

ESTUDO DO COMPORTAMENTO DA PROTEASE DE *CANDIDA AURIS* EM SATURAÇÃO COM ÓXIDO DE PROPILENO: UMA SIMULAÇÃO ASTROQUÍMICA

Alanilton Luis dos Santos Paim¹

Alúcio Marques da Fonseca²

RESUMO

A *Candida auris*, um fungo oportunista e multirresistente, representa um desafio significativo à saúde pública global devido à sua resistência a antifúngicos e à sua capacidade de causar infecções graves, especialmente em ambientes hospitalares. Primeiramente identificada no Japão, em 2009, essa levedura patogênica tem sido amplamente estudada por sua disseminação mundial e sua persistência em superfícies hospitalares. Paralelamente, o óxido de propileno, uma molécula de interesse astroquímico, tem atraído atenção por suas propriedades antimicrobianas. No entanto, a compreensão de suas interações com biomoléculas, como as proteases, permanece limitada. Este estudo visa explorar, por meio de simulação computacional, as interações entre o óxido de propileno e a protease de *Candida auris*, tanto em sistemas hidratados quanto em ambientes isentos de água, como uma analogia a condições astroquímicas. Os resultados dessas simulações buscam oferecer novas perspectivas sobre os efeitos dessas interações na atividade enzimática, com potenciais implicações tanto para a biotecnologia quanto para o entendimento de processos bioquímicos em contextos extremos.

Palavras-chaves: astroquímica, superfungo, simulação computacional

Abstract

Candida auris, an opportunistic, multidrug-resistant fungus, poses a significant global public health challenge due to its resistance to antifungals and ability to cause serious infections, especially in hospitals. First identified in Japan in 2009, this pathogenic yeast has been widely studied for its worldwide dissemination and persistence on hospital surfaces. At the same time, propylene oxide, a molecule of astrochemical interest, has

attracted attention for its antimicrobial properties. However, understanding their interactions with biomolecules, such as proteases, still needs to be explored. Through computer simulation, this study explores the interactions between propylene oxide and *Candida auris* polymerase, both in hydrated systems and water-free environments, as an analogy to astrochemical conditions. The results of these simulations offer new perspectives on the effects of these interactions on enzyme activity, with potential implications for both biotechnology and the understanding of biochemical processes in extreme contexts.

Keywords: astrochemistry, superfungus, computer simulation

INTRODUÇÃO

A *Candida auris* é um fungo do filo *Ascomycota*, oportunista e multirresistente, que foi primeiramente identificada em 2009, no Japão (Satoh *et al.*, 2009). Ela é um patógeno altamente resistente a medicamentos, representando um desafio significativo para a saúde pública mundial (Santos *et al.*, 2023). De acordo com a literatura (Choappa, 2019), a *Candida auris* emergiu como um problema de saúde pública global devido à sua capacidade de causar infecções graves principalmente nos pacientes hospitalizados. Uma das hipóteses do aparecimento da *Candida auris* sugere que esse micro-organismo tenha sido selecionado por pressão antifúngica, pois uma grande parte dos pacientes contaminados vinham sendo tratados com antifúngicos. Quando comparada às outras espécies do gênero *Candida*, a *Candida auris* é intrinsecamente resistente à fluconazol e anfotericina B, fármacos usados no tratamento de infecções fúngicas da corrente sanguínea causadas por espécies do gênero *Candida* (Lockhart *et al.*, 2017; Satoh *et al.*, 2009).

Estudos prévios (Forsberg *et al.*, 2019), demonstraram que várias espécies de *Candida* habitam naturalmente a pele humana, com maior concentração nas dobras, mucosas das cavidades oral e genital, além do trato gastrointestinal. A *Candida auris*, no entanto, diferencia-se das outras espécies do gênero por sua predileção pela pele e por sua capacidade de disseminação em ambientes hospitalares, onde surtos de outras espécies de *Candida* são raros. Relatos de infecções por *C. auris* foram registrados em todos os cinco continentes, com casos recorrentes em países da Ásia, América, África, Europa e Oceania. No Brasil, o primeiro caso foi confirmado em 2020, pela ANVISA, no estado da Bahia. A identificação da levedura foi realizada através da técnica que usa ionização para diagnosticar as proteínas de uma bactéria (MALDI-Tof), a partir de uma amostra de cateter de um paciente hospitalizado com complicações da COVID-19.

Outros pesquisadores (Chowdhary; Sharma; Meis, 2017) indicam que a capacidade que a *Candida auris* tem de causar infecção é atribuída a fatores de virulência incluindo adesão às células hospedeiras, secreção de enzimas extracelulares como fosfolipases e proteínases, e formação de biofilmes. Apesar disso, a *Candida auris* é desprovida da capacidade de germinar, formar hifas ou produzir clamidósporos. Isso explica por exemplo a alta frequência de recuperação desses fungos no sangue de pacientes infectados (Chowdhary; Sharma; Meis, 2017).

A *Candida auris* é termotolerante, crescendo bem em temperaturas entre 37°C e 42°C, é tolerante ao sal e forma grandes aglomerados que persistem no ambiente hospitalar. Embora tenha pouca aderência ao elastômero de silicone em comparação com a *Candida albicans*, essa capacidade reduzida de adesão sugere que a *Candida auris* pode ter um papel menos proeminente em infecções relacionadas a cateteres, em comparação com outras espécies como a *Candida albicans* e a *Candida parapsilosis*, que são mais comuns nesse tipo de infecção (Chowdhary; Sharma; Meis, 2017).

Paralelamente, o óxido de propileno, composto químico amplamente usado em indústrias e na saúde, tem sido alvo de grande interesse por conta de suas propriedades químicas que conferem a ele capacidades antimicrobianas, bem como sua capacidade de interação com biomoléculas. Essas interações, entre o óxido de propileno e as proteínas, principalmente as enzimas, tem sido pouco explorada, mas pode ter significativas implicações no que se refere às atividades biológicas bem como às respostas do organismo a esse composto químico.

O óxido de propileno (C₃H₆O), formalmente conhecido como 1,2 - epoxipropano, é um composto químico de ponto de ebulição baixo e altamente volátil que pode ser obtido por oxidação do propileno ou pela rota de hidrocloreção (Nijhuis *et al.*, 2006). É um líquido incolor, com um odor característico adocicado. É altamente inflamável e reativo, com peso molecular aproximadamente igual a 58,07 g/mol. Tem um ponto de fusão em torno de -112,1°C e é muito solúvel em água, bem como em diversos solventes orgânicos como etanol, acetona e outros éteres, sendo também tóxico e irritante. A Figura 1 ilustra a fórmula estrutural deste composto.

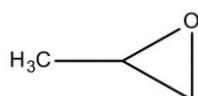


Fig. 1. Fórmula estrutural do óxido de propileno (1,2 – epoxipropano).

Ele é um composto orgânico que possui a estrutura de um epóxido. Os epóxidos têm uma reatividade especial devido à tensão angular causada pelo anel de três membros. Eles são frequentemente usados como intermediários na síntese de compostos orgânicos, como resinas e polímeros, devido à sua capacidade de reagir com várias substâncias, como ácidos, bases e nucleófilos.

Polímeros são macromoléculas constituídas por monômeros, que são unidades de repetição (meros) ao longo de toda a cadeia, ligados por ligação covalente (Canevarolo jr, 2002). Desta forma podemos classificar os polímeros em várias categorias como plásticos, borrachas e fibras, considerando sempre o tipo de monômero, número de meros por cadeia e tipo de ligação covalente na molécula (Silva, 2019).

O óxido de propileno é um monômero importante na síntese de polímeros, como o polipropileno. Os polímeros desempenham um papel fundamental na saúde e na indústria farmacêutica devido às suas diversas aplicações e propriedades. Eles são amplamente utilizados como excipientes na formulação de medicamentos para melhorar a estabilidade, a solubilidade e a biodisponibilidade dos princípios ativos, sendo também empregados em sistemas de liberação de fármacos convencionais e modificados, permitindo a administração controlada e direcionada de medicamentos (Villanova; Oréfice; Cunha, 2010).

Polímeros são essenciais na fabricação de dispositivos médicos, como seringas, cateteres, implantes e curativos, devido às suas propriedades de biocompatibilidade, flexibilidade e resistência (Villanova; Oréfice; Cunha, 2010).

A simulação computacional é uma ferramenta poderosa usada para investigar as propriedades moleculares e o comportamento de sistemas biológicos complexos. Atualmente, a aplicação da simulação computacional na pesquisa científica, particularmente no campo da evolução biológica, está aumentando devido à maior disponibilidade do poder de processamento dos computadores, às melhorias nas linguagens de programação, ao custo reduzido em comparação com métodos experimentais, e à grande quantidade de informação biológica disponíveis em formato digital (Dos Santos, 2011). Desta forma, as simulações computacionais podem desempenhar papéis fundamentais no estudo do comportamento da protease de *Candida auris* em saturação com o óxido de propileno, especialmente quando aplicadas no contexto da simulação astroquímica.

A astroquímica, um ramo interdisciplinar da ciência que estuda a química do universo, oferece uma perspectiva única para entender as interações moleculares em ambientes extremos, como o espaço interestelar. De acordo com Claro (2017) Astroquímica é a ciência que estuda os átomos, as moléculas e as reações químicas no espaço sideral. Através dela sabemos que o espaço está repleto de moléculas e que muitas moléculas do planeta Terra foram formadas no espaço sideral.

Neste contexto, surge a necessidade de investigar as interações entre a protease de *Candida auris* e o óxido de propileno, tanto em nível molecular quanto em um contexto biológico mais amplo. Este estudo visa preencher essa lacuna de conhecimento, explorando como a presença de óxido de propileno pode influenciar a atividade da protease de *Candida auris* e como essas interações acontecem em um contexto astroquímico.

