Recebido em: 30/06/2024.
Aceito em: 21/08/2024.

Revista SODEBRAS – Volume 19
N° 221 – MAIO/ AGOSTO - 2024

INTERAÇÕES POR DOCAGEM MOLECULAR DE COMPLEXOS MACROESTRUTURAIS DE AGENTES INFECCIOSOS COM A ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA TRANSMEMBRANA 2 (ACE2)

MOLECULAR DOCKING INTERACTIONS OF MACROSTRUCTURAL COMPLEXES OF INFECTIOUS AGENTS WITH THE TRANSMEMBRANE ANGIOTENSIN-CONVERTING ENZYME 2 (ACE2)

Roger Walter Valente Cruz[1]
Danielle Carvalho Oliveira[2]
Clauderino da Silva Batista[3]

Resumo – Quando duas proteínas se ligam, ocorrem pequenas mudanças conformacionais, especialmente nas áreas de ligação de proteínas quinase. A interface de ligação é onde ocorrem a maioria dessas mudanças. Durante os testes, diversas estratégias são empregadas para prever mudanças conformacionais nas cadeias laterais, considerando várias opções farmacológicas. A Enzima Conversora de Angiotensina transmembrana 2, alvo enzimático com implicações farmacológicas e indicador dos mecanismos de ação de vírus e bactérias, é de interesse na investigação de docagem molecular. Portanto, o objetivo deste trabalho foi utilizar as coordenadas tridimensionais de duas proteínas cristalizadas independentes, que são conhecidas por interagirem, e derivar um modelo para a estrutura vinculada. Esses algoritmos de acoplamento geralmente resultam em algumas estruturas quase nativas, mas também geram muitas estruturas falsas positivas com complementaridade superficial favorável. No software ClusPro, filtramos rapidamente os resultados de saída e realizamos análises quanto a seus valores de energia eletrostáticas, de balanço e de Van der Waals.

Palavras-chave: Interação. Docagem Proteína-Proteína. Energia. Proteína. Estrutura.

Abstract - When two proteins bind, small conformational changes occur, especially in kinase protein binding areas. The binding interface is where most of these changes occur. During testing, various strategies are employed to predict conformational changes in the side chains, considering multiple pharmacological options. Transmembrane Angiotensin Converting

[1] Graduando em Engenharia Química. Faculdade de Engenharia Química. Universidade Federal do Pará (UFPA). rogercruz.1029@gmail.com
[2] Graduanda em Engenharia Química. Faculdade de Engenharia Química. Universidade Federal do Pará (UFPA). dannicarvsoliver@gmail.com
[3] Doutorado em Engenharia de Recursos Naturais da Amazônia. Universidade Federal do Pará (UFPA). clauderino@ufpa.br.

Enzyme 2, an enzymatic target with pharmacological implications and an indicator of virus and bacteria action mechanisms, is of interest in molecular docking investigation. Therefore, the aim of this study was to utilize the three-dimensional coordinates of two independently crystallized proteins known to interact and derive a model for the bound structure. These coupling algorithms typically yield some nearly native structures but also generate many false positive structures with favorable surface complementarity. In the ClusPro software, we rapidly filter output results and perform analyses regarding their electrostatic energy, balance, and Van der Waals values.

Keywords: Interaction. Protein-Protein Docking. Energy. Protein. Structure.

I. INTRODUÇÃO

Décadas de pesquisa em biologia celular, biologia molecular, bioquímica, biologia estrutural e biofísica produziram um enorme banco de dados sobre a função e características moleculares de proteínas individuais. Essas informações são meticulosamente mantidas em grandes bancos de dados de proteínas, como o *Protein Data Bank*[4]. Um mecanismo de ação[5] frequentemente envolve um "alvo" molecular com o qual a droga interage, como uma enzima ou receptor. As proteínas, por outro lado, raramente funcionam sozinhas; em vez disso, eles frequentemente constroem "máquinas moleculares" (Shen et al., 2020) com intrincadas ligações físico-químicas dinâmicas para realizar funções biológicas nos níveis celular e sistêmico. Decifrar as intrincadas ligações químicas em sistemas biológicos requer o mapeamento de "interações físicas proteína-proteína" (Acuner Ozbabacan et al., 2011).

Quando comparados aos processos presentes em organismos celulares, os vírus exibem uma variação significativa na composição genética, nos padrões evolutivos e na função das proteínas. Essas diferenças no lado do patógeno devem ser levadas em consideração ao examinar as interações proteína-proteína (IPP) em sistemas vírus-hospedeiro. As relações de reconhecimento de proteínas podem ser persistentes ou temporárias, e certas proteínas podem formar vários contatos (Chichili; Kumar; Sivaraman, 2013).

