



UNIVERSIDADE DA INTEGRAÇÃO INTERNACIONAL DA LUSOFONIA
AFRO-BRASILEIRA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
COORDENAÇÃO DO CURSO DE QUÍMICA

FRANCISCO AURECIO MORAIS DE ARAÚJO

**ESTUDO *IN-SILICO* DO FLAVONOIDE PECTOLINARINA COMO INIBIDOR DA
SERINO PROTOASE NS1 DO VÍRUS DA DENGUE**

REDENÇÃO

2021

FRANCISCO AURECIO MORAIS DE ARAÚJO

**ESTUDO *IN-SILICO* DO FLAVONOIDE PECTOLINARINA COMO INIBIDOR DA
SERINO PROTOASE NS1 DO VÍRUS DA DENGUE**

Monografia apresentada ao Curso de Licenciatura em Química da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, como requisito para obtenção do título de licenciado em Química.

Orientador: Prof. Dr. Alúcio Marques da Fonseca

REDENÇÃO
2021

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
Sistema de Bibliotecas da UNILAB
Catalogação de Publicação na Fonte.

Araújo, Francisco Aurecio Morais de.

A663e

Estudo in silico do flavanoide Pectolinarina como inibidor da serino protoase NS1 do vírus da Dengue / Francisco Aurecio Morais de Araújo. - Redenção, 2021.
52f: il.

Monografia - Curso de Química, Instituto de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Redenção, 2021.

Orientador: Prof. Dr. Aluísio Marques da Fonseca.

1. Vírus da dengue. 2. Pectolinarina. 3. In silico. I. Título

CE/UF/BSCA

CDD 616.91852

FRANCISCO AURECIO MORAIS DE ARAÚJO

**ESTUDO *IN-SILICO* DO FLAVONOIDE PECTOLINARINA COMO INIBIDOR DA
SERINO PROTOASE NS1 DO VÍRUS DA DENGUE**

Monografia apresentada como requisito para obtenção do título de Licenciado em Química, na Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB).

Aprovada em: 09 / 03 / 2021

Banca Examinadora:



Prof. Dr. Aluísio Marques da Fonseca (Orientador)

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira - UNILAB



Prof. Dr. Emmanuel Silva Marinho

Universidade Estadual do Ceará - UECE



Profa. Dra. Viviane Pinho de Oliveira

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira - UNILAB

A professora que mais recordo, Válquia Correia, por ter me ensinado a ler e escrever.

AGRADECIMENTOS

Quero em primeiro lugar agradecer a Deus por me dar força, coragem e luz nos momentos em que eu pensei em jogar tudo para o alto e desistir. Em segundo lugar agradecer a minha família que me apoiou do jeito que pode, deixando de lado até mesmo a condição financeira para que eu pudesse seguir este sonho. Quero agradecer aos meus amigos que são tantos que uma ou duas folhas de agradecimentos não seriam suficientes para colocar o nome de todos, mas em minhas memórias lembro de cada um, desde o ensino infantil até os dias de hoje.

Quero agradecer também aos meus professores que sempre observaram potencial em mim, com certeza passei por ótimos professores que me incentivaram em toda minha formação, seja com pesquisa ou educação.

Quero agradecer a minha companheira Felisbela, que em várias vezes me apoiou e não me deixou desanimar, assim como eu passou por muitas coisas, e me inspirou a ser uma pessoa melhor e sempre continuar tentando.

Quero agradecer a UNILAB, aos Programas Assistência Estudantil (PAES), Bolsas de Monitoria (PBM), O Programa Institucional de Bolsa de Iniciação Científica (PIBIC) e ao PULSAR-Química, que me custearam em toda a minha trajetória. Agradeço aos técnicos dos laboratórios de química Ethanielda Coelho, Camila Peixoto e Davino Machado pelos ensinamentos e os conselhos que eu irei sempre lembrar. E também agradeço ao meu orientador Prof. Aluísio M. Fonseca que é coordenador do Grupo Interdisciplinar em Química (GIQ) do qual faço parte.

Quero agradecer por todos os momentos memoráveis que passei ao longo da minha formação, com certeza eles ficaram marcados na minha humilde história, que ainda não acabou! Com a finalização deste capítulo poderei seguir adiante e buscar novos ares, novas histórias e se Deus quiser, novas conquistas.

“Você aí duvidando de si mesmo e as pessoas lá
fora assustadas com o seu potencial”
(Andrew Amaurick)

ESTUDO *IN-SILICO* DO FLAVONOIDE PECTOLINARINA COMO INIBIDOR DA SERINO PROTOASE NS1 DO VÍRUS DA DENGUE

Francisco Aurecio Moraes de Araújo¹

Aluísio Marques da Fonseca²

RESUMO

O vírus da Dengue (DENV) é uma doença negligenciada que afeta vários países no mundo sendo o causador de muitos óbitos. A doença ainda é tratada a partir dos sintomas apresentados pelo paciente, entretanto existem uma vacina licenciada que combate os 4 sorotipos porém pouco divulgada. Pesquisas apontam que a glicoproteína não-estrutural 1 (NS1) é uma das principais responsáveis pela replicação do vírus no interior das células humanas sendo alvo para inibidores. A pectolinarina é um flavonoide extraído das folhas e partes aéreas da espécie vegetal *Lantana camara*, conhecida popularmente como cambará-de-chumbo, tendo apresentado ação antiviral descrita na literatura. O objetivo do trabalho foi realizar um estudo *in silico* entre a pectolinarina e a NS1. Para isso utilizou-se nos testes a metodologia de Docking molecular semirrígido submetendo a pectolinarina como ligante flexível em um encaixe com a NS1 rígida. O ligante foi preparado otimizando a estrutura através software ORCA pela Teoria do Funcional da Densidade (DFT) utilizando o funcional híbrido B3LYP e conjunto de funções tipo Gaussiana 6-31G. O resultado da otimização foi convertido no formato PDBQT utilizando o software Open Babel. O receptor foi trabalhado somente com a corrente A, e preparado removendo os grupos Sulfato e água no Discovery Studio. Após ser submetida a adição dos Hidrogênios polares, checagem de cargas e resíduos no Autodock Tools foi convertida ao formato PDBQT. No receptor foi pesquisado uma cavidade através do Molegro Virtual Docker (MVD) para construção da grade com centros em X= 126.703600, Y= -31.960100 e Z= 20.526600 com os argumentos salvos numa pasta no formato TXT. Os cálculos foram realizados utilizando o pacote Autodock Vina, obtendo 9 posições. Dentre os resultados, a pose 8 teve energia de afinidade de -7,0 Kcal/mol e RMSD L.B de 1.432 e U.B de 2.125 mostrando ser a melhor entre as outras poses. O complexo proteína-ligante foi visualizado pelo software Discovery Studio, apresentando interações do ligante nos aminoácidos GLU A: 326, LYS A: 272, GLU A: 281, THR A: 307, LEU A: 273, THR A: 300. A pectolinarina foi submetida a uma checagem nos parâmetros de Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção (ADME) para saber se ela seria um inibidor efetivo usando a ferramenta SwissADME. Os resultados Físico-Químicos mostraram que a pectolinarina rompe 3 das 5 regras de Lipinski e os dados farmacocinéticos mostraram uma baixa absorção no trato gastrointestinal e biodisponibilidade. Pode-se concluir que mesmo com uma energia favorável a pectolinarina precisará de adaptações estruturais para ser efetiva nos testes *in vitro* e ser utilizada para inibir a NS1 nas células humanas.

Palavras-chave: Dengue. Docking. *in silico*. Pectolinarina.

¹Discente do Curso de Licenciatura em Química da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB.

²Orientador: Doutor em Química pela Universidade Federal do Ceará – UFC.

IN-SILICO STUDY OF PECTOLINARIN FLAVONOIDE AS SERINE INHIBITOR PROTOASE NS1 DENGUE VIRUS

Francisco Aurecio Morais de Araújo¹

Alúísio Marques da Fonseca²

ABSTRACT

The Dengue virus (DENV) is a neglected disease that affects several countries in the world and is the cause of many deaths. The disease is still treated based on the symptoms presented by the patient, however, there is a licensed vaccine that combats the 4 serotypes but is little known. Researches show that the non-structural glycoprotein 1 (NS1) is one of the main responsible for the replication of the virus inside human cells being a target for inhibitors. Pectolinarin is a flavonoid extracted from the leaves and aerial parts of the plant species *Lantana camara*, popularly known as *cambará-de-lead*, having had antiviral action described in the literature. The work aimed to conduct an *in silico* study between pectolinarin and NS1. For this, the semi-rigid molecular Docking methodology was used in the tests, subjecting pectolinarin as a flexible ligand in a fitting with the rigid NS1. The ligand was prepared by optimizing the structure using ORCA software using Density Functional Theory (DFT) using the B3LYP hybrid functional and Gaussian 6-31G function set. The optimization result was converted to PDBQT format using the Open Babel software. The receiver was worked only with current A and was prepared by removing the Sulfate and water groups in Discovery Studio. After being subjected to the addition of polar Hydrogens, checking of loads and residues in Autodock Tools was converted to the PDBQT format. In the receiver, a cavity was searched through the Molegro Virtual Docker (MVD) for the construction of the grid with centers at X = 126.703600, Y = -31.960100 and Z = 20.526600 with the arguments saved in a folder in the TXT format. The calculations were performed using the Autodock Vina package, obtaining 9 positions. Among the results, pose 8 had affinity energy of -7.0 Kcal/mol and RMSD L.B of 1,432 and U.B of 2,125, showing to be the best among the other poses. The protein-ligand complex was visualized by the Discovery Studio software, showing interactions of the ligand in the amino acids GLU A: 326, LYS A: 272, GLU A: 281, THR A: 307, LEU A: 273, THR A: 300. Pectolinarin was subjected to a check on the Absorption, Distribution, Metabolism, and Excretion (ADME) parameters to see if it would be an effective inhibitor using the SwissADME tool. The Physical-Chemical results showed that pectolinarin breaks 3 of the 5 rules of Lipinski and the pharmacokinetic data showed a low absorption in the gastrointestinal tract and bioavailability. It can be concluded that even with favorable energy to pectolinarin it will need structural adaptations to be effective in *in vitro* tests and to be used to inhibit NS1 in human cells.

Keywords: Dengue. Docking. *in silico*. Pectolinarin.

¹Student of the Chemistry Degree Course at the University of International Integration of Afro-Brazilian Lusophony - UNILAB.

²Orientator: PhD in Chemistry from the Federal University of Ceará - UFC.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Distribuição geográfica dos casos da Dengue até 2019.	18
Figura 2 - Estrutura do RNA positivo do Vírus da Dengue.	19
Figura 3 - Representação da planta <i>Lantana camara</i> .	27
Figura 4 - Estrutura química da pectolinarina.	28
Figura 5 - Estrutura da proteína NS1 do vírus da Dengue tipo-1 (4OIG).	33
Figura 6 - Flavonoide pectolinarina obtida no <i>Pubchem</i> .	34
Figura 7 - Comparativo da pectolinarina obtida na <i>PubChem</i> com a otimizada via DFT	38
Figura 8 - Proteína NS1 preparada para o ancoramento.	39
Figura 9 - Seleção da grade utilizada no Docking.	40
Figura 10 - Região de encaixe do ligante no receptor.	43
Figura 11 - Proteínas âncoras e ligações formadas.	43
Gráfico 1 - Geometria molecular otimizada de maior da pectolinarina.	37
Organograma 1 - Etapas do estudo.	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Configurações de otimização do ligante.	35
Tabela 2 - Bases de validação do Autodock Vina.	40
Tabela 3 - Argumento “ <i>conf</i> ” utilizado.	41
Tabela 4 - Afinidade e RMSD obtidos no Docking.	41
Tabela 5 - Dados físico-químicos e farmacocinéticos da Pectolarina.	45

LISTA DE ABREVIações

ADME	Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção
ANVISA	Agência Nacional De Vigilância Sanitária
ARG	Arginina
ASP	Ácido Aspártico
B3LYP	Beck Lee-Yang-Parr
CYS	Cisteína
DENV-1	Dengue Tipo 1
DFT	Density Functional Theory
ECDC	European Centre For Disease Prevention And Control
GLU	Ácido Glutâmico
GLY	Glicina
GTO	Orbitais Tipo Gaussianas
INPUT	Arquivo De Entrada De Dados
LEU	Leucina
LGA	Algoritmo Genético Lamarckiano
LYS	Lisina
MM	Mecânica Molecular
MVD	Molegro Virtual Docker
NS	Não-Estrutural
OMS	Organização Mundial De Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana De Saúde
OUTPUT	Arquivo De Saída De Dados
PDB	Protein Data Bank
PDBQT	Protein Data Bank, Partial Charge (Q), & Atom Type (T)
PHE	Fenilalanina
QM	Mecânica Quântica
RE	Retículo Endoplasmático
RMSD	Root Mean Square Deviation
RMSD L.B	Limite Inferior De RMSD
RMSD U.B.	Limite Superior De RMSD
RNA	Ácido Ribonucleico
SCF	Campo Autoconsistente
SER	Serina
STO	Orbitais Tipo Slater
THR	Treonina
TXT	Documento De Texto

