

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

SOPHIA LAURA DE SOUSA

Prospecção virtual e análise estrutural de inibidores da glutamina sintetase de *Salmonella*
entérica sorovar Typhimurium

Uberlândia - MG

2026

SOPHIA LAURA DE SOUSA

Prospecção virtual e análise estrutural de potenciais inibidores da glutamina sintetase de
Salmonella entérica sorovar Typhimurium

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Instituto de Biotecnologia da Universidade
Federal de Uberlândia como requisito parcial
para obtenção do título de bacharel em
Biotecnologia

Área de concentração: Biotecnologia

Orientador: Prof. Dr. Nilson Nicolau Junior

Uberlândia - MG

2026

SOPHIA LAURA DE SOUSA

Prospecção virtual e análise estrutural de potenciais inibidores da glutamina sintetase de
Salmonella entérica sorovar Typhimurium

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Instituto de Biotecnologia da Universidade
Federal de Uberlândia como requisito parcial
para obtenção do título de bacharel em
Biotecnologia

Uberlândia, 07 de agosto de 2026

Banca Examinadora

Prof. Dr. Nilson Nicolau Junior – Instituto de Biotecnologia – Universidade Federal de
Uberlândia (UFU)

Fernanda Mendes De Sousa (FMVZ)

Kellen Cristina Silva Marques (IBTEC)

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho representa o encerramento de uma etapa marcada por desafios, aprendizados e crescimento. Ao longo dessa caminhada, tive a sorte de contar com pessoas que tornaram esse sonho possível, e a elas deixo minha mais sincera gratidão.

Aos meus pais, por todo o amor, incentivo e apoio incondicional. Mesmo à distância, nunca deixaram de acreditar em mim e fizeram o possível para que eu pudesse seguir em frente. À minha irmã e à minha madrinha, agradeço pelo carinho, pela torcida e por estarem sempre presentes. Às minhas avós, que partiram durante o período em que eu estava longe de casa, deixo minha eterna saudade. Gostaria que estivessem aqui para compartilhar este momento, mas levo comigo os ensinamentos, o amor e as lembranças que deixaram. Esta conquista também é dedicada a elas.

À minha namorada, Isa, por todo o amor, companheirismo, paciência e incentivo. Obrigada por permanecer ao meu lado nos momentos mais difíceis, por acreditar em mim quando eu mesma duvidei e por tornar essa caminhada muito mais leve. Ao meu melhor amigo, Mário, meu companheiro de sala durante a graduação e, principalmente, para a vida. Obrigada por compartilhar comigo tantos momentos importantes, pelos estudos, pelas conversas, pelas risadas e por tornar essa trajetória muito mais especial. À minha melhor amiga, Izabelle, que, mesmo morando em São Paulo, nunca deixou que a distância diminuísse nossa amizade. Obrigada pelo carinho, apoio, conselhos e por sempre acreditar em mim. Ao Gabriel Segadães, agradeço pela disponibilidade, paciência e por compartilhar seu conhecimento durante o desenvolvimento deste trabalho. Ao meu orientador, Prof. Dr. Nilson Nicolau, agradeço por acreditar no meu projeto e aceitar orientá-lo mesmo em um prazo tão curto. Obrigada pela confiança, pelos ensinamentos e pela oportunidade de desenvolver esta pesquisa. Agradeço também aos meus amigos, aos professores da Universidade Federal de Uberlândia e a todos que, de alguma forma, contribuíram para minha formação acadêmica e pessoal. Este trabalho representa muito mais do que a conclusão da graduação. Ele simboliza os desafios superados, a saudade de casa, as perdas, os aprendizados e, principalmente, a certeza de que nenhum sonho é construído sozinho. A todos que fizeram parte dessa caminhada, meu mais sincero obrigado.

