



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DE MATERIAIS



ESTUDO DA FORMAÇÃO DE PROTEÍNA CORONA EM NANOPARTÍCULAS DE OURO COM USO DO WEB-SERVIDOR DE DOCKING MOLECULAR: PATCHDOCK

Filipe Lima dos Santos

Mossoró, RN
Julho de 2022

Filipe Lima dos Santos

**ESTUDO DA FORMAÇÃO DE PROTEÍNA
CORONA EM NANOPARTÍCULAS DE
OURO COM USO DO WEB-SERVIDOR DE
DOCKING MOLECULAR: PATCHDOCK**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (PPgCEM) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Campus Mossoró como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais.

Orientador(a): Profa. Dra. Eveline Matias Bezerra

Co-orientador(a): Prof. Dr. Roner Ferreira da Costa

Mossoró, RN
Julho de 2022

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

d237e dos Santos, Filipe.
ESTUDO DA FORMAÇÃO DE PROTEÍNA CORONA EM
NANOPARTÍCULAS DE OURO COM USO DO WEB-SERVIDOR DE
DOCKING MOLECULAR: PATCHDOCK / Filipe dos Santos.
- 2022.
129 f. : il.

Orientadora: Eveline Bezerra.
Coorientador: Roner da Costa.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
, 2022.

1. Nanopartículas de ouro. 2. Proteína corona.
3. Patchdock. 4. Docking molecular. I. Bezerra,
Eveline, orient. II. da Costa, Roner, co-orient.
III. Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade
com AACR2 e os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência
Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva
CRB: 15/120

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

Filipe Lima dos Santos

**ESTUDO DA FORMAÇÃO DE PROTEÍNA
CORONA EM NANOPARTÍCULAS DE
OURO COM USO DO WEB-SERVIDOR DE
DOCKING MOLECULAR: PATCHDOCK**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (PPgCEM) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Campus Mossoró como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais.

Aprovada em 29 de julho de 2022 pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Profª. Dra. Eveline Matias Bezerra (orientadora)
Universidade Federal do Rio Grande do Norte, UFRN

Prof. Dr. Roner Ferreira da Costa (co-orientadora)
Universidade Federal Rural do Semi-Árido, UFERSA

Prof. Dr. Rogério de Aquino Saraiva
Universidade Federal do Cariri, UFCA

Prof. Dr. Valder Nogueira Freire
Universidade Federal do Ceará, UFC

“A verdadeira coragem é ir atrás de seu sonho mesmo quando todos dizem que ele é impossível. O que vale na vida não é o ponto de partida e sim a caminhada. Caminhando e semeando, no fim terás o que colher.”

(Cora Coralina)

Agradecimentos

Agradeço aos meus pais, Francisco e Espedita, por me darem vida e significado a ela, por cada suor derramado. Sem vocês nada seria possível. Obrigado por terem se sacrificado tanto para que eu possa ter conquistado mais um título. Amo muito vocês.

Ao meu irmão, Matheus, e minha irmã, Vitória por existirem em minha vida, com todas virtudes e defeitos que fazem de vocês imprescindíveis.

A minha amada esposa Isabela, por todo amor, carinho, compreensão e apoio em tantos momentos difíceis desta caminhada. Obrigado por permanecer ao meu lado, mesmo sem os carinhos rotineiros, sem a atenção devida e depois de tantos momentos de lazer perdidos. Obrigado pelo presente de cada dia, pelo seu sorriso e por saber me fazer feliz.

A minha orientadora, Eveline Matias Bezerra, e ao meu coorientador, Roner Ferreira da Costa, que tiveram toda paciência e calma de me ouvir, me orientar, me ensinar e me ajudar em todas as etapas enfrentadas durante esse tempo de pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), fundação do Ministério da Educação (MEC), pela concessão de bolsa durante todo transcorrer da Pós graduação.

À Universidade Federal Rural do Semi-Árido, por toda a infraestrutura disponibilizada, seja por suporte financeiro, técnico, corpo docente, servidores, terceirizados e aparato de salas. Agradeço imensamente pela excelente formação que foi dada no decorrer dos últimos anos, bem como, pelas oportunidades científicas proporcionadas. Saio daqui com a certeza de que tive a melhor condição de evoluir profissionalmente.

A todo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (PPGCEM), por oferecer a oportunidade de cursar uma pós dentro desse semi-árido tão difícil, por toda sua equipe de professores, que transmitiram todo seu conhecimento e experiência durante essa jornada.

A todos que não foram citados, que de forma direta ou indireta, contribuíram para o enriquecimento deste trabalho.

Resumo

Nanopartículas de ouro (AuNPs) são sistemas nanométricos com comprimentos de até 100 *nm* em pelo menos uma das suas dimensões. O interesse nesse tipo de material deve-se as suas notórias características, podendo atuar no tratamento e diagnóstico de diversos tipos de câncer. Um efeito bastante interessante que ocorre quando esses materiais estão presentes no meio biológico é a formação de uma coroa de proteínas em sua superfície denominada de proteína corona. Esse efeito pode ser estudado a partir de técnicas *in vitro*, *in vivo*, e *in silico*. As técnicas de docking são ferramentas de estudo *in silico* que servem para tentar prever a melhor interação entre duas moléculas em um meio e, assim, determinar as propriedades dessa interação. Essas técnicas podem estar contidas em pacotes computacionais, ou em servidores disponíveis em páginas HTTP. A maioria dos servidores web que trabalham com o docking de moléculas estão limitados a trabalharem com o encaixe de componentes de tamanhos bem inferiores em comparação com as nanopartículas. No presente trabalho foram analisados servidores capazes de encaixar uma molécula proteica em uma nanopartícula, determinando as melhores possibilidades de encaixe que podem ocorrer entre proteínas de maior abundância no corpo humano como, por exemplo, a albumina sérica (6WUW, HSA) e a lisozima (1REX, LSM), e nanopartículas de forma coloidal e com tamanhos de 3, 4, 6, 8 e 16 nanômetros. A partir dos servidores estudados, concluímos que o único Web-Servidor capaz de realizar o encaixe proteína@nanopartícula de forma isolada foi o PatchDock. A partir das análises dos encaixes realizados por ele foi possível perceber que com o aumento do diâmetro das nanopartículas a lisozima reduz os graus de liberdade de interação de sua molécula com a nanopartícula, e vai ganhando uma maior acomodação na superfície da nanopartícula, mas com a albumina ocorre o efeito contrário a albumina se acomodou a superfície das nanopartículas de menor diâmetro com maior afinidade do que nas nanopartículas maiores. Os resultados mostraram que em geral a proteína albumina tem mais afinidade com as nanopartículas de ouro quando comparada com a lisozima.

Palavras-chave: Nanopartículas de ouro, proteína corona, Patchdock, docking mole-

cular.

Abstract

Gold nanoparticles (AuNPs) are particulate systems with lengths up to 100 *nm* in at least one dimension. The interest in this type of material is due to its notorious characteristics, which can act in the treatment and diagnosis of various types of cancer. A very interesting effect that occurs when these materials are present in the biological environment is the formation of a protein crown on its surface called corona protein. This effect can be studied using *in vitro*, *in vivo* and *in silico* techniques. Docking techniques are *in silico* study tools that serve to try to predict the best interaction between two molecules in a medium and, thus, determine the properties of this interaction. These techniques can be contained in computational packages, or servers available on HTTP pages. Most web servers that work with the docking of molecules are limited to working with the docking of components of much smaller sizes compared to nanoparticles. In the present work, servers capable of fitting a protein molecule into a nanoparticle were analyzed, determining the best possibilities of fitting that can occur between proteins of greater abundance in the human body, such as serum albumin (6WUW, HSA) and lysozyme (1REX, LSM), and colloidal nanoparticles with sizes of 3, 4, 6, 8 and 16 nanometers. The only Web-Server capable of performing the protein@nanoparticle docking in isolation was Patch-Dock. From the analysis of the fittings performed by him, it was possible to perceive that with the increase in the diameter of the nanoparticles, lysozyme reduces the degrees of freedom of interaction of its molecule with the nanoparticle, and gains greater accommodation on the surface of the nanoparticle, but with the albumin has the opposite effect, albumin has settled on the surface of smaller-diameter nanoparticles with greater affinity than in larger nanoparticles. The results showed that in general, the albumin protein has more affinity with gold nanoparticles when compared to lysozyme.

Keywords: Gold nanoparticles, protein corona, patchdock, molecular docking.

Sumário

Sumário	i
Lista de Figuras	iv
Lista de Tabelas	x
1 Introdução	1
Lista de Símbolos e Abreviaturas	1
2 Fundamentação Teórica	4
2.1 Docking Molecular	4
2.1.1 Algoritmo de Busca	31
2.1.2 Flexibilidade do ligante	35
2.1.3 Flexibilidade do Receptor	37
2.1.4 Função de Pontuação	39
2.2 Nanopartículas de ouro AuNP	40
2.2.1 Síntese de nanopartículas de ouro (AuNPs)	45
2.2.2 Propriedades das Nanopartículas de Ouro (AuNPs)	48
2.2.3 Aplicações de Nanopartículas de Ouro (AuNPs)	52
2.3 Formação da proteína corona em nanopartículas de ouro (AuNPs)	58
2.3.1 Fatores que influenciam a formação da corona proteica	60
2.3.2 Interações da proteína corona	62

2.3.3	Estrutura da coroa	62
2.3.4	Métodos de Análise da Formação da Proteína Corona	64
2.3.5	Métodos Computacionais	66
2.4	Proteínas	70
3	Objetivos	75
3.1	Objetivo geral	75
3.2	Objetivos específicos	75
4	Metodologia	76
4.1	Modelagem das Nanopartículas de Ouro AuNPs	77
4.2	Web Servidores de Docking Molecular	78
4.3	PATCHDOCK	81
5	Resultados e Discussão	83
5.1	Modelos das Nanopartículas de Ouro AuNPs	83
5.2	Web-Servidores de Docking Molecular	85
5.3	Docking Molecular AuNP@Proteína	86
5.3.1	Docking Molecular AuNP3@Lsm	87
5.3.2	Docking Molecular AuNP4@Lsm	90
5.3.3	Docking Molecular AuNP6@Lsm	93
5.3.4	Docking Molecular AuNP8@Lsm	97
5.3.5	Docking Molecular AuNP16@Lsm	98
5.3.6	Docking Molecular AuNP3@Hsa	101
5.3.7	Docking Molecular AuNP4@Hsa	104
5.3.8	Docking Molecular AuNP6@Hsa	108
5.3.9	Docking Molecular AuNP8@Hsa	110
5.3.10	Docking Molecular AuNP16@Hsa	112

5.4	Comparação dos resultados de Docking	114
6	Conclusão	119
	Referências bibliográficas	121

Lista de Figuras

Figura 2.1 –	O aumento do número de artigos, de 1998 a 2021, recuperado da base de dados Web of Science). As palavras-chave eram 'docking' ou 'dock' mostradas no resumo ou título.	5
Figura 2.2 –	Esquema do método de docking molecular. Um ligante forma um complexo com uma proteína, realizando interações no sítio de ligação.	6
Figura 2.3 –	Aplicações de docking molecular.	32
Figura 2.4 –	Abordagens para modelar a flexibilidade de um receptor de proteína na docking proteína-peptídeo. Os elementos flexíveis do sistema são marcados em azul: (a) ancoragem de corpo rígido; (b) acoplamento com cadeias laterais flexíveis no local de ligação esperado; (c) acoplamento de conjunto de diferentes conformações de proteínas; e (d) acoplamento com um esqueleto de proteína flexível permitindo rearranjos em grande escala. . .	33
Figura 2.5 –	Comparação entre os universos dimensionais nano, micro e macro.	42
Figura 2.6 –	(af) imagens TEM de AuNPs: a) quase-esferas b) nanobastões c) Nanodumbbells d) nanoprismas triangulares e) nanofios ultrafinos f) nanoestrelas ; (gh) imagens SEM de AuNPs: g) nanodendritos h) nanocubos.	43

Figura 2.7 —	Imagem TEM de partículas de ouro maiores preparadas a partir de sementes: (a) $5,5 \pm 0,6$, (b) $8,0 \pm 0,8$, (c) $17 \pm 2,5$ e (d) $37 \pm 5 \text{ nm}$ após a separação dos bastonetes.	44
Figura 2.8 —	Representação diagramática das nanopartículas de ouro (AuNPs), destacando suas principais propriedades e sua dependência com o tamanho e forma das partículas.	49
Figura 2.9 —	Representação esquemática dos elétrons de condução oscilando através da nanopartícula de ouro no campo eletromagnético da luz incidente.	50
Figura 2.10 —	Caracterização de nanoconchas de ouro ocas (HGNS), nanojaulas de ouro ocas (HGNC) e nanobastões de ouro (GNR). As imagens de microscopia eletrônica de transmissão (TEM) de nanopartículas de ouro retratam estruturas ocas características de HGNS e HGNC, como evidenciado pela diminuição da densidade eletrônica nos centros das partículas, enquanto GNR são confirmados como bastonetes. As imagens TEM (JEOL 1230 TEM) são acompanhadas por espectros de absorção UV-vis mostrando picos de plasmon primários em $\approx 750 \text{ nm}$ para cada classe de nanopartículas. O tamanho médio de cada nanopartícula de ouro é $\approx 45 \text{ nm}$ (barra de escala TEM é 100 nm , $n = 20$	51
Figura 2.11 —	Espectros de absorção de AuNPs em diferentes tamanhos. . . .	52

Figura 2.12 –	Imagens de microscopia eletrônica de transmissão e medições de nanopartículas de ouro em células. (A) O gráfico do número de nanopartículas de ouro por vesícula vs tamanho de nanopartícula. (B-F) imagens TEM de nanopartículas de ouro com tamanhos 14, 30, 50, 74 e 100 nm presos dentro de vesículas de uma célula Hela, respectivamente. (As imagens TEM foram gravadas a uma voltagem de 75 kV com um Hitachi H7000.).	53
Figura 2.13 –	Cinética de absorção celular de nanopartículas de ouro. (A) Captação celular de nanopartículas de ouro em função do tempo de incubação para três nanopartículas de ouro de tamanho diferente (diâmetros de nanopartículas 14, 50 e 74 nm).	54
Figura 2.14 –	Associação de diferentes morfologias e tamanhos de AuNPs com propriedades ópticas.	54
Figura 2.15 –	Aplicações biomédicas de nanopartículas de ouro.	57
Figura 2.16 –	Esquema representando a formação da proteína corona em nanopartículas quando imersas em fluido biológico.	59
Figura 2.17 –	Relação entre identidade sintética, identidade biológica e resposta fisiológica.	59
Figura 2.18 –	Determinação da orientação de proteínas em nanopartículas de sílica usando modificação química combinada com proteólise.	61
Figura 2.19 –	Esquema de formação de corona de proteína em uma superfície de nanopartículas (NP).	65
Figura 2.20 –	Instantâneos das configurações de quatro sistemas em (a) $t = 0ns$ e (b) $t = 3ns$.	67
Figura 2.21 –	Orientações do citocromo c adsorvido no AuNP funcionalizado com ácido mercaptopropiônico de 4 nm: (a) K22 e K86 voltados para o NP, (b) K86 e K87 voltados para o NP.	68

Figura 2.22 —	Instantâneos de simulações de ovispirina corona adsorvida na superfície de nanopartículas de ouro (a – c) de 3,2 nm e (d – f) de 10 nm.	68
Figura 2.23 —	Adsorção de FG (verde) em NPs de sílica pré-revestidas com HSA (vermelho) primeiro e TF (azul) em seguida. a) Ilustração esquemática de três etapas para o processo de adsorção. b) Cobertura superficial de HSA, TF e FG adsorvidos em NPs de sílica em função do tempo. c) Cobertura superficial de HSA, TF e FG adsorvidos em NPs de sílica em altas concentrações de proteína	69
Figura 2.24 —	a) Sintaxe estrutural de aminoácidos. b) Interação de dois aminoácidos e formação de ligação peptídica. c) Classificação estrutural de uma proteína.	71
Figura 2.25 —	Estrutura terciária da lisozima, 1REX. a) Detalhes dos domínios. b) Detalhes das estruturas secundárias.	73
Figura 2.26 —	Estrutura terciária da albumina, 6WUW.	74
Figura 4.1 —	Estrutura Cif de entrada no <i>Nano Crystal</i> e Partículas de Ouro de Saída com seus respectivos diâmetros.	78
Figura 4.2 —	Fluxograma de trabalho para avaliação dos Web-Servidores. . .	79
Figura 4.3 —	Interface Web PatchDock.	82
Figura 5.1 —	AuNPs de diferentes diâmetros e suas propriedades Químicas e Computacionais.	84
Figura 5.2 —	Variação de Número de Átomos e SAS com o diâmetro da nanopartícula.	85
Figura 5.3 —	Número de estudos publicados que citam o uso Web-Servidor. .	86
Figura 5.4 —	Melhor posição de docking (Posição 1) AuNP3@Lsm.	88

Figura 5.5 –	Posição de docking de maior contato superficial (Posição 11) AuNP3@Lsm.	89
Figura 5.6 –	Melhor posição de docking (Posição 1) AuNP4@Lsm.	92
Figura 5.7 –	Posição de docking de maior contato superficial (Posição 14) AuNP4@Lsm.	93
Figura 5.8 –	Melhor posição de docking (Posição 1) AuNP6@Lsm.	95
Figura 5.9 –	Posição de docking de maior contato superficial (Posição 10) AuNP6@Lsm.	96
Figura 5.10 –	Melhor posição de docking (Posição 1), também é a posição de maior área de contato superficial AuNP8@Lsm.	98
Figura 5.11 –	Melhor posição de docking (Posição 1) AuNP16@Lsm.	100
Figura 5.12 –	Posição de docking de maior contato superficial (Posição 13) AuNP16@Lsm.. . . .	101
Figura 5.13 –	Melhor posição de docking (Posição 1) AuNP3@Hsa. A) Re- presentação de Estruturas Secundárias. B) Repre-sentação de Cadeias de Aminoácidos.	103
Figura 5.14 –	Melhor posição de docking AuNP4@Hsa. A) Representação de estruturas secundárias. B) Representação de Cadeias de Aminoácidos.	107
Figura 5.15 –	Melhor posição de docking AuNP6@Hsa. A) Representação de estruturas secundárias. B) Representação de Cadeias de Aminoácidos.	108
Figura 5.16 –	Melhor posição de docking AuNP8@Hsa.. . . .	110
Figura 5.17 –	Melhor posição de docking AuNP16@Hsa. a) Representação de estruturas secundárias. b) Representação de Cadeias de Ami- noácidos.	114

- Figura 5.18 — Valores de pontuação da melhor pose de docking para os complexos Lsm@Nanopartícula e Hsa@Nanopartícula. Em azul, valores de docking para Lsm@Nanopartícula, e, em preto, valores e docking para Hsa@Nanopartícula. 116
- Figura 5.19 — Valores de pontuação da média das melhores poses de docking para os complexos Lsm@Nanopartícula e Hsa@Nanopartícula. Em azul, valores de docking para Lsm@Nanopartícula, e, em preto, valores e docking para Hsa@Nanopartícula. 117

Lista de Tabelas

Tabela 2.1 –	Software e servidores da web para encaixe e triagem virtual compilados e categorizados por http://www.Click2Drug.org do SIB Swiss Institute of Bioinformatics, que fornece uma lista abrangente de softwares de design de medicamentos auxiliado por computador e serviços da web para estrutura e cálculos baseados em ligantes.	7
Tabela 2.2 –	Programas de encaixe representativos.	34
Tabela 2.3 –	Recursos biológicos para síntese de AuNPs.	46
Tabela 2.4 –	Forças que contribuem para as interações entre proteínas e NMs.	63
Tabela 4.1 –	Propriedades de Arquivo PDB da Lsm (1REX) e Hsa (6WUW).	77
Tabela 4.2 –	Web Servidores de Docking que foram testados no estudo sobre formação de coroa proteica em AuNP.	80
Tabela 5.1 –	Soluções de docking AuNP3@Lsm.	87
Tabela 5.2 –	Lista de aminoácidos envolvidos na interação de posição 1 da AuNP3@Lsm.	89
Tabela 5.3 –	Lista de aminoácidos envolvidos na interação de posição 11 da AuNP3@Lsm.	90
Tabela 5.4 –	Soluções de docking AuNP4@Lsm.	91
Tabela 5.5 –	Lista de aminoácidos envolvidos na interação de posição 1 da AuNP4@Lsm.	91

Tabela 5.6 –	Soluções de docking AuNP6@Lsm.	94
Tabela 5.7 –	Lista de aminoácidos envolvidos na interação de posição 1 da AuNP6@Lsm.	94
Tabela 5.8 –	Lista de aminoácidos envolvidos na interação de maior área da AuNP6@Lsm.	96
Tabela 5.9 –	Soluções de docking AuNP8@Lsm.	97
Tabela 5.10 –	Lista de aminoácidos envolvidos na interação de posição 1 da AuNP8@Lsm.	99
Tabela 5.11 –	Soluções de docking AuNP16@Lsm.	99
Tabela 5.12 –	Soluções de docking AuNP3@Hsa.	102
Tabela 5.13 –	Lista de Aminoácidos presentes nas estruturas de contato AuNP3@Hsa.	104
Tabela 5.14 –	Soluções de docking AuNP4@Hsa.	105
Tabela 5.15 –	Soluções de docking AuNP6@Hsa.	106
Tabela 5.16 –	Lista de Aminoácidos presentes nas estruturas de interação de AuNP4@Hsa.	107
Tabela 5.17 –	Soluções de docking AuNP8@Hsa.	109
Tabela 5.18 –	Lista de aminoácidos envolvidos na interação AuNP6@Hsa. . .	111
Tabela 5.19 –	Lista de aminoácidos envolvidos na interação AuNP8@Hsa. . .	112
Tabela 5.20 –	Soluções de docking AuNP16@Hsa.. . . .	113
Tabela 5.21 –	Lista de aminoácidos envolvidos na interação AuNP16@Hsa. .	113

Capítulo 1

Introdução

Há no mundo hoje um grande interesse da comunidade científica pelas diversas aplicabilidades das nanopartículas de ouro (AuNPs) e suas características únicas. Esses sistemas têm sido importantes objetos de estudo nas mais variadas áreas do conhecimento, mas ganhando uma atenção especial das áreas da saúde e engenharias (Fuller & Köper 2019). Esse material apresenta-se como agente promissor no diagnóstico e tratamento de diversas doenças, como o câncer, e outras doenças neurodegenerativas como, por exemplo, o Alzheimer (Fuller & Köper 2019). Possui propriedades muito interessantes que podem ser manipuladas pelo controle de morfologia e de tamanho tornando grande o leque de aplicações em drug delivery, geração de imagem, e sensoriamento dos mais diversos sistemas biológicos (Fuller & Köper 2019).

Quando esse material está presente no soro biológico, independente da via de acesso, ele interage com as mais diversas moléculas contidas no meio, proteínas, carboidratos, gorduras, vitaminas, hormônios, entre outros (Marichal et al. 2019). Em especial, as proteínas adsorvem-se na superfície dessas nanopartículas, criando uma espessa camada de proteínas, denominada proteína corona (PC), que altera significativamente as propriedades das nanopartículas e, conseqüentemente, seu potencial de aplicação (Marichal et al. 2019).

Uma série de estudos têm sido publicados sobre a formação de proteínas corona em diferentes tipos de nanopartículas, com o intuito de se melhor compreender o fenômeno,

buscando formas de se evitar a formação, ou de melhor utilizar os sistemas, tirando proveito do fenômeno (Gebauer et al. 2012, Ghosh et al. 2008). Estes estudos são feitos por meios de ensaios *in vitro* e *in vivo*, usando técnicas que determinam desde a espessura da camada proteica, como sua composição (Elahi et al. 2018, Daniel & Astruc 2004). Um outro tipo de estudo, por meio do uso de recursos computacionais, são os estudos *in silico*, de modelagem molecular, que fornecem informações adicionais as técnicas experimentais, explorando teorias que seriam impossíveis de serem comprovadas por meio de pura experimentação (Ge et al. 2015).

Existe uma série de técnicas de modelagem molecular que tratam desde o desenho e representação de moléculas tridimensionais, ao cálculo de propriedades químicas como massa molecular, energia mínima, deslocamentos Raman dentre outros. As técnicas empregadas trabalham com diferentes conceitos físicos, como os da Mecânica Molecular (MM), e da Mecânica Quântica (MQ). Uma das técnicas mais importantes, principalmente em estudos como o da proteína corona, é a de docking molecular, que consiste na previsão de interação entre duas moléculas, servindo para determinar suas orientações de interação e quantificando a afinidade dessa interação em comparação com outros sistemas, usando as teorias da mecânica molecular, mecânica quântica, dinâmica molecular, e informações experimentais (Pinzi & Rastelli 2019).

Os Softwares de docking se apresentam em uma diversidade muito grande, que variam em aspectos do código computacional empregado, explorando tipos de ligações das moléculas, considerações a respeito da flexibilidade das moléculas, ferramental matemático usado para solução do problema de encaixe, e plataforma computacional disponível para emprego do método. Um tipo de plataforma que vem ganhando notoriedade no emprego dos métodos são as interfaces Web ou Web-Servidores de Docking, que disponibilizam o método de encaixe por meio de uma página HTML, que pode ser acessada pela rede mundial de computadores, por meio de um navegador de internet convencional (Chen 2015).

Este tipo de plataforma foi desenvolvido com o intuito de democratizar o uso dos mé-

todos do docking, tornando-os mais disponíveis a toda comunidade científica e não só aos pesquisadores da área. Com o uso das interfaces web, muitos dos problemas encontrados por aqueles que tinham interesse no uso do método foram superados, como dificuldade com uso dos códigos computacionais que demandavam conhecimento mais aprofundado em programação, falta de hardware robusto necessário ao uso do método para processamento dos dados dentre outros conhecimentos, que muitos não têm pleno domínio, mas que podem ter resultados interessantes com uso do método (Sliwoski et al. 2014).

Capítulo 2

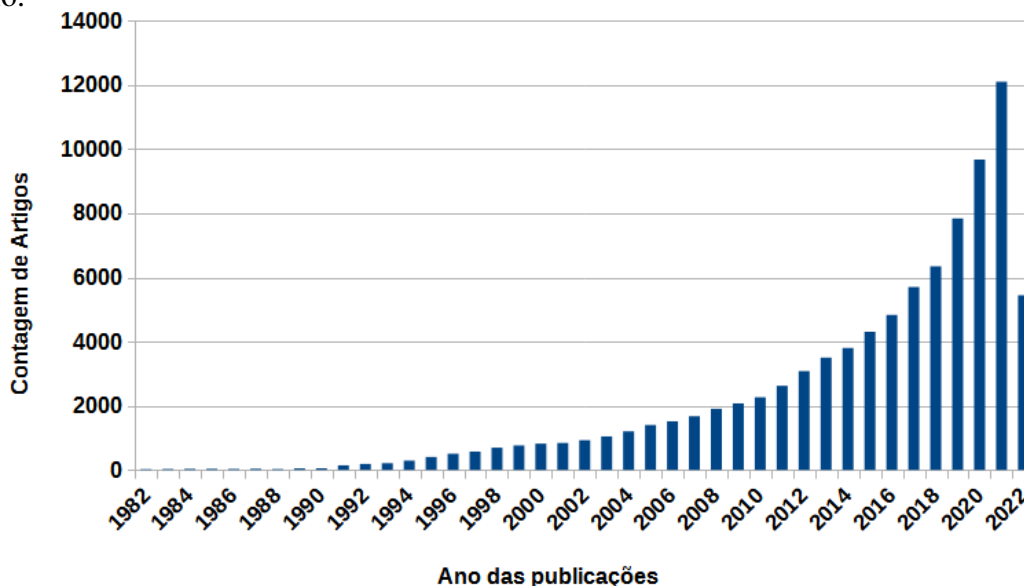
Fundamentação Teórica

2.1 Docking Molecular

Segundo Chen e colaboradores (Chen 2015), o docking molecular, ou simplesmente docking, é uma tecnologia computacional capaz de determinar a orientação de um ligante quando ele está acoplado a um receptor de proteína ou enzima. Na maioria dos casos, pode-se escolher a melhor 'afinidade de ligação' para que o ligante seja potencializado em futuros experimentos e desenvolvimento de bioquímica. Como o docking é simples e a necessidade de equipamento é baixa (funciona até mesmo bem em um computador pessoal), os papéis relacionados ao docking aumentaram drasticamente na última década como pode ser visto na Figura 2.1 (Chen 2015).

Conforme Zoete e colaboradores (Zoete et al. 2009) o docking molecular é uma técnica *in silico* usada com o principal objetivo de encontrar os complexos mais estáveis entre uma biomolécula (receptora), por exemplo uma proteína, e um ligante, por exemplo uma pequena molécula candidata a fármaco, mostrado na Figura 2.2 (Zoete et al. 2009). Trata-se de uma ferramenta-chave no screening virtual de bibliotecas de compostos, que visa identificar pequenas moléculas capazes de interagir com um alvo biológico, normalmente em um amplo sítio de ligação ou em um sítio ativo, influenciando a atividade da biomolécula (Sliwoski et al. 2014). Ele tenta prever a posição nativa, orientação e conformação (chamada pose nativa ou modo de ligação nativo) de um ligante de molécula

Figura 2.1: O aumento do número de artigos, de 1998 a 2021, recuperado da base de dados Web of Science). As palavras-chave eram 'docking' ou 'dock' mostradas no resumo ou título.



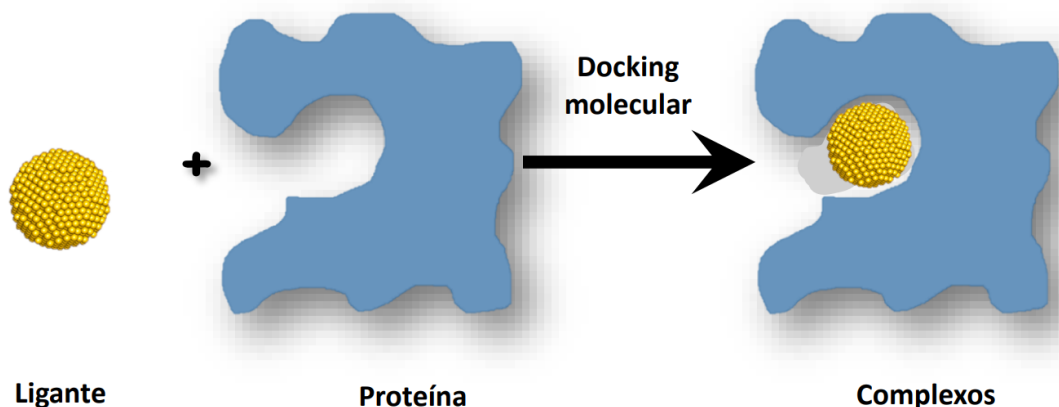
Fonte: Autoria Própria.

pequena dentro do local de ligação de uma macromolécula alvo. Ao fornecer o entendimento básico das interações que ocorrem entre o ligante e seu receptor, o docking abre a porta para a estimativa de afinidade antes da síntese, bem como para as técnicas de otimização do ligante (Zoete et al. 2009).

O conceito original de docking vem da analogia do encaixe de 'chave e fechadura' do design racional de drogas, em que os algoritmos necessários para encaixar a 'chave' (o ligante) na 'fechadura' (a proteína receptora) variam entre os mais diferentes programas (Chen 2015). Segundo Guedes e colaboradores, um algoritmo de busca e uma função de pontuação de energia são as ferramentas básicas de uma metodologia de docking para gerar e avaliar as conformações do ligante (Guedes et al. 2014).

O docking molecular, no momento de sua aparição em meados da década de 1970, mostrou-se uma ferramenta muito importante para auxiliar na compreensão de como os compostos químicos interagem com seus alvos moleculares e na pesquisa e desenvolvi-

Figura 2.2: Esquema do método de docking molecular. Um ligante forma um complexo com uma proteína, realizando interações no sítio de ligação.



Fonte: Adaptado de Da Silva (Da Silva, 2019)

mento de medicamentos. Houve um crescimento exponencial no número de estudos de docking, que vão desde o uso da tecnologia para identificar aspectos estruturais necessários para uma ligação ligante-receptor eficiente, como também no desenvolvimento de ferramentas de docking mais precisas (Pinzi & Rastelli 2019).

Um dos primeiros e mais interessantes estudos sobre o uso de docking na descoberta de drogas e biologia está o de Kuntz e colaboradores (Kuntz et al. 1982). No início dos anos 1980. Neste estudo, os autores descreveram um método computacional que permite a exploração de alinhamentos ligante-receptor geometricamente viáveis para as estruturas conhecidas de heme-mioglobina/metamioglobina e tiroxina/pré-albumina. Apesar de não ter sido o primeiro a empregar docking para prever conformações potenciais de complexos moleculares este estudo foi o que relatou pela primeira vez o uso de uma função simplificada contendo apenas os termos 'repulsões de esfera dura' e 'ligação de hidrogênio' para descrever as interações proteína-ligante, que apresentava nuances diferenciadas de estudos anteriores. Além disso, os autores também foram os pioneiros em considerar o receptor como um corpo sólido e rígido, cujo sítio de ligação é constituído por “bolsas”. Curiosamente, o método adotado neste estudo foi capaz de prever estruturas próximas

àquelas de complexos de raios-X já relatados, e também encontrar conformações de proteínas que poderiam ser usadas para refinamento de energia e, eventualmente, projetar novos ligantes (Kuntz et al. 1982). Desde então, o docking molecular passou por melhorias dramáticas, por exemplo, pelo emprego de algoritmos flexíveis nos cálculos (Pinzi & Rastelli 2019).

Existem diversas revisões que foram feitas discutindo o papel e as aplicações do docking e as possibilidades que ele pode oferecer na pesquisa e desenvolvimento de medicamentos. Além do reconhecimento molecular entre moléculas grandes e pequenas, é possível a utilização para o auxílio em diferentes tarefas de programas de descoberta de drogas, como na identificação e otimização de acertos, no reposicionamento de drogas, na identificação de alvos a posteriori (triagem reversa), e no design de ligante multi-alvo e reposicionamento apresentados na Figura 2.3 (Pinzi & Rastelli 2019).

Conforme descrito em Chen (2015), as ferramentas recentemente desenvolvidas consistem em programas de docking, em servidores web docking, em softwares de tela e servidores web de tela que estão listados na Tabela 1, que apesar de ser uma lista bem extensa não é taxativa, por não conter todas as aplicações recentes (Chen 2015).

Tabela 2.1: Software e servidores da web para encaixe e triagem virtual compilados e categorizados por <http://www.Click2Drug.org> do SIB Swiss Institute of Bioinformatics, que fornece uma lista abrangente de softwares de design de medicamentos auxiliado por computador e serviços da web para estrutura e cálculos baseados em ligantes.

Nome do programa	Recursos disponíveis
Software de acoplamento	

Continua na próxima página

Tabela 2.1 – *Continuação da página anterior*

Nome do programa	Recursos disponíveis
Autodock	Software de docking gratuito baseado em EA de código aberto. Ligante flexível. Cadeias laterais de proteínas flexíveis. Mantido pelo Laboratório de Gráficos Moleculares, Scripps Research Institute, La Jolla.
DOCK	Programa de ancoragem baseado em âncora e crescimento. Gratuito para uso acadêmico. Ligante flexível. Proteína flexível. Mantido pelo grupo Soichet da Universidade da Califórnia em São Francisco (UCSF).
GOLD	Programa de ancoragem baseado em GA. Ligante flexível. Flexibilidade parcial para proteínas. Produto de uma colaboração entre a Universidade de Sheffield, GlaxoSmithKline e o Cambridge Crystallographic Data Center (CCDC).
GLIDE	Programa de ancoragem exaustivo baseado em pesquisa. Existe nos modos de precisão extra (XP), precisão padrão (SP) e triagem virtual de alto rendimento. Ligando e proteínas flexíveis. Fornecido por Schrödinger.
SCIGRESS	Conjunto de software de modelagem molecular de desktop/servidor que emprega métodos quânticos semi-empíricos de escalonamento linear para otimização de proteínas e acoplamento de ligantes. Desenvolvido e distribuído pela Fujitsu.
GlamDock	Programa de docking baseado em um Monte-Carlo com busca de minimização (basin-hopping) em um espaço híbrido de correspondência de interação/busca de coordenadas internas. Parte da suíte Chil 2. Aberto para pesquisas gerais.
GEMDOCK (método evolutivo genérico para docking molecular)	Programa para calcular a conformação e orientação de um ligante em relação ao sítio ativo da proteína alvo.
iGEMDOCK	Ambiente gráfico para docking, triagem virtual e análise pós-triagem. Gratuito para pesquisas não comerciais. Para Windows e Linux.

