

CENTRO UNIVERSITÁRIO BRASILEIRO - UNIBRA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

AMANDA ROBERTA MARTINS BARBOSA

**MODELAGEM COMPUTACIONAL COMPARATIVA
ENTRE PROTEÍNA S SARS-COV-2
E RECEPTOR NEUROPILIN-1 (NRP1)**

RECIFE/2022

AMANDA ROBERTA MARTINS BARBOSA

**MODELAGEM COMPUTACIONAL COMPARATIVA
ENTRE PROTEÍNA S SARS-COV-2 E RECEPTOR
NEUROPILIN-1 (NRP1)**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Disciplina TCC II do Curso de farmácia do Centro
Universitário Brasileiro - UNIBRA, como parte dos
requisitos para conclusão do curso.

Orientador(a): Prof. Dr. Raul Emidio de Lima

RECIFE

2022

Ficha catalográfica elaborada pela
bibliotecária: Dayane Apolinário, CRB4- 1745.

B238m Barbosa, Amanda Roberta Martins
Modelagem computacional comparativa entre proteína s sars-cov-2 e
receptor neuropilin-1 (NRP1). / Amanda Roberta Martins Barbosa. Recife:
O Autor, 2022.

38 p.

Orientador(a): Prof. Dr. Raul Emidio de Lima.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Centro Universitário
Brasileiro – Unibra. Bacharelado em Farmácia, 2022.

Inclui Referências.

1. COVID-19. 2. Spike Protein. 3. Docking molecular. 4. Neuropilina-1. I.
Centro Universitário Brasileiro - Unibra. II. Título.

CDU: 615

Dedico esse trabalho à minha família e amigos.

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter me guiado em todas as decisões durante o curso.

À minha família, e em especial a minha esposa Bruna Acucio, por ter sido fonte de força, apoio, e amor durante todo o período do curso.

Ao meu orientador Dr. Raul Emidio de Lima, por toda sua paciência, comprometimento e dedicação ao meu projeto.

Aos professores que marcaram minha vida e me mostraram que posso voar mais alto: Msc. Nélia da Silva Lima, Gleyce Ventura Santana, Msc Ligia Batista Oliveira.

Aos colegas de curso que tornaram a jornada menos árdua.

À Secretaria Acadêmica, pela eficiência e atenção durante todo o curso.

*Quando a educação não é libertadora, o
sonho do oprimido é ser opressor.*

Paulo Freire

RESUMO

O hCoV2 (Síndrome respiratória aguda grave do coronavírus 2), causador da COVID-19(Doença do coronavírus 2019), tornou-se um problema de saúde de dimensões pandêmicas, surgindo em 2019 e que ainda acomete a população mundial. Ao longo da aparição da doença, e com o uso de estudos in vivo e in silico, foi possível desvendar o comportamento do hCoV2, e dessa forma criar maneiras de combatê-lo. Durante esse processo foi possível observar os pontos de interação e de entrada do vírus no corpo humano. Um deles foi a ACE2 (Enzima conversora de angiotensina 2), presente na superfície das células humanas, e outro que ainda está sendo estudado é o NRP1. Receptor esse que se mostrou um grande “aliado” da proteína S (Proteína Spike) do hCoV2. Este trabalho tem o intuito de observar os principais pontos de ancoragem na proteína S e seus pontos de ligação com o Neuropilina-1(NRP1), e evidenciar possíveis alterações em rotas metabólicas decorrentes da ligação entre NRP1 e hCoV2. Foi realizada uma revisão de literatura e uma docagem molecular em dois servidores: Hdock e DockThor. Com isso foi possível demonstrar 10 modelos de ligação com excelente energia livre entre o NRP1 e a proteína 2 do hCoV, assim como sua libação com sítios RBD, antes correlacionados majoritariamente com o ACE2. Também pode se observar a interação entre o hCoV2 e alguns fármacos como Ledipasvir, Cobistat, Piperaquine, Elbasvir, e por fim não possível evidenciar com as modelagens realizadas nesse estudo as possíveis alterações em rotas metabólicas decorrentes dessa ligação entre NRP1 e proteína S.

Palavras-chave: COVID-19; Spike Protein; Docking molecular; Neuropilina-1.

ABSTRACT

The hCoV2 (Severe Acute Respiratory Syndrome of Coronavirus 2), which causes COVID-19 (Coronavirus Disease 2019), has become a health problem of pandemic dimensions, emerging in 2019 and still affecting the world's population. Throughout the appearance of the disease, and with the use of *in vivo* and *in silico* studies, it was possible to unravel the behavior of hCoV2 and thus create ways to combat it. During this process, it was possible to observe the points of interaction and entry of the virus into the human body. One of them was ACE2 (Angiotensin Converting Enzyme 2), present on the surface of human cells, and another that is still being studied is NRP1. This receptor proved to be a great “ally” of the S protein (Spike Protein) of hCoV2. This work aims to observe the main anchorage points in protein S and its connection points with Neuropilna-1(NRP1), and to highlight possible changes in metabolic routes resulting from the connection between NRP1 and hCoV2. A literature review and molecular docking were performed on two servers: Hdock and Dockthor. With this, it was possible to demonstrate 10 binding models with excellent free energy between NRP1 and hCoV protein 2, as well as its libation with RBD sites, previously correlated mostly with ACE2. The interaction between hCoV2 and some drugs such as Ledipasvir, Cobistat, Piperaquine, Elbasvir can also be observed, and finally, it is not possible to show, with the modeling carried out in this study, the possible changes in metabolic routes resulting from this connection between NRP1 and protein

S.Keywords: COVID-19; Spike Protein; Docking molecular; Neuropilin-1.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS	12
2.1 OBJETIVO GERAL	12
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
3 REFERENCIAL TEÓRICO	13
3.1 EPIDEMIOLOGIA DA COVID-19	13
3.2 O SARS-COV2	15
3.3 FISIOPATOLOGIA DE COVID-19	16
3.3.1 NEUROFILINA-1	18
3.3 MODELAGEM COMPUTACIONAL	21
4 DELINEAMENTO METODOLÓGICO	23
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	35

1 INTRODUÇÃO

À medida que a COVID-19(Doença do Coronavírus 2019) veio se alastrando, foi possível observar os sintomas mais comuns, assim como os efeitos que podem ser apresentados pelos pacientes infectados. As sequelas relacionadas com o sistema nervoso central, tem chamado atenção não só pela gravidade, mas também pela permanência que se tem das mesmas, provocando desconfortos físicos e cognitivos (CHU et al, 2020).

O hCoV2 (Human Coronavirus 2) responsável pela infecção do COVID-19, é um beta coronavírus cuja sequência genética é idêntica à do SARS-COV-1 (cerca de 80%) e do coronavírus de morcego RaTG13 (96,2%) (CEVIK, KUPPALLI, KINDRACHUK, & PEIRIS, 2020).

Desde o surgimento da doença, foram realizados diversos estudos, com intuito de decifrar o vírus, suas conformações bioquímicas, meios de infecção e comportamento dentro do corpo. Durante esse processo a proteína S (Proteína Spike) foi percebida como “chave” de acesso utilizada pelo vírus para acessar uma proteína chamada ACE2 (Enzima Conversora de Angiotensina 2) que pode ser encontrada em pulmões, intestino, rins, cérebro, aorta e na medula adrenal (PERROTA F 2020).

Apesar de todas as evidências com relação à importância do ACE2, para a infecção do hCoV2. Este apresenta mínima expressão no epitélio respiratório e olfatório, o que seria um grande indicativo de outros fatores predominantes para mediar o contato da célula alvo do vírus, em locais onde a expressão do ACE2 seja baixa (JOBÉ e VIJAYAN, 2021).

O Neuropilina-1(NRP1), um receptor presente de superfície celular, tem sua ligação em locais onde a ACE2 apresenta baixa expressão. Devido a sua alta expressão nos tratos respiratórios e gastrointestinais, que são particularmente afetados pela COVID-19, representa uma considerável porta de acesso. Apesar disto o NRP1 e a ACE2, “trabalham juntos” aumentando consideravelmente a infecção causada pelo hCoV2 (CANTUTI-CASTELVERI, 2022).

De acordo com estudos pré-clínicos recentes, a partir de uma detalhada análise *in silico* sobre a expressão de NRP1 no cérebro humano, é possível ressaltar o potencial papel do NRP1 como um mediador adicional da hCoV2, no sistema nervoso central, o que sugere também um envolvimento do NRP1 em problemas neurológicos acarretados pela COVID-19 (BITTMANN & et al, 2020).

São conhecidas algumas sequelas neurológicas, incluindo alterações na visão, convulsão, distúrbios motores de coordenação entre outros sintomas neurológicos que podem ser evidenciados com vários achados de imagem, incluindo encefalopatia, edema, hemorragia e isquemia. Que reforçam o papel do NRP1 para a entrada do hCoV2 no corpo humano e por vezes no sistema nervoso central (ARABI & et al, 2015).

Com base nas evidências de que o NRP1, serve como um facilitador da entrada do hCoV2 no corpo humano, e pode estar relacionado a sequelas relevantes de cunho neurológico, é importante conhecer como ocorre sua interação com a proteína S, afim de obter mais informações sobre esta interação, que será importante para o desenvolvimento de drogas ou vacinas que possam impedir essa entrada. Este trabalho visa detectar pontos de interação entre o NRP1 e o hCoV2.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar uma modelagem computacional com a proteína S do hCoV2 e estabelecer suas possíveis conexões com o Neuropilina-1.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Demonstrar os pontos de maior ligação entre hCoV2 e outros fármacos;
- Evidenciar os locais de ancoragem entre o hCoV2 e o NRP1;
- Verificar possíveis alterações em rotas metabólicas decorrente da ligação entre hCoV2 e NRP1

3 REFERENCIAL TEÓRICO

O COVID-19 marcou a história do mundo com uma pandemia que resultou em milhões de mortes, e seguimos sentido os efeitos dessa doença. Em tempo recorde tivemos a produção de uma vacina, que nos possibilitou uma chance real de combate ao vírus (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2021).

3.1 EPIDEMIOLOGIA DA COVID-19

Em dezembro de 2019 a Organização Mundial de Saúde (OMS), recebeu um alerta sobre vários casos de pneumonia na cidade de Wuhan, província de Hubei, na República Popular da China (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE, 2022).

A doença infecciosa que se apresenta para alguns com sintomas leves a moderados, em outros pode levar até a morte. O vírus se espalha através de pequenas partículas disseminadas pelo ar, quando as pessoas tosse, espirram, falam ou até mesmo respiram. A infecção pode ocorrer através da inalação dessas partículas, o que ocorre com mais facilidade em locais fechados ou de pouca ventilação, ou caso haja o contato com superfícies contaminadas (World Health Organization, 2021).