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	13
2.	OBJETIVOS	15
2.1.	OBJETIVO GERAL	15
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3.	JUSTIFICATIVA	16
4.	REFERENCIAL TEÓRICO	17
4.1.	PANORAMA DA DENGUE NO BRASIL	17
4.2.	ESTRUTURA VIRAL DA DENGUE	18
4.3.	EXPLANAÇÃO GERAL SOBRE MODELAGEM MOLECULAR	19
4.4.	MECÂNICA MOLECULAR	20
4.5.	CÁLCULOS <i>AB-INITIO</i> E MÉTODOS <i>SEMI-EMPÍRICOS</i>	21
4.6.	TEORIA DO FUNCIONAL DA DENSIDADE (DFT)	23
4.7.	DOCKING MOLECULAR	24
4.8.	FLAVONOIDE PECTOLINARINA E SUA OBTENÇÃO	26
5.	MATERIAIS E METODOLOGIA	29
5.1.	MATERIAIS	29
5.2.	METODOLOGIA	29
5.2.1.	Obtenção das estruturas nos repositórios online	30
5.2.2.	Preparação do Ligante	30
5.2.3.	Preparação do Receptor	31
5.2.4.	Realização do Docking molecular	31
5.2.5.	Visualização dos resultados	31
5.2.6.	ADME	31
6.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
6.1.	OBTENÇÃO DA NS1 NO REPOSITÓRIO ONLINE	33
6.2.	DESCRIÇÃO DA PECTOLINARINA	34
6.3.	PREPARO DO LIGANTE	35
6.4.	PREPARO DA PROTEÍNA NS1	38
6.5.	SELEÇÃO DA CAVIDADE	39
6.6.	DOCKING MOLECULAR	39
6.7.	RESULTADOS DO DOCKING MOLECULAR	41
6.8.	VISUALIZAÇÃO DO COMPLEXO RECEPTOR-LIGANTE	42
6.9.	PROPRIEDADES ADME DA PECTOLINARINA	44
7.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	46
	REFERÊNCIAS	47

1. INTRODUÇÃO

A Dengue é uma patologia infecciosa conhecida entre as doenças negligenciadas que afeta países no mundo todo com clima tropical e subtropical, e o vírus é um dos principais causadores de mortalidade sendo transmitido pelo mosquito vetor *Aedes aegypti* (LUPI, CARNEIRO, COELHO, 2007). Existem um total de quatro sorotipos do vírus (DENV- 1, 2, 3 e 4) que apresentam sintomas desde febre até complicações hemorrágicas.

O vírus da Dengue apresenta formato esférico e envelopado por uma bicamada lipídica que carrega o material genético Ácido Ribonucleico (RNA) dividindo-se em 3 proteínas estruturais (C, M, E) e 7 proteínas não-estruturais (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5). Estudos apontam a glicoproteína NS1 como a causadora da replicação viral nas células humanas. A doença ainda é tratada a partir dos sintomas apresentados pelo paciente, entretanto existem uma vacina licenciada que combate os 4 sorotipos, porém pouco divulgada (GUY *et al*, 2011).

Com isso, vários laboratórios no mundo todo fazem uma busca constante por novos fármacos ou compostos bioativos que combatem o vírus de uma forma terminante, agindo sobre seus quatro sorotipos conhecidos e inibindo a ação de suas proteínas não-estruturais (GUIDO, ANTRICOPULO, OLIVA, 2010).

O processo de descoberta e análises é muito longo, sendo divididos em várias etapas. Estima-se que um remédio para chegar até o consumidor final demora em média cerca de 10 a 15 anos, isso sendo aprovado em todas as etapas de testes e confirmado para fabricação e comercialização pela ANVISA, órgão que fiscaliza medicamentos no Brasil (GUIDO, ANTRICOPULO, OLIVA, 2010).

A partir daí o uso de simulações computacionais vêm sendo de muita importância para a descoberta de novos agentes inibidores que podem atuar no combate às doenças. Com o avanço da tecnologia, essas simulações que recebem o nome de *in silico* (que significa: auxiliado por computador) apoiam no planejamento, diminuindo significativamente algumas das etapas.

Existem vários métodos de cálculos computacionais. Os mais utilizados são conhecidos como *Ab-initio*, Teoria do Funcional da Densidade (DFT), Semi-empíricos

e Docking molecular (mecânica molecular) que facilitam o desenho e desenvolvimento de novos candidatos a inibidores, conhecidos através de estimativas teóricas. Nesta perspectiva, aplicar os testes *in silico* em pesquisas é de fundamental importância pois aproximam os resultados a valores experimentais (FARIAS, 2018).

Para tanto, o conhecimento aplicado à Química Medicinal é de suma importância, tendo em vista que muitos dos agentes inibidores são encontrados em plantas, extratos ou óleos que as pessoas utilizavam, tudo isso a base de tentativa e erro.

A partir desta perspectiva, o presente trabalho propõe o uso da pectolinarina, um flavonoide extraído das folhas da *Lantana camara* (FONSECA *et al*, 2019), conhecida popularmente como chumbinho ou cambará-de-chumbo (D'OLIVEIRA *et al*, 2018) e comumente utilizada na medicina popular por conter características antivirais. Por este atributo, é possível que ela se torne um inibidor da replicação do vírus nas células humanas. Para isso, a aplicação da modelagem molecular permitirá observar tais propriedades.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

- Simular a interação do flavonoide pectolinarina com a protoase NS1 do vírus da Dengue (DENV-1).

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter a estrutura da pectolinarina e suas propriedades físico-químicas no repositório da *PubChem* (KIM *et al*, 2019)
- Trabalhar com a estrutura cristalográfica da protease NS1 do flavivírus da Dengue tipo 1 (4OIG) complexada e depositada no repositório da *Protein Data Bank* (ROSE *et al*, 2016).
- Preparar o receptor removendo água e Sulfato complexados nas estruturas pelo software Discovery Studio e converter no formato PDBQT via software Autodock Tools (MORRIS *et al*, 2009).
- Realizar um preparo do ligante com otimização geométrica através de cálculos da Teoria do Funcional da Densidade (DFT) usando o ORCA 4.0 (NEESE, 2018) e converter a estrutura do ligante no formato PDBQT utilizando o software Openbabel GUI (O'BOYLE *et al*, 2011)
- Realizar Docking molecular, através do software Autodock Vina (TROTT & OLSON, 2010) e analisar os valores obtidos de Energia de afinidade (Kcal/mol), RMSD L.B e RMSD U.B.
- Visualizar o complexo proteína-ligante pelo Discovery Studio (BIOVIA, 2020) observando as interações bidimensionais da pose da pectolinarina mais estável, apontando os aminoácidos âncoras e as distâncias em angstroms (Å).
- Verificar propriedades ADME da pectolinarina pela ferramenta SwissADME (DAINA, MICHIELIN & ZOETE, 2017).

3. JUSTIFICATIVA

Os testes *in silico* é uma ferramenta muito importante nos estudos de Química Medicinal sendo esta ferramenta utilizado na predição de propriedades moleculares, bem como o estudo de inibidores teóricos de doenças negligenciadas. A necessidade de compreender as técnicas é de extrema importância no contexto de pesquisas na área tendo em vista o baixo custo e tempo das análises. O presente trabalho irá avaliar o comportamento do flavonoide pectolinarina frente a protease NS1 do vírus da Dengue, avaliando um possível efeito inibitório da doença que até o presente momento permanece sem uma cura efetiva.

A interação por Docking molecular em determinada grade e consequentemente avaliar suas propriedades de Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção (ADME) e fazer correlações com o efeito inibitório. Espera-se atrair a atenção para a temática e contribuir para a busca de novos compostos derivados de produtos naturais que possam atuar no combate à Dengue. Com isso, as conclusões pretendem servir de base para outros estudos na área Modelagem Molecular aplicada ao combate de doenças negligenciadas.

4. REFERENCIAL TEÓRICO

4.1. PANORAMA DA DENGUE NO BRASIL

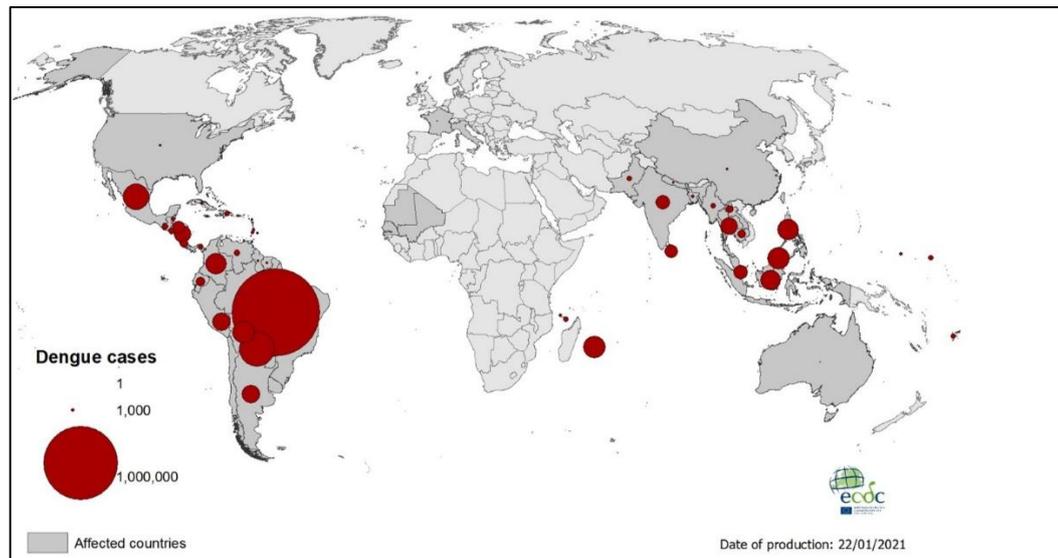
A Dengue durante muito tempo vem sendo uma doença infecciosa negligenciada que afeta diversos países do mundo. O vírus é originário do Egito, no continente Africano sendo que os primeiros casos doença foram registrados no século XVII e espalhados pelo mundo todo no período das grandes navegações (ARAUJO, 2018). Esta doença febril é causada por um arbovírus, pertencente à família Flaviviridae transmitida através da picada do mosquito, podendo ser o *Aedes aegypti* ou *Aedes albopictus*. O clima tropical e subtropical das Américas, Sudoestes Asiático, África e do Leste do Oceano pacífico favorece o surgimento da fêmea do mosquito Aedes que carrega consigo a transmissão do vírus principalmente em áreas urbanas (DO AMARAL & DANSA-PETRETSKI, 2012; ARAUJO, 2018).

Com a adaptação ao clima, o continente Americano no século XIX começou a registrar casos e pequenos surtos em vários países Latino-Americanos, o Brasil foi um deles (LIMA, 2014). Existem 4 sorotipos do vírus denominados DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4 que circulam no país. Além desses, o mosquito vetor carrega consigo os vírus das novas arboviroses Zika e Chikungunya que também causam sérios impactos na saúde pública (ARAUJO, 2018).

Atualmente, segundo o relatório da Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS), em novembro de 2019 foram registrados mais de 2,7 milhões de casos da doença nas Américas, estando presente os 4 sorotipos e com um número alarmante 22.127 casos graves e 1.206 mortes causadas, ficando como uma marca histórica (OPAS/OMS, 2019). Ainda sobre os casos constatados, segundo a OPAS/OMS (2019) o Brasil, por ser um dos países de território extenso e de grande população, teve o maior número desta atualização com cerca de 2.070.170 casos notificados.

Abaixo está representado o mapa adaptado da *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC) que consta a distribuição dos casos de Dengue pelo mundo, podemos verificar que na América do Sul, América Central e o Sudoeste Asiático registraram casos acima de 100.000 pessoas infectadas pelo vírus somente no ano de 2019 (EUROPEAN, 2019).

Figura 1 - Distribuição geográfica dos casos da dengue até 2019.



Fonte: EUROPEAN (2019).

Antes da Pandemia Mundial de COVID-19, nas primeiras semanas de fevereiro de 2020 os dados apresentados no boletim epidemiológico lançado pela OPAS já eram considerados alarmantes, mostrando que o número de casos aumentou no Brasil passando para a marca de 2,226,865 reportados, um aumento de 0,06% na taxa de mortalidade (OPAS/OMS, 2020). Os dados do boletim nas primeiras semanas de junho de 2020, durante a pandemia, mostraram que os casos de Dengue deram uma pequena queda, chegando a 1,6 milhões nas Américas. O Brasil neste período registrou 1,040,481 (OPAS/OMS, 2020).