Continua na próxima página

Tabela 2.1 – *Continuação da página anterior*

Nome do programa	Recursos disponíveis
HomDock	Programa para encaixe baseado em similaridade, baseado em uma combinação da ferramenta de alinhamento molecular GMA baseada em ligante e a ferramenta de encaixe Glam-Dock. Parte da suíte Chil 2 . Aberto para pesquisas gerais.
ICM	Programa de docking baseado em amostragem pseudo-browniana e minimização local. Ligando e proteínas flexíveis. Fornecido por MolSoft.
FlexX, Flex-Ensemble (FlexE)	Programa de encaixe baseado em construção incremental. Ligante flexível. Flexibilidade da proteína por meio do conjunto da estrutura da proteína. Fornecido por BioSolveIT.
Fleksy	Programa para encaixe de ajuste flexível e induzido usando conjunto de receptor (construído usando biblioteca de rotâmero dependente de backbone) para descrever a flexibilidade da proteína. Fornecido pelo Centro de Informática Molecular e Biomolecular, Radboud University Nijmegen.
ParaDockS (conjunto de encaixe paralelo)	Programa de código aberto gratuito para acoplar pequenas moléculas semelhantes a drogas a um receptor rígido, empregando o potencial baseado em conhecimento PMF04 ou a função de energia empírica p-Score.
eHiTS	Programa de ancoragem exaustivo baseado em pesquisa. Fornecido pela SimBioSys.
FITTED (flexibilidade induzida por meio de descrição evolutiva direcionada)	Conjunto de programas para encaixar ligantes flexíveis em proteínas flexíveis. Este software se baseia em um algoritmo genético para explicar a flexibilidade das duas moléculas e localização das moléculas de água e em uma nova aplicação de uma função de comutação para reter ou deslocar moléculas de água e formar ligações covalentes potenciais (acoplamento covalente) com o lado da proteína correntes. Parte do pacote Molecular FORECASTER e FITTED Suite. Gratuito para uma licença de site acadêmico (excluindo cluster).

Continua na próxima página

Tabela 2.1 – *Continuação da página anterior*

Nome do programa	Recursos disponíveis
VLifeDock	Abordagens múltiplas para docking proteína-ligante. Fornece três abordagens de encaixe: encaixe baseado em grade, encaixe GA e o próprio programa de encaixe GRIP da VLife. Várias funções de pontuação podem ser usadas: pontuação PLP, XCScore e pontuação Steric+eletrostática. Disponível para Linux e Windows. Fornecido por VLife (http://www.vlifesciences.com/).
Molegro Virtual Docker	Programa de acoplamento de proteína-ligante com suporte para águas deslocáveis, acoplamento de ajuste induzido, restrições definidas pelo usuário, alinhamento molecular, triagem baseada em ligante e integração de fluxo de trabalho KNIME. Fornecido por Molegro (http://www.scientificsoftware-solutions.com/product.php?productid=17625)
Autodock Vina	Software de encaixe baseado em MC. Gratuito para uso acadêmico. Ligante flexível. Cadeias laterais de proteínas flexíveis. Mantido pelo Laboratório de Gráficos Moleculares, The Scripps Research Institute, La Jolla.
VinaMPI	Programa de interface de passagem de mensagens massivamente paralela (MPI) baseado no programa de encaixe virtual multithread AutodockVina. Gratuito e de código aberto. Oferecido pela University of Tennessee.

Continua na próxima página

Tabela 2.1 – *Continuação da página anterior*

Nome do programa	Recursos disponíveis
DAIM – SEED – FFLD	Conjunto de docking gratuito baseado em fragmentos de código aberto. O encaixe é realizado em três etapas. DAIM (decomposição e identificação de moléculas) decompõe as moléculas em fragmentos moleculares que são encaixados usando SEED (programa para encaixar bibliotecas de fragmentos com avaliação de energia de solvatação). Finalmente, as moléculas são reconstruídas 'in situ' a partir dos fragmentos acoplados usando o programa FFLD (programa para acoplamento de ligante flexível baseado em fragmentos). Desenvolvido e mantido pela Computational Structural Biology da ETH, Zurique, Suíça.
FlipDock	Programa de acoplamento baseado em GA usando estruturas de dados FlexTree para representar um complexo proteína-ligante. Gratuito para uso acadêmico. Ligante flexível. Proteína flexível. Desenvolvido pelo Departamento de Biologia Molecular do Scripps Research Institute, La Jolla.
FRED	FRED realiza um exame sistemático, exaustivo e não estocástico de todas as poses possíveis dentro do sítio ativo da proteína, filtra para complementaridade de forma e características farmacóforas antes de selecionar e otimizar as poses usando a função de pontuação Chemgauss4. Fornecido pelo software científico OpenEye.
HÍBRIDO	Programa de ancoragem semelhante ao FRED, exceto que usa a função de pontuação baseada em ligante de sobreposição gaussiana química (CGO). Fornecido pelo software científico OpenEye.
Rosetta Ligand	Procedimento de minimização de Monte Carlo no qual a posição do corpo rígido e a orientação da pequena molécula e as conformações da cadeia lateral da proteína são otimizadas simultaneamente. Gratuito para usuários acadêmicos e sem fins lucrativos.

Continua na próxima página

Tabela 2.1 – *Continuação da página anterior*

Nome do programa	Recursos disponíveis
POSIT	Predição de pose guiada por ligante. O POSIT usa informações do ligante ligado para melhorar a previsão de pose. Usando uma combinação de várias abordagens, incluindo geração de estrutura, alinhamento de forma e ajuste flexível, ele produz uma pose predita cuja precisão depende de medidas de similaridade para poses de ligante conhecidas. Como tal, ele produz uma estimativa de confiabilidade para cada pose prevista. Além disso, se fornecido com uma seleção de receptores de uma série cristalográfica, o POSIT determinará automaticamente qual receptor é mais adequado para a previsão de pose. Fornecido pelo software científico OpenEye.
Surflex-Dock	Programa de docking baseado em um ligante de sítio ativo idealizado (um protomol), usado como um alvo para gerar poses putativas de moléculas ou fragmentos moleculares, que são pontuados usando a função de pontuação Hammerhead. Distribuído pela Tripos.
CDocker	Programa de ancoragem baseado em CHARMM. Conformações de ligante aleatórias são geradas por MD e as posições dos ligantes são otimizadas no local de ligação usando rotações de corpo rígido seguidas por recozimento simulado. Fornecido por Accelrys.
LigandFit	Programa de ancoragem baseado em CHARMM. As conformações de ligante geradas usando técnicas de Monte Carlo são inicialmente encaixadas em um local ativo com base na forma, seguido por uma minimização adicional de CHARMM. Fornecido por Accelrys.
Localizador de chumbo	Programa para docking molecular, triagem virtual e avaliação quantitativa da ligação ao ligante e atividade biológica. Distribuído pela Moltech. Para Windows e Linux.
Estrutura YASARA	Adiciona suporte para acoplamento de moléculas pequenas ao YASARA View/Model/Dynamics usando Autodock e Flexy. Fornecido por YASARA (http://www.yasara.org/).

Continua na próxima página

Tabela 2.1 – *Continuação da página anterior*

Nome do programa	Recursos disponíveis
MOE	Conjunto de ferramentas de química medicinal, incluindo acoplamento ligante-receptor, diagramas de interação proteína / ligante, estatísticas de contato, mapas eletrostáticos e de interação, LigX (otimização de ligante no bolso), substituição de estrutura baseada em ligante e estrutura, alinhamento flexível de múltiplas moléculas, geração de conformação, análise e clustering, detecção e visualização de site ativo, pesquisa de múltiplos fragmentos, editor de consulta baseado em ligante e estrutura, geração de conformação de alto rendimento, pesquisa de farmacóforo. Distribuído pelo Chemical Computing Group.
GalaxyDock	Programa de acoplamento de proteína-ligante que permite flexibilidade de cadeias laterais pré-selecionadas do ligante. Desenvolvido pelo Laboratório de Biologia Computacional, Departamento de Química, Universidade Nacional de Seul.
MS-Dock	Gerador de conformação múltipla gratuito e protocolo de acoplamento rígido para triagem de ligante virtual em várias etapas.
FINDSITE-LHM	Abordagem de modelagem de homologia para acoplamento de ligante flexível. Ele usa uma coleção de subestruturas de moléculas comuns derivadas de modelos evolutivamente relacionados como os compostos de referência na predição de pose de ligação de ligante baseada em similaridade. Ele também fornece uma função de pontuação simples para classificar os compostos encaixados. Disponível gratuitamente para todos os usuários acadêmicos e instituições sem fins lucrativos. Fornecido pelo Grupo de Pesquisa Skolnick.
BetaDock	Software de simulação de docking molecular baseado na teoria do complexo Beta.
ADÃO	Ferramenta de encaixe automatizada. Pode ser usado para vHTS. Distribuído por IMMD (http://www.immd.co.jp/en/product_2.html).

Continua na próxima página

Tabela 2.1 – *Continuação da página anterior*

Nome do programa	Recursos disponíveis
dica! (interações hidropáticas).	Estima o LogP para moléculas modeladas ou arquivos de dados; avalia numericamente e graficamente a ligação de drogas ou inibidores em estruturas de proteínas e pontua orientações DOCK, constrói mapas de complementaridade hidropática (LOCK e KEY) que podem ser usados para prever um substrato de um receptor conhecido ou estrutura de proteína ou para propor a estrutura hidropática de agonistas conhecidos ou antagonistas, e avalia / prevê os efeitos da mutagênese dirigida ao local na estrutura e estabilidade da proteína.
DockVision	Pacote de docking incluindo Monte Carlo, algoritmo genético e algoritmos de docking de triagem de banco de dados.
EADock	Algoritmo de docking evolutivo híbrido com duas funções de fitness, em combinação com um gerenciamento sofisticado da diversidade. EADock tem interface com o pacote CHARMM para cálculos de energia e manuseio de coordenadas.
EUDOC	Programa para a identificação de sítios de interação medicamentosa em macromoléculas e ligações de medicamentos a partir de bancos de dados químicos.
PLANTAS (sistema ANT proteína-ligante)	Algoritmo de docking baseado em uma classe de algoritmos de otimização estocástica denominada otimização de colônia de formigas (ACO). No caso do acoplamento proteína-ligante, uma colônia de formigas artificiais é empregada para encontrar uma conformação de energia mínima do ligante no local de ligação. Essas formigas são usadas para imitar o comportamento de formigas reais e marcar conformações de ligantes de baixa energia com trilhas de feromônio. A informação da trilha de feromônio artificial é modificada em iterações subsequentes para gerar conformações de baixa energia com uma probabilidade maior. Desenvolvido pela Konstanz University.
FLOG	Programa de encaixe de corpos rígidos usando bancos de dados de conformações pré-geradas. Desenvolvido pelos Laboratórios de Pesquisa Merck.

Continua na próxima página

Tabela 2.1 – *Continuação da página anterior*

Nome do programa	Recursos disponíveis
Hammerhead	Procedimento de docking automático e rápido baseado em fragmentos para ligantes flexíveis, com uma função de pontuação ajustada empiricamente e um método automático para identificar e caracterizar o sítio de ligação em uma proteína.
ISE-Dock	Programa de ancoragem baseado no algoritmo de eliminação estocástica iterativa (ISE).
ASEDock	Programa de ancoragem baseado em uma avaliação de similaridade de forma entre uma porção côncava (isto é, concavidade) em uma proteína e o ligante. Desenvolvido por Yoka Systems.
HADDOCK (acoplamento biomolecular orientado por alta ambigüidade)	Uma abordagem que faz uso de dados de interação bioquímica e / ou biofísica, como dados de perturbação de mudança química resultantes de experimentos de titulação de NMR, dados de mutagênese ou previsões bioinformáticas. Desenvolvido pela primeira vez a partir do docking proteína-proteína, ele também pode ser aplicado ao docking proteína-ligante. Desenvolvido e mantido pelo Bijvoet Center for Biomolecular Research, The Netherlands.
Plataforma de design de drogas auxiliada por computador usando PyMOL	Os plug-ins PyMOL fornecem uma interface gráfica de usuário que incorpora pacotes acadêmicos individuais projetados para a preparação de proteínas (pacote AMBER e Reduce), aplicações de mecânica molecular (pacote AMBER) e encaixe e pontuação (AutoDock Vina e SLIDE).
Plug-in Autodock Vina para PyMOL	Permite definir sites de ligação e exportar para arquivos de entrada Autodock e VINA, realizar preparação de receptor e ligante automaticamente, iniciar corridas de docking com Autodock ou VINA de dentro do plugin, visualizar mapas de grade gerados por autogrid em PyMOL, manipular múltiplos ligantes e configurar telas virtuais, e configuração de pistas de encaixe com correntes laterais flexíveis.

Continua na próxima página

Tabela 2.1 – *Continuação da página anterior*

Nome do programa	Recursos disponíveis
GriDock	Front-end de triagem virtual para AutoDock 4. O GriDock foi projetado para realizar os encaixes moleculares de um grande número de ligantes armazenados em um único banco de dados (formato SDF ou Zip) no menor tempo possível. Ele aproveita ao máximo todas as CPUs locais e remotas por meio da tecnologia MPICH2, equilibrando a carga computacional entre os processadores / nós da grade. Fornecido pelo Laboratório de Design de Drogas da Universidade de Milano.
DockoMatic	Aplicativo GUI que se destina a facilitar e automatizar a criação e o gerenciamento de jobs AutoDock para triagem de alto rendimento de interações ligante/receptor.
BDT	Aplicativo gráfico de front-end que controla as condições de execução do AutoGrid e do AutoDock. Mantido pela Universitat Rovira i Virgili.
Serviços da Web de encaixe	
SwissDock	Um serviço da web para prever as interações moleculares que podem ocorrer entre uma proteína alvo e uma pequena molécula.
DockingServer	Oferece uma interface baseada na web e fácil de usar que lida com todos os aspectos do acoplamento molecular desde a configuração de ligantes e proteínas.
Docking de 1 clique	Solução de docking molecular online gratuita. As soluções podem ser visualizadas online em 3D usando o visualizador de moléculas baseado em WebGL / Javascript do GLmol. Fornecido por Mcule (https://mcule.com/apps/1-click-docking/)
Blaster	Serviço de acesso público para descoberta de ligantes com base em estrutura. Usa DOCK como programa de encaixe e vários subconjuntos do banco de dados ZINC como banco de dados. Fornecido pelo Laboratório Shoichet do Departamento de Química Farmacêutica da UCSF.

Continua na próxima página

Tabela 2.1 – Continuação da página anterior

Nome do programa	Recursos disponíveis
Ancoragem em UTMB	Interface orientada para a Web para a realização de triagem virtual baseada em estrutura com AutoDock Vina. Mantido pelo laboratório Watowich da University of Texas Medical Branch (http://docking.utmb.edu/).
Pardock	Monte Carlo baseado em energia de todos os átomos, docking proteína-ligante rígido, implementado em um modo de processamento paralelo totalmente automatizado que prevê o modo de ligação do ligante no local alvo do receptor. Mantido pelo Centro de Supercomputação para Bioinformática e Biologia Computacional, IIT Delhi.
FlexPepDock	Protocolo de acoplamento de peptídeo de alta resolução (refinamento), implementado na estrutura Rosetta. A entrada para este servidor é um arquivo PDB de um complexo entre um receptor de proteína e uma conformação estimada para um peptídeo.
PatchDock	Servidor da Web para previsão de estrutura de complexos de proteína-proteína e proteína-molécula pequena com base nos princípios de complementaridade de forma.
BSP-SLIM	Serviço da Web para docking molecular cego em estruturas de proteínas de baixa resolução. O método identifica primeiro os locais de ligação ao ligante putativos, combinando estruturalmente o alvo com as holoestruturas do molde. A conformação de acoplamento ligante-proteína é então construída pela forma local e complementaridades de características químicas entre o ligante e a imagem negativa de bolsas de ligação. Fornecido pela Universidade de Michigan.

Continua na próxima página

Tabela 2.1 – *Continuação da página anterior*

Nome do programa	Recursos disponíveis
BioDrugScreen	Projeto computacional de drogas e recurso e servidor de descoberta. O portal contém o banco de dados DOPIN (Docked Proteome Interaction Network) constituído por milhões de complexos pré-encaixados e pré-classificados de milhares de alvos do proteoma humano e milhares de pequenas moléculas semelhantes a drogas do conjunto de diversidade NCI e outras fontes. O portal também é um servidor que pode ser usado para (i) personalizar funções de pontuação e aplicá-las para classificar moléculas e alvos no DOPIN; (ii) atracar contra alvos pré-processados do PDB; e (iii) busca de fora do alvo. Mantido pelo laboratório de Samy Meroueh no Centro de Biologia Computacional e Bioinformática da Indiana University School of Medicine.
GPCRautomodel	Serviço da Web que automatiza a modelagem de homologia de receptores olfativos (ORs) de mamíferos com base nas seis estruturas 3D de receptores acoplados à proteína G (GPCRs) disponíveis até agora, e (ii) realiza o docking de odorantes nesses modelos, usando o conceito de energia da colônia para pontuar os complexos. Fornecido pelo INRA.
kinDOCK	Permite a ancoragem comparativa de ligantes no local de ligação de ATP de uma proteína quinase (alvo). Um alinhamento de sequência do alvo e um perfil de proteína quinase é realizado usando HMMER. Ele usa a superposição proteína-proteína (automaticamente restrita ao bolso de ligação do ligante) da estrutura 3D alvo com os complexos conhecidos de proteínas quinases / ligantes.
iScreen	Serviço da Web para encaixe e triagem do banco de dados de pequenas moléculas da medicina tradicional chinesa (TCM) para uma proteína-alvo. iScreen também é implementado com a função de evolução de novo para os compostos TCM selecionados usando o algoritmo genético LEA3D.

Continua na próxima página

Tabela 2.1 – Continuação da página anterior

Nome do programa	Recursos disponíveis
idTarget	Servidor da Web para identificar alvos biomoleculares de pequenas moléculas químicas com funções de pontuação robustas e uma abordagem de encaixe dividir e conquistar. Mantido pela National Taiwan University.
SCORE	Permite o cálculo de diferentes pontuações de dock de um complexo ligante-receptor que pode ser enviado como um arquivo completo contendo ambos os parceiros de interação ou como dois arquivos separados. A fase de cálculo é fornecida pela VEGA. Fornecido pelo Drug Design Laboratory da University of Milano (http://159.149.85.2/score.htm).
Pose & Rank	Servidor da Web para pontuação de complexos de proteína-ligante. Fornecido pelo laboratório de Andrej Sali.
PLATINA	Calcula as propriedades hidrofóbicas das moléculas e sua correspondência ou incompatibilidade nos complexos receptor-ligante. Essas propriedades podem ajudar a analisar os resultados do docking molecular.
LPCCSU	Análise de contatos interatômicos em complexos ligante-proteína.
Outros (encaixe)	
COPICAT (preditor abrangente de interações entre compostos químicos e proteínas alvo)	Sistema de previsão de interações entre compostos químicos e proteínas usando Support Vector Machine (SVM). O COPICAT realiza uma previsão abrangente de interações proteína-química utilizando dados muito gerais ou os mais facilmente disponíveis (ou seja, sequências de aminoácidos e estruturas químicas). Mantido pelo Laboratório Sakakibara, Departamento de Biociências e Informática, Universidade Keio.
Software de triagem	
Pharmer	Tecnologia de pesquisa de farmacóforo de código aberto gratuita que pode pesquisar milhões de estruturas químicas em segundos.

Continua na próxima página

Tabela 2.1 – *Continuação da página anterior*

Nome do programa	Recursos disponíveis
Catalisador	Modelagem e análise de farmacóforo; Criação e pesquisa de banco de dados 3D; ferramentas de geração e análise de conformador de ligante; consulta geométrica baseada em descritor; triagem baseada em forma. Distribuído pela Accelrys como parte do Discovery Studio.
PharmaGist	Servidor da web disponível gratuitamente para detecção de farmacóforo. A versão para download inclui capacidade de triagem virtual.
LigandScout	Plataforma totalmente integrada para triagem virtual com base em modelos de farmacóforo de recursos químicos 3D. Desenvolvido por inte: ligand.
CoLibri	Reúne enormes coleções de compostos de várias fontes e vários formatos de entrada em uma biblioteca de triagem virtual, remove duplicatas, avalia a distribuição de propriedades físico-químicas dos compostos e faz seleções / filtros com base em qualquer limite de propriedade, padrão de nome de molécula ou presença/ausência de um motivo de subestrutura particular. Gera uma biblioteca de fragmentos. Modifica moléculas ou fragmentos para geração, transformação e manipulação geral de bibliotecas de triagem virtuais. Distribuído por BioSolveIT (http://www.biosolveit.com/newsletter/archive/issue11.html).
Corina	Gera estruturas 3D para moléculas semelhantes a drogas de pequeno e médio porte. Distribuído pela Molecular Networks (http://www.molecular-networks.com/products/corina).

Continua na próxima página

Tabela 2.1 – *Continuação da página anterior*

Nome do programa	Recursos disponíveis
DecoyFinder	Ferramenta gráfica que ajuda a encontrar conjuntos de moléculas chamariz para um determinado grupo de ligantes ativos. Ele faz isso encontrando moléculas que têm um número semelhante de ligações rotacionais, aceitadores de ligações de hidrogênio, doadores de ligações de hidrogênio, valor logP e peso molecular, mas são quimicamente diferentes, definidos por um limite de valor Tanimoto máximo entre o ligante ativo e as impressões digitais MACCS da molécula chamariz . Opционаlmente, um limite máximo de valor de Tanimoto pode ser definido entre iscas para garantir a diversidade química no conjunto de iscas.
DOVIS (triagem virtual baseada em encaixe)	Ferramenta para triagem virtual de bancos de dados químicos contendo até milhões de pequenos compostos semelhantes a drogas. O pipeline de triagem virtual baseado em docking projetado usa o programa AutoDock 4.0 como seu mecanismo de docking e é integrado a um ambiente HPC. Seu objetivo é remover muitas complexidades técnicas e administrativas envolvidas no emprego do AutoDock para triagem virtual em grande escala. Desenvolvido pelo Biotechnology High Performance Computing Software Applications Institute.
SHAFTS (similaridade forma-recurso)	Um programa para cálculo de similaridade molecular 3D e triagem virtual baseada em ligante. O SHAFTS adota uma métrica de similaridade híbrida combinada com forma molecular e grupos químicos coloridos (rotulados) anotados por recursos de farmacóforo para cálculo e classificação de similaridade 3D, que é projetada para integrar a força de correspondência de farmacóforo e abordagens de sobreposição volumétrica. Fornevido pela East China University of Science and Technology.

Continua na próxima página

Tabela 2.1 – Continuação da página anterior

Nome do programa	Recursos disponíveis
PyRX	Software de triagem virtual para descoberta computacional de drogas que pode ser usado para rastrear bibliotecas de compostos contra potenciais alvos de drogas. O PyRx inclui um assistente de encaixe com interface de usuário fácil de usar, o que o torna uma ferramenta valiosa para CADD. O PyRx também inclui funcionalidade semelhante a uma planilha química e um mecanismo de visualização que são essenciais para o design racional de medicamentos. AutoDock 4 e AutoDock Vina são usados como software de encaixe. Gratuito e de código aberto para Windows, Linux e Mac OSX.
MOLA	Software gratuito para triagem virtual usando AutoDock4/Vina em um cluster de computador usando computadores multiplataforma não dedicados. O MOLA está integrado em um sistema operacional GNU/LINUX Live-CD personalizado e é distribuído como um arquivo MOLA.iso. Distribuído por BioChemCore.
NNScore	Função de pontuação baseada em rede neural para a caracterização de complexos de proteína-ligante. Lê arquivos PDBQT como entrada. Desenvolvido na UCSF.
WinDock	Programa para tarefas de descoberta de drogas baseadas em estrutura em uma interface gráfica amigável e uniforme para PCs baseados em Windows. Combina bibliotecas 3D pesquisáveis de pequenas moléculas, ferramentas de modelagem de homologia e programas de acoplamento de proteínas de ligante de maneira semi-automática e interativa, que orienta o usuário através do uso de cada componente de software integrado. Desenvolvido pela Howard University College of Medicine.
DockoMatic	Aplicativo GUI que se destina a facilitar e automatizar a criação e gerenciamento de trabalhos AutoDock para HTS de interações ligante/receptor.

Continua na próxima página

Tabela 2.1 – Continuação da página anterior

Nome do programa	Recursos disponíveis
Suite Tela	Ferramenta de triagem baseada em ligante usando impressões digitais, descritores 2D e 3D. Distribuído pela ChemAxon (http://www.chemaxon.com/products/screen/).
MolSign	Programa para identificação e modelagem de farmacóforo. Pode ser usado para consultar bancos de dados como uma pesquisa baseada em farmacóforo. Fornecido por VLife (http://www.vlifesciences.com)
eHiTS_LASSO	Ferramenta de busca de similaridade que usa descritores LASSO (tipos de pontos de superfície em interação) para encontrar moléculas com diversos andaimes químicos, mas com propriedades de superfície semelhantes. Distribuído pela SimBioSys.
Espectróforos	Converte dados de propriedades moleculares 3D (potenciais eletrostáticos, forma molecular, lipofilicidade, potenciais de dureza e suavidade) em espectros unidimensionais independentes da posição e orientação da molécula. Ele pode ser usado para pesquisar moléculas semelhantes e rastrear bancos de dados de moléculas pequenas. Software de código aberto desenvolvido por Silicos (http://openbabel.org/docs/dev/Fingerprints/spectrophore.html).
Moldar	Ferramenta de alinhamento baseada em forma de código aberto gratuito que representa moléculas como um conjunto de gaussianas atômicas. Software de código aberto desenvolvido por Silicos (http://silicos-it.com/software/software.html).

Continua na próxima página

Tabela 2.1 – *Continuação da página anterior*

Nome do programa	Recursos disponíveis
Align-it (anteriormente Pharaos)	Ferramenta baseada em farmacóforo para alinhar moléculas pequenas. A ferramenta é baseada no conceito de modelagem de características farmacofóricas por volumes 3D gaussianos em vez de representações de pontos ou esferas mais comuns. A natureza suave dessas funções contínuas tem um efeito benéfico para o problema de otimização introduzido durante o alinhamento. Software de código aberto desenvolvido por Silicos (http://silicos-it.com/software/software.html).
Open3DALIGN	Ferramenta de linha de comando voltada para o alinhamento molecular não supervisionado. Os alinhamentos são calculados de forma baseada em átomos (por meio de um novo algoritmo inspirado no algoritmo LAMDA de Richmond e colegas de trabalho), de forma baseada em farmacóforo usando Pharaos como motor de alinhamento ou, finalmente, usando uma combinação dos dois últimos métodos. Software de código aberto gratuito para Windows, Linux e Mac (http://open3dalign.sourceforge.net/?Description).
Docker virtual Molegro	A ferramenta de modelo de encaixe integrada torna possível realizar a triagem baseada em ligante alinhando de forma flexível uma série de ligantes (e determinar uma pontuação para sua similaridade) e realizar encaixe híbrido guiando a simulação de encaixe combinando a pontuação de similaridade do modelo com um função de pontuação de docking baseada em receptor. Distribuído pela Molegro.
GMA (alinhamento molecular baseado em gráfico)	Abordagem 2D/3D combinada para a superposição rápida de estruturas químicas flexíveis. Parte da suíte Chil 2. Aberto para pesquisas gerais.
Fuzzee	Permite a identificação de moléculas funcionalmente semelhantes, com base em grupos ou fragmentos funcionais e estruturais. Parte da suíte Chil 2. Aberto para pesquisas gerais (http://www.chil2.de/Fuzzee.html).

Continua na próxima página

Tabela 2.1 – *Continuação da página anterior*

Nome do programa	Recursos disponíveis
REDUCE (anteriormente FILTER)	Ferramenta para filtrar compostos de bibliotecas usando descritores e grupos funcionais. Parte do pacote Molecular FORECASTER, da Molecular Forecaste (http://fitted.ca).
SELECT (seleção e extração de bibliotecas que empregam técnicas de agrupamento)	Cria subconjunto de bibliotecas por diversidade ou similaridade usando técnicas de agrupamento. Parte do pacote Molecular FORECASTER (http://fitted.ca).
AutoclickChem	Programa de computador capaz de realizar reações químicas de clique in silico . AutoClickChem pode ser usado para produzir grandes bibliotecas combinatórias de compostos para uso em telas virtuais. Como os compostos dessas bibliotecas são construídos de acordo com as reações da química do clique, eles podem ser facilmente sintetizados para testes subsequentes em ensaios bioquímicos. Existe como um servidor web. Distribuído pelo National Biomedical Computation Resource.
REACTOR (enumeração rápida por ferramenta combinatória automatizada e reações orgânicas)	Cria uma biblioteca de moléculas combinando bibliotecas de fragmentos de uma reação definida ou de um ponto de fixação genérico nos fragmentos. Parte do pacote Molecular FORECASTER (http://fitted.ca).
QUASE	Gera farmacóforos e realiza triagem virtual baseada em farmacóforo. Distribuído pela De Novo Pharmaceuticals.
GASP (programa de similaridade de algoritmo genético)	Gera farmacóforos usando um algoritmo genético. Distribuído pela Tripos.
Tuplets	Triagem virtual baseada em farmacóforo. Distribuído pela Tripos.

Continua na próxima página

Tabela 2.1 – *Continuação da página anterior*

Nome do programa	Recursos disponíveis
KeyRecep	Estima as características do local de ligação da proteína alvo sobrepondo vários compostos ativos no espaço 3D de modo que as propriedades físico-químicas dos compostos correspondam ao máximo entre si. Pode ser usado para estimar atividades e vHTS. Distribuído por IMMD (http://www.immd.co.jp/en/product_2.html).
CATS (pesquisa de modelo quimicamente avançada)	Descritor de farmacóforo topológico para salto de estrutura, seleção de compostos de triagem e perfil de biblioteca focado. Desenvolvido pelo Instituto Federal Suíço de Tecnologia de Zurique (ETHZ).
LigPrep	Conversões de estrutura 2D para 3D, incluindo variações tautoméricas, estereoquímicas e de ionização, bem como minimização de energia e filtros flexíveis para gerar bibliotecas de ligantes que são otimizadas para outras análises computacionais. Distribuído pela Schrodinger (http://www.schrodinger.com/).
Balão	Programa de linha de comando gratuito que cria coordenadas atômicas 3D a partir da conectividade molecular por meio de geometria de distância e conjuntos de conformadores usando um algoritmo genético multi-objetivo. A entrada pode ser no formato SMILES, SDF ou MOL2. A saída é SDF ou MOL2.
Epik	Enumera os estados de protonação do ligante e tautômeros em condições biológicas. Distribuído pela Schrodinger.
Bluto	Executa minimização de energia e análise de energia de proteínas ou complexos de proteína-ligante usando campo de força, para otimização estrutural de modelos de acoplamento de múltiplos ligantes em uma proteína. Fornece relatórios tabulares da análise de energia, como a energia de interação. Adequado para vHTS. Distribuído por IMMD (http://www.immd.co.jp/en/product_2.html).

Continua na próxima página

Tabela 2.1 – Continuação da página anterior

Nome do programa	Recursos disponíveis
VSDMIP (gerenciamento de dados de triagem virtual em uma plataforma integrada)	Vem com uma interface de usuário gráfica PyMOL. Desenvolvido pelo Centro de Biologia Molecular Severo Ochoa.
Serviços web	
Blaster	Serviço de acesso público para descoberta de ligantes com base em estrutura. Usa DOCK como programa de encaixe e vários subconjuntos do banco de dados ZINC como banco de dados. Fornecido pelo Laboratório Shoichet do Departamento de Química Farmacêutica da UCSF.
AnchorQuery	Pesquisa de farmacóforo especializado para direcionar as interações proteína-proteína. Pesquisa interativamente mais de 20 milhões de compostos prontamente sintetizáveis, todos contendo um análogo de um aminoácido específico. Fornecido pela University of Pittsburgh (http://anchorquery.ccbb.pitt.edu).
GFscore	Uma função de pontuação de consenso baseada em classificação com base em cinco funções de pontuação: FlexX Score, G_Score, D_Score, ChemScore e PMF Score disponível no módulo TRIPOS Cscore. O objetivo é eliminar o máximo possível de moléculas do banco de dados interno proprietário após uma triagem de biblioteca virtual (VLS) usando TRIPOS FlexX para encaixe e o módulo TRIPOS Cscore para pontuação. Desenvolvido e mantido pelo Instituto de Biologia Estrutural e Microbiologia, Marselha, França.

Continua na próxima página

Tabela 2.1 – Continuação da página anterior

Nome do programa	Recursos disponíveis
FINDSITECOMB	Serviço da Web para triagem de ligante virtual em grande escala usando uma abordagem baseada em FINDSITE baseada em threading / estrutura. Oferece a vantagem de que resultados comparáveis são obtidos quando estruturas preditas ou experimentais são utilizadas. O usuário pode fornecer uma estrutura de proteína no formato PDB ou uma sequência de proteína cuja estrutura será primeiro prevista antes de seu uso na triagem de ligante virtual. Disponível gratuitamente para todos os usuários acadêmicos e instituições sem fins lucrativos. Fornecido pelo Grupo de Pesquisa Skolnick.
FINDSITE-LHM	Abordagem de modelagem de homologia para acoplamento de ligante flexível. Ele usa uma coleção de subestruturas de moléculas comuns derivadas de modelos evolutivamente relacionados como os compostos de referência na predição de pose de ligação de ligante baseada em similaridade. Ele também fornece uma função de pontuação simples para classificar os compostos encaixados. Disponível gratuitamente para todos os usuários acadêmicos e instituições sem fins lucrativos. Fornecido pelo Grupo de Pesquisa Skolnick.
Nova modelagem GPCR humana e banco de dados de triagem virtual	Servidor da Web para usar a nova modelagem GPCR humana e banco de dados de triagem virtual, bem como um novo algoritmo de detecção de similaridade de função para triar todos os GPCRs humanos contra o conjunto de ligantes ZINC8 não redundante ($TC < 0,7$) combinado com ligantes do banco de dados GLIDA (um total de 88949 compostos). Disponível gratuitamente para todos os usuários acadêmicos e instituições sem fins lucrativos. Fornecido pelo Grupo de Pesquisa Skolnick.

Continua na próxima página

Tabela 2.1 – *Continuação da página anterior*

Nome do programa		Recursos disponíveis
Conselheiro	Agregador	Serviço da web gratuito para sugerir moléculas que se agregam ou podem agregar sob condições de ensaio bioquímico. A abordagem é baseada na semelhança química com agregadores e propriedades físicas conhecidas. Fornecido pelo Laboratório Shoichet do Departamento de Química Farmacêutica da UCSF (http://advisor.bkslab.org/).
e-LEA3D		Pesquisa os medicamentos aprovados pela FDA por palavra-chave ou por subestrutura. Também constrói biblioteca combinatória de moléculas.
Projeto de biblioteca combinatória		Servidor da Web que fornece um mecanismo de química de clique para conectar um ou mais reagentes em um núcleo central (andaime) (http://chemoinfo.ipmc.cnrs.fr/eDESIGN/reagent.html).
eDesign		Servidor da Web que fornece um mecanismo de design de drogas de novo para criar novas moléculas do zero (lead-hopping) ou com base em um suporte definido pelo usuário no qual os grupos R devem ser otimizados. Alternativamente, a mesma ferramenta pode ser usada para rastrear uma biblioteca de moléculas. A função baseada em estrutura é baseada no programa PLANTS. Mantido pelo Institut de Pharmacologie Moleculaire et Cellulaire, França (http://chemoinfo.ipmc.cnrs.fr/eDESIGN/edesign.html).
GFscore		Servidor da Web para discriminar verdadeiros negativos de falsos negativos em um conjunto de dados de diversos compostos químicos usando uma pontuação de consenso em uma rede neural não linear. A função de pontuação global é uma combinação das cinco funções de pontuação encontradas no pacote Cscore da Tripos.

Continua na próxima página

Tabela 2.1 – Continuação da página anterior

Nome do programa	Recursos disponíveis
ZincPharmer	Software de pesquisa de farmacóforo interativo on-line gratuito para triagem do banco de dados ZINC. ZINCPharmer pode importar LigandScout e definições de farmacóforo MOE, bem como realizar elucidação de farmacóforo baseada em estrutura.
SimDOCK	Permite a seleção rápida de ligantes que se ajustam ao sítio ativo da proteína submetida por sobreposição de sua estrutura 3D com os complexos conhecidos de proteína/ligantes da família (http://abcis.cbs.cnrs.fr/LIGBASE_SERV_WEB/PHP/simdock.php).
pep: MMs: MIMIC	Ferramenta orientada para a web que, dada uma estrutura de peptídeo 3D, é capaz de automatizar uma pesquisa de similaridade 3D de multiconformadores entre 17 milhões de conformadores calculados a partir de 3,9 milhões de produtos químicos disponíveis comercialmente coletados no banco de dados MMsINC.
wwLig-CSRre	Ferramenta online para enriquecer um banco de pequenos compostos com compostos semelhantes a uma consulta.
Sobrepor	Superimpose é uma estrutura de superposição para descobrir compostos ativos de drogas conhecidos semelhantes a uma determinada molécula.
AURAmol	Serviço da Web que usa uma forma molecular candidata em 2D ou 3D e a usa para pesquisar moléculas com formas semelhantes em grandes bancos de dados. Fornecido pela University of York (http://www.cs.york.ac.uk/auramol/index.html).
Árvores de recursos	Serviço da web para realizar pesquisas de similaridade de moléculas pequenas usando o descritor de Árvores de recursos em um conjunto predefinido de grandes bibliotecas de compostos (http://public.zbh.uni-hamburg.de/ftwi/resources//ftrees_help.html).

