

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE QUÍMICA

William Oliveira Soté

**AVALIAÇÃO DE REPRESENTAÇÕES OLIGOMÉRICAS PARA A MODELAGEM
IN SILICO DE POLÍMEROS MOLECULARMENTE IMPRESSOS UTILIZANDO
MOLDE DE ORIGEM BIOLÓGICA**

Uberlândia

2022

William Oliveira Soté

**AVALIAÇÃO DE REPRESENTAÇÕES OLIGOMÉRICAS PARA A MODELAGEM
IN SILICO DE POLÍMEROS MOLECULARMENTE IMPRESSOS UTILIZANDO
MOLDE DE ORIGEM BIOLÓGICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para o exame de Defesa.

Área de concentração: Físico-química

Orientador: Prof. Dr. Moacyr Comar Junior

Uberlândia

2022

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

S717 Soté, William Oliveira, 1995-
2022 Avaliação de representações oligoméricas para a modelagem in silico de polímeros molecularmente impressos utilizando molde de origem biológica [recurso eletrônico] / William Oliveira Soté. - 2022.

Orientador: Moacyr Comar Junior.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Química.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2022.130>
Inclui bibliografia.
Inclui ilustrações.

1. Química. I. Comar Junior, Moacyr ,1974-, (Orient.).
II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Química. III. Título.

CDU: 54

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química
Av. João Naves de Ávila, 2121, Bloco 5I - Bairro Santa Mônica, Uberlândia-MG, CEP
38400-902
Telefone: (34) 3239-4385 - www.cpgquimica.iq.ufu.br - cpgquimica@ufu.br



ATA

Programa de Pós-Graduação em:	Química				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, 347, PPGQUI				
Data:	dezenove de julho de dois mil e vinte e dois	Hora de início:	08:30	Hora de encerramento:	11:10
Matrícula do Discente:	12012QMI013				
Nome do Discente:	William Oliveira Soté				
Título do Trabalho:	Avaliação de representações oligoméricas para modelagem in silico de Polímeros Molecularmente Impressos utilizando molde de origem biológica				
Área de concentração:	Química				
Linha de pesquisa:	Química Teórica e Físico-Química de Macromoléculas e Coloides				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Modelagem computacional de Polímeros Molecularmente Impressos (MIPs) utilizando moldes de origem biológica				

Reuniu-se por meio de webconferência, Plataforma ConferenciaWeb, link <https://conferenciaweb.rnp.br/webconf/william-oliveira-sote>, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Química, assim composta: Professores Doutores Francisco das Chagas Alves Lima, da Universidade Estadual do Piauí; Luiz Guilherme Machado de Macedo, da Universidade Federal de São João del-Rei e Moacyr Comar Junior, orientador do candidato.

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, Dr. Moacyr Comar Junior, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato, agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.



Documento assinado eletronicamente por **Moacyr Comar Junior, Professor(a) do Magistério Superior**, em 19/07/2022, às 11:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luiz Guilherme Machado de Macedo, Usuário Externo**, em 27/07/2022, às 13:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Francisco das Chagas Alves Lima, Usuário Externo**, em 27/07/2022, às 15:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3705511** e o código CRC **143C8B84**.

Este trabalho é a celebração de 9 anos de entrega ao estudo de Química. Portanto, o dedico a mim mesmo, pela coragem de navegar o inexplorado, pela perseverança em não me satisfazer com menos que o meu melhor e, sobretudo, por todo o comprometimento destinado à minha constante formação científica.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família, meu Pai José Soté da Silva, minha Mãe Janice Regina de Oliveira e Silva e minhas irmãs Maria Helena Oliveira Soté e Sol Oliveira Soté, pela coragem em me acompanhar nessa maluca jornada acadêmica e por serem o alicerce sob o qual tudo começou.

Agradeço ao meu mentor e orientador Moacyr Comar Junior, o qual não somente esteve presente durante todo o processo e nunca mediu esforços, tempo e dedicação em me acompanhar durante o mestrado, mas, especialmente, por acreditar na minha essência e confiar a mim muito do seu vasto conhecimento, sabedoria, ética e humanidade.

Agradeço aos meus amigos, Mí e Jake Chaves, Waleska Renata, David Oliveira, Diego Alves e Diego Godina pela amizade, presença, suporte, descontração, empatia e incentivo ao longo de todos os anos que nos conhecemos.

Agradeço a todos os orientadores, avaliadores e colaboradores, os quais, direta ou indiretamente, incorporaram seus conhecimentos e experiências para que esse trabalho fosse realizado.

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo aporte financeiro, o qual, certamente, foi convertido em prol do desenvolvimento científico.

O presente trabalho foi realizado com o apoio do CNPq (Processo No. 130328/2021-9).

“Cedo ou tarde você vai perceber, como eu, que há uma diferença entre conhecer o caminho e percorrer o caminho”.

MORPHEUS, The Matrix (1999)

RESUMO

Polímeros molecularmente impressos (PMIs) são redes poliméricas com significativa relevância para sensoriamento analítico, especialmente para processos biológicos. O processo de impressão molecular permite que haja a formação de cavidades funcionalizadas e estruturalmente complementares a moldes moleculares específicos, conferindo ao material sensibilidade e especificidade em análises instrumentais e, conseqüentemente, uma expressiva versatilidade prática. Entretanto, o planejamento e desenvolvimento de PMIs é um processo lento e dispendioso de ser realizado inteiramente de forma empírica. Diante disso, ferramentas computacionais são comumente usadas na seleção de alguns dos parâmetros críticos do processo de impressão, sobretudo a seleção de ligantes funcionais. Dentre as metodologias disponíveis, a Dinâmica Molecular clássica é capaz de avaliar a evolução desse processo e discriminar diferentes ligantes quanto a sua interatividade com o molde de interesse. A modelagem mais frequente de ligantes funcionais é a representação monomérica, contudo, esta é incapaz de prever a evolução das interações em função do crescimento polimérico. Neste contexto, este trabalho tem como objetivo avaliar a influência de outras representações oligoméricas na fase de complexação com o epítipo P31 da linhagem Asiática do vírus Zika, através da metodologia de Dinâmica Molecular clássica. Os ligantes funcionais 2-vinilpiridina, 4-vinilanilina, ácido acrílico, acrilamida e 2-hidroxietilmetacrilato foram simulados, em cadeias mono-, tri-, penta- e deca-méricas, e avaliados segundo suas influências na conservação estrutural do epítipo e no perfil interativo ligante-molde. Todos os sistemas foram simulados em triplicatas. Análises de desvio quadrático médio (RMSD), raio de giro (R_g), função de correlação de pares ($g(r)$), tempo de ocupação, número médio e máximo de interações do tipo ligações de hidrogênio mostraram que existe uma influência do tamanho da cadeia do ligante funcional na fase de complexação. Em termos de seleção de ligantes, essa influência acentuou e facilitou a diferenciação entre os ligantes. Contudo, o comportamento observado para tamanhos de cadeia maiores foi diferente dos monômeros somente nas análises estruturais, sugerindo que sua utilização seja mais adequada apenas quando a conformação do molde apresentar grande flexibilidade, como em moldes de origem biológica.

Palavras-chave: polímeros molecularmente impressos, dinâmica molecular, molde biológico, representações oligoméricas, seleção de ligantes.

ABSTRACT

Molecularly imprinted polymers (MIPs) are polymeric networks with significant relevance to analytical sensing, especially to biological processes. The molecular imprinting process allows the formation of functionalized and structurally complementary cavities to specific molecular templates, giving the material sensibility and specificity for instrumental analyses and, therefore, resulting in a wide variety of applications. However, the planning and development of MIPs is a slow and expensive process to be carried out entirely by experimental approaches, leading to computational tools being used to select some of the most critical parameters for imprinting, mainly ligand screening. Among all available methodologies, classical Molecular Dynamics is suitable to evaluate the imprinting process evolution and differentiate ligands according to their interaction with the target template. The most frequent modelling for functional ligands is the monomeric representation, however, this representation is unable to predict the interaction evolution as a function of polymer growth. In this context, this work aims to evaluate the influence of other oligomeric representations in the complexation phase of the P31 Asian-lineage Zika virus epitope through classical Molecular Dynamics. The functional ligands 2-vinylpyridine, 4-vinylaniline, acrylic acid, acrylamide and 2-hydroxyethylmethacrylate were simulated in mono-, tri- penta- and decameric chains, and were evaluated according to their influence on the epitope structural conservation and the ligand-template interactive profile. All systems were simulated in triplicates. Analyses of root-mean-square deviation (RMSD), radius of gyration (R_g), pair correlation function ($g(r)$), occupancy, average and maximum numbers of hydrogen-bonding type interaction showed the functional ligand chain size has an influence in the complexation phase. In terms of ligand screening, this influence emphasized and facilitated the differentiation between ligands. However, the behavior observed for larger chain sizes was only different from the monomeric chain in structural analyses, suggesting its use is best suited only when the template conformation exhibits high flexibility, such as in most biological templates.

Keywords: molecularly imprinted polymers, molecular dynamics, biological template, oligomeric representations, ligand screening.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Micrografia de Microscópio Eletrônico de Varredura da superfície de uma rede polimérica não impressa (a) e molecularmente impressa (b).	16
Figura 1.2. Processo geral de impressão molecular, constituído de pré-polimerização (A), polimerização (B), extração do molde molecular (C) e associação não-covalente do molde molecular (D). Superfícies do molde molecular e ligantes funcional e cruzado são mostradas em ciano, alaranjado e branco, respectivamente.	16
Figura 1.3. Processo simplificado de impressão por litografia molecular.	17
Figura 1.4. Estrutura química dos monômeros funcionais simulados.....	21
Figura 1.5. Alinhamento peptídico da região do epítipo P31 de diferentes flavivírus.....	22
Figura 4.1.1. Estrutura do epítipo P31 (representação de esferas) inserido (a) e extraído (b) da proteína nativa	32
Figura 5.1.1. RMSD (a) e R_g (b) do epítipo inserido na proteína e isolado.	37
Figura 5.1.2. Representações de imobilização (a) e reconhecimento molecular (b) em PMIs em fase sólida.	38
Figura 5.1.3. RMSD (a) e R_g (b) do epítipo inserido na proteína, isolado e restrito pelas cisteínas.	39
Figura 5.1.4. RMSD do epítipo na presença dos respectivos ligantes, cadeias oligoméricas e restrito.....	40
Figura 5.1.5. R_g do epítipo na presença dos respectivos ligantes, cadeias oligoméricas e restrito.....	41
Figura 5.2.1. $g(r)$ dos ligantes ao redor do epítipo em função dos ligantes.....	46
Figura 5.2.2. $g(r)$ das cadeias oligoméricas ao redor do epítipo em função da cadeia oligomérica.....	48
Figura 5.3.1. Tempo de ocupação de ligações de hidrogênio entre ligantes e epítipo em função dos ligantes.	50
Figura 5.3.2. Tempo de ocupação de ligações de hidrogênio entre ligantes e epítipo em função das cadeias oligoméricas.	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1. Alguns monômeros funcionais utilizados em PMIs.	18
Tabela 3.6.1. Índices d e respectivos descritores de magnitude.	30
Tabela 4.1. Etapas, objetivos e respectivos software/web server utilizados no trabalho.	31
Tabela 4.2.1. Protocolo de modelagem de sistema utilizado no PACKMOL.	34
Tabela 5.1.1. Valores médios de RMSD e R_g da estrutura do epítipo em proteína, isolado e restrito.	39
Tabela 5.1.2. Valores sumariados de RMSD do epítipo.	42
Tabela 5.1.3. Valores sumariados de R_g do epítipo.	44
Tabela 5.3.1. Tempo de ocupação de interações do tipo ligações de hidrogênio ao longo das triplicatas de 100 ns.	49
Tabela 5.3.2. Valores médios de ligações de hidrogênio.	52
Tabela 5.3.3. Número máximo de ligações de hidrogênio.	54

LISTA DE SÍMBOLOS E SIGLAS

2VP	2-vinilpiridina
4VA	4-vinilanilina
AAC	Ácido acrílico
ACR	Acrilamida
C_n	Coefficiente de rotação de ligação (kJ mol^{-1})
DM	Dinâmica Molecular
f_{ij}	Fator de escalonamento
F_i	Força (N)
k_B	Constante de Boltzmann (J K^{-1})
K_r	Constante elástica de estiramento ($\text{kJ mol}^{-1} \text{Å}^{-2}$)
K_θ	Constante elástica de flexão angular ($\text{kJ mol}^{-1} \text{rad}^{-2}$)
m_n	Massa da partícula (Da)
N_A	Número de partículas A
$p(v_i)$	Probabilidade
p_i	Momento linear (kg Å ps^{-1})
PDB	<i>Protein Data Bank</i>
PMI	Polímero molecularmente impresso
q_n	Carga parcial atômica (e)
r_{ij}	Distância de ligação entre i e j (Å)
r_i	Distância (Å)
R_g	Raio de giro
RMSD	Desvio Quadrático Médio
SPC	<i>Simple point charge</i>
T	Temperatura (K)
t	Tempo (ps)
TIP4P	<i>Transferable intermolecular potential with 4 points</i>
v_n	Velocidade da partícula (Å ps^{-1})
ϵ_0	Permissividade no vácuo (F m^{-1})
ϵ_{ij}	Poço de energia potencial entre i e j (kJ mol^{-1})
ϵ_r	Permissividade relativa (F m^{-1})
θ_{ijk}	Ângulo de flexão entre i , j e k (rad)
σ_n	Raio de van der Waals (Å)
ϕ	Ângulo de rotação de ligação (rad)

SUMÁRIO

1	Introdução	15
2	Objetivos	23
3	Fundamentações teóricas	24
3.1	Dinâmica Molecular clássica	24
3.2	Desvio quadrático médio (<i>RMSD</i>).....	26
3.3	Raio de giro (<i>R_g</i>)	26
3.4	Função de correlação de pares (<i>g(r)</i>).....	27
3.5	Ligação de hidrogênio	27
3.6	Testes estatísticos	28
4	Metodologia	31
4.1	Etapa 1 – Parametrização	32
4.2	Etapa 2 – Modelagem	33
4.3	Etapa 3 – Amostragem.....	34
4.4	Etapa 4 – Análises	36
5	Resultados e Discussões	37
5.1	Desvio quadrático médio (<i>RMSD</i>) e raio de giro (<i>R_g</i>).....	37
5.2	Função de correlação de pares (<i>g(r)</i>).....	45
5.3	Ligações de Hidrogênio	49
6	Conclusões	56
	Referências Bibliográficas	57
	Anexo A – Estatística descritiva completa	68

1 Introdução

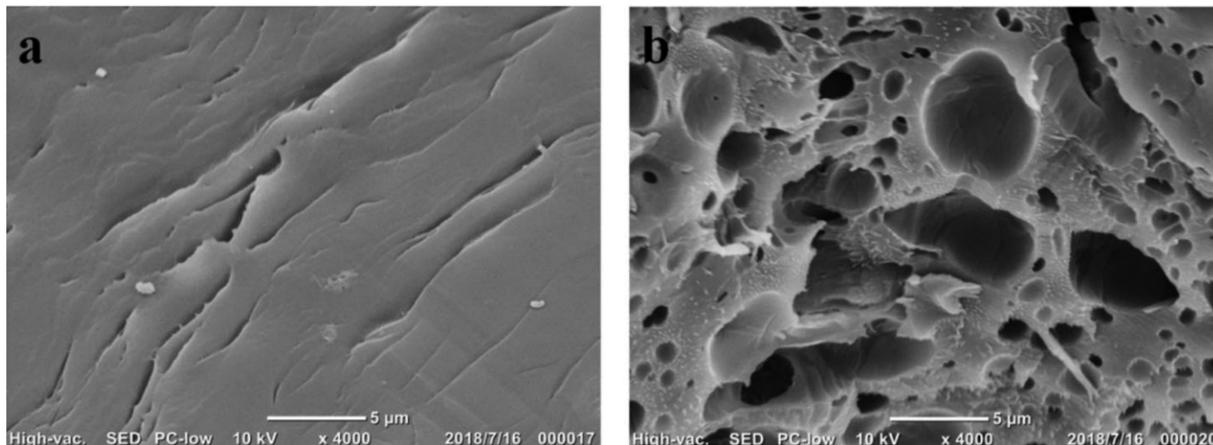
A área de sensoriamento analítico, que abrange, principalmente, o desenvolvimento de dispositivos e tecnologias de análises instrumentais, beneficia-se grandemente do avanço científico e tecnológico, devido a sua natureza interdisciplinar, que incorpora campos como ciência de materiais, biomedicina, física, química, eletrônica, entre outras.

Dessa forma, os dispositivos de sensoriamento podem ser desenvolvidos a partir de uma extensa lista de métodos, como, por exemplo, eletroquímicos (FURST; FRANCIS, 2019; LI et al., 2019; WONGKAEW et al., 2019), ópticos (LI; ASKIM; SUSLICK, 2019; MAKO; RACICOT; LEVINE, 2019) e espectroscópicos (KANG et al., 2019; XU et al., 2019), agregando inúmeras funcionalidades, particularidades de componentes, mecanismos de ação e, conseqüentemente, aplicabilidade.

Uma das aplicações com grande demanda científica é o reconhecimento molecular aplicado a alvos biológicos (ZUBER; KLANTSATAYA; BACHHUKA, 2019). Todavia, obstáculos como a necessidade de elevadas sensibilidade e especificidade, levando em conta a complexidade das matrizes biológicas a serem analisadas; a capacidade de monitoramento, sempre que possível, de forma não invasiva; a reprodutibilidade; a portabilidade e o custo de desenvolvimento, tornam a produção e utilização desses dispositivos de sensoriamento bastante desafiadoras (BELBRUNO, 2019). Além de imunossensores (ERTEKIN; ÖZTÜRK; ÖZTÜRK, 2016), biossensores sintéticos (CHANG et al., 2014) e de interface (NJAGI et al., 2010), por exemplo, uma das alternativas em desenvolvimento com significativa relevância para aplicação em processos biológicos é a impressão molecular em redes poliméricas (CHEN et al., 2016b; HART; SHEA, 2001).

Polímeros molecularmente impressos, ou PMIs, são redes poliméricas que apresentam cavidades (superficiais e/ou intersticiais) funcionalizadas e complementares a moldes moleculares específicos, quando sintetizadas na presença dos mesmos, conforme ilustrado na Figura 1.1, conferindo-lhes variadas aplicabilidades como, por exemplo, em *drug delivery* (LULIŃSKI, 2017), separação cromatográfica (BOYSEN, 2019), processos catalíticos (LYE; WOODLEY, 1999), análise ambiental (NDUNDA; MIZAIKOFF, 2016), além dos próprios sensoriamentos químico (WACKERLIG; LIEBERZEIT, 2015) e biológico (SELVOLINI; MARRAZZA, 2017).

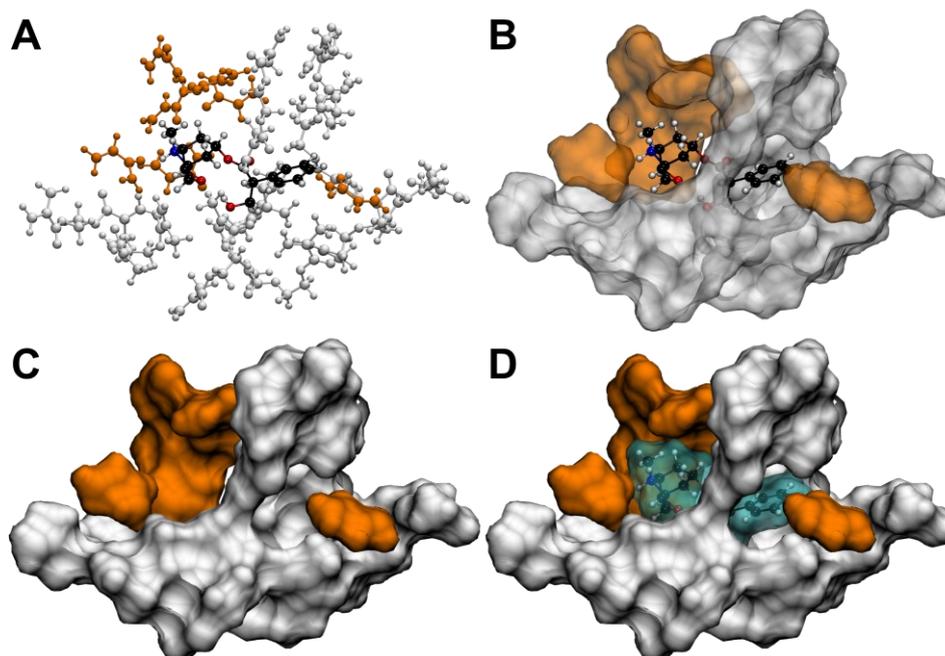
Figura 1.1. Micrografia de Microscópio Eletrônico de Varredura da superfície de uma rede polimérica não impressa (a) e molecularmente impressa (b).



Fonte: Adaptado de [YU et al., 2020](#).

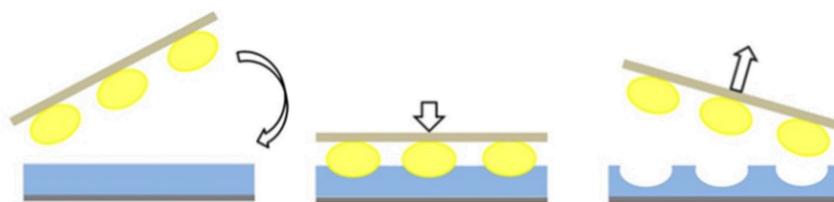
De vital importância, essas cavidades são formadas a partir da extração dos moldes inseridos durante o processo de formação da matriz polimérica ([BARBANI et al., 2017](#); [HUANG; ZHANG; YUN, 2017](#)) ou através de litografia molecular em uma rede polimérica já formada ([ODOM et al., 2002](#); [PARK, 2016](#); [QIN; XIA; WHITESIDES, 2010](#)), como ilustrado nas Figuras 1.2–3, respectivamente. No caso específico de litografia molecular, as cavidades são apenas superficiais.

Figura 1.2. Processo geral de impressão molecular, constituído de pré-polimerização (A), polimerização (B), extração do molde molecular (C) e associação não-covalente do molde molecular (D). Superfícies do molde molecular e ligantes funcional e cruzado são mostradas em ciano, alaranjado e branco, respectivamente.



Fonte: Adaptado de [RODRIGUES SILVA et al., 2022](#).

Figura 1.3. Processo simplificado de impressão por litografia molecular.



Fonte: Adaptado de POLLER et al., 2017.

Existem cinco componentes essenciais, com funções distintas e parâmetros ótimos de síntese (YAN; ROW, 2006), em um preparo de PMIs: molde molecular, ligante funcional, solvente porogênico, ligante cruzado e iniciador de reação.

O molde molecular é o composto alvo para a aplicação do PMI e é fundamental para a construção do polímero (MATSUI; FUJIWARA; TAKEUCHI, 2000), tendo como função orientar, durante a polimerização, a formação das cavidades complementares a sua estrutura e funcionalidades. Sua natureza química é, em tese, ilimitada, desde que apresente grupos não polimerizáveis, seja interativa com os monômeros e estruturalmente estável nas condições reacionais (CHEN; XU; LI, 2011).