As IPP são necessárias para o funcionamento normal das células em todas as espécies vivas e sistemas biológicos maiores. O padrão ouro para validar e compreender tais estruturas é a cristalografia de raios X (Shi, 2014). Os complexos de proteínas, por outro lado, podem ser difíceis de cristalizar, e o número de IPPs identificados supera o número de estruturas complexas. A interação proteína-proteína é um método computacional que poderia preencher esse vazio expondo características de nível atômico das interações de duas proteínas. Modelos criados por docagem molecular (DM) podem ser confirmados usando processos simples, como reticulação ou alterações direcionadas ao local. Um dos avanços mais significativos na interação proteína-proteína é o uso de uma transformada rápida de Fourier (TRF) (Jung et al., 2016) para avaliação de energia.

Portanto, este artigo tem como objetivo estudar interações proteicas entre proteínas externas dos agentes infecciosos, tais como a influenza (PDB[6] ID: 2VIR), parainfluenza (PDB ID: 4WEF), proteína Spike da variante Omicron do Sars-Cov-2 (PDB ID: 7QO7) e complexadas a proteína receptora das fossas nasais a enzima

[4] Banco de dados em 3D de proteínas e ácidos nucléicos. Disponível em: <https://l1nq.com/SgnNP
[5] Interação bioquímica especifica através da qual uma droga produz efeito farmacológico.
[6] Código de identificação no *Protein Data Bank.*

conversora de angiotensina transmembrana 2 (ACE2) (PDB ID: 7U0N) humana. A abordagem de docagem molecular utilizada neste trabalho visa não apenas identificar conformações promissoras, mas também prever interações específicas que podem ser relevantes para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas.

II. METODOLOGIA

Todas as simulações foram realizadas com base no modelo proteína + proteína, onde quatro estruturas foram selecionadas, sendo otimizadas utilizando o software Chimera 1.15.6 (CHM) para encontrar as condições ideais que satisfazem os vários alvos predefinidos; a complexidade adicional surge para tarefas que envolvem experimentação ou cálculos computacionais. Os resultados indicam que o CHM permite que uma ampla classe de algoritmos de otimização fosse encontrada rapidamente. Nas condições ideais, utilizamos o campo de força AMBERFF14SB (Majumder; Mandal, 2022) para obter a estrutura com a melhor conformação.

2.1 – Estruturas Ligantes

2.1.1 – Hemaglutinina do Vírus Influenza (HVI)

A estrutura da hemaglutinina (HA) de um vírus da gripe mutante, que evita a neutralização por um anticorpo monoclonal, demonstra que a mutação causa alterações na estrutura do HA que o impedem de adotar uma configuração menos favorável energeticamente. A HA é uma glicoproteína[7] presente no envelope do vírus, que é a cobertura mais externa do vírus. Ele reconhece o ácido siálico, um açúcar presente em nossa membrana celular, importante para reconhecer e aderir o vírus às nossas células respiratórias, e se liga a ele. O vírus é então endocitado ou envelopado pela membrana, e transportado dentro de uma vesícula pela célula. A célula tenta digerir o conteúdo da vesícula diminuindo o pH de dentro da vesícula, mas isso causa uma mudança no formato da hemaglutinina, expondo a região em vermelho que possui muita afinidade pela membrana da vesícula, fazendo com que a hemaglutinina se torça e puxe a membrana do envelope do vírus, fundindo ambas e liberando o vírus da vesícula para dentro da célula (Welch et al., 2013).

2.1.2 – Estrutura da Hemaglutinina-neuraminidase do vírus da parainfluenza humana tipo III (HNPH)

A proteína hemaglutinina é importante para a adesão do vírus e primeiro contato com a célula, enquanto a neuraminidase (NA) é responsável pela penetração e replicação do vírus na célula. Duas glicoproteínas de membrana descobertas nesses vírus são a hemaglutinina neuraminidase (HN) e a proteína de fusão. O HN tem uma variedade de atividades, incluindo ligação ao receptor, clivagem de ácido siálico, aceleração da liberação e propagação do vírus e interação com a proteína para promover a fusão da membrana (Mizuta et al., 2012). Os inibidores de NA, como o zanamivir, que tem como alvo o NA do vírus da gripe, e o ácido 2-desoxi-2,3-desidro-N-acetil neuramínico (DANA), podem não apenas interromper a função catalítica do HN, mas também interferir no receptor vinculativo.

[7] Contém açúcares (glicanos) ligados às suas cadeias polipeptídicas.