Continua na próxima página

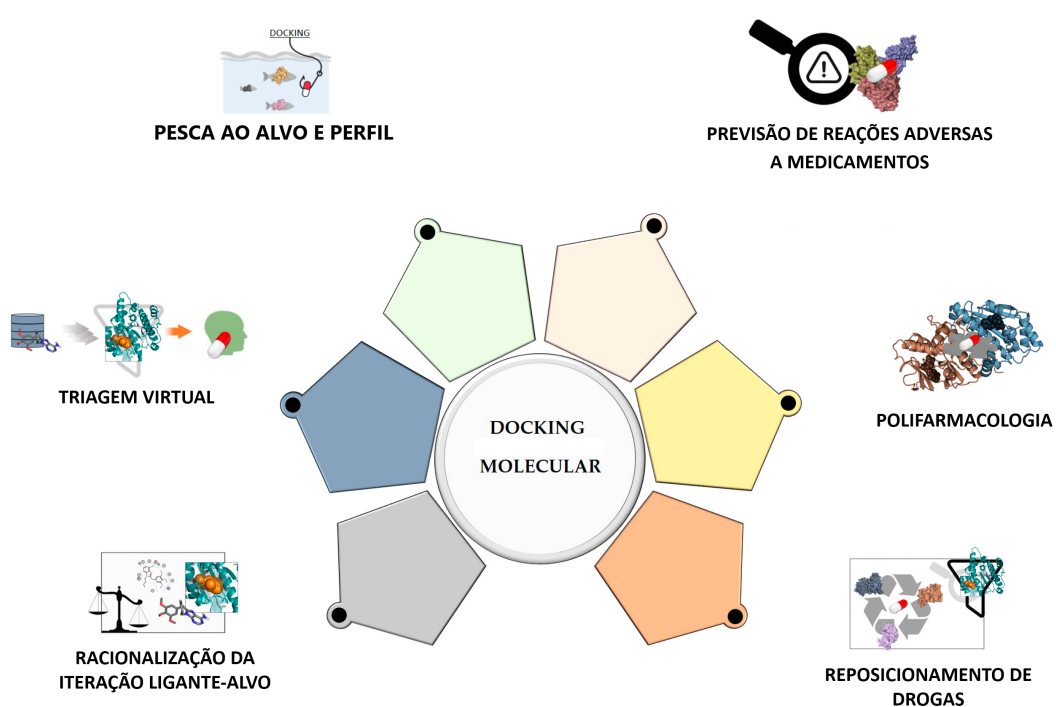
Tabela 2.1 – *Continuação da página anterior*

Nome do programa	Recursos disponíveis
SiMMap	Servidor da Web que deriva estatisticamente o mapa da porção do site com várias âncoras, com base na estrutura de destino e vários compostos ancorados. Cada âncora inclui três elementos: um bolso de ligação com resíduos de interação conservados, composição de porção de compostos de consulta e tipo de interação bolso-fração (eletrostática, ligação de hidrogênio ou van der Waals). Espera-se que os compostos que concordam muito com as âncoras do mapa local-fração ativem ou inibam a proteína alvo.
ShaEP	Programa gratuito para sobrepor dois modelos rígidos de estrutura molecular 3D, com base na forma e nos potenciais eletrostáticos, e calcula um índice de similaridade para a sobreposição. Ele pode ser usado para a triagem virtual de bibliotecas de estruturas químicas contra uma molécula ativa conhecida ou como uma etapa preparativa para métodos QSAR 3D.
PharmMapper	Servidor da web de livre acesso, projetado para identificar candidatos a alvos potenciais para uma determinada pequena molécula de sonda (drogas, produtos naturais ou outros compostos recém-descobertos com alvos de ligação não identificados) usando uma abordagem de mapeamento de farmacóforo.

2.1.1 Algoritmo de Busca

Quando receptor e ligante estão em processo de acoplamento, os mesmos adaptam suas conformações de acordo com as estruturas um do outro, processo este chamado de ajuste induzido. Devido a esse processo, os algoritmos de docking devem lidar com a flexibilidade de ambas as estruturas, mas considerar todos esses graus de liberdade (DOF) leva a um elevado número de possibilidades a ser explorado do espaço conformacional, tornando desafiadora, a tarefa de encaixe (Ciemny et al. 2018). A maioria dos programas

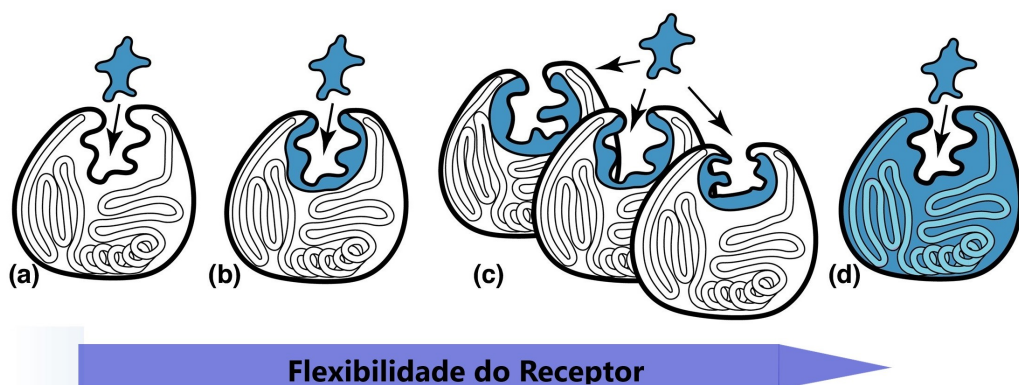
Figura 2.3: Aplicações de docking molecular.



Fonte:(Pinzi & Rastelli 2019).

de docking realizam o acoplamento considerando o ligante flexível enquanto o receptor é mantido rígido. Entretanto existem exceções como o GOLD, AutoDock, DOCK e EADock, que aplicam alguma flexibilidade à proteína durante o docking por meio de rotações de cadeias laterais do sítio ativo e mais minimizações globais, bem como FlexE e IFREDA, que usam um conjunto de diferentes conformações pré-geradas de receptores obtidas experimentalmente, a Figura 2.4 mostra um exemplo de diferentes abordagens quanto a flexibilidade do receptor e do ligante (Guedes et al. 2014, Zoete et al. 2009).

Figura 2.4: Abordagens para modelar a flexibilidade de um receptor de proteína na docking proteína-peptídeo. Os elementos flexíveis do sistema são marcados em azul: (a) ancoragem de corpo rígido; (b) acoplamento com cadeias laterais flexíveis no local de ligação esperado; (c) acoplamento de conjunto de diferentes conformações de proteínas; e (d) acoplamento com um esqueleto de proteína flexível permitindo rearranjos em grande escala.



Métodos atuais de descobrimento de drogas

Fonte: (Ciemny et al. 2018)

Na Tabela 2.2 há uma breve descrição de alguns programas representativos. O software de acoplamento difere na maneira como lidam com a flexibilidade da proteína e do ligante, seu algoritmo de amostragem e sua função de pontuação (Zoete et al. 2009). Embora variem, os diferentes algoritmos de cada programa de encaixe devem encontrar um equilíbrio entre velocidade e precisão (Chen 2015).

Tabela 2.2: Programas de encaixe representativos.

PROGRAMA	FLEXIBILIDADE DE LIGANTE	FLEXIBILIDADE DE PROTEÍNA	FUNÇÃO DE PONTUAÇÃO
AutoDock 4.0	Algoritmo Evolutivo	Correntes laterais flexíveis	Campo de força
GOLD	Algoritmo Evolutivo	Flexibilidade de cadeia lateral de proteína e backbone	Pontuação empírica
FlexX / FlexE	Construção incremental	Conjunto da estrutura da proteína	P Pontuação empírica
Dock 6.2	Construção incremental	Flexibilidade de cadeia lateral de proteína e backbone	Campo de força ou pontuação de contato
SLIDE	Pesquisa exaustiva	—	Pontuação empírica
ICM , IFREDA	Amostragem pseudo-browniana e minimização local	Correntes laterais flexíveis	Campo de força e pontuação empírica
QXP	Método de Monte Carlo	—	Campo de força
Hammerhead	Construção incremental	—	Pontuação empírica
EADock	Algoritmo Evolutivo	Correntes laterais flexíveis e backbone	Campo de força

2.1.2 Flexibilidade do ligante

Segundo Guedes (Guedes et al. 2014), os algoritmos de pesquisa, quando considerado a flexibilidade do ligante, podem ser classificados em três grupos principais: algoritmos sistemáticos (FlexX ou FlexE, DOCK, Glide, Hammerhead), estocásticos (AutoDock, GOLD, Quick Explore (QXP), EADock) e determinísticos. Além disso, alguns algoritmos implementam uma abordagem híbrida combinando duas ou todas as três estratégias (Chen 2015, Guedes et al. 2014, Zoete et al. 2009).

Para encontrar o modo de ligação nativo de uma molécula, a exploração sistemática ideal de todos os Graus de Liberdade (GDL) é geralmente uma tarefa impossível, uma vez que há uma explosão combinatória do espaço de busca. Para enfrentar esse problema, vários métodos que se enquadram na categoria de "algoritmos de busca sistemática" usam a técnica da reconstrução incremental do ligante. Há duas maneiras básicas de realizar a reconstrução incremental (Guedes et al. 2014, Zoete et al. 2009). Em um deles, a molécula é dividida em um único fragmento rígido e várias cascas de extensões flexíveis. O fragmento rígido é encaixado primeiro, seguido das porções flexíveis que são então reconectadas de forma incremental. Logo após a adição do componente flexível, novas interações são realizadas em conformidade com o banco de dados de torção e a função de pontuação é usada para selecionar as melhores soluções parciais que são usadas para a próxima etapa de extensão, FlexX e FlexE são exemplos de códigos que usam essa estratégia (Guedes et al. 2014). No outro, programas como o DOCK 4.0 e Hammerhead, a molécula é decomposta em vários fragmentos que são encaixados independentemente e reconectados a partir de ligações covalentes no sítio ativo usando um algoritmo de dobradiça. Os programas Glide e eHiTS empregam um algoritmo de pesquisa sistemática exaustiva, que consiste em variar os valores de cada grau de liberdade de maneira combinatória, girando todos os ângulos diédricos do ligante de acordo com uma faixa predeterminada de valores e um conjunto de restrições iniciais, por exemplo, restrições geométricas e químicas (Guedes et al. 2014, Zoete et al. 2009).

Os métodos estocásticos, como os de Monte Carlo (MC), os Algoritmos Evolucionários (EAs), a Busca Tabu (BT) e a Otimização de Enxame (OE), atuam alterando de forma aleatória todos os graus de liberdade do ligante (translacional, rotacional e conformacional) em cada passo de cálculo do algoritmo, gerando uma grande diversidade de soluções. Essas poses de ligante são avaliadas de acordo com um critério probabilístico, para decidir se cada uma será rejeitada ou não. A sua principal desvantagem é que não há garantia de convergência para a solução ótima, e execuções múltiplas e independentes do algoritmo são necessárias para maximizar a probabilidade de encontrar o mínimo de energia global (Chen 2015, Guedes et al. 2014, Zoete et al. 2009).

Os métodos baseados em MC começam a partir de uma única pose gerada aleatoriamente e aplicam movimentos aleatórios subsequentes, como a rotação de um ângulo diédrico e a translação ou rotação global de todo o ligante. Após cada modificação, a nova pose é pontuada e o critério de Metrópolis é aplicado para escolher se a nova pose é mantida como ponto de partida para a próxima modificação, ou se o algoritmo continua a partir da anterior (Zoete et al. 2009). Já os EAs são métodos de otimização baseados na teoria da evolução das populações biológicas por meio da seleção natural para obter soluções ótimas para um problema particular. Esses métodos são divididos em três classes principais: algoritmos genéticos, programação evolutiva e estratégias de evolução. As principais vantagens destes métodos são a facilidade com que permitem escapar aos mínimos locais e a possibilidade de identificar uma grande diversidade de soluções de baixo consumo energético (Guedes et al. 2014). A estratégia BT explora o espaço de busca, fazendo mudanças aleatórias nos graus de liberdade do ligante. Além de manter a solução de energia mais baixa, esta estratégia analisa a similaridade de uma pose de energia não mais baixa gerada recentemente usando uma “lista Tabu”, que contém as soluções de energia mais baixa encontradas anteriormente. Uma pose só é mantida se for diferente de todas as soluções listadas anteriormente. Essa abordagem evita que o algoritmo visite regiões já exploradas (Guedes et al. 2014). A Otimização do Enxame de Partículas e a

Otimização da Colônia de Formigas são duas variações da abordagem SO, esses realizam mudanças em uma solução atual e direcionam para seguir a melhor pose da população (Ciemny et al. 2018).

São exemplos de software de docking que implementam algoritmos estocásticos: Prodock e ICM (métodos MC), GOLD e DockThor (AE), PROLEADS e PSI-DOCK (métodos BT) e PLANTS (método OE) (Guedes et al. 2014).

Nos métodos determinísticos, mecânica molecular (MM) e dinâmica molecular (DM), as modificações a serem feitas são pré-determinadas de acordo com o conhecimento do sistema real, levando ao seu próximo estado. O resultado final é altamente dependente da estrutura de entrada inicial, uma vez que o estado final será sempre o mesmo, se tivermos exatamente a mesma configuração inicial do sistema e um conjunto particular de parâmetros (Guedes et al. 2014, Zoete et al. 2009).

Enquanto MM explora os campos de energia usando a direção associada ao gradiente de energia potencial, conduzindo o sistema ao mínimo local mais próximo, os métodos de DM simulam os movimentos de um sistema ao longo do tempo, considerando algumas variáveis de estado termodinâmicas, por exemplo, temperatura e pressão (Guedes et al. 2014, Zoete et al. 2009). Esses métodos são empregados em conjunto com outras estratégias de encaixe para melhorar as previsões (Chen 2015).

2.1.3 Flexibilidade do Receptor

Considerar a flexibilidade da proteína ainda é um desafio no campo do docking molecular, porque as proteínas em solução experimentam de pequenas a grandes variações conformacionais na ligação do ligante devido aos efeitos do ajuste induzido (Adhikari et al. 2018). As proteínas existem como um conjunto de estados conformacionais pré-existent, e não como um estado nativo único. De acordo com essa teoria, o ligante se liga a uma dessas conformações do conjunto, mudando o equilíbrio da população para uma determinada conformação ligada ao ligante (Guedes et al. 2014). Foram desen-

volvidas diversas metodologias para considerar a flexibilidade das proteínas, e podem ser divididas em cinco classes principais: docking suave, flexibilidade da cadeia lateral, relaxamento molecular, docking de conjunto e graus coletivos de liberdade (Adhikari et al. 2018, Chen 2015, Guedes et al. 2014).

A abordagem de docking suave, empregada para lidar com essas pequenas mudanças conformacionais (ou seja, variações atômicas de até 1 Å), suaviza o termo repulsivo do potencial de Lennard-Jones, permitindo pequenas sobreposições entre os átomos da proteína e do ligante. A abordagem de flexibilidade da cadeia lateral pode ser empregada quando o efeito de ajuste induzido é considerável e excede os limites de docking suave (mas permanece um efeito local), nela o esqueleto da proteína mantêm-se fixo enquanto as conformações da cadeia lateral são exploradas, variando seus graus de liberdade de torção essenciais. A terceira estratégia consiste no relaxamento molecular para otimizar as conformações do complexo proteína-ligante; isso é obtido usando métodos de acoplamento de proteína rígida (minimização de energia, métodos de Monte Carlo e dinâmica molecular) e considera os movimentos da cadeia principal e da cadeia lateral da proteína, bem como todos os graus de liberdade do ligante. Os métodos são geralmente aplicados durante as etapas de pós-processamento, por exemplo, para avaliar a estabilidade de complexos ancorados e como uma ferramenta de refinamento para posturas de ancoragem (Ciemny et al. 2018).

O encaixe do conjunto considera implicitamente a flexibilidade do receptor ao encaixar o ligante em um conjunto de conformações de proteína, que são obtidos a partir de dados experimentais (por exemplo, NMR e estruturas cristalográficas de raios-X) ou derivados de técnicas computacionais, como modelagem comparativa, análise de modo normal e dinâmica molecular quadros derivados, em vez de uma única conformação. Os métodos baseados em graus coletivos de liberdade consideram a flexibilidade total da proteína, eles tentam reduzir a representação original em alta dimensão do movimento da proteína a uma representação menor que captura apenas os modos de movimento domi-

nantes (Guedes et al. 2014).

2.1.4 Função de Pontuação

Um grande desafio para o docking é a identificação do modelo mais preciso entre o grande conjunto de resultados de ancoragem (Ciemny et al. 2018). As funções de pontuação são utilizadas para avaliar a qualidade dessas poses de docking, orientando os métodos de pesquisa para conformações de ligante mais relevantes. Estas possuem três objetivos principais segundo Guedes e colaboradores (Guedes et al. 2014):

- Distinguir os modos de ligação observados experimentalmente - associando-os aos valores de energia mais baixos do cenário de energia - de todas as outras poses exploradas pelo algoritmo de busca (previsão de pose);
- Classificar corretamente os ligantes ativos e inativos (triagem virtual);
- Predizer as constantes de afinidade e classificar corretamente vários compostos de acordo com sua potência (estimativa de afinidade de ligação).

As funções de pontuação podem ser divididas em três classes principais: funções de pontuação baseadas no conhecimento, empíricas e baseadas no campo de força. As primeiras foram desenvolvidas com base na análise estatística de pares de átomos em interação de complexos de proteína-ligante com estruturas tridimensionais disponíveis, elas convertem dados de átomos em pares em um pseudopotencial, também conhecido como potencial de força média, que descreve as geometrias preferidas dos átomos em pares proteína-ligante. As segundas são baseadas na ideia de que as energias livres de ligação podem ser descritas como uma soma ponderada de termos não correlacionados (ligações de hidrogênio, contatos apolares e aromáticos ou penalidades de entropia), em que os fatores de ponderação dos termos que definem a equação são determinados por análise de regressão usando complexos de proteína-ligante com energia livre de ligação experimental e estrutura 3D conhecidas. As últimas são derivadas de um campo de força clássico

(energias de interação eletrostática e energias intramoleculares) e consistem em uma soma de termos de energia, considerando as energias de interação do complexo proteína-ligante (termos não ligados) e a energia interna do ligante (termos ligados e não ligados). Os principais problemas relacionados ao uso de funções de pontuação baseadas em campo de força relacionam-se a choques atômicos decorrentes de forte repulsão em distâncias curtas resultante do potencial de Lennard-Jones e da superestimação das interações entre átomos carregados (Chen 2015, Ciemny et al. 2018, Guedes et al. 2014, Zoete et al. 2009).

Apesar de não existir nenhuma função de pontuação universal que possa ser aplicada com sucesso a todos os estudos de docking molecular, é de consenso que os métodos híbridos, baseados em funções de pontuação mistas, geram os melhores resultados de docking proteína-peptídeo. Por exemplo, a inclusão de informações co-evolucionárias no procedimento de pontuação gerou resultados excelentes em uma competição CAPRI há poucos anos (Ciemny et al. 2018).

2.2 Nanopartículas de ouro AuNP

Nanopartículas (NPs) são corpos que apresentam dimensão da ordem de $1 - 100\text{ nm}$, a 9^{a} potência negativa de dez relativo ao metro, tamanho aproximado das menores unidades biológicas existentes como pode ser visto na Figura 2.5 que mostra um comparativo entre os universos macros, micros e nanos. O interesse neste tipo de material se deve ao fato das interessantes propriedades físicas, químicas, biomédicas, catalíticas e ópticas que eles apresentam, muitas vezes opostas ou mesmo maximizações das propriedades do material em uma dimensão macro (Ghosh et al. 2008, Kaminski et al. 2020, Melo et al. 2019, Shah et al. 2014).

As propriedades físicas do material, nas dimensões nanométricas, podem sofrer mudanças significativas em relação ao seu tamanho macro. Isso geralmente ocorre porque é observado um significativo aumento da área superficial específica em relação mate-

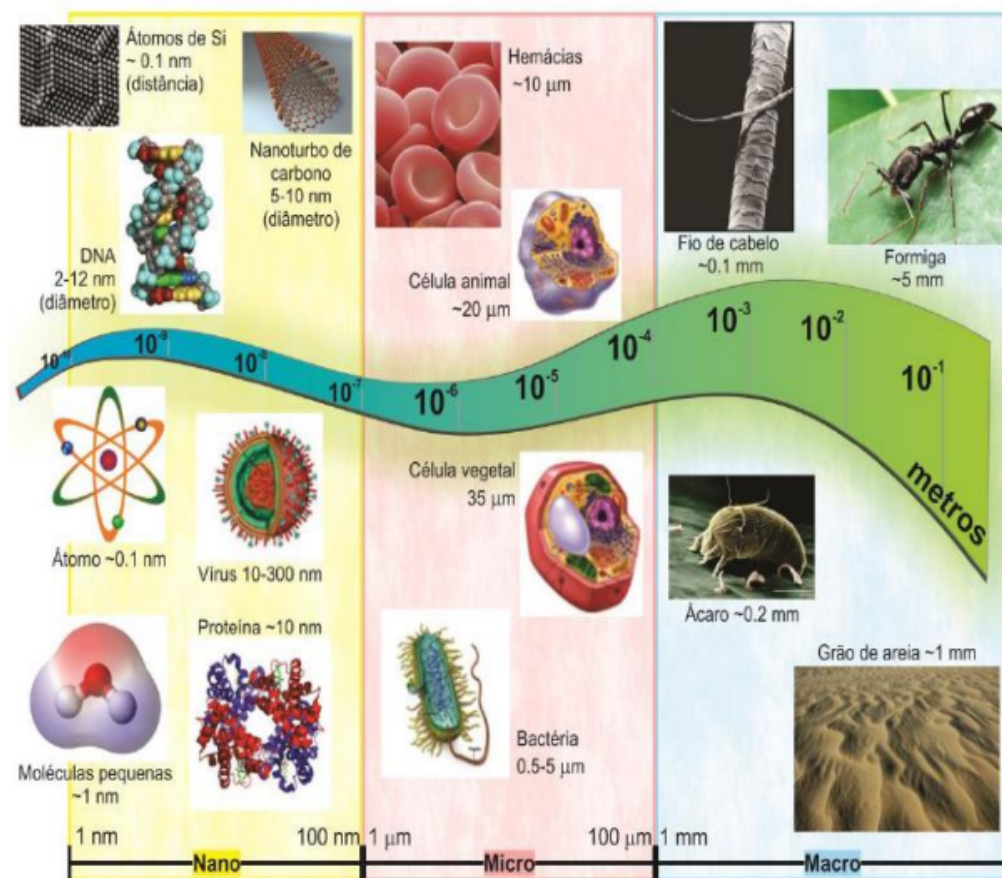
rial com seu tamanho convencional. Em NPs, o número de átomos, íons ou moléculas, tornam-se maior em sua superfície do que em seu interior, fazendo gerar características mecânica, magnéticas, óticas e elétricas exclusivas (Ghosh et al. 2008, Kaminski et al. 2020, Melo et al. 2019, Shah et al. 2014).

Essas características exclusivas podem ser utilizadas em uma grande gama de aplicações que serão discutidas mais a frente de forma detalhada, mas que podem ser citadas de maneira mais geral como por exemplo, em detecção e formação de imagem, liberação controlada de fármacos e no tratamento contra o câncer (Ghosh et al. 2008, Shah et al. 2014). Pesquisas mais recentes demonstram um excelente agente para o controle da progressão da doença de Alzheimer (DA) auxiliando na terapêutica e no diagnóstico (LA TORRE; CEÑA, 2018).

Apesar de existir uma variedade muito grande de nanopartículas (NPs), a depender do material usado na sua concepção, como por exemplo: (I) os polímeros, que são biodegradáveis e biocompatíveis, apresentando-se em diferentes formas; (II) as NPs semicondutoras (do inglês, Quantum Dots, QDs), que são nanocristais com propriedades foto-estáveis; (III) os nanotubos de carbono (do inglês, carbono nanotubes, CNTs), que são nanofitas de grafeno que se enrolam formando uma espécie de cilindro, com propriedades dependentes da direção e das camadas; (IV) as nanopartículas de SiO_2 (SiO_2NPs), que possuem uma porosidade com grande capacidade de absorção; (V) nanopartículas de TiO_2 (TiO_2NPs), que possuem propriedades fotocatalíticas e anticorrosivas (Ilyas et al. 2021); e (VI) as nanopartículas de Ag (AgNPs), que possuem propriedades de absorção de luz visível e uma alta eficiência bactericida, todos com aplicações como detecção e foto-termólise de microrganismos e células-tronco cancerígenas, biossensores; bio-imagem óptica e observação de células (Melo et al. 2019, Perret et al. 2016, Sheikhpour et al. 2017) (LA TORRE; CEÑA, 2018), são as nanopartículas de ouro ou Au (AuNPs) o carro chefe da pesquisa técnico científica moderna para aplicações biológicas (Melo et al. 2019).

Existem muitos métodos, que exploram diferentes variáveis do processo produtivo,

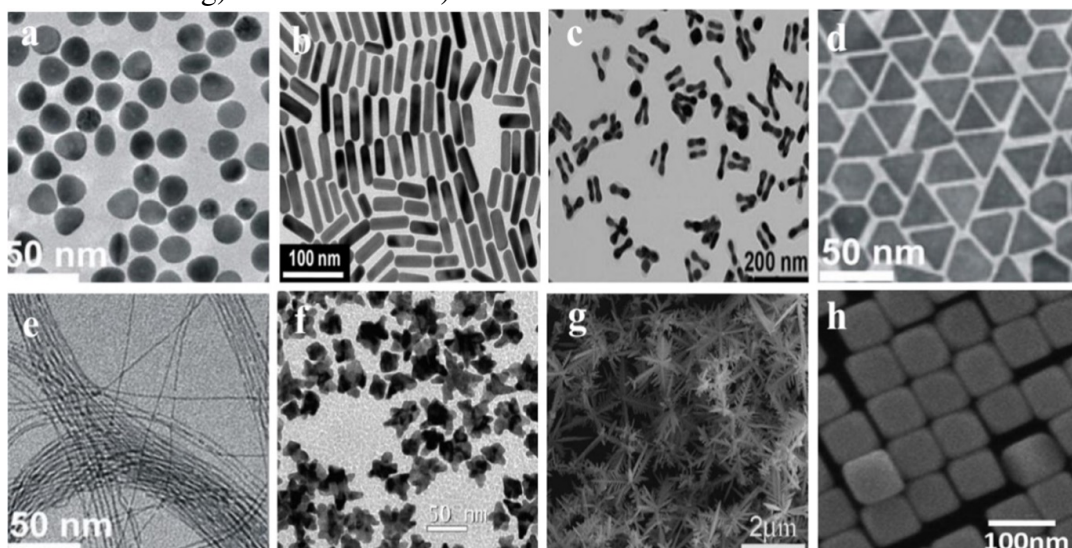
Figura 2.5: Comparação entre os universos dimensionais nano, micro e macro.



Fonte: (Bezerra, 2014).

que podem ser usados para a síntese de NPs de Au (Trouiller et al. 2015), podendo gerar nanopartículas de diferentes formas e tamanhos, até o momento – bastonetes, cubos, prismas, discos, octaedros e poliedros – como podem ser vistos nas Figuras 2.6 e 2.8 a seguir, retiradas dos estudos de Elahi e colaboradores (Elahi et al. 2018) e de Daniel e colaboradores (Daniel & Astruc 2004).

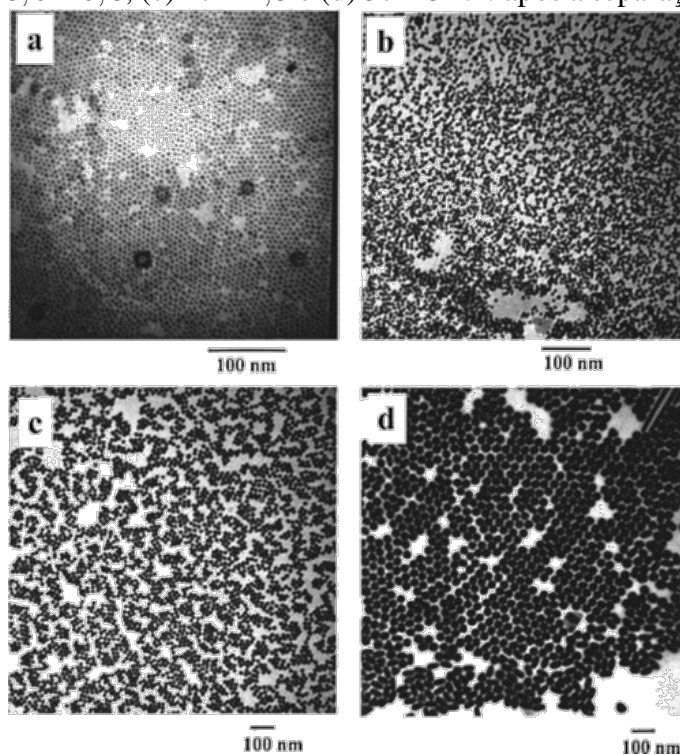
Figura 2.6: (af) imagens TEM de AuNPs: a) quase-esferas b) nanobastões c) Nanodumbbells d) nanoprismas triangulares e) nanofios ultrafinos f) nanoestrelas ; (gh) imagens SEM de AuNPs: g) nanodendritos h) nanocubos.



Fonte: (ELAHI; KAMALI; BAGHERSAD, 2018).

As várias características, que as nanopartículas de ouro apresentam e que as tornam tão importantes para as mais diferentes aplicações em biotecnologia, são dependentes do seu formato apresentado e também do seu tamanho, logo o processo de produção, ou seja de sintetização das mesmas, é muito importante para sua caracterização como material utilizável para fazer entrega de medicamentos, diagnóstico e terapia de doenças, todas as suas mais diversas aplicações (Daniel & Astruc 2004, Trouiller et al. 2015).

Figura 2.7: Imagem TEM de partículas de ouro maiores preparadas a partir de sementes: (a) $5,5 \pm 0,6$, (b) $8,0 \pm 0,8$, (c) $17 \pm 2,5$ e (d) 37 ± 5 nm após a separação dos bastonetes.



Fonte: (DANIEL; ASTRUC, 2004).

2.2.1 Síntese de nanopartículas de ouro (AuNPs)

Os fatores que geralmente governam o tamanho e a forma durante a síntese de uma AuNP são: o método, por exemplo, químico ou físico, o agente redutor, o surfactante, a temperatura, o tempo e o solvente (AMINABAD; FARSHBAF; AKBARZADEH, 2019; SIDDIQUE; CHOW, 2020).

Muitos são os métodos, como redução química, fotoquímica, o método do modelo, o método eletroquímico, o aquecimento rápido por micro-ondas, a ablação a laser, irradiação UV, sonoquímico, sonoeletroquímico e os métodos de crescimento mediado por sementes, que foram utilizados na produção de nanopartículas de ouro com tamanhos e morfologias uniformes (Elahi et al. 2018, Siddique & Chow 2020, Trouiller et al. 2015).

Didaticamente, os procedimentos para a síntese de NPs de Au podem ser subdivididos em métodos químicos, físicos e biológicos (Elahi et al. 2018, Siddique & Chow 2020). Na Tabela 2.3, estão representados alguns dos métodos físicos e químicos mais utilizados para sintetização de NPs de Au, bem como alguns dos fatores que podem ser controlados para influenciar na forma e tamanho das NPs produzidas (Trouiller et al. 2015).

Os procedimentos físicos mais conhecidos são: método de irradiação, método de irradiação por micro-ondas (MW), método sonoquímico, radiação ultravioleta (UV), ablação a laser, processo termolítico e processo fotoquímico (Elahi et al. 2018).

Os métodos químicos consistem em reações químicas que são realizadas em meio aquoso por um agente de redução. Citrato e borohidreto de sódio são os agentes redutores comuns usados. Os métodos de Turkevich e de Brust-Schiffrin são alguns dos métodos mais conhecidos e difundidos da síntese de nanopartículas de ouro, produzem NPs de Au de diferentes formas com tamanhos variando de 1 a 30 nm (Daniel & Astruc 2004, Siddique & Chow 2020).

O fato da produção de nanopartículas representar um enorme ônus para o meio ambiente, devido às abordagens sintéticas convencionais muitas vezes exigirem a administração de entidades químicas tóxicas durante o processo de produção, que podem cau-

sar reações prejudiciais no meio ambiente e possivelmente na saúde animal e humana, e dos produtos químicos desagradáveis poderem restringir criticamente as possibilidades de aplicação e a biocompatibilidade das partículas geradas levou a necessidade do uso de materiais ecologicamente corretos e a produção por meio de alternativas biológicas (Ilyas et al. 2021) (RÓNAVÁRI et al., 2021).

A síntese biológica consiste no uso de compostos à base de plantas e derivados, bactérias, fungos, algas, leveduras e vírus como recursos para a produção de NPs de diferentes tipos incluindo as de Au (Elahi et al. 2018). Conforme mostrado na Tabela 2.4, várias formas e tamanhos de nanopartículas seriam obtidas a partir desses recursos que têm muitas aplicações eficazes em ciências biomédicas (Elahi et al. 2018).

Tabela 2.3: Recursos biológicos para síntese de AuNPs.

M*	Nome científico	Faixa de tamanho (nm)	Forma das AuNPs
Compostos e derivados à base de plantas	<i>Panax ginseng</i>	10 – 40	Esférico
	<i>Cacumen platycladi</i>	20 – 50	Esférico, triangular, hexagonal
	<i>Plumbago zeylanica</i>	> 100	Esférico, triângulos, hexágonos
	<i>Abelmoschus esculentus</i>	45 – 75	Esférico
	<i>Hibiscus sabdariffa</i>	25 – 30	Esférico
	<i>Folhas de Cucurbita pepo L.</i>	10 – 15	Esférico
	<i>Morinda citrifolia</i>	12, 17 – 38, 26	Esférico
	<i>Eucommia ulmoides</i>	≈ 20	Esférico
	<i>Trigonella foenum-graecum</i>	15 – 20	Esférico
	<i>Hibiscus rosa sinensis</i>	≈ 14	Esférico, triangular
	<i>Rosa híbrida</i>	10	Cúbico
	<i>Euphorbia hirta L.</i>	6 – 71	Esférico

Continua na próxima página

Tabela 2.3 – Continuação da página anterior

M*	Nome científico	Faixa de tamanho (nm)	Forma das AuNPs
Bactérias	<i>Cassia auriculata</i>	15~25	Esférico, hexagonal, triangular
	<i>Couroupita guianensis</i> , Aubl.	26 ± 11	Cúbico
	<i>Terminalia arjuna</i> .	20 – 50	Esférico
	<i>Mentha piperita</i>	> 100	Esférico
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (MTCC-4030)	10 – 15	Esférico
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	35 – 65	Esférico
	<i>Geobacillus sp. cepa ID17</i>	5~50	Quase hexagonal
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	35 – 65	Esférico
	<i>Escherichia coli K12</i>	50	Esférico
	<i>Acinetobacter sp. SW 30</i>	20 ± 10	Triângulo, haste, esférico
Fungos	<i>Bacillus pasteurii</i>	5 – 30	Esférico, triangular
	<i>Bacilo Subtilis</i>	10 – 15	Cúbico
	<i>Aspergillus sydowii</i>	8,7 – 15,6	Esférico
	<i>Rhizopus oryzae</i>	43 ± 19	tipo flor
	<i>Penicillium citrinum</i>	60 – 80	Esférico
	<i>Alternaria sp.</i>	7 – 13 e 15 – 18 e 69 – 93	Quase esférico, Esférico, quadrado, haste, pentagonal, hexagonal
Algas	<i>Neurospora crassa</i>	32	esférico
	<i>Spirulina platensis</i>	≈ 5	Esférico
	<i>Turbinaria conoides e Sargassum tenerrimum</i>	27 – 35	Esférico
	<i>Sargassum swartzii</i>	35	Esférico
	<i>Stoechospermum marginatum</i>	18,7 – 93,7	hexagonal, triângulo
	<i>Cystoseira baccata (CB)</i>	$8,4 \pm 2,2$	Esférico
	<i>Tetraselmis kochinensis</i>	5 – 35	Esférico

Continua na próxima página

Tabela 2.3 – Continuação da página anterior

M*	Nome científico	Faixa de tamanho (nm)	Forma das AuNPs
Fermento	<i>Kappaphycus alvarezii</i>	10 – 40	Esférico
	<i>Leveduras secas instantâneas com alto teor de açúcar</i>	Dependente de pH	Triângulo, triângulo truncado, hexágono Nano placas
	<i>Extrato de levedura manitol (YEM)</i>	4 – 20	Esférico
	<i>Levedura de padeiro (Saccharomyces cerevisiae)</i>	$5,0 \pm 2,0$	Esférico
	<i>Hansenula polymorpha</i>	20 – 40	Esférico
Vírus	vírus do mosaico do tabaco (TMV)	10 – 40	

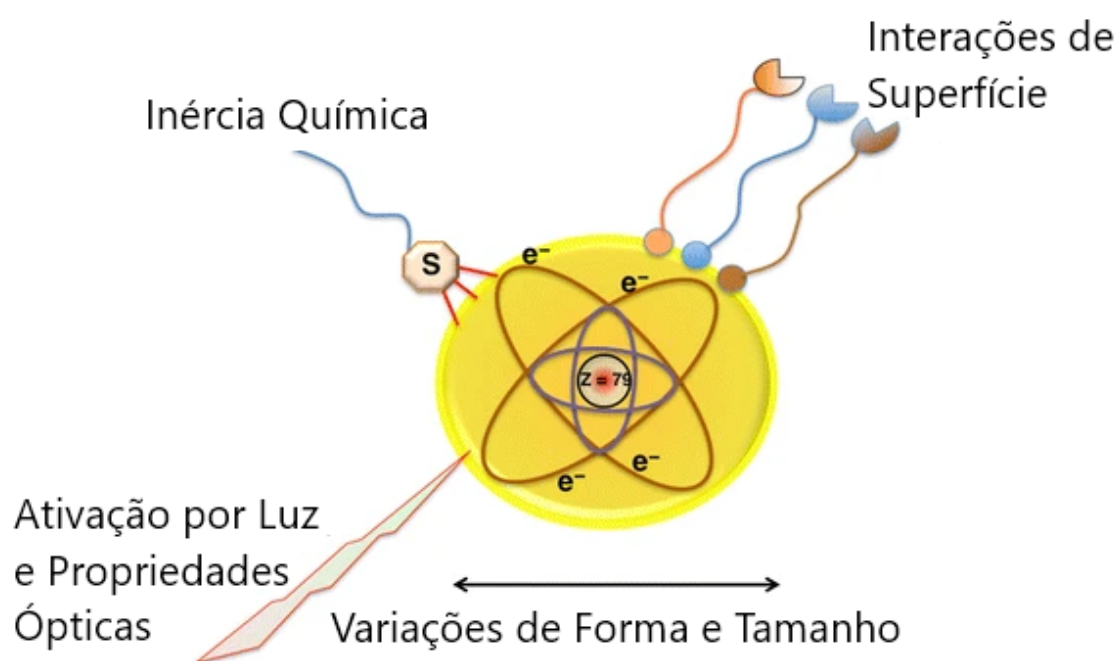
Fonte: Adaptado de Elahi e colaboradores (Elahi et al. 2018).