2. Docking molecular

2.1. Metodologia

2.1.1. Procedimentos Computacionais

2.1.1.1. Detalhes Computacionais

Todas as simulações foram realizadas utilizando códigos livres para uso acadêmico em um sistema operacional de 64 bits. Foram utilizados os seguintes códigos: AutoDock Tools™ (Huey et al., 2012), AutoDockVina™ (Trott & Olson, 2010b), Avogadro™ (<http://avogadro.cc/>) (Hanwell et al., 2012), Discovery studio visualizer™ viewer (Biovia, 2016), Marvin™ 19.8, 2020 (<http://www.chemaxon.com>) (Csizmadia, 2019), Pymol (Delano, 2020) e UCSF Chimera™ (Pettersen *et al.*, 2004).

2.1.1.2. Preparação e otimização de ligantes

Os ligantes utilizados na simulação foram obtidos pelo repositório de moléculas PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). As estruturas obtidas em 3D foram submetidas posteriormente a configurações de auto-otimização, onde foi aplicado o campo de força MMFF94S (Wahl et al., 2019), para gerar conformações bioativas por minimização de conformadores gerados aleatoriamente, com algoritmo Steepest Descente (Petrova & Solov'Ev, 1997), Step per Update 4 (Sutton et al., 2016), pelo software AVOGADRO® (Hanwell *et al.*, 2012) Todos os arquivos com ligantes foram convertidos para formatos correspondentes (.mol2 e .pdbqt) com a adição de estados de ionização e tautoméricos em pH 7,4 usando o software OpenBabel ver. 3.0.0 (O'Boyle et al., 2011).

2.1.1.3. Procedimentos gerais do Docking molecular

2.1.1.3.1 Preparação estrutural de proteínas

O banco de dados PDB forneceu a estrutura cristalina da proteína protease (PDB ID, 6VSI) (<https://www.rcsb.org/>) (Bashir *et al.*, 2020). O ligante cocrystalizado da *C.*

glabrata polimerase (5HUA) definiu a cavidade para o desenho do fármaco por sobreposição de proteínas por meio do Discovery Studio (BIOVIA, 2016). O ligante FK-506 foi excluído do cristal de polimerase. A estrutura da protease de *Candida auris* foi preparada para Docking molecular usando o Autodock Tools (Morris, Garrett M. *et al.*, 2009). As cargas de gasteiger e hidrogênio polar serão adicionadas à proteína, salvas no formato molecular pdbqt.

Para realizar as simulações de docking molecular, foi escolhido o Algoritmo Genético Lamarkiano – LGA, implementado no código AutoDock Vina (Trott, O.; Olson, 2010). Para determinar o espaço de simulação, a caixa de grade foi centralizada para abranger todas as cadeias de proteínas. A caixa de grade foi centralizada nas coordenadas 33.4092 32.8052 33.9125 para os eixos x, y e z, respectivamente, e tinha parâmetros de tamanho 25Å(x), 25Å(y) e 25Å(z).

Como critérios para preparar a estrutura da proteína, as moléculas de água foram removidas, enquanto as cargas de Gasteiger e os átomos de hidrogênio essenciais foram adicionados (Yan *et al.*, 2014). A preparação foi realizada usando o código ADT-AutoDocktools (Morris *et al.*, 2009).

Para obter um conjunto de dados maior, para todas as simulações (docking e redocking) foram realizadas 50 simulações independentes, sendo possível obter 20 poses por simulação. O critério de Exaustividade igual a 64 foi utilizado para melhorar o refinamento parcial dos cálculos de acoplamento individual (Marinho *et al.*, 2020). A estrutura da proteína foi mantida rígida, enquanto todas as ligações e torções dos ligantes foram ajustadas para girar (Nguyen *et al.*, 2017).

Para validação estatística das simulações, foram realizados procedimentos de reencaixe e avaliados os valores de RMSD (Root Mean Square Deviation), tendo como parâmetro de escolha os valores de Best Pose menores que 2 Å (Yusuf *et al.*, 2008).

Para avaliar a estabilidade do complexo (proteínas/ligante) foi utilizada como parâmetro a energia de afinidade, que possui valores de parâmetros de idealidade abaixo de -6,0 kcal/mol (Shityakov & Förster, 2014).

Para avaliar a força da ligação H, foram utilizados os valores das distâncias entre os átomos doador e receptor, sendo classificados como Fortes, as interações que ficaram entre 2,5 Å e 3,1 Å, Médias aquelas que ficaram entre 3,1 Å e 3,55 Å, e Fracas aquelas com distância maior que 3,55 Å (Imberty *et al.*, 1991). Para validar as simulações, a técnica de redocking foi realizada no próprio ligante cocrystalizado, FK-506.

2.1.1.3.2 Cálculos MM/GBSA

As energias da mecânica molecular combinadas com a solvatação contínua generalizada de Born e área de superfície (MMGBSA) foram calculadas em três etapas, utilizando um fluxo de trabalho sistemático para realizar os cálculos de energia de estado final. Esse procedimento visou obter a energia livre de ligação de um complexo receptor-ligante, estimada por meio das equações (1), (2) e (3), conforme descrito a seguir:

$$G_{\text{bind}} = \langle G_{\text{COM}} \rangle - \langle G_{\text{REC}} \rangle - \langle G_{\text{LIG}} \rangle \quad (1)$$

Onde cada termo à direita na equação foi dado por:

$$\langle G_x \rangle = \langle E_{\text{MM}} \rangle + \langle G_{\text{sol}} \rangle - \langle TS \rangle \quad (2)$$

Por sua vez, ΔG_{bind} também pode ser representado como:

$$\Delta G_{\text{bind}} = \Delta H - T\Delta S \quad (3)$$

A entalpia de ligação (ΔH) e a entropia conformacional após a ligação do ligante ($-T\Delta S$) foram descritas por Wang et al., (2019). Quando o termo entrópico é desconsiderado, obtém-se a energia livre efetiva, que é suficiente para comparar as energias livres de ligação relativas entre ligantes relacionados (Case et al., 2021).

Os termos ΔE_{MM} , ΔG_{sol} e $T\Delta S$ correspondem à energia de mecânica molecular na fase gasosa, à energia livre de solvatação (que inclui a contribuição polar ΔG_{GB} e a apolar ΔG_{SA}) e à entropia conformacional, respectivamente. ΔE_{MM} inclui as componentes de Van der Waals (ΔE_{vdw}), eletrostática (ΔE_{ele}) e interna ($\Delta E_{\text{internal}}$), relacionadas às energias de ligação, ângulo e diedros. Quando não há alterações estruturais significativas durante as simulações de dinâmica molecular (MD), o cálculo da entropia pode ser omitido.

2.1.1.3.3. Preparação do complexo

Após a realização das simulações de dinâmica molecular utilizando o software GROMACS (versão 20.1) (Bekker et al., 1993; Van Der Spoel et al., 2005), o complexo foi processado com as ferramentas Parmed/LEaP (Shirts *et al.*, 2017) para gerar as

topologias compatíveis com o formato Amber, permitindo a preparação adequada para os cálculos subsequentes.

2.1.1.3.4. Cálculo final do MMPBSA

Os cálculos de energia foram realizados utilizando o executável MMPBSA.py, modificado por Valdés-Tresanco et al., (2021). Os resultados foram analisados e visualizados com o software Origin 8.5.0 SR1 (ORIGINLAB, [s. d.]), facilitando a interpretação gráfica dos dados.

3. Resultados e discussão

3.1. Interação com resíduos de proteínas

A análise de docking molecular entre o ligante nativo FK6 e a protease de *Candida auris* revelou resultados promissores. O FK6 obteve um desvio padrão de raiz quadrada (RMSD) de 1,9 Å, indicando uma estabilidade considerável no acoplamento molecular. Além disso, a energia de afinidade obtida foi de -8,3 kcal/mol, sugerindo uma interação favorável e forte entre o ligante e o sítio ativo da protease, como demonstrado na Figura 7. Esses valores são indicativos de um encaixe conformacional eficiente, refletindo o potencial de FK6 como inibidor da enzima.

O ligante FK6 estabeleceu cinco ligações de hidrogênio com os resíduos críticos da proteína: Tyr33, Asp44, Gln61, Ile63, Ala88 e Tyr89. Essas interações são fundamentais para a estabilização do complexo ligante-proteína, contribuindo para o posicionamento preciso do FK6 no sítio ativo, possivelmente interferindo na função catalítica da polimerase.

Adicionalmente, foram observadas interações hidrofóbicas do tipo alquila, que contribuem significativamente para a estabilidade do complexo, envolvendo os resíduos Tyr33, Phe53, Ile63, Trp66, Tyr89, Phe94, Leu97, Ile98, Phe106, Glu107 e Val108. Essas interações hidrofóbicas são cruciais para reforçar a afinidade do ligante, especialmente em regiões onde as ligações de hidrogênio não são predominantes. A contribuição desses contatos hidrofóbicos pode auxiliar no bloqueio do sítio ativo, impedindo o reconhecimento de substratos nativos pela enzima.

Esses dados são apresentados de forma detalhada na Tabela 1 e visualizados nas Figuras 2a-b, que mostram as interações específicas de forma esquemática e tridimensional, evidenciando o encaixe preciso do FK6 no sítio ativo da protease de

Candida auris. Esses achados podem abrir novas perspectivas para o desenvolvimento de inibidores específicos contra esse patógeno emergente, tornando o FK6 uma base promissora para otimizações estruturais futuras.

Tabela 1. Dados do docking molecular.