A HN do HPIV-3 possui uma estrutura tridimensional complexa, composta por diferentes domínios e regiões. Estudos estruturais, como cristalografia de raios-X e modelagem molecular, têm sido usados para elucidar essa estrutura. Assim como muitas glicoproteínas virais, a HN do HPIV-3 é frequentemente modificada por glicosilação, onde cadeias de açúcares são adicionadas às suas cadeias polipeptídicas. Essa glicosilação pode influenciar a estabilidade e a função da proteína (Perini, 2012).

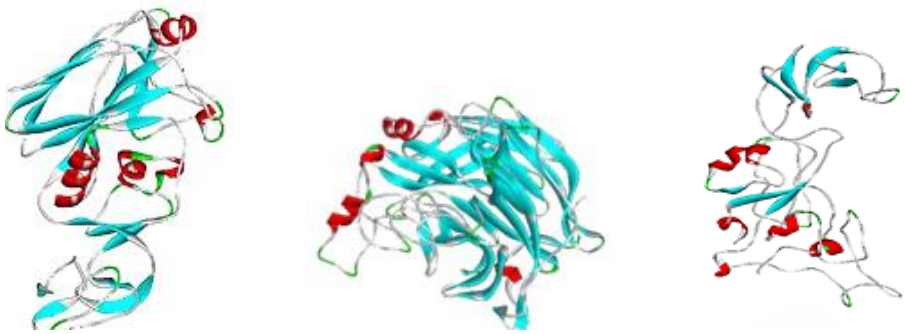
Essa glicoproteína possui regiões conservadas, que são importantes para suas funções essenciais, como a ligação às células hospedeiras e a atividade neuraminidase. No entanto, também pode haver regiões variáveis que contribuem para a diversidade genética e a evolução do vírus (Matsumoto et al., 2005). A HN desempenha um papel importante na interação entre o vírus e o sistema imunológico do hospedeiro, incluindo a indução de respostas imunes e a evasão das defesas do hospedeiro.

2.1.3 – SARS-CoV-2 S Omicron Spike (SCv2-OS)

A proteína spike (também conhecida como proteína S) é fundamental para o funcionamento do coronavírus, incluindo o SARS-CoV-2, que causa a COVID-19. Sua importância reside em várias funções críticas durante o processo de infecção. Compreender a estrutura da proteína S é importante para entender a variante Omicron (Jiang; Hillyer; Du, 2020). A proteína spike permite que o vírus se ligue e entre nas células humanas. Ela interage com receptores na superfície das células hospedeiras, desencadeando a fusão do envelope viral com a membrana celular e permitindo que o material genético do vírus entre na célula.

A proteína Omicron S tem a maior distância evolutiva das outras variações do SARS-CoV-2, de acordo com as descobertas. Muitos aminoácidos no RBD foram alterados, afetando potencialmente as interações RBD-ACE2 e demonstrando que o anticorpo S309 ainda pode neutralizar essa variante do RBD (Braz et al., 2022).

Figura 1 - Estruturas utilizadas como ligante (a) HVI, (b) HNPH, (c) SCv2-OS



(a) (b) (c)

Fonte: PDB, 2024.

2.2 – Estrutura receptora do trato respiratório ACE2 humano (ACE2H)

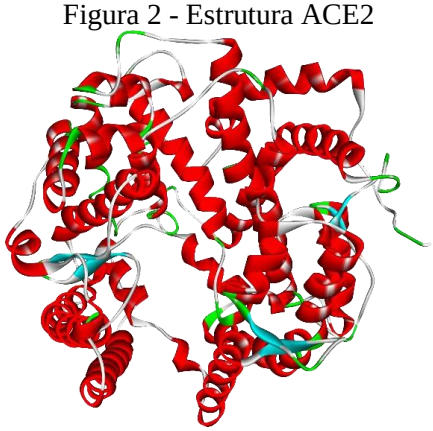
A função da proteína ACE2 está associada ao sistema renina-angiotensina, que controla a pressão sanguínea e o equilíbrio de líquidos e eletrólitos em nosso corpo. Neste sistema, ACE2 atua de forma oposta a outra proteína da sua família, chamada ACE. A ACE converte a angiotensina I em angiotensina II, que possui 8 aminoácidos e atua como um potente constritor dos vasos sanguíneos. Assim, dado seu efeito redutor

da pressão sanguínea, ACE2 é um importante alvo para o tratamento de doenças cardiovasculares (Silva; Alvares, 2021).

ACE2 atua como o principal receptor celular para o SARS-CoV-2. O vírus se liga ao ACE2 presente na superfície das células hospedeiras, principalmente nas células epiteliais do trato respiratório, permitindo a entrada do vírus nas células. Após a ligação ao ACE2, a proteína Spike (S) do vírus SARS-CoV-2 sofre clivagem pela enzima transmembranar TMPRSS2 (Transmembrane Protease Serine 2) ou por outras proteases celulares, desencadeando a fusão do vírus com a membrana celular e permitindo a entrada do seu material genético na célula hospedeira. A TMPRSS2, facilita a iniciação da proteína S (spike) (Silva, 2023).