2.2.2 Propriedades das Nanopartículas de Ouro (AuNPs)

De forma simplificada, há quatro propriedades físicas e químicas de maior interesse pela comunidade acadêmica, com base nas quais as AuNPs foram testadas e estudadas clinicamente: (i) inércia química; (ii) propriedades da superfície; (iii) estrutura eletrônica; e (iv) propriedades ópticas (Zhang 2015), Figura 2.8 mostra um diagrama destas propriedades. A inércia química das AuNPs facilita sua obtenção em uma ampla gama de formas, sem comprometer a alta estabilidade e baixa toxicidade e imunogenicidade que são aspectos essenciais em aplicações médicas (Zhang 2015).

A estrutura eletrônica das AuNPs é central para suas aplicações clínicas, especificamente nas áreas de radiografia e radioterapia. Considerando que o Au possui maior número de elétrons por átomo ($Z = 79$), as AuNPs são capazes de absorver a energia da radiação de raios X com probabilidade ≈ 1.000 vezes maior em comparação com qualquer tecido mole. Esta propriedade de AuNPs é útil na marcação de células cancerosas e

Figura 2.8: Representação diagramática das nanopartículas de ouro (AuNPs), destacando suas principais propriedades e sua dependência com o tamanho e forma das partículas.

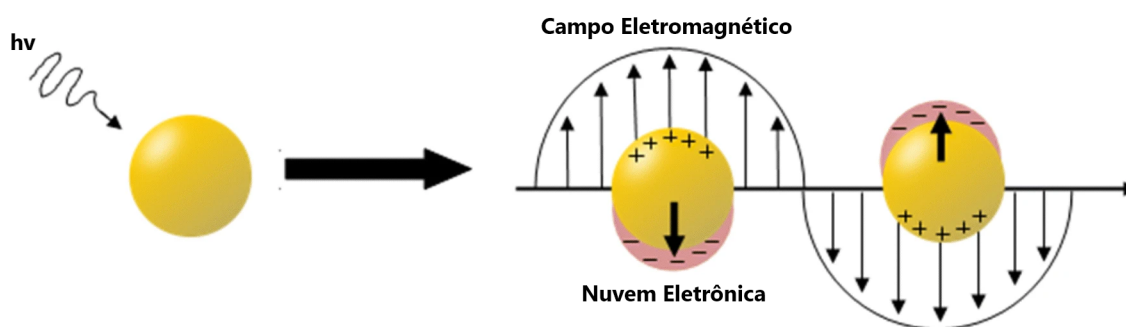


Fonte: Adaptado de Zhang (Zhang 2015).

na radioterapia avançada (Zhang 2015).

Outra propriedade, que é considerada como das características mais importantes dos AuNPs é definida pela ressonância plasmônica de superfície (SPR) (Aminabad et al. 2019). A exposição das AuNPs à luz provoca uma oscilação coletiva de seus elétrons de condução, em ressonância com a frequência da luz absorvida como representado no esquema da Figura 2.9. AuNRs ou AuNSs têm propriedades ópticas de absorção e espalhamento de luz em comprimentos de onda do infravermelho próximo (650 – 900 nm) (Aminabad et al. 2019, Fuller & Köper 2019). A oscilação máxima ocorre em uma frequência específica de luz, que é chamada de SPR (Aminabad et al. 2019).

Figura 2.9: Representação esquemática dos elétrons de condução oscilando através da nanopartícula de ouro no campo eletromagnético da luz incidente.



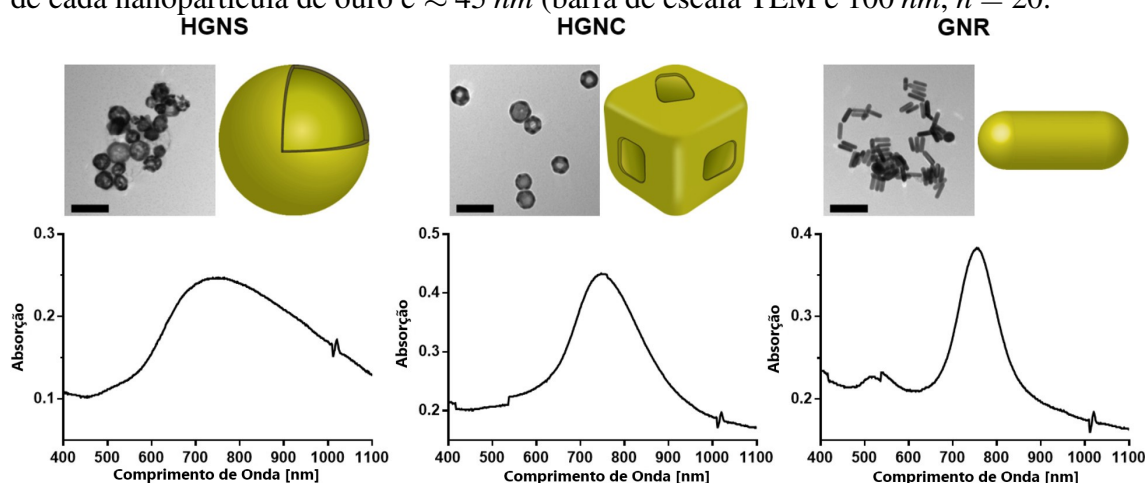
Fonte: Adaptado de Fuller e colaboradores (Fuller & Köper 2019).

As nanopartículas de um modo geral apresentam grande variação das suas características físicas e químicas com o tamanho apresentado, com as AuNPs não é diferente, como mostrado na figura 2.10 (Aminabad et al. 2019, Chithrani et al. 2006, Fuller & Köper 2019, Zhang 2015).

Morgan e colaboradores (Morgan et al. 2019) usou a espectroscopia UV-vis para determinar que cada formato, nano-conchas de ouro ocas (HGNS), nanojaulas de ouro ocas (HGNC) e nanobastões de ouro (GNR), de partícula de ouro, com tamanhos na ordem de 40 a 50 nm, contém um pico de plasmon de superfície característico em cerca de 800 nm,

como pode ser observado na Figura 2.10 (Morgan et al. 2019). Em seu estudo ele avaliou a capacidade biológica da entrega de siRNA, que são pequenas moléculas de ARN, em células HeLa. As nanoesferas ocas possuem capacidade de serem carregadas com três vezes mais moléculas de siRNA, mas possuem uma baixa eficiência de liberação na célula após penetração, os nanobastões possuem dificuldade de penetração na célula alvo (Morgan et al. 2019).

Figura 2.10: Caracterização de nanoconchas de ouro ocas (HGNS), nanojaulas de ouro ocas (HGNC) e nanobastões de ouro (GNR). As imagens de microscopia eletrônica de transmissão (TEM) de nanopartículas de ouro retratam estruturas ocas características de HGNS e HGNC, como evidenciado pela diminuição da densidade eletrônica nos centros das partículas, enquanto GNR são confirmados como bastonetes. As imagens TEM (JEOL 1230 TEM) são acompanhadas por espectros de absorção UV-vis mostrando picos de plasmon primários em $\approx 750 \text{ nm}$ para cada classe de nanopartículas. O tamanho médio de cada nanopartícula de ouro é $\approx 45 \text{ nm}$ (barra de escala TEM é 100 nm , $n = 20$).

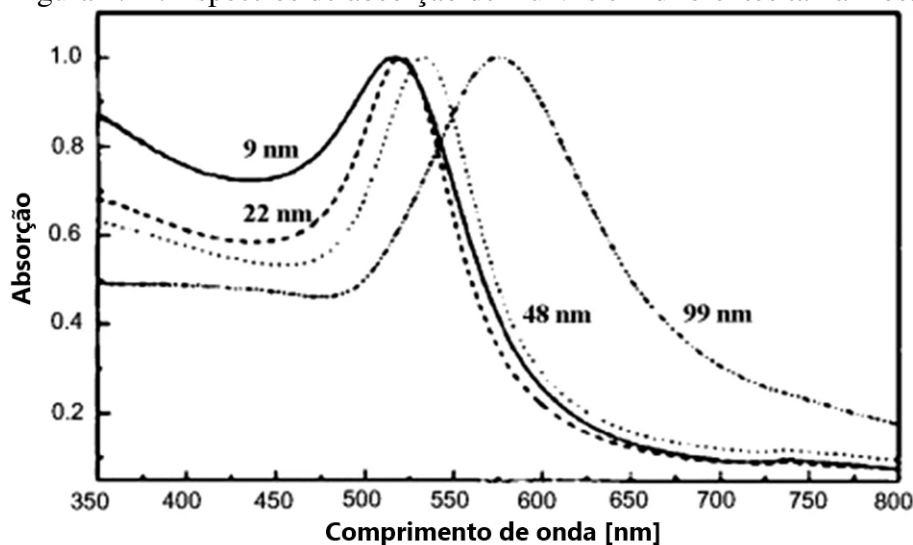


Fonte: Adaptado de Morgan e colaboradores (Morgan et al. 2019).

Os picos de SPR também sofrem alteração com os tamanhos das nanopartículas como pode ser visto na figura 2.11 retirada de Aminabad e colaboradores (Aminabad et al. 2019).

Chithrani e colaboradores (Chithrani et al. 2006) investigaram a absorção celular das nanopartículas de Au em função do seu tamanho e formato, foi observado que a capacidade de penetração, concentração de saturação e cinética são dependentes do tamanho

Figura 2.11: Espectros de absorção de AuNPs em diferentes tamanhos.



Fonte: Adaptado de Aminabad (Aminabad et al. 2019).

da nanopartícula, com AuNPs de 50 nm apresentando os melhores resultados tanto de concentração quanto de cinética, como podem ser observados nas figuras 2.11 e 2.12, respectivamente (Chithrani et al. 2006).

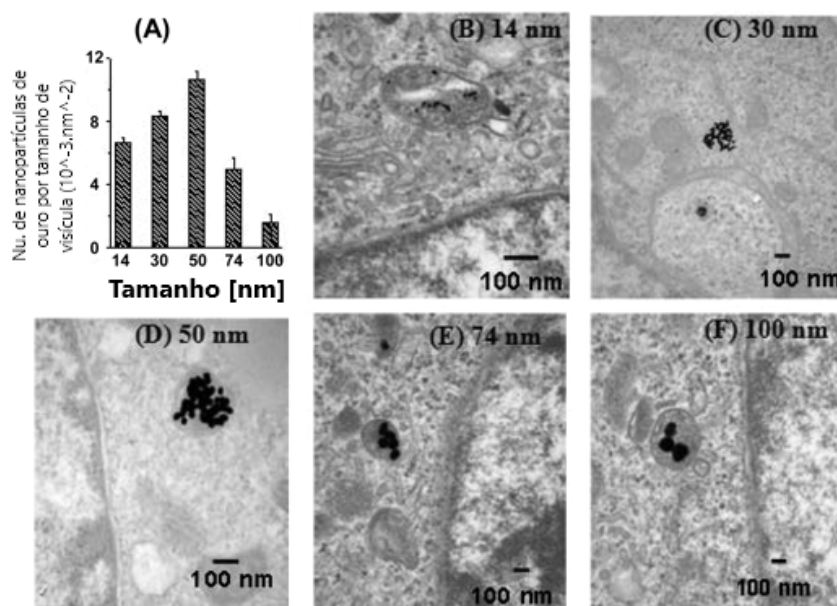
Como a figura 2.14 indica, uma variedade de morfologias e tamanhos das nanopartículas possuem propriedades ópticas específicas. Essas variações podem girar tanto no entorno do espectro visível quanto no do infravermelho próximo (Elahi et al. 2018).

2.2.3 Aplicações de Nanopartículas de Ouro (AuNPs)

As ressonâncias plasmônicas de superfície localizadas LSPRs tornam os AuNPs excelentes sensibilizadores para aplicações médicas relacionadas à luz, incluindo entrega de medicamentos acionados por luz e terapias para o tratamento do câncer, como as terapias fototérmicas (PTT) e fotodinâmicas (TFD) (Aminabad et al. 2019, Elahi et al. 2018, Trouiller et al. 2015).

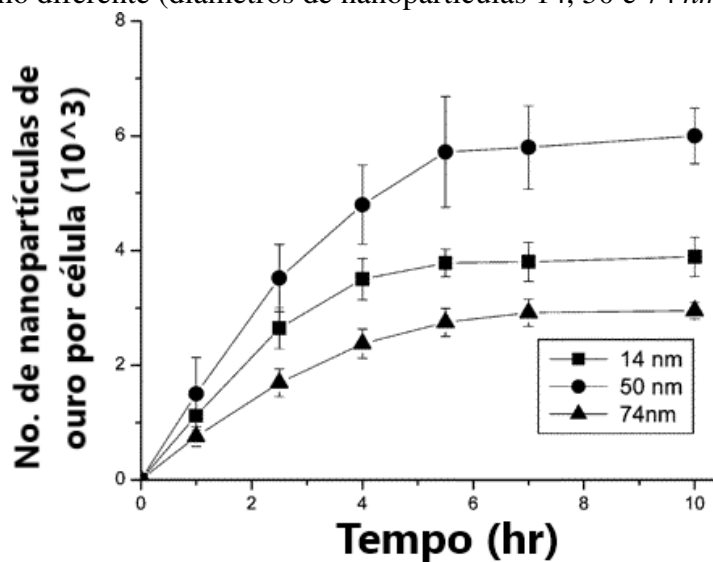
A terapia fotodinâmica (TFD) é uma terapia emergente para o tratamento do câncer, na qual uma droga fotoativa, denominada fotossensibilizador, é usada para destruir tu-

Figura 2.12: Imagens de microscopia eletrônica de transmissão e medições de nanopartículas de ouro em células. (A) O gráfico do número de nanopartículas de ouro por vesícula vs tamanho de nanopartícula. (B-F) imagens TEM de nanopartículas de ouro com tamanhos 14, 30, 50, 74 e 100 nm presos dentro de vesículas de uma célula Hela, respectivamente. (As imagens TEM foram gravadas a uma voltagem de 75 kV com um Hitachi H7000.).



Fonte: Adaptado de Chithrani e colaboradores (Chithrani et al. 2006).

Figura 2.13: Cinética de absorção celular de nanopartículas de ouro. (A) Captação celular de nanopartículas de ouro em função do tempo de incubação para três nanopartículas de ouro de tamanho diferente (diâmetros de nanopartículas 14, 50 e 74 nm).



Fonte: Adaptado de Chithrani e colaboradores (Chithrani; Ghazani; Chan, 2006).

Figura 2.14: Associação de diferentes morfologias e tamanhos de AuNPs com propriedades ópticas.



Fonte: Adaptado de Xiong e colaboradores (XIONG et al., 2014).

mores após ativação com luz vermelha ou infravermelha próxima através da produção de oxigênio singlete citotóxico (Obaid et al. 2012).

O fotossensibilizador “ideal” demonstrou possuir características hidrofóbicas e, consequentemente, sofre de solubilidade aquosa limitada, prejudicando sua biodistribuição sistêmica. outra desvantagem é que alguns fotossensibilizadores apresentam seletividade limitada em relação ao tecido canceroso, resultando em fotodano inespecífico do tecido periférico. Para superar essas limitações, tem-se trabalhado para desenvolver sistemas baseados em nanopartículas para uso como veículos de entrega de drogas fotossensibilizadoras. Esses sistemas mantêm a estabilidade e a atividade de fotossensibilizadores hidrofóbicos em ambientes aquosos, enquanto a própria nanopartícula fornece uma plataforma para funcionalidades adicionais com frações de direcionamento para TFD específico para o câncer (Obaid et al. 2012).

Conforme apresentado em Meyers e colaboradores (Meyers et al. 2015), a partir de estudos *in vivo*, a entrega de drogas direcionadas usando nanopartículas de ouro carregadas a peptídeos de fator de crescimento epidérmico (EGF pep -AuNPs) funciona de forma satisfatória em relação à administração de drogas não direcionadas na TFD, usando biomarcadores específicos de câncer e melhorando a entrega de drogas e eficácia terapêutica.

Outro tipo de método de terapia tumoral é a terapia fototérmica (PTT) na qual agentes fototérmicos são empregados para atingir o aquecimento seletivo do ambiente local. Quando os agentes PTT absorvem luz, os elétrons fazem transições do estado fundamental para o estado excitado. A energia de excitação eletrônica subsequentemente relaxa através de canais de decaimento não radiativos. Isso resulta no aumento da energia cinética levando ao superaquecimento do ambiente local ao redor das espécies absorvedoras de luz. O calor produzido pode ser empregado para destruição local de células ou tecidos (Huang et al. 2007) (VINES et al., 2019).

A escolha dos agentes fototérmicos exógenos é feita com base em suas fortes seções transversais de absorção e conversão luz-calor altamente eficiente. Isso reduz muito a

quantidade de energia do laser necessária para atingir o dano local. As nanopartículas de metais nobres são muito úteis como agentes para PTT, devido atender a essas características como nenhum outro material convencional (Huang et al. 2007) (VINES et al., 2019).

As AuNPs têm atraído a atenção principal como um agente de contraste de raios X porque representa um alto coeficiente de absorção de raios X, facilidade de manipulação sintética, não toxicidade, funcionalização de superfície para estabilidade coloidal e entrega direcionada. Agentes de contraste vascular comuns, como moléculas iodadas, têm baixo peso molecular. O outra propriedade significativa das AuNPs é a capacidade de desenvolvimento de uma janela de imagem mais duradoura devido ao maior tempo de retenção vascular em comparação com os agentes comuns (Rouchota et al. 2021) (RAND et al., 2011).

Como descrito anteriormente, as AuNPs e suas propriedades ópticas e físico-químicas únicas, biocompatibilidade, flexibilidade funcional, monocamadas ajustáveis, dispersão controlada, alta área de superfície para carregar a densidade de drogas, estabilidade e não toxicidade as tornam um nanocarreador eficiente em sistemas de entrega de drogas (KONG et al., 2017).

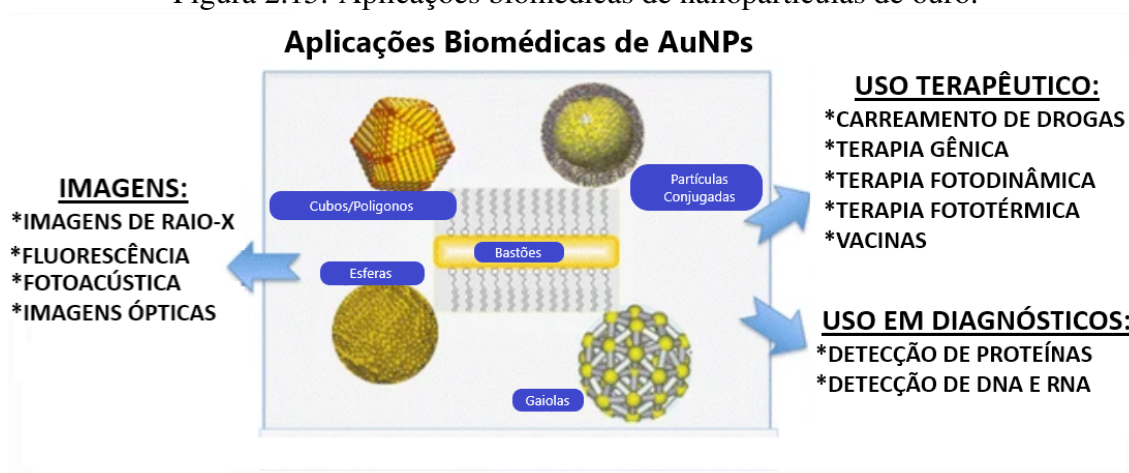
Esses nanocarreadores eficazes são capazes de transferir várias drogas, como peptídeos, proteínas, DNAs plasmidiais (pDNAs), pequenos RNAs interferentes (siRNAs) e agentes quimioterápico. A superfície de AuNPs pode ser modificada usando polietilenoglicol (PEG) como espaçador. As características anfífilas dos polímeros garantem às AuNPs excelente estabilidade em condições fisiológicas e proporcionam uma multiforiedade de combinações nas AuNPs (KONG et al., 2017). A depender da aplicação as AuNPs podem ser usadas em novos métodos para controlar a entrega e liberação de drogas, usando estímulos externos (operados com o apoio de processos geradores de estímulos, como a aplicação de luz) ou estímulos internos (operados de maneira biologicamente controlada, como pH ou glutatona) para liberar o fármaco das AuNPs (Skirtach

et al. 2006).

AuNPs também podem ser uma grande alternativa para novos sensores biológicos e químicos devido às suas excelentes propriedades: como fácil síntese, alta relação superfície-volume, altos coeficientes de extinção, fortes recursos ópticos dependentes da distância e excelente biocompatibilidade, bem como a característica de funcionalização de superfície adequada (Qin et al. 2018). A aplicação de AuNPs como sensores podem ser estendidas aos mais diferentes compostos orgânicos e inorgânicos, como em íons metálicos, ânions, pequenas moléculas, proteínas e ácidos nucleicos (Da et al. 2014, Elahi et al. 2018, Tao et al. 2020). A chave para a detecção é o reconhecimento seletivo de um alvo molecular, juntamente com as vias de geração e transdução de sinal racionalmente projetadas, o que faz das AuNPs incorporados a diferentes compostos nanomoleculares excelentes candidatas (Da et al. 2014).

A figura 2.15 a seguir faz um resumo breve das diferentes aplicações biomédicas, divididas em diferentes grupos, que podem ser conseguidas a partir do uso de AuNPs, sendo imprescindível para cada aplicação os ajustes de tamanho e forma a depender da utilização desejada (Zhang 2015).

Figura 2.15: Aplicações biomédicas de nanopartículas de ouro.



Fonte: Adaptado de Zhang (Zhang 2015).

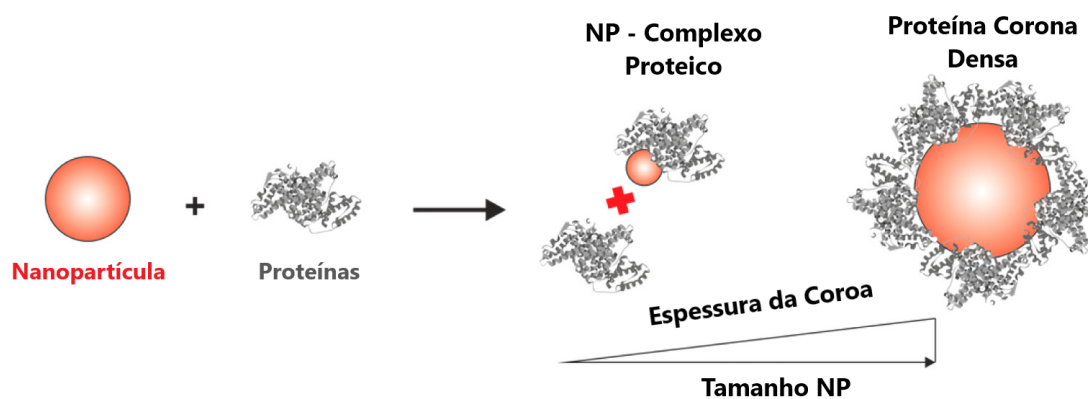
2.3 Formação da proteína corona em nanopartículas de ouro (AuNPs)

As AuNPs podem entrar no corpo humano de diferentes maneiras, entre as quais as principais vias de exposição incluem inalação, administração oral, injeção intravenosa e exposição dérmica. Quando nanopartículas são expostas a biofluidos, imediatamente adsorvem-se à sua superfície proteínas que estão em suspensão formando complexos chamados de coroa nanopartícula-proteína ou Proteína Corona, representado na Figura 2.16, que confere às nanopartículas novas propriedades biológicas que são muito diferentes de suas propriedades sintéticas, representado na Figura 2.17, originais derivadas de reações químicas laboratoriais ou de engenharia, incluindo sua composição química, forma, tamanho, carga superficial, hidrofobicidade, bem como outras propriedades físico-químicas, essa coroa é o que é finalmente “visto” pelas células e determina criticamente a resposta fisiológica e a interação das NPs com os sistemas vivos, incluindo captação celular, vida útil da circulação, sinalização, biodistribuição, efeitos terapêuticos e toxicidade (Ge et al. 2015, Gebauer et al. 2012, Tao et al. 2020).

A adsorção de proteínas é um processo dinâmico no qual as proteínas são continuamente adsorvidas e dessorvidas da adsorção à superfície do nanomaterial. A cinética de adsorção refere-se à dependência do tempo deste processo. As taxas de associação e dissociação de uma proteína a um nanomaterial são dependentes da frequência de contato entre a proteína e o nanomaterial, juntamente com a probabilidade de que tal contato resulte em adsorção (Kharazian et al. 2016).

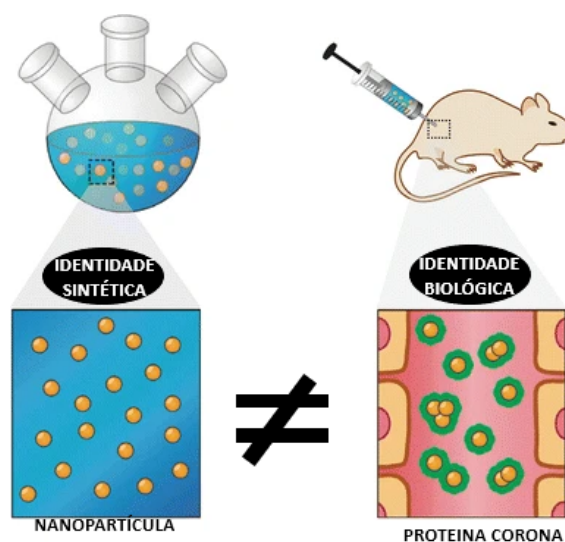
A qualquer momento, uma proteína pode dessorver, permitindo que outras proteínas interajam com a superfície da NP. Essas mudanças na composição da proteína coroa resultantes da dessorção/adsorção são conhecidas como “efeito Vroman”. Devido a este efeito, as identidades das proteínas adsorvidas podem mudar ao longo do tempo, mesmo que a quantidade total da proteína adsorvida permaneça aproximadamente cons-

Figura 2.16: Esquema representando a formação da proteína corona em nanopartículas quando imersas em fluido biológico.



Fonte: Adaptado de Piella e colaboradores (Piella et al. 2017).

Figura 2.17: Relação entre identidade sintética, identidade biológica e resposta fisiológica.



Fonte: Adaptado de Ge e colaboradores (Ge et al. 2015).

tante (Caracciolo et al. 2017, Kharazian et al. 2016).

De acordo com sua afinidade, a proteína corona pode ser categorizada como corona "dura" composta de proteínas com alta afinidade ou corona "mole" composta de proteínas com baixa afinidade (Ge et al. 2015). Coronas moles são suscetíveis a soltar parte de sua estrutura e se espalhar na superfície para maximizar suas interações, o que obviamente induz importantes impactos funcionais e dinâmicos. Pelo contrário, as coronas duras devem manter a maior parte de sua estrutura e função (Marichal et al. 2019), apesar de que para alguns casos essa afirmação não seja sempre verdadeira provavelmente devido às propriedades específicas da superfície dos NPs (Caracciolo et al. 2017, Ge et al. 2015).

Após a adsorção, mudanças conformacionais podem ser induzidas nas proteínas como consequência da interação com a superfície da NP e/ou outras proteínas no ambiente circundante. Enquanto proteínas com fortes forças estabilizadoras podem ser submetidas a pequenas mudanças conformacionais, proteínas com domínios flexíveis podem ser drasticamente influenciadas pela adsorção (Caracciolo et al. 2017).

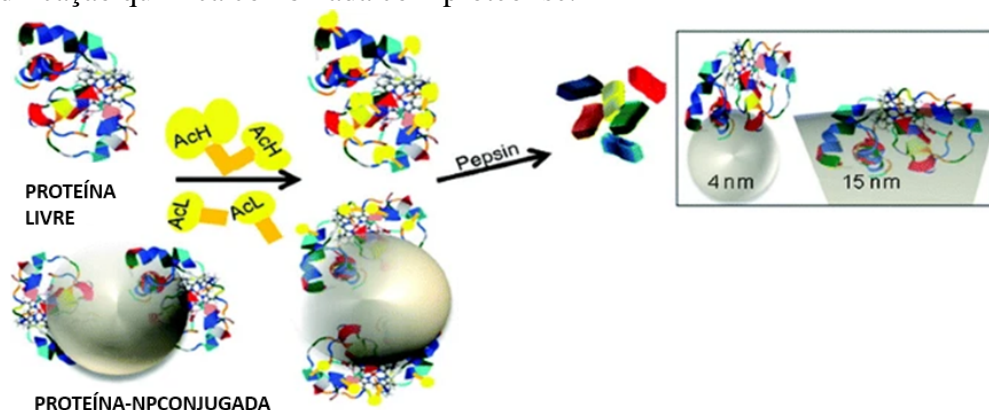
2.3.1 Fatores que influenciam a formação da corona proteica

A composição, estrutura e cinética da formação de PCs depende: (i) das características específicas dos ambientes biológicos nos quais as NPs estão dispersas, especialmente a composição proteica e concentração; (ii) das características físico-químicas do material disperso, como composição química da NP, morfologia, carga superficial (grupos funcionais), e hidrofobicidade; e (iii) do tempo de exposição, que se correlaciona diretamente com a abundância relativa de proteínas e as diferentes constantes de ligação proteína-NP (efeito de Vroman) (Kharazian et al. 2016, Piella et al. 2017).

Entre esses parâmetros, a morfologia das NPs em relação ao tamanho e forma tem desempenhado um papel importante. Devido aos efeitos da curvatura da superfície, as moléculas tendem a adotar diferentes conformações no topo das NPs em comparação com as superfícies planas, na Figura 2.18, indicando diferentes afinidades de ligação às

proteínas, dando origem à variação da estrutura do PC de acordo com o tamanho das NPs (PIELLA; BASTÚS; PUNTES, 2017). O tamanho da partícula e a curvatura da superfície influenciam a quantidade de proteína ligada e (em menor grau) a identidade dessas proteínas.

Figura 2.18: Determinação da orientação de proteínas em nanopartículas de sílica usando modificação química combinada com proteólise.



Fonte: Adaptado de GE e colaboradores (Ge et al. 2015).

Outro fator importante é que os fluidos fisiológicos são dinâmicos por natureza. Por exemplo, no corpo humano, o sangue se move em velocidades diferentes, a depender do tecido. O fluxo dinâmico cria tensão de cisalhamento em NPs e fornece uma fonte contínua de novas biomoléculas (Caracciolo et al. 2017).

Um dos fatores não amplamente investigados, mas certamente importantes na composição da proteína corona são as mudanças na temperatura de incubação das NPs. A temperatura corporal para humanos saudáveis varia na faixa de 35 a 39°C e pode atingir um máximo de 41°C em caso de febre. Pequenas mudanças de temperatura podem variar significativamente a composição da proteína corona (Kharazian et al. 2016).

2.3.2 Interações da proteína corona

Durante a adsorção, processos químicos ou físicos participam da formação da proteína corona. Coordenação, ligação de hidrogênio, forças de van der Waals, interações eletrostáticas e hidrofóbicas, impedimento estérico etc desempenham papéis importantes na condução da ligação de proteínas a AuNPs (Wang et al. 2015). As características dessas interações foram resumidas e estão listadas na Tabela 2.4 abaixo conforme apresentada por Yang e colaboradores (Yang et al. 2013).

Por exemplo, quando a albumina sérica bovina (BSA) interage com AuNPs, as ligações dissulfeto de BSA adsorvem na superfície das AuNPs através de pelo menos 12 ligações Au–S. Em contraste, a ubiquitina é uma pequena proteína livre de cisteína ligada a AuNPs revestidas com citrato principalmente por meio de interações não eletrostáticas de curto alcance, como ligações de hidrogênio, onde o grupo NH se liga ao grupo carboxilato central do citrato de superfície em NPs (Wang et al. 2015).

2.3.3 Estrutura da coroa

A adsorção de proteínas na superfície da NP é governada por afinidades de ligação proteína-nanopartícula (P-NP), bem como por interações proteína-proteína. A proteína corona é construída de diferentes camadas de proteína. A primeira camada de corona está sendo fixada de forma irreversível, enquanto as camadas externas são menos estáveis. Proteínas que adsorvem com alta afinidade, consistindo de proteínas fortemente ligadas, formam a coroa 'dura', e proteínas que adsorvem com baixa afinidade, consistindo de ligações fracas, formam a coroa 'soft' (Caracciolo et al. 2017, Kharazian et al. 2016). As proteínas da coroa dura interagem diretamente com a superfície do nanomaterial, enquanto as proteínas da coroa mole interagem com a coroa dura por meio de interações proteína-proteína fracas. No entanto, nenhuma delas mascara completamente a superfície do NP ou seus grupos funcionais (Kharazian et al. 2016).

Tabela 2.4: Forças que contribuem para as interações entre proteínas e NMs.

Forças	Intensidade	Resultar	Cont. lí- quida	Intervalo (nm)	Espec.	Principais fatores
vdw	Fraco	Um nú- mero enorme	Grande	0 – 10	Não	Comple- mentaridade da interface
H-bond	Moderado	Muitos	Pequeno	< 10	Parcial	Doador/ aceitador de hidrogê- nio
Coulombiano	Moderado	Muitos	Moderado	0 – 10	Não	Estado de carga, força do íon
Hidrofóbico	Forte	Algum	Grande	0 – 10	Parcial	Superfície hidrofóbica
Empilhamento $\pi - \pi$	Forte	Uns pou- cos	Ampla	0 – 5	Sim	Orientação do anel aromático
Ponte de sal	Forte	Uns pou- cos	Moderado	< 1	Sim	Reconhe- cimento múltiplo

Fonte: Adaptado de Yang e colaboradores (Yang et al. 2013).

Para a maioria dos NPs, a coroa é dominada pela albumina (HSA), a proteína mais abundante no soro (55%). No entanto, proteínas de menor abundância, como imunoglobulinas (IgG), apolipoproteínas (apoA), fibrinogênio (Fib) e lisozima humana (LYZ), também são encontradas na coroa, em alguns casos, em concentrações mais altas do que a albumina, apesar de suas concentrações relativamente baixas no plasma. Foi identificado um “adsorboma” constituído por 125 proteínas plasmáticas que foram detectadas nas superfícies NP. A figura 2.19 a seguir mostra o esquema de formação de coroa de proteína em uma superfície de nanopartículas (NP). Inicialmente, proteínas de alta abundância e/ou alta mobilidade se ligam à superfície da nanopartícula. Com o tempo, essas proteínas são substituídas por proteínas de menor mobilidade com maior afinidade de ligação. As proteínas séricas comumente observadas em coroas NP são mostradas como uma coroa representativa: albumina sérica (HSA), imunoglobulina G1 (IgG1), macroglobulina α -2 (A2M) e apolipoproteína A-1 (apoA1) (Fleischer & Payne 2014, Gebauer et al. 2012).