Ligands	Afinidade energética (kcal/mol)	RMSD (Å)
FK6 (ligante nativo)	-8.3	1.9

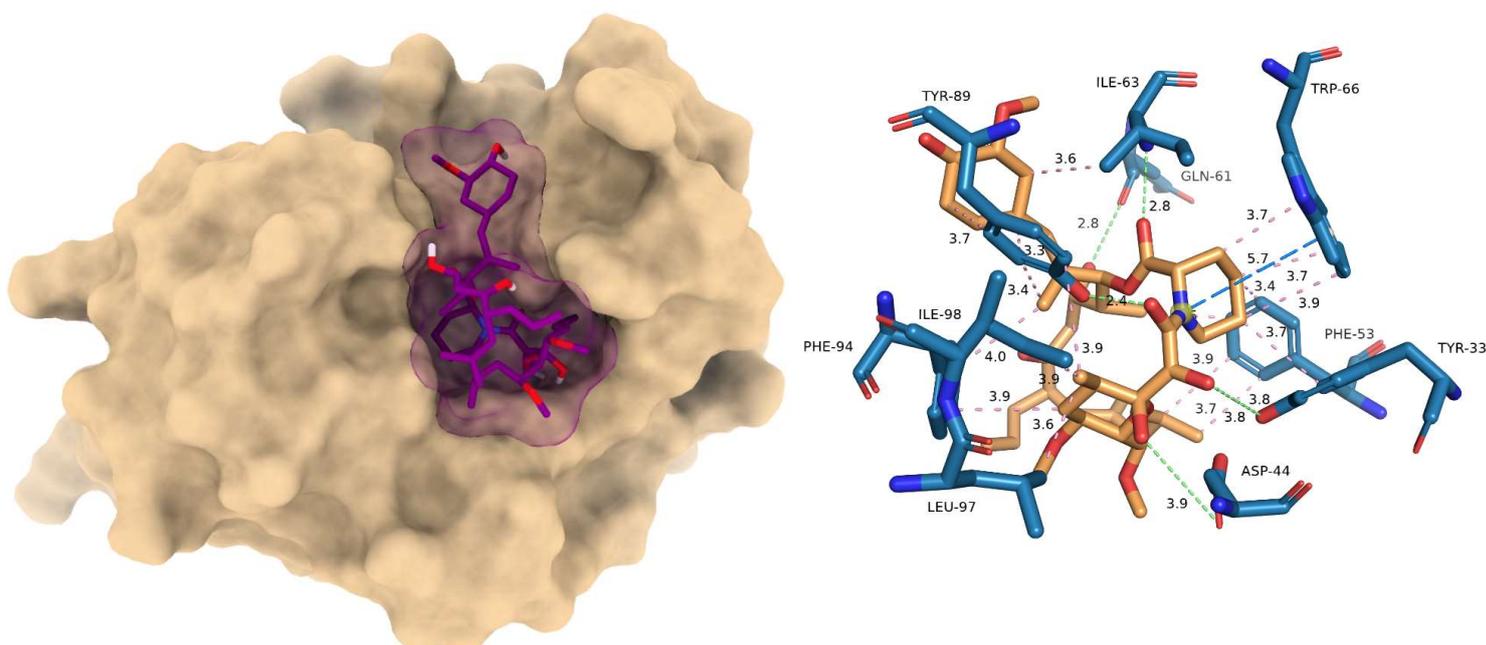


Figura 2. Dados do docking molecular: (A) superfície do proteína com o ligante nativo. (B) Registro em 3D das principais interações do ligante com os resíduos da proteína.

Além disso foram observadas com o mesmo ligante e com a mesma proteína, em ambientes solvatados com água (Fig. 3A) e outro em ambiente saturado de óxido de propileno (Fig. B), o que demonstrou uma menor interação com o ligante.

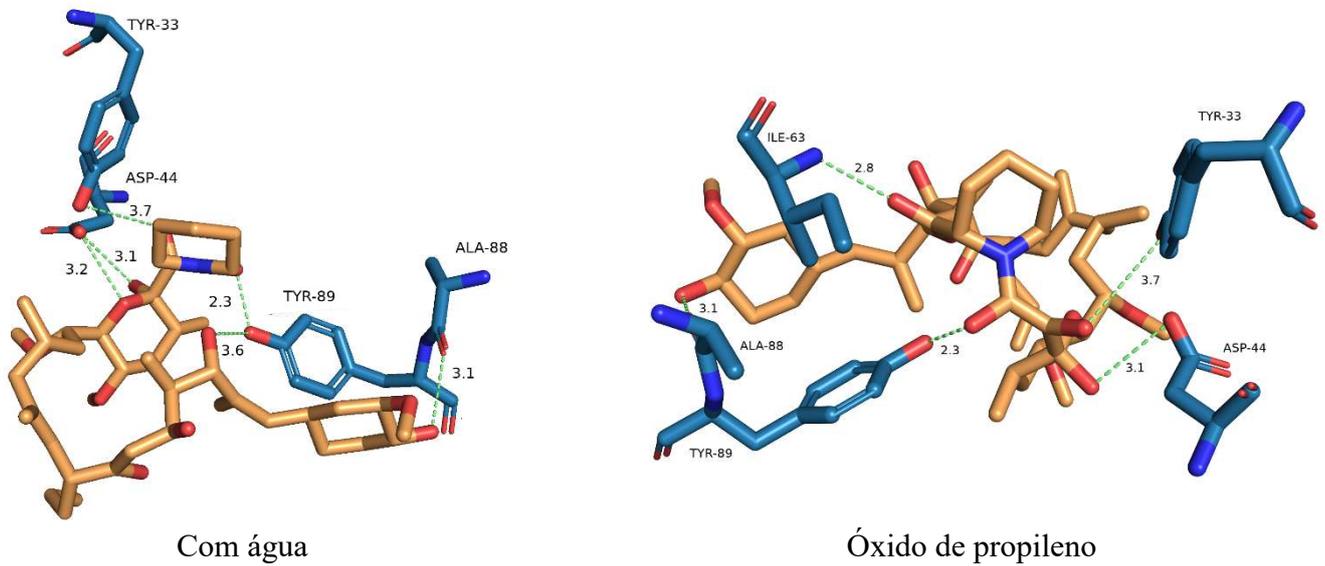


Figura 2. Dados do docking molecular: (A) Interação do FK6 com a proteína em água e (B) interações do FK6 com a proteína em óxido de propileno.

3.2. Minimização

O cálculo da minimização de energia foi feito pelo GROMACS. Na minimização, o ideal é que a energia potencial seja negativa e de 10^5 a 10^6 , o que demonstrou que em ambas as simulações todos realizaram. Portanto, a força máxima não deve ser superior a 1000 KJ/mol. A energia potencial foi mais baixa para o complexo em água, onde neste cálculo específico, foi registrado um valor de energia em torno de $-4,3 \times 10^{-5}$ KJ/mol, enquanto para os o complexo em solvente orgânico, demonstrou-se uma energia mais alta, com valores em torno de $2,6 \times 10^{-5}$ KJ/mol, respectivamente, o que justifica, que na água criou-se um conjunto mais estável, conforme mostrado na Figura 3.

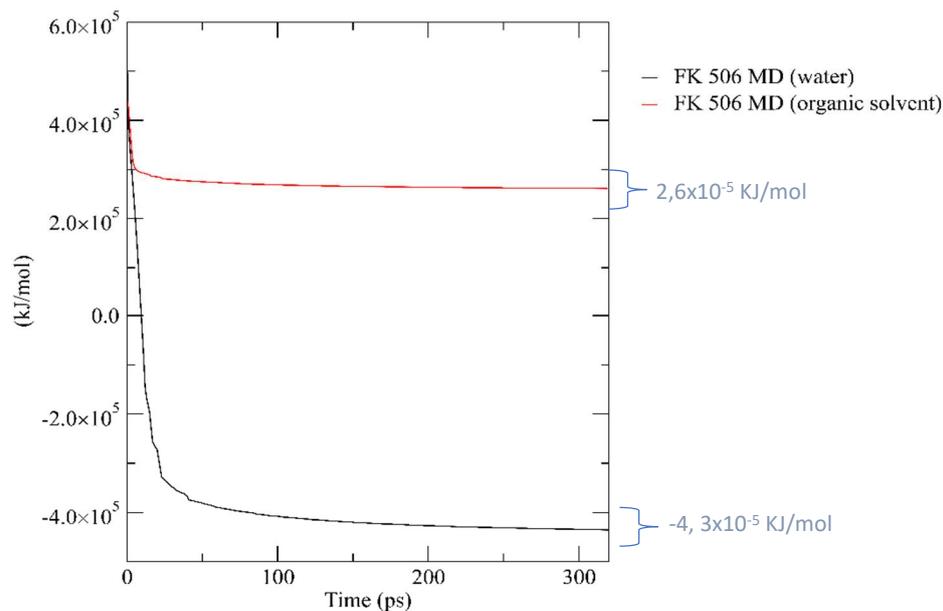


Figura 3. Média do potencial gerado na simulação até atingir a minimização de energia.

3.3. Resultado do equilíbrio entre soluto × solvente

Logo após a minimização, foi realizado o equilíbrio do solvente ao redor do soluto do ligante estudado. O sistema teve que ser levado à temperatura desejada para simular e estabelecer a orientação correta do solvente sobre o soluto.

Quando o cálculo NPT foi aplicado, o volume pode variar e, portanto, o tamanho da caixa foi ajustado para atingir uma densidade de equilíbrio. Além disso, foi observada uma ligeira e mínima variação de temperatura entre 300-306,65K durante a simulação, conforme mostrado na Figura 4.

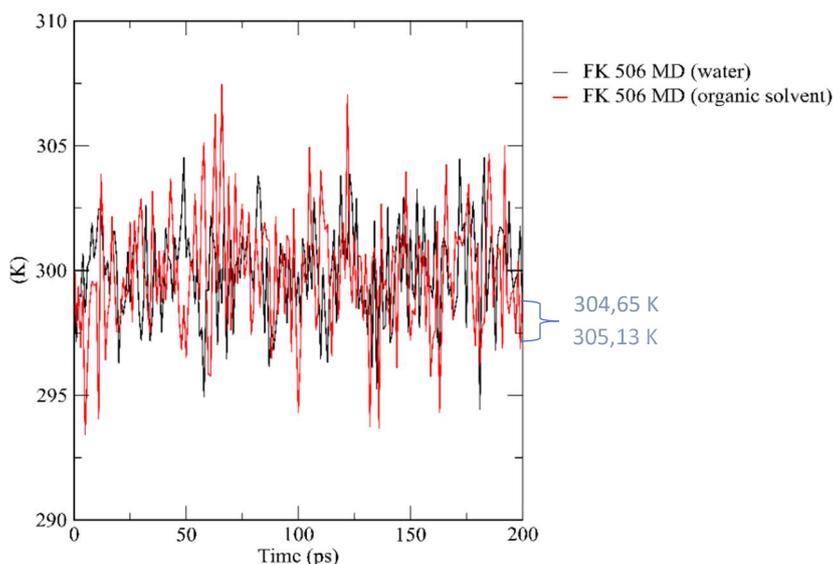


Figura 4. Media da temperatura gerada na simulação ate atingir a equilibração.