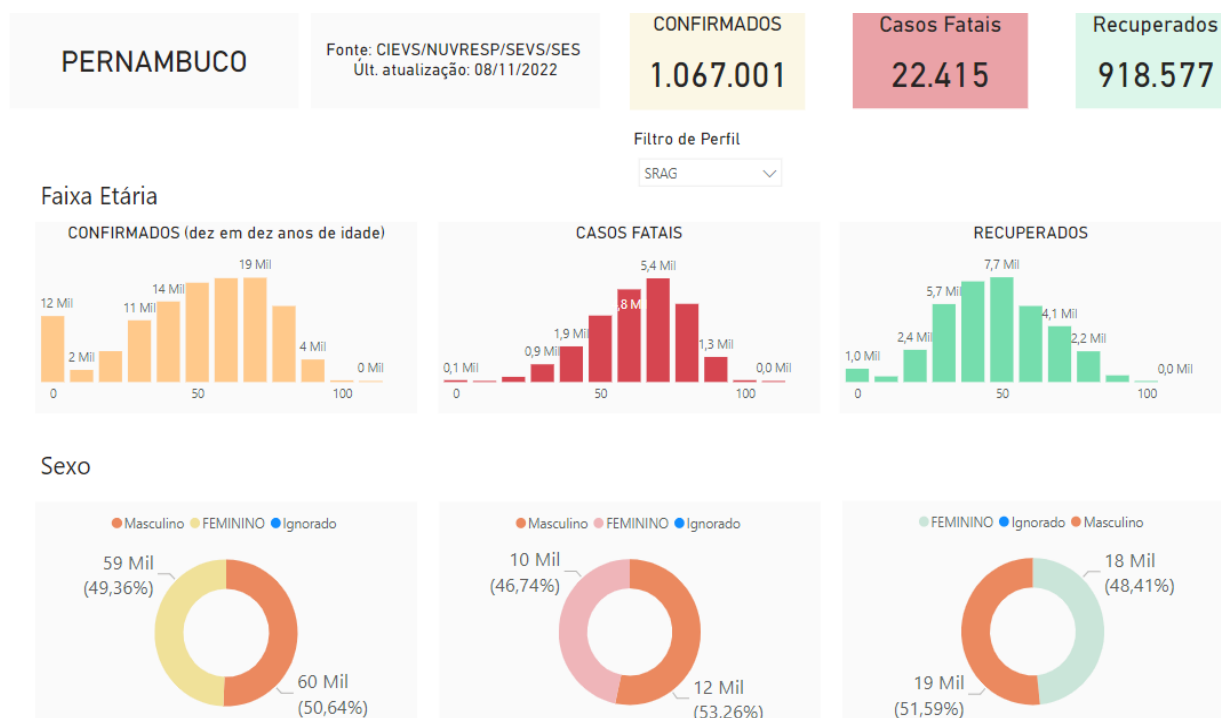
De acordo com a World Health Organization (2022), alguns dos sintomas mais comuns apresentados são: Febre, Tosse, Cansaço, Perda de paladar ou olfato. Outros sintomas menos comuns, mas ainda leves são: Dores de garganta, Dor de cabeça, Diarreia, entre outros. Uma parte da população pode vir a apresentar sintomas mais graves como: Dificuldade para respirar ou falta de ar; Perda da fala, mobilidade ou confusão; Dores no peito.

Até a presente data 13/11/2022, totalizam-se 635.088.804 casos de COVID-19 ao redor do mundo, e 6.609.907 mortes. No Brasil observamos 34.908.198 casos de contaminação e 688.656 mortes por COVID-19 (HOPKINS s.d.).

Em Pernambuco a campanha de vacinação iniciou-se em 18 de janeiro de 2021, e desde então a Secretaria Estadual de Saúde (SES-PE) tem organizado pontos estratégicos de vacinação, assim como a distribuição das doses disponibilizadas pelo Governo Federal (Governo do Estado de Pernambuco 2020), com um número total de 488.138.122 pessoas vacinadas até 13/11/2022 (HOPKINS s.d.).

Até a data de 08/11/2022 de acordo com o site Covid-19 em Dados, o estado de Pernambuco registrou 1.067.001 casos confirmados, e 22.415 casos fatais(fig.1).

Figura 1 – Dashboard com dados sobre a COVID-19



Dashboard com gráficos dos números de casos confirmados, fatais e recuperados de Covid-19 no Estado de Pernambuco (SEPLAG, SES e ATI, 2022).

Após o início das vacinações foi possível observar o surgimento de algumas variantes do vírus, e continuam a aparecer novas variantes. Segundo o CDC (Center of Diseases Control and prevention, 2021), as variantes podem ser divididas em duas categorias:

- Variantes de interesse: Quando o vírus sofre mutação levando ao aumento da capacidade de transmissão;
- Variantes de preocupação: Quando as mutações permitem algumas vantagens em relação a outras variantes, como o aumento da transmissão, doença mais grave ou escape imune, como a *Alfa*, *Beta*, *Gama*, *Delta* e *Ômicron*.

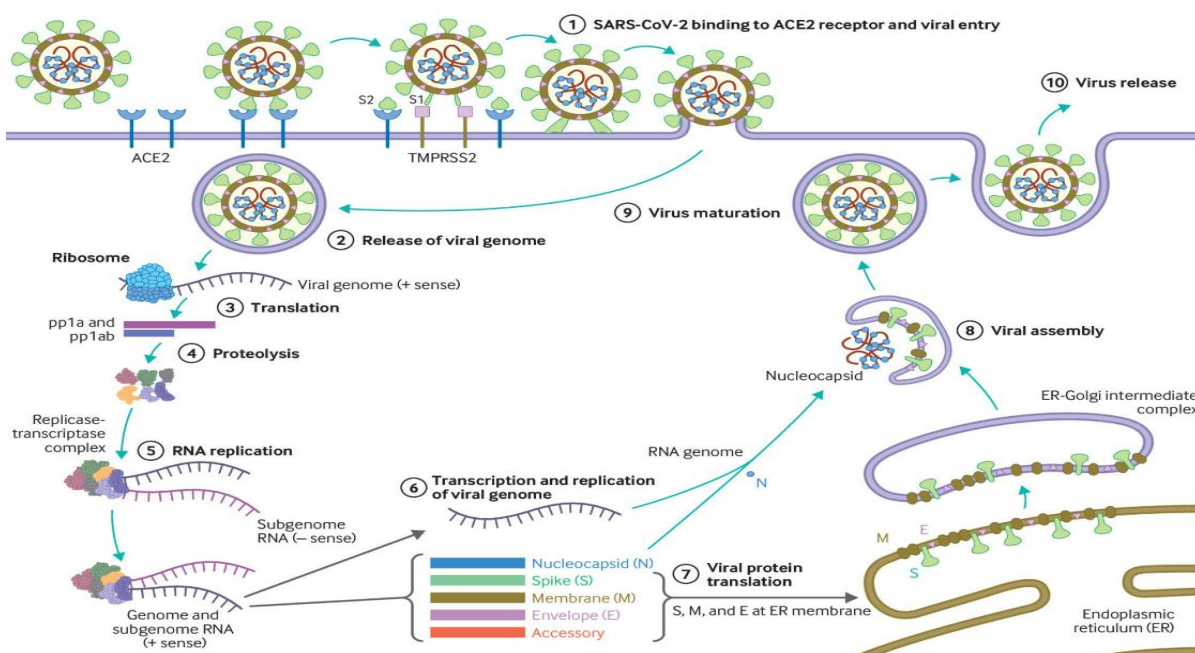
No caso da variante *Ômicron* temos algumas subvariantes que conseguiram estabelecer um grau de infecção mais importante, tornando-as relevantes, como: BA.1, BA.2, BA.3, BA.4 e BA.5 (CDC, 2021).

3.2 O SARS-COV2

Coronavírus (COV) pertencem a ordem *Nidovirales*, de vírus RNA envelopados em sentido positivo e de fita simples. Antes de 2002 havia apenas 2 espécies conhecidas de vírus COV que infectam humanos (HCOV-229E e HCOV-OC43). No momento existem pelo menos 7 tipos conhecidos de vírus (HCOV-NL63, HCOV-229E, HCOV-HKU1, HCOV-OC43, SARS-COV, HCOV2, MERS-COV) que se desenvolvem no sistema humano (ANIRUDHAN, 2021).

Cevik e colaboradores em 2020 afirmaram que o envelope viral do hCoV2 é revestido com glicoproteína Spike, envelope e proteína de membrana (fig. 2). A entrada e a associação com as células hospedeiras são mediadas pela proteína S, e o primeiro passo na infecção é a ligação às células hospedeiras através de seus receptores alvo. A subunidade S1 da proteína S contém um domínio de ligação, que se liga ao domínio peptidase da enzima conversora de Angiotensina 2 (ACE2). A proteína S do hCoV2 é determinante para o tropismo viral, e é responsável pela ligação ao receptor e pela fusão da membrana (NAGESHA, 2021).

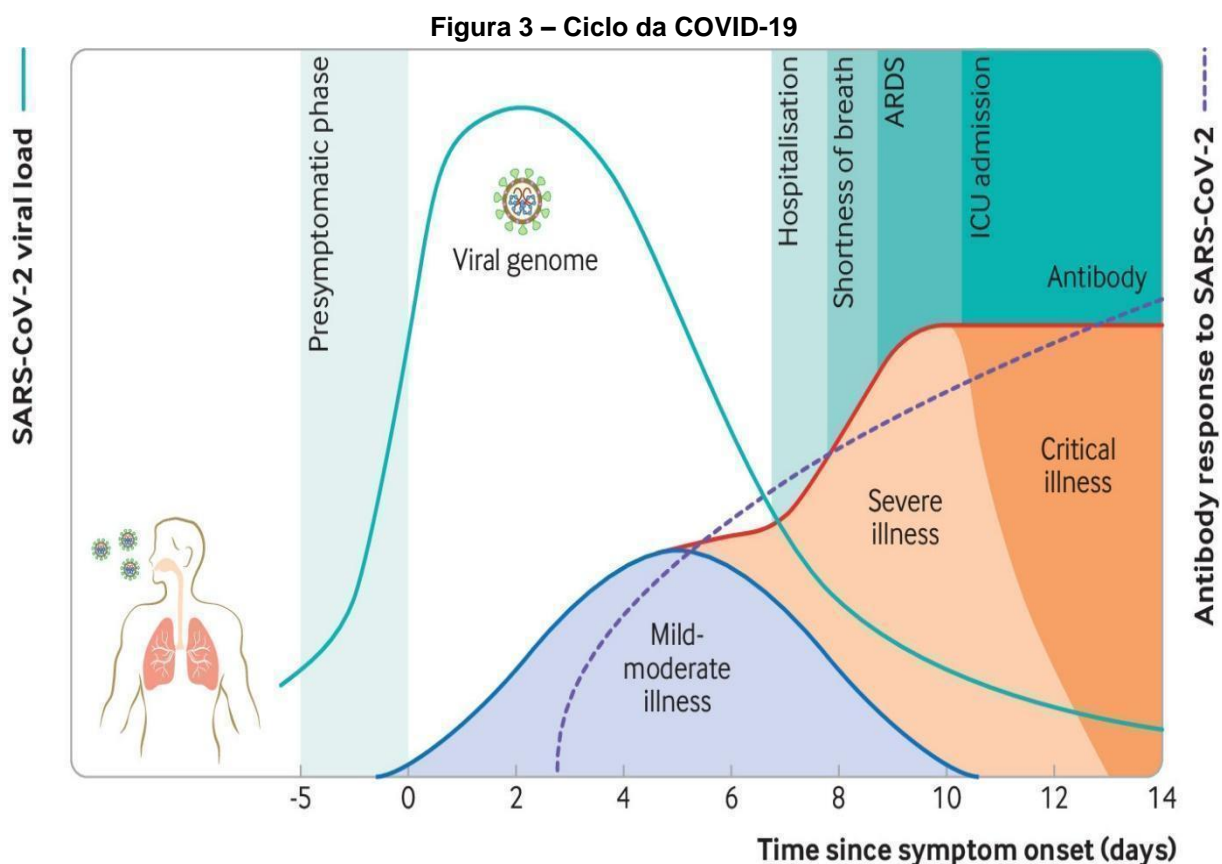
Figura 2 – Ciclo de replicação viral hCov2