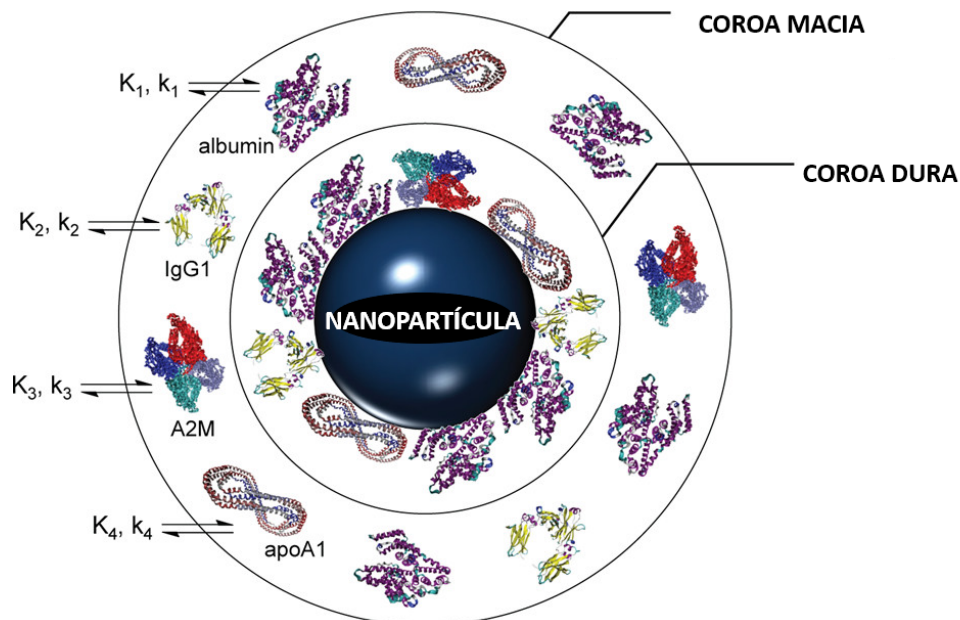
A composição e estrutura da proteína coroa são caracterizadas por cinco parâmetros: (1) espessura e densidade; (2) identidade e quantidade; (3) disposição e orientação; (4) conformação; e (5) afinidade. A espessura da proteína coroa pode ser um fator de muitos parâmetros, como concentração de proteína, tamanho de partícula e propriedades de superfície da partícula (Kharazian et al. 2016).

2.3.4 Métodos de Análise da Formação da Proteína Corona

Muitos métodos estão disponíveis e têm sido amplamente utilizados para identificar as proteínas ligadas a partículas. Um desafio comum é o isolamento do complexo nanopartícula-proteína do excesso de proteínas sem romper o complexo ou induzir a ligação proteica adicional (Kharazian et al. 2016).

Na maioria dos estudos de identificação de proteínas, as nanopartículas são incubadas com plasma de tal forma que os níveis plasmáticos excedem a área de superfície disponível da partícula. Esta relação nanopartícula/proteína é mais representativa da verdadeira

Figura 2.19: Esquema de formação de corona de proteína em uma superfície de nanopartículas (NP).



Fonte: Adaptado de Fleischer e colaboradores (Fleischer & Payne 2014).

situação biológica e é a maneira mais adequada de imitar as condições na corrente sanguínea. A composição completa da proteína corona em um determinado momento é determinada pelas concentrações do proteoma do plasma (que consiste em mais de 3700 proteínas), bem como suas propriedades cinéticas para a nanopartícula particular (Kharazian et al. 2016, Marichal et al. 2019).

Os principais métodos de análise são A espectroscopia UV/vis, a espectroscopia de fluorescência (FS), as espectroscopias vibracionais, Raman e infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), o método de dicroísmo circular (CD), Ressonância Magnética Nuclear (RMN), a cristalografia de raios-X, o método de centrifugação, a sedimentação centrífuga diferencial (DCS), a calorimetria de titulação isotérmica (ITC), a eletroforese capilar (CE), a eletroforese em gel (1D ou 2D) e a espectrometria de massa (MS), com obtenção de resultados de formas diretas ou indiretas, vantagens e desvantagens, a depender do método e do objetivo da análise empregada (Ge et al. 2015, Kharazian et al. 2016, Yang et al. 2013).

2.3.5 Métodos Computacionais

Apesar das contribuições dos experimentos acima mencionados, eles não ajudam a compreender os princípios físico-químicos subjacentes da adsorção de proteínas em NP. Estas técnicas têm algumas desvantagens. A maioria deles mede uma média de conjunto de proteínas adsorvidas e não consegue distinguir entre proteínas individuais. Além disso, as medições são feitas *ex situ* que não refletem a proteína corona *in vivo* (Kharazian et al. 2016).

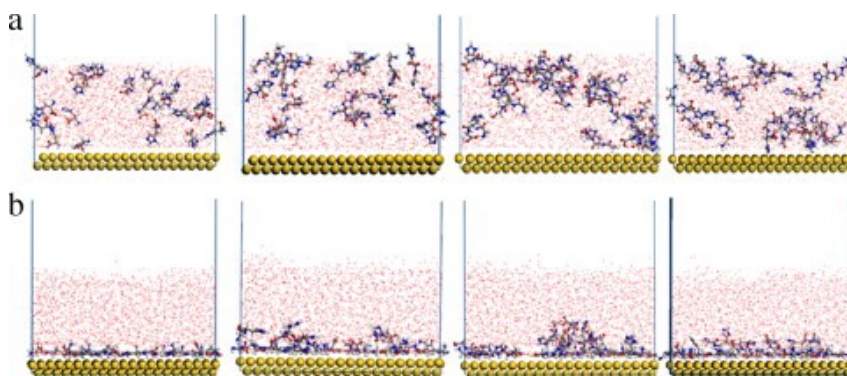
Métodos de simulação computacional nos permitem determinar o comportamento dependente do tempo de sistemas atômicos e moleculares, proporcionando mudanças de uma conformação ou configuração para outra. Às vezes, esses métodos ajudam procedimentos experimentais, como a cristalografia de raios-X, a determinar as estruturas das proteínas. Com base na resolução de detalhes, a simulação molecular pode ser dividida em três classes principais, métodos *ab initio* da mecânica quântica (QM), que resolvem aproximadamente a equação de Schrodinger e possuem cálculos caros e restritos a não mais que algumas dezenas de átomos, métodos de campo de força empíricos de todos os átomos, e métodos de átomos unidos (ou *coarse-grained*). Considerando o algoritmo, eles também podem ser divididos em métodos de Mecânica Molecular (MM), Monte Carlo (MC) e Dinâmica Molecular (MD) (Kharazian et al. 2016) (LEE, HWANKYU, 2021).

Os métodos de campo de força empíricos atômicos podem ser usados para modelar o comportamento de sistemas com dezenas de milhares de átomos diferente do QM que não é aplicável a esse tipo de problema devido custo computacional. Esses métodos são aplicáveis para abordar o comportamento das interações peptídeo-superfície e interações proteína-superfície para proteínas pequenas. Outro benefício desses métodos é incluir os efeitos da solvatação e dos íons no solvente. Este método tem alguns benefícios, como economizar o custo computacional do sistema usando o efeito implícito do solvente, permitindo assim que o tamanho do sistema, a busca conformacional e as escalas de tempo sejam bastante expandidos enquanto a precisão do sistema é reduzida

(Kharazian et al. 2016) (LEE, HWANKYU, 2021).

Em um dos primeiros estudos de modelagem computacional, Zhen Xu e colaboradores estudaram a adsorção de His e peptídeos derivados de His em Au(111). Eles mostraram que todos os aminoácidos adsorvem em Au(111) após 3 ns. Propriedades estatísticas, como energia de interação de adsorção foram analisadas. Os resultados mostram que a superfície de Au(111) ad-sorve facilmente Gly-His de quatro aminoácidos e foi comprovado que His e peptídeos derivados de His são adsorvidos em Au(111) via nitrogênio amino e grupos ácido carboxílico (Xu et al. 2011) . A dinâmica inicial do sistema é mostrada na Fig. 2.20.

Figura 2.20: Instantâneos das configurações de quatro sistemas em (a) $t = 0ns$ e (b) $t = 3ns$.



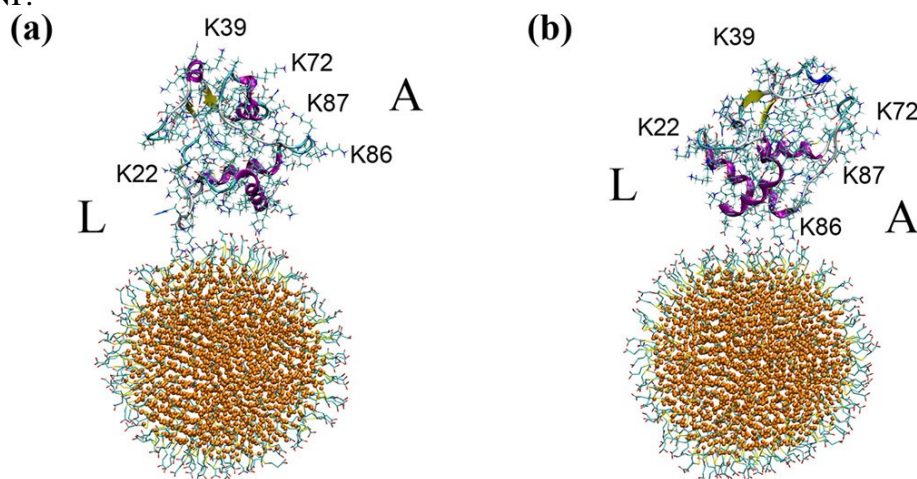
Fonte: (Xu et al. 2011).

Tollefson e colaboradores simularam a interação entre a proteína de membrana periférica citocromo c e uma AuNP funcionalizada com ácido mercaptopropiônico e determinou as orientações de ligação preferidas das proteínas adsorvidas, como mostrado na Figura 2.21 (TOLLEFSON et al., 2019).

Jahan Sajib e colaboradores (Jahan Sajib et al. 2020) empregaram simulações mesoscópicas de granulação grossa para estudar coronas de proteína de lisozima e ovispirina-1 em nanopartículas de ouro nuas. Mostrando que as proteínas da ovispirina formam adsorção homogênea de camada única em comparação com os agregados multicamadas não homogêneas da lisozima em superfícies de ouro NP. A diminuição do tamanho das na-

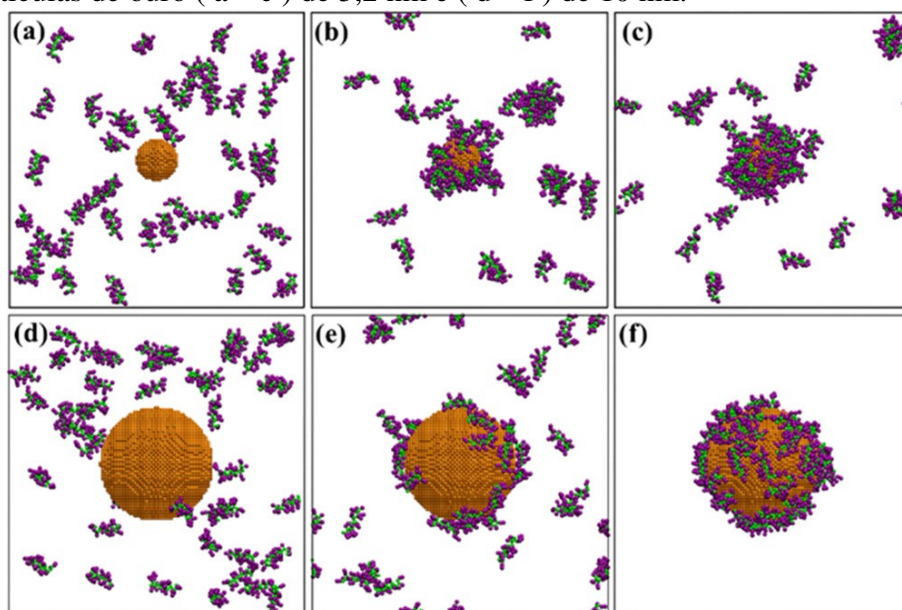
nopartículas leva a mais graus de liberdade angulares para a orientação de adsorção de proteínas.

Figura 2.21: Orientações do citocromo c adsorvido no AuNP funcionalizado com ácido mercaptopropiônico de 4 nm: (a) K22 e K86 voltados para o NP, (b) K86 e K87 voltados para o NP.



Fonte: (TOLLEFSON et al., 2019)

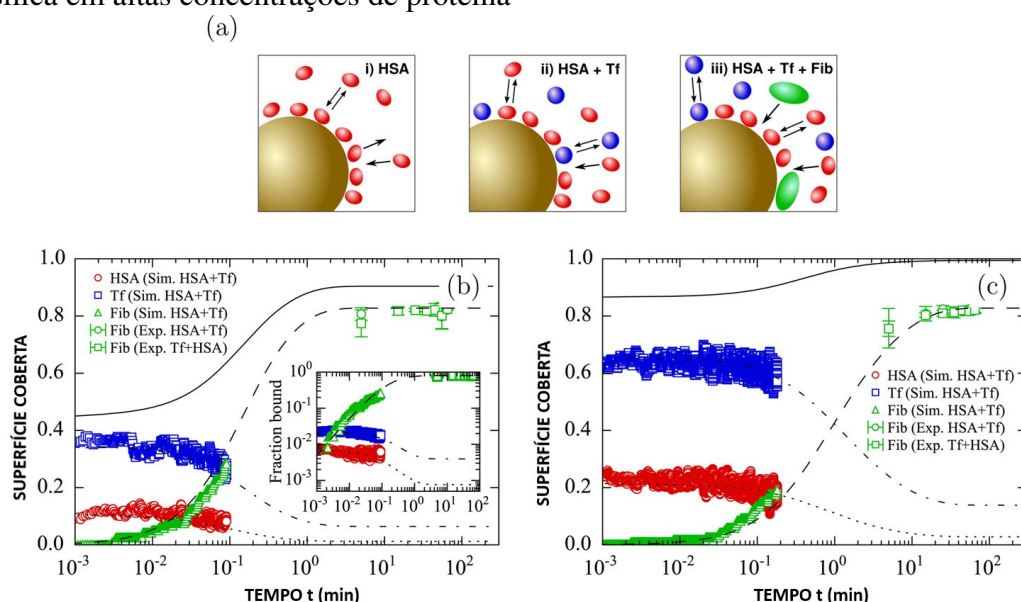
Figura 2.22: Instantâneos de simulações de ovispirina corona adsorvida na superfície de nanopartículas de ouro (a – c) de 3,2 nm e (d – f) de 10 nm.



Fonte: (JAHAN SAJIB et al., 2020).

Vilanova et al. combinaram experimentos, simulações e teoria para estudar (i) a cinética de formação da proteína corona e (ii) sua composição final para NPs de sílica em um plasma modelo feito de três proteínas do sangue (albumina sérica humana, transferrina e fibrinogênio). As simulações de computador foram calibradas por afinidades de ligação proteína-NP experimentais medidas em soluções de proteína única, o modelo teórico reproduziu corretamente a substituição competitiva de proteínas, conforme comprovado por experimentos independentes, a figura 23 mostra o comportamento de substituição de proteínas abundantes (HSA e TF) por proteínas de alta afinidade (FG) no estágio inicial de formação da coroa, demonstrando a capacidade do modelo CG (interação de três corpos) para prever a cinética e composição da proteína corona em superfícies de nanopartículas (VILANOVA et al., 2016).

Figura 2.23: Adsorção de FG (verde) em NPs de sílica pré-revestidas com HSA (vermelho) primeiro e TF (azul) em seguida. a) Ilustração esquemática de três etapas para o processo de adsorção. b) Cobertura superficial de HSA, TF e FG adsorvidos em NPs de sílica em função do tempo. c) Cobertura superficial de HSA, TF e FG adsorvidos em NPs de sílica em altas concentrações de proteína



Fonte: (Adaptado de VILANOVA et al., 2016)

2.4 Proteínas

As proteínas fazem parte do maquinário celular responsável por processar as informações apresentadas no código genético (DNA e RNA). Quimicamente, as proteínas são cadeias de unidades químicas chamadas aminoácidos (AAs). Existem vinte AAs diferentes, e todas as proteínas são uma combinação variada desses Aas (DUBEY et al., 2018).

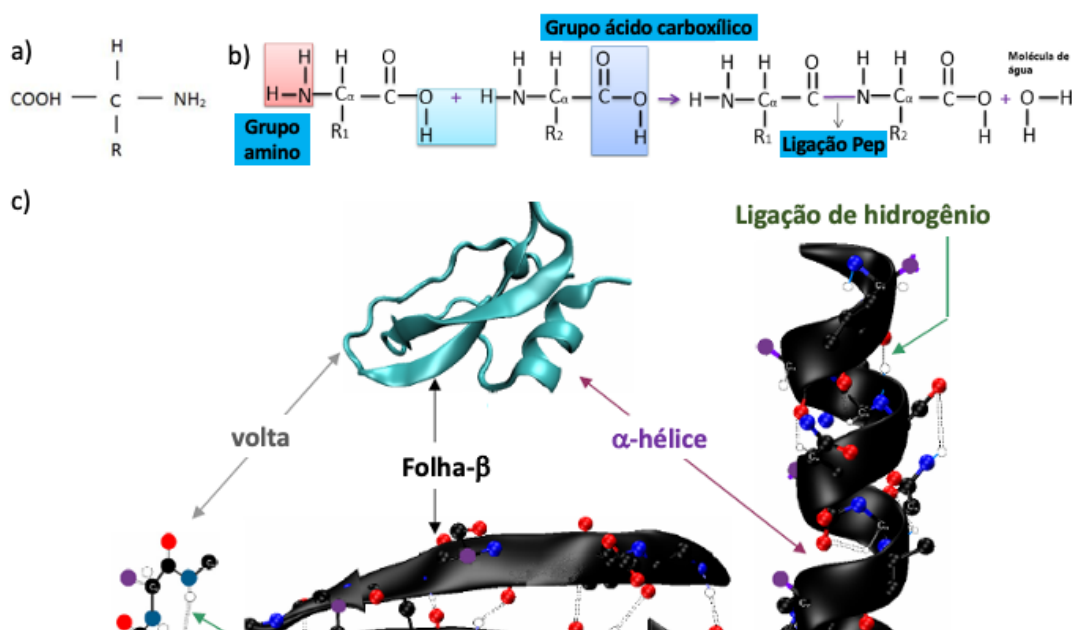
Embora os AAs representem propriedades físico-químicas diferentes, no nível fundamental eles exibem um padrão estrutural comum. Quimicamente, os AAs são uma molécula orgânica que tem o carbono como elemento fundamental, denominado carbono alfa (C). O átomo de carbono alfa está conectado a quatro outras moléculas, um hidrogênio (-H), um grupo amino (-NH₂), um grupo carboxila (-COOH) e um grupo R. A Figura 24 representa o padrão geral do aminoácido a nível molecular. O grupo R regula a diferença entre os AAs e é referido como a cadeia lateral do aminoácido. O grupo R pode variar de um simples átomo de H a uma subestrutura aromática complexa (DUBEY et al., 2018).

Cada aminoácido na sequência da proteína está conectado através de uma ligação peptídica. A ligação peptídica é resultado da interação entre um grupo amino (-NH₂) e um grupo carboxila (-COOH) de AAs com a liberação de uma molécula de água (H₂O). Ao contrário das ligações de hidrogênio de um DNA, as ligações peptídicas são verdadeiras ligações covalentes. Dependendo das propriedades físico-químicas dos AAs constituintes, a proteína se dobra em uma estrutura tridimensional específica (3D); e a estrutura de uma proteína regula funções. Se a proteína ficar mal dobrada, isso resulta em uma modificação estrutural. Essa mudança estrutural pode levar a alterações funcionais e muitas vezes resulta em uma doença grave. Alzheimer, vaca louca e Parkinson são algumas das doenças que ocorrem devido ao dobramento incorreto de proteínas (DUBEY et al., 2018).

Do ponto de vista computacional, a proteína é a sequência de vinte alfabetos diferentes (AAs). Os aminoácidos estão ligados uns aos outros através de uma ligação peptídica

que forma a estrutura primária. Com base nas propriedades dos AAs, uma cadeia de proteínas é dobrada em uma estrutura 3D, classificada em quatro níveis, a saber: a estrutura primária (nível um), a estrutura secundária (nível dois), a estrutura terciária (nível três) e a estrutura quaternária (nível quatro). A estrutura 3D regula a função da proteína. A função da proteína varia desde o transporte de moléculas como a hemoglobina, que transporta o oxigênio na corrente sanguínea, até o controle de inúmeras reações bioquímicas no corpo, através das quais regula hormônios e emoções e auxilia o sistema imunológico. Além disso, depois da água, é um dos principais componentes estruturais da célula, e é encontrado em abundância em qualquer organismo vivo para desempenhar suas funções (DUBEY et al., 2018).

Figura 2.24: a) Sintaxe estrutural de aminoácidos. b) Interação de dois aminoácidos e formação de ligação peptídica. c) Classificação estrutural de uma proteína.



Fonte: Adaptado de Dubey (Dubey et al. 2018)

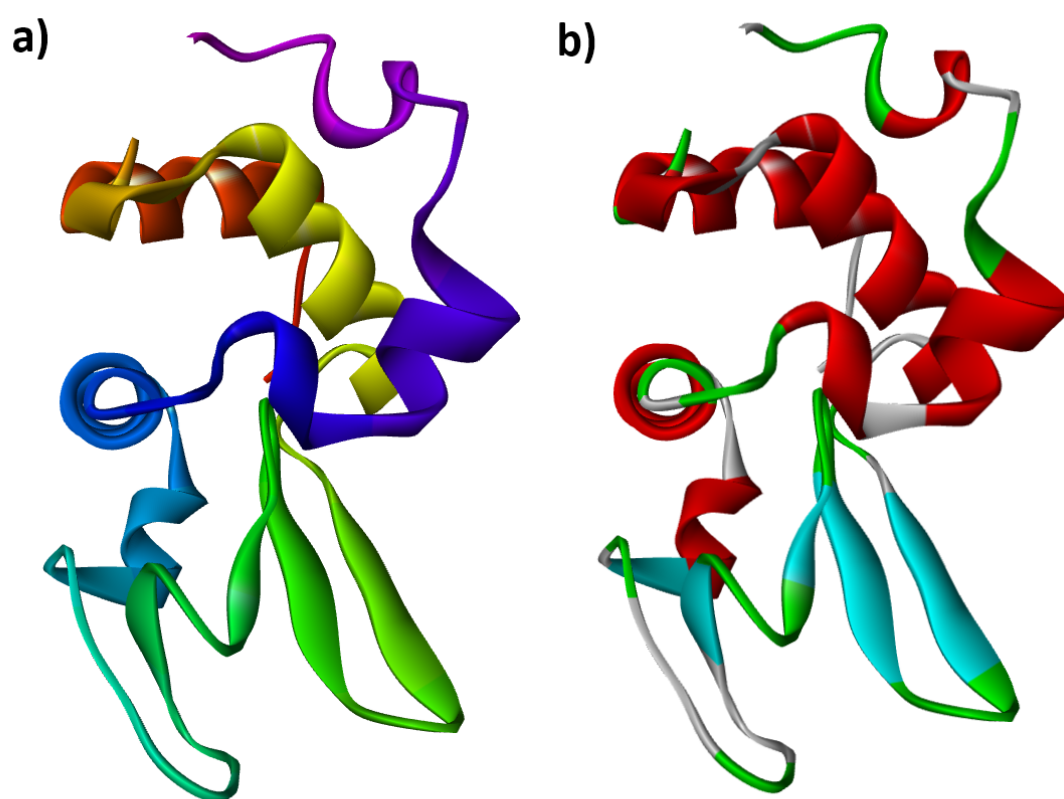
A lisozima (Lsm), também conhecida como muramidase ou N-acetilmuramida glicanidrolase, tem a função de dissolver paredes celulares bacterianas. Lsm é uma proteína com potencial antibacteriano e antiviral e é amplamente encontrada em diversos tecidos

e fluidos bio-lógicos, como sangue, pele, saliva, lágrimas, tecidos linfáticos e hepáticos de humanos e ani-mais. Lsm é composto por 129 resíduos de aminoácidos, que inclui seis resíduos de triptofano (Trp), três de tirosina (Tyr), sendo 8 aminoácidos de cisteína (Cys), que participam do sítio ativo e ligações dissulfetos. Tamanho menor, com peso molecular de 14,71 *kDa* estrutura rela-tivamente simples e alta estabilidade e potencial de ligação ao fármaco tornam o Lsm um candidato a proteína modelo para o estudo de outras proteínas cristalinas, bem como a relação entre estrutura e função de proteínas. Além disso, como uma proteína transportadora seletiva, Lsm pode ser combinado com muitas substâncias exógenas e endógenas para transportar uma variedade de drogas, exercendo assim função biológica antibacteriana, anti - inflamatória e antiviral (RUI et al., 2021). A FIGURA 25 mostra a representação da Lsm depositada no Protein Data Bank (PDB), sob código 1REX, sequenciada por Muraki et al (MURAKI et al., 1996).

A albumina sérica humana (Hsa), a proteína mais proeminente no plasma, é mais co-nhecida por sua extraordinária capacidade de se ligar a uma ampla variedade de compostos que podem estar disponíveis em quantidades muito além de sua solubilidade no plasma. A Hsa é um polipeptídico helicoidal, de cadeia única, com peso molecular 66,5 *kDa* contendo 585 aminoácidos distribuídos em três domínios estruturalmente semelhantes (I, II e III), cada um contendo dois subdomínios (A e B), sua estrutura tridimensional pode ser visualizada na Figura 26, com PDB 6WUW, isolada por Czub et al (CZUB et al., 2020; FERROZ et al., 2012). A sequência de aminoácidos de Hsa contém um total de 17 pontes dissulfeto, um tiol livre de Cys34 e apenas um resíduo de triptofano (Trp) na posição 214 (GALANTINI et al., 2010).

A Hsa apresenta em sua estrutura sete sítios de ligação com diferentes afinidades para ácidos graxos de cadeias longas. Os principais sítios de ligação são os sítios de Sudlow I e II, os ânions heterocíclicos volumosos, como o fármaco anticoagulante warfarina, se ligam no sítio Sudlow I (localizado no subdomínio II A), já o sítio Sudlow II (localizado no subdomí-nio III A) tem preferência por carboxilatos aromáticos com uma conforma-

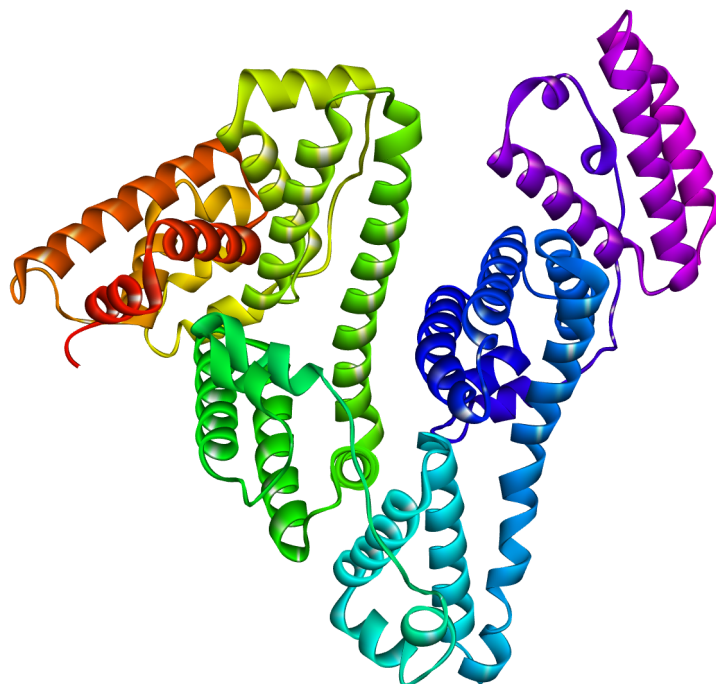
Figura 2.25: Estrutura terciária da lisozima, 1REX. a) Detalhes dos domínios. b) Detalhes das estruturas secundárias.



Fonte: Autoria Própria.

ção estendida, como o ibuprofeno. Além dos dois principais sítios de ligação, há uma multiplicidade de diferentes pontos de ataque para os ácidos graxos e outras drogas, que também podem ser controlados por alterações conformacionais alostéricas (GALANTINI et al., 2010).

Figura 2.26: Estrutura terciária da albumina, 6WUW.



Fonte: Autoria Própria.

Capítulo 3

Objetivos

3.1 Objetivo geral

Realizar um estudo sobre a interação de proteínas formadoras da proteína corona com nanopartículas de ouro (AuNP), usando plataformas Web para criação de modelos de partículas nanométricas e realização do docking entre as proteínas e as nanopartículas.

3.2 Objetivos específicos

- Construir modelos de AuNP usando uma interface Web de Clustering.
- Realizar o encaixe de AuNP@Proteína usando uma interface Web de Docking.
- Avaliar a influência do diâmetro das nanopartículas de ouro no encaixe com proteínas envolvidas na formação de PC.
- Avaliar aspectos das proteínas no encaixe entre AuNP@Proteína.

Capítulo 4

Metodologia

O presente trabalho consiste na análise de possibilidades de encaixe de proteínas envolvidas na formação da proteína corona em nanopartículas de ouro AuNP. Usando plataformas disponíveis na Web, web-servidores de docking e Clustering, para alcançar esse objetivo, as plataformas foram usadas tanto para a construção dos modelos computacionais que descrevem as nanopartículas, quanto para realizar a análise de possibilidade de encaixe entre as nanopartículas coloidais e proteínas abundantes no soro fisiológico humano geralmente envolvidas na formação da Coroa Protéica (PC), Lisozima Humana (Lsm, PDB 1REX) e Albumina Sérica Humana (Hsa, PDB 6WUW).

As proteínas lisozima humana (Lsm, PDB 1REX) e albumina humana (Hsa, 6WUW), tiveram suas estruturas 3D importadas do Protein Data Bank (PDB), e estão representadas nas figuras 25 e 26, foram adicionados os hidrogênios e removidos os ligantes externos, presentes no referencial teórico. A tabela 4.1 a seguir mostra propriedades da estrutura e dos arquivos obtidos para ambas as proteínas.

Os modelos de AuNP foram gerados usando a plataforma NanoCrystal, uma ferramenta cristalográfica baseada na web que cria modelos de nanopartículas de qualquer estrutura cristalina guiada por sua forma de equilíbrio preferida sob condições padrão de acordo com a morfologia Wulff (hábito cristalino). Os usuários podem fazer upload de um arquivo cif, definir os índices de Miller e suas energias mínimas de superfície correspondentes de acordo com a construção Wulff de um cristal específico e es-

Tabela 4.1: Propriedades de Arquivo PDB da Lsm (1REX) e Hsa (6WUW).

Proteínas	HSA	LSM
PDB ID	6WUW	1REX
Número de átomos	18367	2021
Fórmula molecular	C ₅₈₄₄ H ₉₁₁₁ N ₁₅₆₆ O ₁₇₆₄ S ₈₂	C ₆₃₃ H ₉₉₂ N ₂₀₀ O ₁₈₆ S ₁₀
Peso molecular	132,2 <i>kDa</i>	14,7 <i>kDa</i>
Resíduos	1164 AAs	130 AAs
Cadeias proteicas	2	1
Carga	-25 C	8 C
Método de obtenção	Difração de Raios-X	Difração de Raios-X
Resolução	2,2 Å	1,5 Å
Valor de <i>R</i> observado	0,195	0,191

Fonte: Autoria Própria.

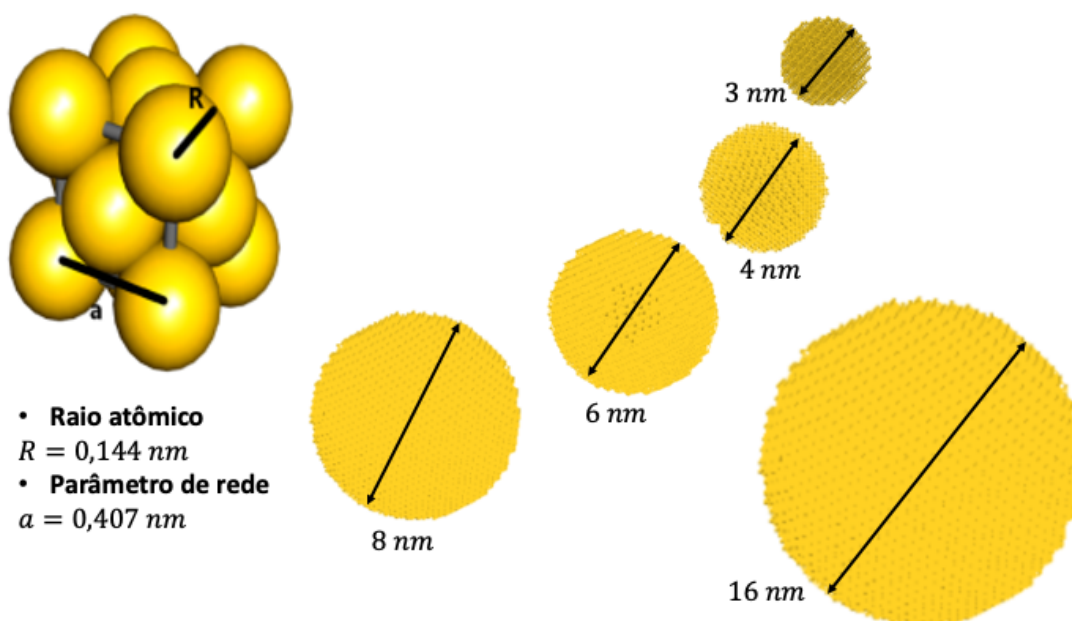
pecificar o tamanho do nanocristal. Como resultado, a nanopartícula é construída e visualizada, e as coordenadas dos átomos são enviadas ao usuário, hospedada no sítio <http://nanocrystal.vi-seem.edu/> (CHATZIGOULAS et al., 2018).

4.1 Modelagem das Nanopartículas de Ouro AuNPs

A partir da célula unitária do ouro, contida em um arquivo com extensão cif, importada da biblioteca de materiais do *Crystallography Open Database*, foram criadas, com uso do *Nano Crystal*, nanopartículas com tamanhos de 3, 4, 6, 8 e 16 nm de diâmetro, denominadas de AuNP3, AuNP4, AuNP6, AuNP8, e AuNP16. Na Figura 4.1 pode ser observada a estrutura cristalina do ouro bem como suas características, trata-se de uma estrutura CFC, com raio atômico de 0,144 nm, com parâmetro de rede de 0,407 nm, fator de empacotamento atômico de 0,74. O servidor pedi como dados de entrada a Estrutura Cristalina ou informações dos índices de Miller e as densidades de energia dos planos juntamente

com a informação de valor do raio da esfera de saída. Os modelos de nanopartículas AuNP3, AuNP4, AuNP6, AuNP8, e AuNP16, foram baixados do servidor em formato PDB, para posterior inserção em servidores de Docking Molecular, afim de se determinar quais as melhores posições de encaixe que os complexos AuNPs@Proteína podem adquirir. Conforme Figura 4.2, cada Modelo de AuNP foi posto em interação com cada uma das proteínas, formando ao todo 10 complexos, AuNP3@Lsm, AuNP4@Lsm, AuNP6@Lsm, AuNP8@Lsm, AuNP16@Lsm, AuNP3@Hsa, AuNP4@Hsa, AuNP6@Hsa, AuNP8@Hsa, AuNP16@Hsa que seriam analisados em cada servidor de encaixe.

Figura 4.1: Estrutura Cif de entrada no *Nano Crystal* e Partículas de Ouro de Saída com seus respectivos diâmetros.

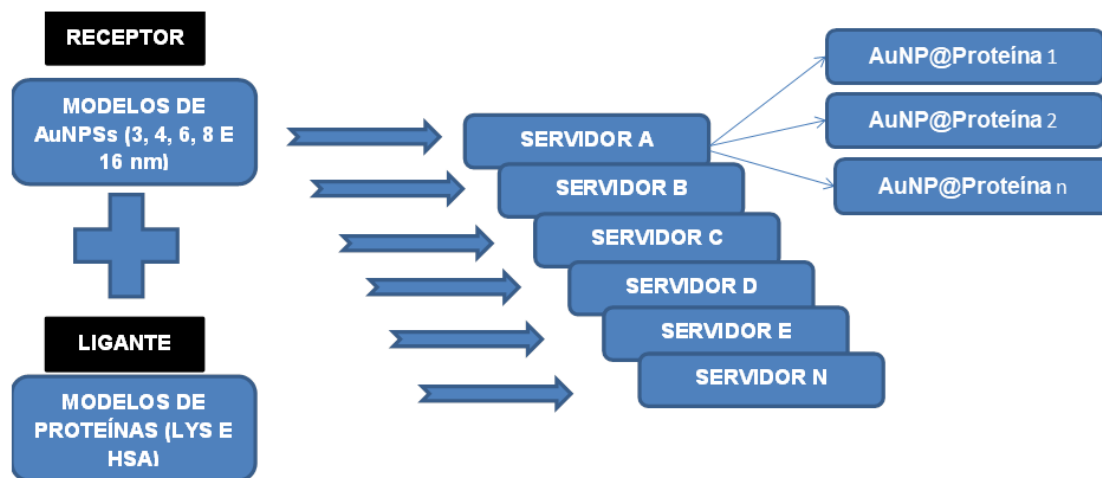


Fonte: Autoria Própria.

4.2 Web Servidores de Docking Molecular

Os servidores foram pré-selecionados com base em pesquisa em bases de dados de publicações acadêmicas com uso das palavras-chave Web Server Dock, Docking Server e

Figura 4.2: Fluxograma de trabalho para avaliação dos Web-Servidores.



Fonte: Autoria Própria.