Há várias possibilidades farmacológicas em fases de testes. Há relevância em desvendar estudos sobre a Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ECA2) e a Protease Transmembranar, a serina 2 (TMPRSS2) no SARS-CoV-2, alvos enzimáticos com perspectivas farmacológicas para o tratamento da COVID-19.

Figura 2 - Estrutura ACE2



Fonte: PDB, 2024.

2.3 – Protocolo de interação do ClusPro

Todos os parâmetros necessários foram especificados usando a plataforma do ClusPro[8]. O servidor ClusPro é uma ferramenta amplamente utilizada para DM proteína-proteína. Ele também oferece várias opções avançadas para modificar a pesquisa; estes incluem a remoção de regiões de proteínas não estruturadas, aplicação de atração ou repulsão, contabilização de restrições de distância de pares, construção de homomultímeros, consideração de dados de espalhamento de raios-X de pequeno ângulo e localização de sítios de ligação (Pierce et al., 2014). Quatro funções energéticas diferentes podem ser usadas, dependendo do tipo de proteína. Acoplar com cada conjunto de parâmetros de energia resulta em dez modelos definidos por centros de aglomerados altamente populosos de estruturas ancoradas de baixa energia.

Este protocolo descreve o uso de várias opções, a construção de arquivos de restrições auxiliares, a seleção dos parâmetros de energia e a análise dos seus resultados, utilizando as equações para os cálculos de Balanceamento de energia equação (1) (Ignatov; Kazennov; Kozakov, 2018), Energia eletrostática favorável equação (2) (Verma et al., 2016), Energia hidrofóbica favorável equação (3) (Brenke et al., 2012) e Van der Waals + Eletrostática equação (4) (Akbal-Delibas; Pomplun; Haspel, 2014).

$$E=0.40E_{rep}+0.40E_{att}+600E_{elec}+1.00E_{DARS} \qquad (1)$$

[8] https://cluspro.org

$$E=0.40E_{rep}+0.40E_{att}+1200E_{elec}+1.00E_{DARS} \quad (2)$$
$$E=0.40E_{rep}+0.40E_{att}+600E_{elec}+2.00E_{DARS} \quad (3)$$
$$E=0.40E_{rep}+0.10E_{att}+600E_{elec}+0.00E_{DARS} \quad (4)$$

No ClusPro, filtramos rapidamente a saída do algoritmo de correlação de Fourier usando uma combinação de desolação e energias eletrostáticas (calculada usando o potencial de Coulomb). Essa abordagem resulta em várias estruturas quase nativas passando pelo filtro, eliminando muitos dos falsos positivos.

Usando o algoritmo ClusPro, o usuário tem a opção de selecionar DOT ou ZDOCK para realizar acoplamento corporal rígido, ambos baseados nas técnicas de correlação de transformação Fourier rápida (TFR) (Kozakov et al., 2010). Embora o DOT permita o uso de um potencial eletrostático na função de pontuação, baseamos a pontuação apenas na complementaridade superficial entre as duas estruturas. O DOT é executado em um 128 Å × 128 Å × grade 128 Å, usando um espaçamento de grade de 1 Å. Usando uma lista pré-definida de 13 000 rotações, mais de 2,7 × 1010 as estruturas são avaliadas, mantendo 20.000 estruturas com os melhores resultados para comparação em termo de interação de superfícies (Alekseenko et al., 2020). Acoplamento de fragmentos das estruturas: cada um dos fragmentos é ancorado na estrutura receptora usando um protocolo de amostragem baseado em TFR. Os 250 melhores resultados de cada corrida são combinados em um conjunto. Na saída de resultados há a seleção de modelos, que visa o conjunto de modelos agrupado usando um raio de cluster de 3,5 Å, este que foi escolhido para representar a resolução melhor de atração, e os resultados são classificados de acordo com a menor energia trabalhada, assim se gera a saída em formato PDB e as tabelas.

III. RESULTADOS

3.1 – Docagem proteína-proteína

O acoplamento de proteína-pequenas moléculas difere do acoplamento proteína-proteína. Enquanto o bolso de ligação é conhecido nas interações com pequenas moléculas, no acoplamento proteína-proteína o local de interação é raramente disponível, exigindo a exploração de todas as interações possíveis, gerando e avaliando bilhões de conformações do complexo.