(1) O vírus se liga ao ACE 2 como receptor da célula alvo do hospedeiro em sinergia com a TMPRSS2 (Serina Protease Transmembranar II, proteína da superfície celular), que é expressa principalmente nas células epiteliais das vias aéreas e nas células endoteliais vasculares. Isso leva a fusão da membrana e libera o genoma viral no citoplasma do hospedeiro (2). Os estágios (3-7) mostram as etapas restantes de replicação viral, levando à montagem viral, maturação e liberação de vírus (CEVIK, KUPPALLI, KINDRACHUK, & PEIRIS, 2020).

3.3 FISIOPATOLOGIA DE COVID-19

A cinética da carga viral, pode explicar algumas das diferenças entre o hCoV2 e o hCoV. No trato respiratório, o ápice da carga do hCoV2 pode ser observado no momento do início dos sintomas ou na primeira semana da doença, com declínio subsequente, o que indica o maior potencial de infecciosidade imediatamente antes dos primeiros cinco dias do início dos sintomas (fig.3) (CEVIK & et al, 2021).

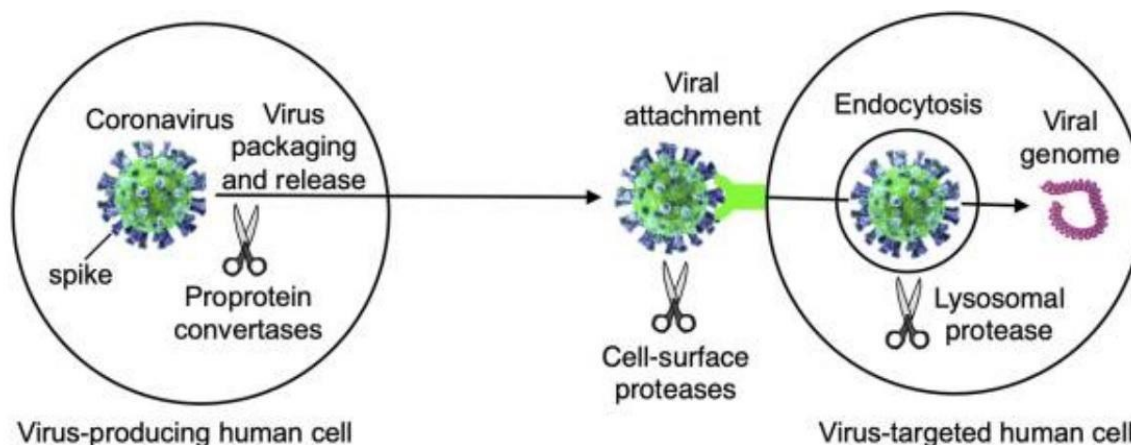


Após a exposição inicial, pacientes tipicamente desenvolvem sintomas entre 5-6 dias (período de incubação). hCov2 cria diferentes níveis de manifestações clínicas, variando entre uma infecção leve até um quadro mais severo da doença acompanhado por alta mortalidade. Em pacientes com quadros leves, a resposta imune inicial do hospedeiro é capaz de controlar a infecção. Nos casos mais graves, a resposta imune excessiva provoca danos nos órgãos, internações em unidades de cuidados intensivos, ou mesmo a morte. Os picos de carga viral na primeira semana de infecção, diminuem gradativamente, enquanto a resposta de anticorpos gradativamente aumenta e se torna raramente detectável após o dia 14 (CEVIK & et al, 2021).

A entrada do hCov2 nas células é determinante para a infectividade e patogenicidade do vírus. Para entrar em uma célula, o coronavírus primeiramente se liga a um receptor na superfície celular, em seguida entra no endossomos e,

eventualmente, funde as membranas virais e lisossômicas (fig. 4) (SHANG & et al , 2020).

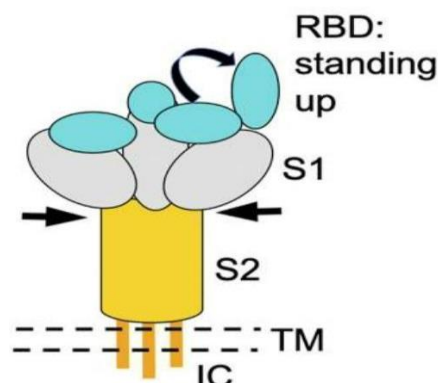
Figura 4 – hCoV2 penetrando na célula



Diferentes estágios da entrada do coronavírus em que as proteases celulares hospedeiras podem ativar picos de coronavírus (SHANG & et al , 2020).

Segundo Shang, a proteína S1 do hCoV contém um receptor de ligação do domínio (RBD) que especificamente reconhece a ACE2 como seu receptor. O RBD alterna constantemente entre uma posição de pé para a ligação do receptor e uma posição deitada para a evasão imune (Fig.5).

Figura 5 – Representação 3D do pico de coronavírus



Desenho esquemático da estrutura tridimensional (3D) do pico de coronavírus. S1, subunidade de ligação ao receptor; S2, subunidade de fusão de membrana; TM, âncora transmembrana; IC, cauda intracelular (SHANG & et al , 2020).

Já se sabe que uma das entradas principais para o vírus é o receptor ACE2, mas cientistas também sugerem que o vírus pode entrar na célula de maneira individual se apenas o NRP1 (Neuropilina-1) estiver presente (BITTMANN & et al,

2020). O hCoV2 pode ter sua infectividade aumentada devido a sua ligação com o NRP1. O tecido nasal de pacientes com COVID-19, foram as células que mostraram a proteína em sua superfície daqueles que foram infectados com o vírus (CANTUTI-CASTELVERI, 2020).

Cantuti-Castelvetri (2020) relata ainda que o NRP1 sozinho, não poderia provocar uma epidemia, mas de fato a disponibilidade adicional, especialmente na mucosa e membranas do trato respiratório superior pode ter sido decisivo na capacidade de transferência por meio do trato respiratório superior, se tornando também um agente importante para a transmissão.

3.3.1 NEUROPILINA-1

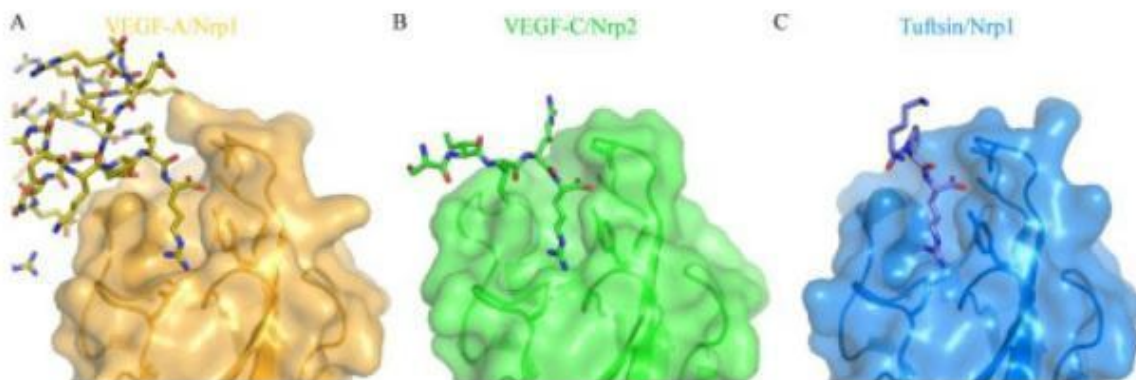
Os Neuropilins (NRPs), são receptores de superfície celular essenciais, envolvidos em múltiplas cascatas de sinalização celular fundamentais. Possuem funções-chave na angiogênese, dependente de Fator de Crescimento Vascular Endotelial (VEGF), na orientação axônica e na comunicação cruzada entre processos fisiológicos fundamentais (GUO & KOOL, 2018).

São glicoproteínas do receptor transmembranar inicialmente associadas com neurônios. Divididos em NRP-1 e NRP-2, estas duas isoformas humanas de neuropilin são abundantemente presentes nas células neuronais e endoteliais. Neuropilin normalmente existem como homodímeros, mas podem também formar heterodímeros. A região extracelular do NRP1 e NRP2, é composta por dois domínios CUB (a1 e a2), dois fatores de coagulação (b1 e b2), e um domínio MAM (JAMES & et al, 2020). As duas isoformas homólogas NRP, envolvem seus respectivos ligantes VEGF através do seu domínio de ligação b1 conservado no núcleo (JOBE & VIJAYAN, 2021).

Tanto o NRP-1 quanto o NRP-2 se ligam ao VEGF, utilizando um sítio de ligação conservado no núcleo formado pelos loops do fator de coagulação b1(Fig.6). O sítio de ligação formada pela fenda entre os anéis é específico para ligantes com uma arginina C-terminal. Uma ponte salina crítica é formada entre o Aspartato (Asp) conservado no loop L5 de NRP e a cadeia lateral de arginina C-terminal em VEGF. O terminal C interage especificamente com o loop L3 para formar uma "parede C" em

um lado do sítio de ligação, formando uma rede de ligações de hidrogênio (GUO & KOOI, 2018).