Docking Web. A tabela 4.2 apresenta os servidores que foram testados na tentativa de realização de encaixe deste estudo. Todos funcionam com base em algoritmo de encaixe que demandam a entrada de duas estruturas de formato PDB, uma com entrada como receptor e a outra como ligante, o receptor é tratado pelos códigos de encaixe como uma molécula mais rígida, independentemente da abordagem usada, já o ligante é tratado como uma molécula que pode ser distorcida para melhor se enquadrar dentro do complexo que está sendo analisado.

Devido a natureza dos dois componentes que estão sendo analisados, foi determinado que as AuNPs seriam tratadas como receptores, e as proteínas por possuírem uma estrutura em cadeia que é mais maleável como ligantes. A primeira tentativa de encaixe a ser realizado foi o da AuNP3 com a Lsm, por serem modelos menores e mais leves que as outras nanopartículas e proteína analisadas.

A maioria dos servidores de docking apresentam limitações em relação ao tamanho dos arquivos e moléculas que serão analisadas, geralmente os receptores comportam moléculas maiores e de diferentes tipos de materiais, enquanto os ligantes ficam limitados a

moléculas de alguns poucos átomos, com pequeno peso molecular, o que torna difícil a tarefa de encaixe dos complexos pretendidos.

Tabela 4.2: Web Servidores de Docking que foram testados no estudo sobre formação de coroa proteica em AuNP.

Web Servidor de Docking	Sítio Web	Principais Referências	Nº de citações
SWISSDOCK	http://www.swissdock.ch/	(Grosdidier et al. 2011b, Grosdidier et al. 2011a)	1154
DOCKINGSERVER	https://www.dockingserver.com/	(Bikadi & Hazai 2009)	402
DOCKING DE 1 CLIQUE	https://mcule.com/apps/1-click-docking/	(Kiss et al. 2012)	77
PARDOCK	http://www.scfbio-iitd.res.in/pardock/	(Gupta et al. 2007)	99
FLEXPEPDOCK	http://flexpepdock.furmanlab.cs.huji.ac.il/	(London et al. 2011, Raveh et al. 2010)	515
PATCHDOCK	https://bioinfo3d.cs.tau.ac.il/PatchDock/	(Schneidman-Duhovny et al. 2005, Duhovny et al. 2002)	2269
BSP-SLIM	https://zhanggroup.org/BSP-SLIM/	(Lee & Zhang 2012)	55
HDOCK	http://hdock.phys.hust.edu.cn/	(Yan et al. 2017, Yan et al. 2020)	404
CABS-DOCK	http://biocomp.chem.uw.edu.pl/CABSdock	(Blaszczyk et al. 2016, Ciemny et al. 2016, Kurcinski et al. 2015)	397
HADDOCK 2.4	https://wenmr.science.uu.nl/	(Honorato et al. 2021, van Zundert et al. 2016)	1089

Continua na próxima página

Tabela 4.2 – *Continuação da página anterior*

Web Servidor de Docking	Sítio Web	Principais Referências	Nº de citações
ACHILLES BLIND DOC- KING SERVER	https://bio-hpc. ucam.edu/achilles/	(Hassan et al. 2017, Singh & Jana 2017, Sinicropi et al. 2018, Ishak et al. 2017)	131
DOCKTHOR	https://www. dockthor.lncc.br/v2/	(de Magalhães et al. 2014, Guedes et al. 2021, Santos et al. 2020)	161
HEX SERVER	http://hexserver. loria.fr/	(Macindoe et al. 2010, Ritchie & Venkatraman 2010)	923
ZDOCK	https://zdock. umassmed.edu/	(Pierce et al. 2011, Pierce et al. 2014)	1596

Fonte: Autoria Própria.

4.3 PATCHDOCK

PatchDock é um algoritmo de docking molecular baseado em geometria. Destina-se a encontrar transformações de encaixe que produzam uma boa complementaridade de forma molecular. O algoritmo PatchDock divide a representação da superfície de pontos de Connolly das moléculas em manchas côncavas, convexas e planas. Em seguida, patches complementares são combinados para gerar transformações candidatas. Cada transformação candidata é ainda avaliada por uma função de pontuação que considera tanto o ajuste geométrico quanto a energia de dessolvatação atômica (Schneidman-Duhovny et al. 2005).

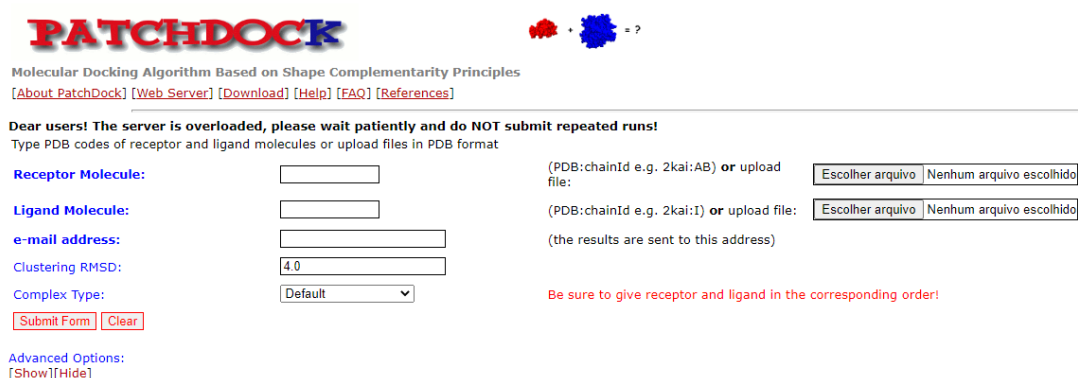
Apresenta uma interface web muito simples (Figura 4.3) e intuitiva para o algoritmo PatchDock disponível no sítio apresentado na tabela 4.2. A entrada são duas moléculas

em formato PDB. As moléculas são carregadas no servidor ou recuperadas do Protein Data Bank. O único outro campo não opcional no formulário de solicitação de encaixe é o e-mail do usuário para notificação do resultado (Schneidman-Duhovny et al. 2005).

Há ainda quatro campos opcionais no formulário de solicitação de encaixe: Clustering RMSD — um número positivo que a distância entre quaisquer duas soluções de saída seja pelo menos o valor RMSD de clustering especificado, Tipo Complexo - diferentes conjuntos de parâmetros, otimizados para diferentes tipos de complexos, potenciais sítios de ligação do receptor e do ligante, respectivamente. Os últimos usados Quando dados biológicos que apontam para resíduos específicos pertencentes a um potencial sítio de ligação estão disponíveis (Schneidman-Duhovny et al. 2005).

Uma página web que apresenta as 20 principais soluções é gerada automaticamente. O usuário recebe uma mensagem de e-mail com a URL desta página (um link da web). As soluções são apresentadas em uma tabela, uma linha para cada solução. A pontuação geométrica, a energia de desolvatação, o tamanho da área de interface e a transformação rígida real da solução são mostrados. (Schneidman-Duhovny et al. 2005).

Figura 4.3: Interface Web PatchDock.



PATCHDOCK

Molecular Docking Algorithm Based on Shape Complementarity Principles
[\[About PatchDock\]](#) [\[Web Server\]](#) [\[Download\]](#) [\[Help\]](#) [\[FAQ\]](#) [\[References\]](#)

Dear users! The server is overloaded, please wait patiently and do NOT submit repeated runs!
Type PDB codes of receptor and ligand molecules or upload files in PDB format

Receptor Molecule: (PDB:chainId e.g. 2kai:AB) or upload file:

Ligand Molecule: (PDB:chainId e.g. 2kai:I) or upload file:

e-mail address: (the results are sent to this address)

Clustering RMSD:

Complex Type:

Advanced Options:
[\[Show\]](#) [\[Hide\]](#)

Be sure to give receptor and ligand in the corresponding order!

Fonte: (Schneidman-Duhovny et al. 2005).

Capítulo 5

Resultados e Discussão

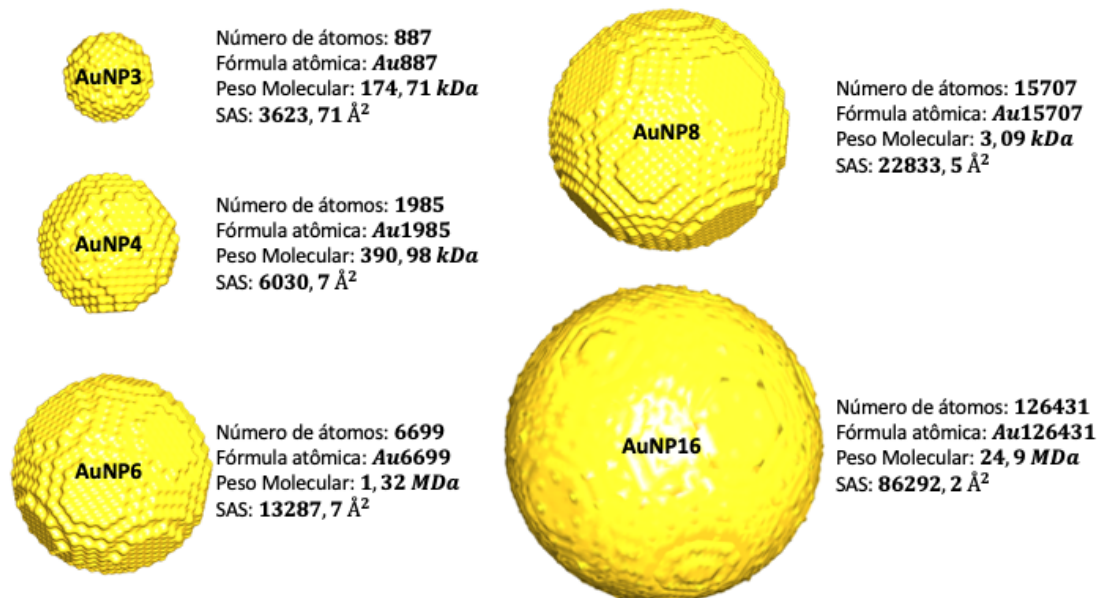
5.1 Modelos das Nanopartículas de Ouro AuNPs

Após a inserção do arquivo CIF contendo as propriedades das células unitária do ouro e dos raios de esfera na interface do Nano Crystal, foram obtidos os arquivos PDB das 5 nanopartículas estudadas, AuNP3, AuNP4, AuNP6, AuNP8, AuNP16.

A Figura 5.1 apresenta as representações tridimensionais dos modelos de todas AuNPs, bem como propriedades de interesse no estudo atual, ou como subsídios para estudos experimentais pertinentes. As propriedades apresentadas são número de átomos da nanopartícula, fórmula molecular, peso molecular, área de superfície acessível ao solvente (SAS), e tamanho de arquivo.

O modelo da AuNP3 apresenta um número de átomos de 887, um peso molecular de 174,71 kDa, uma área de superfície acessível ao solvente de $3623,7 \text{ \AA}^2$, seu arquivo PDB possui um tamanho de 69 kBytes. O modelo da AuNP4 apresenta um número de átomos de 1985, um peso molecular de 390,98 kDa, uma área de superfície acessível ao solvente de $6030,7 \text{ \AA}^2$, seu arquivo PDB possui um tamanho de 154 kBytes. O modelo da AuNP6 apresenta um número de átomos de 6699, um peso molecular de 1,32 MDa, uma área de superfície acessível ao solvente de $13287,7 \text{ \AA}^2$, seu arquivo PDB possui um tamanho de 517 kBytes. O modelo da AuNP8 apresenta um número de átomos de 15707, um peso molecular de 3,09 MDa, uma área de superfície acessível ao solvente de $22833,5 \text{ \AA}^2$, seu arquivo PDB possui um tamanho de 1.212 kBytes. O modelo da AuNP16 apresenta um

Figura 5.1: AuNPs de diferentes diâmetros e suas propriedades Químicas e Computacionais.



Fonte: Autoria Própria.

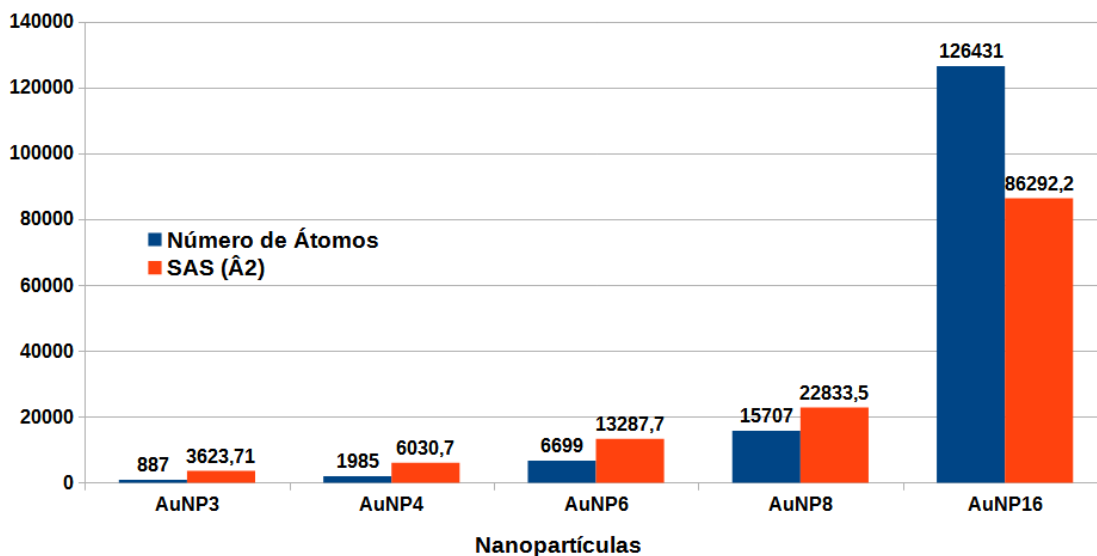
número de átomos de 126431, um peso molecular de 24,9 MDa, uma área de superfície acessível ao solvente de 86.292,2 Å², seu arquivo PDB possui um tamanho de 9.754 kBytes.

A Figura 5.2 apresenta um gráfico comparativo entre algumas propriedades relativas as AuNPs que são importantes na realização do docking, como o número de átomos da nanopartícula e a SAS. É possível perceber a abrupta variação de tais propriedades quando se é aumentado o diâmetro das AuNPs, um crescimento exponencial de ordem 2,96 para o número de átomos em função do diâmetro das AuNPs, e um crescimento de ordem quase quadrática para a área de superfície de acesso ao solvente.

Este crescimento de propriedades leva a um aumento significativo do esforço computacional para realização do docking, a depender da forma de abordagem do problema do método empregado. O número de átomos da AuNP16 é 152 vezes maior que o número de átomos de AuNP3, já a área é 23,8 vezes maior. Se o método de docking for baseado

em área significa dizer que o esforço computacional para analisar essa área seria 24 vezes maior comparando AuNP3 e AuNP16, e 152 vezes maior se o método avaliar cada átomo e a flexibilidade da proteína como um todo.

Figura 5.2: Variação de Número de Átomos e SAS com o diâmetro da nanopartícula.



Fonte: Autoria Própria.

5.2 Web-Servidores de Docking Molecular

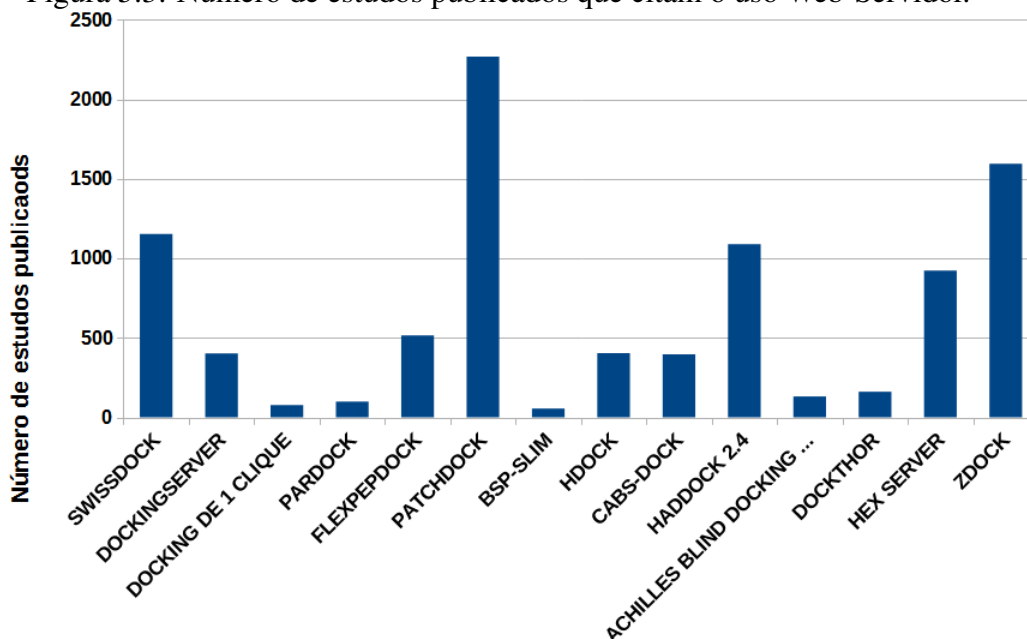
Apesar da extensa tabela de aplicações Web de docking molecular apresentada na metodologia, e os numerosos estudos nos quais eles foram aplicados (Figura 5.3) totalizando mais de 9 mil e duzentas publicações em revistas de grande circulação no meio científico, o único servidor que aceitou, como entrada para realização do docking, o arquivo da nanopartícula de ouro foi o PATCHDOCK.

Os servidores que não suportaram o modelo da nanopartícula de ouro apresentaram varias incompatibilidades que culminaram na não aceitação do arquivo PDB contendo as nanopartículas de ouro. As principais incompatibilidades foram a falta de cadeias de ami-

noácidos na estrutura da nanopartícula de ouro, falta de moléculas de carbono, hidrogênio, nitrogênio, oxigênio e enxofre na estrutura da nanopartícula, o não reconhecimento dos átomos de ouro presentes na estrutura da nanopartícula, falta de bibliotecas existentes em relação a composição das nanopartículas de ouro, e a limitação do tamanho das moléculas ligantes em relação ao seu peso e cadeia, e restrição de tamanho de arquivo para o ligante.

Alguns dos servidores ao não receberem o modelo da nanopartícula de ouro apresentaram relatórios interativos a respeito da compatibilidade do arquivo, explicando o motivo da incompatibilidade. E outros só apresentaram mensagem de erro no docking sem menção ao que ocasionou a incompatibilidade.

Figura 5.3: Número de estudos publicados que citam o uso Web-Servidor.



Fonte: Autoria Própria.

5.3 Docking Molecular AuNP@Proteína

Nos tópicos a seguir estão representados os resultados dos dockings realizados entre as AuNPs e as proteínas, Lisozima humana e Albumina sérica humana. Estes resultados

Tabela 5.1: Soluções de docking AuNP3@Lsm.

#	Pontuação	Área	Matriz de transformação					
1	5362	696.80	-2.22	-0.84	2.91	-5.44	-8.37	17.14
2	5352	655.70	1.32	-0.70	0.23	-17.12	-7.19	-5.02
3	5328	657.60	2.74	0.18	-2.42	17.18	-4.97	-7.23
4	5308	663.80	1.46	-1.27	0.44	-17.20	-9.24	5.10
5	5246	667.10	2.61	0.12	2.88	5.42	-17.16	-9.27
6	5234	616.30	0.36	-0.70	-1.41	-16.82	9.91	2.07
7	5216	648.10	1.28	-0.75	-1.32	-8.64	17.59	-3.76
8	5180	607.50	2.72	0.21	-0.31	-4.66	17.30	-8.36
9	5168	641.70	-2.81	0.75	3.05	10.70	-16.77	-3.11
10	5160	614.90	-2.78	0.70	1.41	-16.85	-9.89	-2.08
11	5108	699.60	-1.29	-0.48	0.03	-23.01	-33.39	36.66
12	5104	647.00	0.14	0.74	-3.09	5.49	16.93	-10.03
13	5098	610.20	0.23	0.75	0.19	-1.32	-16.50	-10.22
14	5096	665.40	-2.71	0.69	-1.86	18.26	7.78	0.51
15	5090	614.60	1.28	0.55	0.46	0.90	-4.74	-20.19

Posição do ranking
Fonte: Autoria Própria.

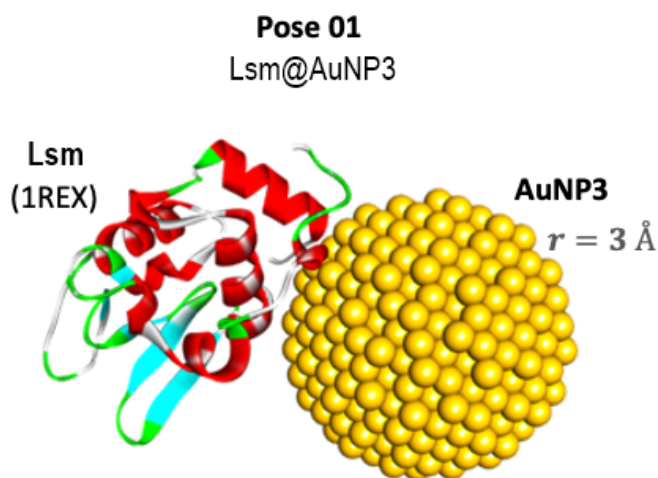
mostram as melhores posições de docking, bem como sua classificação em comparação com outras posições, com informações a respeito das distâncias, orientações das moléculas, e área de contato entre as moléculas e partículas.

5.3.1 Docking Molecular AuNP3@Lsm

As 15 melhores soluções para o docking entre os modelos de AuNP3 e Lsm estão listados na TABELA 5.1 a seguir, com sua respectiva classificação listados em ordem decrescente, com os valores de sua pontuação, a área de contato do docking e a matriz de transformação.

AuNP3@Lsm apresenta uma média pontuação da complementaridade de forma de 5203,3, com uma área média de contato das soluções de $647,09 \text{ \AA}^2$. A melhor pose, mostrada na Figura 5.4, apresenta um valor de pontuação da complementaridade de forma de 5362, e uma área de contato de docking $696,8 \text{ \AA}^2$.

Figura 5.4: Melhor posição de docking (Posição 1) AuNP3@Lsm.



Fonte: Autoria Própria.

A nanopartícula de ouro de 3 nanômetros, segundo a avaliação feita pelo PATCH-DOCK, na melhor posição de docking, interage diretamente com partes de 3 estruturas em hélice, duas estruturas de alças e duas estruturas em folha na molécula de Lisozima. Essas estruturas são formadas pelos seguintes aminoácidos, listados na Tabela 5.2.

Como é possível perceber, analisando a tabela 5.1, a melhor pose (Posição 1) não é aquela que apresenta a maior área de contato (Posição 11) entre nanopartícula e molécula. A posição 11 apresenta uma área de contato de $699,6 \text{ \AA}^2$, ligeiramente superior à área de contato apresentada pela posição 1. A posição de docking 11 está representada na Figura 5.5.

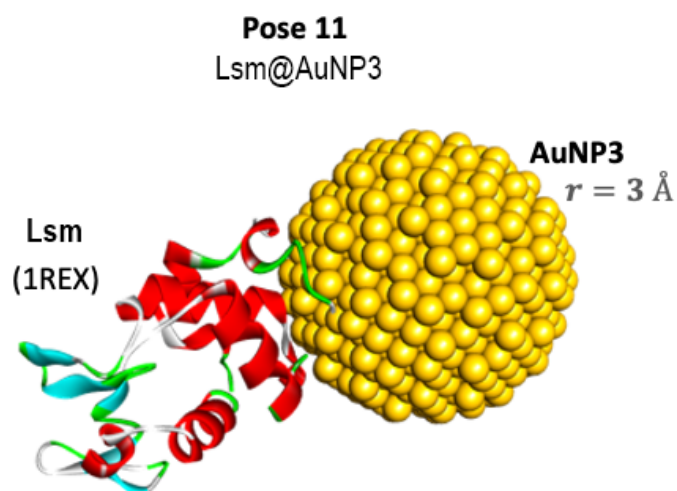
Tabela 5.2: Lista de aminoácidos envolvidos na interação de posição 1 da AuNP3@Lsm.

Lsm@AuNP3 - AAs interação - docking molecular (pose 01)

LYS1 VAL2 PHE3 GLU4 ARG5 CYS6 GLU7 LYS33 TRP34
 GLU35 SER36 GLY37 TYR38 ASN39 THR40 CYS77 ARG122
 GLN123 TYR124 VAL125 GLN126 GLY127 CYS128

Fonte: Autoria Própria.

Figura 5.5: Posição de docking de maior contato superficial (Posição 11) AuNP3@Lsm.



Fonte: Autoria Própria.

Tabela 5.3: Lista de aminoácidos envolvidos na interação de posição 11 da AuNP3@Lsm.

Lsm@AuNP3 - AAs interação - docking molecular (pose 11)

CYS6 ARG10 MET17 ASP18 GLY19 TYR20 ARG21 GLY22
 ILE23 SER24 LEU25 ALA26 ASN27 ARG119 ASP120
 VAL121 ARG122 GLN123 TYR124 VAL125 GLN126 GLY127
 CYS128 GLY129 VAL130

Fonte: Autoria Própria.

A posição de maior contato superficial, posição 11, mostra uma mudança de orientação da molécula proteica, em comparação com a melhor pose, indicando estruturas diferentes envolvidas na interação com a nanopartícula de ouro de 3 nanômetros. A Figura 5.5 indica uma interação direta com partes 4 estruturas em hélice, 2 estrutura em folha, e 3 estruturas em alça, formada pelos aminoácidos listados na tabela 5.3.

5.3.2 Docking Molecular AuNP4@Lsm

As 15 melhores soluções para o docking entre os modelos de AuNP4 e Lsm estão listados na TABELA 5.4 a seguir, com sua respectiva classificação listados em ordem decrescente, com os valores de sua pontuação, a área de contato do docking e a matriz de transformação.

AuNP4@Lsm apresenta uma média pontuação da complementaridade de forma de 5751, com uma área média de contato das soluções de $1208,5 \text{ \AA}^2$. A melhor pose, mostrada na Figura 5.6, apresenta um valor de pontuação da complementaridade de forma de 6246, e uma área de contato de docking $1284,2 \text{ \AA}^2$.

A nanopartícula de ouro de 4 nanômetros, segundo a avaliação feita pelo PATCH-DOCK, na melhor posição de docking, interage diretamente com 4 estruturas em hélice, 4 estruturas de alças e 1 estruturas em folha na molécula de Lisozima. Essas estruturas são formadas pelos seguintes aminoácidos, listados no Tabela 5.5.

Como é possível perceber, analisando a TABELA 5.4, a melhor pose (Posição 1) não

Tabela 5.4: Soluções de docking AuNP4@Lsm.

#	Pontuação	Área	Matriz de transformação					
1	6246	1284.20	-2.48	0.02	2.36	11.53	-4.69	62.17
2	6132	1291.30	2.19	0.55	-1.54	62.22	12.42	-1.86
3	6088	1248.10	-2.48	0.10	-2.48	9.10	13.93	61.05
4	6044	1214.90	1.99	1.13	-1.36	61.55	8.85	-14.68
5	5896	1193.90	-1.05	-1.25	1.46	62.26	-7.46	9.31
6	5862	1238.10	-2.48	0.10	-0.77	-14.32	6.36	61.10
7	5788	1140.40	-0.92	-1.05	-3.13	8.70	62.96	7.06
8	5684	1245.00	-2.52	0.04	-1.15	-7.95	9.64	62.14
9	5662	1133.40	-2.49	0.10	0.76	-9.24	-14.76	61.47
10	5572	1232.30	-0.96	0.63	3.02	13.47	61.58	-8.08
11	5502	1066.90	-1.36	-0.52	-2.89	-0.72	-0.77	21.24
12	5498	1234.60	2.04	1.26	1.73	-62.13	-7.22	-10.30
13	5470	1003.80	-2.51	0.00	1.18	1.40	-11.93	63.19
14	5442	1318.70	-0.87	0.68	1.60	62.08	-1.60	-12.88
15	5386	1281.70	-0.97	0.95	0.01	-3.79	-62.80	-10.19

Posição do ranking
Fonte: Autoria Própria.

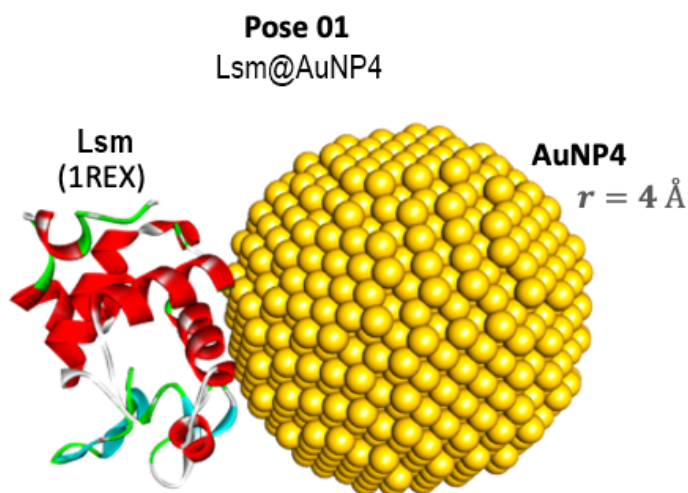
Tabela 5.5: Lista de aminoácidos envolvidos na interação de posição 1 da AuNP4@Lsm.

Lsm@AuNP4 - AAs interação - docking molecular (pose 1)

ARG14 LEU15 GLY16 MET17 ASP18 GLY19 TYR20 ARG21
GLY22 ALA73 VAL74 ASN75 ALA76 CYS77 HIS78 LEU79
SER80 ILE89 ALA90 ASP91 ALA92 VAL93 ALA94 CYS95
ALA96 LYS97 ARG98 VAL99 VAL100 ARG101 ASP102
GLN123

Fonte: Autoria Própria.

Figura 5.6: Melhor posição de docking (Posição 1) AuNP4@Lsm.

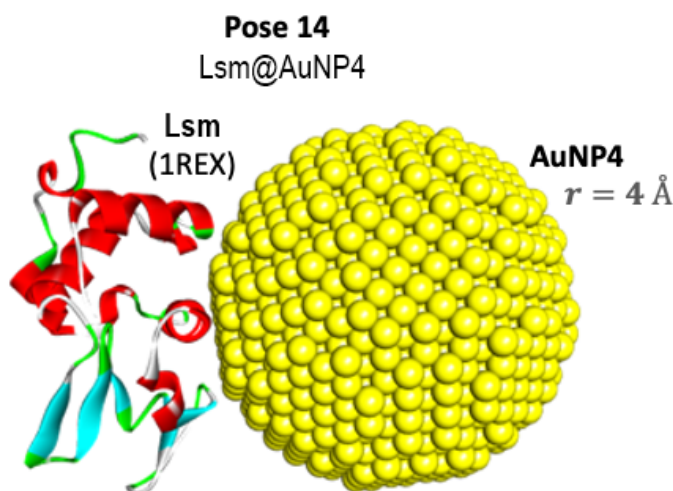


Fonte: Autoria Própria.

é aquela que apresenta a maior área de contato (Posição 14) entre partícula e molécula. A pose 14 apresenta uma área de contato de $1318,7 \text{ Å}^2$, ligeiramente superior a área de contato apresentada pela posição 1. A posição de docking 14 está representada na Figura 5.7.

A posição de maior contato superficial, posição 14, não mostra nenhuma grande mudança de orientação da molécula proteica, somente uma leve rotação na molécula, em comparação com a melhor pose, indicando estruturas semelhantes na interação com a nanopartícula de ouro de 4 nanômetros. A Figura indica uma interação direta com 4 estruturas em hélice, 1 estrutura em folha, e 4 estruturas em alça, formada pelos mesmos aminoácidos listados na Tabela 5.5.

Figura 5.7: Posição de docking de maior contato superficial (Posição 14) AuNP4@Lsm.



Fonte: Autoria Própria.

5.3.3 Docking Molecular AuNP6@Lsm

As 15 melhores soluções para o docking entre os modelos de AuNP6 e Lsm estão listados na TABELA 5.6 a seguir, com sua respectiva classificação listados em ordem decrescente, com os valores de sua pontuação, a área de contato do docking e a matriz de transformação.

AuNP6@Lsm apresenta uma média pontuação da complementaridade de forma de 8331,7, com uma área média de contato das soluções de $1414,4 \text{ \AA}^2$. A melhor pose, mostrada na Figura 5.8, apresenta um valor de pontuação da complementaridade de forma de 8508, e uma área de contato de docking $1468,9 \text{ \AA}^2$.

A nanopartícula de ouro de 6 nanômetros, segundo a avaliação feita pelo PATCH-DOCK, na melhor posição de docking, interage diretamente com 5 estruturas em hélice, 5 estruturas de alças e 1 estruturas em folha na molécula de Lisozima. Essas estruturas são formadas pelos seguintes aminoácidos, listados na Tabela 5.7.

Tabela 5.6: Soluções de docking AuNP6@Lsm.

#	Pontuação	Área	Matriz de transformação					
1	8508	1468,9	2,26	0,59	-2,44	54,11	-48,99	-0,63
2	8426	1420,8	0,56	-1,2	-1,15	-33,85	61,87	-17,71
3	8420	1430,2	2,84	0,07	1,81	-53,62	-25,71	42,61
4	8376	1368,4	-2,96	-0,28	-2,24	18,18	-27,07	65,45
5	8376	1434,8	0,19	0,78	-2,44	-49,96	-2,67	-53,37
6	8352	1474,2	-1,78	0,31	-1,59	-46,6	24,92	49,72
7	8330	1470,5	2,92	0,03	0,3	-25,19	50,23	45,97
8	8316	1387,6	-2,48	-0,98	2,25	-32,55	45,35	46,14
9	8312	1426,3	-0,24	-0,08	-1,77	-53,14	22,5	-44,13
10	8308	1547,7	1,35	-0,27	3,12	22,95	-46,85	-50,59
11	8300	1367,6	-1,19	-0,64	0,35	27,25	-65,28	18,63
12	8296	1375,1	-2,39	-1,32	-0,57	53,12	-43,09	24,24
13	8234	1295,2	-3,03	0,97	-1,74	44,77	49,99	28,52
14	8212	1391,4	1,31	-0,84	1,69	-39,86	-51,94	-31,48
15	8210	1356,7	-2	-0,62	-0,35	15,02	-43,98	56,31

Posição do ranking
Fonte: Autoria Própria.

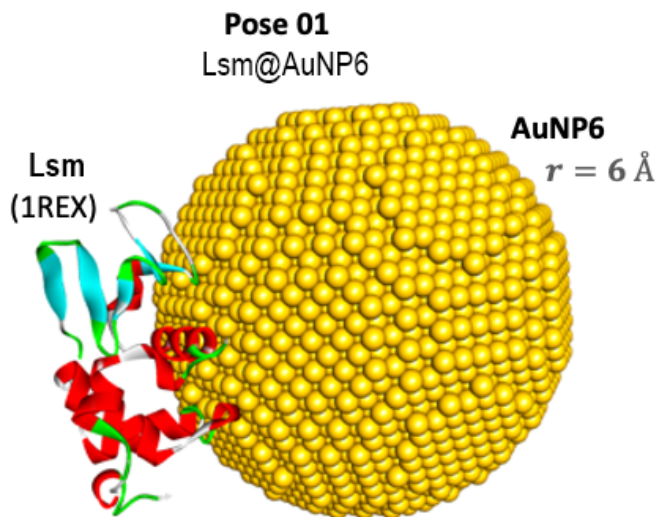
Tabela 5.7: Lista de aminoácidos envolvidos na interação de posição 1 da AuNP6@Lsm.

Lsm@AuNP6 - AAs interação - docking molecular (pose 1)

ARG14 LEU15 GLY16 MET17 ASP18 GLY19 TYR20 ARG21
GLY22 ALA47 ASN75 ALA76 CYS77 HIS78 LEU79 SER80
LEU84 ASN88 ILE89 ALA90 ASP91 ALA92 VAL93 ALA94
CYS95 ALA96 LYS97 ARG98 VAL99 VAL100 ARG101
ALA111 ASN118

Fonte: Autoria Própria.

Figura 5.8: Melhor posição de docking (Posição 1) AuNP6@Lsm.

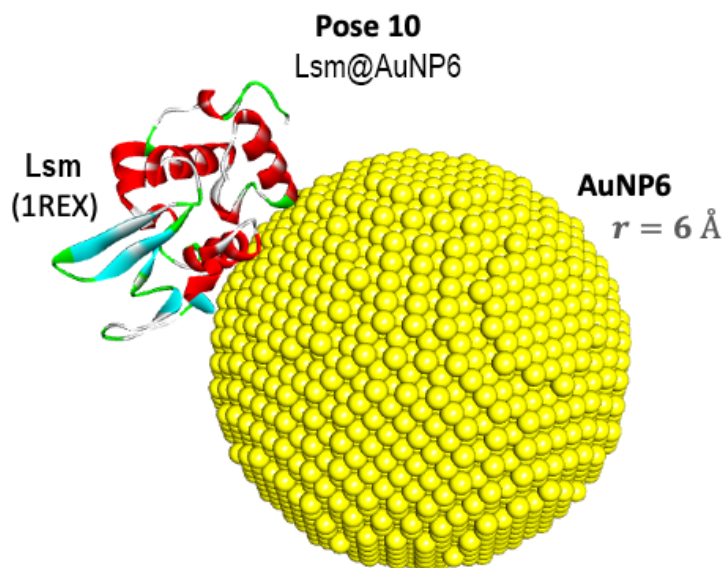


Fonte: Autoria Própria.