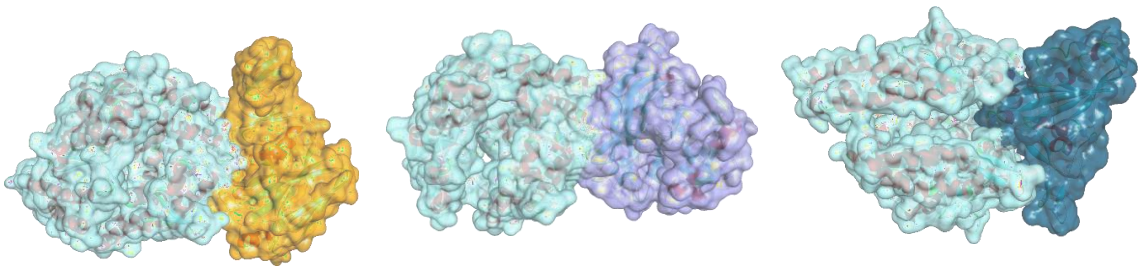
O uso de modelos de proteínas rígidas requer tolerar alguns níveis de sobreposições, e como as funções energéticas são aproximadas, as estruturas próximas à conformação nativa não necessariamente possuem as energias mais baixas. Assim, para evitar perder conformações potencialmente úteis é necessário reter um grande número, geralmente de 2000 a 20.000 (Bartholow et al., 2021), de estruturas ancoradas de baixa energia para posterior processamento. Assim, o acoplamento inicial produz uma longa lista de estruturas de candidatos em vez de um pequeno número de modelos, e a obtenção de resultados significativos requer alguma forma de pós-processamento, o que inclui o refinamento das conformações ancoradas, geralmente representando algum nível de flexibilidade.

Na metodologia de docagem está a noção de complementaridade estérica na interface proteína-proteína (Vajda et al., 2017). Essas interfaces são realmente compactadas, como observado em complexos cocristalizados no *Protein Data Bank*. A complementaridade tem sido a principal força motriz no desenvolvimento de abordagens de encaixe como observado na Figura 3, muitas vezes com a adição de complementaridade físico-química, hidrofobicidade e eletrostática. A

complementaridade estrutural tem sido vista em diferentes resoluções, desde a atômica até a ultrabaixa. A estrutura de complexos proteína-proteína usando abordagens de docagem, possui desafios que incluem identificar as soluções corretas e lidar adequadamente com a flexibilidade molecular e mudanças conformacionais.

A docagem de corpo rígido envolve seis graus de liberdade do sistema de dois corpos rígidos (por exemplo, três translações e três rotações nas coordenadas cartesianas). A docagem flexível (Fan et al., 2019) envolve um número muito maior de coordenadas, dada a busca conformacional nas coordenadas internas das proteínas. No entanto, essa pesquisa normalmente não envolve a solução do elusivo "problema de dobramento de proteínas", mas pode ser restrita a uma transição conformacional de ligação a ligação muito mais tratável. Na docagem proteína-proteína, a semelhança entre proteínas em complexos pode ser avaliada através da comparação/alinhamento de sequências, sequências e estruturas, ou apenas as estruturas porque as estruturas da proteína a ser encaixada são consideradas conhecidas pela própria definição de encaixe.

Figura 3 – Estrutura em azul do complexo com ACE2 acoplada a) HVI, b) HNPH, c) SCv2-OS



(a) (b) (c)

Fonte: Autores, 2024.

O algoritmo do ClusPro conseguiu definir bem as interações que visaram encaixar proteínas grandes e flexíveis, classificar modelos de forma consistente e produzir modelos precisos o suficiente para permitir o design computacional de afinidades ou especificidades mais altas.

Analisando as distâncias das interações interatômicas, e a partir dos resultados mostrados na Tabela 1, observa-se que o modo de interação predito pelas posições pode indicar que possui alta capacidade de interação. A HVI e a SCv2-OS tiveram a menor distância relativa da ACE2 de afinidade calculada, e foram utilizadas para avaliar a confiabilidade do complexo previsto, onde a docagem foi capaz de identificar uma conformação promissora. As posições assumidas pelas proteínas permitem interações com os aminoácidos presentes. Cada posição tomada pode levar a associações com diferentes aminoácidos locais. Quanto melhores forem as energias de ligação, mais fortes serão as interações que ocorrem entre as moléculas da proteína e os aminoácidos.

Tabela 1 – Média das distâncias de interação na DM.

Macrostructure	**Distance (Å)**
HVI	2.9291
HNPH	3.0005
SCv2-OS	2.9264

3.2 – Tipos de interações intermolecular das proteinas com a ACE2

As Tabelas 2 e 3 apresentam a docagem molecular da ACE2 com as 3 proteínas, no qual as interações se restringiram aos aminoácidos. Na Tabela 3 podemos observar a formação das ligações hidrofóbicas nas proteínas, as quais surgem como consequência da interação de seus aminoácidos hidrofóbicos com o solvente polar, a água. As ligações iônicas ou eletrostáticas são formadas quando átomos de aminoácidos com cargas elétricas opostas são justapostos. As ligações iônicas podem ser importantes para a estrutura da proteína porque são potentes atrações eletrostáticas. No interior hidrofóbico das proteínas, as ligações iônicas podem se aproximar da força das ligações covalentes.

