEREZ-SILANES, Silvia; GALIANO, Silvia. Trypanothione Reductase and Superoxide Dismutase as Current Drug Targets for Trypanosoma cruzi: An Overview of Compounds with Activity against Chagas Disease. **Current Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 24, n. 11, p. 1066–1138, 2017.

# Estudo computacional de propriedades físico-químicas e eletrônicas de complexos de paládio(II) com potencial antitumoral

Catherine R. S. de Souza,<sup>1\*</sup> Diego F. S. Paschoal<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CM UFRJ-Macaé, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Macaé, RJ, Brasil;

## INTRODUÇÃO

Os complexos de Pd têm demonstrado significativa atividade antitumoral, aumentando, assim, o interesse por tais compostos e tornando-os promissores para o tratamento do câncer. A partir dos métodos *in silico* é possível obter informações sobre propriedades eletrônicas e físico-químicas, que estão intimamente ligadas a atividade biológica.<sup>1</sup>

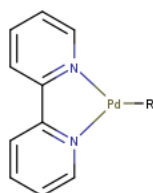
## OBJETIVOS

O presente estudo busca correlações entre a atividade antitumoral descrita por um conjunto de complexos de Pd(II) e suas propriedades eletrônicas e físico-químicas.

## METODOLOGIA

Foram selecionados sete complexos de Pd(II) (Fig. 1) que apresentam dados de atividade antitumoral (CC<sub>50</sub>) para a linhagem celular K562.<sup>1</sup> As geometrias foram otimizadas como ponto mínimo na superfície de energia potencial com o protocolo B3LYP/def2-SVP/IEF-PCM(UFF), utilizando o programa GAUSSIAN 16 Rev. C.01. As propriedades eletrônicas como energias de orbitais de fronteira ( $\epsilon_{\text{HOMO}}$ ,  $\epsilon_{\text{LUMO}}$  e  $\Delta\epsilon$ ), dureza ( $\eta$ ), potencial químico ( $\mu$ ), eletronegatividade ( $\chi$ ) e eletrofilicidade ( $\omega$ ) foram calculadas, e correlações com a atividade biológica (CC<sub>50</sub>) foram avaliadas. Além disso, o coeficiente de partição octanol/água ( $\log P_{\text{o/w}}$ ), momento de dipolo e o deslocamento químico em RMN do núcleo de <sup>15</sup>N também foram calculados.

Fig. 1: Estrutura geral dos complexos de Pd(II) estudados



R<sub>1</sub>= etilditiocarbamato;  
R<sub>2</sub>= butilditiocarbamato;  
R<sub>3</sub>= n-hexilditiocarbamato;  
R<sub>4</sub>= morfolinaditiocarbamato;  
R<sub>5</sub>= piperidinaditiocarbamato;  
R<sub>6</sub>= glicinato;  
R<sub>7</sub>= octilglicinato;

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados indicaram uma forte correlação entre  $\Delta\epsilon$  (eV) e CC<sub>50</sub> (Fig. 2), indicando que as energias dos orbitais de fronteira são excelentes descritores da atividade dos compostos de Pd(II). Os valores de CC<sub>50</sub> teóricos foram calculados e comparados com os valores experimentais (Fig. 3), mostrando uma boa correlação.

Fig. 2: Regressão linear entre  $\Delta\epsilon$  x CC<sub>50</sub>

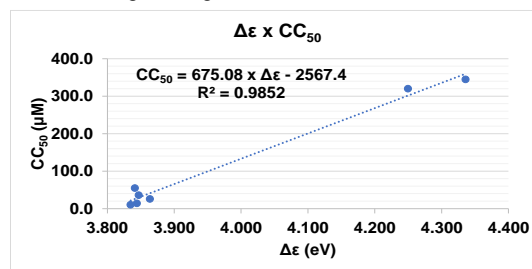
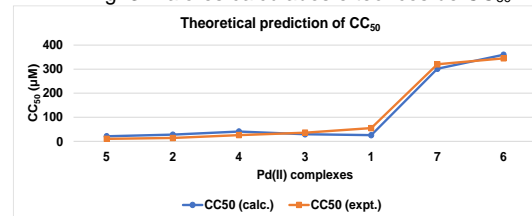


Fig. 3: Valores calculados e teóricos de CC<sub>50</sub>



## CONCLUSÕES

Os resultados indicaram correlações importantes entre as propriedades eletrônicas e a atividade antitumoral dos complexos estudados, podendo ser útil para auxiliar na previsão computacional de CC<sub>50</sub>.