Depois de atingir a temperatura correta (com base nas energias cinéticas), a pressão foi aplicada ao sistema até atingir a densidade adequada. Notavelmente, a quantidade necessária de moléculas de água foi adicionada para atingir a densidade experimental da solução com o complexo em água, perfazendo um valor de 989 Kg/m³, e uma drástica redução, foi observada quando o complexo foi simulado na solução de óxido de propileno, 552 Kg/m³, o que diferiu dos valores da literatura, 0.830 Kg/m³ (Hawley's condensed chemical dictionary, 1987). Como resultado, no estudo da simulação 1 e 2, ao aplicar o cálculo do NVT (variando a pressão e mantendo o volume e a temperatura constantes), foram observados mínimos "espaços vazios" nas suas caixas, ao final do cálculo (imagem abaixo, Figura 5).

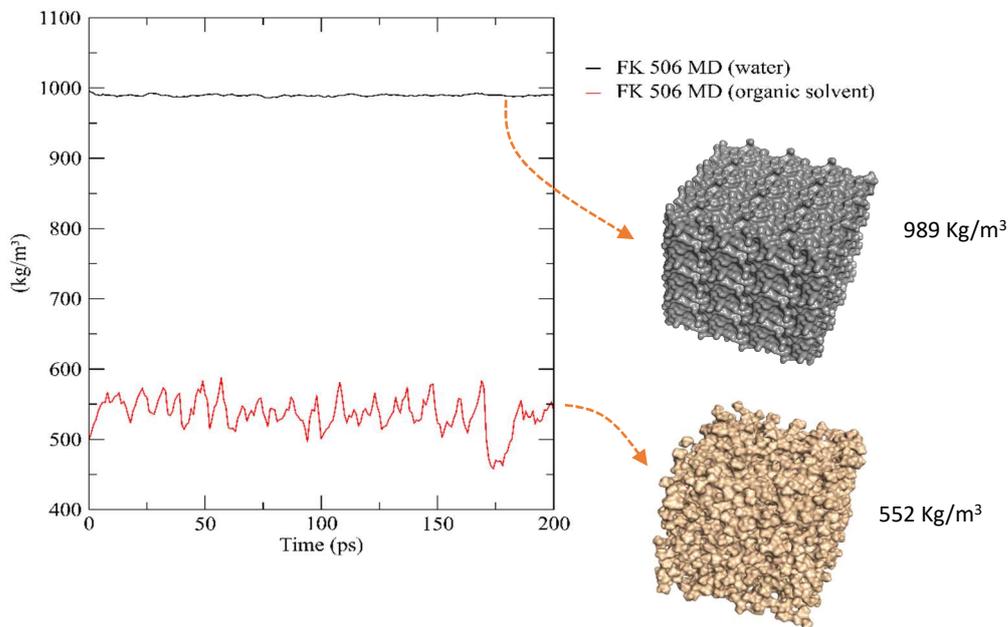


Figura 5. Média da densidade de ambas as simulações até atingir a equilíbrio.

3.4. Resultados da segunda fase de balanceamento (NPT)

A segunda fase de equilíbrio foi conduzida sob um NPT definido (constante: Número de partículas, Pressão e Temperatura). Assim, foram necessárias informações físico-químicas para o correto equilíbrio do NPT, que foi a compressibilidade isotérmica da água. No caso da água, esse valor é por padrão $4,5e^{-5} \text{ bar}^{-1}$ (Millero; Curry; Drost-Hansen, 1969), já o do óxido de propileno foi $9,58e^{-4} \text{ bar}^{-1}$ (PROPYLENE OXIDE (CAS 75-56-9) - CHEMICAL & PHYSICAL PROPERTIES BY CHEMÉO, [s. d.]). Seus valores de pressão foram registrados como 48 bar para o complexo em água e para o complexo em solvente orgânico foi de 563 bar, onde esses valores são mostrados na Figura 6.

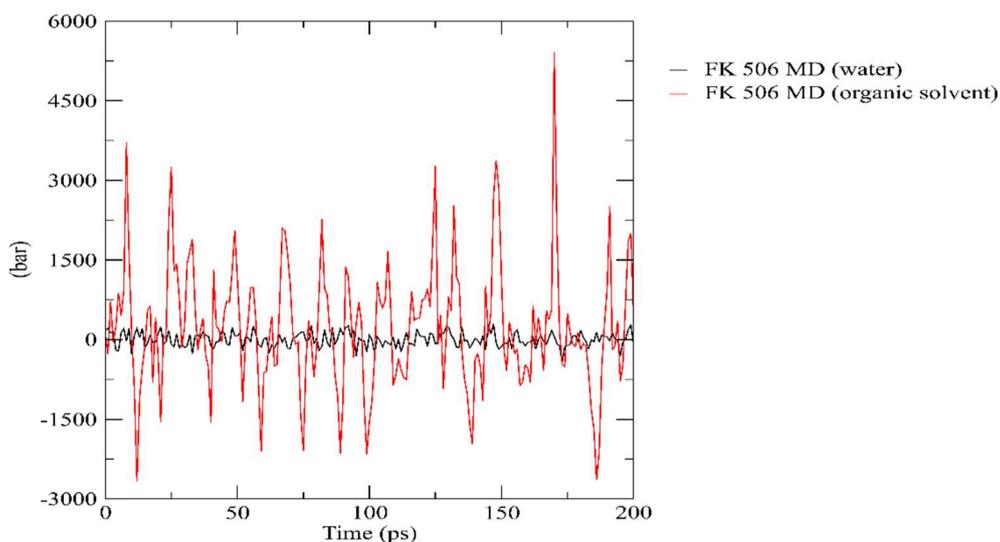


Figura 6. Média da pressão apresentadas para ambas as soluções nas simulações até atingir a equilíbrio.

3.5. Dinâmica molecular

3.5.1. Análise RMSD

Observou-se que o ligante estudado foi corretamente acomodado no sítio catalítico da polimerase de *Candida auris* (Santos *et al.*, 2023). Assim, por meio dos complexos proteína-ligante de ambas as solvatações (Figura 7), foram realizados estudos de simulação para avaliar não apenas as mudanças conformacionais da proteína, mas também sua estabilidade após cada mudança conformacional. O Root Mean Square Deviation (*RSMD*) dos complexos receptor-ligante foi usado para avaliar até que ponto as mudanças conformacionais ocorreram na molécula estudada durante o tempo de simulação. A Figura 7 mostra os comportamentos *RSMD* dos complexos estudados no estágio de equilíbrio.

Após a análise dos valores de energia, outros parâmetros importantes para investigar a qualidade da dinâmica molecular são o Root Mean Square Deviation (RMSD) da proteína (backbone) para FK6 e a polimerase. Os valores de RMSD obtidos pela estrutura proteica ao longo dos MDs ficaram entre 0,5 e 1,6 Å. Na MD com o ligante FK6 em água, o perfil foi de 1,5 Å relativamente muito confortável, mantendo-se estável após os 90 ns. Logo, o estudo com a solvatação em óxido de propileno, foi apresentado uma situação de adequação de a partir dos 88 ns até um sistema mais favorável durante a trajetória de 100 ns, apresentando um RMSD médio de 1,2 Å.

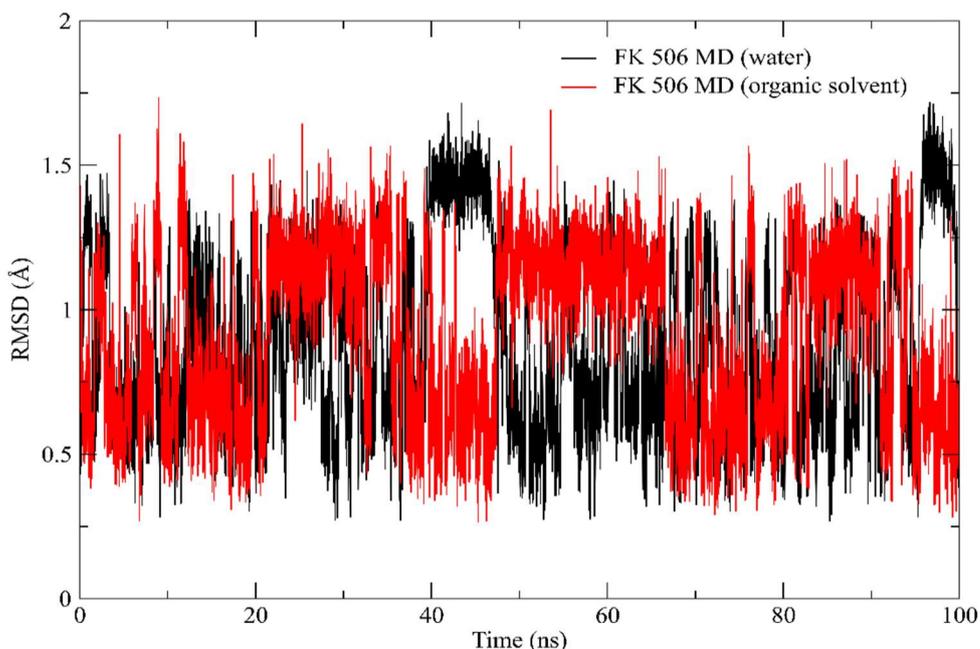


Figura 7. Perfil do valor de RMSD obtido para *candida auris* polimerase (em água, linha preta) e MD com solvente orgânico (linha vermelha).

3.5.2. Análise da RMSF

A Flutuação Quadrática Média (RMSF) é um parâmetro relacionado à flexibilidade de resíduos proteicos individuais. Serve para avaliar qualitativamente a progressão da dinâmica molecular (Dong *et al.*, 2018). Considerando a Figura 8, observa-se um perfil semelhante de valores de RMSF independentemente do ligante em contato.

Nossa análise completa do RMSF forneceu uma compreensão profunda da dinâmica e estabilidade de cada resíduo de proteína ao longo dos 100 nanossegundos de simulação. Os resultados delineiam as interações primordiais nos complexos solvatados investigados. Os resultados delineiam mudanças conformacionais substanciais ao longo da simulação.