A principal interação da docagem, observada na Tabela 2, foi a Conventional Hydrogen Bond, um tipo de interação intermolecular que se dá entre átomos de hidrogênio de uma molécula com átomos de elementos altamente eletronegativos, de forma que o hidrogênio sirva como um elo entre os átomos com os quais interage (Arunan et al., 2011). A ligação de hidrogênio é o tipo de interação intermolecular mais forte que pode ocorrer, o que mostra conformidade com os resultados obtidos.

Outra interação importante observada na Tabela 2 foi a interação alkyl, ou interação alquila, essa interação é considerada por alguns autores como um tipo de ligação de hidrogênio com anel aromático não clássica (CH-π), que ocorre quando uma ligação C-H de um grupo alquila é polarizada na presença de um anel com sistema π. É uma interação do tipo dipolo-dipolo induzido fraca, mas pode ter um papel significativo na conformação e na estabilidade de estruturas de complexos, como na formação de complexos ligante-proteína e proteína-proteína.

Tabela 2 – Tipos de interação na DM.

Interaction Type	**HVI**	**HNPH**	**SCv2-OS**
Conventional Hydrogen Bond	306	482	244
Salt Bridge; Attractive Charge	16	29	22
Carbon Hydrogen Bond	44	65	26
Sulfur-X	1	2	0
Pi-Cation	1	3	2
Pi-Anion	0	5	1
Pi-Donor Hydrogen Bond	2	6	0
Pi-Sigma	11	15	7
Alkyl	59	125	43
Pi-Alkyl	35	69	49

Tabela 3 – Categorias de ligação da DM.

Bond Category	**Number of Interactions**		
	HVI	**HNPH**	**SCv2-OS**
Hydrogen Bond	352	553	268
Hydrogen Bond; Electrostatic	16	29	23
Other	5	3	1
Hydrophobic	116	220	107
Electrostatic	15	29	18

Na interação entre as proteínas e o ACE2, foi obtida uma significativa quantidade de ligações de hidrogênio e ligações alquila, ligações essas consideradas fortes, o que demonstra que os complexos obtidos pela DM são complexos estáveis apesar do problema de acoplamento proteína-proteína discutido anteriormente.

3.3 – Análise de energias

De acordo com a Tabela 4, a interação da ACE2 com a HNPH e SCv2-OS obtiveram os melhores estados com menor energia e possivelmente ocorrerão com maior probabilidade do que aqueles com maior energia em um sistema.

Os aminoácidos essenciais do sítio ativo HNPH foram comparados com o relatado antes do estudo de DM para validar a seleção da bolsa de ligação correta. As interações que essa proteína possibilitou, levando em consideração tais interações, os resultados da DM revelaram interações com o chamado sítio ativo Glicoproteína, onde há maior chance de ligação anexada aos alvos moleculares em questão. Analisando as distâncias das interações interatômicas e a partir dos resultados de docagem, observa-se que o modo de interação predito pelas posições pode indicar que possui alta capacidade de interação. A HVI obteve um número considerável de ligações, como hidrogênio, as principais interações de ligação molecular e a energia de afinidade calculada foram utilizadas para avaliar a confiabilidade do complexo previsto, sendo que o DM foi capaz de identificar uma conformação promissora.

Outro aspecto importante a ser observado é que o sítio catalítico SCv2-OS possui características hidrofóbicas, como descrito na Tabela 3. Uma descrição detalhada das ligações π e de hidrogênio está de acordo com a análise de acoplamento, verificando-se que existe afinidade de ligação, o que pode indicar um grau de influência deste tipo de interação para a energia de afinidade. Além disso, foi observada uma formação de ligações de hidrogênio em quase todas as interações. Como as ligações são muito próximas e possuem características atrativas e hidrofóbicas, elas, portanto, podem relacionar que tais interações com estruturas macromoleculares contribuíram para a formação de melhores associações, explorando as diferenças de eletronegatividade entre os átomos. As posições assumidas pelos ligantes no sítio ativo permitem interações com os aminoácidos presentes. Cada posição tomada pode levar a associações com diferentes aminoácidos locais. Quanto melhores forem as energias de ligação, mais fortes serão as interações que ocorrem entre as moléculas da proteína e os aminoácidos.