Os ligantes funcionais são os segmentos polimerizáveis básicos da formação da rede polimérica, os quais devem apresentar um caráter interativo e não reativo ao molde molecular – para que haja uma impressão molecular efetiva – e cuja rede seja estável e possa ser armazenada e aplicada em variados tipos de condições, como temperatura e pH (BELBRUNO, 2019). Previamente à polimerização, estes ligantes se encontram na forma monomérica e, usualmente, são categorizados quanto a sua hidrofobicidade (GHEYBALIZADEH; HEJAZI, 2022), características químicas de acidez, basicidade ou neutralidade (MARĆ; WIECZOREK, 2019) e volume molecular (CHEN et al., 2016a), sendo essas categorias intimamente associadas às interações intermoleculares que governarão os processos de impressão e reconhecimento moleculares das cavidades funcionalizadas (CLEGG et al., 2019).

Alguns dos ligantes funcionais mais comumente utilizados em síntese de PMIs (CHEN et al., 2016a; PARISI et al., 2022) são mostrados na Tabela 1.1, juntamente de seus respectivos valores de coeficiente de partição ($\log P$) e volumes molares (V_m), ilustrando a variabilidade de escolhas em função das categorias citadas anteriormente.

Tabela 1.1. Alguns monômeros funcionais utilizados em PMIs.

Monômeros	log P			V_m / cm^3			Código de identificação		
	a	b	c	a	b	c	a	b	c
ÁCIDOS									
Ácido acrílico	0,28	0,30	0,35	67,8	-	67,8	6333	6581	DTXSID0039229
Ácido metacrílico	0,83	0,90	0,93	84,1	-	84,1	3951	4093	DTXSID3025542
Ácido 4-vinilbenzóico	2,18	2,70	2,18	127,9	-	128,0	13476	14098	DTXSID70148069
BÁSICOS									
4-vinilanilina	1,42	1,80	1,75	117,7	-	118,0	66344	73700	DTXSID4061751
2-vinilpiridina	1,34	1,50	1,54	108,6	-	109,0	7240	7521	DTXSID1026667
N-vinilpirrolidona	0,37	0,40	0,37	97,1	-	97,1	6651	6917	DTXSID2021440
NEUTROS									
Acrilamida	-0,78	-0,70	-0,67	73,9	-	73,9	6331	6579	DTXSID5020027
4-etilestireno	3,69	3,50	3,90	148,2	-	148,0	17883	18940	DTXSID70188081
2-hidroxietilmetacrilato	0,50	0,50	0,47	123,5	-	123,0	12791	13360	DTXSID7022128

^a PENCE; WILLIAMS, 2010; ^b KIM et al., 2016; ^c WILLIAMS et al., 2017.

Fonte: Autor, 2022.

O solvente porogênico atua não somente como meio dispersivo no processo de polimerização, mas, sobretudo, como agente porogênico, isto é, agente formador de porosidade na estrutura polimérica de interesse (CHEN et al., 2016a). Diferente das cavidades seletivas ao molde molecular, cujas morfologias são equivalentes, a morfologia dos poros, resultante das interações do solvente com o polímero durante sua formação, pode ser controlada através da natureza química e o volume de solvente utilizado no processo, impactando na eficiência adsortiva do material (CORMACK; ELORZA, 2004).

Assim como os ligantes funcionais, os ligantes cruzados também são segmentos polimerizáveis, caracterizados como comonômeros na rede polimérica. Apesar de haver relativa competitividade interativa entre esses dois tipos de ligantes frente ao molde molecular, admite-se que a expressividade das interações com os ligantes cruzados não sejam equiparáveis às interações com os ligantes funcionais (RODRIGUES SILVA et al., 2022). Desse modo, atribui-se aos ligantes cruzados funcionalidades, majoritariamente, estruturais, como estabilização mecânica dos sítios de impressão e da matriz polimérica (BOYSEN, 2019; MARĆ; WIECZOREK, 2019).

Por fim, os iniciadores de reação são os compostos utilizados para controlar o início do processo de polimerização, o qual, com a finalidade de garantir o máximo de controle operacional durante a síntese de PMIs, não deve acontecer espontaneamente. Os tipos de iniciação mais comuns são por radical livre, foto- e eletropolimerização, os quais são selecionados de acordo com as especificidades de cada experimento (CHEN et al., 2016a; CORMACK; ELORZA, 2004).

O método de formação das cavidades mais utilizado é a impressão não-covalente (CHEN *et al.*, 2016a), pois oferece elevada flexibilidade devido à simplicidade metodológica e à rapidez de formação das interações que orientarão o reconhecimento molecular, como interações do tipo ligações de hidrogênio, interações π - π , forças de van der Waals e interações eletrostáticas (ANSARI; KARIMI, 2017). No entanto, a suscetibilidade dessas interações a perturbações, como influência de solvente, deve ser levada em consideração na sua escolha (LOFGREEN; OZIN, 2014).

As alternativas à impressão não-covalente são as impressões iônica, covalente, semi-covalente ou por coordenação metálica. Cada tipo apresenta mecanismos de impressão e reconhecimento molecular distintos e são avaliados de acordo com as particulares de cada caso, como a natureza química do molde molecular e ligantes funcionais e quais tipos de interações favorecerão a seletividade e sensibilidade desse PMI (CHEN *et al.*, 2016a).

O grande diferencial do sensoriamento por PMIs, que lhe atribuiu o termo de anticorpos sintéticos, é a viabilidade de se usar epítopos e, mais dificilmente, proteínas, como moldes moleculares, oferecendo uma abordagem alternativa de sensoriamento biomolecular (ANSARI; MASOUM, 2019; DRZAZGOWSKA *et al.*, 2020; GRAHAM *et al.*, 2019). Em contraste aos anticorpos naturais, cuja estabilidade em condições adversas de pH, pressão e temperatura é baixa e que apresenta elevada perda de performance associada ao tempo de armazenamento, PMIs são robustos e resistentes frente às mesmas condições e podem ser armazenados por longos períodos sem haver perda de performance (MORENO-BONDI *et al.*, 2008; POMA; TURNER; PILETSKY, 2010).

Embora haja inúmeras aplicabilidades, o estudo de PMIs é um processo lento e dispendioso de ser realizado inteiramente por métodos empíricos, devido à elevada quantidade de parâmetros de preparo e otimização de síntese (YAN; ROW, 2006). Diante disso, a abordagem computacional vem sendo adotada como ferramenta auxiliar de direcionamento no seu planejamento racional, pois oferece rapidez, custo reduzido e, sobretudo, resultados confiáveis (ALTINTAS *et al.*, 2019; COWEN; KARIM; PILETSKY, 2016).

Os parâmetros mais investigados computacionalmente são seleções de monômeros funcionais (PEREZ *et al.*, 2016; TADI; MOTGHARE; GANESH, 2015) e solvente porogênico (BIRD; HERDES, 2018), otimização de proporção estequiométrica para síntese (HUYNH *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2015) e elucidação de interações dinâmicas (LUO *et al.*, 2014) e estáticas (SCHAUPERL; LEWIS, 2015) do complexo ligante-molde.

Apesar da variedade de direcionamentos sugeridos por essa abordagem, não há um consenso entre o melhor método computacional para descrever esse tipo de sistema e a melhor maneira de modelá-lo (COWEN; KARIM; PILETSKY, 2016; NICHOLLS et al., 2021), sendo, portanto, uma escolha exclusivamente baseada no parâmetro empírico a ser investigado e na avaliação do pesquisador.

Todavia, considerando que as formações das interações não-covalentes presentes no sistema são dinâmicas e que o solvente atua como elemento ativo na formação da rede polimérica (SONG; WANG; ZHU, 2009; YAN; ROW, 2006), um dos métodos de simulação computacional capaz de avaliar o dinamismo das interações entre um elevado número de componentes é a Dinâmica Molecular (DM) clássica.

A DM descreve o movimento de átomos a partir do formalismo das mecânicas clássica e estatística. Para tanto, considera-se que as alterações conformacionais moleculares sejam decorrentes somente de interações que não envolvam a participação de partículas subatômicas. Ao se desconsiderar os princípios que regem a dinâmica dos elétrons, pode-se descrever simultaneamente um elevado número de átomos com uma demanda computacional relativamente reduzida e amostrar processos conformacionais e energéticos, descritos somente por potenciais não-covalentes, à partir de *ensembles* termodinâmicos definidos (ALDER; WAINWRIGHT, 1959).

No contexto de PMIs, as orientações propostas empregando DM são, em sua maioria, baseadas na função de correlação de pares (BIRD; HERDES, 2018; KONG et al., 2016; MONTI et al., 2006). Essencialmente, esta função correlaciona a variação da densidade numérica de pares (átomos e/ou moléculas) em função de suas distâncias espaciais e do tempo de simulação, fornecendo perfis de proximidade molecular dos quais a afinidade ligante-molde é extrapolada qualitativamente. Embora esta análise não seja a única técnica utilizada na literatura, existe uma escassez de técnicas de caracterização *in silico* nos trabalhos publicados (CLELAND et al., 2014; HOLGUÍN et al., 2019; QIU et al., 2015), de forma que pouco se é explorado do processo de impressão molecular a nível atomístico.

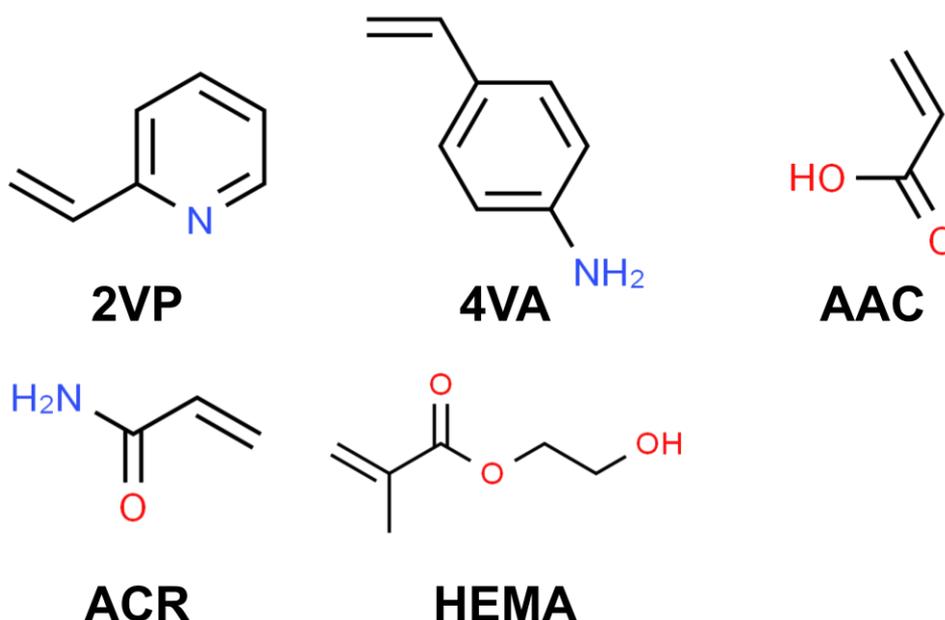
Em relação aos tempos de simulação e à quantidade de componentes do sistema, não há uma uniformidade nos trabalhos desenvolvidos, usualmente avaliando-se a evolução das interações não-covalentes durante apenas alguns nanossegundos de simulação e em sistemas variando de centenas (WANG et al., 2016) a poucos milhares de átomos (BITAR et al., 2015). Estes valores reproduzem os resultados experimentais considerados nos respectivos trabalhos,

todavia a ausência de justificativa para escolha desses parâmetros sugere que eles sejam arbitrários.

O sistema mais comumente simulado representa a fase de pré-polimerização dos PMIs (NICHOLLS *et al.*, 2021), isto é, quando todos os componentes polimerizáveis do sistema encontram-se na forma monomérica. Essa escolha fundamenta-se no fato de que as interações não-covalentes entre molde molecular e ligantes funcionais iniciam-se a partir do momento em que ambos estão em contato no meio reacional (CHEN *et al.*, 2016a). Apesar da utilização de monômeros para a caracterização dos complexos interativos, não se sabe se os efeitos estéricos associados ao crescimento da cadeia, suavizados nesse tipo de representação, são fatores que interferem nos resultados, sobretudo de seleção do melhor ligante funcional.

Diante dessa questão, os ligantes 2-vinilpiridina (2VP), 4-vinilanilina (4VA), ácido acrílico (AAC), acrilamida (ACR) e 2-hidroxietilmetacrilato (HEMA) foram selecionados para avaliar, através de DM clássica, a influência da extensão da cadeia oligomérica na fase de pré-polimerização de PMIs. Estes ligantes, cujas estruturas químicas são mostradas na Figura 1.4, foram selecionados por serem frequentemente empregados em sínteses de PMIs (CHEN *et al.*, 2016a; PARISI *et al.*, 2022) e, sobretudo, por representarem um diversificado espectro de características químicas de acidez, basicidade e neutralidade, volume molar e hidrofobicidade, conforme mostrado na Tabela 1.1.

Figura 1.4. Estrutura química dos monômeros funcionais simulados.



Fonte: Autor, 2022.

2 **Objetivos**

Tendo em vista que a modelagem de PMIs é uma área em desenvolvimento e que questionamentos a respeito de diferentes formas de representação ainda não foram explorados, o presente trabalho tem como objetivo geral avaliar como o tamanho da cadeia oligomérica de diferentes ligantes funcionais altera as propriedades estruturais e interativas de um molde molecular de origem biológica.

Para alcançar este propósito, os objetivos específicos realizados foram:

1. Construir e simular o processo de complexação do epítipo P31 da linhagem asiática do vírus Zika com os ligantes 2-vinilpiridina (2VP), 4-vinilanilina (4VA), ácido acrílico (AAC), acrilamida (ACR) e 2-hidroxietilmetacrilato (HEMA), em representações mono-, tri-, penta- e decaméricas;
2. Avaliar propriedades estruturais do epítipo, a distribuição espacial e o perfil interativo entre ligante-molde para cada um dos vinte sistemas possíveis.

3 Fundamentações teóricas

3.1 Dinâmica Molecular clássica

A DM clássica é uma metodologia mecânico estatística de amostragem do espaço de fase, cuja evolução temporal do sistema simulado se faz por meio da resolução numérica das equações de movimento clássicas. Esta metodologia baseia-se na utilização de *ensembles* termodinâmicos, a partir dos quais algumas propriedades macroscópicas podem ser inferidas e eventos microscópicos dinâmicos podem ser estimados.

Para que seus resultados sejam precisos, faz-se necessário que a amostragem seja longa o suficiente para assegurar que, em média, o macroestado de maior probabilidade de ocorrência seja acessado ou que os resultados sejam obtidos pela média de um número suficiente de réplicas do mesmo sistema, de forma que a maior parte possível do espaço de fase seja amostrada, admitindo-se, em ambos os casos, a ergodicidade e que a função de distribuição do espaço de fase seja constante ao longo das trajetórias dos sistemas (TUCKERMAN, 2010).

Dado que o propósito principal da metodologia é a elucidação de processos sobretudo conformacionais, dependentes de interações intermoleculares não-covalentes, a DM clássica justifica-se na aproximação de Born-Oppenheimer (ALLEN; TILDESLEY, 2017; BORN; OPPENHEIMER, 1927) para que os átomos e seus movimentos sejam descritos unicamente em função das coordenadas nucleares, assumindo-se que a dinâmica dos elétrons se ajusta instantaneamente quando as coordenadas nucleares são modificadas. Nesse contexto, o átomo é descrito por uma massa (m_i) com carga parcial (q_i) e raio de van der Waals (σ_i).

A construção deste modelo possibilita que as forças que governam os movimentos sejam conservativas e a energia potencial total do sistema (V_{TOTAL}) seja descrita pelo somatório dos potenciais interativos ligados, isto é, os potenciais de estiramento (V_{LIG}) e rotação (V_{TOR}) de ligação e flexão angular (V_{ANG}), e não-ligados, eletrostático (V_{ELETR}) e dispersivo/repulsivo ($V_{\text{DISP/REP}}$). A forma exata destes potenciais depende de um conjunto de funções e parâmetros, chamado de campo de força, modelado e implementado para reproduzir propriedades experimentais (BAYLY et al., 1995; JORGENSEN; MAXWELL; TIRADO-RIVES, 1996; MACKERELL; BANAVALI; FOLOPPE, 2000). Um exemplo de energia potencial total e seus respectivos potenciais interativos pode ser visto no campo de força *Optimized Potentials for Liquid Simulations all-atom* (OPLS-AA) (JORGENSEN; MAXWELL; TIRADO-RIVES, 1996), dado por

$$V_{\text{TOTAL}} = \sum_{i=1}^N V_{\text{LIG}} + V_{\text{ANG}} + V_{\text{TOR}} + V_{\text{ELETR}} + V_{\text{DISP/REP}}, \quad (3.1.1)$$

em que,

$$V_{\text{LIG}} = \sum_{i,j=1}^N \frac{1}{2} K_r (r_{ij} - r_{ij}^0)^2, \quad (3.1.2)$$

$$V_{\text{ANG}} = \sum_{i,j,k=1}^N \frac{1}{2} K_\theta (\theta_{ijk} - \theta_{ijk}^0)^2, \quad (3.1.3)$$

$$V_{\text{TOR}} = \sum_{i,j,k,l=1}^N \frac{1}{2} [C_1 (1 + \cos(\phi)) + C_2 (1 - \cos(2\phi)) + C_3 (1 + \cos(3\phi))], \quad (3.1.4)$$

$$V_{\text{ELETR}} = \sum_{i,j=1}^N f_{ij} \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{q_i q_j}{\epsilon_r r_{ij}}, \quad (3.1.5)$$

$$V_{\text{DISP/REP}} = \sum_{i,j=1}^N 4\epsilon_{ij} f_{ij} \left(\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right). \quad (3.1.6)$$

O algoritmo global simplificado do processo de amostragem por DM clássica inicia-se atribuindo velocidades iniciais aos átomos a serem simulados. Se a estrutura inicial tiver sido obtida por uma amostragem prévia, essas velocidades já estarão atribuídas, do contrário, os valores iniciais são atribuídos ao decorrer de simulações de equilíbrio termodinâmica.

Durante o processo de equilíbrio, à medida que condições de temperatura e pressão são impostas ao sistema simulado, valores de velocidades aleatórios são atribuídos aos átomos, fundamentados pela função de distribuição de velocidade de Maxwell-Boltzmann,

$$p(v_i) = \left(\frac{m_i}{2\pi k_B T} \right)^{\frac{3}{2}} \exp\left(-\frac{m_i v_i^2}{2k_B T} \right). \quad (3.1.7)$$

Em seguida, usa-se um algoritmo integrador das equações de movimento para recalcular e atribuir novos valores de posição e velocidade aos átomos, baseados em suas respectivas posições, velocidades e forças prévias. Esse incremento é feito usando-se as relações de movimento da mecânica clássica

$$\mathbf{F}_i = \frac{\partial \mathbf{p}_i}{\partial t}, \quad (3.1.8)$$

$$\mathbf{p}_i(t + \Delta t) = \mathbf{p}_i(t - \Delta t) + \mathbf{F}_i(t) \Delta t, \quad (3.1.9)$$

$$\mathbf{r}_i(t + \Delta t) = \mathbf{r}_i(t) + \frac{\mathbf{p}_i}{m_i}(t + \Delta t)\Delta t, \quad (3.1.10)$$

$$\mathbf{F}_i = -\frac{\partial V}{\partial \mathbf{r}_i}. \quad (3.1.11)$$

Por fim, calcula-se o somatório de todas as forças atuantes em cada átomo, as energias potencial e cinética, pressão e temperatura do sistema e retorna-se novamente ao passo inicial até que o tempo de simulação estipulado se complete. Ao término da amostragem, obtêm-se todos os valores calculados em função do tempo de simulação e ferramentas de análise podem ser utilizadas para que as propriedades de interesse relacionadas ao sistema modelado sejam analisadas.

3.2 Desvio quadrático médio (*RMSD*)

A determinação da variação conformacional é estimada através do cálculo do desvio quadrático médio (*RMSD*), no qual cada posição $\mathbf{r}_i(t)$ do átomo i , no instante t , é comparada à posição $\mathbf{r}_i(t_0)$ do mesmo átomo, contudo no instante inicial t_0 . A função utilizada para o cálculo de *RMSD* é dada por

$$RMSD(t_1, t_0) = \left[\frac{1}{\sum_{i=1}^N m_i} \sum_{i=1}^N m_i \|\mathbf{r}_i(t_1) - \mathbf{r}_i(t_0)\|^2 \right]^{\frac{1}{2}}. \quad (3.2.1)$$

3.3 Raio de giro (R_g)

A determinação da compactação do sistema ao redor do seu centro de massa é estimada através do cálculo de raio de giro (R_g), no qual cada posição $\mathbf{r}_i(t)$ do átomo i , no instante t , em relação ao centro de massa da molécula, é calculada. A função utilizada para o cálculo de R_g é dada por

$$R_g = \left[\frac{1}{\sum_{i=1}^N m_i} \sum_{i=1}^N m_i \|\mathbf{r}_i(t_1)\|^2 \right]^{\frac{1}{2}}. \quad (3.3.1)$$

3.4 Função de correlação de pares ($g(r)$)

A determinação do perfil de distribuição de moléculas ao redor de um referencial é realizada através do cálculo da função de correlação de pares ($g(r)$), na qual o quociente entre a densidade numérica média de elementos B ($\langle\rho_B(r)\rangle$) em função da distância (r) de um número específico de elementos A (N_A), e a densidade numérica média total de B ($\langle\rho_B\rangle$), em intervalos de tempo específicos, é calculado. A função de correlação de pares é dada por

$$g(r) = \frac{\langle\rho_B(r)\rangle}{\langle\rho_B\rangle}, \quad (3.4.1)$$

$$= \frac{1}{\langle\rho_B\rangle} \frac{1}{N_A} \sum_{i \in A} \sum_{j \in B} \frac{\delta(r_{ij} - r)}{4\pi r^2}.$$

3.5 Ligação de hidrogênio

A determinação do número de ligações de hidrogênio entre dois pares é realizada através de critérios geométricos radiais e angulares.

Tendo em vista que a distância máxima considerada geometricamente característica de uma interação do tipo ligação de hidrogênio tenha que ser menor que a soma do raio de van der Waals dos átomos doador e aceptor presentes na interação (SZALEWICZ, 2003), o valor limite nos sistemas simulados neste trabalho é de até, aproximadamente, 3,5 Å, correspondente a uma distância interatômica N...C (BONDI, 1964).

O critério angular, por sua vez, foi selecionado baseando-se nos resultados obtidos de distribuições angulares de ligações de hidrogênio do modelo de água *simple point charge* (SPC) para a solvatação de proteínas, sendo o valor limite de 30° (BERENDSEN et al., 1981).

Portanto, os critérios geométricos utilizados na caracterização das ligações de hidrogênio são dados por

$$r_{DA} \leq r_{\text{máx.}} = 3,5 \text{ \AA}, \quad (3.5.1)$$

$$\alpha_{\text{HDA}} \leq \alpha_{\text{máx.}} = 30^\circ,$$

onde r_{DA} corresponde à distância doador-aceptor e α_{HDA} , o ângulo hidrogênio-doador-aceptor.