Os resultados do nosso estudo revelam um novo aspecto da dinâmica molecular, com flutuações consistentes observadas nas trajetórias de todos os complexos. Essas flutuações se correlacionam notavelmente com os principais resíduos de replicação, conforme discutido anteriormente em estudos de (Qin; Zhong; Wang, 2021) e (Roe; Brooks, 2020). Curiosamente, foi apresentada apenas uma leve flutuação importante somente no resíduo Tyr 87 em solvente orgânico.

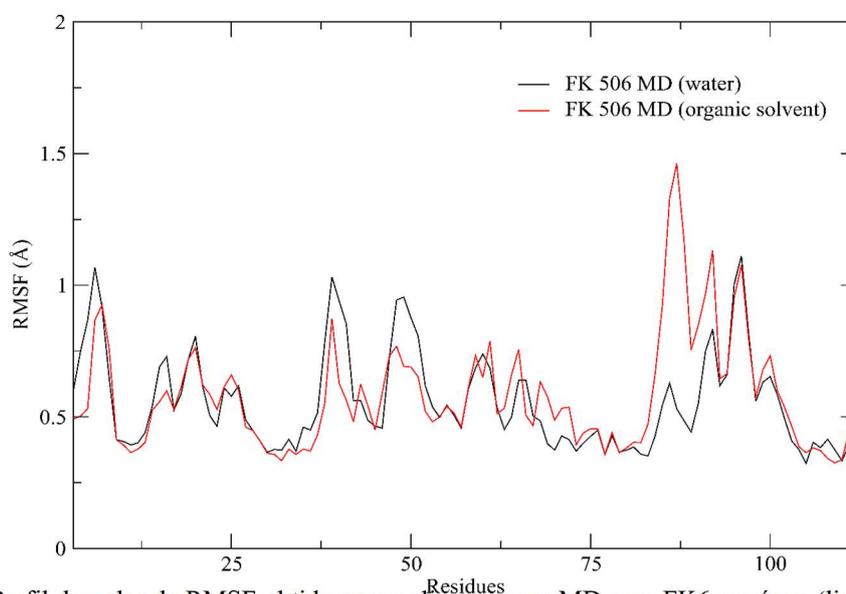


Figura 8. Perfil do valor de RMSF obtido para polimerase em MD com FK6 em água (linha preta) e MD com FK6 em solvente orgânico (linha vermelha).

3.5.3. Ligações H

A estabilidade dos complexos proteína-ligante nos dois estados de solvatação, tem sido associada a ligações intermoleculares de hidrogênio. No entanto, um estudo recente de (Mazola *et al.*, 2015) e Müller (2017) trouxe uma nova perspectiva para este campo,

particularmente no contexto de complexos proteína-ligante. Este estudo, que utilizou simulações de dinâmica molecular, revelou novos insights que antes eram inexplorados.

O estudo se concentrou principalmente na formação de ligações intermoleculares de hidrogênio entre ligantes e proteínas durante as fases de equilíbrio e produção. A Figura 9 descreveu vividamente as flutuações nas redes de ligações de hidrogênio durante esses estágios, ressaltando a importância de entender as variações na formação dessas ligações.

A quebra de ligações de hidrogênio indicou mudanças na estabilidade, muitas vezes atribuídas a interações como Van der Waals ou forças hidrofóbicas, conforme destacado por Ferenczy & Kellermayer, (2022). Além disso, a análise revelou uma correlação direta entre o comprimento das cadeias de carbono dos ligantes e o número médio de ligações, corroborando insights de estudos anteriores sobre docking molecular. Uma revelação importante deste estudo foi a diferenciação entre processos dinâmicos (dinâmica molecular) e estáticos (acoplamento molecular) (Gioia et al., 2017). Enquanto o acoplamento molecular oferece informações valiosas sobre interações estáticas, as simulações de dinâmica molecular capturam a evolução dinâmica desses complexos, fornecendo uma compreensão mais abrangente de sua estabilidade.

O número de ligações de hidrogênio (H-Bond) encontradas durante os MDs, considerando o valor máximo de 3,3 Å, Tabela 4. Pode-se observar que MD em água com FK6 apresentou até 4 ligações de hidrogênio por quadro e vários quadros com 3 ligações de hidrogênio. Sobre o MD com o FK6 e o solvente orgânico, existiram até 5 ligações, apenas alguns quadros com uma ligação de hidrogênio e as demais foram 4 ou 3 ligações, apresentando certa estabilidade. Portanto, pode-se inferir que em solvente orgânico foi demonstrado uma pequena diferença de maior estabilidade.

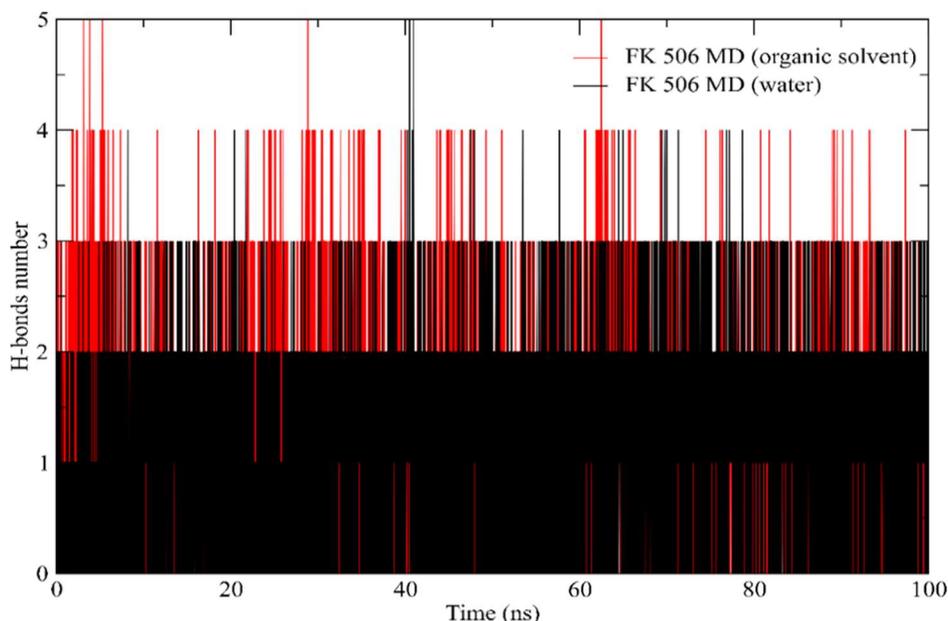


Figura 9. Número de ligações de hidrogênio (H-Bond) encontradas entre *Candida auris* polimerase em água (linha preta) e MD com solvente orgânico (linha vermelha) com o software VMD, considerando o comprimento máximo de 3,3 Å.

3.5.4. Área de superfície acessível ao solvente

A Área de Superfície Acessível ao Solvente (SASA) é definida como a área de superfície de uma proteína que interage com suas moléculas de solvente (Mazola *et al.*, 2015). Os valores médios de SASA para os complexos solvatados em água e solvente orgânico com FK6 foram monitorados durante simulações de MD de 100 ns. Os traços para a área de superfície acessível da polimerase em água, na Figura 10 mostraram um aumento acentuado, indicando relaxamento estrutural, o que favorece maior solvência no sistema, de acordo com (Marsh; Teichmann, 2011). Já em outra análise, para o estudo em óxido de propileno, os traços para a área de superfície acessível com FK6 mostram certa diminuição acentuada, indicando leve compressão estrutural influenciada pelo solvente orgânico, mostrando uma redução no processo solvatativo e tornando o sistema mais instável (Lins; Thomas; Brasseur, 2003). Os valores médios de SASA para os complexos foram de 6.800 Å² em água e 6.510 Å², em solvente orgânico, respectivamente. Não houveram grandes alterações observadas nos valores de SASA devido à ligação dos ligantes. Após esse tempo, os valores flutuam em torno de um valor constante. Assim, assumimos que os tempos de simulação de 100 ns foram suficientes para a amostragem de sistemas equilibrados.

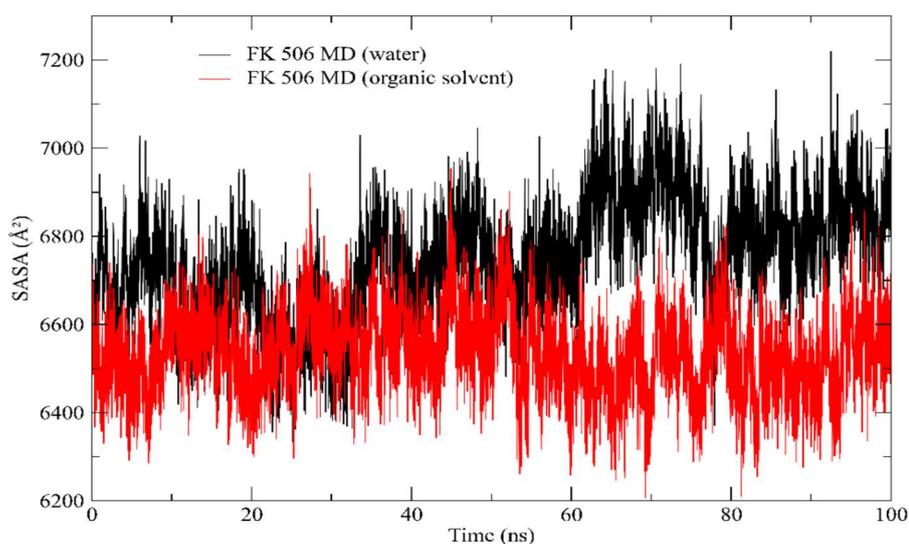


Figura 10. Área superficial acessível por solvente (SASA) da protease de *Candida auris* em função do tempo a partir das simulações de MD: MD com FK6, íons monovalentes estabilizadores em água (linha

preta) e MD com solvente orgânico, íons monovalentes estabilizadores (linha vermelha). As curvas são médias correntes dos dados brutos com uma janela de 100 ns.