O método do ClusPro resultou nas estruturas mais viáveis, e isso foi feito usando a energia da área de superfície, energia de solvatação e minimização de energia dos complexos de ligante e receptor. Os valores para o HVI na Tabela 4 evidenciam que conforme a interação da cadeia lateral da ACE2 se aproxima de superfícies maiores em relação às outras, o valor de energia de ligação pode ser decomposto por resíduo.

A análise da variação da energia de Van der Waals (vdW) para essas interações visou investigar propriedades estruturais dos complexos. Assim, as interações de vdW desempenham um papel importante nas propriedades dos sistemas nos quais interações dipolo-dipolo muito mais fortes estão presentes. Nessa análise a HNPH obteve -262.8 kcal/mol, a SCv2-OS, -254.2 kcal/mol e a HVI -242.8 kcal/mol.

A análise da energia eletrostática e hidrofóbica da interação das proteínas aumentou significativamente conforme foram testadas estruturas com maior abrangência de acoplamento a superfície do ACE2, falta de mudanças nas afinidades de ligação indica que a amostragem da paisagem de energia de balanceamento é amplamente afetada pelos movimentos de domínio da proteína observados. Em todos os casos, os valores presentes nos termos eletrostáticos se compensam, resultando em

alterações mínimas na estrutura. Na atração eletrostática foi considerada características comuns de todos os sistemas iônicos, usando ambas as estratégias de simulação.

Tabela 4 – Valores de energia obtidos da interação proteína-proteína.

ACE2H with Structure	**Energy Coefficients (kcal/mol)**			
	Balanced	**Electrostatic**	**Hidrofobic**	**Van der Waals**
HVI	-751.2	-792.9	-917.6	-242.8
HNPH	-970.5	-930.2	-1197.2	-262.8
SCv2-OS	-906.1	-907.3	-1052.3	-254.2

IV. CONCLUSÃO

Neste trabalho, exploramos as paisagens energéticas de acoplamento de complexos proteicos, conhecidos usando conjuntos de estruturas ancoradas geradas por um procedimento de otimização de energia global de corpo rígido. Anterior a isso, descrevemos um procedimento de acoplamento de duas etapas que permitiu a amostragem aproximada da superfície do receptor ao redor do local de ligação conhecido. Logo após, estendemos a busca para toda a superfície do receptor.

Os resultados mostram que as contribuições para o acoplamento do ligante foram os termos eletrostáticos e de vdW. Esses inibidores identificados acordam principalmente por dois fatores, especificamente, a área de superfície (geometria da molécula) e a polarizabilidade eletrônica (tamanho molecular), dentre os diversos tipos de energia calculada. O modo de acoplamento dos ligantes foi conhecido para entender as propriedades de ligação e o mecanismo de ação das interações. A partir dos resultados combinados dos cálculos de acoplamento, constatou-se que os resíduos do sítio ativo da ACE2 interagiram fortemente com as proteínas, em especial com a HNPH. Embora os resultados de tais simulações possam certamente contribuir para aumentar a compreensão e racionalizar os dados experimentais, esta abordagem também têm algumas limitações e desvantagens.

Este trabalho evidenciou que, dentro do campo dos modelos atomicamente detalhados, há provavelmente diferentes níveis de aproximação aceitáveis, dependendo da aplicação específica. Por exemplo, para o problema da ancoragem de proteínas, é provável que uma solução geral não exigirá a descoberta de nova física, mas certamente demandará a inclusão de flexibilidade conformacional nas proteínas. Isso pode envolver, no mínimo, permitir algum grau de movimento nas cadeias laterais, mas também pode exigir flexibilidade mais ampla. A questão de como incorporar eficientemente esses recursos em algoritmos existentes de acoplamento de proteínas permanece sem solução. Por outro lado, a flexibilidade conformacional pode ser um requisito menos urgente para uma descrição geral de interações proteína-proteína fracas.

V. REFERÊNCIAS

ACUNER OZBABACAN, S. E. et al. Transient protein–protein interactions. **Protein Engineering, Design and Selection,** v. 24, n. 9, p. 635-648, set. 2011.

AKBAL-DELIBAS, B.; POMPLUN, M.; HASPEL, N. AccuRMSD: A machine learning approach to predicting structure similarity of docked protein complexes. In: **Proceedings of the 5th ACM Conference on Bioinformatics, Computational Biology, and Health Informatics,** 2014, pp. 289-296.

ALEKSEENKO, A. et al. **Protein–Protein and Protein–Peptide Docking with ClusPro Server.** In: Protein Structure Prediction, pp. 157-174. Humana, New York, NY, 2020.

ARUNAN, E. et al. Definition of the hydrogen bond (IUPAC Recommendations 2011). **Pure and Applied Chemistry,** v. 83, n. 8, p. 1637–1641, jul. 2011.