Os resultados estão separados em números médio e máximo de interações do tipo ligações de hidrogênio presentes entre os grupos analisados e tempo máximo de ocupação ($t_{i,j}$)

das mesmas interações, isto é, tempo total de ocorrência de cada interação. A função utilizada para o cálculo de tempo máximo de ocupação é dada por

$$t_{i,j} = \left(\frac{n_{i,j}}{n_{\text{máx.}}} \right) t_{\text{máx.}}, \quad (3.5.2)$$

onde i e j correspondem aos grupos doador e acceptor, respectivamente; a razão $\left(\frac{n_{i,j}}{n_{\text{máx.}}} \right)$, a fração do número de conformações de ij , dentre a totalidade de conformações disponíveis, que satisfazem os critérios geométricos da Equação (3.5.1) e $t_{\text{máx.}}$, o tempo máximo simulado. Os números médio e máximo de interações e o tempo máximo de ocupação foram avaliados para cada réplica, contudo, para o primeiro, a média das triplicatas foi discutida e, para os demais, apenas os maiores valores obtidos dentre as triplicatas foram discutidos.

3.6 Testes estatísticos

Devido à natureza estatística da amostragem por DM clássica e a utilização de réplicas, todos os resultados discutidos quantitativamente foram submetidos a testes estatísticos de normalidade, significância e tamanho do efeito.

A confiabilidade de qualquer estudo que envolva testes estatísticos depende, inicialmente, de uma avaliação da sua normalidade, isto é, se o conjunto é bem descrito por uma distribuição normal (MISHRA et al., 2019). Para tanto, o teste não paramétrico de Shapiro-Wilk (SHAPIRO; WILK, 1965) foi utilizado para verificar a normalidade dos dados. As hipóteses testadas foram:

H_0 : os dados seguem distribuição normal;

H_1 : os dados não seguem distribuição normal.

A estatística do teste é dada por

$$W = \frac{\left(\sum_{i=1}^n a_i x_{(i)} \right)^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}, \quad (3.6.1)$$

onde $x_{(i)}$ corresponde ao i -ésimo menor número da amostra; \bar{x} , a média da amostra; x_i , ao valor da observação; n , ao tamanho da amostra e a_i , aos coeficientes de Shapiro-Wilk.

Após a determinação da normalidade dos dados, os grupos foram comparados utilizando um teste de hipótese estatístico de comparação múltipla. Com esse teste, foi possível determinar se não há diferença significativa entre eles ou, equivalentemente, se eles são oriundos da mesma população. Para tanto, o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (KRUSKAL; WALLIS, 1952) foi utilizado. As hipóteses testadas foram:

H_0 : os dados são oriundos da mesma população;

H_1 : os dados não são oriundos da mesma população.

A estatística do teste é dada por

$$H = \frac{12}{N(N+1)} \sum_{i=1}^k \frac{R_i^2}{l_i} - 3(N+1), \quad (3.6.2)$$

onde N corresponde ao número total de observações entre todos os grupos; k , ao número de grupos; i , ao i -ésimo grupo contendo l_i observações; R_i , a soma dos ranques de observações em cada grupo.

Embora o teste de hipóteses seja capaz de determinar se os conjuntos de dados são diferentes entre si, a magnitude dessa diferença (tamanho do efeito) e, portanto, sua relevância prática, não é avaliada, especialmente entre grandes conjuntos de dados, para os quais diferenças muito pequenas sempre serão consideradas significantes (GÓMEZ-DE-MARISCAL et al., 2021).

Para verificar a magnitude das diferenças observadas entre os dados, o índice d de Cohen de tamanho de efeito para diferença de médias (COHEN, 1988) pode ser utilizado em conjunto com os descritores de magnitude de Cohen-Sawilowsky (SAWILOWSKY, 2009), mostrados na Tabela 3.6.1.

O índice d de tamanho de efeito indica por quantas unidades de desvio padrão combinado os grupos analisados se diferenciam e a magnitude desse valor é categorizada pelos descritores de magnitude, os quais, por serem sugestões puramente matemáticas, requerem que sua expressividade seja avaliada para cada contexto (COHEN, 1988). Devido à ausência de valores de referência de tamanho do efeito aplicados ao contexto do trabalho, foi adotada uma interpretação conservadora dos resultados, na qual índices d iguais ou inferiores a 0,50 foram considerados de baixa expressividade e, conseqüentemente, representam valores equiparáveis.

A estatística do índice é dada por

$$d = \frac{x_1 - x_2}{s_p} = \frac{Z}{\sqrt{N_1 + N_2}}, \quad (3.6.3)$$

onde $x_{1,2}$ correspondem às médias dos pares analisados; s_p , o desvio padrão combinado dos pares; Z , o z-score do teste não paramétrico de Mann-Whitney e $N_{1,2}$, o tamanho dos pares.

Tabela 3.6.1. Índices d e respectivos descritores de magnitude.

D	Magnitude
0,01	Muito fraca
0,20	Fraca
0,50	Moderada
0,80	Forte
1,20	Muito forte

Fonte: Adaptado de [SAWILOWSKY, 2009](#).

4 Metodologia

Todos os sistemas analisados neste trabalho foram modelados e simulados de acordo com o mesmo protocolo computacional, constituído de quatro etapas. Na primeira etapa, as estruturas iniciais e os parâmetros mecânico moleculares dos ligantes 2-vinilpiridina, 4-vinilanilina, ácido acrílico, acrilamida e 2-hidroxietilmetacrilato (Figura 1.4), em suas formas mono-, tri-, penta- e decaméricas, foram obtidos. Os parâmetros dos demais componentes dos sistemas já eram conhecidos. A estrutura do epítipo P31 da linhagem asiática do vírus Zika foi obtida a partir de sua proteína correspondente, presente no *Protein Data Bank*. Na segunda etapa, as configurações iniciais dos sistemas – contendo molécula molde, ligantes funcionais e solvente – foram construídas de forma sistematizada em termos de condições de proximidade e quantidade de moléculas, contudo aleatórias em termos da posição final. Na terceira etapa, os arquivos de saída obtidos nas etapas anteriores foram configurados para o formato padrão utilizado pelo *software* de DM clássica e, posteriormente, foram realizadas, em triplicata, amostragens para cada um dos sistemas após suas respectivas minimizações energéticas e equilibrações termodinâmicas. Na quarta e última etapa, os sistemas foram analisados em termos das alterações estruturais provocadas pelos ligantes funcionais na estrutura do epítipo e em termos do perfil interativo entre estes, em um intervalo fixo de 5 ps ao longo do tempo total simulado. Os resultados foram discutidos em termos da média entre as triplicatas realizadas para cada sistema. Todas as quatro etapas, seus objetivos e respectivos *software/web server* estão sumariados na Tabela 4.1 e as especificidades de cada uma serão descritas nas subseções abaixo.

Tabela 4.1. Etapas, objetivos e respectivos *software/web server* utilizados no trabalho.

Etapa	Objetivo	Software/web server
1 – Parametrização	Obtenção dos parâmetros MM dos ligantes simulados	LigParGen RCSB PDB
2 – Modelagem	Construção das estruturas iniciais dos sistemas simulados	PACKMOL
3 – Amostragem	Amostragem do espaço de fase dos sistemas simulados	GROMACS
4 – Análises	Avaliação dos perfis estrutural e de interação do tipo ligações de hidrogênio entre molécula molde e ligantes	GROMACS VMD

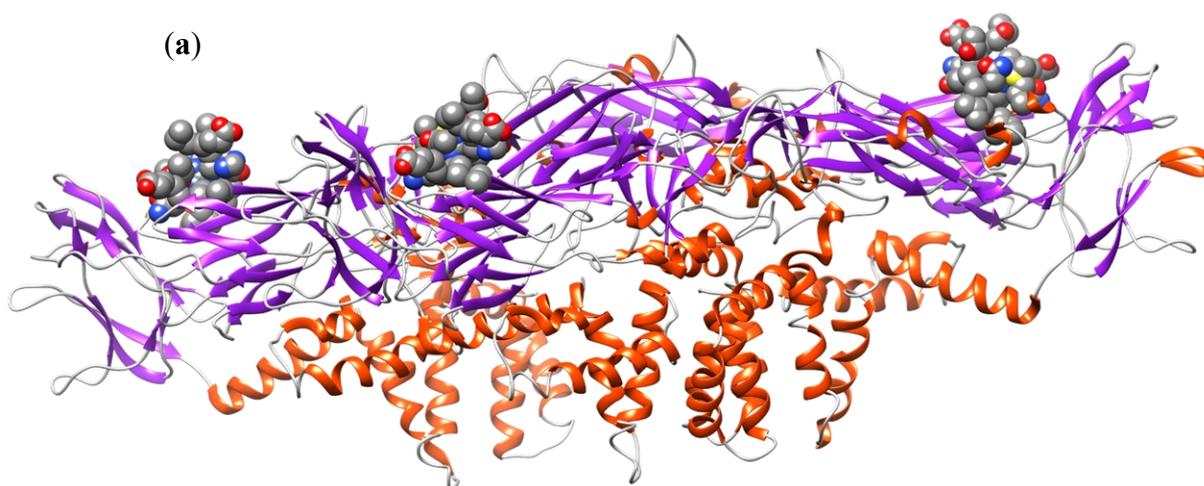
Fonte: Autor, 2022.

4.1 Etapa 1 – Parametrização

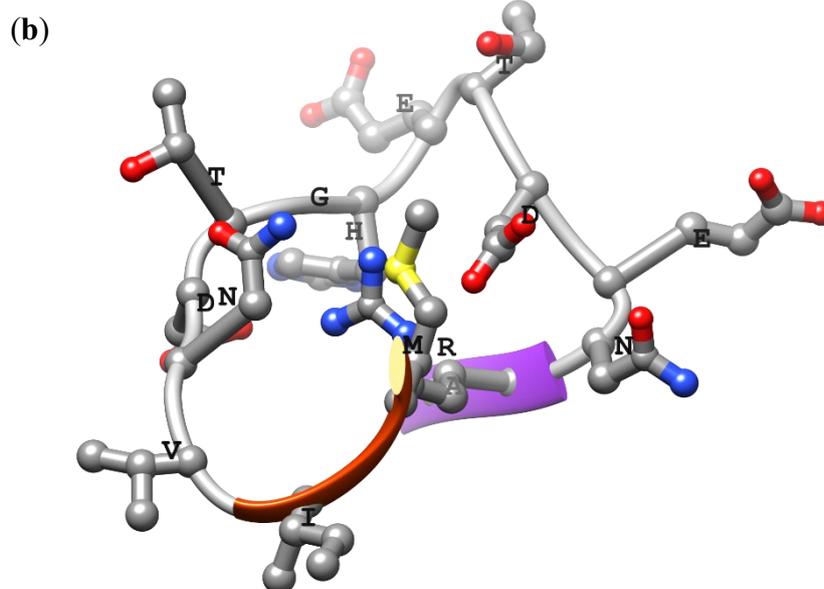
Para a obtenção das estruturas iniciais e os parâmetros mecânico moleculares dos ligantes funcionais, foi utilizado o *web server* gerador de parâmetros de ligantes orgânicos LigParGen OPLS/CM1A (DODDA et al., 2017). Este *web server* foi escolhido pela sua praticidade, confiabilidade e, sobretudo, por ter sido desenvolvido pelo mesmo grupo responsável pelo campo de força OPLS *all-atom* (JORGENSEN; MAXWELL; TIRADO-RIVES, 1996). Por ser reconhecido por descrições precisas de sistemas proteicos e moléculas orgânicas, este campo de força foi utilizado durante a etapa de amostragem por DM. Os parâmetros obtidos foram: distância de estiramento (r_{ij}) e constante elástica de estiramento (K_r); ângulo de flexão (θ_{ijk}) e constante elástica de flexão angular (K_θ); coeficientes de rotação de ligação (C_n); cargas parciais atômicas (q_n) e parâmetros de Lennard-Jones ($\epsilon_{ij}, \sigma_{ij}$). Estes parâmetros foram empregados nas equações (3.1.2 – 3.1.6).

Os parâmetros mecânico moleculares do epítipo P31 já se encontravam presentes no campo de força utilizado durante a amostragem por DM, sendo necessário somente a obtenção de sua estrutura. Esta foi obtida a partir da extração manual das coordenadas espaciais dos seus respectivos aminoácidos constituintes a partir de sua proteína correspondente (SEVVANA et al., 2018), disponível no *Protein Data Bank*¹ (PDB ID: 6CO8, cadeia A). As estruturas do epítipo P31 e sua proteína correspondente são mostradas na Figura 4.1.1.

Figura 4.1.1. Estrutura do epítipo P31 (representação de esferas) inserido (a) e extraído (b) da proteína nativa



¹ Estrutura disponível no endereço eletrônico: <https://www.rcsb.org/structure/6CO8>



Fonte: Autor, 2022.

4.2 Etapa 2 – Modelagem

Após a obtenção das coordenadas individuais de cada componente a ser simulado, os sistemas iniciais foram construídos utilizando o pacote PACKMOL (MARTÍNEZ et al., 2009). A construção se dá a partir de protocolo específico do usuário e é otimizada para minimizar interações intermoleculares repulsivas de curto alcance. Os parâmetros mecânica moleculares obtidos na Etapa 1 não são necessários para a construção da configuração inicial dos sistemas.

A tolerância de distância utilizada, isto é, distância mínima entre pares de átomos de moléculas distintas, foi de 2,0 Å, valor adequado para sistemas cuja densidade esperada seja semelhante à da água (MARTÍNEZ et al., 2009). O critério de escolha do número de moléculas de solvente foi garantir volume necessário para o particionamento computacional e evitar que o epítipo tenha contato com sua imagem periódica durante a simulação, o que poderia acarretar erros significativos de interações fisicamente inexistentes no sistema. Para os ligantes, o número de componentes foi escolhido de forma a manter constante a quantidade de grupos funcionais, independente da extensão da cadeia oligomérica simulada, e a distribuição aleatória se deu de forma a representar uma esfera de solvatação ao redor do epítipo. O modelo de água utilizado foi o *transferable intermolecular potential with 4 points* (TIP4P) (JORGENSEN et al., 1983). Todo o protocolo utilizado é sumariado na Tabela 4.2.1.

Tabela 4.2.1. Protocolo de modelagem de sistema utilizado no PACKMOL.

Componente	Protocolo	Nº de moléculas
Tolerância de distância	2,0 Å	N/A
Epítipo	Centro de massa fixado na origem de uma caixa cúbica de 80 Å de aresta	1
Ligantes	Distribuição aleatória dentro de uma esfera de centro na origem e 40 Å de raio	160 (monômeros) 53 (trímeros) 32 (pentâmeros) 16 (decâmeros)
Solvente	Distribuição aleatória dentro de uma caixa cúbica de 80 Å de aresta	6003

Fonte: Autor, 2022.

4.3 Etapa 3 – Amostragem

Nessa etapa, os arquivos de topologia e coordenadas foram configurados para as especificações padrão utilizadas pelo pacote computacional GROMACS (ABRAHAM et al., 2015) versão 2016.4. O campo de força utilizado para descrever os aminoácidos simulados foi OPLS *all-atom*.

Todos os sistemas foram inicialmente delimitados por caixas de simulação cúbicas de 80 Å de aresta. A carga total dos sistemas, sem adição de íons, era de $-3e$, resultantes do estado de protonação dos aminoácidos do epítipo em pH igual a 7. Para neutralizar a carga total do sistema, três íons sódio foram adicionados. O número de átomos total entre todos os sistemas variou entre 25 668 ~ 27 375.

Para avaliar e minimizar quaisquer inconsistências estéricas resultantes das etapas anteriores e garantir, em termos de geometria e orientação do solvente, estruturas iniciais aceitáveis para o início das simulações, o algoritmo *steepest descent* de otimização iterativa para mínimos locais foi aplicado. O processo de minimização energética foi feito até que ambos os critérios de convergência (força máxima menor de $100 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ Å}^{-1}$ e energia potencial negativa) fossem atingidos, utilizando um passo de minimização de 0,01 Å.

Após atingir o mínimo local, os sistemas foram equilibrados termodinamicamente para alcançarem os valores de temperatura e pressão necessários para a amostragem de interesse. O processo de equilibração foi conduzido em duas fases: a primeira fase consistiu em um protocolo de *annealing* simulado conduzido em *ensemble* isocórico-isotérmico (NVT). Um aumento linear de temperatura foi realizado durante 600 ps de 0 a 310 K, seguido de outros 100 ps no valor da temperatura final, totalizando 700 ps de equilibração térmica, ambos com uma constante de tempo de acoplamento de 0,1 ps. A temperatura foi controlada pelo método de *velocity-rescaling* (BUSSI; DONADIO; PARRINELLO, 2007), o qual permite, assumindo

ergodicidade dos sistemas, amostrar adequadamente o *ensemble* simulado, garantindo baixas oscilações de temperatura e distribuição correta da energia cinética das partículas. Este protocolo de manutenção de temperatura foi mantido tanto para a fase subsequente de equilíbrio quanto para a amostragem final; a segunda fase foi conduzida em *ensemble* isobárico-isotérmico (NPT), durante 1000 ps, com compressibilidade isotérmica de $4,5 \times 10^{-5} \text{ bar}^{-1}$ e constante de tempo de acoplamento de 2 ps. Uma pressão de 1 bar foi controlada e aplicada isotropicamente pelo método de Parrinello-Rahman (NOSÉ; KLEIN, 1983; PARRINELLO; RAHMAN, 1981). Durante as duas fases de equilíbrio o movimento de todos os átomos do epítipo diferentes do hidrogênio foi restringido por uma constante de força de $10 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ \AA}^{-2}$. Ambas as fases foram suficientes para que os sistemas simulados equilibrassem temperatura e densidade.

Por fim, todas as restrições de movimento foram retiradas, e a amostragem final do espaço de fase dos sistemas foi feita no mesmo *ensemble* anterior, em triplicatas de 100 ns cada, totalizando 300 ns para cada sistema. As triplicatas de cada sistema compartilham das mesmas configurações pós-equilíbrio. Os métodos de manutenção de temperatura e pressão foram os mesmos utilizados anteriormente. As interações eletrostáticas de longo alcance foram calculadas pelo algoritmo *smooth Particle-mesh Ewald* (SPME) (DARDEN; YORK; PEDERSEN, 1993; ESSMANN et al., 1995) e as interações de van der Waals de curto alcance foram delimitadas por um raio de corte de 10 Å. Assumindo-se que o raio de corte tenha sido grande o suficiente para se desprezar o termo repulsivo das interações de Lennard-Jones, correções do seu termo dispersivo foram aplicadas para energia e pressão. Dados de energia e coordenadas foram armazenados a cada 1 ps de simulação.

Em todas as etapas de preparo e amostragem supracitadas, todas as vibrações de estiramento e dobramento das ligações envolvendo átomos de hidrogênio foram restritas pelo algoritmo *parallel linear constraint solver* (P-LINCS) (HESS, 2008). Condições periódicas de contorno foram aplicadas em todas as direções das caixas de simulação. A integração das equações de movimento foi realizada pelo algoritmo *leap-frog* e passos de tempo de integração de 2 e 1 fs foram utilizados para os *ensembles* isocórico-isotérmico e isobárico-isotérmico, respectivamente. Todas as simulações foram realizadas em um *cluster* de três nós computacionais configurados com 64 núcleos de processamento cada, 128 GB de memória RAM e disco local de 500 GB, localizado e mantido no Laboratório de Computação Científica Aplicada e Tecnologia de Informação da Universidade Federal de Uberlândia, *campus* Pontal.

4.4 Etapa 4 – Análises

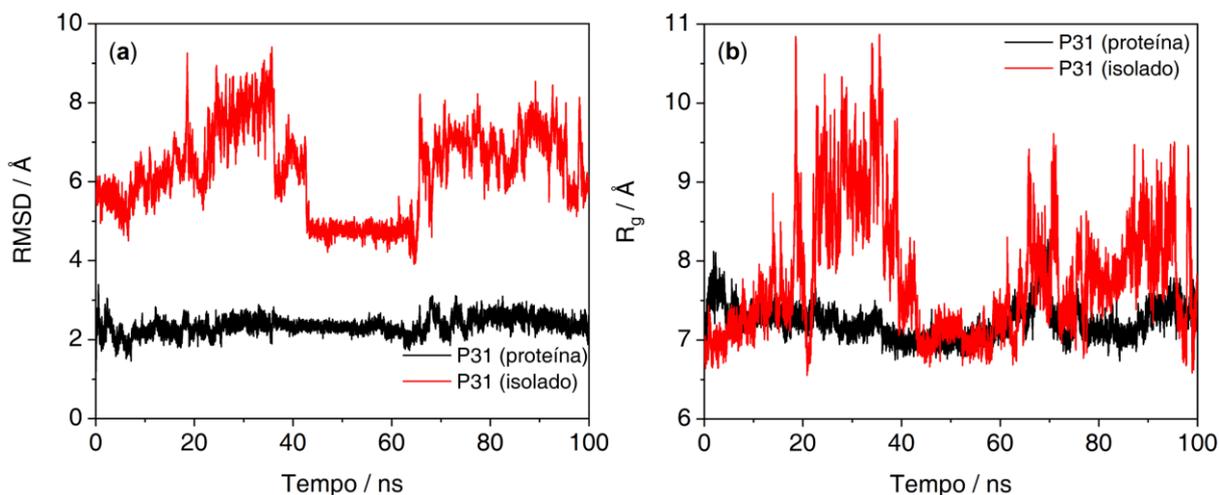
A caracterização da influência da extensão da cadeia oligomérica no processo de formação das cavidades dos PMIs se deu em termos das alterações estruturais provocadas pelos ligantes funcionais na estrutura do epítipo e em termos do perfil interativo entre estes. Para tanto, foram analisados o desvio quadrático médio (RMSD) e o raio de giro (R_g) da cadeia principal do peptídeo, os perfis de distribuição de pares ($g(r)$) e o tempo de ocupação e número médio e máximo de interações do tipo ligações de hidrogênio presentes entre ligante-molde ao longo da trajetória. As análises foram realizadas pelo pacote GROMACS e *software* VMD (HUMPHREY; DALKE; SCHULTEN, 1996) e os resultados foram analisados em termos das médias entre as triplicatas, desconsiderando-se os primeiros 10 ns de amostragem de cada simulação. Os testes estatísticos de Shapiro-Wilk, Kruskal-Wallis e índice d de Cohen para tamanho do efeito foram utilizados para verificar a normalidade, significância e magnitude da diferença dos dados obtidos após as médias entre as triplicatas, respectivamente. Todos os testes estatísticos foram realizados no *software* Origin® 2018 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA), com nível de significância de 0,05. A estatística descritiva completa dos testes é mostrada no Anexo A.

5 Resultados e Discussões

5.1 Desvio quadrático médio ($RMSD$) e raio de giro (R_g)

Previamente à caracterização estrutural dos sistemas investigados, fez-se necessário avaliar se as alterações conformacionais do epítipo inserido e isolado de sua proteína de origem, ambos em meio aquoso, eram equiparáveis. Para tanto, simulações nessas condições foram realizadas, empregando os mesmos parâmetros de simulação descritos na Subseção 4.3, contudo sem réplicas. Os resultados obtidos de $RMSD$ e R_g são mostrados na Figura 5.1.1.

Figura 5.1.1. $RMSD$ (a) e R_g (b) do epítipo inserido na proteína e isolado.