Como é possível perceber, analisando a TABELA 5.6, a melhor pose (Posição 1) não é aquela que apresenta a maior área de contato (Posição 10) entre nanopartícula e molécula. A posição 10 apresenta uma área de contato de $1547,7 \text{ \AA}^2$, ligeiramente superior a área de contato apresentada pela posição 1. A posição de docking 10 está representada na Figura 5.9.

A posição de maior contato superficial, posição 10, não mostra nenhuma grande mudança de orientação da molécula proteica, somente uma leve rotação na molécula, em comparação com a de melhor posição, mas indicando estruturas um pouco diferentes na interação com a partícula de ouro de 6 nanômetros. A Figura 5.9 indica uma interação direta com 4 estruturas em hélice, 1 estrutura em folha, e 4 estruturas em alça, formada pelos aminoácidos listados no Tabela 5.8.

Figura 5.9: Posição de docking de maior contato superficial (Posição 10) AuNP6@Lsm.



Fonte: Autoria Própria.

Tabela 5.8: Lista de aminoácidos envolvidos na interação de maior área da AuNP6@Lsm.

Lsm@AuNP6 - AAs interação - docking molecular (pose 10)

THR11 LEU12 LYS13 ARG14 LEU15 GLY16 MET17 ASP18
 GLY19 TYR20 ARG21 ALA76 CYS77 HIS78 LEU79 SER80
 CYS81 SER82 ALA83 LEU84 LEU85 GLN86 ASP87 ASN88
 ILE89 ALA90 ASP91 ALA92 VAL93 ALA94 CYS95 ALA96
 LYS97 ARG98 VAL99 VAL100 ARG101 VAL130

Fonte: Autoria Própria.

Tabela 5.9: Soluções de docking AuNP8@Lsm.

#	Pontuação	Área	Matriz de transformação					
1	7726	1584.70	-0.18	0.60	1.27	66.26	6.63	-47.64
2	7724	1506.30	1.77	-0.98	-2.06	80.91	-4.87	-14.70
3	7534	1453.90	-2.59	-0.19	-2.30	-1.10	-13.69	80.96
4	7514	1522.20	-1.45	-0.80	-2.45	-63.82	39.82	34.17
5	7464	1529.70	-2.22	-1.03	1.71	10.75	67.03	46.09
6	7410	1515.80	0.92	-1.25	-2.89	81.14	-1.47	-16.63
7	7404	1346.40	-1.74	-1.01	1.99	32.78	65.30	40.10
8	7394	1439.70	-2.65	-0.21	-2.10	7.19	-14.28	81.14
9	7376	1359.10	1.83	-0.83	-1.84	80.90	11.34	-15.24
10	7294	1374.90	-2.73	-1.04	2.76	-68.04	6.74	46.88
11	7254	1224.60	2.56	0.39	1.10	-79.05	17.57	21.43
12	7204	1455.50	-1.36	0.87	-2.98	19.72	79.20	15.34
13	7184	1508.50	1.95	-0.38	1.15	-78.11	20.30	-16.91
14	7126	1540.60	1.52	-1.41	2.66	16.95	-79.96	-4.24
15	7122	1192.80	1.05	1.08	-0.41	71.08	7.43	-43.77

Posição do ranking
Fonte: Autoria Própria.

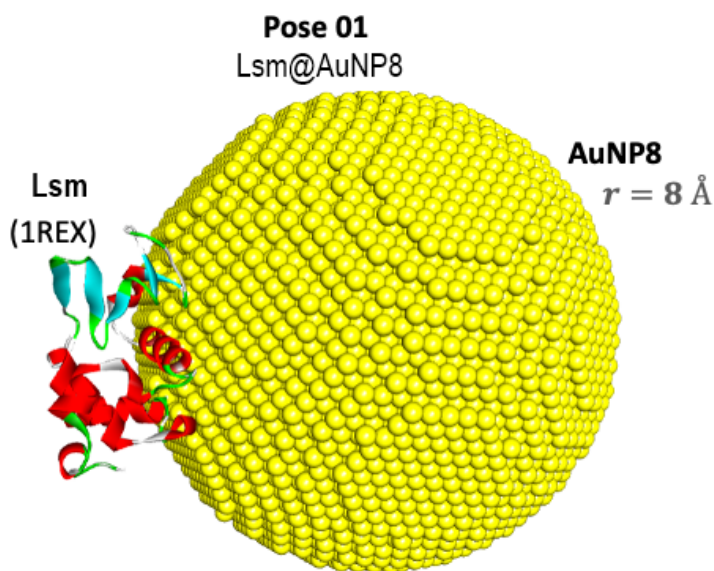
5.3.4 Docking Molecular AuNP8@Lsm

As 15 melhores soluções para o docking entre os modelos de AuNP8 e Lsm estão listados na TABELA 5.9 a seguir, com sua respectiva classificação listados em ordem decrescente, com os valores de sua pontuação, a área de contato do docking e a matriz de transformação.

AuNP8@Lsm apresenta uma média pontuação da complementaridade de forma de 7382, com uma área média de contato das soluções de $1436,4 \text{ \AA}^2$. A melhor pose, mostrada na Figura 5.10, apresenta um valor de pontuação da complementaridade de forma de 7726, e uma área de contato de docking $1584,7 \text{ \AA}^2$, vale ressaltar que também é a maior

área de contato.

Figura 5.10: Melhor posição de docking (Posição 1), também é a posição de maior área de contato superficial AuNP8@Lsm.



Fonte: Autoria Própria.

A nanopartícula de ouro de 8 nanômetros, segundo a avaliação feita pelo PATCH-DOCK, na melhor posição de docking, interage diretamente com 4 estruturas em hélice, 4 estruturas de alças e 1 estruturas em folha na molécula de Lisozima. Essas estruturas são formadas pelos seguintes aminoácidos, listados na Tabela 5.10.

5.3.5 Docking Molecular AuNP16@Lsm

As 15 melhores soluções para o docking entre os modelos de AuNP16 e Lsm estão listados na TABELA 5.11 a seguir, com sua respectiva classificação listados em ordem decrescente, com os valores de sua pontuação, a área de contato do docking e a matriz de transformação.

AuNP16@Lsm apresenta uma média pontuação da complementaridade de forma de

Tabela 5.10: Lista de aminoácidos envolvidos na interação de posição 1 da AuNP8@Lsm.

Lsm@AuNP8 - AAs interação - docking molecular (pose 1)

ARG10 THR11 LEU12 LYS13 ARG14 LEU15 GLY16 MET17
 ASP18 GLY19 TYR20 ARG21 GLY22 ILE23 SER24 ASN75
 ALA76 CYS77 HIS78 LEU79 SER80 CYS81 SER82 ALA83
 LEU84 LEU85 GLN86 ASP87 ASN88 ILE89 ALA90 ASP91
 ALA92 VAL93 ALA94 CYS95 ALA96 LYS97 ARG98 VAL99
 VAL100 ARG101 ASP102 VAL130

Fonte: Autoria Própria.

Tabela 5.11: Soluções de docking AuNP16@Lsm.

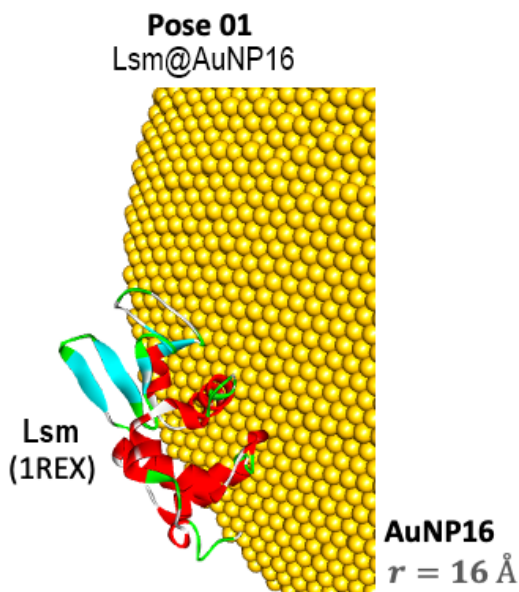
#	Pontuação	Área	Matriz de transformação					
1	9436	1529.40	-2.65	-0.35	0.18	36.89	31.51	111.89
2	9256	1568.00	-2.90	-0.92	2.93	-94.94	-34.25	69.09
3	9224	1602.50	-1.19	0.02	-2.12	-97.43	65.21	35.23
4	8996	1552.20	-1.19	0.08	2.64	64.73	98.63	34.84
5	8908	1569.40	-2.78	0.54	1.53	-37.65	-64.40	97.77
6	8884	1501.30	-3.12	-0.81	1.97	-97.68	36.25	61.98
7	8836	1465.40	2.00	-0.16	1.22	-112.41	36.43	-30.92
8	8776	1586.80	0.36	-0.48	-1.69	-33.44	62.78	-99.72
9	8764	1409.70	-2.47	-0.28	-2.70	-30.05	-14.81	117.86
10	8756	1555.20	1.92	0.14	2.17	-95.77	-67.05	-38.35
11	8734	1557.60	-2.91	0.01	2.46	-27.24	-46.05	110.43
12	8724	1594.80	0.32	-0.51	-0.14	-64.78	-35.31	-97.63
13	8722	1796.10	-2.99	-0.90	-1.87	35.00	-94.44	68.92
14	8674	1604.30	-1.15	-0.00	-0.53	-66.75	-98.03	32.28
15	8668	1476.80	-2.86	0.30	-2.84	56.14	-32.22	105.29

Posição do ranking

Fonte: Autoria Própria.

8890, com uma área média de contato das soluções de $1558,0 \text{ \AA}^2$. A melhor pose, mostrada na Figura 5.11, apresenta um valor de pontuação da complementaridade de forma de 9436, e uma área de contato de docking $1529,4 \text{ \AA}^2$.

Figura 5.11: Melhor posição de docking (Posição 1) AuNP16@Lsm.

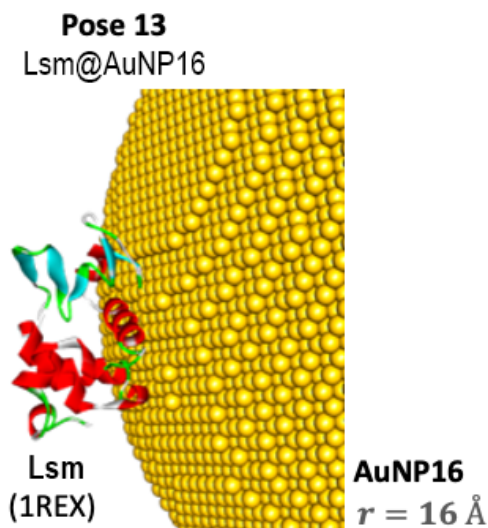


Fonte: Autoria Própria.

A nanopartícula de ouro de 16 nanômetros, segundo a avaliação feita pelo PATCHDOCK, na melhor posição de docking, interage diretamente com 4 estruturas em hélice, 4 estruturas de alças e 1 estruturas em folha na molécula de Lisozima. Essas estruturas são formadas pelos seguintes aminoácidos, listados na Tabela 5.10, estruturas idênticas as encaixadas às nanopartículas de 8 nanômetros.

Como é possível perceber, analisando a TABELA 5.11, a melhor pose (Posição 1) não é aquela que apresenta a maior área de contato (Posição 13) entre nanopartícula e molécula. A posição 13 apresenta uma área de contato de $1796,1 \text{ \AA}^2$, razoavelmente superior a área de contato apresentada pela posição 1. A posição de docking 13 está representada na Figura 5.12.

Figura 5.12: Posição de docking de maior contato superficial (Posição 13) AuNP16@Lsm..



Fonte: Autoria Própria.

A posição de maior contato superficial, posição 13, não mostra nenhuma grande mudança de orientação da molécula proteica, somente uma leve rotação na molécula, em comparação com a de melhor posição, indicando estruturas semelhantes na interação. A Figura indica uma interação direta com 4 estruturas em hélice, 1 estrutura em folha, e 4 estruturas em alça, formada pelos mesmos aminoácidos listados também no 5.10, mesmos aminoácidos envolvidos no docking da nanopartícula AuNP8.

5.3.6 Docking Molecular AuNP3@Hsa

As 15 melhores soluções para o docking entre os modelos de AuNP3 e Hsa estão listados na TABELA 5.12 a seguir, com sua respectiva classificação listados em ordem decrescente, com os valores de sua pontuação, a área de contato do docking e a matriz de transformação.

AuNP3@Hsa apresenta uma média pontuação da complementaridade de forma de

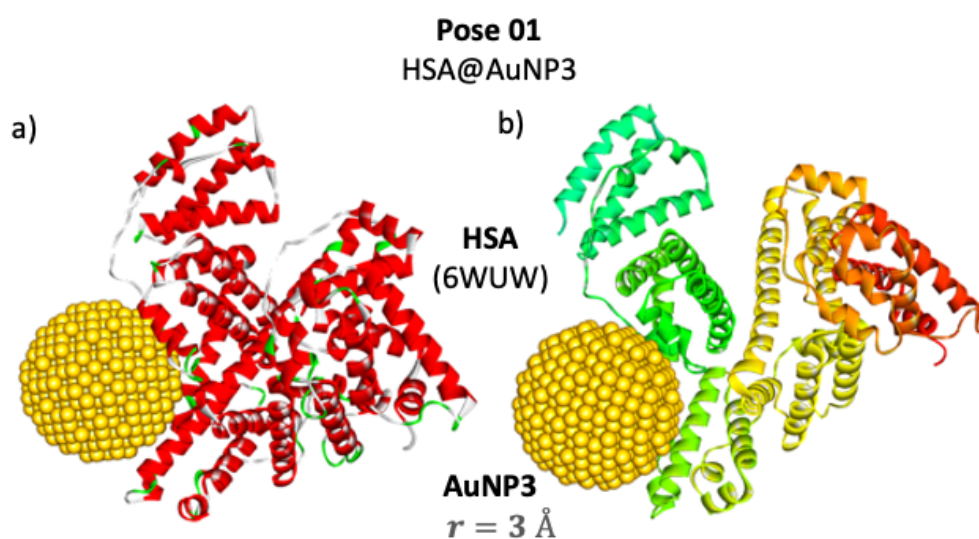
Tabela 5.12: Soluções de docking AuNP3@Hsa.

#	Pontuação	Área	Matriz de transformação					
1	11204	2152.20	1.93	-0.73	-1.69	66.56	24.96	-21.50
2	10852	1615.80	0.55	-0.57	-2.55	22.69	45.74	-53.94
3	10560	1969.10	-2.00	-0.14	-1.52	-17.45	-1.47	71.61
4	10364	1874.50	-1.36	0.95	-2.23	-17.88	68.51	19.71
5	10316	1495.20	-0.68	0.20	-0.44	-74.81	-42.22	-5.68
6	10282	1643.70	-1.93	0.69	-1.62	-19.20	52.00	48.78
7	10006	1977.10	-0.14	0.22	-1.44	-61.87	-7.31	-37.84
8	9996	2213.50	0.21	0.36	1.48	47.59	5.97	-55.69
9	9972	2164.20	1.34	0.06	1.60	-31.54	-6.59	-67.04
10	9928	1785.60	2.67	-0.10	-0.20	6.70	71.80	15.31
11	9876	1990.50	-2.38	1.29	1.99	19.59	-69.70	10.78
12	9814	1743.80	1.32	-0.13	1.78	-25.32	-23.07	-66.13
13	9776	1894.90	-1.42	-0.53	0.50	40.92	-39.01	46.96
14	9706	1787.70	-2.61	1.41	0.57	-71.78	-14.78	2.15
15	9618	1552.10	-0.20	-0.03	-1.20	-65.07	-15.76	-33.00

Posição do ranking
 Fonte: Autoria Própria.

10151, com uma área média de contato das soluções de $1857,3 \text{ \AA}^2$. A melhor pose, mostrada na Figura 5.13, apresenta um valor de pontuação da complementaridade de forma de 11204, e uma área de contato de docking $2152,2 \text{ \AA}^2$.

Figura 5.13: Melhor posição de docking (Posição 1) AuNP3@Hsa. A) Representação de Estruturas Secundárias. B) Representação de Cadeias de Aminoácidos.



Fonte: Autoria Própria.

A nanopartícula de ouro de 3 nanômetros, segundo a avaliação feita pelo PATCH-DOCK, na melhor posição de docking, interage diretamente com 7 estruturas em hélice, 4 delas de longo comprimento, e 7 estruturas de alças na molécula de Albumina Sérica Humana. Essas estruturas são formadas pelos seguintes aminoácidos, listados na Tabela 5.13.

Os aminoácidos listados pertencem as cadeias de IIA, IIB, e IIIA, indicando que a nanopartícula de 3 nanômetros, busca interação nos dois sítios mais ativos da molécula Hsa, Figura 5.13, B.

Tabela 5.13: Lista de Aminoácidos presentes nas estruturas de contato AuNP3@Hsa.

Hsa@AuNP3 - AAs interação - docking molecular (pose 1)

GLU252 CYS253 ALA291 LYS323 VAL344 LEU345 LEU346
 LEU347 ARG348 LEU349 ALA350 LYS351 THR352 TYR353
 GLU354 THR355 THR356 LEU357 GLU358 LYS359 CYS360
 CYS361 ALA362 ALA363 ALA364 ASP365 PRO366 HIS367
 GLU368 CYS369 TYR370 ALA371 LYS372 VAL373 PHE374
 ASP375 GLU376 PHE377 LYS378 PRO379 LEU380 VAL381
 GLU382 GLU383 PRO384 GLN385 ASN386 LEU387 ILE388
 LYS389 GLN390 THR422 LEU423 VAL426 SER427 LEU430
 GLY434 PRO468 VAL469 SER470 ASP471 ARG472 VAL473
 THR474 LYS475 CYS476 CYS477 THR478 GLU479 SER480
 LEU481 VAL482 ASN483 ARG484 ARG485 PRO486 CYS487
 PHE488 SER489 ALA490 LEU491 GLU492 VAL493 ASP494
 GLU495 THR496 TYR497

Fonte: Autoria Própria.

5.3.7 Docking Molecular AuNP4@Hsa

As 15 melhores soluções para o docking entre os modelos de AuNP4 e Hsa estão listados na TABELA 5.14 a seguir, com sua respectiva classificação listados em ordem decrescente, com os valores de sua pontuação, a área de contato do docking e a matriz de transformação. AuNP4@Hsa apresenta uma média pontuação da complementaridade de forma de 10886,8, com uma área média de contato das soluções de $2102,0 \text{ \AA}^2$. A melhor pose, mostrada na Figura 5.14, apresenta um valor de pontuação da complementaridade de forma de 11362, e uma área de contato de docking $2120,9 \text{ \AA}^2$.

A nanopartícula de ouro de 4 nanômetros, segundo a avaliação feita pelo PATCH-DOCK, na melhor posição de docking, interage diretamente com 7 estruturas em hélice, 4 delas de longo comprimento, e 7 estruturas de alças na molécula de Albumina Sérica Humana. Essas estruturas são formadas pelos seguintes aminoácidos, listados no Tabela 5.16.

Os aminoácidos listados pertencem as cadeias de IB, IIA, IIB, e IIIA, indicando que

Tabela 5.14: Soluções de docking AuNP4@Hsa.

#	Pontuação	Área	Matriz de transformação					
1	11362	2120,9	1.93	-0.73	-1.69	66.56	24.96	-21.50
2	11338	2068,5	0.55	-0.57	-2.55	22.69	45.74	-53.94
3	11210	2228,7	-2.00	-0.14	-1.52	-17.45	-1.47	71.61
4	11104	2109,9	-1.36	0.95	-2.23	-17.88	68.51	19.71
5	10886	1999,8	-0.68	0.20	-0.44	-74.81	-42.22	-5.68
6	10866	2109,9	-1.93	0.69	-1.62	-19.20	52.00	48.78
7	10822	2193,5	-0.14	0.22	-1.44	-61.87	-7.31	-37.84
8	10816	2280,6	0.21	0.36	1.48	47.59	5.97	-55.69
9	10768	1903,9	1.34	0.06	1.60	-31.54	-6.59	-67.04
10	10762	2217,7	2.67	-0.10	-0.20	6.70	71.80	15.31
11	10736	2007,4	-2.38	1.29	1.99	19.59	-69.70	10.78
12	10680	1941,1	1.32	-0.13	1.78	-25.32	-23.07	-66.13
13	10664	2256	-1.42	-0.53	0.50	40.92	-39.01	46.96
14	10658	2001,6	-2.61	1.41	0.57	-71.78	-14.78	2.15
15	10630	2091,5	-0.20	-0.03	-1.20	-65.07	-15.76	-33.00

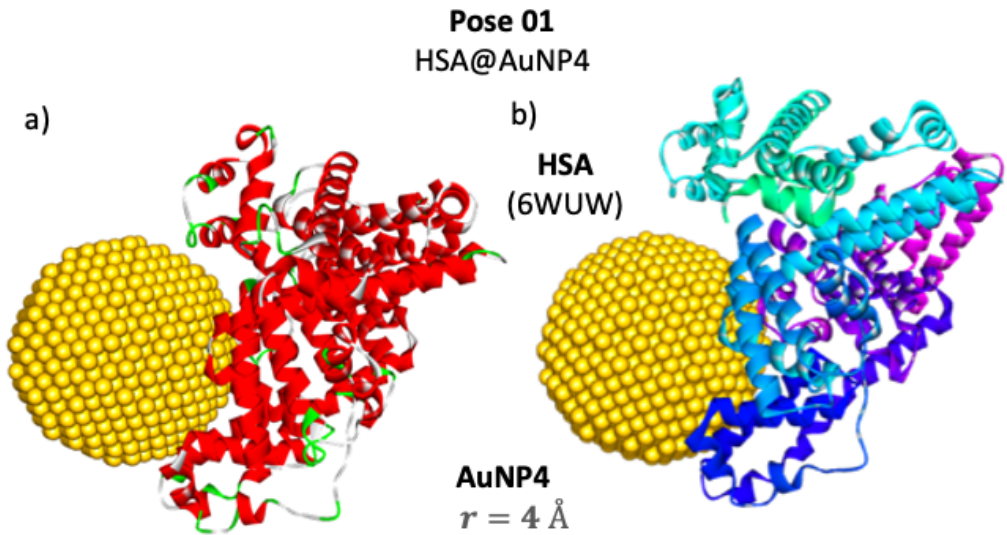
Posição do ranking
 Fonte: Autoria Própria.

Tabela 5.15: Soluções de docking AuNP6@Hsa.

#	Pontuação	Área	Matriz de transformação					
1	11206	2307.90	-2.00	0.87	-3.05	58.02	19.94	69.40
2	11192	2118.50	-3.13	1.00	0.38	-60.08	55.10	41.07
3	11080	2082.00	1.30	0.30	-0.57	49.16	2.68	-77.96
4	10874	1923.90	2.82	-0.06	1.52	-86.89	21.50	23.26
5	10828	2045.90	-1.45	0.27	-1.92	-54.80	23.40	69.43
6	10680	1883.00	1.66	-0.01	0.98	-38.72	44.60	-68.01
7	10620	1941.20	0.07	0.60	1.57	69.27	45.19	-38.27
8	10556	2516.00	1.62	-0.66	-2.12	64.74	-1.25	-66.28
9	10502	2243.80	1.02	0.42	-0.61	2.81	31.26	-19.08
10	10270	2064.60	0.90	-0.83	0.13	-23.08	14.17	-17.48
11	10082	2277.50	2.62	-0.03	2.75	16.59	-17.86	28.12
12	9984	1858.00	1.12	-0.77	1.87	-15.67	-22.65	-17.70
13	9926	2192.20	1.05	0.39	1.54	-27.82	-16.79	-17.97
14	9838	1747.30	1.45	-0.19	-2.78	13.76	-38.85	-82.08
15	9828	1851.40	0.09	-1.02	-0.85	-17.89	31.85	6.08

Posição do ranking
 Fonte: Autoria Própria.

Figura 5.14: Melhor posição de docking AuNP4@Hsa. A) Representação de estruturas secundárias. B) Representação de Cadeias de Aminoácidos.



Fonte: Autoria Própria.

Tabela 5.16: Lista de Aminoácidos presentes nas estruturas de interação de AuNP4@Hsa.

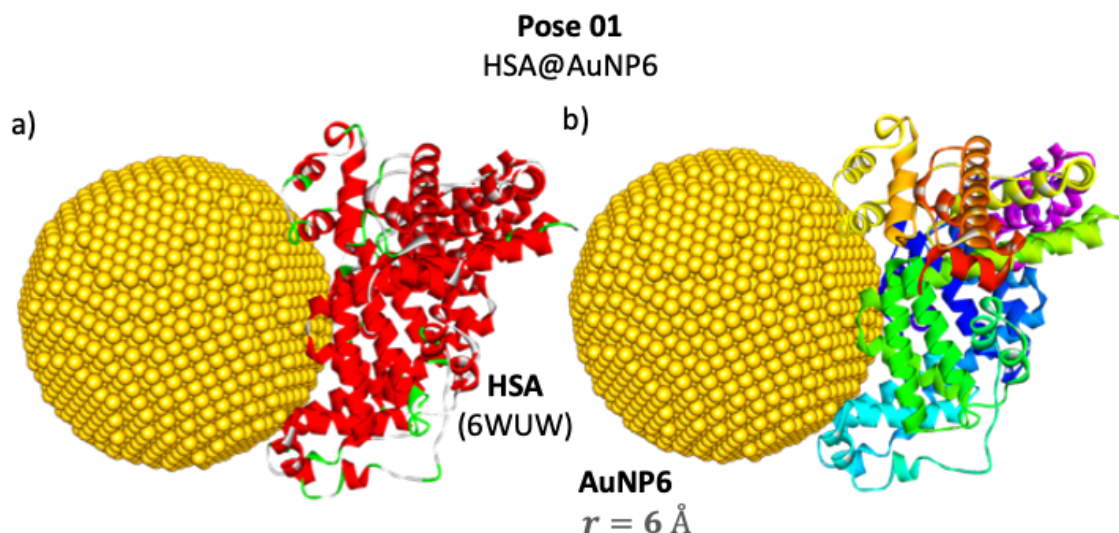
Hsa@AuNP4 - AAs interação - docking molecular (pose 1)

GLN104 HIS105 ASP121 THR125 ALA191 SER202 LEU203
GLN204 LYS205 PHE206 GLY207 GLU208 ARG209 ALA210
PHE211 LYS212 ALA213 THR243 GLU244 LEU260 TYR319
ALA320 GLU321 ALA322 LYS323 ASP324 VAL325 PHE326
LEU327 GLY328 LEU347 ARG348 LEU349 ALA350 LYS351
THR352 TYR353 GLU354 THR355 THR356 LEU357 GLU358
LYS359 CYS360 CYS361 ALA362 ALA363 ALA364 ASP365
VAL462 LEU463 HIS464 GLU465 LYS466 THR467 PRO468
VAL469 SER470 ASP471 ARG472 VAL473 THR474 LYS475
CYS476 CYS477 THR478 GLU479 SER480 LEU481 VAL482
ASN483 ARG484 ARG485 PRO486 CYS487 PHE488 SER489
ALA490 LEU491

Fonte: Autoria Própria.

a nanopartícula de 4 nanômetros, busca interação nos dois sítios mais ativos da molécula Hsa, FIGURA 5.14, B.

Figura 5.15: Melhor posição de docking AuNP6@Hsa. A) Representação de estruturas secundárias. B) Representação de Cadeias de Aminoácidos.



Fonte: Autoria Própria.

5.3.8 Docking Molecular AuNP6@Hsa

As 15 melhores soluções para o docking entre os modelos de AuNP6 e Hsa estão listados na TABELA 5.15 a seguir, com sua respectiva classificação listados em ordem decrescente, com os valores de sua pontuação, a área de contato do docking e a matriz de transformação.

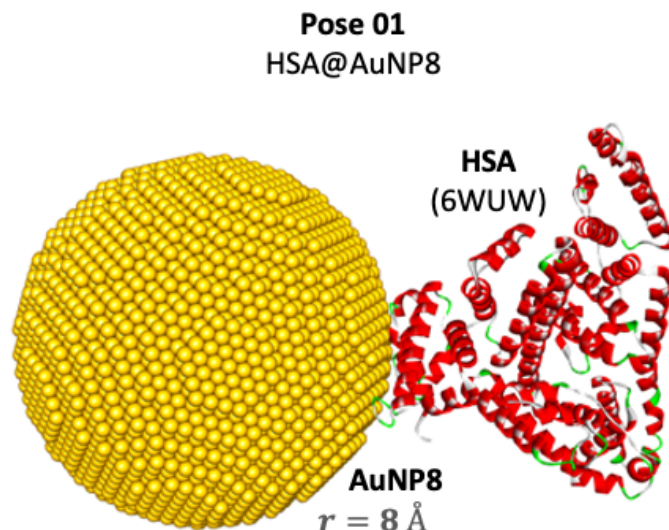
AuNP6@Hsa apresenta uma média pontuação da complementaridade de forma de 10497,7, com uma área média de contato das soluções de $2070,2 \text{ \AA}^2$. A melhor pose, mostrada na Figura 5.15, apresenta um valor de pontuação da complementaridade de forma de 11206, e uma área de contato de docking $2307 \text{ \AA}^2$.

Tabela 5.17: Soluções de docking AuNP8@Hsa.

#	Pontuação	Área	Matriz de transformação					
1	8046	1534.10	1.55	-0.69	-0.72	1.14	-37.17	84.30
2	7694	1289.90	0.07	-0.33	2.99	-3.35	-35.49	85.56
3	7582	1645.90	1.75	0.13	-0.80	-3.76	-35.02	84.78
4	7528	1351.50	1.43	-0.33	-1.07	-3.45	-35.52	85.83
5	7396	1425.10	0.81	0.10	-2.14	-3.96	-34.53	85.39
6	7364	1194.10	-0.89	0.66	2.44	-5.30	-34.16	85.77
7	7234	1611.60	-0.87	0.23	2.39	-1.83	-35.08	83.52
8	7170	1473.00	-1.33	0.36	0.43	-6.73	153.34	8.48
9	7134	1599.30	-0.08	0.74	2.46	-4.06	-34.27	85.44
10	6896	1295.60	-0.00	0.26	2.46	-5.53	-32.40	88.73
11	6838	1517.40	-0.03	-0.45	2.70	-6.33	-33.35	84.06
12	6800	1430.50	1.96	-0.80	-2.84	-10.91	150.84	5.20
13	6700	1606.50	2.25	-0.16	-2.33	-12.74	149.64	10.11
14	6624	1640.60	2.25	0.40	-2.62	-11.68	151.19	11.04
15	6608	1184.70	1.35	-0.95	-0.85	-1.43	-36.68	84.03

Posição do ranking
 Fonte: Autoria Própria.

Figura 5.16: Melhor posição de docking AuNP8@Hsa..



Fonte: Autoria Própria.

A nanopartícula de ouro de 6 nanômetros, segundo a avaliação feita pelo PATCH-DOCK, na melhor posição de docking, interage diretamente com 7 estruturas em hélice, 4 delas de longo comprimento, e 7 estruturas de alças na molécula de Albumina Sérica Humana. Essas estruturas são formadas pelos seguintes aminoácidos, listados na Tabela 5.18.

Os aminoácidos listados pertencem as cadeias de IIA, IIB, e IIIA, indicando que a nanopartícula de 6 nanômetros, busca interação nos dois sítios mais ativos da molécula Hsa, Figura 5.15, B.

5.3.9 Docking Molecular AuNP8@Hsa

As 15 melhores soluções para o docking entre os modelos de AuNP8 e Hsa estão listados na TABELA 5.17 a seguir, com sua respectiva classificação listados em ordem decrescente, com os valores de sua pontuação, a área de contato do docking e a matriz de

Tabela 5.18: Lista de aminoácidos envolvidos na interação AuNP6@Hsa.

Hsa@AuNP6 - AAs interação - docking molecular (pose 1)

ASP187 ALA201 SER202 LEU203 GLN204 LYS205 PHE206
 GLY207 GLU208 ARG209 ALA210 CYS246 ARG348 LEU349
 ALA350 LYS351 THR352 TYR353 GLU354 THR355 THR356
 LEU357 GLU358 LYS359 CYS360 CYS361 ALA362 ALA363
 ALA364 ASP365 PRO366 HIS367 GLU368 CYS369 TYR370
 ALA371 LYS372 VAL373 PHE374 ASP375 GLU376 PHE377
 LYS378 PRO379 LEU380 GLU383 PRO468 VAL469 SER470
 ASP471 ARG472 VAL473 THR474 LYS475 CYS476 CYS477
 THR478 GLU479 SER480 LEU481 VAL482 ASN483 ARG484
 ARG485 PRO486 CYS487 PHE488 SER489 ALA490LEU491

Fonte: Autoria Própria.

transformação.

AuNP8@Hsa apresenta uma média pontuação da complementaridade de forma de 7174,3, com uma área média de contato das soluções de $1453,3 \text{ \AA}^2$. A melhor pose, mostrada na Figura 5.16, apresenta um valor de pontuação da complementaridade de forma de 8046, e uma área de contato de docking $1534,1 \text{ \AA}^2$.

A nanopartícula de ouro de 8 nanômetros, segundo a avaliação feita pelo PATCH-DOCK, na melhor posição de docking, interage diretamente com 6 estruturas em hélice, 4 delas de longo comprimento, e 6 estruturas de alças na molécula de Albumina Sérica Humana. Essas estruturas são formadas pelos seguintes aminoácidos, listados na Tabela 5.19.

Os aminoácidos listados na Tabela 5.19 pertencem as cadeias de IA indicando que a nanopartícula de 8 nanômetros, diferente de AuNP3, AuNP4 e AuNP6 não busca interação nos dois sítios mais ativos da proteína Hsa, buscando interações com cadeias mais externas da molécula, Figura 5.16.

Tabela 5.19: Lista de aminoácidos envolvidos na interação AuNP8@Hsa.

Hsa@AuNP8 - AAs interação - docking molecular (pose 1)

PHE27 LEU31 GLN32 GLN33 CYS34 PRO35 PHE36 GLU37
 ASP38 HIS39 VAL40 LYS41 LEU42 VAL43 ASN44 GLU45
 VAL46 THR47 GLU48 PHE49 ALA50 LYS51 THR52 CYS53
 VAL54 ALA55 ASP56 GLU57 SER58 ALA59 GLU60 ASN61
 CYS62 ASP63 LYS64 SER65 LEU66 HIS67 THR68 LEU69
 PHE70 GLY71 ASP72 LYS73 LEU74 CYS75 THR76 VAL77
 ALA78 THR79 LEU80 ARG81 GLU82 THR83 TYR84 GLY85
 GLU86 MET87 ALA88 ASP89 CYS90 CYS91 ALA92 LYS93
 GLN94 GLU95 PRO96 GLU97 ARG98 ASN99 GLU100
 CYS101 PHE102 HIS105

Fonte: Autoria Própria.

5.3.10 Docking Molecular AuNP16@Hsa

As 15 melhores soluções para o docking entre os modelos de AuNP16 e Hsa estão listados na TABELA 5.20 a seguir, com sua respectiva classificação listados em ordem decrescente, com os valores de sua pontuação, a área de contato do docking e a matriz de transformação.

AuNP16@Hsa apresenta uma média pontuação da complementaridade de forma de 5892,4, com uma área média de contato das soluções de $1698,3 \text{ \AA}^2$. A melhor pose, mostrada na Figura 5.17, apresenta um valor de pontuação da complementaridade de forma de 8054, e uma área de contato de docking $2767,8 \text{ \AA}^2$.

A nanopartícula de ouro de 16 nanômetros, segundo a avaliação feita pelo PATCH-DOCK, na melhor posição de docking, interage diretamente com 3 estruturas em hélice de longo comprimento, e 4 estruturas de alças na molécula de Albumina Sérica Humana. Essas estruturas são formadas pelos seguintes aminoácidos, listados na Tabela 5.21.

Os aminoácidos listados na Tabela 5.21 pertencem a cadeia de IIIB indicando que a nanopartícula de 16 nanômetros, diferente de AuNP3, AuNP4 e AuNP6 não busca interação nos dois sítios mais ativos da molécula de Hsa, buscando interação com cadeias mais

Tabela 5.20: Soluções de docking AuNP16@Hsa..

#	Pontuação	Área	Matriz de transformação					
1	8054	2767.80	2.93	-0.88	-1.89	208.21	57.64	17.95
2	7176	1992.50	2.39	-0.29	3.09	161.16	-52.81	-44.72
3	6932	1802.70	-0.34	-0.24	2.02	53.85	94.20	42.01
4	6872	1781.40	0.21	0.27	-2.77	94.47	160.88	-37.57
5	6734	1884.20	-1.63	0.87	-0.89	-98.93	187.82	59.44
6	5918	1616.10	-2.65	-0.36	1.58	-82.66	8.63	112.22
7	5710	1452.80	-1.32	-0.39	-1.05	-45.06	83.74	161.96
8	5682	1551.70	-0.37	0.35	1.70	134.78	-10.31	45.76
9	5650	1630.20	-2.88	-0.46	1.45	-96.03	19.71	96.11
10	5258	1422.20	-0.47	0.34	-0.68	-171.46	45.93	18.15
11	5212	1519.70	3.10	-0.45	1.29	-109.99	24.67	59.87
12	5184	1725.70	0.36	0.37	1.35	87.04	-14.61	-101.17
13	5156	1447.20	-1.30	-0.39	-1.03	-53.88	80.68	161.31
14	4504	1492.70	3.02	-0.38	-2.21	170.48	65.31	15.92
15	4344	1387.50	3.09	-0.39	1.33	-131.20	20.95	-18.68

Posição do ranking
Fonte: Autoria Própria.