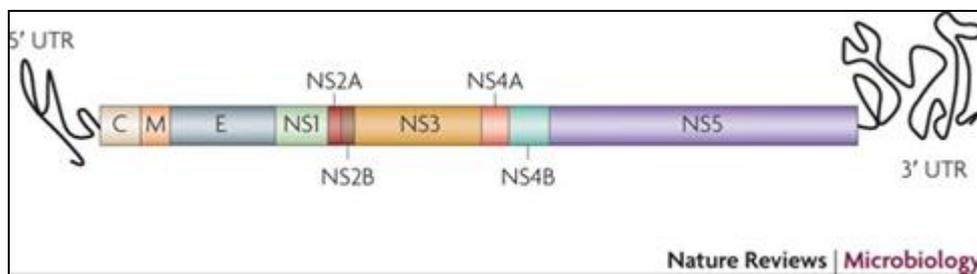
Podemos observar que mesmo com todas as campanhas de prevenção e ações para erradicar o mosquito vetor, muitos casos acontecem em todo o mundo, principalmente nas Américas mostra a importância de entender os mecanismos de ação do vírus nas células humanas para possíveis desenhos de inibidores que combatam o problema.

4.2. ESTRUTURA VIRAL DA DENGUE

O vírus da Dengue apresentam formato esférico, envelopado e com diâmetro de aproximadamente 50 nm (LUPI, CARNEIRO, COELHO, 2007). Todos os sorotipos possuem a constituição do envelope viral feita de uma bicamada lipídica que deriva do retículo endoplasmático (RE) da célula hospedeira, carregando o material genético

ácido ribonucleico (RNA). A tradução do RNA viral na extremidade 5' UTR (em inglês: untranslated region) produz uma poliproteína que se codifica em 10 proteínas virais (LIMA, 2014). Essas proteínas virais que codificam o nucleocapsídeo, geram 3 proteínas estruturais que são denominadas de Capsídeo (C), Membrana (M) e Envelope (E) e 7 proteínas não-estruturais (NS) denominadas NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5 (LIMA, 2014; MURI, 2013). Dessa forma as proteínas estruturais atuam na construção da partícula viral enquanto as não-estruturais atuam no processo de replicação nas células. A figura abaixo representa a estrutura do RNA positivo do vírus da Dengue.

Figura 2 - Estrutura do RNA positivo do Vírus da Dengue.



Fonte: GUZMAN *et al* (2010).

Segundo estudos de Lima (2014) e Do Amaral & Dansa-Petretski (2012) entre outros autores entre as proteínas não-estruturais, a NS1 é a glicoproteína que possivelmente é responsável pela replicação do vírus, podendo ser determinada por testes imunoenzimáticos nas células humanas quando a doença está em níveis consideráveis. Neste contexto, conhecer a estrutura-alvo é muito importante para os estudos e aplicações de simulações que prevejam os modos de interação de um inibidor teórico buscando a posição de ligação de menor energia e maior afinidade (OLIVEIRA, 2018).

4.3. EXPLANAÇÃO GERAL SOBRE MODELAGEM MOLECULAR

A Química computacional, ou Modelagem Molecular (OLIVEIRA, 2018; FARIA, 2018; SOUZA, 2015, FERREIRA, 2013) é um ramo que desenvolve soluções no campo teórico agregando diversas estimativas, simulações, padrões, análises e simplificações para representar fenômenos físicos reais empregados em determinados objetos de estudos. As técnicas utilizam computadores e tem como

base o conhecimento de várias ciências tais como: Química, Física, Ciências da Computação, Biologia e Estatística. O advento da Mecânica Quântica e a melhoria nos métodos de cálculos tornou a Modelagem Molecular uma ferramenta bastante empregada no estudo de sistemas atômicos, moleculares e biológicos (FARIA, 2018; ORTOLAN, 2014).

No âmbito das análises químicas, os testes *in silico* apresentam resultados satisfatórios. No estudo da Química Medicinal, por exemplo, a utilização deste tipo de metodologia que poupa tempo, mostrando resultados eficientes na procura de moléculas bioativas que podem ser sintetizadas posteriormente (SOUZA, 2015). Os testes *in silico* podem ser divididos nas categorias (OLIVEIRA, 2018; OLANDA, 2016):

- Mecânica Molecular;
- Cálculos *Ab-initio*;
- Método *Semi-empíricos*;
- Teoria do Funcional da Densidade (DFT);
- Docking Molecular.

O emprego de computadores e softwares para a resolução de equações da Mecânica Clássica e Quântica permite obter diversas propriedades químicas do sistema estudado. Nos subtópicos será explanado um pouco de cada tema, não será demonstrado todas as equações que compõem os métodos, e sim passos importantes para se compreensão a aplicação de cada um.

4.4. MECÂNICA MOLECULAR

A Mecânica Molecular (MM) baseia-se no método clássico, utilizando de equações da física Newtoniana para assim descrever moléculas como um conjunto de esferas ligadas por molas com constantes de força específicas (OLANDA, 2016). Por ser restrito ao estado fundamental dos átomos, para calcular a energia a MM considera o somatório de todos os termos relacionados a posição de equilíbrio do sistema, conhecida como “campo de força” que demonstra interações de curta e longa distância dependente das coordenadas (ALCÁCE, 2007).

Assim, de uma forma geral, a energia relativa das conformações calculadas no campo de força é dado por [1]:

$$E^{total} = E^{estiramento} + E^{bending} + E^{torcional} + E^{interação} \quad [1]$$

Sendo as componentes da energia total:

$$E^{estiramento} = \sum_{\text{ligações}} k_b(r - r_0)^2 \quad E^{torcional} = \sum_{\text{torções}} A(1 + \cos r\pi - \phi)$$

$$E^{bending} = \sum_{\text{ângulos}} k_0(\theta - \theta_0)^2 \quad E^{int} = \sum_i \sum_j \frac{-A_{i,j}}{r_{i,j}^6} + \frac{B_{i,j}}{r_{i,j}^{12}} + \sum_i \sum_j \frac{q_i q_j}{r_{i,j}}$$

Apesar de ser aplicado a estados eletrônicos fundamentais, a utilização da MM é variada, podendo simular pequenas moléculas e compostos biomacromoléculares (proteínas, peptídeos e oligopeptídeos) sendo eficiente para descrever esses sistemas e suas propriedades cinéticas e termoquímicas (OLIVEIRA, 2018; OLANDA, 2016).

4.5. CÁLCULOS *AB-INITIO* E MÉTODOS *SEMI-EMPÍRICOS*

Grandes avanços na estrutura atômica se dão pela compreensão da Mecânica Quântica (QM). Cálculos *Ab-initio* (do latim: primeiros princípios) fundamentam-se na utilização de constantes físicas para solucionar a equação de Schrödinger, a fim de obter uma maior exatidão no resultado. O método obedece o princípio variacional, em que a energia obtida através de uma função de onda aplicada na tentativa sempre será maior ou igual a função de onda real (ALCÁCE, 2007). Assim a função de onda (Ψ) é responsável por carregar os dados necessários para os cálculos matemáticos, para descobrir a energia de um sistema de interesse, pode-se utilizar a equação de Schrödinger, não relativística e independentemente do tempo (t) dada na equação [2] (MORGON, 2001):

$$E\Psi = \hat{H}\Psi \quad [2]$$

Pela equação, a energia total do sistema (E) é descrita por um operador Hamiltoniano (\hat{H}), responsável por realizar os cálculos necessários na função de onda, desenvolvendo sem alterações e apresentando a energia do sistema de interesse. Em sua utilização, \hat{H} deve estar descrito com todos os parâmetros que podem influenciar na energia do sistema. O \hat{H} é representado como [3] (ALCÁCER, 2007)

$$\hat{H} = -\sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_1^2 - \sum_{l=1}^M \frac{1}{2M_l} \nabla_1^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{l=1}^M \frac{Z_l}{r_{i,l}} + \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j=i+1}^N \frac{1}{r_{i,j}} + \sum_{l=1}^{M-1} \sum_{j=l+1}^M \frac{Z_l Z_j}{r_{l,j}} \quad [3]$$

Os primeiros termos da equação são os descritores da energia cinética dos elétrons presentes no sistema calculado, enquanto o segundo termo são as interações realizadas. Com base em interações eletrostáticas, é definido como [4]:

$$\hat{H} = \left(\begin{array}{c} \text{energia cinética} \\ \text{dos elétrons} \end{array} \right) - \left(\begin{array}{c} \text{energia eletrostática de} \\ \text{qualquer elétron com o núcleo} \end{array} \right) \quad [4]$$

Para calcular esses descritores, faz-se necessário utilizar aproximações para que convergem ao valor real. Aproximação de Born-Oppenheimer foi utilizada por um período de tempo, entretanto, por não considerar no cálculo do descritor \hat{H} a repulsão elétron-elétron, assume somente a existência de interações com o núcleo (ALCÁCE, 2007). Utilizando aproximações da interação sem solucioná-la, o método Hartree-Fock foi desenvolvido considerando a função de onda global um produto de funções monoelétrônicas definidas como [5]:

$$\Psi(r_1 r_2 r_3 \dots r_n) = \Psi(r_1) \Psi(r_2) \Psi(r_3) \dots \Psi(r_n) \quad [5]$$

O que não considera a repulsão elétron-elétron, assumindo que cada um está em seu orbital sem a interação com nenhum outro, conhecido como aproximação-orbital ou spin-orbital (ALCÁCER, 2007). A falha nessa consideração é que essa aproximação não leva em consideração o Princípio da exclusão de Pauli (ALCÁCER, 2007), onde os elétrons são representados por funções assimétricas quanto a troca de coordenadas.

Para solucionar esse problema outras formulações matemáticas foram desenvolvidas, sendo conhecidas como métodos pós-Hartree-Fock (ALCÁCER, 2007). O método do campo Autoconsistente (SCF) (ALCÁCER, 2007) aplica inicialmente uma Ψ qualquer que será trabalhada nos cálculos, obtendo funções melhoradas, repetindo esse ciclo até ser finalizado com a energia do sistema. Ele ainda é

empregado em software de Química computacional, um exemplo o ORCA (NEESE, 2018). Nesta aproximação é considerado todo método como matrizes, resumindo temos a equação [6] que descreve as matrizes de coeficiente (c), matriz energética (ϵ), matriz Fock (F) e a matriz de sobreposição (S) (ALCÁCER, 2007).

$$Fc = Sc\epsilon \quad [6]$$

Para átomos pequenos, como o Hidrogênio (H) e o Hélio (He), podemos encontrar resultados válidos, mas ao aplicarmos cálculos *Ab-initio* a sistemas de polieletrônicos, moléculas orgânicas, polímeros ou proteínas os resultados são mais complexos e sem solução concreta (OLIVEIRA, 2018), requerendo dos computadores uma alta taxa de processamento, o que não é favorável (PESSÔA *et al*, 2018).

A fim de solucionar algumas integrais e diminuir o tempo e processamento computacional, os métodos *Semi-empíricos* foram desenvolvidos utilizando valores experimentais mesclados junto a teoria (GARCIA, 2014). O método é parametrizado, pois utiliza o campo Autoconsistente sem solucionar a matriz de Fock, tornando-se necessário ajustes para ocorrer uma concordância com os valores experimentais e assim solucionar a equação de Schrödinger através de uma série de aproximações (PESSÔA *et al*, 2018).

Em poucas palavras, as aproximações *Semi-empíricas* podem ser aplicadas a sistemas polieletrônicos, desde centenas até dezenas de milhares de átomos, sendo fundamentais no estudo de otimização de proteínas descrevendo de forma semelhante propriedades obtidas por métodos *Ab-initio* com um menor esforço computacional (LEAL *et al*, 2010). Entretanto, a exatidão de uma técnica é inversamente proporcional a quantidade de elétrons presentes, sendo necessário o desenvolvimento de cálculos que trabalhem com grandes estruturas e sejam precisos.

4.6. TEORIA DO FUNCIONAL DA DENSIDADE (DFT)

Dentre os métodos quânticos, a Teoria do Funcional da Densidade (do inglês: *Density Functional Theory*) vem ganhando grande destaque nas pesquisas de Modelagem Molecular (PESSÔA *et al*, 2018), o método consiste em utilizar a densidade eletrônica (ρ) ao invés da função de onda (Ψ) como funcional para

descrever a energia de um conjunto de elétrons, referindo-se a densidade como um conjunto de funções lineares semelhantes às de Hatree-Fock (GARCIA 2014).

A densidade é comumente definida como a probabilidade de se encontrar um elétron no espaço, assim ela se torna função do quadrado do módulo da função de onda como mostra a equação 7 (PAULINO, 2018). Assim ela será a mesma independente do sistema estudado, sendo uma função das coordenadas espaciais X, Y e Z (PAULINO, 2018).

$$\rho(E) = |\Psi(E)|^2 \quad [7]$$

O problema de vários elétrons é resolvido como o somatório aplicado apenas um elétron por utilização de funcionais, reduzindo cálculos e otimizando o custo computacional, sendo relativamente baixo se comparado ao método Ab-initio convencional e Semi-empíricos onde a complexidade aumente conforme o número de elétrons do sistema. (PAULINO, 2018; ORTOLAN, 2014).

Os funcionais utilizados pelo método DFT são ferramentas importantes para obter propriedades moleculares. Existem duas classes de funcionais, podendo basear-se por *Ab-initio* com desenvolvimento de equações fundamentais da Mecânica Quântica ou utilizar-se de parametrizações de funções com a representação de dados empíricos semelhantes ao método Semi-empírico (GARCIA, 2014).