RESUMO

Salmonella enterica sorovar Typhimurium é um patógeno entérico de humanos e animais, infectando o epitélio intestinal e causando doenças gastrointestinais após a ingestão de alimentos ou água contaminados. A infecção provoca diarreia e, embora geralmente autolimitada, pode evoluir para desidratação e sepse. No Brasil, a salmonelose é uma das principais infecções bacterianas transmitidas por alimentos, sendo esse sorotipo importante agente de infecções sistêmicas. O tratamento tem se tornado mais complexo devido ao surgimento de cepas resistentes, favorecido pelo uso indiscriminado de antibióticos, que promove a colonização persistente e seleção de resistência, um dos principais desafios da saúde pública mundial. Nesse contexto, a glutamina sintetase (GS), enzima-chave do metabolismo do nitrogênio, destaca-se como alvo terapêutico deste patógeno. Neste trabalho, a fosfotricina, um potente inibidor competitivo da GS, foi utilizada como molécula de referência para busca de novos potenciais inibidores contra essa enzima. Para tanto, foram utilizadas ferramentas de bioinformática para selecionar e avaliar esses potenciais inibidores da glutamina sintetase visando o desenvolvimento de drogas mais eficazes contra a *Salmonella* Typhimurium. Foram aplicadas técnicas de modelagem baseada em forma, triagem virtual e *docking* molecular, utilizando bancos de dados de compostos que totalizaram 9 milhões moléculas distribuídas em cinco bancos de dados contendo substâncias *drug-like*, fármacos comerciais e produtos naturais. As dez moléculas com maior pontuação de após o *docking* foram submetidas à análise *in silico* de propriedades farmacocinéticas e toxicidade, destacando-se os compostos NuBBe_265 e MP_29732. Ambos foram avaliados quanto aos tipos de interações com a proteína-alvo. Embora estudos adicionais sejam necessários para confirmar seu potencial farmacológico, os resultados indicam perfil promissor para o desenvolvimento de novos antimicrobianos.

Palavras-chave: *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium; glutamina sintetase; *docking* molecular; fosfotricina.

ABSTRACT

Salmonella enterica serovar Typhimurium is an enteric pathogen of humans and animals that infects the intestinal epithelium, causing gastrointestinal disease following the ingestion of contaminated food or water. Infection leads to diarrhea and, although generally self-limiting, may progress to dehydration and sepsis. In Brazil, salmonellosis is one of the leading foodborne bacterial infections, and this serovar is an important causative agent of systemic infections. Treatment has become increasingly challenging due to the emergence of antimicrobial-resistant strains, driven by the indiscriminate use of antibiotics, which promotes persistent colonization and the selection of resistant bacteria, representing one of the major challenges to global public health. In this context, glutamine synthetase (GS), a key enzyme in nitrogen metabolism, has emerged as a promising therapeutic target for this pathogen. In the present study, phosphinothricin, a potent competitive inhibitor of GS, was used as the reference molecule to identify new potential inhibitors of this enzyme. Bioinformatics tools were employed to select and evaluate potential glutamine synthetase inhibitors with the aim of developing more effective drugs against *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. Shape-based modeling, virtual screening, and molecular docking techniques were applied using compound libraries comprising approximately 9 million molecules distributed across five databases containing drug-like compounds, commercial drugs, and natural products. The ten highest-scoring compounds obtained after molecular docking were further evaluated through *in silico* pharmacokinetic and toxicity analyses, with NuBBE_265 and MP_29732 emerging as the most promising candidates. Both compounds were also analyzed regarding their interaction profiles with the target protein. Although further experimental studies are required to confirm their pharmacological potential, the results indicate that these compounds represent promising candidates for the development of new antimicrobial agents.

Keywords: *Salmonella enterica* serovar Typhimurium; glutamine synthetase; molecular docking; phosphinothricin.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Salmonella entérica sorovar Typhimurium	1
1.2 Metabolismo	2
1.3 Inibidores e Fosfotricina	4
1.4 Ferramentas in silico e estrutura	5
2 JUSTIFICATIVA	6
3 OBJETIVOS	7
3.1 Objetivo geral	7
3.2 Objetivos específicos	7
4 METODOLOGIA	7
4.1 Seleção e preparação da proteína	7
4.2 Seleção e preparação do inibidor de referência	8
4.3 Preparação dos bancos de dados	9
4.4 Triagem virtual e docking molecular	10
4.5 Análise de propriedades farmacocinética in silico	10
4.6 Geração de diagramas de interação 2D proteína-ligante	10
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	11
5.1 Seleção e preparação da proteína	11
5.2 Geração do modelo baseado em forma	12
5.3 Preparação dos bancos de dados	12
5.4 Triagem virtual e Docking	13
5.5 Propriedades farmacocinéticas	15
5.6 Diagramas de interação 2D proteína-ligante	23
6 CONCLUSÃO	25
7 REFERÊNCIAS	26

1 INTRODUÇÃO

1.1 *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium

A *Salmonella* Typhimurium é um bacilo Gram-negativo, intracelular facultativo, que apresenta notável variabilidade metabólica e ampla gama de hospedeiros. Sob condições ideais, possui um tempo de crescimento de aproximadamente 20 minutos. Tal patógeno destaca-se por não fermentar a lactose e pela capacidade de utilizar o citrato como única fonte de carbono, diferenciando-se de linhagens relacionadas (PEREZ-SEPULVEDA; HINTON, 2025). Esta característica única tem sido usada para o desenvolvimento de diversos meios seletivos e diferenciais para a cultura, isolamento e identificação inicial da *Salmonella* (JAJERE, 2019).