Fonte: Autor, 2022.

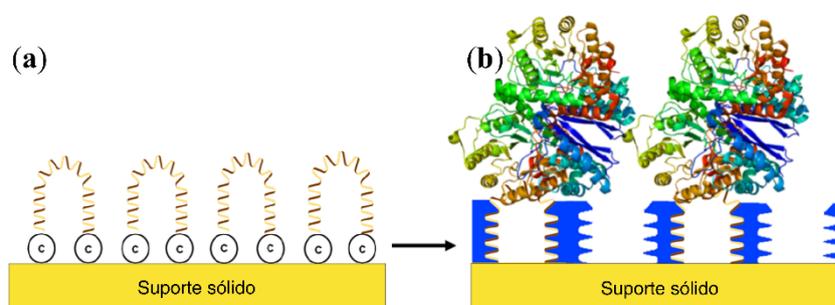
Os valores médios de $RMSD$ para o epítipo inserido e isolado de sua proteína de origem foram de $2,37 \pm 0,18$ e $6,31 \pm 1,12$ Å, respectivamente. A discrepância entre estes valores sugere que o epítipo, quando isolado, apresenta alterações conformacionais consideráveis devido à ausência das restrições espaciais impostas pela presença dos demais resíduos proteicos. Ainda que exista um momento de conservação estrutural entre 40 e 60 ns, este comportamento não se mantém, caracterizando o epítipo como um peptídeo intrinsecamente desordenado (DUNKER et al., 2001).

Os valores médios de R_g para os mesmos sistemas foram de $7,20 \pm 0,22$ e $7,86 \pm 0,77$ Å, respectivamente. Em termos de raio de giro, a maior diferença é vista apenas entre os desvios-padrões. A aparente igualdade dos valores médios não deve ser compreendida como

um comportamento semelhante entre o epítipo inserido e isolado de sua proteína de origem, dado que, de acordo com a Figura 5.1.1, existem momentos acentuados de descompactação e compactação do epítipo isolado. Este comportamento é condizente com a dispersão dos dados observada no desvio padrão. A presença da proteína, nesse caso, mostrou maior influência na flutuação estrutural do que na compactação média. No geral, ambas as análises mostraram perda de conservação estrutural quando o epítipo encontra-se isolado em solução.

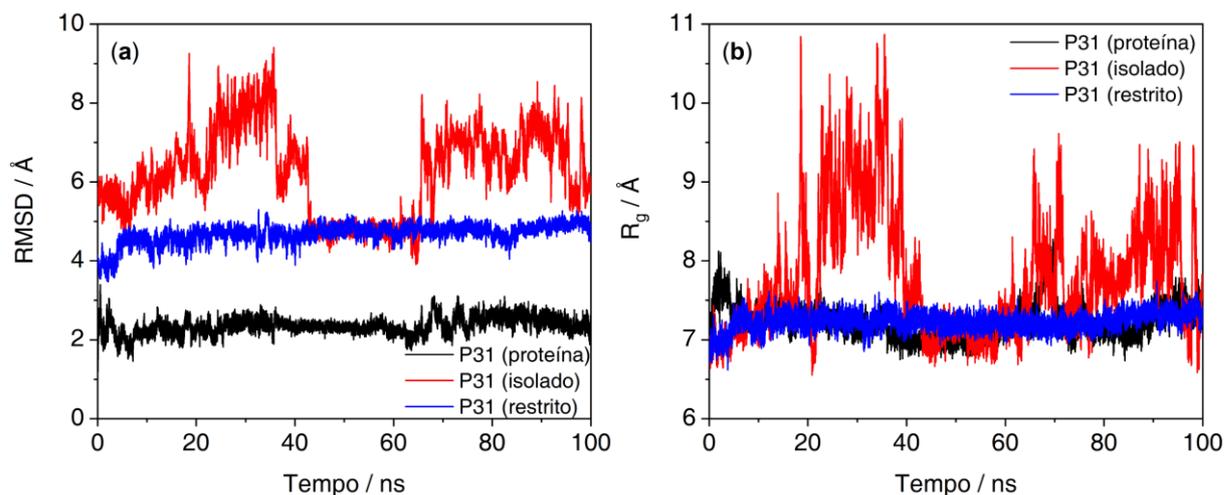
A partir da perspectiva da impressão molecular, os resultados mostrados acima sugerem que a impressão do epítipo isolado não se justifica, dado que as cavidades oriundas desse molde não apresentarão complementaridade estrutural com o seu correspondente de origem. Uma alternativa à impressão do epítipo isolado é a utilização de estratégias de síntese em fase sólida, com a finalidade de ancorá-lo em uma superfície, impondo, portanto, restrições espaciais nas suas extremidades (KALECKI *et al.*, 2020). Dentre estas estratégias, uma recente abordagem proposta para assegurar-se que ambas as extremidades do peptídeo estejam imobilizadas é a adição de cisteínas nas cadeias terminais do epítipo livre, as quais o conectarão a um suporte sólido (DRZAZGOWSKA *et al.*, 2020), como ilustra a Figura 5.1.2.

Figura 5.1.2. Representações de imobilização (a) e reconhecimento molecular (b) em PMIs em fase sólida.



Fonte: Adaptado de DRZAZGOWSKA *et al.*, 2020.

Fundamentando-se nessa abordagem, duas cisteínas foram adicionadas às cadeias terminais do epítipo e uma constante de força de $30 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ \AA}^{-2}$ foi imposta aos seus átomos diferentes de hidrogênio, mimetizando a função restritiva que a conexão entre cisteína e suporte sólido exerceria na molécula molde. As mesmas análises estruturais foram realizadas, omitindo-se as cisteínas, de forma a manter a equivalência com os dados anteriores. Os resultados são apresentados na Figura 5.1.3.

Figura 5.1.3. RMSD (a) e R_g (b) do epítipo inserido na proteína, isolado e restrito pelas cisteínas.

Fonte: Autor, 2022.

De acordo com a Figura 5.1.3, apesar de ser um modelo simplificado da imobilização real em suporte sólido, a adição de cisteínas associada a restrições posicionais por constante de força em seus átomos mostrou-se uma abordagem efetiva para conservar a conformação do epítipo ao longo da simulação. Os valores médios de cada sistema são sumariados na Tabela 5.1.1.

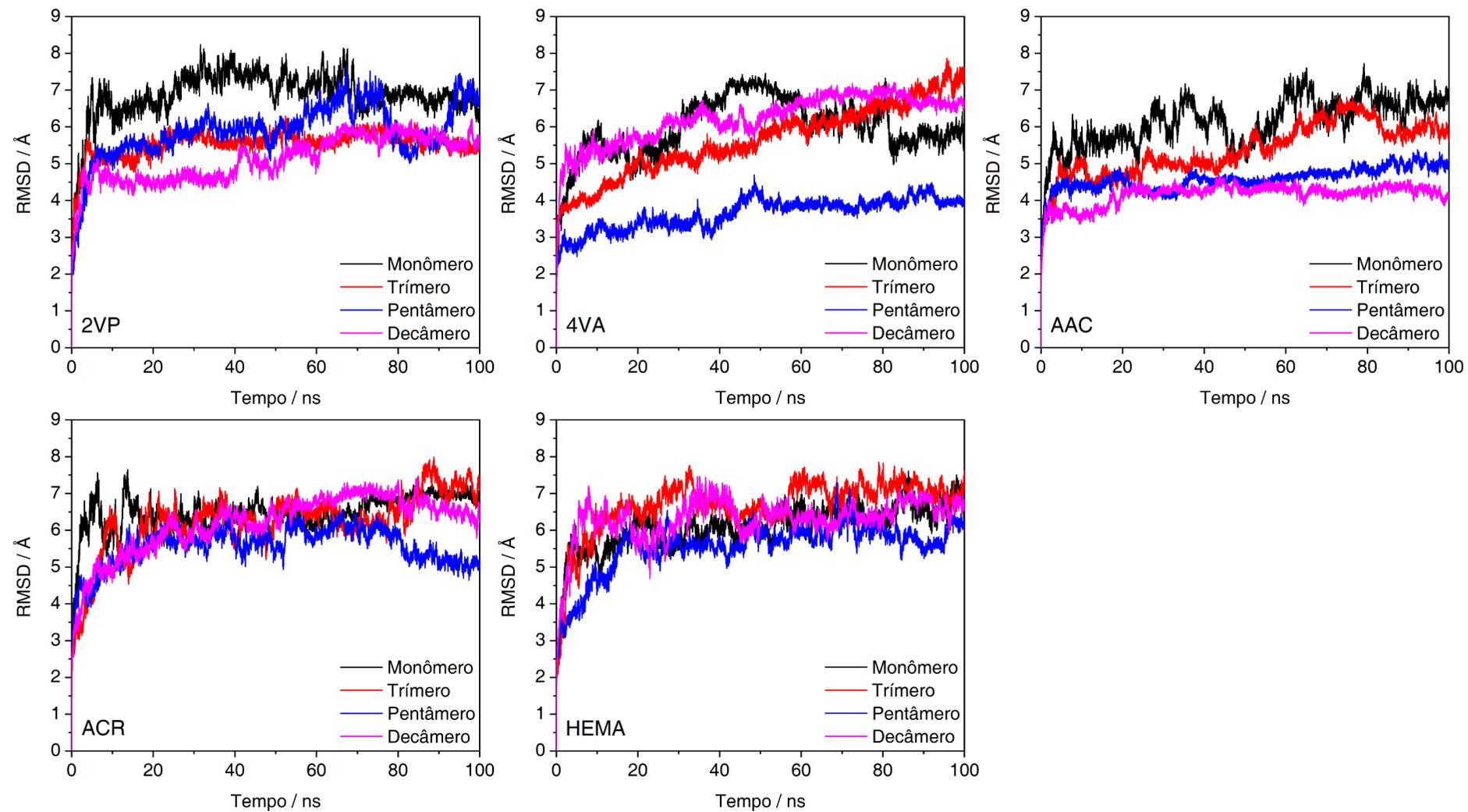
Tabela 5.1.1. Valores médios de RMSD e R_g da estrutura do epítipo em proteína, isolado e restrito.

Sistema	RMSD / Å	R_g / Å
P31 (proteína)	$2,37 \pm 0,18$	$7,20 \pm 0,22$
P31 (isolado)	$6,31 \pm 1,12$	$7,86 \pm 0,77$
P31 (restrito)	$4,72 \pm 0,19$	$7,24 \pm 0,13$

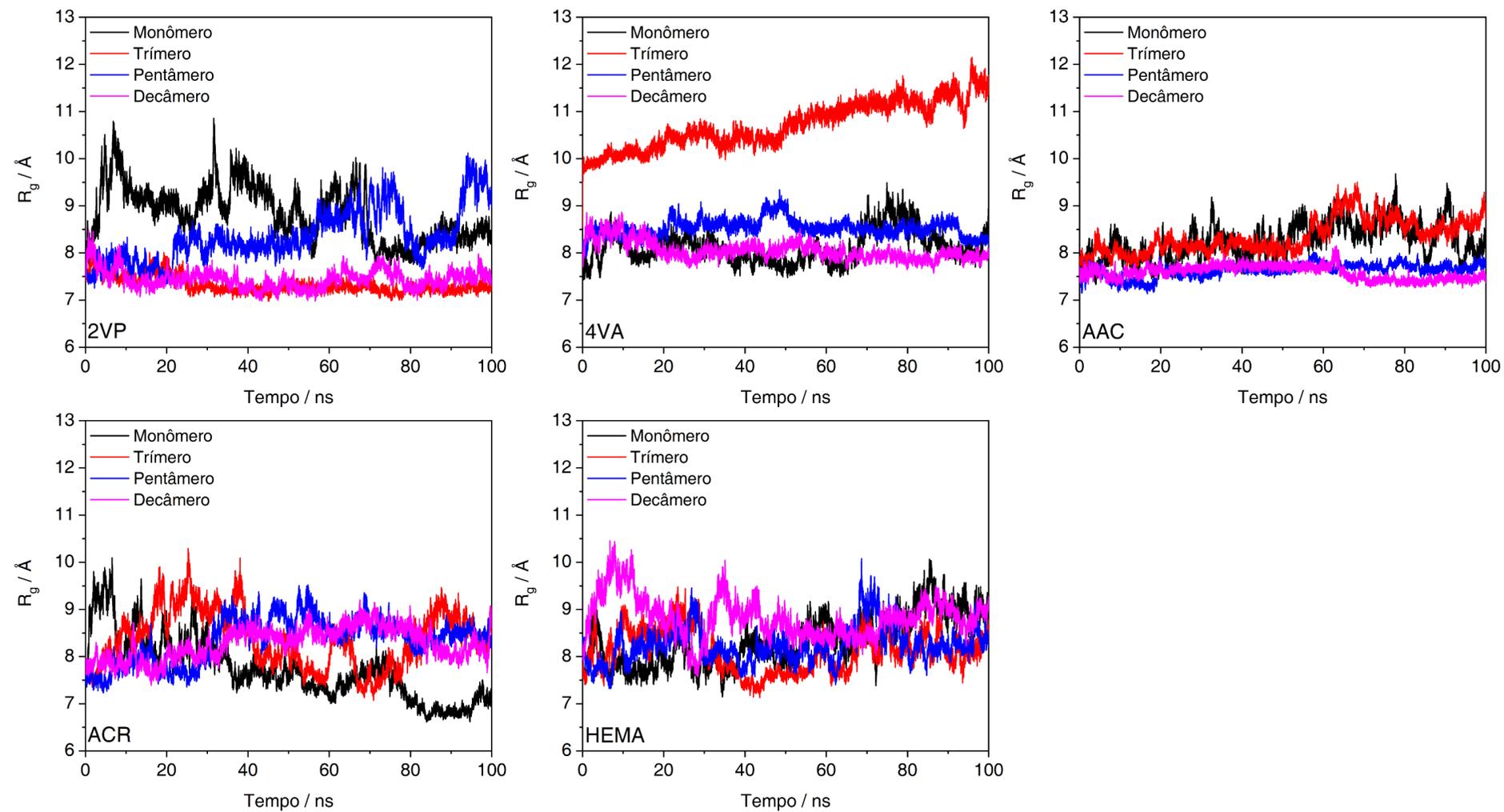
Fonte: Autor, 2022.

A diminuição de RMSD e R_g , especialmente em termos de desvio padrão, reproduzindo o perfil obtido para o epítipo quando inserido em sua proteína de origem (Figura 5.1.3), sugere que, no contexto desse trabalho, a utilização do modelo do epítipo restrito para representar a imobilização do molde molecular é válida e, portanto, este fora escolhido para a descrição do P31 nas simulações subsequentes. Após a avaliação prévia, todas as simulações subsequentes foram realizadas em triplicata e os resultados são mostrados em conjunto, todavia discutidos para cada ligante individualmente. A conservação estrutural do epítipo na presença dos respectivos ligantes e cadeias também foi caracterizada por RMSD e R_g , mostrados nas Figuras 5.1.4–5 e sumariados na Tabela 5.1.2–3, respectivamente.

Figura 5.1.4. RMSD do epítipo na presença dos respectivos ligantes, cadeias oligoméricas e restrito.



Fonte: Autor, 2022

Figura 5.1.5. R_g do epítopo na presença dos respectivos ligantes, cadeias oligoméricas e restrito.

Fonte: Autor, 2022

Tabela 5.1.2. Valores sumariados de RMSD do epítopo.

2VP				
RMSD / Å				
Monômero	6,99 ± 0,40 ^a		<i>d</i>	Magnitude
Trímero	5,60 ± 0,22 ^a	Monômero : Trímero	0,87	Muito forte
Pentâmero	6,04 ± 0,53 ^a	Monômero : Pentâmero	0,70	Forte
Decâmero	5,20 ± 0,54 ^a	Monômero : Decâmero	0,87	Muito forte
4VA				
RMSD / Å				
Monômero	6,12 ± 0,64 ^b		<i>d</i>	Magnitude
Trímero	5,84 ± 0,82 ^b	Monômero : Trímero	0,18	Fraca
Pentâmero	3,73 ± 0,33 ^b	Monômero : Pentâmero	0,87	Muito forte
Decâmero	6,36 ± 0,48 ^b	Monômero : Decâmero	-0,20	Moderada
AAC				
RMSD / Å				
Monômero	6,27 ± 0,54 ^c		<i>d</i>	Magnitude
Trímero	5,49 ± 0,61 ^c	Monômero : Trímero	0,55	Forte
Pentâmero	4,63 ± 0,26 ^c	Monômero : Pentâmero	0,86	Muito forte
Decâmero	4,22 ± 0,19 ^c	Monômero : Decâmero	0,87	Muito forte
ACR				
RMSD / Å				
Monômero	6,54 ± 0,35 ^d		<i>d</i>	Magnitude
Trímero	6,42 ± 0,55 ^d	Monômero : Trímero	0,15	Fraca
Pentâmero	5,67 ± 0,36 ^d	Monômero : Pentâmero	0,80	Muito forte
Decâmero	6,37 ± 0,53 ^d	Monômero : Decâmero	0,13	Fraca
HEMA				
RMSD / Å				
Monômero	6,22 ± 0,44 ^e		<i>d</i>	Magnitude
Trímero	6,86 ± 0,37 ^e	Monômero : Trímero	-0,63	Forte
Pentâmero	5,73 ± 0,38 ^e	Monômero : Pentâmero	0,53	Forte
Decâmero	6,40 ± 0,38 ^e	Monômero : Decâmero	-0,21	Moderada

Notas. Valores mostrados como média ± desvio padrão. Valores seguidos por letras iguais são significativamente diferentes de acordo com o teste de Kruskal-Wallis ($\alpha=0,05$). Magnitudes de *d* em destaque são equiparáveis.

Fonte: Autor, 2022.

Na Figura 5.1.4 e Tabela 5.1.2, dentre os ligantes básicos (2VP e 4VA), as representações oligoméricas que mais contribuíram para a conservação estrutural do epítopo foram a decamérica e pentamérica, com valores de RMSD médios de $5,20 \pm 0,54$ e $3,73 \pm 0,33$ Å, respectivamente. Quando comparado o tamanho do efeito entre monômero e demais cadeias simuladas, para o ligante 2VP, as magnitudes das diferenças foram todas expressivas, sendo a cadeia monomérica aquela que resultou nos maiores valores de RMSD, correspondendo às maiores alterações conformacionais do epítopo. Para o ligante 4VA, as magnitudes das diferenças entre as cadeias monomérica e trimérica/decamérica foram equiparáveis, contudo, para a pentamérica, expressiva, com o monômero também resultando em maiores alterações conformacionais. As diferenças médias absolutas entre as representações monomérica e decamérica são $1,79 \pm 0,67$ e $0,24 \pm 0,80$ Å para 2VP e 4VA, respectivamente, reforçando o que foi observado pela análise do tamanho do efeito.

Dentre os ligante neutros (ACR e HEMA), a representação oligomérica que mais contribuiu, em ambos os casos, para a conservação estrutural do epítipo foi a pentamérica, com valores de RMSD médios de $5,67 \pm 0,36$ e $5,73 \pm 0,38$ Å, respectivamente. Analogamente à discussão anterior, quando comparado o tamanho do efeito, para o ligante ACR, somente a magnitude da diferença entre as cadeias monomérica e pentamérica foi expressiva, sendo a primeira aquela resultando nas maiores variações conformacionais. Para o ligante HEMA, as magnitudes das diferenças entre as cadeias monomérica e trimérica/pentamérica foram expressivas, contudo, nesse caso, a cadeia trimérica apresentou maiores variações conformacionais em relação à monomérica, e a cadeia pentamérica, menores. As diferenças médias absolutas das representações monomérica e decamérica são $0,17 \pm 0,64$ e $0,18 \pm 0,58$ Å para ACR e HEMA, respectivamente.

Por fim, para o ligante ácido (AAC), a representação oligomérica que mais contribuiu para a conservação estrutural do epítipo foi a decamérica, com um valor de RMSD médio de $4,22 \pm 0,19$ Å. Quando comparado o tamanho do efeito, assim como para ligante 2VP, as magnitudes das diferenças foram todas expressivas, sendo a cadeia monomérica aquela que resultou nas maiores alterações conformacionais do epítipo. A diferença média absoluta das representações monomérica e decamérica é $2,05 \pm 0,57$ Å.

Ainda que a influência das cadeias monomérica e decamérica na conservação estrutural do epítipo tenham sido equiparáveis para os ligantes 4VA, ACR e HEMA, a diferença entre as cadeias monomérica e pentamérica foi expressiva para todos os ligantes e, no caso de 2VP, AAC e HEMA, até mesmo entre as cadeias monomérica e trimérica. Dado que o número de grupos funcionais permanece constante independente da representação oligomérica, os comportamentos observados nos permitem inferir que o fator estérico associado à extensão da cadeia tem um papel considerável no estudo da conservação estrutural de um molde molecular, sobretudo de origem biológica.

Tabela 5.1.3. Valores sumariados de R_g do epítipo.

2VP				
$R_g / \text{Å}$				
Monômero	$8,80 \pm 0,53^a$		<i>d</i>	Magnitude
Trímero	$7,30 \pm 0,14^a$	Monômero : Trímero	0,87	Muito forte
Pentâmero	$8,42 \pm 0,54^a$	Monômero : Pentâmero	0,34	Moderada
Decâmero	$7,42 \pm 0,16^a$	Monômero : Decâmero	0,87	Muito forte
4VA				
$R_g / \text{Å}$				
Monômero	$8,12 \pm 0,33^b$		<i>d</i>	Magnitude
Trímero	$10,80 \pm 0,44^b$	Monômero : Trímero	-0,87	Muito forte
Pentâmero	$8,54 \pm 0,17^b$	Monômero : Pentâmero	-0,63	Forte
Decâmero	$8,01 \pm 0,15^b$	Monômero : Decâmero	0,11	Fraca
AAC				
$R_g / \text{Å}$				
Monômero	$8,29 \pm 0,37^c$		<i>d</i>	Magnitude
Trímero	$8,39 \pm 0,34^c$	Monômero : Trímero	-0,12	Fraca
Pentâmero	$7,64 \pm 0,13^c$	Monômero : Pentâmero	0,79	Forte
Decâmero	$7,59 \pm 0,14^c$	Monômero : Decâmero	0,81	Muito forte
ACR				
$R_g / \text{Å}$				
Monômero	$7,61 \pm 0,55^d$		<i>d</i>	Magnitude
Trímero	$8,41 \pm 0,61^d$	Monômero : Trímero	-0,57	Forte
Pentâmero	$8,43 \pm 0,42^d$	Monômero : Pentâmero	-0,65	Forte
Decâmero	$8,32 \pm 0,32^d$	Monômero : Decâmero	-0,63	Forte
HEMA				
$R_g / \text{Å}$				
Monômero	$8,35 \pm 0,54^e$		<i>d</i>	Magnitude
Trímero	$8,12 \pm 0,44^e$	Monômero : Trímero	0,21	Moderada
Pentâmero	$8,28 \pm 0,36^e$	Monômero : Pentâmero	0,05	Fraca
Decâmero	$8,77 \pm 0,38^e$	Monômero : Decâmero	-0,39	Moderada

Notas. Valores mostrados como média \pm desvio padrão. Valores seguidos por letras iguais são significativamente diferentes de acordo com o teste de Kruskal-Wallis ($\alpha=0,05$). Magnitudes de *d* em destaque são equiparáveis.