3.6. Cálculos MM/GBSA

Após o balanceamento da dinâmica de produção, foi realizada a amostragem das etapas de 5 a 5, seguindo o intervalo de amostragem de 10ns da metodologia de estimativa da variação da energia livre utilizando múltiplas trajetórias. Os cálculos de MMGBSA foram realizados em um campo de solvente implícito simulando uma solução salina 0,15M.

Embora formalmente, o cálculo da variação da energia livre nesta técnica passe pela análise da entropia a partir dos modos normais das equações do sistema 5, 6 e 7, na prática, este cálculo não foi feito.

$$\Delta A_{interaction}^{(vac)} = (E_{complex}^{MM} - E_{target}^{MM}) - (E_{complex}^{MM} - E_{ligand}^{MM}) + T\Delta S_{NORMODS} \quad \text{eq. 5}$$

$$\Delta A_{interaction}^{(vac)} = E_{complex}^{MM} - E_{target}^{MM} - E_{complex}^{MM} + E_{ligand}^{MM} + T\Delta S_{NORMODS} \quad \text{eq. 6}$$

$$\Delta A_{interaction}^{(vac)} = E_{ligand}^{MM} - E_{target}^{MM} + T\Delta S_{NORMODS} \quad \text{eq. 7}$$

Os cálculos dos modos normais são bastante demorados e computacionalmente caros. Esse tipo, em última análise, torna os cálculos de triagem virtual, que são o foco deste estudo, não totalmente impossíveis. No entanto, há uma razão mais importante. Foi demonstrado que os cálculos de entropia diminuem a correlação dos valores de afinidade previstos com os valores experimentais quando a análise é feita com alguns microestados amostrados das trajetórias (Hou et al., 2011; Rastelli et al., 2009). Como as limitações de tempo de cálculo são essenciais, não é recomendável incluir esses cálculos no procedimento.

As energias MM/GBSA (Molecular Mechanics Generalized Born Surface Area) são consideradas uma forma de estimar a energia livre para o *estudo in silico* de ligantes em complexos proteicos (Genheden & Ryde, 2015). Eles são normalmente baseados em simulações de MD e trazem precisão entre pontuação empírica e distúrbio alquímico estrito (Chen et al., 2018). Como na entropia conformacional, é difícil obter um valor concorrente. Principalmente, se os ligantes não tiverem nenhuma mudança estrutural induzida por ligação em simulações de MD, a entropia conformacional é geralmente ignorada para calcular por análise de modo padrão (Wang et al., 2018). A decomposição

da energia de interação usando o método MMGBSA forneceu informações detalhadas sobre as contribuições energéticas dos complexos receptor-ligante. Conforme descrito na Tabela 2, os cálculos de energia livre revelaram achados significativos sobre a estabilidade e afinidade de ligação desses complexos. O estudo do complexo com solvente orgânico demonstrou inicialmente uma estimativa de energia livre de -38,58 kcal/mol, indicando uma afinidade de ligação mais forte. Já o complexo com água mostrou uma energia livre ligeiramente muito próxima em torno de -36,14 kcal/mol, indicando uma afinidade menos estável.

Tabela 2. Dados de estimativa de energia livre de FK6, contra a protease de *Candida auris* em dois ambientes de solvatação: água e óxido de propileno.

Delta (Complex -Receptor - Ligand)								
Energy Component	Average (kcal/mol)		SD (Prop.)		SD		SEM (Prop.)	
	Orgânico	água	Orgânico	água	orgânico	água	orgânico	água
Δ_{BOND}	-0.00	-0.00	3.52	3.79	0.00	0.00	± 0.08	± 0.08
Δ_{ANGLE}	0.00	0.00	5.38	5.17	0.00	0.00	± 0.12	± 0.12
Δ_{DIHED}	0.00	-0.00	2.92	3.12	0.00	0.00	± 0.07	± 0.07
Δ_{UB}	-0.00	-0.00	1.19	1.13	0.00	0.00	± 0.03	± 0.03
Δ_{IMP}	0.00	0.00	0.83	0.60	0.00	0.00	± 0.02	± 0.01
$\Delta_{\text{C}_{\text{MAP}}}$	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	± 0.00	± 0.00
$\Delta_{\text{VD}_{\text{WAALS}}}$	-48.34	-49.84	2.32	2.86	3.12	3.96	± 0.05	± 0.06
$\Delta_{\text{E}_{\text{EL}}}$	-42.92	-28.08	5.57	6.48	8.74	6.36	± 0.12	± 0.14
$\Delta_{\text{1-4}_{\text{VDW}}}$	-0.00	-0.00	1.86	1.87	0.00	0.00	± 0.04	± 0.04
$\Delta_{\text{1-4}_{\text{EEL}}}$	-0.00	0.00	5.61	4.76	0.00	0.00	± 0.13	± 0.11
$\Delta_{\text{E}_{\text{PB}}}$	57.68	46.84	1.67	1.92	6.37	5.56	± 0.04	± 0.04
$\Delta_{\text{E}_{\text{NPOLAR}}}$	-5.01	-5.06	0.04	0.07	0.20	0.22	± 0.00	± 0.00
$\Delta_{\text{E}_{\text{DISPER}}}$	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	± 0.00	± 0.00
$\Delta_{\text{G}_{\text{GAS}}}$	-91.26	-77.92	6.20	7.19	9.04	7.56	± 0.14	± 0.16
$\Delta_{\text{G}_{\text{SOLV}}}$	52.68	41.79	1.67	1.92	6.25	5.48	± 0.04	± 0.04
Δ_{TOTAL}	-38.58	-36.14	6.42	7.44	4.26	5.26	± 0.14	± 0.17

A análise MMGBSA (Método de Energia Livre de Ligação Molecular Mecânica de Generalized Born e Superfície de Acessibilidade ao Solvente) é uma técnica usada para calcular a energia livre de ligação entre uma molécula e seus ligantes, analisando a contribuição energética de cada resíduo de aminoácido na interação do ligante com o receptor, em diferentes condições de solvente (Wang, Changhao *et al.*, 2018).

Na Figura 11, temos um gráfico que mostra a energia de afinidade (em kcal/mol) para cada resíduo de aminoácido, em duas condições de solvente: solvente orgânico e água. A análise foi feita comparando as diferenças de afinidade entre esses ambientes, onde valores negativos de energia indicam interações favoráveis (estabilizantes) e valores próximos de zero ou positivos indicam interações desfavoráveis (destabilizantes).

Pode-se dizer que os resíduos com maior estabilidade em solvente orgânico foram Gly 60, Ala 88, e Phe 94, que apresentam valores de energia de afinidade mais negativos em solvente orgânico do que em água, indicando que esses resíduos estabilizam mais a interação quando em solvente orgânico. Os resíduos com menor afinidade em água foram Tyr 33 e Ile 63, que apresentam energias de afinidade mais próximas de zero ou levemente negativas na água, o que pode sugerir que sua contribuição para a estabilidade é menor em ambiente aquoso. Já as interações favorecidas em água foram exclusivamente para os resíduos Trp 66 e Tyr 89, que parecem ter valores de energia ligeiramente mais negativos em água do que em solvente orgânico, sugerindo uma leve preferência por interações em ambiente aquoso. De uma forma geral o solvente orgânico parece promover mais interações estabilizantes (valores de afinidade mais negativos) para muitos resíduos, sugerindo que o ligante pode ter uma afinidade maior por esses resíduos na presença de um solvente orgânico em comparação com a água, como foi mostrado também no estudo de ligações de hidrogênio.

Portanto, essas observações ajudarão a identificar os resíduos que são críticos para a estabilidade da interação em cada ambiente de solvente, o que pode ser útil para a otimização de compostos ou para entender as condições ideais para a interação proteína-ligante (Torres *et al.*, 2019).

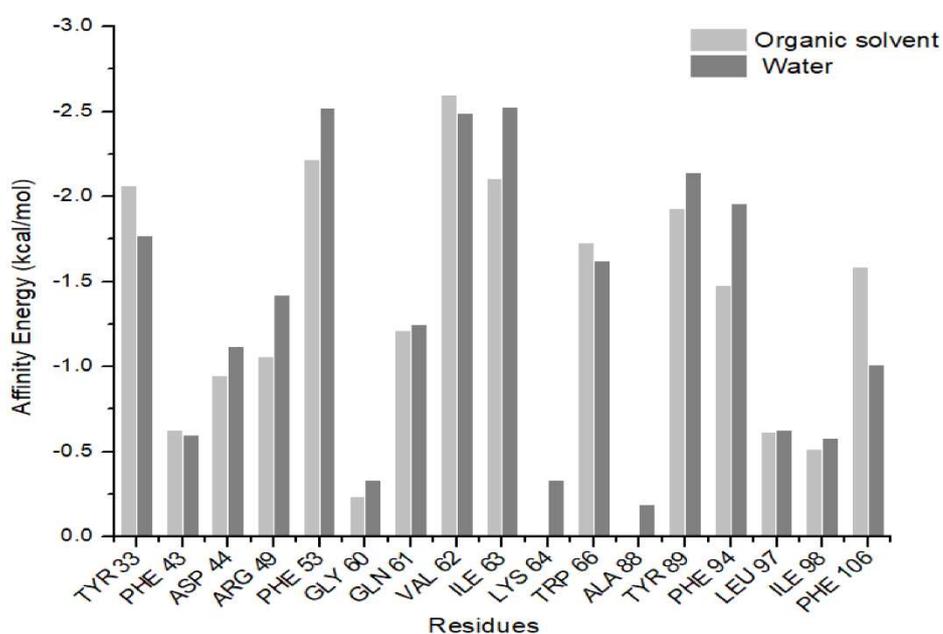


Figura 7. Energia de afinidade dos resíduos em água (water) e em solvente orgânico (Organic solvent).

4. Conclusão

Os resultados deste estudo sobre o comportamento da protease de *Candida auris* em saturação com óxido de propileno indicam que o ligante nativo FK6 apresenta uma interação estável e afinidade elevada com a protease-alvo em ambiente de solvente orgânico, conforme demonstrado por análises de docking e dinâmica molecular. Em meio aquoso, embora a estabilidade do FK6 tenha sido levemente reduzida, a afinidade permaneceu próxima à observada no solvente orgânico, reforçando a hipótese de que ambientes de baixa polaridade, como no vácuo ou em condições astroquímicas, podem induzir interações específicas que minimizam danos biológicos.