Figura 6 – Visão detalhada NRP

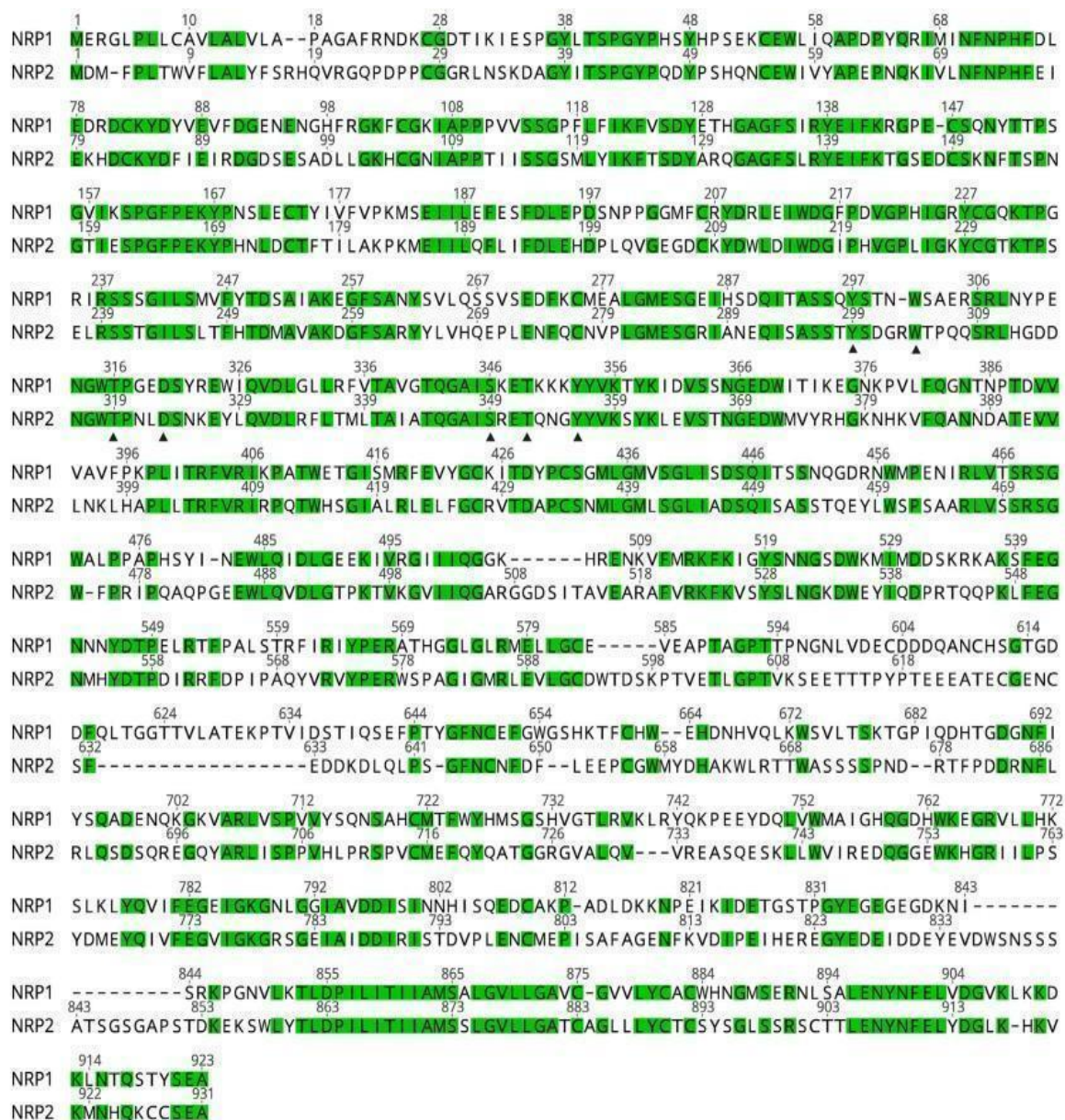


Visão detalhada do sítio de ligação ao ligante de NRP, revelando a base para a ligação específica à arginina C-terminal conservada em ligantes. A–C, detalhe da interface de ligação de Nrp1/VEGF-A (PDB = 4DEQ) (A); Nrp2/VEGF-C (PDB = 4QDQ) (B); e Nrp1/Tuftsin (PDB = 2ORZ) (C) (GUO & KOOI, 2018).

A ligação CendR (mecanismo de proteína que regula a permeabilidade vascular, o mecanismo é ativado através de um receptor NRP1, que media uma via transtecido), é responsável pela ligação entre o hCoV2 e o NRP1, aumentando a infecciosidade viral e sua entrada na célula (KOLARIC & et al, 2022). Foi observado uma interação S1 CendR com *Tyr297*, *Trp301*, *Thr316*, *Asp320*, *Ser346*, *Thr349* e *Tyr353* do NRP1. Ligações similares também foram encontradas no NRP2 que possui cerca de 44% da sua sequência idêntica ao NRP1 (Fig.7) (JOBE & VIJAYAN, 2021).

Ainda segundo Jobe e Vijayan (2021), foi observado em modelos de hamsters, que a deleção do sítio de clivagem S1/S2, resulta em infecções mais brandas. Dessa forma a interação entre NRP1 e o peptídeo CendR S1 implicaria em uma patogenicidade mais elevada para o hCoV2.

Figura 7 – Sequencia proteína domínio b1 NRP1



Alinhamento da sequência proteica dos domínios b1 de NRP-1 (acesso Uniprot: O14786) e NRP-2 (acesso Uniprot: O60462). Resíduos conservados são destacados em verde. Os resíduos que interagem com o CendR da proteína spike SARS-CoV-2 são marcados com um triângulo preto sólido abaixo dele (JOBE & VIJAYAN, 2021).

3.3 MODELAGEM COMPUTACIONAL

A aplicação do conhecimento computacional relacionada a pandemia se dá por meio do estudo de cenários de crescimento e comportamento do coronavírus. A abordagem já é utilizada em modelos imunológicos referentes a doenças infecciosas (TOLEDO, 2020).

Ainda segundo Toledo (2020), para desenvolver os modelos computacionais para a doença da tuberculose, por exemplo, é preciso utilizar conhecimentos de métodos numéricos que resolvem adequadamente sistemas de Equações Diferenciais Ordinárias – de forma aproximada – e de métodos estatísticos, conhecimentos de linguagens e técnicas de programação, além de sistemas operacionais para a utilização eficiente de computadores. Com este trio de conhecimentos é então possível realizar experimentos computacionais consolidados no que chamamos de cenários, importantes na tomada de decisões para a construção de políticas públicas no combate a esta doença.

A modelagem computacional ou docagem molecular (Docking molecular) permite identificar novos compostos de interesse terapêutico, prevendo o ponto de ligação e interação em um nível molecular. Abordagens *in silico*, como é chamado o método de análise de dados a nível molecular e de maneira computadorizada, torna possível o acesso a milhões de compostos, com tempo e custos reduzidos (PINZI & RASTELLI, 2019).

Ainda segundo Pinzi e Rastelli, embora a modelagem computacional tenha sido usada principalmente como um método autônomo para o design de medicamentos, agora ela é frequentemente integrada a fluxos de trabalho que incluem outras abordagens computacionais, como abordagens baseadas em ligantes, e baseadas em estruturas e IA (Inteligência Artificial) (Fig.8).

Figura 8 – Esquema didático sobre a modelagem computacional



Principais aplicações da modelagem computacional na descoberta de fármacos atuais. A modelagem computacional é atualmente empregada para ajudar a racionalizar a atividade dos ligantes em direção a um alvo de interesse, e para realizar triagens virtuais baseadas em estrutura, de forma semelhante à quando foi desenvolvido pela primeira vez. Além dessas aplicações, também pode ser usado para identificar uma série de alvos para os quais os ligantes apresentam boa complementaridade (Pesca ao alvo e perfilamento), alguns deles sendo potencialmente responsáveis por reações adversas inesperadas a medicamentos (previsão fora dos alvos). Além disso, a modelagem computacional também é empregada atualmente para a identificação de ligantes que se ligam simultaneamente a uma quantidade de alvos de interesse selecionados (Polifarmácia) e para identificar novos usos para compostos químicos com perfis de segurança já otimizados (reposicionamento de drogas) (PINZI & RASTELLI, 2019).

Com base nos dados atuais da literatura é possível realizar uma combinação de abordagens baseadas em ligantes e estruturas que otimizam significativamente o poder de previsão e, portanto, as taxas de acerto nas modelagens computacionais (PINZI & et al, 2018).

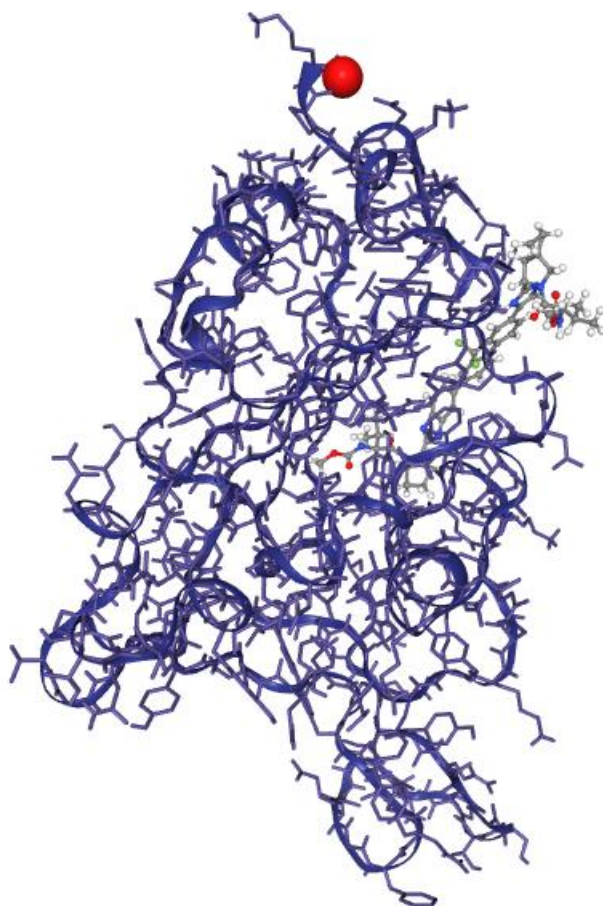
4 DELINEAMENTO METODOLÓGICO

O presente estudo trata-se de uma modelagem computacional comparativa feita nos servidores: Dokthor, Hdock Server, utilizando moléculas coletadas no servidor Protein Data Bank (PDB), e uma revisão bibliográfica com base em artigos científico de maior relevância sobre o tema, disponíveis em base de dados e revistas como: Scientific Electronic Library Online (Scielo), Google Acadêmico, PubMed. O estudo foi conduzido no segundo semestre de 2022 com o objetivo de ampliar o conhecimento sobre a interação da Proteína S do SARS-COV-2 e o Neuropilina-1. Como critério de inclusão foram utilizados artigos com abordagem sobre o SARS-COV-2, a COVID-19 e sua interação com o Neuropilina-1, assim como artigos sobre a Modelagem computacional entre essas duas proteínas de interesse e outros pertinentes a questão da Docagem Molecular, artigos duplicados e fora do tópico foram utilizados como critérios de exclusão.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi realizado uma modelagem computacional às cegas no servidor Dockthor, chamada de “Blind Dock”, com o objetivo de mostrar os pontos de maior ligação entre a proteína S do hCoV2 e uma série de fármacos existentes, reunidos a partir de uma base dados pré-existente no próprio servidor (Fig.9), para que seja possível observar os pontos de interesse para ligação com a molécula.