Fonte: Autor, 2022.

Na Figura 5.1.5 e Tabela 5.1.3, dentre os ligantes básicos (2VP e 4VA), as representações oligoméricas que mais contribuiram para a compactação estrutural do epítipo foram a trimérica e decamérica, com valores de R_g médios de $7,30 \pm 0,14$ e $8,01 \pm 0,15$ Å, respectivamente. Quando comparado o tamanho do efeito, para o ligante 2VP, as magnitudes das diferenças foram expressivas somente entre as cadeias monomérica e trimérica/decamérica, sendo a cadeia monomérica aquela que resultou, em ambos os casos, nos maiores valores de R_g , correspondendo à menores compactações estruturais do epítipo. Para o ligante 4VA, as magnitudes das diferenças entre as cadeias monomérica e trimérica/pentamérica foram expressivas, contudo, nesse caso, a cadeia monomérica apresentou maior compactação estrutural. As diferenças médias absolutas entre as representações monomérica e decamérica são $1,38 \pm 0,55$ e $0,11 \pm 0,36$ Å para 2VP e 4VA, respectivamente, reforçando o que foi observado pela análise do tamanho do efeito.

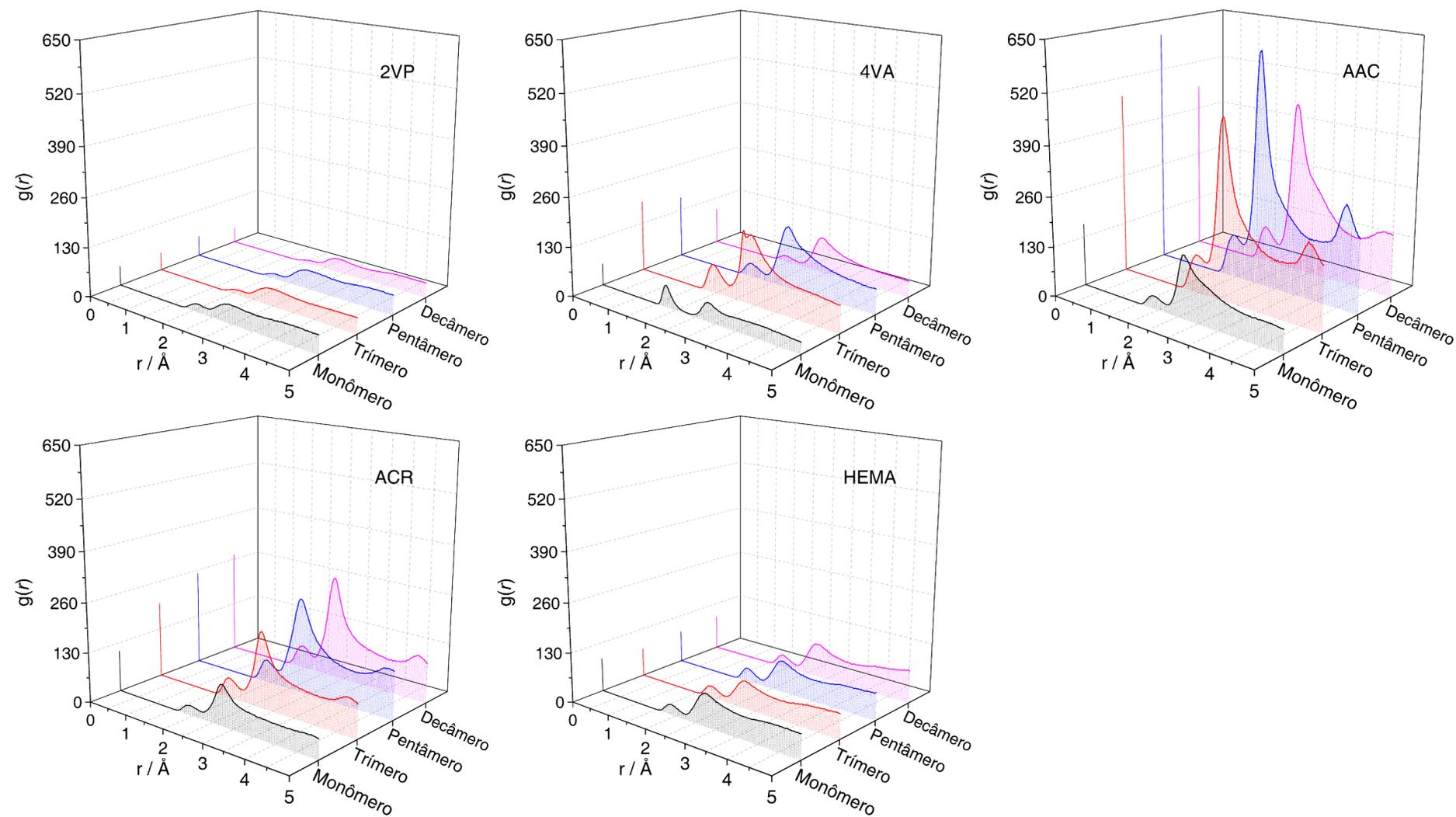
Dentre os ligantes neutros (ACR e HEMA), foi observado que, para HEMA, o menor valor de R_g médio foi de $8,12 \pm 0,44$ Å, correspondente à cadeia trimérica, contudo, em termos de tamanho do efeito, todas as representações oligoméricas apresentaram compactação estrutural equiparáveis. Para o ligante ACR, a representação oligomérica que mais contribuiu para a compactação estrutural do epítipo foi a monomérica, com um valor de R_g médio de $7,61 \pm 0,55$ Å, e as magnitudes das diferenças entre esta cadeia e as demais foram todas expressivas. As diferenças médias absolutas das representações monomérica e decamérica são $0,71 \pm 0,64$ e $0,42 \pm 0,66$ Å para ACR e HEMA, respectivamente.

Em relação ao ligante ácido (AAC), a representação oligomérica que mais contribuiu para a compactação estrutural foi a decamérica, com um valor de R_g médio de $7,59 \pm 0,14$ Å. Quando comparado o tamanho do efeito, apenas as magnitudes das diferenças entre as cadeias monomérica e pentamérica/decamérica foram expressivas, sendo a cadeia monomérica aquela que resultou na menor compactação estrutural do epítipo. A diferença média absoluta das representações monomérica e decamérica é $0,70 \pm 0,40$ Å.

Com exceção do ligante 2VP, as diferenças entre as cadeias monomérica e decamérica foram relativamente pequenas, inferiores a 1 Å. Entretanto, analisando os desvios-padrões dos conjuntos de dados que descreveram o perfil de compactação do epítipo frente a cada ligante, nota-se que o crescimento da cadeia oligomérica reduz a dispersão desses dados, sugerindo que, na presença de cadeias maiores, o processo de compactação e descompactação estrutural é mais suave. Este comportamento é justificado pelo fato de que cadeias maiores apresentam maior rigidez conformacional e, portanto, quando agregadas ao redor epítipo, dificultam sua mobilidade em solução, suavizando o processo de compactação e descompactação estrutural.

Em resumo, os resultados de RMSD e R_g foram correlatos e evidenciaram que fatores estéricos, como a hidrofobicidade e o impedimento estérico, associados ao tamanho da cadeia oligomérica, influenciam os resultados de conservação estrutural do molde, impactando, inclusive, na seleção dos melhores ligantes funcionais. Dada a importância dessa conservação, sobretudo para moldes de origem biológica, e o método utilizado neste trabalho ser capaz de descrever certa correlação estérica-interativa, o uso de cadeias maiores para a seleção de ligantes funcionais não somente se justifica, como se faz necessária.

5.2 Função de correlação de pares ($g(r)$)

Figura 5.2.1. $g(r)$ dos ligantes ao redor do epítipo em função dos ligantes.

Fonte: Autor, 2022.

Seguindo a caracterização estrutural, os sistemas foram investigados quanto ao perfil de distribuição ligante-epítipo, analisando a função de correlação de pares ($g(r)$). O perfil de distribuição dos ligantes ao redor do epítipo foi apresentado em função dos tipos de ligantes e do crescimento da cadeia oligomérica nas Figuras 5.2.1–2, respectivamente. Os pares selecionados para o cálculo da distribuição radial foram os átomos do epítipo e os átomos polares dos ligantes, representados em cor na Figura 1.4, com exceção do oxigênio do grupo alcóxi do HEMA.

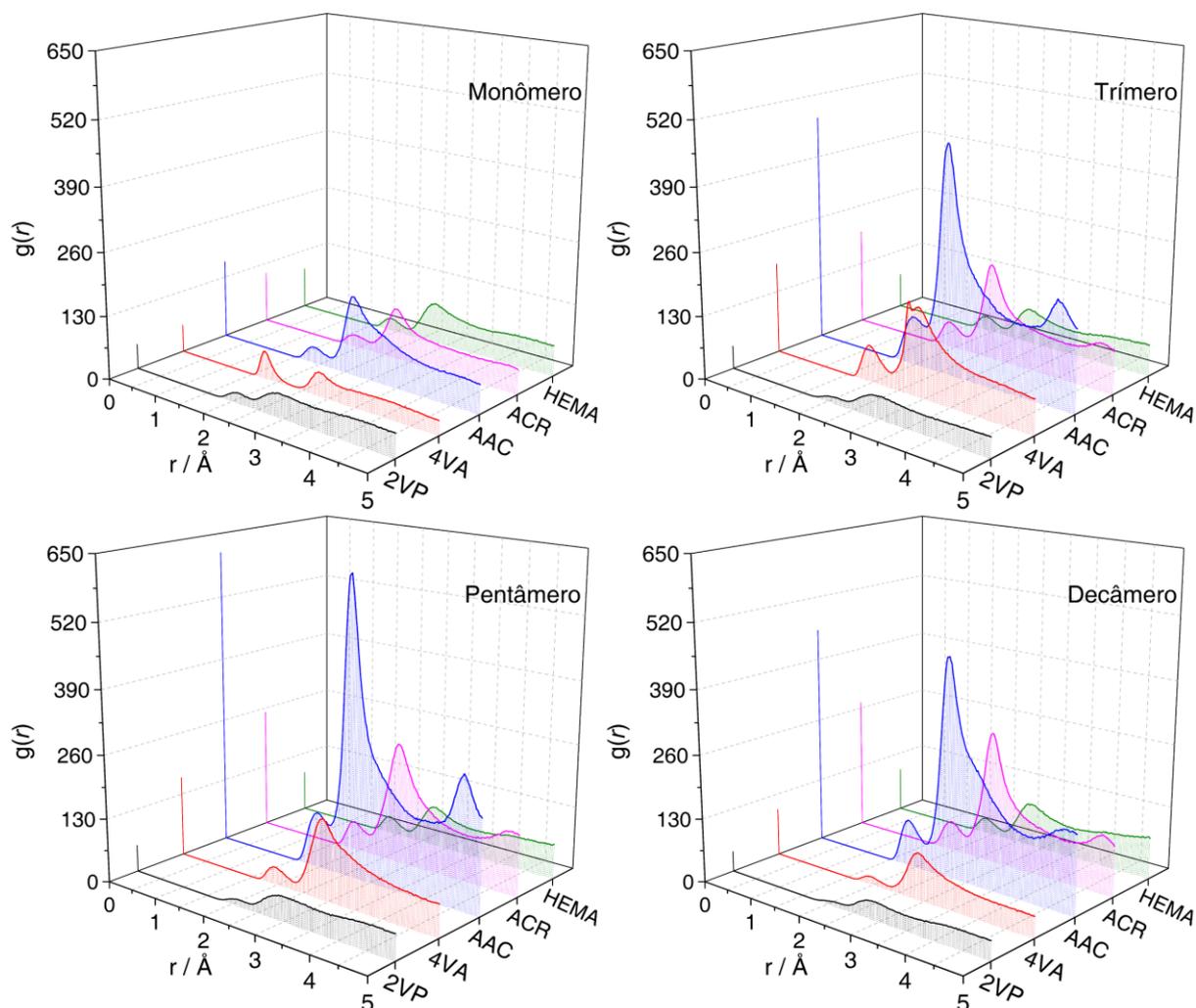
Na Figura 5.2.1, o perfil de distribuição dos ligantes 2VP e HEMA não se alterou com a extensão da cadeia oligomérica. Considerando-se que a proximidade dos pares está diretamente relacionada à interatividade deles, os resultados sugerem que até a distância limite de 5 Å, estes ligantes interajam com o epítipo, contudo em menor escala em comparação aos demais. Os dois pequenos picos de proximidade em $1,87 \pm 0,03$ e $2,79 \pm 0,01$ Å para o HEMA sugerem que existam duas regiões de maior interação entre o ligante e o molde, todavia em baixa intensidade. Regiões de maior interação não são observadas para o 2VP.

Para os ligantes 4VA, AAC e ACR, há uma diferença qualitativa considerável associada à extensão da cadeia, todavia, não de forma diretamente proporcional. Para o ligante 4VA, observa-se regiões de maior interação em $1,86 \pm 0,10$ e $2,87 \pm 0,05$ Å, respectivamente. Há um alongamento dos picos entre as cadeias monomérica e trimérica, e um achatamento para as demais, sugerindo que o aumento gradativo desse ligante dificulta sua interação com o molde.

Para o ligante AAC, observa-se regiões de maior interação em $1,91 \pm 0,05$; $2,66 \pm 0,02$ e $4,67 \pm 0,01$ Å. Há um alongamento dos picos em função do crescimento da cadeia até a representação pentamérica, seguido de um encurtamento na decamérica. Somente as cadeias trimérica e pentamérica apresentaram a terceira região de maior interação, podendo significar que essa região não seja facilmente acessível para estruturas muito pequenas ou muito grandes.

Para o ligante ACR, observa-se regiões de maior interação em $1,93 \pm 0,01$ e $2,75 \pm 0,01$ Å. Há um alongamento progressivo dos picos em função do crescimento das cadeias, sobretudo na segunda região de maior interação.

Figura 5.2.2. $g(r)$ das cadeias oligoméricas ao redor do epítipo em função da cadeia oligomérica.



Fonte: Autor, 2022.

Considerando os mesmos perfis de distribuição dos ligantes, porém em função do tamanho da cadeia oligomérica, mostrados na Figura 5.2.2, é possível avaliar os resultados obtidos pela perspectiva da seleção de ligantes para a impressão molecular, isto é, classificação dos ligantes de acordo com o alongamento dos picos da função de correlação.

Observa-se que o aumento do tamanho das cadeias acentua a diferença entre os ligantes, sobretudo nas cadeias maiores. O ligante 4VA, por exemplo, apresenta picos de interação comparáveis aos do ligante ACR nas representações monomérica e trimérica, contudo, isto não é observado nas representações pentamérica e decamérica. Em relação ao ligante AAC, ainda que haja um encurtamento dos picos da segunda região de maior interação entre as representações pentamérica e decamérica, a diferença desse ligante em relação aos demais é considerável em todas as representações oligoméricas. No contexto da seleção de ligantes

baseada em perfis de proximidade, os resultados sugerem que desconsiderar o fator estérico resultante do tamanho da cadeia não somente dificulta a diferenciação dos ligantes como também pode levar a resultados equivocados, caso avalie-se o segundo ligante mais interativo.

Apesar de ter havido diferença de alongamento dos picos de distribuição entre os ligantes, é evidente que as regiões se encontraram a distâncias equiparáveis, sugerindo que o mecanismo de interação entre epítipo e ligantes seja semelhante, exceto para o ligante 2VP que não apresentou pico.

Dado a importância de interações do tipo ligação de hidrogênio para a orientação conformacional e reconhecimento molecular de peptídeos (HUBBARD; KAMRAN HAIDER, 2010; PACE et al., 2014), associada às duas regiões de maior interação se encontrarem a distâncias inferiores à 3,5 Å entre os pares analisados, valor descrito na Subseção 3.5 como sendo geometricamente característico de uma interação do tipo ligação de hidrogênio para os sistemas simulados, considera-se que essa proximidade possa ser resultante de interações do tipo ligação de hidrogênio.

5.3 Ligações de Hidrogênio

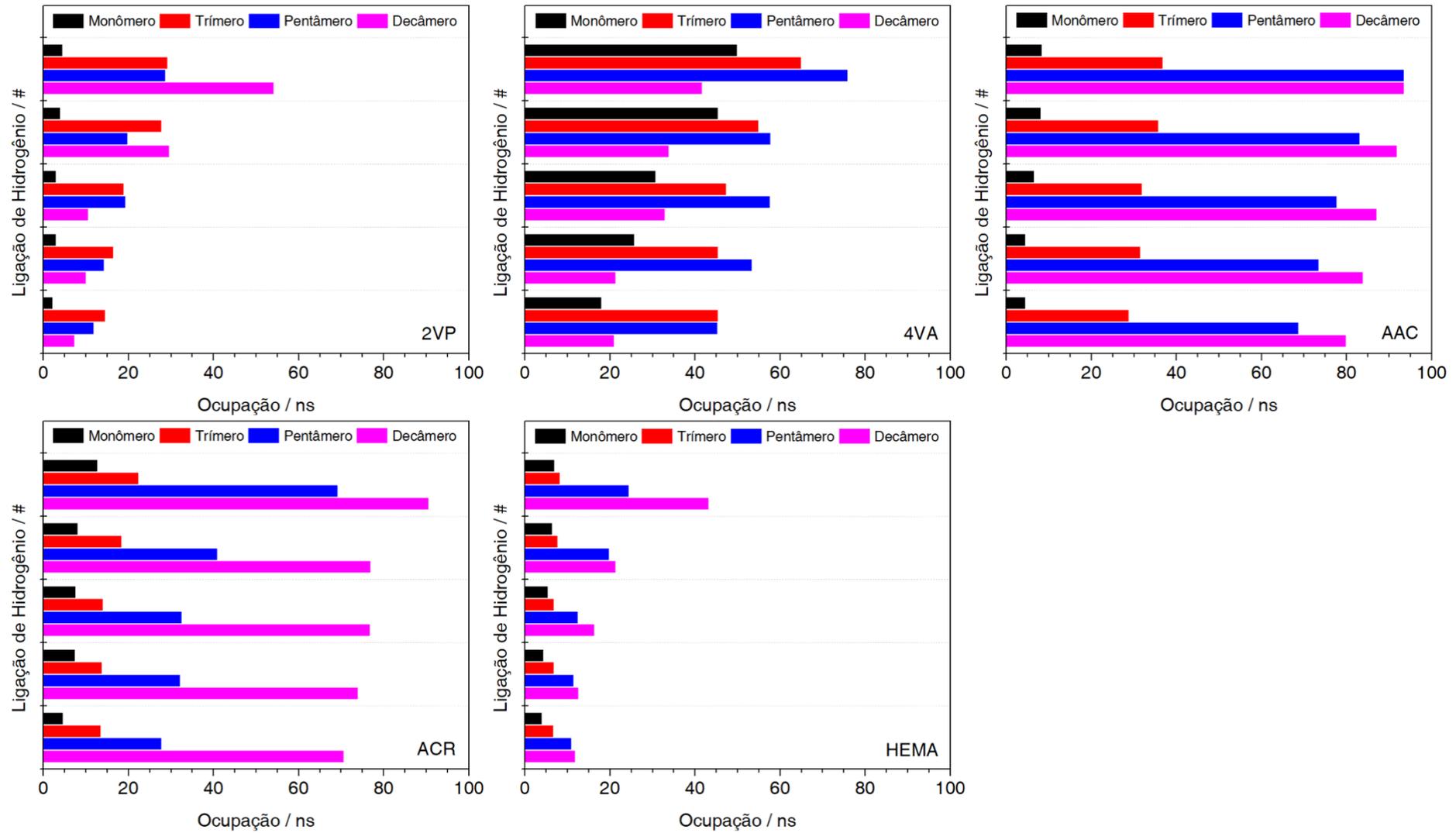
Para examinar o perfil interativo em função apenas desse tipo de interação, nas Figuras 5.3.1–2 e Tabela 5.3.1–2 são apresentados os tempos de ocupação dessas interações ao longo das trajetórias e os números médio e máximo de ligações de hidrogênio. Somente as cinco interações com maior tempo de ocupação foram mostradas e discutidas, em razão de terem sido suficientes para elucidar o comportamento obtido.

Tabela 5.3.1. Tempo de ocupação de interações do tipo ligações de hidrogênio ao longo das triplicatas de 100 ns.

Tempo de Ocupação / ns									
2VP	4VA	AAC	ACR	HEMA	2VP	4VA	AAC	ACR	HEMA
Monômero					Trímero				
4,50	49,99	8,35	12,82	7,03	29,23	64,92	36,84	22,47	8,31
3,97	45,39	8,11	8,18	6,47	27,88	55,02	35,81	18,43	7,74
3,05	30,82	6,61	7,66	5,40	18,90	47,34	31,89	14,01	6,88
3,05	25,76	4,57	7,48	4,46	16,57	45,47	31,55	13,80	6,83
2,29	18,00	4,50	4,61	4,09	14,55	45,46	28,89	13,54	6,77
Pentâmero					Decâmero				
28,73	75,93	93,55	69,26	24,53	54,24	41,67	93,55	90,53	43,31
19,87	57,76	83,13	40,93	19,89	29,67	33,84	91,85	76,96	21,35
19,28	57,69	77,72	32,61	12,57	10,60	32,96	87,17	76,76	16,34
14,32	53,45	73,53	32,16	11,46	10,12	21,42	83,85	74,00	12,66
11,93	45,32	68,78	27,77	10,96	7,37	21,03	79,87	70,60	11,93

Fonte: Autor, 2022.

Figura 5.3.1. Tempo de ocupação de ligações de hidrogênio entre ligantes e epítipo em função dos ligantes.