Esses achados fornecem uma compreensão mais profunda do comportamento do FK6 e potenciais aplicações, em contextos onde se busca reduzir a ação patogênica da *C. auris*. Além disso, os dados gerados oferecem uma base promissora para estudos futuros que investiguem mecanismos de ação e estratégias de mitigação, contribuindo para o desenvolvimento de intervenções que possam beneficiar a saúde pública ao explorar as nuances de interação em diferentes ambientes de solvente

REFERÊNCIAS

BASHIR, Qamar; LI, Zhong; LI, Hongmin; LEMASTER, David M.; HERNÁNDEZ, Griselda. Crystal structure and transient dimerization for the FKBP12 protein from the pathogenic fungus *Candida auris*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 525, n. 4, p. 1103–1108, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.03.059>.

BIOVIA, Dassault Systèmes. **Discovery Studio Modeling Environment, Release 2017, San Diego. Dassault Systèmes**. [S. l.: s. n.], 2016.

CANEVAROLO JR, Sebastião V. Ciência dos polímeros. **Artliber editora, São Paulo**, v. 24, 2002. Disponível em: https://www.artliber.com.br/amostra/ciencia_dos_polimeros.pdf. Acesso em: 4 maio 2024.

CASE, D. A.; AKTULGA, H. M.; BELFON, K.; BEN-SHALOM, I. Y.; BROZELL, S. R.; CERUTTI, D. S.; CHEATHAM, T. E., III; CISNEROS, C. A.; CRUZEIRO, V. W. D.; DARDEN, T. A.; DUKE, R. E.; GIAMBASU, G.; GILSON, M. K.; GOHLKE, H.; GOETZ, A. W.; HARRIS, R.; IZADI, S. A.; IZMAILOV, S.; A.; JIN, C.; KASAVAJHALA, K.; KAYMAK, M. C.; KING, E.; KOVALENKO, A.; KURTZMAN, T.; LEE, T. S.; LEGRAND, S.; LI, P.; LIN, C.; LIU, J.; LUCHKO, T.; LUO, R.; MACHADO, M.; MAN, V.; MANATHUNGA, M.; MERZ, K. M.; MIAO, Y.; MIKHAILOVSKII, O.; MONARD, G.; NGUYEN, H.; O'HEARN, K. A.; ONUFRIEV, A.; PAN, F.; PANTANO, S.; QI, R.; RAHNAMOUN, A.; ROE, D. R.; ROITBERG, A.; SAGUI, C.; SCHOTT-VERDUGO, S.; SHEN, J.; SIMMERLING, C.; L.; SKRYNNIKOV, N. R.; SMITH, J.; SWAILS, J.; WALKER, R. C.; WANG, J.; WEI, H.; WOLF, R. M.; WU, X.; XUE, Y.; YORK, D. M.; ZHAO, S.; KOLLMAN, P. A. **Amber 21**. San Francisco: [s. n.], 2021.

CHEN, Fu; SUN, Huiyong; WANG, Junmei; ZHU, Feng; LIU, Hui; WANG, Zhe; LEI, Tailong; LI, Youyong; HOU, Tingjun. Assessing the performance of MM/PBSA and MM/GBSA methods. 8. Predicting binding free energies and poses of protein-RNA complexes. **RNA**, v. 24, n. 9, p. 1183–1194, 2018. <https://doi.org/10.1261/rna.065896.118>.

CHOAPPA, Rodrigo Cruz. *Candida auris* en Chile. **Boletín Micológico**, v. 34, n. 1, p. 01–02, 28 jun. 2019. <https://doi.org/10.22370/bolmicol.2019.34.1.1763>.

CHOWDHARY, Anuradha; SHARMA, Cheshta; MEIS, Jacques F. *Candida auris*: A rapidly emerging cause of hospital-acquired multidrug-resistant fungal infections globally. **PLoS pathogens**, v. 13, n. 5, p. e1006290, maio 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006290>.

CLARO, Paulo Ribeiro. Astroquímica. **Revista de Ciência Elementar**, v. 5, n. 3, 2017. DOI 10.24927/rce2017.031. Disponível em: <https://rce.casadasciencias.org/rceapp/art/2017/031>. Acesso em: 4 maio 2024.

CSIZMADIA, Péter. MarvinSketch and MarvinView: Molecule Applets for the World Wide Web. 2019. [S. l.: s. n.], 2019. <https://doi.org/10.3390/ecsoc-3-01775>.

DELANO, W L. **The PyMOL Molecular Graphics System, Version 2.3**. [S. l.: s. n.], 2020.

DONG, Yun Wei; LIAO, Ming Ling; MENG, Xian Liang; SOMERO, George N. Structural flexibility and protein adaptation to temperature: Molecular dynamics analysis of malate dehydrogenases of marine molluscs. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 115, n. 6, p. 1274–1279, 2018. <https://doi.org/10.1073/pnas.1718910115>.

DOS SANTOS, Diogo Castro. Simulação computacional e análise de um modelo fenotípico de evolução viral. 2011. Disponível em: <https://repositorio.unifesp.br/handle/11600/10085>. Acesso em: 8 maio 2024.

FERENCZY, György G.; KELLERMAYER, Miklós. Contribution of hydrophobic interactions to protein mechanical stability. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, v. 20, p. 1946–1956, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2022.04.025>.

FORSBERG, Kaitlin; WOODWORTH, Kate; WALTERS, Maroya; BERKOW, Elizabeth L.; JACKSON, Brendan; CHILLER, Tom; VALLABHANENI, Snigdha. Candida auris: The recent emergence of a multidrug-resistant fungal pathogen. **Medical Mycology**, v. 57, n. 1, p. 1–12, 1 jan. 2019. <https://doi.org/10.1093/mmy/myy054>.

GENHEDEN, Samuel; RYDE, Ulf. The MM/PBSA and MM/GBSA methods to estimate ligand-binding affinities. **Expert Opinion on Drug Discovery**, v. 10, n. 5, p. 449–461, 2015. <https://doi.org/10.1517/17460441.2015.1032936>.

GIOIA, Dario; BERTAZZO, Martina; RECANATINI, Maurizio; MASETTI, Matteo; CAVALLI, Andrea. Dynamic docking: A paradigm shift in computational drug discovery. **Molecules**, v. 22, n. 11, p. 1–21, 2017. <https://doi.org/10.3390/molecules22112029>.

H. BEKKER; H. BERENDSEN; E.J. DIJKSTRA; S. ACHTEROP; R. DRUNEN; D. VAN DER SPOEL. Gromacs: a parallel computer for molecular dynamics simulations – ScienceOpen. **Physics Computing**, v. 92, n. January, p. 252–256, 1993. .

HANWELL, Marcus D; CURTIS, Donald E; LONIE, David C; VANDERMEERSCH, Tim; ZUREK, Eva; HUTCHISON, Geoffrey R. Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. **Journal of Cheminformatics**, v. 4, n. 1, p. 17, dez. 2012. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-4-17>.

HAWLEY'S CONDENSED CHEMICAL DICTIONARY. [S. l.]: New York: Van Nostrand Reinhold, 1987. Disponível em: http://archive.org/details/hawleyscondensed0000unse_11. Acesso em: 11 nov. 2024.

HOU, Tingjun; WANG, Junmei; LI, Youyong; WANG, Wei. Assessing the performance of the MM/PBSA and MM/GBSA methods. 1. The accuracy of binding free energy calculations based on molecular dynamics simulations. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 51, n. 1, p. 69–82, 2011. <https://doi.org/10.1021/ci100275a>.

HUEY, Ruth; MORRIS, Garrett M.; FORLI, Stefano. Using AutoDock 4 and AutoDock Vina with AutoDockTools: A Tutorial. **The Scripps Research Institute Molecular**, v. 32, 2012. .

IMBERTY, Anne; HARDMAN, Karl D.; CARVER, Jeremy P.; PEREZ, Serge. Molecular modelling of protein-carbohydrate interactions. Docking of monosaccharides in the binding site of concanavalin A. **Glycobiology**, v. 1, n. 6, p. 631–642, 1991. <https://doi.org/10.1093/glycob/1.6.631>.

LINS, Laurence; THOMAS, Annick; BRASSEUR, Robert. Analysis of accessible surface of residues in proteins. **Protein Science : A Publication of the Protein Society**, v. 12, n. 7, p. 1406–1417, jul. 2003. .

LOCKHART, Shawn R.; ETIENNE, Kizee A.; VALLABHANENI, Snigdha; FAROOQI, Joveria; CHOWDHARY, Anuradha; GOVENDER, Nelesh P.; COLOMBO, Arnaldo Lopes; CALVO, Belinda; CUOMO, Christina A.; DESJARDINS, Christopher A.; BERKOW, Elizabeth L.; CASTANHEIRA, Mariana; MAGOBO, Rindidzani E.; JABEEN, Kauser; ASGHAR, Rana J.; MEIS, Jacques F.; JACKSON, Brendan; CHILLER, Tom; LITVINTSEVA, Anastasia P. Simultaneous Emergence of Multidrug-Resistant *Candida auris* on 3 Continents Confirmed by Whole-Genome Sequencing and Epidemiological Analyses. **Clinical Infectious Diseases**, v. 64, n. 2, p. 134–140, 15 jan. 2017. DOI 10.1093/cid/ciw691. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/cid/ciw691>. Acesso em: 27 fev. 2024.

MARINHO, Emanuelle Machado; BATISTA DE ANDRADE NETO, João; SILVA, Jacilene; ROCHA DA SILVA, Cecília; CAVALCANTI, Bruno Coelho; MARINHO, Emmanuel Silva; NOBRE JÚNIOR, Hélio Vitoriano. Virtual screening based on molecular docking of possible inhibitors of Covid-19 main protease. **Microbial Pathogenesis**, v. 148, p. 104365, nov. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104365>.