Figura 9 – Proteína S hCoV2



Proteína S do hCoV2, obtida a partir de Blind Dock realizado no Dockthor em 14/11/2022 (dos SANTOS & et al, 2020).

Foram realizadas 500.000 avaliações entre 101 ligantes (Tabela 1), e a proteína S. Evidenciando pontos de ligação na parte externa da molécula (Fig.10). Configurações de grade (Grid) foram:

CENTRO X = -30.68

CENTRO Y = 30.432

CENTRO Z = 22,3815

TAMANHO TOTAL X = 40

TAMANHO TOTAL Y = 40

TAMANHO TOTAL Z =40

Tabela 1 – Fármacos da base de dados do servidor Dockthor

1.	LEDIPASVIR_1.top	ligand_8eb7968d45
2.	ELBASVIR.top	ligand_9a2b5e3ebb
3.	LEDIPASVIR_2.top	ligand_a1e61305d5
4.	ELBASVIR_4.top	ligand_ba1f98301b
5.	PIPERAQUINE_DB13941_2.top	ligand_b395c3d03a
6.	LEDIPASVIR.top	ligand_81d25e76b7
7.	COBICISTAT_1.top	ligand_67cf10761e
8.	ELBASVIR_1.top	ligand_391a5a2c33
9.	ELBASVIR_2.top	ligand_cfbacce575
10.	DACLATASVIR.top	ligand_dee740d0eb
11.	DACLATASVIR_1.top	ligand_5de77206f6
12.	ELBASVIR_3.top	ligand_d2cecd3b8e
13.	COBICISTAT.top	ligand_3ec76a8e8c
14.	DIGITOXIN.top	ligand_715d65396a
15.	LOPINAVIR.top	ligand_407f41b486
16.	RITONAVIR.top	ligand_477fdb526c
17.	HYDROXYPROGESTERONE-CAPROATE.top	ligand_ef18d20258
18.	FLUPHENAZINE.top	ligand_f933e19c32
19.	IVERMECTIN.top	ligand_c71472e321
20.	ABEMACICLIB.top	ligand_162835f6bc
21.	DACLATASVIR_2.top	ligand_4714012449
22.	THIETHYLPERAZINE.top	ligand_ef4f4966d2
23.	BALOXAVIR.top	ligand_c0ba10d5d3
24.	SARACATINIB_DB11805.top	ligand_fcb83aee06
25.	PIPERAQUINE_DB13941_1.top	ligand_4456ddc8cf
26.	TRIFLUPROMAZINE.top	ligand_611a7e8b0e
27.	IMATINIB.top	ligand_fb3ea923bf
28.	SOFOSBUVIR.top	ligand_ee1175760e
29.	DIGOXIN.top	ligand_7f8f56430d
30.	CHLORPROMAZINE.top	ligand_83e0d83
31.	PROMETHAZINE_1.top	ligand_92ce8e6c13
32.	PROMETHAZINE.top	ligand_b399826d8c
33.	TILORONE_CID_5475.top	ligand_d301321d16
34.	REMDESIVIR_DB14761.top	ligand_26cfba9637
35.	LOPERAMIDE.top	ligand_71a07fb55a
36.	SALINOMYCIN_CID_3085092.top	ligand_4fe912de8e
37.	SILDENAFIL_1.top	ligand_8624663f5d
38.	TRANILAST_DB07615.top	ligand_925a3d427d

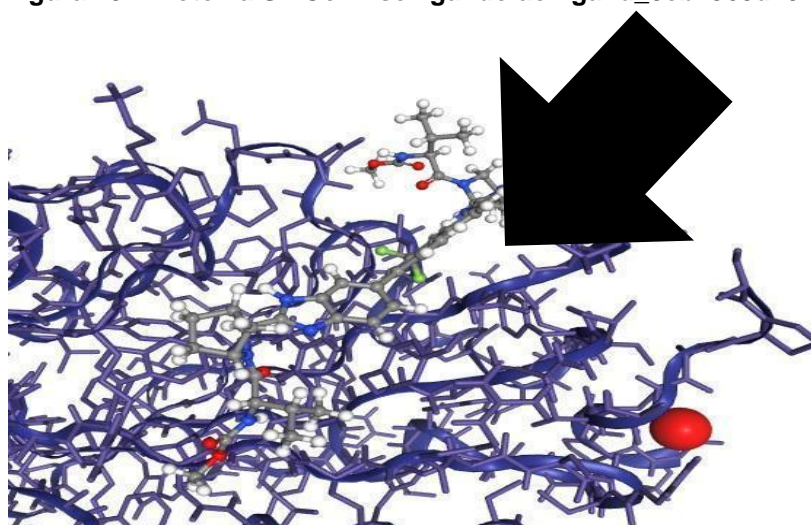
39.	TRAMETINIB.top	ligand_2ef7e11b
40.	GILTERITINIB.top	ligand_421d24d5fc
41.	DEXAMETHASONE.top	ligand_5b6d8af5c7
42.	OUABAIN_DB01092.top	ligand_33bd67572c
43.	PIPERAQUINE_DB13941.top	ligand_d16218e7e2
44.	RUXOLITINIB.top	ligand_526bbfc20c
45.	METHYLPREDNISOLONE.top	ligand_ddb522a55
46.	CICLESONIDE.top	ligand_4874a493a3
47.	UMIFENOVIR_DB13609.top	ligand_dda6f9369e
48.	BAZEDOXIFENE.top	ligand_220e1d21b7
49.	ELTROMBOPAG.top	ligand_bf6daf1573
50.	PIRFENIDONE.top	ligand_612403
51.	BROHMEXINE_DB09019.top	ligand_29c90c0c6c
52.	AMODIAQUINE.top	ligand_3c152fa3e3
53.	IVACAFTOR.top	ligand_912d981c44
54.	CHLOROQUINE_2.top	ligand_c27f0f6461
55.	DARUNAVIR.top	ligand_85817b
56.	LEFLUNOMIDE.top	ligand_98508b26eb
57.	MEFLOQUINE.top	ligand_b608f5faa4
58.	DASATINIB.top	ligand_7d3ec8ce00
59.	LOSARTAN.top	ligand_45a35d9455
60.	AZITHROMYCIN.top	ligand_94d83d3957
61.	CHLOROQUINE_1.top	ligand_2622b18184
62.	HYDROXYCHLOROQUINE_1.top	ligand_d02c5acf58
63.	HYDROXYCHLOROQUINE.top	ligand_7725bca528
64.	CHLOROQUINE_3.top	ligand_6151a1b8f4
65.	DASATINIB_1.top	ligand_019ae8d3ea
66.	FINGOLIMOD.top	ligand_2378c4053b
67.	SILDENAFIL.top	ligand_ef84d0
68.	OSELTAMIVIR.top	ligand_c5b68a37f0
69.	OXYCLOZANIDE_CID_16779.top	ligand_1c1dda04fe
70.	HYDROXYCHLOROQUINE_3.top	ligand_9148365c8
71.	DIHYDROARTEMISININ.top	ligand_c27209122d
72.	SOFOSBUVIR_1.top	ligand_93d49ed031
73.	HYDROXYCHLOROQUINE_2.top	ligand_cd8effc48b
74.	PROSCILLARIDIN_DB13307.top	ligand_8f626fc52
75.	DISULFIRAM.top	ligand_8c93bae
76.	IVACAFTOR_1.top	ligand_058088ac93
77.	HEXACHLOROPHENE.top	ligand_6cad86f891
78.	NITAZOXANIDE.top	ligand_48b5a40fb
79.	RESVERATROL_DB02709.top	ligand_0d40f909b7
80.	NITAZOXANIDE_1.top	ligand_4b9de162dd
81.	THALIDOMIDE.top	ligand_c7cf45744a
82.	NAFAMOSTAT_DB12598.top	ligand_070f5a227d
83.	NICLOSAMIDE.top	ligand_5fac57f887
84.	PENCICLOVIR.top	ligand_75b3c8a969

85.	PENCICLOVIR_1.top	ligand_d7268cad99
86.	EMTRICITABINE.top	ligand_42ecbbfa68
87.	THALIDOMIDE_1.top	ligand_c82395ebcc
88.	IBUPROFEN_1.top	ligand_fd5aabf
89.	AZVUDINE_CID_24769759.top	ligand_25229f0476
90.	GALIDESIVIR_DB11676.top	ligand_6b4335a473
91.	TENOFOVIR.top	ligand_c89fdc9caf
92.	MYCOPHENOLIC-ACID.top	ligand_d6b387f643
93.	GEMCITABINE.top	ligand_4a98496d0f
94.	IBUPROFEN.top	ligand_86cd2c
95.	CHLOROQUINE.top	ligand_e4e1a1ddef
96.	TRIAZAVIRIN_DB15622.top	ligand_e0aa47d8f2
97.	RIBAVIRIN.top	ligand_9bcc1af26e
98.	FAVIPIRAVIR_DB12466_1.top	ligand_e3246d5d2c
99.	ACETYLCYSTEINE_1.top	ligand_73c3e879e0
100.	FAVIPIRAVIR_DB12466.top	ligand_4d1417edac
101.	ACETYLCYSTEINE.top	ligand_0ffd99ca93

Tabela com nome dos fármacos e suas respectivas identificações como ligantes (dos SANTOS & et al, 2020).

Usando como ponto de referência o ponto vermelho posicionado na parte superior da figura 9, que é definido automaticamente pelo servidor e indica o centro do grid, podemos observar que os locais de atracamento dos 5 ligantes com melhor classificação (Fig, 10 à 14) de acordo com os valores de Afinidade, Energia total, Energia livre de Vander Walls (VdW), e Energia eletrostática (nesta ordem), é possível observar que todos os atracamentos são feitos em pontos externos da proteína S.