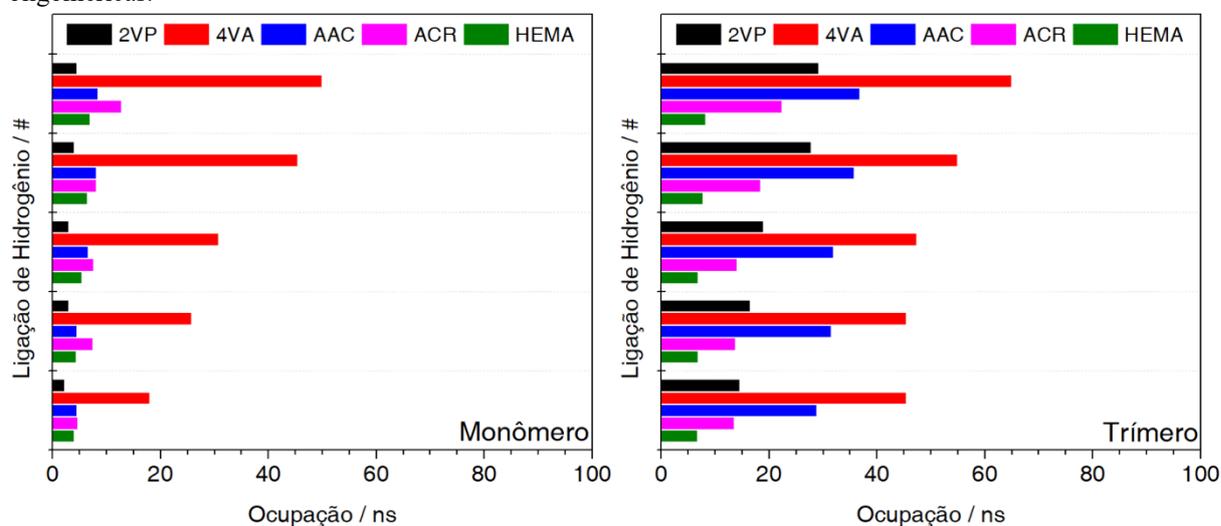
Fonte: Autor, 2022

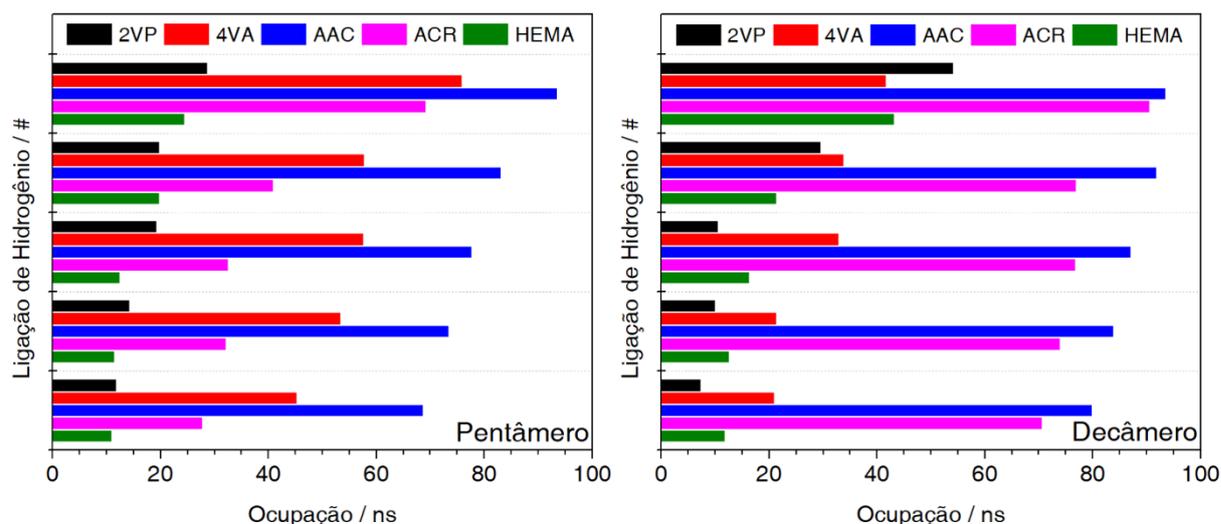
Na Figura 5.3.1 e Tabela 5.3.1, para todos os ligantes investigados, o tempo de ocupação foi diretamente proporcional à extensão da cadeia até a representação pentamérica, exceto para o 2VP, que se manteve relativamente próximo à representação anterior. O aumento da cadeia para a representação decamérica resultou em reduções consideráveis dos tempos de ocupação das interações com os ligantes básicos, especialmente o 4VA, o que pode ser atribuído ao aumento de hidrofobicidade, associado ao efeito estérico causado pelos dez anéis aromáticos presentes em cada estrutura, sendo suficiente para perturbar e dificultar a manutenção das redes de interações de ligações de hidrogênio.

Os ligantes AAC e ACR, com o menor impedimento estérico dentre os simulados, apresentaram um aumento acentuado dos tempos de ocupação, enquanto o ligante HEMA, com maior impedimento, todavia não hidrofóbico como os ligantes básicos, apresentou um aumento moderado. Os aumentos observados estão em concordância com o fato de que a interatividade ligante-molde em diferentes representações oligoméricas não somente é influenciada pelo impedimento estérico dos ligantes, mas também pela repulsão hidrofóbica resultante da natureza química deles.

Quando se compara, na Figura 5.3.2, os tempos de ocupação dos ligantes em função do aumento das cadeias, os resultados mostram como o fator estérico impacta na manutenção desse tipo de interação. Considerando-se apenas os dois ligantes mais interativos, se apenas o critério de tempo de ocupação fosse avaliado para a seleção de ligantes, cada representação resultaria em uma classificação, sendo esta 4VA/ACR (Monômero), 4VA/AAC (Trímero), AAC/4VA (Pentâmero) e AAC/ACR (Decâmero).

Figura 5.3.2. Tempo de ocupação de ligações de hidrogênio entre ligantes e epítipo em função das cadeias oligoméricas.





Fonte: Autor, 2022

Por fim, nas Tabela 5.3.2–3, a consequência dos efeitos estéricos discutidos pode ser visualizada em função dos números médio e máximo de ligações de hidrogênio entre epítopo-ligantes ao longo da trajetória. Nesse caso, o número máximo foi considerado por caracterizar o instante de maior interatividade entre os pares analisados em termos desse tipo específico de interação.

Tabela 5.3.2. Valores médios de ligações de hidrogênio.

2VP				
Nº médio de ligações de H				
Monômero	$1,11 \pm 0,49^a$		<i>d</i>	Magnitude
Trímero	$0,74 \pm 0,36^a$	Monômero : Trímero	0,40	Moderada
Pentâmero	$0,59 \pm 0,36^a$	Monômero : Pentâmero	0,52	Forte
Decâmero	$0,53 \pm 0,26^a$	Monômero : Decâmero	0,61	Forte
4VA				
Nº médio de ligações de H				
Monômero	$4,06 \pm 1,17^b$		<i>d</i>	Magnitude
Trímero	$10,04 \pm 1,86^b$	Monômero : Trímero	-0,86	Muito forte
Pentâmero	$6,25 \pm 1,05^b$	Monômero : Pentâmero	-0,73	Forte
Decâmero	$3,76 \pm 1,06^b$	Monômero : Decâmero	0,16	Fraca
AAC				
Nº médio de ligações de H				
Monômero	$4,31 \pm 1,33^c$		<i>d</i>	Magnitude
Trímero	$13,78 \pm 2,14^c$	Monômero : Trímero	-0,87	Muito forte
Pentâmero	$18,72 \pm 3,00^c$	Monômero : Pentâmero	-0,87	Muito forte
Decâmero	$13,38 \pm 1,53^c$	Monômero : Decâmero	-0,87	Muito forte
ACR				
Nº médio de ligações de H				
Monômero	$3,55 \pm 1,33^d$		<i>d</i>	Magnitude
Trímero	$7,40 \pm 2,29^d$	Monômero : Trímero	-0,74	Forte
Pentâmero	$8,51 \pm 2,02^d$	Monômero : Pentâmero	-0,83	Muito forte
Decâmero	$10,02 \pm 1,99^d$	Monômero : Decâmero	-0,86	Muito forte

HEMA				
Nº médio de ligações de H				
Monômero	2,07 ± 0,85 ^e		<i>d</i>	Magnitude
Trímero	2,13 ± 0,88 ^e	Monômero : Trímero	-0,03	Fraca
Pentâmero	2,47 ± 0,72 ^e	Monômero : Pentâmero	-0,24	Moderada
Decâmero	2,21 ± 0,85 ^e	Monômero : Decâmero	-0,08	Fraca

Notas. Valores mostrados como média ± desvio padrão. Valores seguidos por letras iguais são significativamente diferentes de acordo com o teste *H* de Kruskal-Wallis ($\alpha=0,05$). Magnitudes de *d* em destaque são equiparáveis.

Fonte: Autor, 2022.

Na Tabela 5.3.2, dentre os ligantes básicos (2VP e 4VA), as representações oligoméricas que mais apresentaram interações foram a monomérica e trimérica, com valores médios de $1,11 \pm 0,49$ e $10,04 \pm 1,86$ ligações de hidrogênio, respectivamente. Quando comparado o tamanho do efeito, para o ligante 2VP, as magnitudes das diferenças foram expressivas somente entre as cadeias monomérica e pentamérica/decamérica, sendo a cadeia monomérica aquela que resultou no maior número de interações. Considerando a quantidade de interações observada, o perfil de proximidade e os tempos de ocupação mostrados anteriormente, entende-se que as interações sejam mínimas, breves e sejam resultantes de uma baixa variabilidade de ligantes. Para o ligante 4VA, as magnitudes das diferenças entre as cadeias monomérica e trimérica/pentamérica foram expressivas, com a cadeia monomérica apresentando o menor número de interações, reforçando a interpretação de que a hidrofobicidade da cadeia decamérica sobrepõe-se às interações presentes até as cadeias anteriores. As diferenças médias absolutas das representações monomérica e decamérica são $0,58 \pm 0,55$ e $0,30 \pm 1,58$ interação para 2VP e 4VA, respectivamente.

Dentre os ligantes neutros (ACR e HEMA), foi observado que, para HEMA, o maior valor médio foi de $2,47 \pm 0,72$ ligações de hidrogênio, correspondente à cadeia pentamérica, contudo, em termos de tamanho do efeito, todas as representações oligoméricas foram equiparáveis. Para o ligante ACR, a representação oligomérica que mais apresentou interações foi a decamérica, com um valor médio de $10,02 \pm 1,99$ ligações de hidrogênio, e as magnitudes das diferenças entre a cadeia monomérica e as demais foram todas expressivas, com a primeira sendo aquela com o menor número de interações. As diferenças médias absolutas das representações monomérica e decamérica foram $6,47 \pm 2,39$ e $0,14 \pm 1,20$ interações para ACR e HEMA, respectivamente.

Em relação ao ligante ácido (AAC), a representação oligomérica que mais interagiu foi a pentamérica, com um valor médio de $18,72 \pm 3,00$ interações. Quando comparado o tamanho do efeito, as magnitudes das diferenças entre a cadeia monomérica e as demais foram todas

expressivas, sendo a cadeia monomérica aquela com o menor número de interações. A diferença média absoluta das representações monomérica e decamérica foi de $9,07 \pm 2,03$ interações.

Tabela 5.3.3. Número máximo de ligações de hidrogênio.

	Nº máximo de ligações de H				
	2VP	4VA	AAC	ACR	HEMA
Monômero	9	16	18	15	12
Trímero	5	23	30	23	12
Pentâmero	4	17	38	24	12
Decâmero	3	17	32	25	11

Fonte: Autor, 2022.

Em termos de número máximo de ligações de hidrogênio (Tabela 5.3.3), os resultados reforçam como o aumento da cadeia e, conseqüentemente, o fator estérico, não se dá de forma igual para todos os ligantes. Para o ligante 2VP, o aumento da cadeia reduz o número máximo de interações. Quando apenas as representações monomérica e decamérica são comparadas, há uma redução de 6 ligações de hidrogênio, valor aproximadamente seis vezes maior que o maior número médio de ligações observadas para esse ligante, na Tabela 5.3.2.

Para o ligante 4VP, o número máximo de ligações inicialmente aumenta, porém retorna para valores equivalentes ao da representação monomérica. Quando os números máximo e médio de ligações de hidrogênio são comparados, observa-se que apesar do número máximo permanecer constante, o número médio diminui. Esse comportamento pode ser explicado considerando que, no momento de maior interação, menos ligantes se aproximam do epítipo, porém sem a alteração do número de grupos funcionais, condição esperada quando algumas das cadeias maiores dificultam a aproximação das outras.

Para os ligantes AAC, ACR e HEMA, o comportamento é análogo ao visualizado para o número médio de ligações de hidrogênio. Quando apenas as representações monomérica e decamérica são comparadas, há um aumento de 14 e 10 ligações de hidrogênio para os ligantes AAC e ACR, e o número permanece relativamente constante para o HEMA.

Os resultados obtidos na Tabela 5.3.3 são correlatos àqueles mostrados para o perfil de distribuição dos ligantes (Figuras 5.2.1–2), isto é, observa-se que o aumento do tamanho das cadeias acentua a diferença entre os ligantes, sobretudo entre as cadeias maiores. Considerando-se apenas os dois ligantes mais interativos, se apenas o critério de número máximo fosse avaliado para a seleção de ligantes, os ligantes 4VA e ACR seriam equivalentes nas representações monomérica e trimérica, porém o mesmo não seria observado para as demais representações.

Em resumo, os resultados obtidos das análises de função de correlação de pares, tempos de ocupação e número médio e máximo de ligações de hidrogênios foram correlatos e evidenciaram que efeitos estéricos, associados ao tamanho da cadeia oligomérica, influenciam os resultados, todavia não impactando na seleção do ligante funcional mais interativo, mas somente acentuando a diferenciação já observada entre eles. Nesse sentido, dado que os comportamentos obtidos para as quatro representações foram equivalentes, o uso de cadeias maiores, em vez da monomérica, não se justifica.

No geral, todas as análises mostraram que o tamanho da cadeia oligomérica influencia os resultados. Para as análises estruturais (RMSD e R_g), essa influência impactou a seleção do ligante funcional mais interativo e, para as análises de interatividade ($g(r)$, tempos de ocupação, número médio e máximo de interações), não. Em ambos os casos, o tamanho da cadeia acentuou a diferença entre os ligantes. Considerando que a abordagem computacional é utilizada, principalmente, para auxiliar na seleção do ligante funcional, e que existem limitações nos sistemas simulados neste trabalho, os resultados indicam que a utilização de cadeias oligoméricas maiores se justifica somente quando caracterizações estruturais do molde molecular forem essenciais, isto é, quando este apresentar grande flexibilidade estrutural, como no caso de moldes de origem biológica.

6 Conclusões

Este trabalho orientou-se no questionamento se o crescimento polimérico de um ligante funcional pode influenciar a fase de complexação da impressão molecular de um molde biológico. Para tanto, os ligantes funcionais 2-vinilpiridina (2VP), 4-vinilanilina (4VA), ácido acrílico (AAC), acrilamida (ACR) e 2-hidroxiethylmetacrilato (HEMA), nas representações mono-, tri-, penta- e decamérica, em associação com um epítipo proveniente do vírus Zika e usando água como solvente, foram simulados a partir da metodologia de Dinâmica Molecular clássica. Todos os resultados obtidos mostraram que existe uma influência da extensão do ligante funcional na fase de complexação de um molde biológico, algo esperado devido ao melhor empacotamento dos ligantes ao redor do molde e aos efeitos estéricos provenientes de estruturas maiores. Entretanto, não foi observado o mesmo padrão de comportamento dos oligômeros em comparação aos monômeros para todas as análises realizadas. Para análises estruturais, o tamanho da cadeia impactou na seleção do melhor ligante funcional e, para análises interativas, não. Assim, com base no conjunto de resultados obtidos e as limitações dos sistemas simulados neste estudo, a utilização de diferentes tamanhos de cadeias de ligantes funcionais parece, sobretudo, acentuar e facilitar a diferenciação entre os ligantes, porém não necessariamente alterando o comportamento observado para os monômeros, a não ser quando alterações estruturais são avaliadas.

Considerando as contribuições positivas observadas com o uso de cadeias oligoméricas maiores em simulações com molde molecular de origem biológica, as conclusões gerais do trabalho são que, para uma melhor fundamentação do complexo molde biológico-ligante, não somente propriedades interativas sejam avaliadas, mas também propriedades estruturais, e que sejam associados, pelo menos, dois tamanhos diferentes de cadeias de ligantes funcionais, com o propósito de explorar momentos distintos da impressão molecular.

Referências Bibliográficas

ABRAHAM, Mark James; MURTOLO, Teemu; SCHULZ, Roland; PÁLL, Szilárd; SMITH, Jeremy C.; HESS, Berk; LINDAH, Erik. Gromacs: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. **SoftwareX**, Amsterdam, v. 1–2, p. 19–25, 2015. DOI: 10.1016/j.softx.2015.06.001. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2352711015000059>.

ALDER, B. J.; WAINWRIGHT, T. E. Studies in molecular dynamics. I. General method. **The Journal of Chemical Physics**, Lancaster, v. 31, n. 2, p. 459–466, 1959. DOI: 10.1063/1.1730376. Disponível em: <http://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.1730376>.

ALLEN, Michael P.; TILDESLEY, Dominic J. **Computer Simulation of Liquids**. 2nd. ed. United Kingdom: Oxford University Press, 2017.

ALTINTAS, Zeynep; TAKIDEN, Aref; UTESCH, Tillmann; MROGINSKI, Maria A.; SCHMID, Bianca; SCHELLER, Frieder W.; SÜSSMUTH, Roderich D. Integrated Approaches Toward High-Affinity Artificial Protein Binders Obtained via Computationally Simulated Epitopes for Protein Recognition. **Advanced Functional Materials**, Weinheim, v. 29, n. 15, p. 1807332, 2019. DOI: 10.1002/adfm.201807332. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/adfm.201807332>.

ANSARI, Saeedeh; KARIMI, Majid. Novel developments and trends of analytical methods for drug analysis in biological and environmental samples by molecularly imprinted polymers. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 89, p. 146–162, 2017. DOI: 10.1016/j.trac.2017.02.002. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165993616304083>.

ANSARI, Saeedeh; MASOUM, Saeed. Molecularly imprinted polymers for capturing and sensing proteins: Current progress and future implications. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 114, p. 29–47, 2019. DOI: 10.1016/j.trac.2019.02.008. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165993618306198>.

AZEREDO, Elzinandes Leal et al. Clinical and Laboratory Profile of Zika and Dengue Infected Patients: Lessons Learned From the Co-circulation of Dengue, Zika and Chikungunya in Brazil. **PLoS Currents**, San Francisco, 2018. DOI: 10.1371/currents.outbreaks.0bf6aeb4d30824de63c4d5d745b217f5. Disponível em: <https://currents.plos.org/outbreaks/?p=75762>.

BARBANI, Nicoletta; ROSELLINI, Elisabetta; DONATI, Marco; COSTANTINO, Paolo; CRISTALLINI, Caterina; CIARDELLI, Gianluca. Molecularly imprinted polymers by phase inversion technique for the selective recognition of saccharides of biomedical interest in aqueous solutions. **Polymer International**, London, v. 66, n. 6, p. 900–907, 2017. DOI: 10.1002/pi.5334. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/pi.5334>.

BAYLY, Christopher I. et al. A Second Generation Force Field for the Simulation of Proteins, Nucleic Acids, and Organic Molecules. **Journal of the American Chemical Society**, Easton, v. 117, n. 19, p. 5179–5197, 1995. DOI: 10.1021/ja00124a002. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja00124a002>.

BELBRUNO, Joseph J. Molecularly Imprinted Polymers. **Chemical Reviews**, Easton, v. 119, n. 1, p. 94–119, 2019. DOI: 10.1021/acs.chemrev.8b00171. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.chemrev.8b00171>.

BERENDSEN, H. J. C.; POSTMA, J. P. M.; VAN GUNSTEREN, W. F.; HERMANS, J. Interaction Models for Water in Relation to Protein Hydration. *In*: PULLMAN, Bernard (org.). **Intermolecular Forces. The Jerusalem Symposia on Quantum Chemistry and Biochemistry**. Dordrecht: Springer, 1981. p. 331–342. DOI: 10.1007/978-94-015-7658-1_21. Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/978-94-015-7658-1_21.

BIRD, Luke; HERDES, Carmelo. The porogen effect on the complexation step of trinitrotoluene–methacrylic acid: towards efficient imprinted polymer sensors. **Molecular Systems Design & Engineering**, Cambridge, v. 3, n. 1, p. 89–95, 2018. DOI: 10.1039/C7ME00084G. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C7ME00084G>.

BITAR, Manal; BOU-MAROUN, Elias; LERBRET, Adrien; OUAINI, Naim; CAYOT, Philippe. Binding characteristics of molecularly imprinted polymers based on fungicides in hydroalcoholic media. **Journal of Separation Science**, Weinheim, v. 38, n. 20, p. 3607–3614, 2015. DOI: 10.1002/jssc.201500543. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/jssc.201500543>.

BONDI, A. van der Waals Volumes and Radii. **The Journal of Physical Chemistry A**, Washington, v. 68, n. 3, p. 441–451, 1964. DOI: 10.1021/j100785a001. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/j100785a001>.

BORN, M.; OPPENHEIMER, R. Zur Quantentheorie der Molekeln. **Annalen der Physik**, Leipzig, v. 389, n. 20, p. 457–484, 1927. DOI: 10.1002/andp.19273892002. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/andp.19273892002>.

BOYSEN, Reinhard I. Advances in the development of molecularly imprinted polymers for the separation and analysis of proteins with liquid chromatography. **Journal of Separation Science**, Weinheim, v. 42, n. 1, p. 51–71, 2019. DOI: 10.1002/jssc.201800945. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/jssc.201800945>.

BUSSI, Giovanni; DONADIO, Davide; PARRINELLO, Michele. Canonical sampling through velocity rescaling. **Journal of Chemical Physics**, Lancaster, v. 126, n. 1, p. 014101, 2007. DOI: 10.1063/1.2408420. Disponível em: <http://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.2408420>.

CHANG, Chia Chen; CHEN, Chie Pein; LEE, Chung Han; CHEN, Chen Yu; LIN, Chii Wann. Colorimetric detection of human chorionic gonadotropin using catalytic gold nanoparticles and a peptide aptamer. **Chemical Communications**, Cambridge, v. 50, n. 92, p. 14443–14446, 2014. DOI: 10.1039/c4cc06366j. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C4CC06366J>.

CHEN, Lingxin; WANG, Xiaoyan; LU, Wenhui; WU, Xiaqing; LI, Jinhua. Molecular imprinting: perspectives and applications. **Chemical Society Reviews**, London, v. 45, n. 8, p. 2137–2211, 2016. a. DOI: 10.1039/C6CS00061D. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C6CS00061D>.

CHEN, Lingxin; XU, Shoufang; LI, Jinhua. Recent advances in molecular imprinting technology: Current status, challenges and highlighted applications. **Chemical Society Reviews**, London, v. 40, n. 5, p. 2922–2942, 2011. DOI: 10.1039/c0cs00084a. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c0cs00084a>.

CHEN, Wei; MENG, Zihui; XUE, Min; SHEA, Kenneth J. Molecular imprinted photonic crystal for sensing of biomolecules. **Molecular Imprinting**, Berlin, v. 4, n. 1, p. 1–12, 2016. b. DOI: 10.1515/molim-2016-0001. Disponível em: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/molim-2016-0001/html>.

CLEGG, John R.; WAGNER, Angela M.; SHIN, Su Ryon; HASSAN, Shabir; KHADEMHOSEINI, Ali; PEPPAS, Nicholas A. Modular fabrication of intelligent material-tissue interfaces for bioinspired and biomimetic devices. **Progress in Materials Science**, Oxford, v. 106, p. 100589, 2019. DOI: 10.1016/j.pmatsci.2019.100589. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0079642519300714>.

CLELAND, Dougal; OLSSON, Gustaf D.; KARLSSON, Björn C. G.; NICHOLLS, Ian A.; MCCLUSKEY, Adam. Molecular dynamics approaches to the design and synthesis of PCB targeting molecularly imprinted polymers: Interference to monomer-template interactions in imprinting of 1,2,3-trichlorobenzene. **Organic and Biomolecular Chemistry**, Cambridge, v. 12, n. 5, p. 844–853, 2014. DOI: 10.1039/c3ob42399a. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C3OB42399A>.

COHEN, Jacob. **Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences**. New York: Routledge, 1988. DOI: 10.4324/9780203771587. Disponível em: <https://www.taylorfrancis.com/books/9781134742707>.