MARSH, Joseph A.; TEICHMANN, Sarah A. Relative solvent accessible surface area predicts protein conformational changes upon binding. **Structure (London, England: 1993)**, v. 19, n. 6, p. 859–867, 8 jun. 2011. <https://doi.org/10.1016/j.str.2011.03.010>.

MAZOLA, Yuliet; GUIROLA, Osmany; PALOMARES, Sucel; CHINEA, Glay; MENÉNDEZ, Carmen; HERNÁNDEZ, Lázaro; MUSACCHIO, Alexis. A comparative molecular dynamics study of thermophilic and mesophilic β -fructosidase enzymes. **Journal of Molecular Modeling**, v. 21, n. 228, p. 1–11, 2015. <https://doi.org/10.1007/s00894-015-2772-4>.

MILLERO, Frank J.; CURRY, Richard W.; DROST-HANSEN, Walter. Isothermal compressibility of water at various temperatures. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 14, n. 4, p. 422–425, 1969. <https://doi.org/10.1021/je60043a018>.

MORRIS, G M; HUEY R FAU - LINDSTROM, William; LINDSTROM W FAU - SANNER, Michel F; SANNER MF FAU - BELEW, Richard K; BELEW RK FAU - GOODSELL, David S; GOODSELL DS FAU - OLSON, Arthur J; OLSON, A J; CHEM, J Comput. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. **Journal of Computational Chemistry**, v. 30, n. 16, p. 2785–2791, 2009.

MORRIS, Garrett M.; RUTH, Huey; LINDSTROM, William; SANNER, Michel F.; BELEW, Richard K.; GOODSELL, David S.; OLSON, Arthur J. Software news and updates AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. **Journal of Computational Chemistry**, v. 30, n. 16, p. 2785–2791, 2009. <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>.

MÜLLER, Ilka. Guidelines for the successful generation of protein-ligand complex crystals. **Acta Crystallographica Section D: Structural Biology**, v. 73, n. 2, p. 1–14, 2017. <https://doi.org/10.1107/S2059798316020271>.

NGUYEN, Duc D.; XIAO, Tian; WANG, Menglun; WEI, Guo Wei. Rigidity Strengthening: A Mechanism for Protein-Ligand Binding. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 57, n. 7, p. 1715–1721, 2017. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.7b00226>.

NIJHUIS, T. Alexander; MAKKEE, Michiel; MOULIJN, Jacob A.; WECKHUYSSEN, Bert M. The Production of Propene Oxide: Catalytic Processes and Recent Developments. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 45, n. 10, p. 3447–3459, 1 maio 2006. DOI 10.1021/ie0513090. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ie0513090>. Acesso em: 16 abr. 2024.

O'BOYLE, Noel M.; BANCK, Michael; JAMES, Craig A.; MORLEY, Chris; VANDERMEERSCH, Tim; HUTCHISON, Geoffrey R. Open Babel: An Open chemical toolbox. **Journal of Cheminformatics**, v. 3, n. 10, p. 1–14, 2011. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-3-33>.

ORIGINLAB. b161. [S. l.: s. n.], [s. d.]. . Acesso em: 23 out. 2024.

PETROVA, Svetlana S.; SOLOV'EV, Alexander D. The Origin of the Method of Steepest Descent. **Historia Mathematica**, v. 24, n. 4, p. 361–375, 1997. <https://doi.org/10.1006/hmat.1996.2146>.

PETTERSEN, Eric F.; GODDARD, Thomas D.; HUANG, Conrad C.; COUCH, Gregory S.; GREENBLATT, Daniel M.; MENG, Elaine C.; FERRIN, Thomas E. UCSF Chimera - A visualization system for exploratory research and analysis. **Journal of Computational Chemistry**, 2004. <https://doi.org/10.1002/jcc.20084>.

PROPYLENE OXIDE (CAS 75-56-9) - CHEMICAL & PHYSICAL PROPERTIES BY CHEMÉO. [s. d.]. Disponível em: <https://www.cheméo.com/cid/10-426-7/Propylene-oxide>. Acesso em: 11 nov. 2024.

QIN, Xiaoli; ZHONG, Jinfeng; WANG, Yonghua. A mutant T1 lipase homology modeling, and its molecular docking and molecular dynamics simulation with fatty acids. **Journal of Biotechnology**, v. 337, n. February, p. 24–34, ago. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2021.06.024>.

RASTELLI, Giulio; DEGLIESPOSTI, Gianluca; DEL RIO, Alberto; SGOBBA, Miriam. Binding estimation after refinement, a new automated procedure for the refinement and rescoring of docked ligands in virtual screening. **Chemical Biology and Drug Design**, v. 73, n. 3, p. 283–286, 2009. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0285.2009.00780.x>.

ROE, Daniel R.; BROOKS, Bernard R. A protocol for preparing explicitly solvated systems for stable molecular dynamics simulations. **Journal of Chemical Physics**, v. 153, n. 5, p. 1–9, 2020. <https://doi.org/10.1063/5.0013849>.

SANTOS, Tainá Grecco Dos; SOUZA, Graziela Rodrigues de; MENDES, Maria Luiza; NETO, Pedro Agnel Dias Miranda. CANDIDA AURIS, E SEUS DESAFIOS TERAPÊUTICOS: UMA REVISÃO INTEGRATIVA. **Anais do II Congresso Brasileiro On-line Multiprofissional de Análises Clínicas e Laboratoriais**, 2023. Disponível em: <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:260366458>.

SATOH, Kazuo; MAKIMURA, Koichi; HASUMI, Yayoi; NISHIYAMA, Yayoi; UCHIDA, Katsuhisa; YAMAGUCHI, Hideyo. Candida auris sp. nov., a novel ascomycetous yeast isolated from the external ear canal of an inpatient in a Japanese hospital. **Microbiology and Immunology**, v. 53, n. 1, p. 41–44, jan. 2009. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2008.00083.x>.

SHIRTS, Michael R.; KLEIN, Christoph; SWAILS, Jason M.; YIN, Jian; GILSON, Michael K.; MOBLEY, David L.; CASE, David A.; ZHONG, Ellen D. Lessons learned from comparing molecular dynamics engines on the SAMPL5 dataset. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, v. 31, n. 1, p. 147–161, jan. 2017. <https://doi.org/10.1007/s10822-016-9977-1>.

SHITYAKOV, Sergey; FÖRSTER, Carola. In silico predictive model to determine vector-mediated transport properties for the blood-brain barrier choline transporter. **Advances and Applications in Bioinformatics and Chemistry**, 2014. <https://doi.org/10.2147/AABC.S63749>.

SILVA, Antonia Miguelina Vieira da. Avaliação do comportamento térmico de compósitos poliméricos produzidos com resíduos de açaí em edificações na Amazônia. 17 maio 2019. Disponível em: <https://tede.ufam.edu.br/handle/tede/7215>. Acesso em: 4 maio 2024.

SUTTON, Richard S.; MAHMOOD, A. Rupam; WHITE, Martha. An emphatic approach to the problem of off-policy temporal-difference learning. **Journal of Machine Learning Research**, v. 17, p. 1–29, 2016. .

TORRES, Pedro H.M.; SODERO, Ana C.R.; JOFILY, Paula; SILVA-JR, Floriano P. Key topics in molecular docking for drug design. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 18, 2019. <https://doi.org/10.3390/ijms20184574>.

TROTT, O.; OLSON, A. J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. **Journal of computational chemistry**, v. 31, n. 2, p. 455–461, 2010. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>.

TROTT, Oleg; OLSON, Aj. NIH Public Access. **Journal of Computational Chemistry**, v. 31, n. 2, p. 455–461, 2010. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>.AutoDock.

VALDÉS-TRESANCO, Mario S.; VALDÉS-TRESANCO, Mario E.; VALIENTE, Pedro A.; MORENO, Ernesto. gmx_MMPBSA: A New Tool to Perform End-State Free Energy

Calculations with GROMACS. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 17, n. 10, p. 6281–6291, 12 out. 2021. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.1c00645>.

VAN DER SPOEL, David; LINDAHL, Erik; HESS, Berk; GROENHOF, Gerrit; MARK, Alan E.; BERENDSEN, Herman J.C. GROMACS: Fast, flexible, and free. **Journal of Computational Chemistry**, v. 26, n. 16, 2005. <https://doi.org/10.1002/jcc.20291>.

VILLANOVA, Janaina C. O.; ORÉFICE, Rodrigo L.; CUNHA, Armando S. Aplicações farmacêuticas de polímeros. **Polímeros**, v. 20, p. 51–64, 2010. DOI 10.1590/S0104-14282010005000009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/po/a/Hnm4dHq9jxZYhDXXf3G3g8M/>. Acesso em: 4 maio 2024.

WAHL, Joel; FREYSS, Joel; VON KORFF, Modest; SANDER, Thomas. Accuracy evaluation and addition of improved dihedral parameters for the MMFF94s. **Journal of Cheminformatics**, v. 11, n. 1, p. 1–10, 2019. <https://doi.org/10.1186/s13321-019-0371-6>.

WANG, Changhao; GREENE, D'Artagnan; XIAO, Li; QI, Ruxi; LUO, Ray. Recent developments and applications of the MMPBSA method. **Frontiers in Molecular Biosciences**, v. 4, n. 87, p. 1–18, 2018. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2017.00087>.

WANG, Ercheng; SUN, Huiyong; WANG, Junmei; WANG, Zhe; LIU, Hui; ZHANG, John Z.H.; HOU, Tingjun. End-Point Binding Free Energy Calculation with MM/PBSA and MM/GBSA: Strategies and Applications in Drug Design. **Chemical Reviews**, v. 119, n. 16, 2019. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00055>.

YAN, Jiakai; ZHANG, Guowen; PAN, Junhui; WANG, Yajie. α -Glucosidase inhibition by luteolin: Kinetics, interaction and molecular docking. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 64, p. 213–223, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.12.007>.

YUSUF, Dilmurat; DAVIS, Andrew M.; KLEYWEGT, Gerard J.; SCHMITT, Stefan. An alternative method for the evaluation of docking performance: RSR vs RMSD. **Journal of Chemical Information and Modeling**, 2008. <https://doi.org/10.1021/ci800084x>.