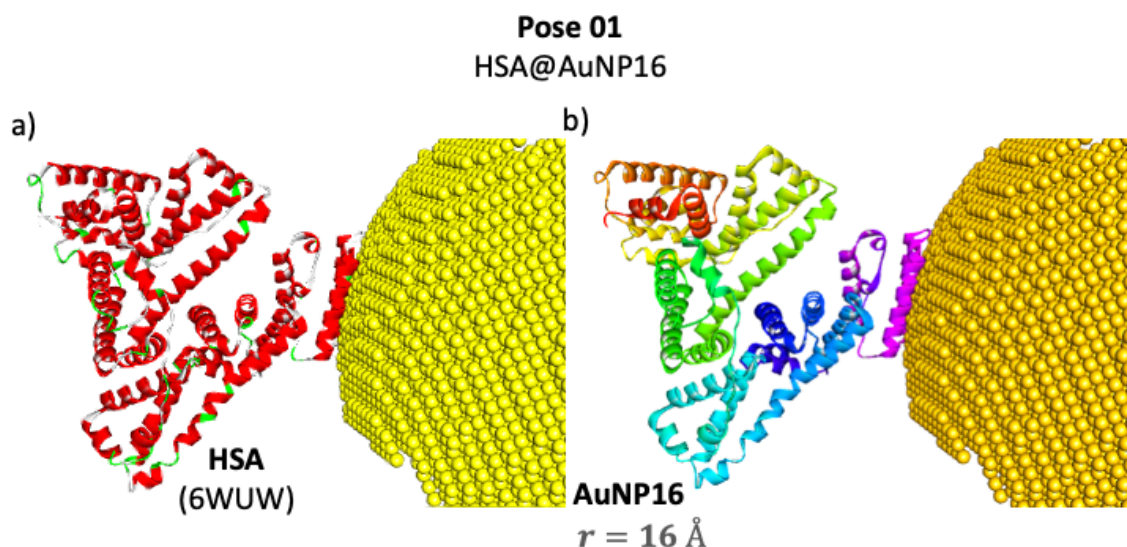
Tabela 5.21: Lista de aminoácidos envolvidos na interação AuNP16@Hsa.

Hsa@AuNP16 - AAs interação - docking molecular (pose 1)

ALA539 THR540 LYS541 GLU542 GLN543 LEU544 LYS545
ALA546 VAL547 MET548 ASP549 ASP550 PHE551 ALA552
ALA553 PHE554 VAL555 GLU556 LYS557 CYS558 CYS559
LYS560 ALA561 ASP562 ASP563 LYS564 GLU565 THR566
CYS567 PHE568 ALA569 GLU570 GLU571 GLY572 LYS573
LYS574 LEU575 VAL576 ALA577 ALA578 SER579 GLN580
ALA581 ALA582 LEU583 GLY584

Fonte: Autoria Própria.

Figura 5.17: Melhor posição de docking AuNP16@Hsa. a) Representação de estruturas secundárias. b) Representação de Cadeias de Aminoácidos.



Fonte: Autoria Própria.

externas da molécula, Figura 5.17, B.

5.4 Comparação dos resultados de Docking

Na Figura 5.18, um gráfico de barras verticais, estão relacionados os valores da pontuação da melhor pose de docking entre cada nanopartícula de ouro, AuNP3, AuNP4, AuNP6, AuNP8 e AuNP16, com sua respectiva proteína, lisozima humana (Lsm, PDB 1REX) e albumina humana (Hsa, PDB 6WUW). Cada barra representa o valor da melhor posição de docking entre nanopartícula e proteína, em azul, estão os valores dos dockings entre Lsm e cada nanopartícula, e, em preto, estão os valores do docking entre Hsa e cada nanopartícula.

Percebe-se da Figura 5.18 um comportamento distinto entre os complexos nanopartícula@Lsm e nanopartícula@Hsa, enquanto o primeiro exibiu um aumento do seu score

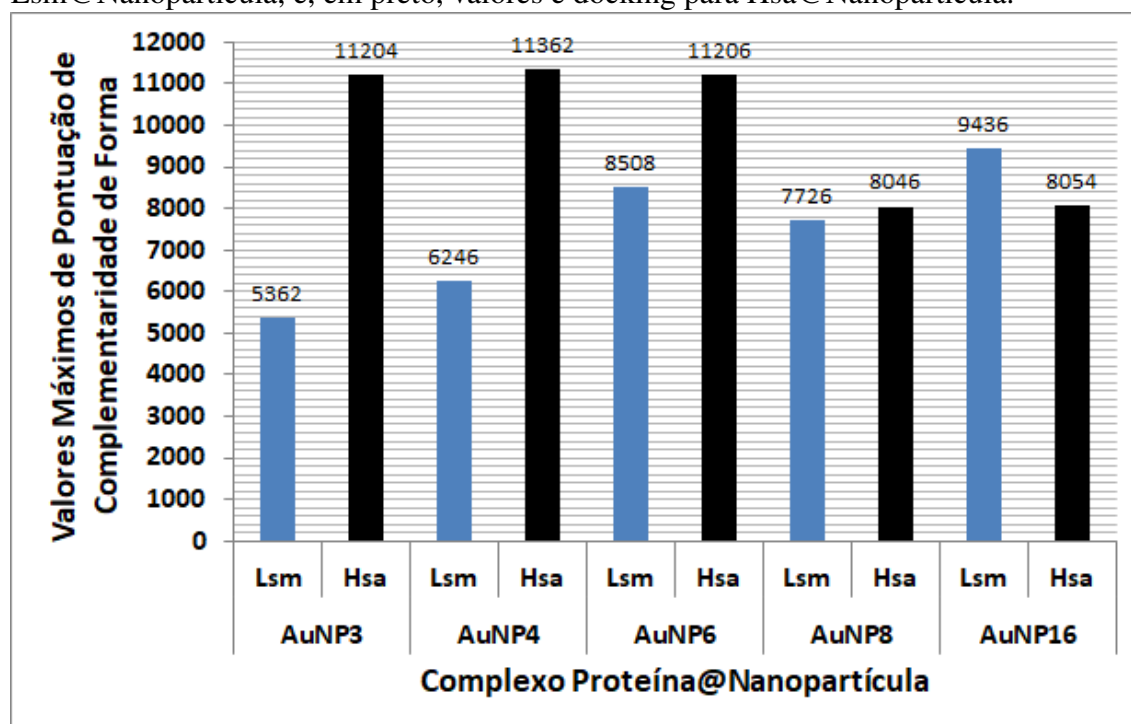
de pontuação da melhor pose com o aumento do diâmetro da nanopartícula, o segundo apresentou um comportamento constante do valor de pontuação da melhor pose entre os diâmetros 3 a 6 nm e uma redução do score a partir do valor de diâmetro de 6 a 8 nm que voltou a se estabilizar em 8 a 16 nm.

O comportamento de nanopartícula@Lsm pode ser explicado pelo fato de que com o aumento do diâmetro da nanopartícula, ocorrem dois efeitos, um aumento significativo de área superficial da nanopartícula, e uma redução da relação entre átomos de superfície e átomos do núcleo o que suaviza a forma da superfície da nanopartícula e reduz possíveis defeitos do empilhamento. Com isso, Proteínas de formas não tão complexas como a Lsm, conseguem uma melhor acomodação na superfície da nanopartícula, o que é indicado pelo aumento da pontuação e também pela maior área que ela consegue ocupar interagindo com uma área de contato cada vez maior, com maiores iterações e menos choques.

Apesar do mencionado no paragrafo anterior, o complexo nanopartícula@Hsa exibe um comportamento um tanto distinto com o aumento do diâmetro da nanopartícula. Este comportamento diferente, se deve as diferenças entre a proteína de Lsm, e a proteína de Hsa. A segunda é uma proteína bem mais complexa, de tamanho superior, cheia de cavidades e sítios ativos se comparada a primeira. Nanopartículas de 3 a 6 nm se encaixam muito bem nas cavidades da proteína preenchendo grandes áreas e possibilitando um grande número de interações entre os participantes do complexo, com o aumento do diâmetro, mais precisamente, quando a nanopartícula atinge o diâmetro de 8 nanômetros, ela deixa de caber nas cavidades mais centrais da proteína, exibindo um grande número de choques, fazendo com que ela busque uma melhor complementaridade de forma quando encaixada nas laterais da proteína, o que faz com que o valor da pontuação do docking seja reduzida juntamente com a área de docking.

Na Figura 5.19, um gráfico de barras verticais, estão relacionados os valores da pontuação média das melhores poses de docking entre cada nanopartícula de ouro, com sua respectiva proteína. Cada barra representa o valor da média das 15 melhores posições

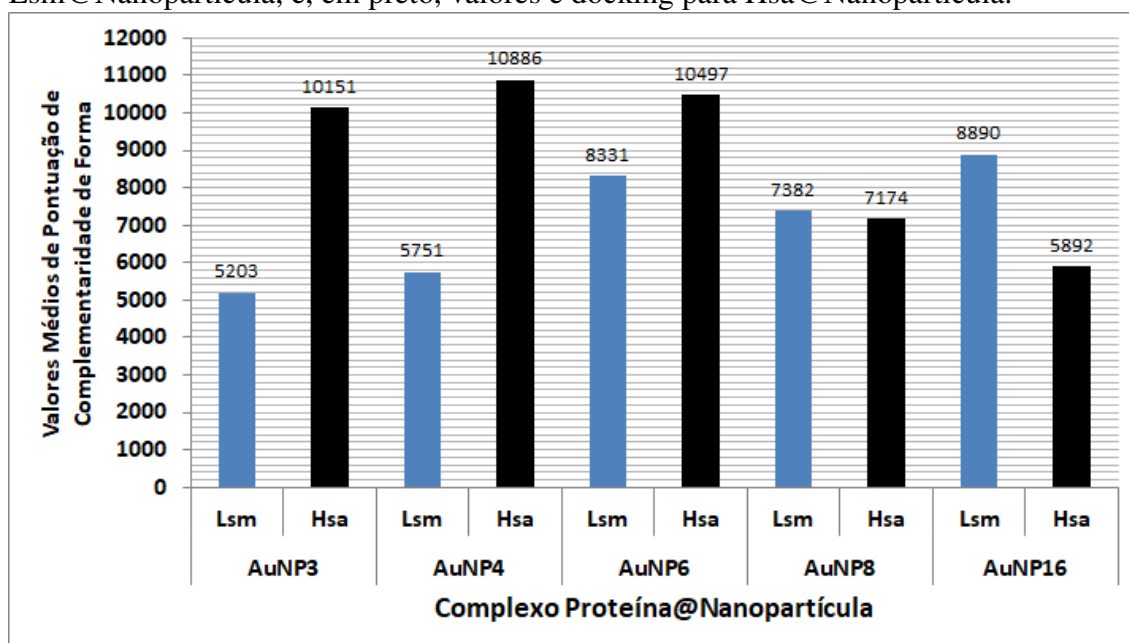
Figura 5.18: Valores de pontuação da melhor pose de docking para os complexos Lsm@Nanopartícula e Hsa@Nanopartícula. Em azul, valores de docking para Lsm@Nanopartícula, e, em preto, valores e docking para Hsa@Nanopartícula.



Fonte: Autoria Própria.

de docking entre nanopartícula e proteína, em azul, estão os valores dos dockings entre Lsm e cada nanopartícula, e, em preto, estão os valores do docking entre Hsa e cada nanopartícula.

Figura 5.19: Valores de pontuação da média das melhores poses de docking para os complexos Lsm@Nanopartícula e Hsa@Nanopartícula. Em azul, valores de docking para Lsm@Nanopartícula, e, em preto, valores e docking para Hsa@Nanopartícula.



Fonte: Autoria Própria.

É possível perceber uma tendência um tanto um quanto parecida com a apresentada pela Figura 5.18 só que com valores menores, por indicar uma tendência central das 15 melhores soluções para cada complexo nanopartícula@Proteína. nanopartícula@Lsm exibiu um aumento do seu score de pontuação da média das melhores poses com o aumento do diâmetro da nanopartícula, já nanopartícula@Hsa apresentou um comportamento constante do valor de pontuação da média das melhores poses entre os diâmetros 3 a 6 nm e uma redução do score a partir do valor de diâmetro de 6 a 8 nm que voltou a se estabilizar em 8 a 16 nm.

As Figuras 5.18 e 5.19, mostram que a proteína Hsa tem maior afinidade de ligação

com nanopartículas de 3 a 6 nanômetros, se comparada a proteína Lsm, com base na complementaridade de forma. Mas com nanopartículas de 8 nanômetros essa afinidade é similar, os resultados mostraram que a melhor pose de AuNP8@Hsa possui complementaridade um pouco maior do que a melhor pose de AuNP8@Lsm, mas os valores médios das melhores poses de ambos quase não se diferem o que indicam chances de interação quase semelhantes. Os resultados mostram que as nanopartículas de 16 nanômetros se ligam melhor com a proteína Lsm.

Os valores médios não apresentaram grande diferença dos valores máximos alcançados nas soluções de quase todos os complexos nanopartícula@Proteína. A exceção foi AuNP16@Hsa, que apresentou uma diferença de mais de dois mil pontos na pontuação de melhor pose em comparação com a média, o que indica uma grande dispersão nos resultados para esse complexo. Isso se deve em partes a dificuldade de lidar computacionalmente com o docking de uma nanopartícula grande com uma proteína relativamente grande também, mesmo usando a complementaridade de forma, que é uma técnica já criada para suavizar o esforço computacional, prevendo dockings com eficiência em comparação com outros métodos.

Capítulo 6

Conclusão

As ferramentas Web NanoCrystal e PatchDock se mostraram muito eficazes no auxílio ao estudo de formação da proteína corona em nanopartículas de ouro. O primeiro não mostrou dificuldades para criar os modelos de 5 nanopartículas manométricas usadas neste estudo, com tamanhos de diâmetros de 3, 4, 6, 8 e 16 nm podendo criar nanopartículas com até 50 nm de diâmetro. O segundo que foi utilizado para realizar o docking, dentre uma gama de aplicações semelhantes, foi o que conseguiu fazer a previsão de complexos para interação entre as proteínas, Lisozima Humana (Lsm) e Albumina Sérica Humana (Hsa), e as nanopartículas criadas com o Nanocrystal.

Apesar da velocidade da execução de seu código, apresentou dificuldade para o cálculo de docking entre a nanopartícula de 16 nm e a proteína Hsa, os modelos com maior número de átomos e que requerem maior esforço computacional para análise. Fato que já era esperado devido a robustez dos modelos, arquivos pesados de difícil processamento, que são difíceis de serem dockados mesmo por metodologias de minimização de energia.

Os resultados de docking mostraram que a depender da estrutura da molécula, ela pode ganhar maior afinidade de ligação com a nanopartícula, com o aumento do diâmetro, ou ter essa afinidade reduzida. Lsm apresentou um aumento ao passo que Hsa apresentou um comportamento estável, com redução considerável para diâmetros maiores. Lsm apresentou uma mesma conformação no docking realizado com nanopartículas de 4 a 16 nm, tendo essa conformação alterada para o docking com a nanopartícula de

3 nm, com a molécula ganhando grandes rotações e apresentando uma maior variedade de graus de liberdade nas 15 soluções apresentadas. Nas nanopartículas de 4, 6, 8 e 16 nm, a molécula de Lsm não apresentou grandes alterações, variações, entre as melhores soluções.

Já Hsa mostrou preferências de docking diferentes para todas as nanopartículas 3, 4, 6, 8 e 16, mas não apresentou grandes variações na conformação do complexo dentro de cada uma das 15 soluções para cada nanopartícula. As nanopartículas de 3, 4, e 6 buscaram interação dentro de cavidades presentes próximas ao centro da estrutura de Hsa, as nanopartículas 8 e 16 buscaram interação com cadeias mais externas da molécula, de forma que a forma dockada para 8 e 16 mostra uma orientação da molécula com disposição longitudinal, enquanto que para as três primeiras a molécula se acomoda lateralmente de forma a revestir as nanopartículas.

Hsa apresentou maior afinidade de interação com as nanopartículas 3, 4 e 6 do que a molécula de Lsm, que se mostrou mais compatível com a nanopartícula de 16 nm. Ambas apresentaram uma similaridade de afinidade com a nanopartícula de 8 nm.

Referências Bibliográficas

Adhikari, Saugat, Saloni Daftardar, Filip Fratev, Miguel Rivera, Suman Sirimulla, Kenneth Alexander & Sai H S Boddu (2018), 'Elucidation of the orientation of selected drugs with 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin using 2D-NMR spectroscopy and molecular modeling', *International Journal of Pharmaceutics* **545**(1-2), 357–365.

URL: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.05.016>

Aminabad, Negar Sedghi, Masoud Farshbaf & Abolfazl Akbarzadeh (2019), 'Recent Advances of Gold Nanoparticles in Biomedical Applications: State of the Art', *Cell Biochemistry and Biophysics* **77**(2), 123–137.

URL: <https://doi.org/10.1007/s12013-018-0863-4>

Bikadi, Zsolt & Eszter Hazai (2009), 'Application of the PM6 semi-empirical method to modeling proteins enhances docking accuracy of AutoDock', *Journal of Cheminformatics* **1**(1), 15.

URL: <https://doi.org/10.1186/1758-2946-1-15>

Blaszczyk, Maciej, Mateusz Kurcinski, Maksim Kouza, Lukasz Wieteska, Aleksander Debinski, Andrzej Kolinski & Sebastian Kmiecik (2016), 'Modeling of protein–peptide interactions using the CABS-dock web server for binding site search and flexible docking', *Methods* **93**, 72–83.

URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1046202315300207>

Caracciolo, Giulio, Omid C Farokhzad & Morteza Mahmoudi (2017), 'Biological Identity of Nanoparticles In Vivo: Clinical Implications of the Protein Corona.', *Trends in biotechnology* **35**(3), 257–264.

Chen, Yu Chian (2015), 'Beware of docking!', *Trends in Pharmacological Sciences* **36**(2), 78–95.

URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tips.2014.12.001>

Chithrani, B Devika, Arezou A Ghazani & Warren C W Chan (2006), 'Determining the Size and Shape Dependence of Gold Nanoparticle Uptake into Mammalian Cells'.

Ciemny, Maciej, Mateusz Kurcinski, Karol Kamel, Andrzej Kolinski, Nawasad Alam, Ora Schueler-Furman & Sebastian Kmiecik (2018), 'Protein–peptide docking: opportunities and challenges', *Drug Discovery Today* **23**(8), 1530–1537.

URL: <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2018.05.006>

Ciemny, Maciej Pawel, Aleksander Debinski, Marta Paczkowska, Andrzej Kolinski, Mateusz Kurcinski & Sebastian Kmiecik (2016), 'Protein-peptide molecular docking with large-scale conformational changes: the p53-MDM2 interaction', *Scientific Reports* **6**(1), 37532.

URL: <https://doi.org/10.1038/srep37532>

Da, Peimei, Wenjie Li, Xuan Lin, Yongcheng Wang, Jing Tang & Gengfeng Zheng (2014), 'Surface Plasmon Resonance Enhanced Real-Time Photoelectrochemical Protein Sensing by Gold Nanoparticle-Decorated TiO₂ Nanowires', *Analytical Chemistry* **86**(13), 6633–6639.

URL: <https://doi.org/10.1021/ac501406x>

Daniel, Marie-Christine & Didier Astruc (2004), 'Gold Nanoparticles: Assembly, Supramolecular Chemistry, Quantum-Size-Related Properties, and Applications toward Biology, Catalysis, and Nanotechnology', *Chemical Reviews* **104**(1), 293–346.

URL: <https://doi.org/10.1021/cr030698+>

de Magalhães, Camila Silva, Diogo Marinho Almeida, Helio José Correa Barbosa & Laurent Emmanuel Dardenne (2014), 'A dynamic niching genetic algorithm strategy

for docking highly flexible ligands’, *Information Sciences* **289**, 206–224.

URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0020025514007919>

Dubey, Sandhya P N, N Gopalakrishna Kini, S Balaji & M Sathish Kumar (2018), ‘A Review of Protein Structure Prediction Using Lattice Model.’, *Critical reviews in biomedical engineering* **46**(2), 147–162.

Duhovny, D, R Nussinov & H J Wolfson (2002), Efficient unbound docking of rigid molecules, *em* R.Guigo & D.Gusfield, eds., ‘ALGORITHMS IN BIOINFORMATICS, PROCEEDINGS’, Vol. 2452 de *LECTURE NOTES IN COMPUTER SCIENCE*, pp. 185–200.

Elahi, Narges, Mehdi Kamali & Mohammad Hadi Baghersad (2018), ‘Recent biomedical applications of gold nanoparticles: A review’, *Talanta* **184**, 537–556.

URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914018302054>

Fleischer, Candace C & Christine K Payne (2014), ‘Nanoparticle Cell Interactions: Molecular Structure of the Protein Corona and Cellular Outcomes’.

Fuller, Melanie A & Ingo Köper (2019), ‘Biomedical applications of polyelectrolyte coated spherical gold nanoparticles’, *Nano Convergence* **6**(1), 11.

URL: <https://doi.org/10.1186/s40580-019-0183-4>

Ge, Cuicui, Jian Tian, Yuliang Zhao, Chunying Chen, Ruhong Zhou & Zhifang Chai (2015), ‘Towards understanding of nanoparticle-protein corona.’, *Archives of toxicology* **89**(4), 519–539.

Gebauer, Julia S, Marcelina Malissek, Sonja Simon, Shirley K Knauer, Michael Maskos, Roland H Stauber, Wolfgang Peukert & Lennart Treuel (2012), ‘Impact of the nanoparticle-protein corona on colloidal stability and protein structure.’, *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids* **28**(25), 9673–9679.

Ghosh, Partha, Gang Han, Mrinmoy De, Chae Kyu Kim & Vincent M Rotello (2008), 'Gold nanoparticles in delivery applications', *Advanced Drug Delivery Reviews* **60**(11), 1307–1315.

URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X08000999>

Grosdidier, Aurélien, Vincent Zoete & Olivier Michielin (2011a), 'Fast docking using the CHARMM force field with EADock DSS.', *Journal of computational chemistry* **32**(10), 2149–2159.

Grosdidier, Aurélien, Vincent Zoete & Olivier Michielin (2011b), 'SwissDock, a protein-small molecule docking web service based on EADock DSS.', *Nucleic acids research* **39**(Web Server issue), W270–7.

Guedes, Isabella A, André M S Barreto, Diogo Marinho, Eduardo Krempser, Mélaïne A Kuenemann, Olivier Sperandio, Laurent E Dardenne & Maria A Miteva (2021), 'New machine learning and physics-based scoring functions for drug discovery', *Scientific Reports* **11**(1), 3198.

URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82410-1>

Guedes, Isabella A., Camila S. de Magalhães & Laurent E. Dardenne (2014), 'Receptor-ligand molecular docking', *Biophysical Reviews* **6**(1), 75–87.

Gupta, A, A Gandhimathi, P Sharma & B Jayaram (2007), 'ParDOCK: an all atom energy based Monte Carlo docking protocol for protein-ligand complexes.', *Protein and peptide letters* **14**(7), 632–646.

Hassan, Nafisa M, Amr A Alhossary, Yuguang Mu & Chee-Keong Kwoh (2017), 'Protein-Ligand Blind Docking Using QuickVina-W With Inter-Process Spatio-Temporal Integration', *Scientific Reports* **7**(1), 15451.

URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-15571-7>

Honorato, Rodrigo V, Panagiotis I Koukos, Brian Jiménez-García, Andrei Tsaregorodtsev, Marco Verlato, Andrea Giachetti, Antonio Rosato & Alexandre M J J Bonvin (2021), ‘Structural Biology in the Clouds: The WeNMR-EOSC Ecosystem’, *Frontiers in Molecular Biosciences* **8**.

URL: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmolb.2021.729513>

Huang, Xiaohua, Prashant K Jain, Ivan H El-Sayed & Mostafa A El-Sayed (2007), ‘Plasmonic photothermal therapy (PPTT) using gold nanoparticles’, *Lasers in Medical Science* **23**(3), 217.

URL: <https://doi.org/10.1007/s10103-007-0470-x>

Ilyas, Muhammad, Abdul Waris, Atta Ullah Khan, Doaa Zamel, Lubna Yar, Abdul Baset, Abdul Muhaymin, Sulaiman Khan, Asmat Ali & Abbas Ahmad (2021), ‘Biological synthesis of titanium dioxide nanoparticles from plants and microorganisms and their potential biomedical applications’, *Inorganic Chemistry Communications* **133**, 108968.

URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1387700321005232>

Ishak, Intan H, Basile Kamgang, Sulaiman S Ibrahim, Jacob M Riveron, Helen Irving & Charles S Wondji (2017), ‘Pyrethroid Resistance in Malaysian Populations of Dengue Vector *Aedes aegypti* Is Mediated by CYP9 Family of Cytochrome P450 Genes’, *PLOS NEGLECTED TROPICAL DISEASES* **11**(1).

Jahan Sajib, Md Symon, Pranab Sarker, Yong Wei, Xiuping Tao & Tao Wei (2020), ‘Protein Corona on Gold Nanoparticles Studied with Coarse-Grained Simulations.’, *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids* **36**(44), 13356–13363.

Kaminski, Michal, Karolina Jurkiewicz, Andrzej Burian & Aleksander Brodka (2020), ‘The structure of gold nanoparticles: Molecular dynamics modeling and its verification by X-ray diffraction’, *Journal of Applied Crystallography* **53**, 1–8.

- Kharazian, B., N. L. Hadipour & M. R. Ejtehad (2016), 'Understanding the nanoparticle-protein corona complexes using computational and experimental methods', *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* **75**, 162–174.
- Kiss, Robert, Mark Sandor & Ferenc Szalai (2012), 'Http://Mcule.com: A public web service for drug discovery', *Journal of Cheminformatics* **4**.
- Kuntz, I D, J M Blaney, S J Oatley, R Langridge & T E Ferrin (1982), 'A geometric approach to macromolecule-ligand interactions.', *Journal of molecular biology* **161**(2), 269–288.
- Kurcinski, Mateusz, Michal Jamroz, Maciej Blaszczyk, Andrzej Kolinski & Sebastian Kmiecik (2015), 'CABS-dock web server for the flexible docking of peptides to proteins without prior knowledge of the binding site', *Nucleic Acids Research* **43**(W1), W419–W424.
URL: <https://doi.org/10.1093/nar/gkv456>
- Lee, Hui Sun & Yang Zhang (2012), 'BSP-SLIM: a blind low-resolution ligand-protein docking approach using predicted protein structures.', *Proteins* **80**(1), 93–110.
- London, Nir, Barak Raveh, Eyal Cohen, Guy Fathi & Ora Schueler-Furman (2011), 'Rosetta FlexPepDock web server-high resolution modeling of peptide-protein interactions', *NUCLEIC ACIDS RESEARCH* **39**(2), W249–W253.
- Macindoe, Gary, Lazaros Mavridis, Vishwesh Venkatraman, Marie-Dominique Devignes & David W Ritchie (2010), 'HexServer: an FFT-based protein docking server powered by graphics processors', *NUCLEIC ACIDS RESEARCH* **38**(2), W445–W449.
- Marichal, Laurent, Gaël Giraudon-Colas, Fabrice Cousin, Antoine Thill, Jean Labarre, Yves Boulard, Jean-Christophe Aude, Serge Pin & Jean Philippe Renault (2019), 'Protein–Nanoparticle Interactions: What Are the Protein–Corona Thickness and

Organization?’, *Langmuir* **35**(33), 10831–10837.

URL: <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.9b01373>

Melo, Rafael, Isabel Souza, Alessandro Carvalho, Eveline Bezerra & Roner Costa (2019), ‘As nanopartículas como ferramentas biológicas: uma revisão exploratória’, *Journal of Chemical Information and Modeling* **53**(9), 1689–1699.

Meyers, Joseph D, Yu Cheng, Ann-marie Broome, Richard S Agnes, Mark D Schluchter, Seunghee Margevicius, Xinning Wang, Malcolm E Kenney, Clemens Burda & James P Babilion (2015), ‘Peptide-Targeted Gold Nanoparticles for Photodynamic Therapy of Brain Cancer’, pp. 448–457.

Morgan, Erin, Dominik Wupperfeld, Demosthenes Morales & Norbert Reich (2019), ‘Shape Matters: Gold Nanoparticle Shape Impacts the Biological Activity of siRNA Delivery’, *Bioconjugate Chemistry* **30**(3), 853–860.

URL: <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.9b00004>

Obaid, Girgis, Isabelle Chambrier, Michael J Cook & David A Russell (2012), ‘Angewandte Targeting the Oncofetal Thomsen – Friedenreich Disaccharide Using Jacalin-PEG Phthalocyanine Gold Nanoparticles for Photodynamic Cancer Therapy **’, pp. 6158–6162.

Perret, G., P. Ginet, M. C. Tarhan, A. Baccouche, T. Lacornerie, M. Kumemura, L. Jablart, F. Cleri, E. F. Lartigau, B. J. Kim, S. L. Karsten, H. Fujita, Y. Rondelez, T. Fujii & D. Collard (2016), ‘Nano systems and devices for applications in biology and nanotechnology’, *Solid-State Electronics* **115**, 66–73.

URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.sse.2015.08.019>

Piella, Jordi, Neus G Bastús & Víctor Puentes (2017), ‘Size-Dependent Protein–Nanoparticle Interactions in Citrate-Stabilized Gold Nanoparticles: The Emer-

gence of the Protein Corona', *Bioconjugate Chemistry* **28**(1), 88–97.

URL: <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.6b00575>

Pierce, Brian G, Kevin Wiehe, Howook Hwang, Bong-Hyun Kim, Thom Vreven & Zhiping Weng (2014), 'ZDOCK server: interactive docking prediction of protein-protein complexes and symmetric multimers', *Bioinformatics (Oxford, England)* **30**(12), 1771–1773.

URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24532726>
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4058926/>

Pierce, Brian G, Yuichiro Hourai & Zhiping Weng (2011), 'Accelerating Protein Docking in ZDOCK Using an Advanced 3D Convolution Library', *PLOS ONE* **6**(9), e24657.

URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024657>

Pinzi, Luca & Giulio Rastelli (2019), 'Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery', *International journal of molecular sciences* **20**(18), 4331.

URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31487867>
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6769923/>

Qin, Lei, Guangming Zeng, Cui Lai, Danlian Huang, Piao Xu, Chen Zhang, Min Cheng, Xigui Liu, Shiyu Liu, Bisheng Li & Huan Yi (2018), "“Gold rush” in modern science: Fabrication strategies and typical advanced applications of gold nanoparticles in sensing', *Coordination Chemistry Reviews* **359**, 1–31.

URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0010854517305118>

Raveh, Barak, Nir London & Ora Schueler-Furman (2010), 'Sub-angstrom modeling of complexes between flexible peptides and globular proteins', *PROTEINS-STRUCTURE FUNCTION AND BIOINFORMATICS* **78**(9), 2029–2040.

Ritchie, David W & Vishwesh Venkatraman (2010), 'Ultra-fast FFT protein docking on graphics processors', *BIOINFORMATICS* **26**(19), 2398–2405.

Rouchota, Maritina, George Loudos & George C Kagadis (2021), ‘An in-silico method to predict and quantify the effect of gold nanoparticles in X-ray imaging’, *Physica Medica* **89**, 160–168.

URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1120179721002775>

Santos, Karina B, Isabella A Guedes, Ana L M Karl & Laurent E Dardenne (2020), ‘Highly Flexible Ligand Docking: Benchmarking of the DockThor Program on the LEADS-PEP Protein–Peptide Data Set’, *Journal of Chemical Information and Modeling* **60**(2), 667–683.

URL: <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.9b00905>

Schneidman-Duhovny, D, Y Inbar, R Nussinov & H J Wolfson (2005), ‘PatchDock and SymmDock: servers for rigid and symmetric docking’, *NUCLEIC ACIDS RESEARCH* **33**(2), W363–W367.

Shah, Monic, Vivek D Badwaik & Rajalingam Dakshinamurthy (2014), ‘Biological applications of gold nanoparticles.’, *Journal of nanoscience and nanotechnology* **14**(1), 344–362.

Sheikhpour, Mozhgan, Ali Golbabaie & Alibakhsh Kasaeian (2017), ‘Carbon nanotubes: A review of novel strategies for cancer diagnosis and treatment’, *Materials Science and Engineering: C* **76**, 1289–1304.

Siddique, Sarkar & James C L Chow (2020), ‘Gold Nanoparticles for Drug Delivery and Cancer Therapy’, *Applied Sciences* **10**, NA.

URL: <https://link.gale.com/apps/doc/A638408665/AONE?u=capessid=bookmark-AONE&id=7b6ac49f>

Singh, Anjali & Nandan Kumar Jana (2017), ‘Discovery of potential Zika virus RNA polymerase inhibitors by docking-based virtual screening’, *Computational Biology*

and Chemistry **71**, 144–151.

URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1476927117303456>

Sinicropi, Maria Stefania, Domenico Iacopetta, Camillo Rosano, Rosario Randino, Anna Caruso, Carmela Saturnino, Noemi Muià, Jessica Ceramella, Francesco Pucio, Manuela Rodriguez, Pasquale Longo & Maria Rosaria Plutino (2018), ‘N-thioalkylcarbazoles derivatives as new anti-proliferative agents: synthesis, characterisation and molecular mechanism evaluation’, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* **33**(1), 434–444.

URL: <https://doi.org/10.1080/14756366.2017.1419216>

Skirtach, Andre G, Almudena Muñoz Javier, Oliver Kreft, Karen Köhler, Alicia Piera Alberola, Helmuth Möhwald, Wolfgang J Parak & Gleb B Sukhorukov (2006), ‘Laser-induced release of encapsulated materials inside living cells.’, *Angewandte Chemie (International ed. in English)* **45**(28), 4612–4617.

Sliwoski, Gregory, Sandeepkumar Kothiwale, Jens Meiler & Edward W Jr Lowe (2014), ‘Computational methods in drug discovery.’, *Pharmacological reviews* **66**(1), 334–395.

Tao, Xiaoqi, Xiaoxi Chang, Xulin Wan, Yina Guo, Yaqing Zhang, Ziyi Liao, Yang Song & Erqun Song (2020), ‘Impact of Protein Corona on Noncovalent Molecule–Gold Nanoparticle-Based Sensing’, *Analytical Chemistry* **92**(22), 14990–14998.

URL: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c02850>

Trouiller, Anne Juliette, Seydou Hebié, Fatima el Bahhaj, Teko W Napporn & Philippe Bertrand (2015), ‘Chemistry for oncotheranostic gold nanoparticles’, *European Journal of Medicinal Chemistry* **99**, 92–112.

URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523415300519>

van Zundert, G C P, J.P.G.L.M. Rodrigues, M Trellet, C Schmitz, P L Kastiris, E Karcara, A S J Melquiond, M van Dijk, S J de Vries & A.M.J.J. Bonvin (2016), ‘The HADDOCK2.2 Web Server: User-Friendly Integrative Modeling of Biomolecular Complexes’, *Journal of Molecular Biology* **428**(4), 720–725.

URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022283615005379>

Wang, Pengyang, Xin Wang, Liming Wang & Xiaoyang Hou (2015), ‘Interaction of gold nanoparticles with proteins and cells’, *National Institute for Materials Science Science and Technology of Advanced Materials* **16**(3), 16.

Xu, Zhen, Shi-Ling Yuan, Hui Yan & Cheng-Bu Liu (2011), ‘Adsorption of histidine and histidine-containing peptides on Au(111): A molecular dynamics study’, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **380**(1), 135–142.

URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927775711001506>

Yan, Yumeng, Di Zhang, Pei Zhou, Botong Li & Sheng-You Huang (2017), ‘HDOCK: a web server for protein-protein and protein-DNA/RNA docking based on a hybrid strategy’, *NUCLEIC ACIDS RESEARCH* **45**(W1), W365–W373.

Yan, Yumeng, Huanyu Tao, Jiahua He & Sheng-You Huang (2020), ‘The HDOCK server for integrated protein-protein docking’, *NATURE PROTOCOLS* **15**(5), 1829–1852.

Yang, Sheng-Tao, Ying Liu, Yan-Wen Wang & Aoneng Cao (2013), ‘Biosafety and bio-application of nanomaterials by designing protein-nanoparticle interactions.’, *Small (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)* **9**(9-10), 1635–1653.

Zhang, Xiaoying (2015), ‘Gold Nanoparticles: Recent Advances in the Biomedical Applications.’, *Cell biochemistry and biophysics* **72**(3), 771–775.

Zoete, Vincent, Aurélien Grosdidier & Olivier Michielin (2009), ‘Docking, virtual high throughput screening and in silico fragment-based drug design’, *Journal of Cellular and Molecular Medicine* **13**(2), 238–248.