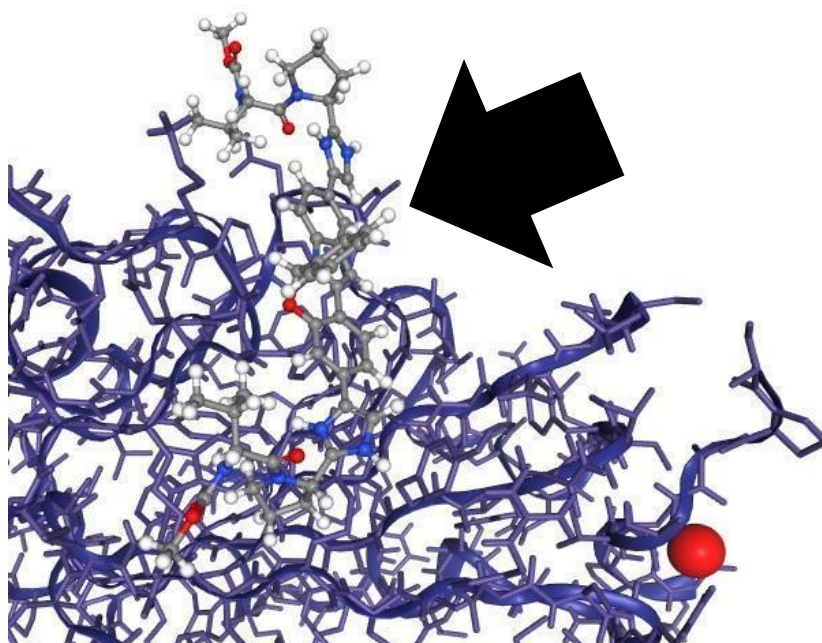
Figura 10 - Proteína S hCoV2 se ligando ao ligand_8eb7968d45



LEDIPASVIR_1.top	ligand_8eb7968d45	-10.024	50.415	-38.364	-4.633
------------------	-------------------	---------	--------	---------	--------

(dos SANTOS & et al, 2020)

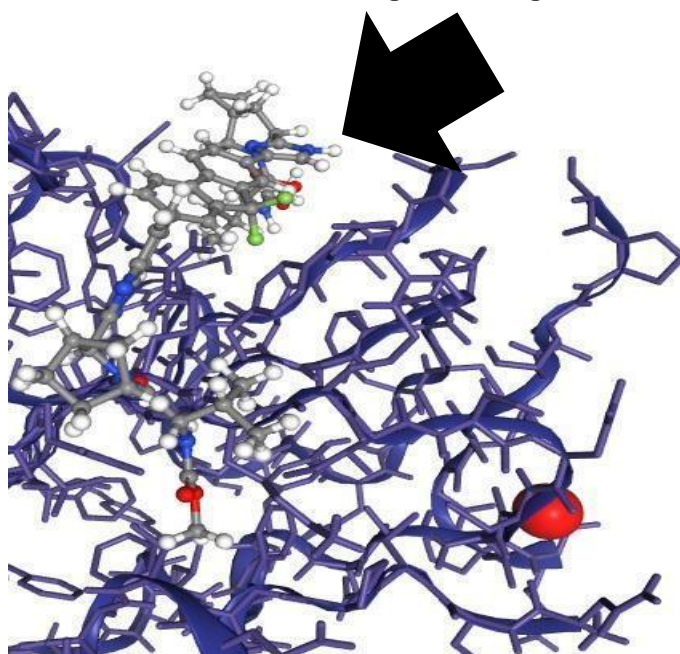
Figura 11 - Proteína S hCoV2 se ligando ao ligand_9a2b5e3ebb



ELBASVIR.top	ligand_9a2b5e3ebb	-9.363	78.282	-25.613	-15.433
--------------	-------------------	--------	--------	---------	---------

(dos SANTOS & et al, 2020)

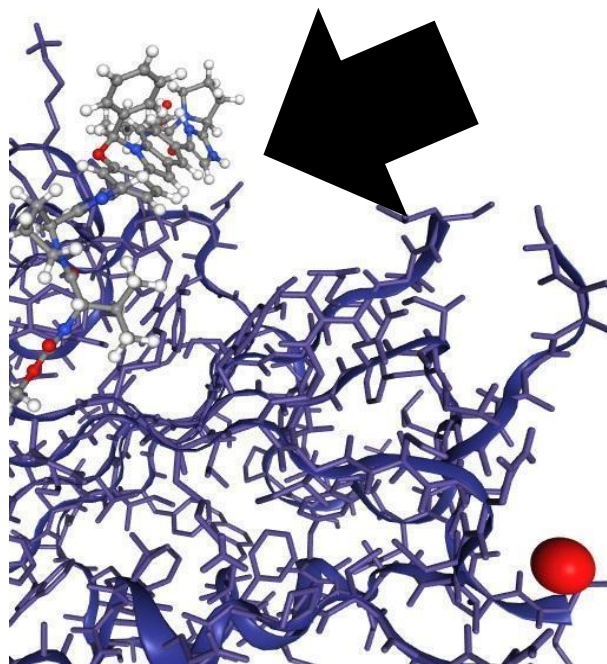
Figura 12 - Proteína S hCoV2 se ligando ao ligand_a1e61305d5



LEDIPASVIR_2.top	ligand_a1e61305d5	-9.211	48.470	-34.748	-8.342
------------------	-------------------	--------	--------	---------	--------

(dos SANTOS & et al, 2020)

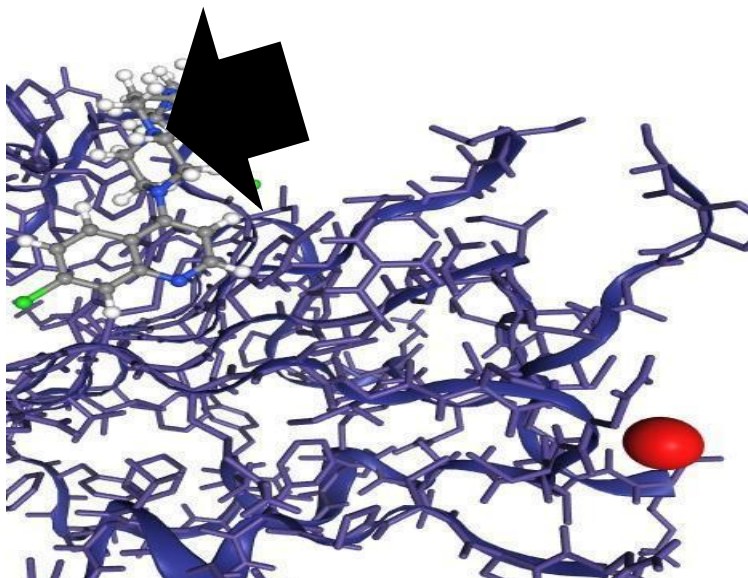
Figura 13 - Proteína S hCoV2 se ligando ao ligand_ba1f98301b



ELBASVIR_4.top	ligand_ba1f98301b	-9.068	72.472	-28.525	-13.338
----------------	-------------------	--------	--------	---------	---------

(dos SANTOS & et al, 2020)

Figura 14 - Proteína S hCoV2 se ligando ao ligand_b395c3d03a

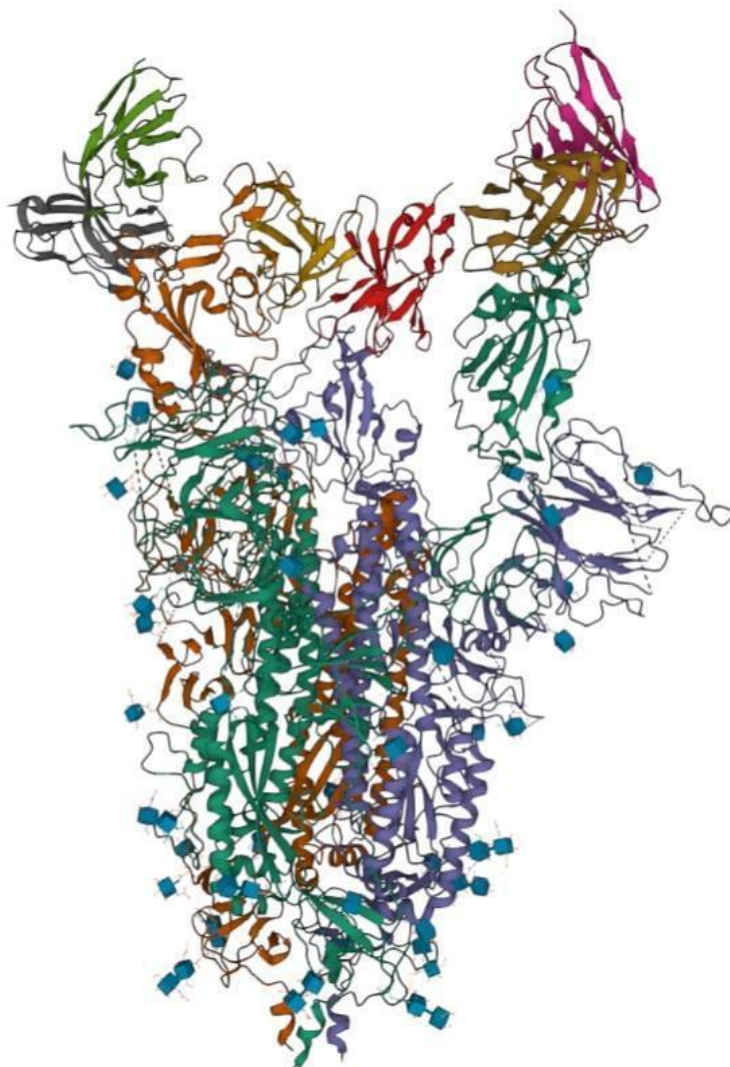


PIPERAQUINE_DB13941_2.top	ligand_b395c3d03a	-8.994	117.429	-18.267	-27.183
---------------------------	-------------------	--------	---------	---------	---------

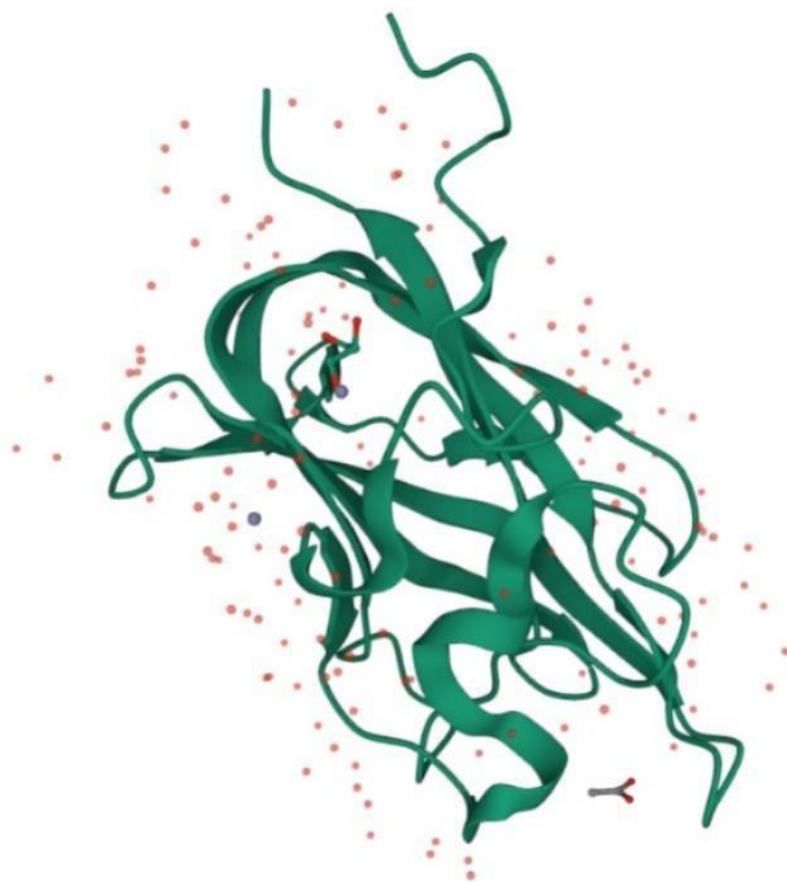
(dos SANTOS & et al, 2020)

No servidor Hdock, foram utilizadas duas moléculas, 7CYP (Fig.15) e 4RN5 (Fig.16), retiradas do servidor PDB (BERMAM & et al, 2020).