BARTHOLOW, T.G. et al. Elucidation of transient protein-protein interactions within carrier protein-dependent biosynthesis. **Communications Biolog.,** v. 4, n. 1, p. 340, 16 mar. 2021.

BRAZ, H. L. B. et al. In silico study of phytochemicals in the Receptor-Binding Domain (RBD) region of the SARS-CoV-2 spike protein (Omicron variant, B.1.1.529). **Research, Society and Development,** v. 11, n. 10, e404111033126, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i10.33126>. Acesso em: 01 jan. 2024.

BRENKE, R. et al. Application of asymmetric statistical potentials to antibody–protein docking. **Bioinformatics,** v. 28, n. 20, p. 2608-2614, 2012.

FAN, J. et al. Progress in molecular docking. **Quantitative Biology,** v. 7, n. 2, p. 83-89, 2019.

IGNATOV, M.; KAZENNOV, A.; KOZAKOV, D. ClusPro FMFT-SAXS: ultra-fast filtering using small-angle X-ray scattering data in protein docking. Journal of Molecular Biology, v. 430, n. 15, p. 2249-2255, 2018.

JIANG, S., HILLYER, C.; DU, L. Neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 and other human coronaviruses. **Trends in Immunology,** v. 41, n. 5, p. 355-359, 2020.

JUNG, J. et al. Parallel implementation of 3D FFT with volumetric decomposition schemes for efficient molecular dynamics simulations. **Computer Physics Communications,** v. 200, p. 57-65, mar. 2016.

KOZAKOV, D. et al. Achieving reliability and high accuracy in automated protein docking: ClusPro, PIPER, SDU, and stability analysis in CAPRI rounds 13-19. **Proteins,** v. 78, n. 15, p. 3124-3130, 2010.

MAJUMDER, R.; MANDAL, M. Screening of plant-based natural compounds as a potential COVID-19 main protease inhibitor: an in silico docking and molecular dynamics simulation approach. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics,** v. 40, n. 2, p. 696-711, 2022.

MATSUMOTO, T. K. et al. Sequence analysis of haemagglutinin-neuraminidase (HN) genomic region from human parainfluenza virus type 3 circulating in São Paulo (2004/2005). **Virus Reviews & Research,** São Paulo: Brazilian Society for Virology, 2005.

MIZUTA, K. et al. Epidemiology of parainfluenza virus types 1, 2, and 3 infections based on virus isolation between 2002 and 2011 in Yamagata, Japan. **Microbiology and Immunology,** v. 56, n. 12, p. 855-858, set. 2012.

PERINI, A. P. **Diversidade genética dos Vírus Parainfluenza 1, 2 e 3, identificados em amostras colhidas no Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, durante os anos de 1995 a 2005.** 2012. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Biotecnologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012. Disponível em: https://doi.org/10.11606/T.87.2012.tde-26112012-082543. Acesso em 01 de jan. 2024.

PIERCE, B. G. et al. ZDOCK server: interactive docking prediction of protein–protein complexes and symmetric multimers. **Bioinformatics,** v. 30, n. 12, p. 1771-1773, 2014.

CHICHILI, V. P. R.; KUMAR, V.; SIVARAMAN, J. Linkers in the structural biology of protein–protein interactions. **Protein Science,** v. 22, n. 2, p. 153-167, fev. 2013.

SHEN, C. et al. From machine learning to deep learning: Advances in scoring functions for protein–ligand docking. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science,** v. 10, n. 1, e1429, jan-fev. 2020.

SHI, Y. A glimpse of structural biology through X-ray crystallography. **Cell,** v. 159, n. 5, p. 995-1014, nov. 2014.

SILVA, Breno Silveira da. **Estratificação molecular e avaliação da influência de polimorfismos de ACE2 e TMPRSS2 no prognóstico da COVID-19.** 2023. 105 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2023. Disponível em: http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/74165. Acesso em: 01 jan. 2024.

SILVA, J. K. F.; ALVARES, L. E. O gene ACE2 e suas múltiplas funções na Covid-19. **Genética na Escola,** São Paulo, v. 16, n. 2, p. 324–331, 2021.

VAJDA, S. et al. New additions to the ClusPro server motivated by CAPRI. **Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics,** v. 85, n. 3, p. 435-444, mar. 2017.

WELCH, B. D. et al. Structure of the parainfluenza virus 5 (PIV5) hemagglutinin-neuraminidase (HN) ectodomain. **PLOS Pathogens,** v. 9, n. 8, p. e1003534, ago. 2013.

VII. COPYRIGHT

Direitos autorais: Os autores são os únicos responsáveis pelo material incluído no artigo.