Um dos funcionais mais utilizados no âmbito de pesquisas é o B3LYP, sendo este híbrido e composto de um funcional de troca de *Beker* (B) e três funcionais paramétricos de correlação de *Lee-Yang-Parr* (3LYP) suficiente para representar uma gama de aplicações em moléculas orgânicas como geometria molecular, reatividade, estados de transição eletrônica, frequências entre outras (PESSÔA *et al*, 2018; GARCIA, 2014).

Assim, utilizar o método DFT e o funcional híbrido B3LYP na otimização geométrica de ligantes pode ser uma alternativa viável no estudo de compostos bioativos, pois é um modelo que demonstra bom desempenho entre os modelos teóricos, podendo ser prático e simples de processar em computadores, obtendo uma conformação de energia mínima próxima a um valor real (PESSÔA *et al*, 2018; FARIA, 2018).

4.7. DOCKING MOLECULAR

Métodos de Docking (da tradução em inglês: ancoramento) são utilizado nas áreas da Quimioinformática e Bioinformática como ferramenta metodológica estrutural, capaz de prever possíveis interações de um ligante com um determinado receptor, seja ela macromolécula, proteína, receptores de membrana ou enzimas fazendo exaustivas tentativas a fim de encaixar no alvo (VERLI, 2014; ALVES, 2018).

Seguindo o modelo de “chave-fechadura” proposto por Emil Fischer em 1894 (VERLI, 2014), o ligante (chave) ao encaixar na proteína receptora (fechadura) buscando sempre a conformação de baixa energia e alta afinidade (FERREIRA, 2013) numa cavidade (buraco da fechadura) formando um complexo importante no planejamento de fármacos (QEVEENDO, 2016). Existem modelos pré-determinados de conformações que o complexo receptor-ligante pode apresentar, definidos como modelos rígido, semirrígido e flexível (DIAS, AZEVEDO JR, 2008).

O modelo rígido é mais completo em comparação com os outros modelos, pois tanto o ligante quanto o receptor não sofrem alterações no espaço de busca e o local da cavidade é estabelecido por uma grade (da tradução inglês: Grid) limitada (OLIVEIRA, 2016). O modelo semirrígido é comumente utilizado no Docking molecular, nele o ligante é flexível e sofre diversas modificações na estrutura (torções, estiramentos) enquanto o receptor permanece imutável (QUEVEEDO, 2016). No modelo flexível de Docking, ambos ligante e receptor apresentam mudanças na conformação com a finalidade de um ajuste de energia mínima entre ambos (VERLI, 2014).

Dentre os softwares mais comuns para cálculos de Docking molecular, grande parte apresenta funções que facilitam o trabalho. Existem várias funções disponíveis para qualquer tipo de ancoramento sendo as mais abordadas: funções de pontuação e os Algoritmos Genéticos (DIAS, AZEVEDO JR, 2008).

As funções de pontuação (da tradução inglês: Score) avaliam a qualidade e orientação do algoritmo de ancoragem e os únicos fatores de interferência no processo de formação são as energias de interação presente nas moléculas, as

energias de solvatação e dessolvatação e os fatores entrópicos nas ligações químicas (MUNIZ, 2018). Para minimizar esses efeitos, as funções de pontuação baseiam-se em valores empíricos dados por campos de forças (OLIVEIRA, 2018).

Nas funções de pontuação empíricas a energia de ligação se decompõe em diversos componentes de energia onde cada um é multiplicado por um coeficiente e depois resumido para dar a pontuação final e o coeficiente é obtido a partir de regressão. Baseadas no conhecimento utilizam estruturas cristalográficas complexadas de receptor-ligante para determinar a frequência de contato interatômico sendo quanto mais favorável for uma interação, maior será sua frequência de ocorrência. A pontuação é calculada favorecendo contatos preferenciais e penalizando interações repulsivas entre cada átomo no receptor junto ao ligante (MUNIZ, 2018).

Os Genetics Algorithm são derivados da biologia evolutiva, sendo parte de algoritmos evolutivos utilizados para solucionar problemas na otimização e busca (OLANDA, 2016). Os Genetics Algorithm aplicados no Docking levam em consideração o genótipo análogo ao ligante, sendo o fenótipo as coordenadas atômicas no receptor, onde pares aleatórios de indivíduos são cruzados e enfrentam mutações. Este tipo de operação genética faz com que os indivíduos evoluam e as soluções mais aptas reproduzem enquanto as inadequadas desaparecem (OLANDA, 2016; MORRIS *et al*, 1998).

O software utilizado na pesquisa foi o Autodock Vina (TROTT & OLSON, 2010) que utilizam o Algoritmo Genético Lamarckiano (LGA), este consiste em um funcional híbrido que melhora o desempenho do Algoritmo Genético na busca no espaço torcional, resolvendo os graus de liberdade e minimizando a energia dos ligantes (MORRIS *et al*, 1998).

Resumindo, para a aplicação da técnica devemos conhecer as estruturas dos compostos candidatos a simulação, definir o modelo utilizado e conhecer a função base do cálculo, com isso a aplicação de um ligante otimizado pelo método DFT junto a um Docking utilizando o Algoritmo Genético Lamarckiano podem gerar na simulação resultados mais aproximados com o valor real, sendo o complexo proteína-ligante

ainda mais estável minimizando possíveis erros de falsos-positivos no decorrer das pesquisas (SOUZA, 2015).

4.8. FLAVONOIDE PECTOLINARINA E SUA OBTENÇÃO

A *Lantana camara*, é uma planta da espécie verbenaceae (FONSECA *et al*, 2019) que é facilmente encontrada em território brasileiro, indo desde o Norte ao Sul do país podendo ser encontrada também em outras áreas de clima tropical ou subtropical (D'OLIVEIRA *et al*, 2018). Entre suas características botânicas (figura 3) destaca ser um arbusto perene na forma de moitas, com caule ramificado e entrelaçado, muitas vezes coberto de pequenos espinhos, podendo chegar até 2 metros de altura. É uma planta popularmente conhecida como camará-de-cheiro, chumbinho, camará-da-folha-grande, cambará, camará-de-chumbo etc (MENDES, 2018). Além do Brasil, ela pode ser encontrada em outros países como Argentina, Colômbia, Estados Unidos, África Do Sul, Índia e Austrália (D'OLIVEIRA *et al*, 2018).

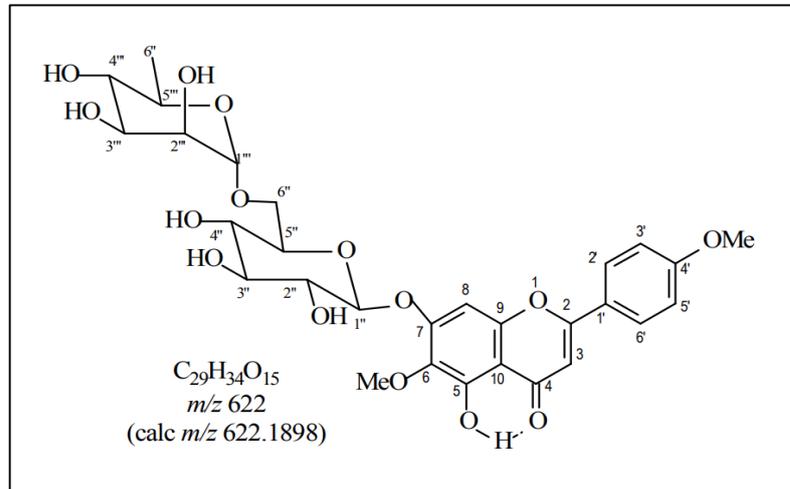
Figura 3 - Representação da planta *Lantana camara*.



Fonte: MENDES (2018).

Da planta, nas partes de seu caule e folhas pode ser extraída o flavonoide pectolinarina, representada na figura abaixo:

Figura 4 - Estrutura química da pectolinarina.



Fonte: FONSECA *et al* (2019).

Apesar da *Lantana camara* ser conhecida como uma planta tóxica devido ação de seus triterpenos lântano A e lântano B, que causa fotossensibilidade, diminuição dos movimentos do rúmen, anorexia, inquietação e lesões no fígado quando são ingerida as folhas, caule e frutos por bovinos, caprinos entre outros animais (D'OLIVEIRA *et al*, 2018), ela é conhecida na medicina popular por conter características antissépticas, antipasmódicas além de agir contra sintomas de resfriados, gripe, diarreia, hemorragia além de atuar contra a replicação as larvas do mosquito *Aedes aegypti* (ZENIMORI e PASIN, 2006).

Com base neste fator, o estudo teórico foi realizado a fim de saber se a pectolinarina pode ter características inibitórias da replicação do vírus da Dengue, como descrito na medicina popular, a fim de utilizá-la futuramente como alternativa farmacoterapêutica.

5. MATERIAIS E METODOLOGIA

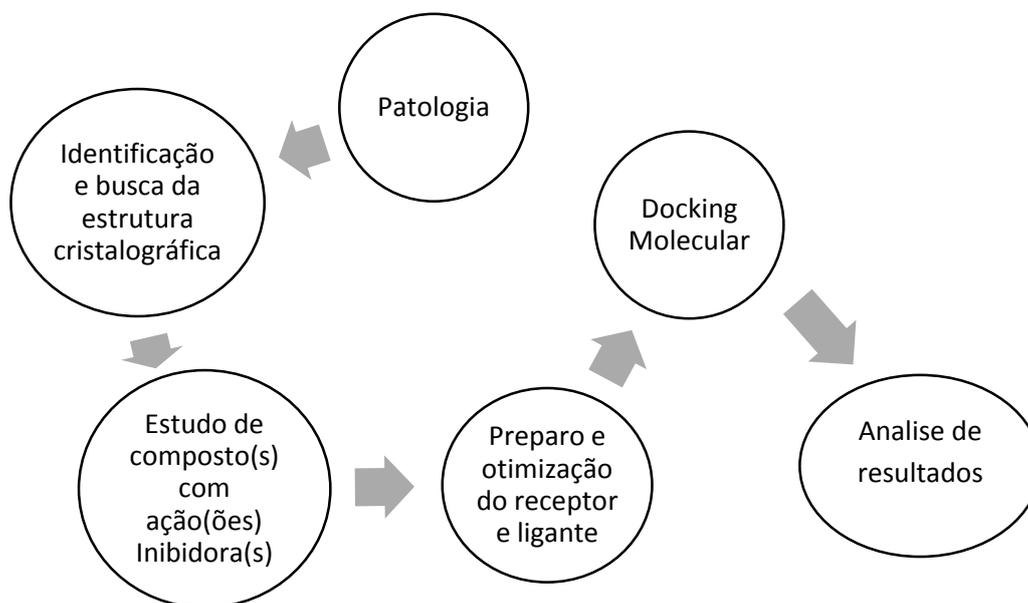
5.1. MATERIAIS

Para o desenvolvimento das atividades foi utilizado um computador pertencente ao Laboratório de Química Orgânica do Instituto de Ciências Exatas e da Natureza (ICEN) da Universidade da Integração da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB) para os experimentos computacionais com processador Intel® Core i5-3470 de velocidade 3,2 GHz e 4,0 GB de memória RAM.

Foram instalados os softwares de licença gratuita Autodock Tools (MORRIS *et al*, 2009), Autodock Vina (TROTT & OLSON, 2010), Avogadro (RAYAN; RAYAN, 2017), Discovery Studio (BIOVIA, 2020), OpenBabel GUI (O'BOYLE, 2011) e ORCA (NEESE, 2018). Com os softwares instalados foram manuseadas pequenas moléculas, estruturas desenhadas ou obtidas nos repositórios on-line.

5.2. METODOLOGIA

A metodologia do trabalho é baseada numa pesquisa experimental conforme Félix e col. (2018) com intuito de demonstrar a interação entre a pectolinarina e o receptor NS1. Conforme as etapas subsequentes, os testes seguiram o raciocínio organizado no organograma 1 adaptado com base nos trabalhos de Ruba, Arooj, Naz (2014); Bezerra, Marinho, Marinho (2017); Silva *et al* (2017); Fonseca *et al* (2020) e Guido, Antricipolo, Oliva (2010).

Organograma 1 - Etapas do estudo.

Fonte: Próprio Autor, 2020.

5.2.1. Obtenção das estruturas nos repositórios online

A proteína protease não-estrutural NS1 do vírus da Dengue tipo 1 (DENV-1) foi buscada no repositório internacional da *Protein Data Bank* (ROSE *et al*, 2016). Realizou-se uma busca da estrutura do flavonoide pectolarina no repositório *PubChem* (KIM *et al*, 2019). Logo após, as estruturas foram submetidas a uma preparação para utilizar no Docking molecular de receptor-ligante.

5.2.2. Preparação do Ligante

A pectolarina obtida foi submetida a uma otimização geométrica utilizando o método DFT no pacote de química computacional ORCA (NEESE, 2018) com o intuito de utilizá-la geometricamente a fim de obter a estrutura molecular mais estável, podendo ser utilizado como ligante flexível no Docking. A geometria mais estável foi convertida para o formato PDBQT utilizando o software OpenBabel GUI (O'BOYLE, 2011).