Figura 15 – 7CYP



Complexo da molécula spike SARS-COV-2, com seu anticorpo neutralizante HB27 (WANG & ZHU, 2021).

Figura 16 – 4RN5

Domínio B1 do Neuropilina-1 humano, com íon acetato em um sitio ligante-ligação (ALLERSTON & et al, 2015).

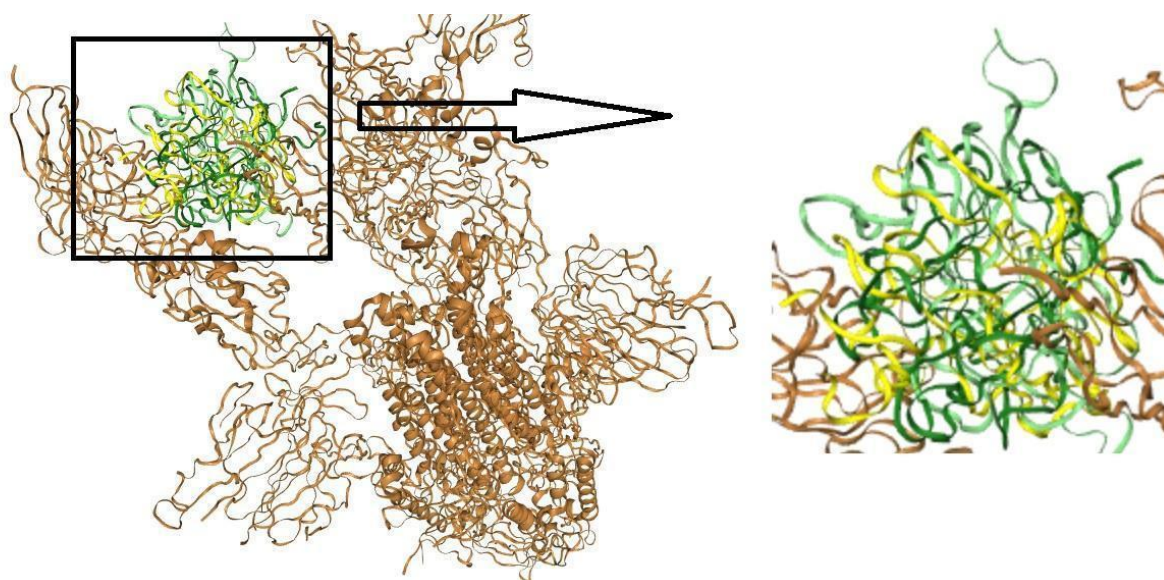
Os resultados dessa modelagem mostram alguns sítios de ligação possíveis entre essas duas moléculas. Entre eles vamos dar ênfase aos 10 primeiros colocados seguindo os seguintes critérios do próprio servidor Hdock (Tabela 2). Pontuação do Docking (Docking Score) e pontuações de ancoragem são calculadas pela função de pontuação interativa baseada em conhecimento ITScorePP ou ITScorePR do próprio servidor; Pontuação de confiança (Confidence Score) Calculado pelo próprio servidor seguindo a seguinte formula $Confidence_score = 1.0/[1.0+e^{0.02*(Docking_Score+150)}]$, onde uma pontuação de 0.7 ou acima significa que as duas moléculas provavelmente se ligariam, entre 0.5 e 0.7 existe uma possibilidade de ligação, e abaixo de 0.5 a ligação se torna improvável .

Tabela 2 – Rank da modelagem executada no servidor Hdock

Rank	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Docking Score	-292.42	-292.17	-274.14	-272.55	-268.46	-267.57	-263.19	-261.78	-251.84	-251.50
Confidence Score	0.9452	0.9450	0.9229	0.9206	0.9144	0.9130	0.9058	0.9034	0.8846	0.8839

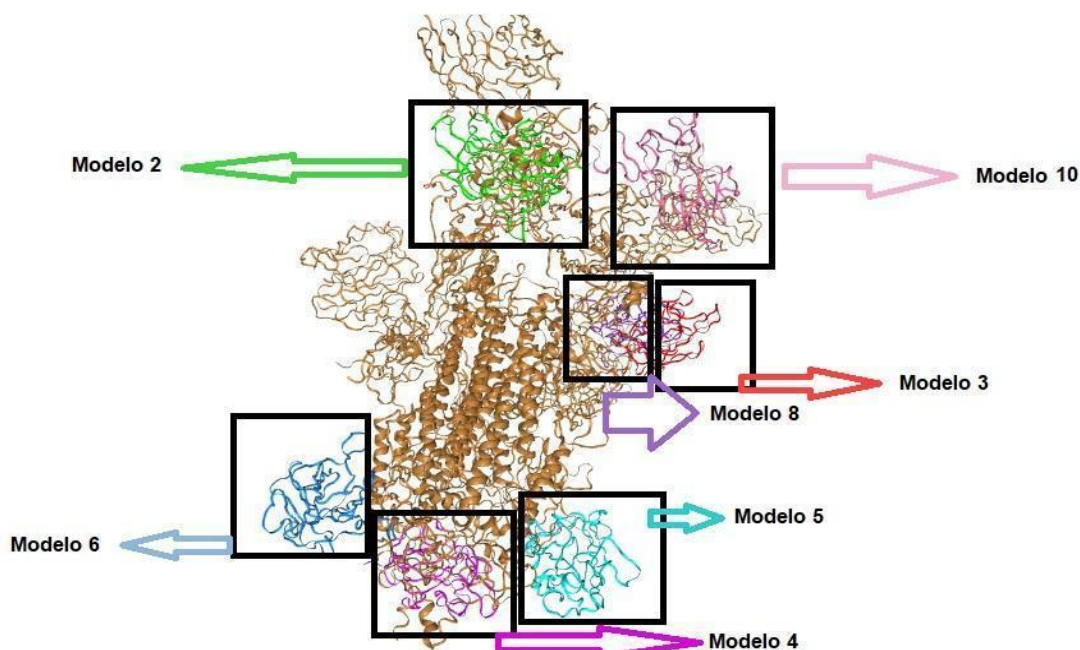
Tabela contendo ranking de classificação dos 10 melhores modelos, demonstrando locais com maior possibilidade de atracamento na proteína S hCoV2 pelo NRP1.

Ainda entre esses 10 melhores sítios de ligação possíveis, observamos que 3 dos modelos (Modelo nº 1,7,9) (Fig. 17) se ligam no mesmo local, aumentando as chances de ligação neste mesmo local, além disso as outras 6 ligações (Fig. 18) foram feitas nas áreas mais externas da molécula proteína S hCoV2.

Figura 17 – Proteína S com ligante NRP1

Proteína S hCoV2, com 3 possíveis ligações do NRP1 no mesmo sítio, pelos modelos nº 1 (Amarelo), nº 7 (Verde escuro), nº 9 (Verde claro).

Figura 18 - Proteína S com ligante NRP1

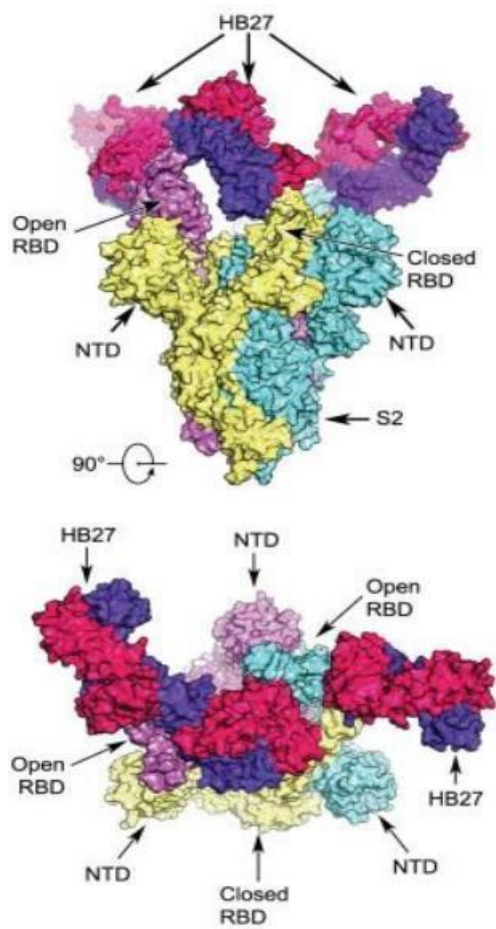


Proteína S hCoV2, apresentação dos outros 6 modelos NRP1 que compõem os 10 melhores sítios de ligação apresentados na modelagem computacional realizada no servidor Hdock.

Segundo VIANA 2022, o fragmento S1, clivado pela furina presente na célula hospedeira, possui um terminal CendR, cujos aminoácidos são capazes de se ligar ao domínio b1 da NRP1. Em acordo com o estudo anteriormente citado, a molécula de NRP1 selecionada possui o domínio b1 e um ponto ligante-ligação que como é possível observar nas figuras 17 e 18, proporcionou alguns pontos de ligação com a proteína S, em alguns casos se ligando no mesmo sítio ou locais muito próximos.

Segundo SHANG 2020, a proteína S1 do hCoV2 possuiria apenas um sítio RBD, que especificamente reconheceria a ACE2 como seu receptor. É possível observar na figura 20, que traz uma representação da molécula contendo a Proteína S da hCoV2, utilizada no servidor Hdock (fig.15), é possível observar a existência de dois sítios RBD abertos e fechados. Na figura 17 e 18, onde se é possível observar os pontos de interação proteína S x NRP1, podemos destacar a ligação dos modelos 1,7 e 9 que ocorrem em um sítio RBD, além do modelo 10 e 2 que também se apresentam em outras partes do sítio RBD, o que reforça o papel do NRP1 na infecção por hCoV2.