## AGRADECIMENTOS

FAPERJ (E-26/201.336/2022 – BOLSA e E-26/210.070/2022 – DCTR) e CAPES (Código de Financiamento 001).

## REFERÊNCIAS

[1] E. Z. Jahromi et al., *J. Iran. Chem. Soc.*, "Palladium complexes: new candidates for anti-cancer drugs", vol. 13, pp. 967-989, 2016.



## Proposição de Candidatos à Inibidores da M<sup>pro</sup> de SARS-CoV-2 a partir da Modelagem Molecular de Tiazóis

Mariana S. Gomes<sup>1</sup>, Vinicius S. P. Nunes<sup>1</sup> e Diego F. S. Paschoal<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CM UFRJ-Macaé, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Macaé, RJ, Brasil - UFRJ

### INTRODUÇÃO

O SARS-CoV-2 possui proteínas não estruturais e estruturais. A nsp5 (*main protease*, M<sup>pro</sup> ou 3CL<sup>pro</sup>) é uma cisteína protease crucial na replicação viral dentro da célula hospedeira<sup>1</sup>. Estudos *in vitro* demonstraram que a nitazoxanida (NTZ), um tiazol, exibiu atividade inibitória contra o vírus da COVID-19, com um EC<sub>50</sub> de 2,12 µM<sup>2</sup>.

### OBJETIVOS

O presente estudo busca por potenciais inibidores da M<sup>pro</sup> de SARS-CoV-2 através da modelagem molecular de tiazóis e da busca por potenciais novos candidatos em bancos de dados disponíveis na literatura.

### METODOLOGIA

Inicialmente, foram selecionados a NTZ e 87 tiazóis análogos com atividade biológica documentada. A estrutura desses ligantes foi otimizada e caracterizada como mínimo na superfície de energia potencial através de cálculos de frequência harmônica usando o método semiempírico PM3 em fase gasosa, com o programa ORCA 5.0.1.

A estrutura da M<sup>pro</sup> (PDB 6W63) foi obtida do Protein Data Bank. Foram realizados estudos de *docking* molecular utilizando o software Autodock Vina 1.1.2. Além disso, foi realizada uma avaliação *in silico* do perfil farmacocinético e toxicológico (ADME/Tox) utilizando os servidores pkCSM *pharmacokinetics*, OSIRIS *Property Explorer* e StopTOX.

Por fim, foi realizada a preparação do sistema para a dinâmica molecular através do programa CHARMM-GUI e realização das simulações de dinâmica molecular da NTZ e dos tiazóis selecionados na etapa anterior com a M<sup>pro</sup> (programa Amber).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos estudos de *docking* molecular da NTZ e seus 87 análogos com a M<sup>pro</sup>, não foram consideradas aquelas que apresentaram afinidade de ligação (AL) superior à NTZ (-6,4 kcal mol<sup>-1</sup>). Na análise ADMET, compostos com propriedades desfavoráveis para um potencial fármaco contra o SARS-CoV-2 foram descartados, como hepatotoxicidade, toxicidade oral aguda, mutagenicidade, tumorigenicidade e efeitos irritantes. Os compostos ID 56, 68, 78 e 79 foram selecionados e submetidos a simulações de dinâmica molecular. Através da dinâmica da NTZ foi possível perceber que durante toda a simulação (100 ns), a NTZ permaneceu no sítio ativo da M<sup>pro</sup>, interagindo com resíduos mais polares (Thr190 e Gln192).

### CONCLUSÕES

Este estudo realizou uma avaliação *in silico* da interação entre NTZ e 87 tiazóis com a proteína M<sup>pro</sup> do SARS-CoV-2. Baseado nos estudos de *docking* molecular e perfil ADMET dos compostos, foram selecionados os tiazóis ID 56, 68, 78 e 79 para simulações de dinâmica molecular. A simulação da dinâmica molecular da NTZ revelou sua persistência no sítio ativo da proteína, com interações significativas com resíduos polares, especialmente Thr190 e Gln192.

### AGRADECIMENTOS

FAPERJ (E-26/201.336/2022 – BOLSA, E-26/210.070/2022 – DCTR), CNPq (167590/2023-5) e CAPES (Código de Financiamento 001).

### REFERÊNCIAS

- [1] D. E. V. Pires et al. *J. Med. Chem.*, vol. 58, no. 9, pp. 4066–4072, **2015**.
- [2] G. M. Nituлесcu et al. *Int. J. Mol. Med.*, vol. 46, pp. 467-488, **2020**.