5.2.3. Preparação do Receptor

Por meio do software Discovery Studio (BIOVIA,2020) foi removido os ligantes complexados na forma co-cristalizada Como a estrutura apresenta 4 cadeias (A, B, C e E) foi utilizado apenas o monômero A, submetida a checagem de cargas, reparo de átomos, adição de hidrogênios polares utilizando o Autodock Tools (MORRIS *et al*, 2009). No software Molegro Virtual Docking (MVD) (PUSPANINGTYAS, 2015) é possível obter cavidades na proteína, dadas em coordenadas X, Y e Z da 4OIG executada na construção da grade pelo Autodock Tools onde o ligante irá se encaixar. Após o preparo a proteína foi convertida no formato PDBQT.

5.2.4. Realização do Docking molecular

O Docking molecular utilizado será semirrígido, com receptor rígido e o flavonoide como ligante flexível. O cálculo da interação foi realizado no pacote Autodock Vina (TROTT & OLSON, 2010) através do Algoritmo Genético Lamarckiano. A ligação mais favorável com base no receptor, deve estar entre os valores de energia menores que -6,0 Kcal/mol e RMSD U.B e L.B menores ou iguais a 2, calculados na região da cavidade da NS1 (FONSECA *et al*, 2020).

5.2.5. Visualização dos resultados

Utilizando o software Discovery Studio (BIOVIA, 2020) ocorrerá a análise das interações Bidimensionais do complexo proteína-ligante obtido, levando em conta as distâncias obtidas em angstroms e as ligações do ligante com os aminoácidos atracados.

5.2.6. ADME

Visando a previsão de Excreção de Metabolismo, Distribuição e Absorção (ADME), com o intuito de prever a propriedade ADME em ligantes com base em sua estrutura, como grupos funcionais e propriedades moleculares, ou seja, Peso Molecular (M W), número de Doadores de Ligação de Hidrogênio (HBD), número de

Aceitadores de Ligação de Hidrogênio (HBA), Acessibilidade de Solventes Polares (PSA), Coeficiente de Partição Octano/Água (LogP) foi realizado um teste *in silico* utilizando a ferramenta SwissADME (<http://www.swissadme.ch/index.php>).

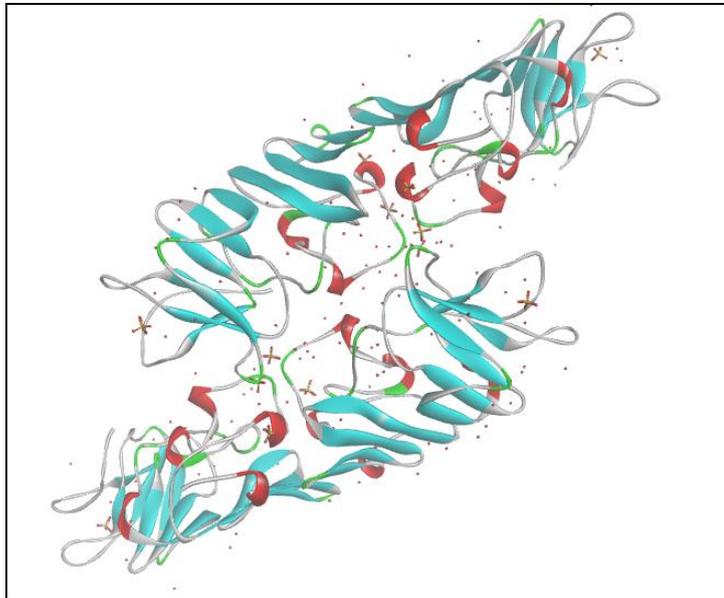
Onde o ideal será observar se a pectolinarina compostos violam ou não o teste ADME, uma vez que compostos podem possuir baixa capacidade de atravessar as membranas biológicas. Portanto, caso apresente ou se aproxime de escores de semelhança de ADME e Drug tem chances de ser selecionado para novos testes de avaliação de risco de toxicidade.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. OBTENÇÃO DA NS1 NO REPOSITÓRIO ONLINE

A proteína de Não-Estrutural 1 do vírus da Dengue na figura 5, está depositada no repositório online *Protein Data Bank* (www.rcsb.org) pelo código 4OIG, obtida através do método experimental de difração de raio-X com a resolução de 2,69 Å, R-Value Free: 0,268 e R-Value Work: 0,220 (EDELING, DIAMOND, FREMONT, 2014).

Figura 5 - Estrutura da proteína NS1 do vírus da Dengue tipo-1 (4OIG).



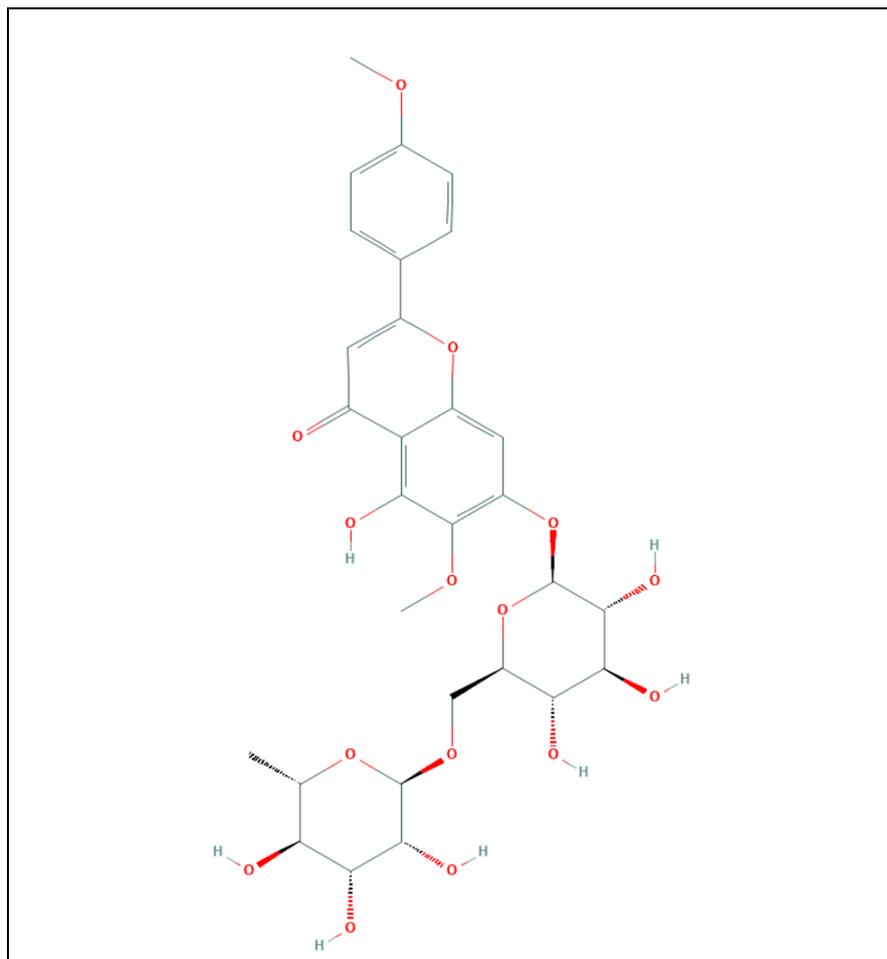
Fonte: *Protein Data Bank* (EDELING, DIAMOND, FREMONT, 2014).

Ainda na figura 5 nota-se alguns grupos sulfatos complexados no formato de gravetos além de pequenos pontos de coloração vermelha que representam as moléculas de água presentes no meio. Para a aplicação de alguns testes *in silico* com otimização da proteína e Docking a remoção dessas classes é de fundamental, pois facilita a interação com novos ligantes candidatos a inibidores, minimizando o tempo e o custo computacional realizados pelos softwares de modelagem, resultando em dados mais confiáveis. (CANTO, 2011).

6.2. DESCRIÇÃO DA PECTOLINARINA

A pectolinarina representada na figura 6 é um dos flavonoides extraídos das plantas da família verbenaceae como a *Lantana camara* (FONSECA *et al*, 2019) com fórmula molecular $C_{29}H_{34}O_{15}$. Sua estrutura foi obtida no repositório online da *Pubchem* através do código CID 168849 (NATIONAL, 2020).

Figura 6 - Flavonoide pectolinarina obtida no *Pubchem*.



Fonte: *Pubchem* (2020).

A molécula recebe o nome de 5-hidroxi-6-metoxi-2-(4-metoxifenil)-7-[(2S, 3R, 4S, 5S, 6R)-3,4,5-tri-hidroxi-6-[[[(2R, 3R, 4R, 5R, 6S)-3,4,5-tri-hidroxi-6-metiloxan-2-il] oximetil] oxan-2-il] oxicromen-4-ona pela União Internacional De Química Pura e Aplicada (IUPAC). Analisando a imagem acima, pode-se notar a presença do grupo flavonoide, composto de um anel aromático benzênico e um grupo crome-4-um, dois anéis tetrahidropirano como também vários grupos álcoois (hidroxila) que favorecem o surgimento de possíveis interações de hidrogênio.

6.3. PREPARO DO LIGANTE

Para a otimização do ligante foi utilizado o software de cálculos quânticos ORCA na versão 4.0 (NEESE, 2018), com ele foi possível aplicar o DFT que usa a densidade molecular para obter dados precisos de geometria. Ao utilizar funções para calcular orbitais tipo Gaussianas (GTO) o programa oferece resultados mais detalhados que orbitais tipo Slater (STO) convertendo melhor as equações e tornando eficiente o campo autoconsistente (SCF) para que o computador consiga interpretar.

Na otimização da pectolarina foi empregado uma combinação de 6 funções gaussianas para os elétrons mais internos e uma base *doble zeta* (PESSOA *et al*, 2018) de funções para a camada de valência, sendo 3 combinações lineares de funções gaussianas e 1 pura (6-31G) junto ao funcional híbrido B3LYP, obtendo as coordenadas cartesianas da otimização com energia mínima. As configurações gerais utilizadas se encontram na tabela 1.

Tabela 1 - Configurações de otimização do ligante.

Configurações do SCF	
Hamiltoniano:	
Funcional da Densidade (Método)	DFT (GTOs)
Funcional do Exchange (Exchange)	B88
Parâmetro X-Alpha (XAlpha)	0.666667
Parâmetro b de Becke (XBeta)	0.004200
Funcional de Correlação	LYP
LDA parte do GGA corr. LDA Opt	VWN-5
Opção de gradientes PostSCFGGA	Off
Hybrid DFT está ligado:	

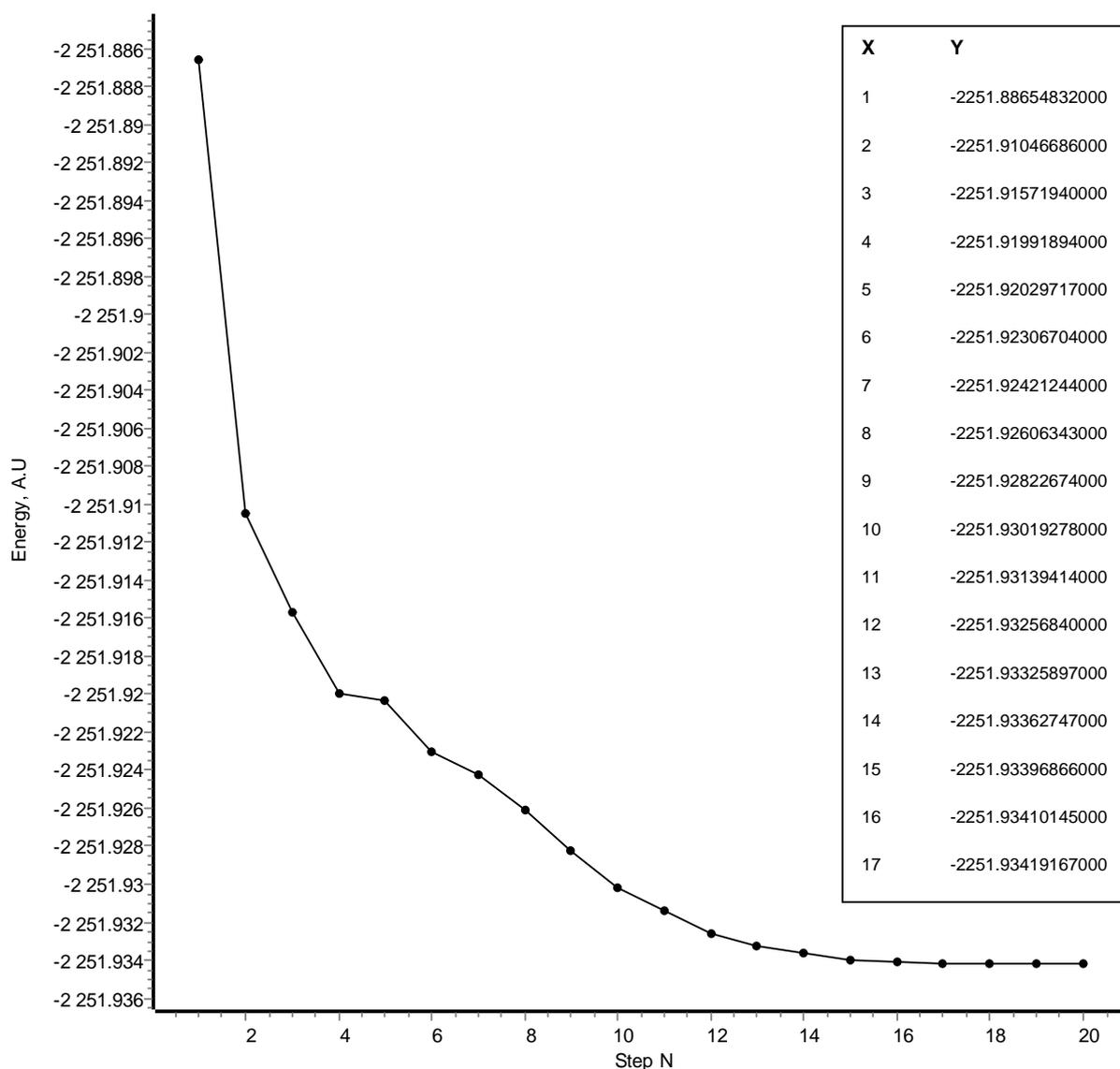
Fração HF Exchange ScalHFX	0.200000
Dimensionamento de DF-GGA-X ScalDFX	0.720000
Dimensionamento de DF-GGA-C ScalDFC	0.810000
Dimensionamento de DF-LDA-C ScalLDAC	1.000.000
Correção perturbativa	0.000000
Parâmetro de curto alcance NL	4.800000

Configurações Gerais:

Arquivo	Pectolarina
Hartree-Fock	RHF
Carga total	0
Multiplicidade	1
Número de elétrons	328
Dimensão Básica	464
Repulsão Nuclear	5851.6250167947 Eh

Fonte: Próprio Autor, 2020.