Os sorovares não tifoides de *Salmonella enterica*, como o Typhimurium, destacam-se entre os agentes bacterianos como grandes responsáveis por doenças transmitidas por alimentos que causam hospitalizações e mortes em escala mundial (ANDERSON; KENDALL, 2017). No Brasil, a *Salmonella* classifica-se entre os dois patógenos mais frequentes em surtos alimentares recentes. O sorotipo *S. Typhimurium* destaca-se por sua presença global, sendo isolado de suínos, aves, bovinos e frutos do mar. Por sua natureza zoonótica e ampla transmissão entre animais e humanos, este sorovar gera prejuízos milionários às indústrias de carne suína, avícola e bovina (SERIBELLI et al., 2021). Além disso, esses agentes são responsáveis por surtos de gastroenterite autolimitada que estão amplamente ligados à industrialização da produção de alimentos (PEREZ-SEPULVEDA; HINTON, 2025).

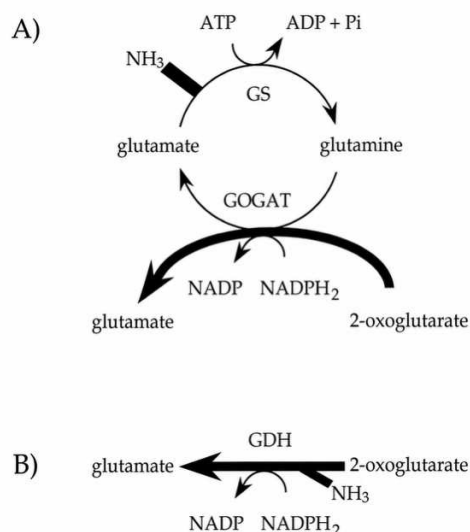
Segundo dados do CDC, os Estados Unidos registram por ano, aproximadamente 40 mil casos de salmonelose. No entanto, estima-se que a incidência real possa ser 30 vezes superior, visto que ocorrências leves frequentemente não são diagnosticadas ou notificadas. É importante destacar que esta doença manifesta-se com maior gravidade em crianças, idosos e pessoas com o sistema imune fragilizado, sendo responsável por aproximadamente 400 óbitos anuais nos Estados Unidos (FÀBREGA; VILA, 2013). Visto que a maioria das infecções em humanos provém do consumo de produtos de origem animal, há um empenho científico crescente em estudar os mecanismos de interação entre a *S. Typhimurium* e o hospedeiro. As pesquisas focam, sobretudo, nos fatores de virulência que possibilitam ao patógeno transpor barreiras biológicas e reprogramar funções celulares em benefício próprio (HERRERO-FRESNO; OLSEN, 2018).

Atualmente, os antibióticos são recomendados apenas para casos graves, sendo evitados em quadros leves a moderados, como ocorre com as fluoroquinolonas. No entanto, a *Salmonella* Typhimurium vem apresentando um aumento na resistência antimicrobiana aos medicamentos mais utilizados para o tratamento (KAUR et al., 2025). O uso contínuo de agentes antimicrobianos na medicina humana e na produção animal exerce pressão seletiva sobre as bactérias, favorecendo a sobrevivência e a disseminação de cepas resistentes. No contexto da produção pecuária, a utilização desses fármacos para prevenção de doenças, tratamento e promoção do crescimento animal tem contribuído significativamente para o surgimento de bactérias resistentes, que podem ser transmitidas aos seres humanos por meio da cadeia alimentar. Esse cenário mostra a crescente limitação das terapias convencionais e reforça a necessidade da identificação de novos alvos terapêuticos para o desenvolvimento de agentes antimicrobianos mais eficazes. Nesse contexto, a glutamina sintetase destaca-se como um alvo molecular promissor, por desempenhar papel essencial no metabolismo do nitrogênio e na sobrevivência bacteriana (NARIMISA; RAZAVI; MASJEDIAN JAZI, 2024).