CORDEIRO, Marli Tenorio; PENA, Lindomar J.; BRITO, Carlos A.; GIL, Laura H.; MARQUES, Ernesto T. Positive IgM for Zika virus in the cerebrospinal fluid of 30 neonates with microcephaly in Brazil. **The Lancet**, London, v. 387, n. 10030, p. 1811–1812, 2016. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)30253-7. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673616302537>.

CORMACK, Peter A. G.; ELORZA, Amaia Zurutuza. Molecularly imprinted polymers: synthesis and characterisation. **Journal of Chromatography B**, Amsterdam, v. 804, n. 1, p. 173–182, 2004. DOI: 10.1016/j.jchromb.2004.02.013. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1570023204001412>.

COWEN, Todd; KARIM, Kal; PILETSKY, Sergey. Computational approaches in the design of synthetic receptors – A review. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 936, p. 62–74, 2016. DOI: 10.1016/j.aca.2016.07.027. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267016308480>.

DARDEN, Tom; YORK, Darrin; PEDERSEN, Lee. Particle mesh Ewald: An $N \cdot \log(N)$ method for Ewald sums in large systems. **The Journal of Chemical Physics**, Lancaster, v. 98, n. 12, p. 10089–10092, 1993. DOI: 10.1063/1.464397. Disponível em: <http://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.464397>.

DODDA, Leela S.; DE VACA, Israel Cabeza; TIRADO-RIVES, Julian; JORGENSEN, William L. LigParGen web server: An automatic OPLS-AA parameter generator for organic ligands. **Nucleic Acids Research**, London, v. 45, n. W1, p. W331–W336, 2017. DOI: 10.1093/nar/gkx312. Disponível em: <https://academic.oup.com/nar/article/45/W1/W331/3747780>.

DRZAZGOWSKA, Julia; SCHMID, Bianca; SUSSMUTH, Roderich D.; ALTINTAS, Zeynep. Self-Assembled Monolayer Epitope Bridges for Molecular Imprinting and Cancer Biomarker

Sensing. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 92, n. 7, p. 4798–4806, 2020. DOI: 10.1021/acs.analchem.9b03813. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.analchem.9b03813>.

DUNKER, A. Keit. et al. Intrinsically disordered protein. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, New York, v. 19, n. 1, p. 26–59, 2001. DOI: 10.1016/S1093-3263(00)00138-8. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1093326300001388>.

ERTEKIN, Özlem; ÖZTÜRK, Selma; ÖZTÜRK, Zafer Ziya. Label free QCM immunobiosensor for AFB1 detection using monoclonal IgA antibody as recognition element. **Sensors (Switzerland)**, Basel, v. 16, n. 8, p. 1274, 2016. DOI: 10.3390/s16081274. Disponível em: <http://www.mdpi.com/1424-8220/16/8/1274>.

ESSMANN, Ulrich; PERERA, Lalith; BERKOWITZ, Max L.; DARDEN, Tom; LEE, Hsing; PEDERSEN, Lee G. A smooth particle mesh Ewald method. **The Journal of Chemical Physics**, Lancaster, v. 103, n. 19, p. 8577–8593, 1995. DOI: 10.1063/1.470117. Disponível em: <http://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.470117>.

FURST, Ariel L.; FRANCIS, Matthew B. Impedance-Based Detection of Bacteria. **Chemical Reviews**, Easton, v. 119, n. 1, p. 700–726, 2019. DOI: 10.1021/acs.chemrev.8b00381. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.chemrev.8b00381>.

GHEYBALIZADEH, Hadi; HEJAZI, Parisa. Influence of hydrophilic and hydrophobic functional monomers on the performance of magnetic molecularly imprinted polymers for selective recognition of human insulin. **Reactive and Functional Polymers**, Amsterdam, v. 171, p. 105152, 2022. DOI: 10.1016/j.reactfunctpolym.2021.105152. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1381514821003448>.

GÓMEZ-DE-MARISCAL, Estibaliz; GUERRERO, Vanesa; SNEIDER, Alexandra; JAYATILAKA, Hasini; PHILLIP, Jude M.; WIRTZ, Denis; MUÑOZ-BARRUTIA, Arrate. Use of the p-values as a size-dependent function to address practical differences when analyzing large datasets. **Scientific Reports**, London, v. 11, n. 1, p. 20942, 2021. DOI: 10.1038/s41598-021-00199-5. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-021-00199-5>.

GRAHAM, Simon P.; EL-SHARIF, Hazim F.; HUSSAIN, Sabha; FRUENGEL, Rieke; MCLEAN, Rebecca K.; HAWES, Philippa C.; SULLIVAN, Mark V.; REDDY, Subrayal M. Evaluation of Molecularly Imprinted Polymers as Synthetic Virus Neutralizing Antibody Mimics. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, Lausanne, v. 7, 2019. DOI: 10.3389/fbioe.2019.00115. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fbioe.2019.00115/full>.

HART, B. R.; SHEA, K. J. Synthetic peptide receptors: Molecularly imprinted polymers for the recognition of peptides using peptide-metal interactions [8]. **Journal of the American Chemical Society**, Easton, v. 123, n. 9, p. 2072–2073, 2001. DOI: 10.1021/ja005661a. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ja005661a>.

HESS, Berk. P-LINCS: A parallel linear constraint solver for molecular simulation. **Journal of Chemical Theory and Computation**, Washington, v. 4, n. 1, p. 116–122, 2008. DOI: 10.1021/ct700200b. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ct700200b>.

HOLGUÍN, Maribel; ROJAS ÁLVAREZ, Oscar E.; ARIZABALETA, Cesar Alberto; TORRES, Walter. Molecular dynamics of the interaction of L-tryptophan with polypyrrole

oligomers. **Computational and Theoretical Chemistry**, Amsterdam, v. 1147, p. 29–34, 2019. DOI: 10.1016/j.comptc.2018.11.012. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2210271X18305978>.

HUANG, Zejun; ZHANG, Pin; YUN, Yanbin. Preparing molecularly imprinted membranes by phase inversion to separate kaempferol. **Polymers for Advanced Technologies**, New York, v. 28, n. 3, p. 373–378, 2017. DOI: 10.1002/pat.3898. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/pat.3898>.

HUBBARD, Roderick E.; KAMRAN HAIDER, Muhammad. Hydrogen Bonds in Proteins: Role and Strength. *In: eLS*. [s.l.]: Wiley, 2010. DOI: 10.1002/9780470015902.a0003011.pub2. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470015902.a0003011.pub2>.

HUMPHREY, William; DALKE, Andrew; SCHULTEN, Klaus. VMD: Visual molecular dynamics. **Journal of Molecular Graphics**, Guildford, v. 14, n. 1, p. 33–38, 1996. DOI: 10.1016/0263-7855(96)00018-5. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0263785596000185>.

HUYNH, Tan Phat; CHANDRA, B. K. C.; SOSNOWSKA, Marta; SOBCZAK, Janusz W.; NESTEROV, Vladimir N.; D'SOUZA, Francis; KUTNER, Włodzimierz. Nicotine molecularly imprinted polymer: Synergy of coordination and hydrogen bonding. **Biosensors and Bioelectronics**, Barking, v. 64, p. 657–663, 2015. DOI: 10.1016/j.bios.2014.09.014. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S095656631400699X>.

JORGENSEN, William L.; CHANDRASEKHAR, Jayaraman; MADURA, Jeffry D.; IMPEY, Roger W.; KLEIN, Michael L. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. **The Journal of Chemical Physics**, Lancaster, v. 79, n. 2, p. 926–935, 1983. DOI: 10.1063/1.445869. Disponível em: <http://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.445869>.

JORGENSEN, William L.; MAXWELL, David S.; TIRADO-RIVES, Julian. Development and testing of the OPLS all-atom force field on conformational energetics and properties of organic liquids. **Journal of the American Chemical Society**, Easton, v. 118, n. 45, p. 11225–11236, 1996. DOI: 10.1021/ja9621760. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ja9621760>.

KALECKI, Jakub; ISKIERKO, Zofia; CIEPLAK, Maciej; SHARMA, Piyush S. Oriented Immobilization of Protein Templates: A New Trend in Surface Imprinting. **ACS Sensors**, Washington, v. 5, n. 12, p. 3710–3720, 2020. DOI: 10.1021/acssensors.0c01634. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acssensors.0c01634>.

KANG, Hyunho; BUCHMAN, Joseph T.; RODRIGUEZ, Rebeca S.; RING, Hattie L.; HE, Jiayi; BANTZ, Kyle C.; HAYNES, Christy L. Stabilization of Silver and Gold Nanoparticles: Preservation and Improvement of Plasmonic Functionalities. **Chemical Reviews**, Easton, v. 119, n. 1, p. 664–699, 2019. DOI: 10.1021/acs.chemrev.8b00341. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.chemrev.8b00341>.

KIM, Sunghwan et al. PubChem Substance and Compound databases. **Nucleic Acids Research**, London, v. 44, n. D1, p. D1202–D1213, 2016. DOI: 10.1093/nar/gkv951. Disponível em: <https://academic.oup.com/nar/article-lookup/doi/10.1093/nar/gkv951>.

KONG, Yu; WANG, Ningwei; NI, Xiaoni; YU, Qiyi; LIU, Hong; HUANG, Weihong; XU, Wanzhen. Molecular dynamics simulations of molecularly imprinted polymer approaches to the preparation of selective materials to remove norfloxacin. **Journal of Applied Polymer**

Science, New York, v. 133, n. 1, p. n/a-n/a, 2016. DOI: 10.1002/app.42817. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/app.42817>.

KRUSKAL, William H.; WALLIS, W. Allen. Use of Ranks in One-Criterion Variance Analysis. **Journal of the American Statistical Association**, New York, v. 47, n. 260, p. 583–621, 1952. DOI: 10.1080/01621459.1952.10483441. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01621459.1952.10483441>.

LI, Hui; SHI, Wei; SONG, Jian; JANG, Hyun June; DAILEY, Jennifer; YU, Junsheng; KATZ, Howard E. Chemical and Biomolecule Sensing with Organic Field-Effect Transistors. **Chemical Reviews**, Easton, v. 119, n. 1, p. 3–35, 2019. DOI: 10.1021/acs.chemrev.8b00016. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.chemrev.8b00016>.

LI, Zheng; ASKIM, Jon R.; SUSLICK, Kenneth S. The Optoelectronic Nose: Colorimetric and Fluorometric Sensor Arrays. **Chemical Reviews**, Easton, v. 119, n. 1, p. 231–292, 2019. DOI: 10.1021/acs.chemrev.8b00226. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.chemrev.8b00226>.

LOFGREEN, Jennifer E.; OZIN, Geoffrey A. Controlling morphology and porosity to improve performance of molecularly imprinted sol–gel silica. **Chemical Society Reviews**, London, v. 43, n. 3, p. 911–933, 2014. DOI: 10.1039/C3CS60276A. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C3CS60276A>.

LULIŃSKI, Piotr. Molecularly imprinted polymers based drug delivery devices: a way to application in modern pharmacotherapy. A review. **Materials Science and Engineering: C**, Amsterdam, v. 76, p. 1344–1353, 2017. DOI: 10.1016/j.msec.2017.02.138. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928493116318872>.

LUO, Donghua; ZHAO, Zhijian; ZHANG, Li; WANG, Qi; WANG, Jin. On the structure of molecularly imprinted polymers by modifying charge on functional groups through molecular dynamics simulations. **Molecular Simulation**, New York, v. 40, n. 6, p. 431–438, 2014. DOI: 10.1080/08927022.2013.819101. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/08927022.2013.819101>.

LYE, Gary J.; WOODLEY, John M. Application of in situ product-removal techniques to biocatalytic processes. **Trends in Biotechnology**, Amsterdam, v. 17, n. 10, p. 395–402, 1999. DOI: 10.1016/S0167-7799(99)01351-7. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167779999013517>.

MACKERELL, Alexander D.; BANAVALI, Nilesh; FOLOPPE, Nicolas. Development and current status of the CHARMM force field for nucleic acids. **Biopolymers**, New York, v. 56, n. 4, p. 257–265, 2000. DOI: 10.1002/1097-0282(2000)56:4<257::AID-BIP10029>3.0.CO;2-W. Disponível em: [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1097-0282\(2000\)56:4%3C257::AID-BIP10029%3E3.0.CO;2-W](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1097-0282(2000)56:4%3C257::AID-BIP10029%3E3.0.CO;2-W).

MAKO, Teresa L.; RACICOT, Joan M.; LEVINE, Mindy. Supramolecular luminescent sensors. **Chemical Reviews**, Easton, v. 119, n. 1, p. 322–477, 2019. DOI: 10.1021/acs.chemrev.8b00260. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.chemrev.8b00260>.

MARĆ, Mariusz; WIECZOREK, Piotr Paweł. Introduction to MIP synthesis, characteristics and analytical application. In: MARIUSZ, Marć (org.). **Mip Synthesis, Characteristics and**

Analytical Application. [s.l: s.n.]. p. 1–15. DOI: 10.1016/bs.coac.2019.05.010. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166526X19300455>.

MARTÍNEZ, L.; ANDRADE, R.; BIRGIN, E. G.; MARTÍNEZ, J. M. PACKMOL: A package for building initial configurations for molecular dynamics simulations. **Journal of Computational Chemistry**, New York, v. 30, n. 13, p. 2157–2164, 2009. DOI: 10.1002/jcc.21224. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcc.21224>.

MATSUI, Jun; FUJIWARA, Kuniyuki; TAKEUCHI, Toshifumi. Atrazine-Selective Polymers Prepared by Molecular Imprinting of Trialkylmelamines as Dummy Template Species of Atrazine. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 72, n. 8, p. 1810–1813, 2000. DOI: 10.1021/ac9911950. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac9911950>.

MISHRA, Prabhaker; PANDEY, ChandraM; SINGH, Uttam; GUPTA, Anshul; SAHU, Chinmoy; KESHRI, Amit. Descriptive statistics and normality tests for statistical data. **Annals of Cardiac Anaesthesia**, New Delhi, v. 22, n. 1, p. 67, 2019. DOI: 10.4103/aca.ACA_157_18. Disponível em: <http://www.annals.in/text.asp?2019/22/1/67/250184>.

MONTI, Susanna; CAPPELLI, Chiara; BRONCO, Simona; GIUSTI, Paolo; CIARDELLI, Gianluca. Towards the design of highly selective recognition sites into molecular imprinting polymers: A computational approach. **Biosensors and Bioelectronics**, Barking, v. 22, n. 1, p. 153–163, 2006. DOI: 10.1016/j.bios.2006.05.017. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956566306002491>.

MORENO-BONDI, Maria C.; NAVARRO-VILLOSLADA, Fernando; BENITO-PENA, Elena; URRACA, Javier L. Molecularly Imprinted Polymers as Selective Recognition Elements in Optical Sensing. **Current Analytical Chemistry**, Saif Zone, v. 4, n. 4, p. 316–340, 2008. DOI: 10.2174/157341108785914925. Disponível em: <https://www.eurekaselect.com/67763/article>.

MUSSO, Didier; GUBLER, Duane J. Zika Virus. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 29, n. 3, p. 487–524, 2016. DOI: 10.1128/CMR.00072-15. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.00072-15>.

NDUNDA, Elizabeth N.; MIZAIKOFF, Boris. Molecularly imprinted polymers for the analysis and removal of polychlorinated aromatic compounds in the environment: a review. **The Analyst**, London, v. 141, n. 11, p. 3141–3156, 2016. DOI: 10.1039/C6AN00293E. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C6AN00293E>.

NICHOLLS, Ian A.; GOLKER, Kerstin; OLSSON, Gustaf D.; SURIYANARAYANAN, Subramanian; WIKLANDER, Jesper G. The Use of Computational Methods for the Development of Molecularly Imprinted Polymers. **Polymers**, Basel, v. 13, n. 17, p. 2841, 2021. DOI: 10.3390/polym13172841. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4360/13/17/2841>.

NJAGI, John; CHERNOV, Mykyta M.; LEITER, J. C.; ANDREESCU, Silvana. Amperometric detection of dopamine in vivo with an enzyme based carbon fiber microbiosensor. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 82, n. 3, p. 989–996, 2010. DOI: 10.1021/ac9022605. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac9022605>.

NOSÉ, Shuichi; KLEIN, M. L. Constant pressure molecular dynamics for molecular systems. **Molecular Physics**, London, v. 50, n. 5, p. 1055–1076, 1983. DOI:

10.1080/00268978300102851. Disponível em:
<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00268978300102851>.

ODOM, Teri W.; LOVE, J. Christopher; WOLFE, Daniel B.; PAUL, Kateri E.; WHITESIDES, George M. Improved Pattern Transfer in Soft Lithography Using Composite Stamps. **Langmuir**, Washington, v. 18, n. 13, p. 5314–5320, 2002. DOI: 10.1021/la020169l. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/la020169l>.

PACE, C. Nick et al. Contribution of hydrogen bonds to protein stability. **Protein Science**, New York, v. 23, n. 5, p. 652–661, 2014. DOI: 10.1002/pro.2449. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/pro.2449>.

PARISI, Ortensia Ilaria; FRANCOMANO, Fabrizio; DATTILO, Marco; PATITUCCI, Francesco; PRETE, Sabrina; AMONE, Fabio; PUOCI, Francesco. The Evolution of Molecular Recognition: From Antibodies to Molecularly Imprinted Polymers (MIPs) as Artificial Counterpart. **Journal of Functional Biomaterials**, Basel, v. 13, n. 1, p. 12, 2022. DOI: 10.3390/jfb13010012. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-4983/13/1/12>.

PARK, Jin Young. Effect of lithographically designed structures on the caffeine sensing properties of surface imprinted films. **The Analyst**, London, v. 141, n. 20, p. 5709–5713, 2016. DOI: 10.1039/c6an01665k. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C6AN01665K>.

PARRINELLO, M.; RAHMAN, A. Polymorphic transitions in single crystals: A new molecular dynamics method. **Journal of Applied Physics**, New York, v. 52, n. 12, p. 7182–7190, 1981. DOI: 10.1063/1.328693. Disponível em: <http://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.328693>.

PENCE, Harry E.; WILLIAMS, Antony. ChemSpider: An Online Chemical Information Resource. **Journal of Chemical Education**, Easton, v. 87, n. 11, p. 1123–1124, 2010. DOI: 10.1021/ed100697w. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ed100697w>.

PEREZ, Martin; CONCU, Riccardo; ORNELAS, Mariana; CORDEIRO, M. Natália D. S.; AZENHA, Manuel; FERNANDO SILVA, A. Measurement artifacts identified in the UV-vis spectroscopic study of adduct formation within the context of molecular imprinting of naproxen. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, Kidlington, v. 153, p. 661–668, 2016. DOI: 10.1016/j.saa.2015.10.005. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1386142515302560>.

POLLER, Anna-Maria; SPIEKER, Eva; LIEBERZEIT, Peter A.; PREININGER, Claudia. Surface Imprints: Advantageous Application of Ready2use Materials for Bacterial Quartz-Crystal Microbalance Sensors. **ACS Applied Materials & Interfaces**, Washington, v. 9, n. 1, p. 1129–1135, 2017. DOI: 10.1021/acsami.6b13888. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsami.6b13888>.

POMA, Alessandro; TURNER, Anthony P. F.; PILETSKY, Sergey A. Advances in the manufacture of MIP nanoparticles. **Trends in Biotechnology**, Amsterdam, v. 28, n. 12, p. 629–637, 2010. DOI: 10.1016/j.tibtech.2010.08.006. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167779910001514>.

QIN, Dong; XIA, Younan; WHITESIDES, George M. Soft lithography for micro- and nanoscale patterning. **Nature Protocols**, London, v. 5, n. 3, p. 491–502, 2010. DOI: 10.1038/nprot.2009.234. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/nprot.2009.234>.

QIU, Chunxiao; XING, Youhong; YANG, Wenming; ZHOU, Zhiping; WANG, Yingchun; LIU, Hong; XU, Wanzhen. Surface molecular imprinting on hybrid SiO₂-coated CdTe nanocrystals for selective optosensing of bisphenol A and its optimal design. **Applied Surface Science**, Amsterdam, v. 345, p. 405–417, 2015. DOI: 10.1016/j.apsusc.2015.03.150. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169433215007461>.

QU, Panke et al. A new class of broadly neutralizing antibodies that target the glycan loop of Zika virus envelope protein. **Cell Discovery**, London, v. 6, n. 1, p. 5, 2020. DOI: 10.1038/s41421-019-0140-8. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/s41421-019-0140-8>.

RASMUSSEN, Sonja A.; JAMIESON, Denise J.; HONEIN, Margaret A.; PETERSEN, Lyle R. Zika Virus and Birth Defects — Reviewing the Evidence for Causality. **New England Journal of Medicine**, Boston, v. 374, n. 20, p. 1981–1987, 2016. DOI: 10.1056/NEJMSr1604338. Disponível em: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMSr1604338>.

RODRIGUES SILVA, Weida; OLIVEIRA SOTÉ, William; FLÁVIO DA SILVEIRA PETRUCI, João; DOMINGUES BATISTA, Alex; COMAR JUNIOR, Moacyr. The use of in silico models for the rationalization of molecularly imprinted polymer synthesis. **European Polymer Journal**, Oxford, p. 111024, 2022. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2022.111024. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014305722000283>.

SAWILOWSKY, Shlomo S. New Effect Size Rules of Thumb. **Journal of Modern Applied Statistical Methods**, Oak Park, v. 8, n. 2, p. 597–599, 2009. DOI: 10.22237/jmasm/1257035100. Disponível em: <http://digitalcommons.wayne.edu/jmasm/vol8/iss2/26>.

SCHAUPERL, Michael; LEWIS, Dewi W. Probing the structural and binding mechanism heterogeneity of molecularly imprinted polymers. **Journal of Physical Chemistry B**, Washington, v. 119, n. 2, p. 563–571, 2015. DOI: 10.1021/jp506157x. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jp506157x>.

SELVOLINI, Giulia; MARRAZZA, Giovanna. MIP-Based Sensors: Promising New Tools for Cancer Biomarker Determination. **Sensors**, Basel, v. 17, n. 4, p. 718, 2017. DOI: 10.3390/s17040718. Disponível em: <http://www.mdpi.com/1424-8220/17/4/718>.

SEVVANA, Madhumati; LONG, Feng; MILLER, Andrew S.; KLOSE, Thomas; BUDA, Geeta; SUN, Lei; KUHN, Richard J.; ROSSMANN, Michael G. Refinement and Analysis of the Mature Zika Virus Cryo-EM Structure at 3.1 Å Resolution. **Structure**, London, v. 26, n. 9, p. 1169–1177.e3, 2018. DOI: 10.1016/j.str.2018.05.006. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0969212618301709>.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, London, v. 52, n. 3–4, p. 591–611, 1965. DOI: 10.1093/biomet/52.3-4.591. Disponível em: <https://academic.oup.com/biomet/article-lookup/doi/10.1093/biomet/52.3-4.591>.

SONG, Xingliang; WANG, Jiangtao; ZHU, Jin. Effect of porogenic solvent on selective performance of molecularly imprinted polymer for quercetin. **Materials Research**, [S. l.], v. 12, n. 3, p. 299–304, 2009. DOI: 10.1590/S1516-14392009000300009. Disponível em:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-14392009000300009&lng=en&tlng=en.