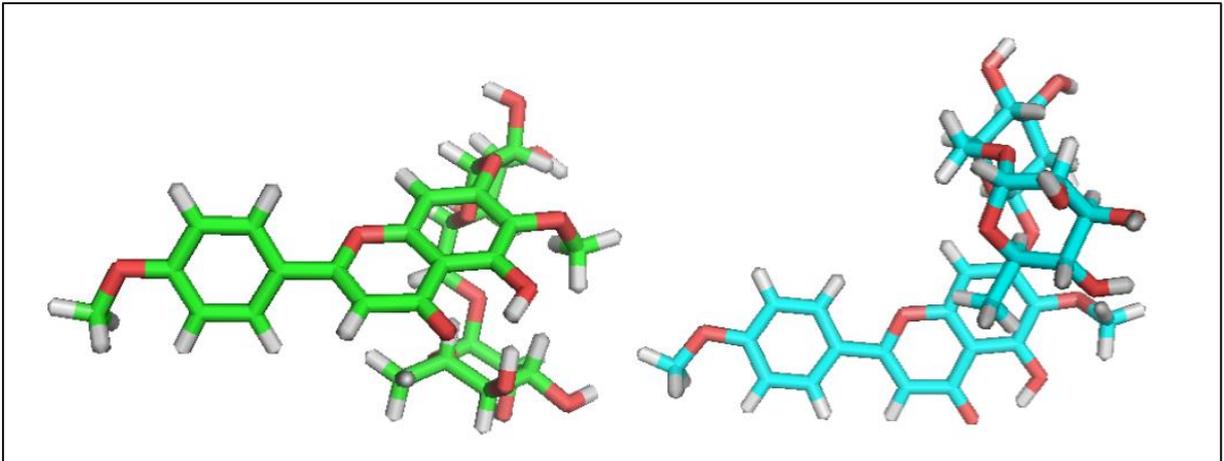
Ao final do cálculo foi gerado um arquivo de saída no formato *output* com as energias trabalhadas de acordo com os ciclos de otimização, sendo possível plotar o gráfico de estabilidade descrito abaixo:

Gráfico 1: Geometria molecular otimizada do ligante.

Fonte: Próprio autor, 2020.

Dentre os resultados, foi possível encontrar um ponto onde houve uma certa linearidade na estrutura. Se for comparada a molécula encontrada no repositório *Pubchem* com a encontrada após a otimização, nota-se que houve torções mais características nos ângulos dos anéis tetrahidropirano, mudando geometricamente de posição no plano espacial. A figura 7 demonstra essa diferença após a otimização via método DFT, a estrutura verde é a obtida no repositório *Pubchem* e a ciano é a otimização geométrica.

Figura 7 - Comparativo da pectolarina obtida na *Pubchem* com a otimizada via DFT.



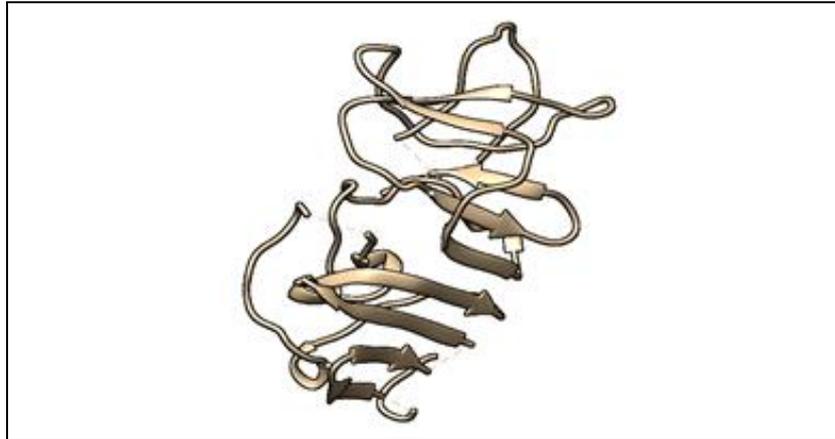
Fonte: Visualização no Autodock Tools (MORRIS *et al*, 2009).

O uso do método quântico proporcionou mudanças nos ângulos das ligações químicas dos anéis tetrahidropirano com base nos anéis aromáticos do grupo flavonoide, onde a molécula obtida do *Pubchem* está à frente do plano do visualizador e a otimização DFT está atrás do plano do visualizador. Com a otimização pôde-se adquirir um ligante com energia mínima (PESSÔA *et al*, 2018), podendo este ser utilizado frente a proteína NS1. Pelo Autodock Tools (MORRIS *et al*, 2009), o ligante foi convertido em um arquivo de formato PDBQT para ser utilizado posteriormente no ancoramento.

6.4. PREPARO DA PROTEÍNA NS1

Na figura 8 é possível ver a cadeia A da NS1 após o preparo no Autodock Tools (MORRIS *et al*, 2009) com a adição os Hidrogênios polares e checagem de resíduos aminoácidos e a carga. A estrutura está pronta para a utilização no Docking molecular pois não existem mais resíduos soltos na proteína que poderiam influenciar nos resultados na execução do ancoramento

Figura 8 - Proteína NS1 preparada para o ancoramento.



Fonte: Visualização pelo USCF Chimera (PETTERSEN *et al*, 2004).

6.5. SELEÇÃO DA CAVIDADE

Nas proteínas existem Bolsos e Cavidades que são espaços vazios acessíveis a solventes. Essas regiões topográficas são relevantes nas pesquisas de Docking pois a partir deste dado pode-se obter o local de possível interação, capaz de encaixar um ligante de tamanho semelhante ou maior que busca, formando um complexo proteína-ligante de conformação estável. Utilizando o Molegro Virtual Docker (PUSPANGTYAS, 2015) conhecido também como MVD, foi possível encontrar um local atrativo na proteína com coordenadas cartesianas descritas em X= 126,703600, Y= -31,960100 e Z= 20,526600.

6.6. DOCKING MOLECULAR

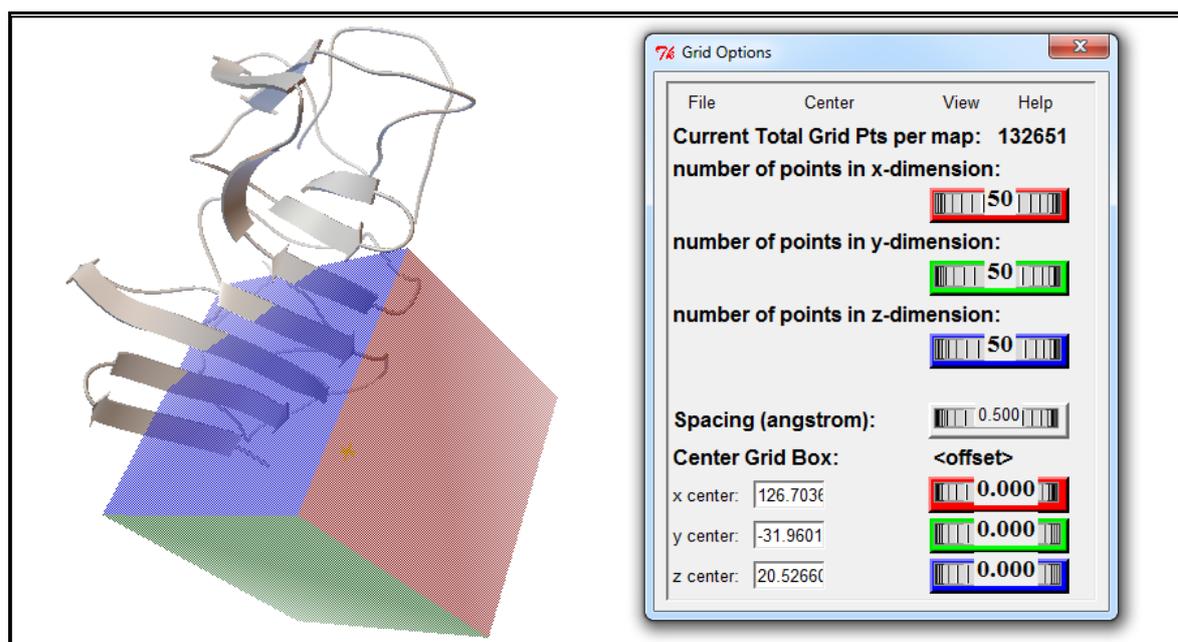
No presente trabalho foi aplicado um Docking molecular semi-flexível (CRAVO, 2012). Como a estrutura original só apresenta complexado os grupos sulfatos e não um ligante específico ficou difícil para comparação da região de encaixe. O Docking trabalha na predição da afinidade do ligante presente em um determinada cavidade encontrada no receptor de interesse, para a validação do ancoramento foram levados em consideração energias menores que - 6,0 Kcal/mol e desvios de RMSD menores ou iguais a 2 angstroms (Å) descritos na tabela abaixo.

Tabela 2 - Bases de validação do Autodock Vina.

Energia de afinidade	< - 6,0 Kcal/mol
RMSD U.B	≤ 2,0 Å
RMSD L.B	≤ 2,0 Å

Fonte: FONSECA *et al*, 2020.

A grade de encaixe para o ligante construída no receptor por meio do software Autodock Tools (MORRIS *et al*, 2009), criada levando em consideração as coordenadas oferecidas pelo MVD na seleção da cavidade, salvando no arquivo PDBQT do receptor com tamanho de 50, representado na figura 9.

Figura 9 - Seleção da grade utilizada no Docking.

Fonte: Visualização no Autodock tools (2020).

Após a construção da grade foi gerado um arquivo *input* com os argumentos para serem calculados no software Autodock Vina (TROTT & OLSON, 2010) salvo como nome “*conf*” no formato TXT, em seguida foi adicionado na pasta do computador um arquivo em branco no formato TXT com o nome “*log*” que receberá os dados. A tabela 3 demonstra o argumento utilizado.

Tabela 3 - Argumento “conf” utilizado.

center_x	126.703600
center_y	-31.960100
center_z	20.526600
size_x	50
size_y	50
size_z	50
exhaustiveness	8

Fonte: Autodock Tools (MORRIS *et al*, 2009).

6.7. RESULTADOS DO DOCKING MOLECULAR

O pacote Autodock Vina (TROTT & OLSON, 2010) fez o ligante percorrer todo espaço tridimensional da grade a fim de encontrar posições favoráveis com base no Algoritmo Genético Lamarckiano (MORRIS *et al*, 1998). Ao final do cálculo foi possível obter uma sequência de valores para essas poses descritas na tabela abaixo.

Tabela 4 - Afinidade e RMSD obtidos no Docking.

Poses do Ligante pectolinarina	Energia de afinidade (Kcal/mol)	RMSD L.B	RMSD U.B
1	- 7,6	0,000	0,000
2	- 7,5	7.092	12.181
3	- 7,4	2.275	4.078
4	- 7,3	8.920	13.935
5	- 7,3	1.779	11.300
6	- 7,2	1.627	2.761
7	- 7,2	1.817	11.558

8	- 7,0	1.432	2.125
9	- 7,0	1.884	2.776

Fonte: Autodock Vina (TROTT & OLSON, 2010).

O primeiro resultado é o referente à própria estrutura inicial, por essa razão os valores de RMSD não são alterados. Os próximos valores são comparados com o primeiro, assim a mudança no RMSD leva em consideração a conformação do ligante com base na afinidade e natureza geométrica da cavidade selecionada, por essa razão os valores de energias se alteram.