1.2 Metabolismo

O nitrogênio é um elemento essencial para a célula, sendo a amônia a fonte mais energeticamente favorável para sua assimilação. Esse processo ocorre principalmente por meio da via envolvendo a glutamina sintetase (GS) e a glutamina 2-oxoglutarato amidotransferase (GOGAT) (Figura 1) (REITZER, 2003). Em condições de limitação de nitrogênio no meio de crescimento, nota-se um aumento na síntese da glutamina sintetase, como mecanismo adaptativo para otimizar a captação e o aproveitamento desse nutriente. Além disso, mutações reguladoras do nitrogênio (mutações N-regulatórias) também podem induzir esse aumento, estando intimamente associadas ao gene estrutural da glutamina sintetase, o *glnA*, que desempenha papel central no metabolismo do nitrogênio (MIYAKOSHI et al., 2022).

Figura 1: Vias de assimilação do nitrogênio via GS/GOGAT e GDH



(A) Via GS/GOGAT, na qual a glutamina sintetase (GS) catalisa a formação de glutamina a partir de glutamato e amônio, com consumo de ATP, e a glutamato sintase (GOGAT) converte glutamina e 2-oxoglutarato em glutamato utilizando NADPH . (B) Via da glutamato desidrogenase (GDH), que promove a aminação direta do 2-oxoglutarato para formação de glutamato utilizando NADPH .

Fonte: Reitzer (2003).

A glutamina é um intermediário importante na assimilação de nitrogênio. Seu grupo amida pode ser usado na síntese de vários outros aminoácidos e compostos contendo nitrogênio (MEISTER, 1962). Resultados mostraram que em *S. Typhimurium* o sistema de transporte de glutamina de alta afinidade responde à disponibilidade de nitrogênio do meio da mesma forma que a glutamina sintetase (WILLIS; IWATA; FURLONG, 1975). Sob elevadas concentrações de amônia, observa-se a repressão do transporte, enquanto a presença de casaminoácidos promove o incremento desse processo, evidenciando um perfil regulatório semelhante ao da glutamina sintetase (BETTERIDGE; AYLING, 1976).

Estudos indicaram que variantes com mutações de perda de função no gene da glutamina sintetase (*glnA*) apresentaram redução do crescimento bacteriano, além de comprometimento da motilidade e da virulência em *S. Typhimurium* (AURASS et al., 2018). Esses achados demonstram que a biossíntese de glutamina e o metabolismo do nitrogênio exercem papel fundamental na fisiologia e na interação da bactéria com o hospedeiro. Dessa forma, a glutamina sintetase destaca-se como um alvo terapêutico promissor, uma vez que sua inibição pode comprometer processos metabólicos essenciais à sobrevivência e à

patogenicidade bacteriana, favorecendo o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos (MOWBRAY et al., 2014).

1.3 Inibidores e Fosfinotricina

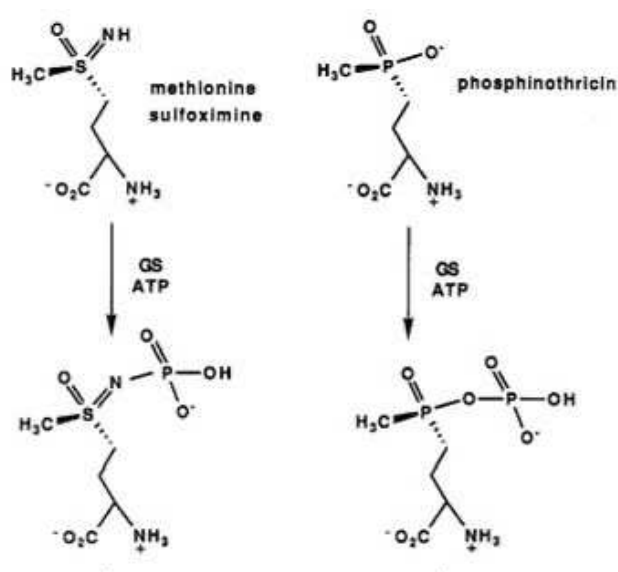
A disseminação mundial de bactérias resistentes a múltiplas classes de fármacos compromete a saúde humana e animal, apresentando um cenário prospectivo crítico. Torna-se fundamental a busca por novas abordagens terapêuticas para enfrentar essa problemática (DEMIANKOVA et al., 2023). Devido ao elevado impacto das salmoneloses não tifóides na saúde global, as estratégias de investigação têm se voltado para o uso de ferramentas computacionais. Tais metodologias *in silico* permitem identificar alvos proteicos estratégicos para o desenvolvimento de fármacos direcionados aos sorovares *Salmonella* Typhimurium (GULZAR et al., 2024).