SZALEWICZ, Krzysztof. Hydrogen Bond. *In: Encyclopedia of Physical Science and Technology*. [s.l.] : Elsevier, 2003. p. 505–538. DOI: 10.1016/B0-12-227410-5/00322-7. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B0122274105003227>.

TADI, Kiran Kumar; MOTGHARE, Ramani V.; GANESH, V. Electrochemical detection of epinephrine using a biomimic made up of hemin modified molecularly imprinted microspheres. **RSC Advances**, Cambridge, v. 5, n. 120, p. 99115–99124, 2015. DOI: 10.1039/c5ra16636e. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C5RA16636E>.

TUCKERMAN, Mark. **Statistical Mechanics: Theory and Molecular Simulation**. 1st. ed. United Kingdom: Oxford University Press, 2010.

WACKERLIG, Judith; LIEBERZEIT, Peter A. Molecularly imprinted polymer nanoparticles in chemical sensing – Synthesis, characterisation and application. **Sensors and Actuators B: Chemical**, Lausanne, v. 207, p. 144–157, 2015. DOI: 10.1016/j.snb.2014.09.094. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925400514011800>.

WANG, Yingchun; WANG, Ningwei; NI, Xiaoni; JIANG, Qianqian; YANG, Wenming; HUANG, Weihong; XU, Wanzhen. A core-shell CdTe quantum dots molecularly imprinted polymer for recognizing and detecting p-nitrophenol based on computer simulation. **RSC Advances**, Cambridge, v. 5, n. 90, p. 73424–73433, 2015. DOI: 10.1039/c5ra06889d. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C5RA06889D>.

WANG, Yongwei; ZHAO, Ting; DAI, Peng; JIANG, Nan; LI, Fei. Employment of Molecularly Imprinted Polymers to High-Throughput Screen nNOS-PSD-95 Interruptions: Structure and Dynamics Investigations on Monomer-Template Complexation. **ChemPhysChem**, Weinheim, v. 17, n. 6, p. 893–901, 2016. DOI: 10.1002/cphc.201500941. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/cphc.201500941>.

WILLIAMS, Antony J. et al. The CompTox Chemistry Dashboard: a community data resource for environmental chemistry. **Journal of Cheminformatics**, London, v. 9, n. 1, p. 61, 2017. DOI: 10.1186/s13321-017-0247-6. Disponível em: <https://jcheminf.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13321-017-0247-6>.

WONGKAEW, Nongnoot; SIMSEK, Marcel; GRIESCHE, Christian; BAEUMNER, Antje J. Functional Nanomaterials and Nanostructures Enhancing Electrochemical Biosensors and Lab-on-a-Chip Performances: Recent Progress, Applications, and Future Perspective. **Chemical Reviews**, Easton, v. 119, n. 1, p. 120–194, 2019. DOI: 10.1021/acs.chemrev.8b00172. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.chemrev.8b00172>.

XU, Zhenchuang; LIU, Chao; ZHAO, Shujuan; CHEN, Si; ZHAO, Yanchuan. Molecular Sensors for NMR-Based Detection. **Chemical Reviews**, Easton, v. 119, n. 1, p. 195–230, 2019. DOI: 10.1021/acs.chemrev.8b00202. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.chemrev.8b00202>.

YAN, Hongyuan; ROW, Kyung. Characteristic and Synthetic Approach of Molecularly Imprinted Polymer. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 7, n. 5, p. 155–178, 2006. DOI: 10.3390/i7050155. Disponível em: <http://www.mdpi.com/1422-0067/7/5/155>.

YU, Wenlong; LIU, Minxuan; LIU, Ruobing; SANG, Yaxin; WANG, Shuo; WANG, Xianghong. Development of biomimetic enzyme-linked immunosorbent assay based on molecular imprinting technique for semicarbazide detection. **Food and Agricultural Immunology**, Abingdon, v. 31, n. 1, p. 17–32, 2020. DOI: 10.1080/09540105.2019.1692789. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09540105.2019.1692789>.

ZUBER, Agnieszka A.; KLANTSATAYA, Elizaveta; BACHHUKA, Akash. Biosensing. *In: Comprehensive Nanoscience and Nanotechnology*. [s.l.] : Elsevier, 2019. v. 1–5p. 105–126. DOI: 10.1016/B978-0-12-803581-8.10410-2. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128035818104102>.

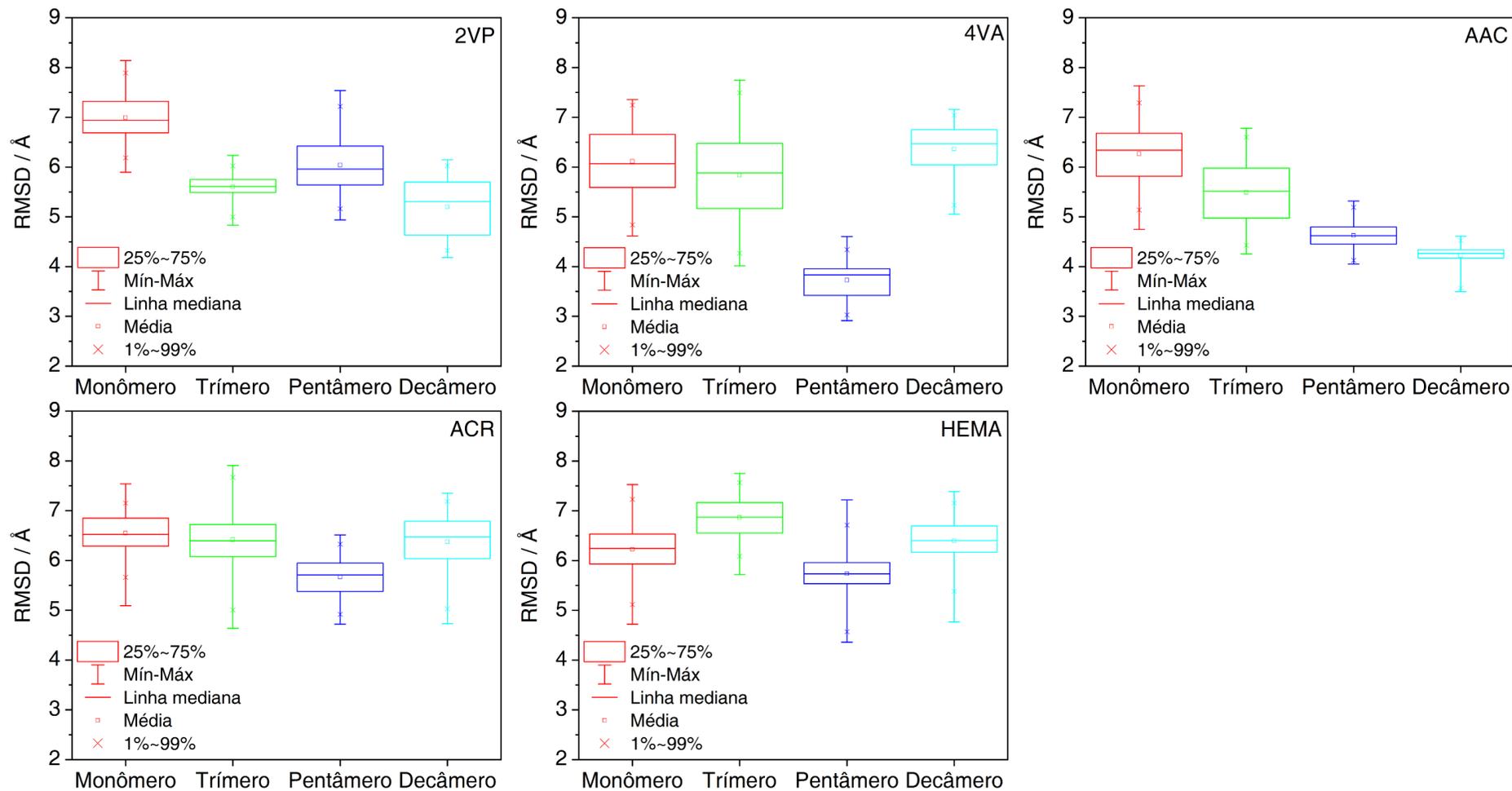
Anexo A – Estatística descritiva completa

Anexo A.1: Estatística descritiva do desvio quadrático médio (*RMSD*)

	RMSD / Å			
	Monômero	Trímero	Pentâmero	Decâmero
2VP				
<i>Média</i>	6,99	5,60	6,04	5,20
<i>Desvio padrão</i>	0,40	0,22	0,53	0,54
<i>Coefficiente de Assimetria</i>	0,18	-0,55	0,49	-0,11
<i>Curtose</i>	-0,65	0,54	-0,63	-1,49
<i>Coefficiente de Variação</i>	0,06	0,04	0,09	0,10
<i>Mediana</i>	6,94	5,61	5,96	5,31
4VA				
<i>Média</i>	6,12	5,84	3,73	6,36
<i>Desvio padrão</i>	0,64	0,82	0,33	0,48
<i>Coefficiente de Assimetria</i>	0,09	0,09	-0,38	-0,57
<i>Curtose</i>	-1,02	-0,87	-0,82	-0,65
<i>Coefficiente de Variação</i>	0,10	0,14	0,09	0,08
<i>Mediana</i>	6,07	5,88	3,83	6,47
AAC				
<i>Média</i>	6,27	5,49	4,63	4,22
<i>Desvio padrão</i>	0,54	0,61	0,26	0,19
<i>Coefficiente de Assimetria</i>	-0,20	0,08	0,07	-1,61
<i>Curtose</i>	-0,83	-1,17	-0,54	2,82
<i>Coefficiente de Variação</i>	0,09	0,11	0,06	0,05
<i>Mediana</i>	6,34	5,52	4,62	4,26
ACR				
<i>Média</i>	6,54	6,42	5,67	6,37
<i>Desvio padrão</i>	0,35	0,55	0,36	0,53
<i>Coefficiente de Assimetria</i>	-0,25	0,00	-0,27	-0,64
<i>Curtose</i>	-0,17	0,27	-0,80	-0,31
<i>Coefficiente de Variação</i>	0,05	0,09	0,06	0,08
<i>Mediana</i>	6,53	6,40	5,71	6,47
HEMA				
<i>Média</i>	6,22	6,86	5,73	6,40
<i>Desvio padrão</i>	0,44	0,37	0,38	0,38
<i>Coefficiente de Assimetria</i>	-0,18	-0,10	-0,40	-0,41
<i>Curtose</i>	0,01	-0,84	1,72	0,28
<i>Coefficiente de Variação</i>	0,07	0,05	0,07	0,06
<i>Mediana</i>	6,24	6,87	5,73	6,40

Fonte: Autor, 2022.

Anexo A.2: Boxplots do RMSD em função do tipo de ligante



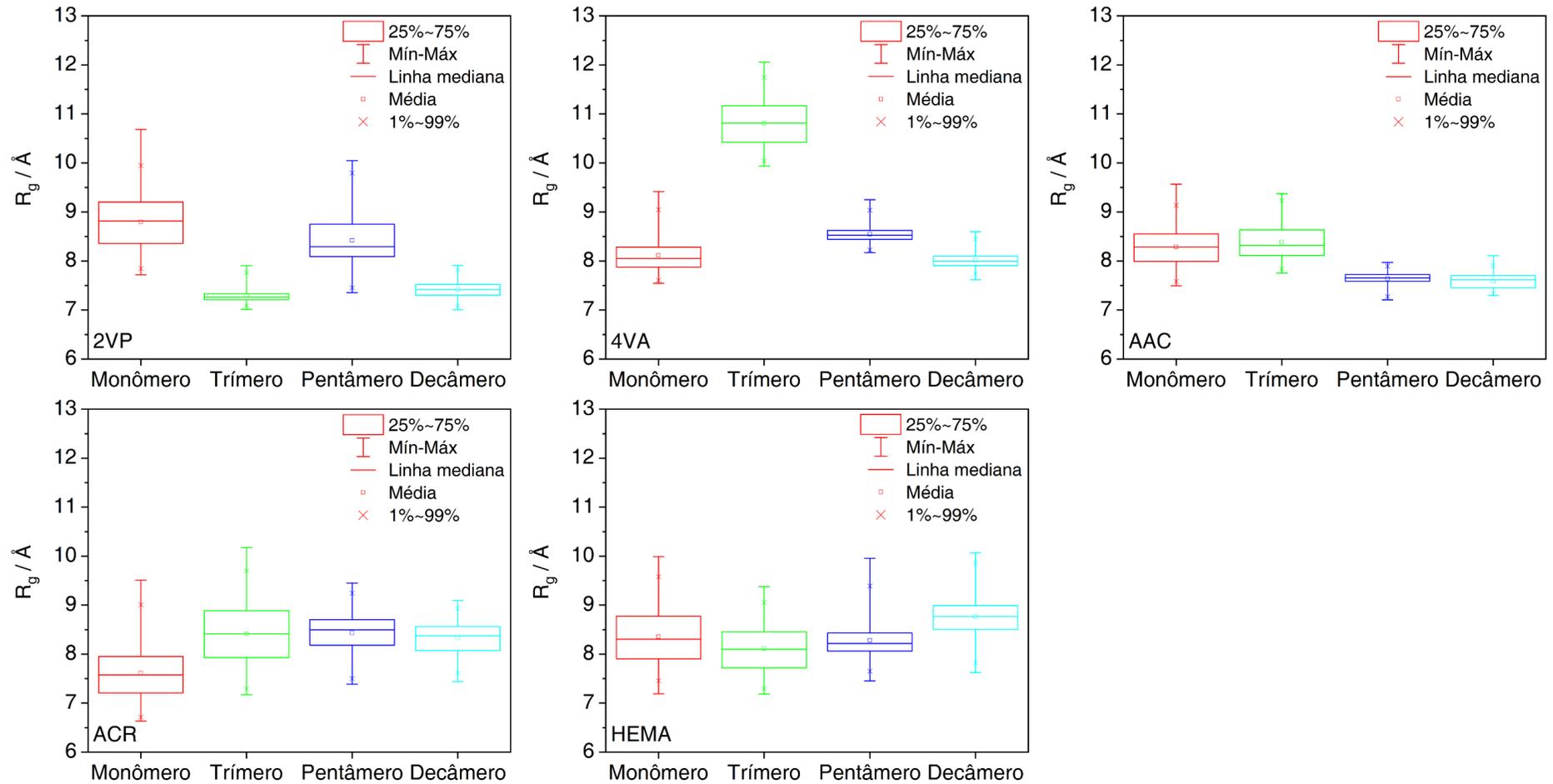
Fonte: Autor, 2022.

Anexo A.3: Estatística descritiva do raio de giro (R_g)

	$R_g / \text{Å}$			
	Monômero	Trímero	Pentâmero	Decâmero
2VP				
<i>Média</i>	8,80	7,30	8,42	7,42
<i>Desvio padrão</i>	0,53	0,14	0,54	0,16
<i>Coefficiente de Assimetria</i>	0,13	1,46	0,66	0,20
<i>Curtose</i>	-0,72	2,07	-0,03	-0,21
<i>Coefficiente de Variação</i>	0,06	0,02	0,06	0,02
<i>Mediana</i>	8,82	7,26	8,29	7,42
4VA				
<i>Média</i>	8,12	10,80	8,54	8,01
<i>Desvio padrão</i>	0,33	0,44	0,17	0,15
<i>Coefficiente de Assimetria</i>	0,92	0,15	0,71	0,69
<i>Curtose</i>	0,44	-1,00	0,84	0,56
<i>Coefficiente de Variação</i>	0,04	0,04	0,02	0,02
<i>Mediana</i>	8,05	10,81	8,53	8,00
AAC				
<i>Média</i>	8,29	8,39	7,64	7,59
<i>Desvio padrão</i>	0,37	0,34	0,13	0,14
<i>Coefficiente de Assimetria</i>	0,15	0,55	-0,82	-0,01
<i>Curtose</i>	-0,57	-0,52	0,89	-0,89
<i>Coefficiente de Variação</i>	0,04	0,04	0,02	0,02
<i>Mediana</i>	8,29	8,32	7,65	7,62
ACR				
<i>Média</i>	7,61	8,41	8,43	8,32
<i>Desvio padrão</i>	0,55	0,61	0,42	0,32
<i>Coefficiente de Assimetria</i>	0,45	0,07	-0,44	-0,24
<i>Curtose</i>	-0,17	-0,82	-0,44	-0,69
<i>Coefficiente de Variação</i>	0,07	0,07	0,05	0,04
<i>Mediana</i>	7,58	8,42	8,49	8,37
HEMA				
<i>Média</i>	8,35	8,12	8,28	8,77
<i>Desvio padrão</i>	0,54	0,44	0,36	0,38
<i>Coefficiente de Assimetria</i>	0,33	0,18	1,04	0,25
<i>Curtose</i>	-0,68	-0,83	1,49	0,71
<i>Coefficiente de Variação</i>	0,06	0,05	0,04	0,04
<i>Mediana</i>	8,31	8,10	8,22	8,77

Fonte: Autor, 2022.

Anexo A.4: Boxplots do R_g em função do tipo de ligante



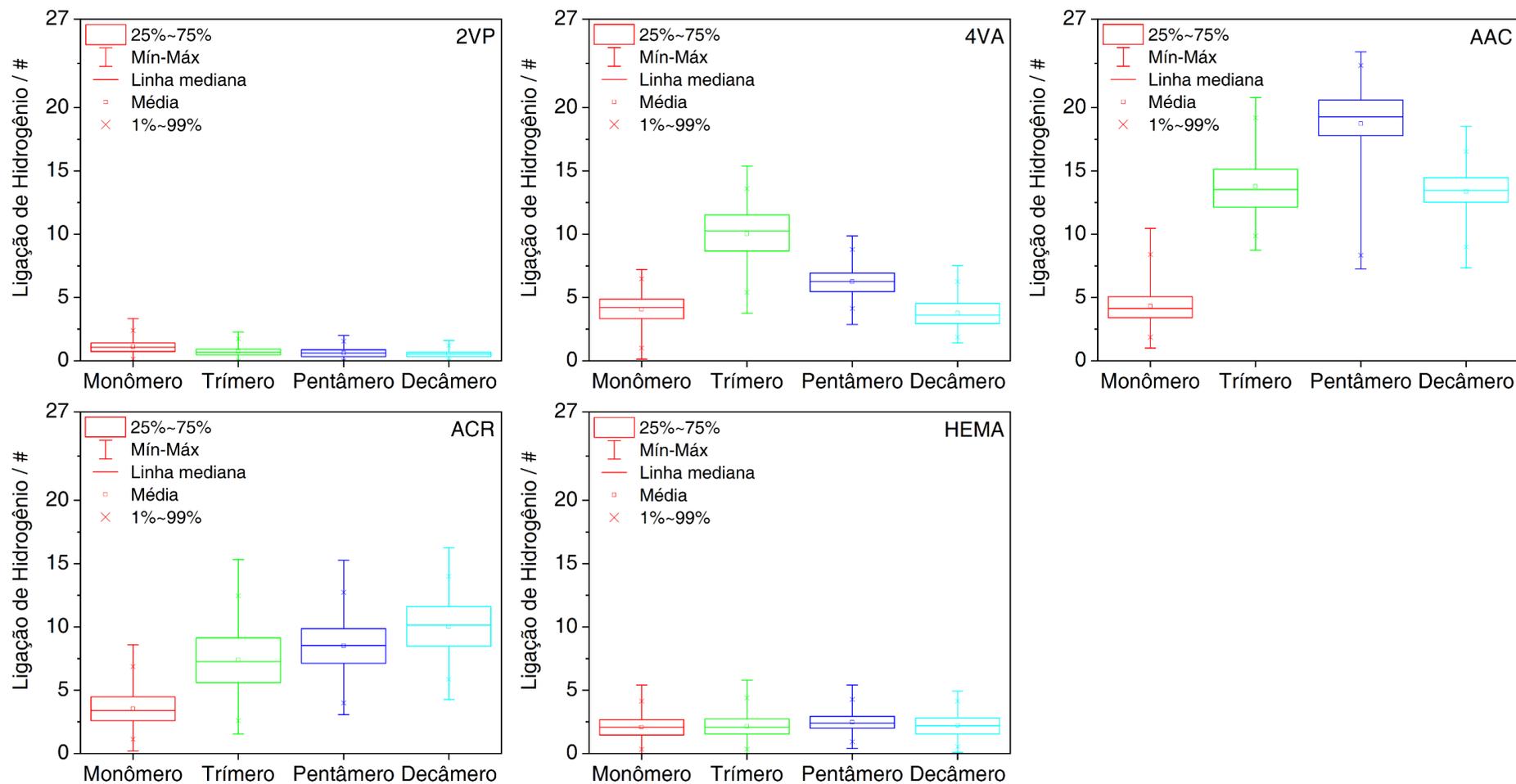
Fonte: Autor, 2022.

Anexo A.5: Estatística descritiva do número médio de ligações de hidrogênio

N° médio de ligações de H				
	Monômero	Trímero	Pentâmero	Decâmero
2VP				
<i>Média</i>	1,11	0,74	0,59	0,53
<i>Desvio padrão</i>	0,49	0,36	0,36	0,26
<i>Coefficiente de Assimetria</i>	0,42	0,59	0,40	0,48
<i>Curtose</i>	0,16	0,33	-0,24	0,24
<i>Coefficiente de Variação</i>	0,44	0,49	0,61	0,48
<i>Mediana</i>	1,07	0,67	0,60	0,53
4VA				
<i>Média</i>	4,06	10,04	6,25	3,76
<i>Desvio padrão</i>	1,17	1,86	1,05	1,06
<i>Coefficiente de Assimetria</i>	-0,34	-0,36	0,16	0,43
<i>Curtose</i>	-0,04	-0,31	-0,30	-0,41
<i>Coefficiente de Variação</i>	0,29	0,19	0,17	0,28
<i>Mediana</i>	4,20	10,27	6,27	3,60
AAC				
<i>Média</i>	4,31	13,78	18,72	13,38
<i>Desvio padrão</i>	1,33	2,14	3,00	1,53
<i>Coefficiente de Assimetria</i>	0,75	0,48	-1,58	-0,50
<i>Curtose</i>	1,00	-0,24	3,05	0,53
<i>Coefficiente de Variação</i>	0,31	0,16	0,16	0,11
<i>Mediana</i>	4,13	13,53	19,27	13,47
ACR				
<i>Média</i>	3,55	7,40	8,51	10,02
<i>Desvio padrão</i>	1,33	2,29	2,02	1,99
<i>Coefficiente de Assimetria</i>	0,47	0,17	-0,09	-0,12
<i>Curtose</i>	-0,15	-0,59	-0,26	-0,69
<i>Coefficiente de Variação</i>	0,38	0,31	0,24	0,20
<i>Mediana</i>	3,40	7,27	8,53	10,13
HEMA				
<i>Média</i>	2,07	2,13	2,47	2,21
<i>Desvio padrão</i>	0,85	0,88	0,72	0,85
<i>Coefficiente de Assimetria</i>	0,25	0,33	0,30	0,17
<i>Curtose</i>	-0,16	0,02	0,15	-0,51
<i>Coefficiente de Variação</i>	0,41	0,41	0,29	0,38
<i>Mediana</i>	2,07	2,07	2,40	2,20

Fonte: Autor, 2022.

Anexo A.6: Boxplots do número médio de ligações de hidrogênio em função do tipo de ligante



Fonte: Autor, 2022.