Figura 19 – Proteína S hCoV2



Vistas ortogonais do trîmero SARS-CoV-2 S em complexo com três c³opias do HB27 (ZHU & et al, 2020).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A partir da modelagem realizada no servidor DockThor, foi possível evidenciar a ligação que pode ocorrer com maior afinidade e presença de energia livre o que favorece uma ligação de maneira mais espontânea entre hCov2 e: Ledipasvir (moléculas 1,2), Elbasvir (moléculas 1,2,4), Piperaquine, Cobistat (molécula 1) e Daclatasvir. Os seguintes fármacos analisados e que demonstraram os 10 melhores parâmetros de ligação, tem como indicação de uso primário: Piperaquine – Malária, Cobicistat – HIV, enquanto os outros 8 fármacos têm indicação base de uso o tratamento de Hepatite C.
- De acordo com modelagem realizada no servidor Hdock, foi possível demonstrar 10 principais sítios de ligação entre hCoV2 e NRP1, que podem servir futuramente como base de estudo para prevenção e desenvolvimento de drogas e ou vacinas que bloqueiam esses pontos de interação, o que consequentemente impediria uma futura infecção.
- Não foi possível evidenciar, apenas com base em revisão de literatura e nas 2 modelagens computacionais executadas, possíveis modificações em rotas metabólicas que por sua vez poderiam elucidar alguns dos sintomas apresentados nos pacientes infectados pela COVID-19

Com isso é possível concluir, a necessidade de se continuar com as pesquisas por meio de modelagem computacional, pois estas conseguem fornecer evidências e parâmetros para tentar compreender esta e outras doenças que assolam e podem vir a assolar a humanidade. Sempre com o objetivo de otimizar o tempo de busca por tratamentos e possíveis curas para doenças.

REFERÊNCIAS

- ALLERSTON, C. K.; ET AL. B1 DOMAIN OF HUMAN NEUROPILIN-1 WITH ACETATE ION IN A LIGAND-BINDING SITE, 28 Outubro 2015.
- ANIRUDHAN, V. E. A. TARGETING SARS-COV-2 VIRAL PROTEASES AS A THERAPEUTIC STRATEGY TO TREAT COVID-19. **Journal of Medical Virology**, 2021. 2722-2734.
- ARABI, Y.; ET AL. SEVERE NEUROLOGIC SYNDROME ASSOCIATED WITH MIDDLE EAST RESPIRATORY SYNDROME CORONA VIRUS(MERS-COV). **PubMed**, 20 Janeiro 2015. 495-501.
- BERMAM, H. M.; ET AL. PROTEIN DATA BANK(PDB). **RCSB PDB Protein Data Bank**, 04 Setembro 2020. Disponível em: <<https://www.rcsb.org/>>.
- BITTMANN, S.; ET AL. NEUROPILIN-1 IN TRANSMISSION PROCESS OF COVID-19. **Journal of Regenerative Biology and Medicine**, 20 Julho 2020. 2582-385.
- CANTUTI-CASTELVERI, L. E. A. NEUROPILIN-1 FACILITATES SARS-COV-2 CELL ENTRY AND INFECTIVITY. **American Association for the Advancement of Science (AAAS)**, 10 out. 2020. 856-860. Disponível em: <<https://www.science.org/doi/10.1126/science.abd2985>>.
- CDC. CDC CENTER OF DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Center of Disease Control and Prevention**, 11 Agosto 2021. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/index.html>>. Acesso em: 13 Novembro 2022.
- CEVIK, M. E. A. VIROLOGY, TRANSMISSION, AND PATHOGENESIS OF SARS-COV-2. **British Medical Association Journal**, 23 OUTUBRO 2020. 371.
- CEVIK; ET AL. SARS-COV-2, SARS-COV, AND MERS-COV VIRAL LOAD DYNAMICS, DURATION OF VIRAL SHEDDING, AND INFECTIOUSNESS: A SYSTEMATIC REVIEW AND META-ANALYSIS. **The Lancet Microbe**, Janeiro 2021. e13-e22. Acesso em: 15 Novembro 2022.
- CHU, E. A. COMPARATIVE TROPISM, REPLICATION KINETICS, AND CELL DAMAGE PROFILING OF SARS-COV-2 AND SARS-COV WITH IMPLICATIONS FOR CLINICAL MANIFESTATIONS, TRANSMISSIBILITY, AND LABORATORY STUDIES OF COVID-19: AN OBSERVATIONAL STUDY. **The Lancet Microbe**, 21 Abril 2020. e14-e23.
- DAVIES, J. E. A. NEUROPILIN 1 AS A NEW POTENTIAL SARS COV 2 INFECTION MEDIATOR IMPLICATED IN THE NEUROLOGIC FEATURES AND CENTRAL NERVOUS SYSTEM INVOLVEMENT OF COVID 19. **Molecular Medicine REPORTS**, 15 Setembro 2020. 4221-4226.

DOS SANTOS, K. B.; ET AL. DOCKTHOR A RECEPTOR-LIGAND DOCKING PROGRAM. **DOCKTHOR**, Janeiro 2020. Disponível em: <<https://www.dockthor.Incc.br/v2/>>.

GOVERNO DO ESTADO DE PERNAMBUCO. Pernambuco contra o Coronavírus, 2020. Disponível em: <<https://www.pecontracoronavirus.pe.gov.br/>>. Acesso em: 08 Novembro 2022.

GUO, H.-F.; KOOI, C. W. V. NEUROPILIN FUNCTIONS AS AN ESSENCIAL CELL SURFACE RECEPTOR. **Journal of Biological Chemistry**, 04 Dezembro 2018. 29120 –29126.

HOPKINS, J. JOHNS HOPKINS CORONAVIRUS RESOURCE CENTER. **Jhons Hopikins University & Medicine**. Disponível em: <<https://coronavirus.jhu.edu/map.html>>. Acesso em: 13 Novembro 2022.

HU, X. E. A. DISCOVERY OF TMPRSS2 INHIBITORS FROM VIRTUAL SCREENING (Version 2. bioRxiv. Preprint. 2020 Dec 29 [revised 2021 Mar 17]). **PubMed Central**, 17 março 2021. 1124-1135.

JAMES, L. D.; ET AL. NEUROPILIN-1 IS A HOST FACTOR FOR SARS-COV-2 INFECTION. **Science**, 20 Outubro 2020. 1126.

JOBE, A.; VIJAYAN, R. NEUROPILINS: C-END RULE PEPTIDES AND THEIR ASSOCIATION WITH NOCICEPTION AND COVID-19. **Computacional and structural biotechnology journal**, 26 março 2021. 1889-1895. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2001037021000970?via%3Dihub>>.

KIELAIAN, M. ENHANCING HOST CELL INFECTION BY SARS-COV-2. **Science**, 13 novembro 2020. 765-766.

KOLARIC, A.; ET AL. NOVEL SMALL-MOLECULE INHIBITORS OF THE SARS-COV-2 SPIKE PROTEIN BINDING TO NEUROPILIN 1. **Pharmaceuticals (Basel)**, 28 Janeiro 2022. 15(2):165.

LEIBOWITZ, J. A. E. A. THE ROLE OF NEUROPILIN-1 IN COVID-19. **Journal Plos Pathogens**, 04 Janeiro 2021. 17(1):e1009153.

NAGESHA, S. N. . E. A. SARS-Cov SPIKE PROTEIN S1 SUBUNIT AS AN IDEAL TARGET FOR STABLE VACCINES: A BIOINFORMATIC STUDY. **Elsevier Public Health Emergency Collection**, 15 JULHO 2021. 904–912.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE. OPAS (Organização Pan-Americana de Saúde). Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/covid19/historico-da-pandemia-covid-19>>. Acesso em: 04 Novembro 2022.

PERROTA F, E. A. SEVERE RESPIRATORY SARS-COV2 INFECTION: DOES ACE2 RECEPTOR MATTER? **Respiratory Medicine**, 25 Abril 2020. 168:105996.

PINZI, L.; ET AL. SELECTION OF PROTEIN CONFORMATIONS FOR STRUCTURE-BASED POLYPHARMACOLOGY STUDIES. **Drug Discovery Today**, 05 Novembro 2018. 1889-1896.

PINZI, L.; RASTELLI, G. MOLECULAR DOCKING: SHITING PARADIGMS IN DRUG DISCOVERY. **International Journal of Molecular Sciences**, 04 Setembro 2019. 18: 4331.

RIVELLESE, F.; PREDILETTO, E. ACE2 AT THE CENTRE OF COVID-19 FROM PAUCISYMPTOMATIC INFECTIONS TO SEVERE PNEUMONIA. **Autoimmunity Reviews**, 19 Junho 2020. 19(6):102536.

SEPLAG; SES; ATI. COVID-19 EM DADOS. **Covid-19 em dados**, 08 Novembro 2022. Disponível em: <<https://dados.seplag.pe.gov.br/apps/corona.html#geral>>. Acesso em: 13 Novembro 2022.

SHANG, J.; ET AL. CORONAVIRUSES POST-SARS: UPDATE ON REPLICATION AND PATHOGENESIS. **PNAS Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 26 Maio 2020. 11727–11734.

THUNDERS, M.; DELAHUNT, B. GENE OF THE MONTH: TMPRSS2 (TRANSMEMBRANE SERINE PROTEASE 2). **Journal of clinical pathology**, 01 SETEMBRO 2020. 773-776.

TOLEDO, E. UFJF NOTÍCIAS. **Universidade Federal de Juiz de Fora Notícias**, 15 JULHO 2020. Disponível em: <<https://www2.ufjf.br/noticias/2020/07/15/entenda-o-papel-da-modelagem-computacional-na-pandemia-da-covid-19/#:~:text=GET%2C%20Eison%20Toledo.-,Modelos%20computacionais,imunol%C3%B3gicos%20referentes%20a%20doen%C3%A7as%20infecciosas.>>. Acesso em: 15 set. 2022.

WANG, X.; ZHU, L. COMPLEX OF SARS-COV-2 SPIKE TRIMER WITH ITS NEUTRALIZING ANTIBODY HB27, 09 Junho 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. World Health Organization, 23 Dezembro 2021. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/coronavirus-disease-covid-19-how-is-it-transmitted>>. Acesso em: Novembro 2022.

YANG, Y.; ET AL. THE HDock SERVER FOR INTEGRATED PROTEIN-PROTEIN DOCKING. NATURE PROTOCOLS. **HDock SERVER**, 2020. Disponível em: <<http://hdock.phys.hust.edu.cn/>>.

ZHU, L.; ET AL. DOUBLE LOCK OF POTENT HUMAN THERAPEUTIC MONOCLONAL ANTIBODY AGAINST SARS-COV-2. **National Library of Medicine**, 18 Dezembro 2020. 297.