Desvios muitos pequenos apresentam poucas alterações na estrutura do ligante, por essa razão o mais adequado é que fiquem abaixo de 2,0 Å para ter uma geometria quase idêntica à inicial. Desvios muito grandes mostram que o esqueleto sofreu várias alterações a fim de se encaixar no espaço selecionado que conseqüentemente terá energias mais altas que o valor estabelecido na tabela 3.

6.8. VISUALIZAÇÃO DO COMPLEXO RECEPTOR-LIGANTE

Existem vários tipos de visualizadores com diferentes funções e gráficos. O USCF Chimera (PETTERSEN *et al*, 2004) e o próprio pacote Autodock Tools (MORRIS *et al*, 2009) podem ser aplicados na análise dos resultados. Para observar a interação foi empregado o Discovery Studio (BIOVIA, 2020) dado à escolha devido a facilidade de manuseio do software e seus gráficos otimizados que facilitam a compreensão.

De acordo com os dados é possível notar que a pose 8 conseguiu interagir com cavidades da NS1 de maneira atrativa com energia de afinidade igual a - 7.0 Kcal/mol e menores desvios no RMSD com 1.432 L.B e 2.125 em U.B. O resultado foi interessante tendo em vista que todos os argumentos foram construídos com base nas coordenadas que possivelmente encaixaria a pectolinarina de acordo com a cavidade, esses valores podem mostrar uma nova região acessível a ligantes. A figura 10 demonstra a superfície do receptor e o ligante complexado.

Pela estrutura podemos verificar que os aminoácidos ARG A: 322, CYS A: 329, THR A: 301, GLU A: 274, LYS A: 324, GLU A: 326, CYS A: 325, PHE A: 217, THR A: 283, CYS A: 380 e SER A: 216 ligaram-se através de interações de Van der Waals com o ligante. Os aminoácidos THR A: 307 interagiu com H40a numa distância de 4,09 Å; a GLU A: 281 com H41a em 4,93 Å; THR A: 300 com O41 em distância de 4,03 Å por último LEU A: 273 com O43 em distância de 5,52 Å todas através de ligação Hidrogênio-Carbono.

O aminoácido GLU A: 326 interagiu com os aromáticos do grupo flavonoide através de duas ligações Pi-Anion de distancias 4,39 Å no cromen-4-um e 4,80 Å no anel benzênico. O aminoácido LYS A: 272 interagiu através de uma ligação Pi-Sigma também com o anel benzênico com distância de 4.66 Å, mostrando fortes interações do ligante com o receptor.

6.9. PROPRIEDADES ADME DA PECTOLINARINA

A regra de Lipinski (LIMA, 2007) estabelece parâmetros que uma molécula bioativa deve cumprir para ser um bom fármaco, no caso da pectolinarina utilizada no trabalho, um candidato a inibidor. A regra é bem difundida na Química Medicinal e permite a violação de apenas um parâmetro (PICCIRILLO, AMARAL, 2018):

A plataforma disponibilizada pelo instituto Suíço de bioinformática (Swiss) oferece várias ferramentas para o processo de planejamento de fármacos. O SwissADME (<http://www.swissadme.ch/index.php>) (DAINA, MICHIELIN, ZOETE, 2017) fornece dados físico-químicos relevantes sobre a Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção de moléculas com potenciais farmacológicos. A pectolinarina foi submetida à análise a fim de obter esses dados. Os resultados se encontram na tabela 5 retirada da plataforma online.

Tabela 5 - Dados ADME da Pectolarina.

Physicochemical Properties							
	mol. wt. g/mol	ROTB (n)	HBA (n)	HBD (n)	ESOL LogS		
	622,61	8	14	6	-2,67 (MS)		
Ref.	<500	<10	≤10	≤5			
Lipophilicity			Drug-likeness				
	TPSA (Å)	CLogP (o/w)		Bioavailability Score	Lipinski		
	203,06	-0,8		0.11	No (3)		
Ref.	<140	<5	Ref.	0.55	-		
Pharmacokinetics							
	GIA	P-gp	CYP1A2	CYP2C19	CYP2C9	CYP2D6	CYP3A4
	Low	Yes	No	No	No	No	No

Fonte: SwissADME (DAINA, MICHIELIN, ZOETE, 2017).

A estrutura da pectolarina não conseguiu cumprir todos os parâmetros descritos na regra de Lipinski (LIMA, 2014). Na análise de dados físico-químicos a massa molecular é superior ao valor de referência, com 622,61 g/mol. A quantidade de 6 ligações doadores de Hidrogênio (HBD) ficou um pouco acima do estabelecido na regra, já ligações receptoras Hidrogênio (HBA) excederam, com respectivo valor 14.

A área de superfície topológica da molécula excedeu o limite estabelecido, com o valor de 203 Å². Dentre as quebras, o único valor que correspondeu a regra foi o valor da Lipofilicidade que demonstrou LogP igual a -0,80. Os dados de farmacocinética mostraram também que a pectolarina tem pouca absorção no trato gastrointestinal, o que significa que precisará de uma adaptação estrutural ou encapsulamento para que possa ser administrada (PICCIRILLO, AMARAL, 2018).

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos dados apresentados no trabalho é possível concluir que os objetivos foram alcançados. A utilização de testes *in silico* no estudo de compostos é importante nas pesquisas de Química Medicinal. A aplicação aos cálculos quânticos como DFT pôde dar uma estrutura mais próxima da configuração real, mostrando ser uma alternativa viável e de baixo custo computacional. Entretanto, é fundamental o conhecimento do software, dos conjuntos de base e os funcionais trabalhados, pois a montagem do *input* para cálculo necessita do pesquisador conhecer as limitações da técnica para assim minimizar os erros de falsos-positivos.

Nas análises de Docking molecular, a melhor pose do ligante pectolarina dentre 9 geradas no ensaio foi a 8, que obteve energia de afinidade correspondente a - 7,0 Kcal/mol e os menores desvios no RMSD mostrados, sendo 1.432 L.B e 2.125 em U.B encaixando-se na cavidade da NS1, principalmente nos aminoácidos: GLU A: 326, LYS A: 272, GLU A: 281, THR A: 307, LEU A: 273, THR A: 300 com distâncias que mostraram interação forte na área selecionada.

Assim, a estrutura do ligante sofreu algumas alterações rotacionando principalmente nos anéis tetrahidropirano e em suas ligações próximas na estrutura, mas se encaixando na cavidade descrita pelo argumento trabalhado no Autodock Vina. Por não ter um ligante específico complexado na estrutura da 4OIG obtida no repositório *Protein Data Bank* ficou difícil comparar os dados através da metodologia de re-Docking.

Os dados de Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção obtidos no site SwissADME mostraram que a molécula pectolarina apresentou rompimento de 3 das 5 regras de Lipinski, excedendo principalmente na Massa Molecular (g/mol), área de superfície topológica (TPSA) e doadores de hidrogênio (HBD). A partir desses dados foi possível constatar que mesmo apresentando boa energia de afinidade e valores de RMSD aceitáveis, precisará de adaptações para ser efetiva nos testes *in vitro*. Nesta perspectiva uma triagem virtual de produtos naturais com potencial farmacológico também pode ser aplicada na proteína NS1 em estudos posteriores, para que mais compostos obedeçam a regra de Lipinski e possam inibir o vírus da Dengue utilizando a mesma cavidade do estudo.

REFERÊNCIAS

ALCÁCER, L. **Introdução à Química Quântica Computacional**. Lisboa: IST Press, 2007.

ALVES, V. M. *et al.* Quimioinformática: uma introdução. **Química Nova**, São Paulo, v. 41, n. 2, p. 202-212, 2018. ISSN 1678-7064. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422018000200202&script=sci_arttext>. Acesso em: 27 fev. 2021.

ARAUJO, S. S. **Aedes aegypti, uma realidade global com urgências laboratoriais preconizadas para diagnósticos da Dengue, Zika e Chikungunya**. 2018. 31 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Tecnologias Industriais Farmacêuticas) - Instituto de Tecnologia em Fármacos / Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2018. Disponível em: <<https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/34993>> Acesso em: 14 out. 2020.

BEZERRA, L.L.; MARINHO, M.M.; MARINHO, E.S. **Caracterização da interação entre a antraquinona presente na Aloe vera, barbalóina e a proteína SN1, presente no vírus da Dengue tipo-I**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, ABQ - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE QUÍMICA, 57., 2017, Gramado, RS. Disponível em: <<http://www.abq.org.br/cbq/2017/trabalhos/13/11742-24594.html>>. Acesso em: 21 out. 2020.

BIOVIA, **Discovery studio visualizer**. Release 2017, Dassault Systèmes, 2016. 2017. San Diego. 2020.

BRASIL. Dengue: diagnóstico e manejo clínico: Adulto e criança [recurso eletrônico]. **Ministério da Saúde**, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis, Brasília, 5 ed., 58 p., 2016. ISBN 978-85-334-2344-2. Disponível em: <<https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2016/janeiro/14/dengue-manejo-adulto-crianca-5d.pdf>>. Acesso em: 20 mar. 2020.

CANTO, V. P. **Estudo da interação da menadiona com as monoaminooxidases A e B via docking e dinâmica molecular**. 2011. 54 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) - Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011. Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/37272>>. Acesso em: 30 jul. 2020.

CRAVO, H. L. P. **Modelagem molecular da interação entre a proteína de fusão do vírus sincicial respiratório humano e inibidores da ação viral**. 2012. 70 f. Dissertação (Mestrado em Biofísica Molecular) - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2012. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/87527>>. Acesso em: 12 mar. 2020.

DAINA, A., MICHIELIN, O. & ZOETE, V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. **Sci Rep**, 7, 42717, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/srep42717>>. Acesso em: 20 fev. 2020.

DA COSTA, A. A. F. *et al.* Estudos de modelagem molecular em derivados de acrilamida como inibidores de serina protease viral NS3/NS2B do vírus da dengue. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 6, 2017. Disponível em: <<http://rvq-sub.sbq.org.br/index.php/rvq/article/view/2098>>. Acesso em: 21 nov. 2020.

DO AMARAL, R. J. V.; DANSA-PETRETSKI, M. **Interação Patógeno-Vetor: Dengue**. In: Tópicos Avançados em Entomologia Molecular, 2012. Disponível em: <http://www.inctem.bioqmed.ufrj.br/images/documentos/biblioteca/Capitulo_14_Interacao_Patogeno_Vetor_-_Dengue.pdf>. Acesso em: 21 out. 2020.

D'OLIVEIRA, P. S. *et al.* Plantas Tóxicas em Pastagens: Camará (*Lantana camara L.*) – Família Verbenaceae. **Embrapa Gado de Leite - Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, Juiz de Fora, n. 87, 10 f., 2018. ISSN 1678-3131. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/185119/1/COT-87-Plantas-Toxicas-Camara.pdf>>. Acesso em: 21 out. 2019.

DIAS, L. C. *et al.* Doenças tropicais negligenciadas: uma nova era de desafios e oportunidades. **Química Nova**, São Paulo, v. 36, n. 10, p. 1552-1556, 2013. ISSN 0100-4042. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422013001000011&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 02 jul. 2020.

DIAS, R. ; AZEVEDO JR, W. F. Molecular docking algorithms. **Curr Drug Targets**, v.9, p. 1040-1047, 2008. DOI: 10.2174/138945008786949432. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/23763093_Molecular_Docking_Algorithms>. Acesso em: 20 abr. 2020.

EDELING, M.C.E.S; DIAMOND, M. S., & FREMONT, D. H. Structural basis of Flavavirus NS1 assembly and antibody recognition. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 111(11), p. 4285-4290, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3964132/>>. Acesso em: 21 out. 2019.

EUROPEAN, Centre for Disease Prevention and Control - ECDC. **Map: Geographical distribution of dengue cases reported worldwide**, 2019. Disponível em: <<https://www.ecdc.europa.eu/en/dengue-monthly>>. Acesso em: 11 fev. 2020.

FARIAS, H. M. **Análise in silico de inibidores em potencial de uma proteína de replicação viral (NS5 Rdrp) do vírus da zika**. 2018. 59 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos) - Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, Universidade Federal de Campina Grande, Sumé, 2018. Disponível em: <<http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/xmlui/handle/riufcg/4643>>. Acesso em: 11 fev. 2020.

FÉLIX, J. H. S. **Como escrever bem: projeto de pesquisa e artigo científico**. 1 ed. Curitiba. Appris, 2018.

FERREIRA, L. F. G. R. **Desenvolvimento e implementação de software para aplicação de grids computacionais em modelagem para inovação terapêutica**. 2018. 137 f. Dissertação (Mestrado em Inovação Terapêutica) - Centro de Ciências

Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013. Disponível em: <<https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/13193>>. Acesso em: 11 de fev. 2020.

FONSECA, A. M. et al. Pharmacological activity of the flavonoid pectolinarin from the leaves of lantana camara (verbenaceae). **International Journal of Development Research**, v. 09, n. 09, p. 29604-29609, 2019. Disponível em: <<https://www.journalijdr.com/pharmacological-activity-flavonoid-pectolinarin-leaves-lantana-camara-verbenaceae>>. Acesso em: 28 fev. 2021.

FONSECA, A. M. et al. Study Of The Inhibition Potential Of Remdesivir Derivatives On Mpro Of Sars-Cov-2. **International Journal of Research - GRANTHAALAYAH**, v. 8, n. 11, p. 164-174, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.29121/granthaalayah.v8.i11.2020.2342>>. Acesso em: 28 fev. 2021.

GARCIA, R. D. A. **Modelagem molecular (TD-DFT) aplicada à simulação de espectros UV para cinamatos com perfil de filtros solares**. 2014. 60 f. Dissertação (Mestrado em Fármaco e Medicamentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014. Disponível em: <<https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9138/tde-11082014-162702/en.php>>. Acesso em: 17 maio 2019.

GUIDO, R. V.C; ANDRICOPULO, A. D. Modelagem molecular de fármacos. **Revista Processos Químicos**, São Paulo, v. 2, n. 4, p. 24-36, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.19142/rpq.v2i4.66>>. Acesso em: 16 fev. 2019.

GUIDO, R. V. C; ANDRICOPULO, A. D.; OLIVA, G. Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas. **Estudos avançados**, São Paulo, v. 24, n. 70, p. 81-98, 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-40142010000300006&script=sci_arttext>. Acesso em: 16 ago. 2020.

GUY, B. *et al.* Desenvolvimento de uma vacina tetravalente contra dengue. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, Ananindeua, v. 2, n. 2, p. 51-64, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5123/S2176-62232011000200008>>. Acesso em: 28 fev. 2021.

GUZMAN, M. G *et al.* Dengue: an ongoing global threat. **Nat Rev Microbiol**, [s. l.], v. 8, n. 12 Supplement, p. S7-16, 2010. DOI: 10.1038 / nrmicro2460. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21079655/>>. Acesso em: 11 fev. 2020.

KIM S. *et al.* PubChem 2019 update: improved access to chemical data. **Nucleic Acids Research**, v. 47, D1, p. D1102–D1109, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/nar/gky1033>>. Acesso em: 20 ago. 2020.

LEAL, R. C. *et al.* A Química Quântica na compreensão de teorias de Química Orgânica. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 5, p. 1211-1215, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422010000500037&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 30 set. 2020.

LI, Z. *et al.* Personal experience with four kinds of chemical structure drawing software: review on ChemDraw, ChemWindow, ISIS/Draw, and ChemSketch. **Journal of Chemical Information and Computer Sciences**, v. 44, n. 5, p. 1886-1890,

2004. DOI: 10.1021/ci049794h. PMID: 15446849. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15446849/>>. Acesso em: 12 jan. 2020.

LIMA, L. M. Química medicinal moderna: desafios e contribuição brasileira. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 6, p. 1456-1468, 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422007000600015&script=sci_arttext>. Acesso em: 16 maio 2019.

LIMA, M. R. Q. **Antígeno NS1 dos Vírus Dengue desempenho de testes disponíveis comercialmente e aplicações alternativas para o diagnóstico precoce das infecções por dengue**. 2014. 218 f. Tese (Doutorado em Medicina Tropical) - Instituto Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, 2014. Disponível em: <<https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/9115>>. Acesso em: 19 jul. 2019.

LUPI, O; CARNEIRO, C. G.; COELHO, I. C. B. Manifestações mucocutâneas da dengue. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 82, n. 4, p. 291-305, 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0365-05962007000400002&script=sci_arttext>. Acesso em: 21 out. 2020.

MENDES, A. M. S. **Análise da Bioatividade dos Extratos obtidos das Folhas do Camará de Chumbo (Lantana Camara), frente as larvas do mosquito Aedes Aegypti**. 2018. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Sociobiodiversidade e Tecnologias Sustentáveis) - Instituto de Engenharias e Desenvolvimento Sustentável, Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Redenção, 2018.

MORGON, N. H. Computação em química teórica: informações técnicas. **Química nova**, v. 24, n. 5, p. 676-682, 2001. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422001000500015&script=sci_arttext&lng=pt>. Acesso em: 25 maio 2020.

MORRIS, G. M. *et al.* Autodock4 and AutoDockTools4: automatic docking with selective receiver flexibility. **Journal of Computational Chemistry**, v. 30, n. 16, p. 2785-91, 2009. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jcc.21256>>. Acesso em: 18 out. 2019.

MORRIS, G. M. *et al.* Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. **Journal of Computational Chemistry**, v. 19, n. 14, p. 1639-62, 1998. Disponível em: <[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-987X\(19981115\)19:14<1639::AID-JCC10>3.0.CO;2-BC](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(19981115)19:14<1639::AID-JCC10>3.0.CO;2-BC)>. Acesso em: 18 out. 2019.

MUNIZ, H. S. **Métodos híbridos em docagem molecular**: implementação, validação e aplicação. 2018. 113 f. Tese (Doutorado em Física Aplicada Biomolecular) - Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2018. Disponível em: <<https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/76/76132/tde-17092018-104828/en.php>>. Acesso em: 16 out. 2019.

MURI, E. M. F. Viral proteases: important targets of peptidemimetic compounds.. **Química Nova**, São Paulo, v.37, n.2, p.308-316, 2014. ISSN 0100-4042. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20140052>>. Acesso em: 30 jan. 2020.

NATIONAL Center for Biotechnology Information. **PubChem Database Pectolinarin**, CID=168849, 2020. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Pectolinarin>>. Acesso em: 7 mar. de 2020.

NEESE, F. Software update: the ORCA program system, version 4.0. **WIREs Computational Molecular Science**, v. 8, n. 1, e1327, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/wcms.1327>>. Acesso em: 16 maio 2019.

O'BOYLE *et al.* Open Babel: An open chemical toolbox. **Jornal Cheminformatics**, v. 3, n. 33, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/1758-2946-3-33>>. Acesso em: 16 de janeiro de 2021.

OLANDA, C. G. **Modelagem molecular de novos compostos derivados da Ribavirina como candidatos a fármacos para o controle da dengue**. 2016. 73 f. Dissertação (Mestrado em Modelagem Matemática e Computacional) - Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2016. Disponível em: <<https://tede.ufrjr.br/handle/jspui/2160>> Acesso em: 16 jun. 2019.

OLIVEIRA, A. M. **Introdução à Modelagem Molecular para Química, Engenharia e Biomédicas: Fundamentos e exercícios**. 1 ed. Curitiba: Appris, 2018.

OLIVEIRA, E. S. **Um algoritmo genético de chaves aleatórias viciadas para o problema de atracamento molecular**. 2016. 98 f. Dissertação (Mestrado em Computação) - Instituto de Informática, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016. Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/150205>>. Acesso em: 19 jun. 2020.

OPAS/OMS, Organização Pan-Americana da Saúde / Organização Mundial da Saúde. **Atualização Epidemiológica: Dengue**. 11 de novembro de 2019. Washington, DC. 2019. Disponível em: <https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_joomlabook&view=topic&id=1>. Acesso em: 10 fev. 2020.

_____. **Atualização Epidemiológica: Dengue**. 7 de fevereiro de 2020. Washington, DC. 2020. Disponível em: <https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_joomlabook&view=topic&id=1>. Acesso em: 10 fev. 2020.

_____. **Atualização Epidemiológica: Dengue**. 10 de junho de 2020. Washington, DC. 2020. Disponível em: <https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_joomlabook&view=topic&id=1> Acesso em: 12 dez. 2020.

ORTOLAN, A. O. **Apostila de práticas de química computacional**. 2014. 88 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química) - Departamento de Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2014. Disponível em: <<http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/2099>>. Acesso em: 18 set. 2019.

PAULINO, P. H. S. **Estudo teórico da Fluoxetina**. 2018. 30 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) – Coordenadoria de Química, Universidade

Federal de São João del-Rei, São João del-Rei, 2018. Disponível em: <https://ufsj.edu.br/portal2-repositorio/File/coqui/TCC/Monografia-TCC-Paulo_H_S_Paulino.pdf>. Acesso em: 16 out. 2019.

PESSÔA, K. F. *et al.* Revisão de alguns principais métodos utilizados em modelagem molecular: Parte II - Métodos quânticos. **Série Tecnologia Mineral**, Rio de Janeiro, 99, 51 f., 2018. ISSN 0103-7382. Disponível em: <<http://mineralis.cetem.gov.br/bitstream/cetem/2171/3/STM-99.pdf>>. Acesso em: 12 maio 2020.

PETERSEN, F. *et al.* UCSF Chimera - a visualization system for exploratory research and analysis. **Journal of Computational Chemistry**, v. 25, n. 13, p. 1605-1612, 2004. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jcc.20084>>. Acesso em: 16 out. 2019.

PICCIRILLO, E.; AMARAL, A. Busca virtual de compostos bioativos: conceitos e aplicações. **Química Nova**, v. 41, n. 6, p. 662-677, 2018. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422018000600662&script=sci_arttext> Acesso em: 20 ago. 2020.

PROTEIN DATA BANK. **4OIG Dengue Virus Non-structural Protein NS1**. 2014. Disponível em: <<https://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=4oig>>. Acesso em: 7 de março de 2020.

PUSPANINGTYAS, A. R. Molekular Docking Dengan Metode Molegro Virtual Docker Turunan Kalkon sebagai Antimikroba. **STOMATOGNATIC - Jurnal Kedokteran Gigi**, v. 9, n. 1, p. 39-47, 2015. ISSN 2442-4935. Disponível em: <<https://jurnal.unej.ac.id/index.php/STOMA/article/view/2104/1707>>. Acesso em: 23 fev. 2021.

QUEVEDO, C. V. **Triagem virtual em banco de dados de ligantes considerando propriedades físico-químicas de um modelo de receptor totalmente flexível**. 2016. 161 p. Tese (Doutorado em Ciências da Computação) - Faculdade de Informática, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016. Disponível em: <<https://repositorio.pucrs.br/dspace/handle/10923/9878>>. Acesso em: 18 out. 2019.

RAYAN, B; RAYAN, A. Avogadro Program for Chemistry Education: To What Extent can Molecular Visualization and Three-dimensional Simulations Enhance Meaningful Chemistry Learning. **World Journal of Chemical Education**, v. 5, n. 4, p. 136-141, 2017. Disponível em: <<http://article.journalofchemicaleducation.com/pdf/wjce-5-4-4.pdf>> Acesso em: 7 mar. 2020.

ROSE P. W, *et al.* The RCSB protein data bank: integrative view of protein, gene and 3D structural information. **Nucleic Acids Research**, v. 45, n. D1, p. D271-D281, 2017. Disponível em: <<https://academic.oup.com/nar/article/45/D1/D271/2333880?login=true>> Acesso em: 15 mar. 2019.

RUBA, S; AROOJ, M; NAZ, G. In Silico Molecular Docking Studies and Design of Dengue Virus Inhibitor. **IOSR Journal of Pharmacy and Biological Science**, v. 9, n.

2, p. 15-23, 2014. ISSN: 2278-3008. Disponível em: <<https://pdfs.semanticscholar.org/c255/d9a8a27cfbfc2f72a07b9da79b948ec568f.pdf>>. Acesso em: 17 out. 2019.

SILVA, J. *et al.* Bixinoids potentially active against dengue virus: a molecular docking study. **International Journal of Scientific & Engineering Research**, v. 8, n. 4, p. 882-887, 2017. ISSN 2229-5518. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Emmanuel-Marinho/publication/318038177_Bixinoids_potentially_active_against_dengue_virus_a_molecular_docking_study/links/5956142ca6fdcc2569d9b3cb/Bixinoids-potentially-active-against-dengue-virus-a-molecular-docking-study.pdf>. Acesso em: 21 out. 2019.

SOUZA, R. L. **Aplicação da técnica de ancoragem molecular na otimização do fármaco hipoglicemiante metformina**. 2015. 41 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) - Ciências Farmacêuticas, Centro Universitário Luterano de Palmas, Palmas, 2015. Disponível em: <<http://ulbrato.br/bibliotecadigital/publico/home/documento/169>>. Acesso em: 21 de outubro de 2019.

TROTT, O. OLSON, A. J. Autodock vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. **Journal of Computational Chemistry**, v. 31, ed. 2, p. 455-461, 2010. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jcc.21334>>. Acesso em: 08 out. 2020.

VERLI, H (*Org*). **Bioinformática: da biologia à flexibilidade molecular**. 1 ed. 282 p. São Paulo: Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, 2014. ISBN 978-85-69288-00-8 Disponível em: <<https://www.ufrgs.br/bioinfo/ebook/>>. Acesso em: 20 jan. 2020.

VERLI, H; BARREIRO, E. J. Um paradigma da química medicinal: a flexibilidade dos ligantes e receptores. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 1, p. 95-102, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000100018>>. Acesso em: 02 de julho de 2020.

ZENIMORI, S. & L. A. A. P. PASIN. **Aspectos da biologia floral de Lantana (Lantanacâmara L.)**. *In*: Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, X e Encontro Latino Americano de Pós-Graduação, VI. Universidade do Vale do Paraíba, 2006. Disponível em: <http://cronos.univap.br/cd/INIC_2006/inic/inic/02/INIC0000207_ok.pdf>. Acesso em: 15 mar. 2019.