Conforme mencionado, a glutamina sintetase (GS) desempenha um papel central no metabolismo nitrogenado na maioria dos sistemas biológicos. Esta enzima é responsável por catalisar a etapa inicial da assimilação do nitrogênio, promovendo a síntese de glutamina a partir de glutamato e amônia em uma reação dependente de ATP. Devido à sua relevância metabólica vital, a GS tem sido amplamente investigada como um alvo estratégico para o desenvolvimento de novos inibidores (BERLICKI et al., 2005). Um exemplo proeminente desses inibidores é a fosfinotricina [ácido L-2-amino-4-(hidroximetilfosfinil)butanoico], cujas propriedades foram investigadas via métodos de cinética rápida. Este composto atua como um inibidor de ligação forte e lenta, caracterizando-se por sofrer fosforilação durante sua inativação, processo este que depende estritamente de ATP (ABELL; VILLAFRANCA, 1991).

Do ponto de vista estrutural, o complexo fosfinotricina-GS de *Salmonella* Typhimurium revelou um mecanismo de inibição não covalente do tipo "sem saída". A fosfinotricina ocupa o sítio de ligação do substrato glutamato, apresentando uma distribuição de cargas perfeitamente complementar a essa cavidade. Ao se alojar no sítio ativo, o inibidor induz uma mudança conformacional que estabiliza a alça proteica do resíduo Glu327, bloqueando fisicamente a entrada de novas moléculas de glutamato e aprisionando o composto na estrutura enzimática. Adicionalmente, um dos oxigênios do grupo fosfinil do inibidor projeta-se em direção ao sítio adjacente de ligação do amônio, desorganizando as interações necessárias para o acoplamento deste segundo substrato (GILL; EISENBERG, 2001).

Portanto, compostos análogos ao substrato, como metionina sulfoximina e a fosfinotricina, são reconhecidos pela glutamina sintetase e sofrem ativação dependente de ATP (Figura 2), formando intermediários fosforilados que permanecem ligados ao sítio ativo, resultando em inibição irreversível da enzima (ABELL; VILLAFRANCA, 1991). Por fim, além de suas potenciais aplicações práticas, os inibidores constituem ferramentas valiosas para aprofundar o conhecimento sobre as propriedades catalíticas, os sistemas de regulação e a função fisiológica da enzima.

Figura 2: inibição da glutamina sintetase por análogos fosforilados



Fonte: ABELL; VILLAFRANCA (1991)

1.4 Ferramentas *in silico* e estrutura

Ao decorrer da última década, a bioinformática vem adquirindo uma importância cada vez maior no processo de desenvolvimento de novos fármacos, promovendo sua aceleração e redução de gastos. A partir de métodos computacionais, tornou-se possível prever e selecionar moléculas com maior afinidade a certo alvo em meio a imensos bancos de dados. Essa análise leva em consideração sequências genômicas, interações físico-químicas e estruturas tridimensionais de modo a possibilitar o afunilamento de testes em bancada de forma rápida, segura e barata (SHANMUGAM; JEON, 2017).

A investigação *in silico* de substâncias que interagem com alvos biológicos específicos é denominada triagem virtual (*virtual screening*). Esse processo pode ser orientado tanto pelo

alvo (*target-based virtual screening*) quanto pelos ligantes (*ligand-based virtual screening*). Na primeira modalidade, a triagem fundamenta-se na estrutura da biomolécula de interesse e na predição de sua interação com diferentes compostos. Na segunda, a busca baseia-se em similaridades entre ligantes previamente conhecidos, criando modelos que são comparados computacionalmente a bancos de moléculas (DOMINGUES; LOPES, 2012); e a dinâmica molecular, a qual simula o ambiente celular e prediz a movimentação de cada átomo do sistema alvo-ligante a partir de parâmetros físicos, possibilitando a avaliação da qualidade da ligação (HOLLINGSWORTH;DROR, 2018).

Portanto, considerando a importância de identificar novos ligantes para o combate às infecções por *Salmonella* Typhimurium, este estudo visa utilizar métodos de prospecção *in silico* para a investigação de inibidores da glutamina sintetase. A análise integrará ferramentas de *docking* e triagem virtual em bibliotecas moleculares distintas, permitindo a prospecção dentre milhões de substâncias, entre compostos sintéticos e metabólitos naturais, para a identificação de candidatos a fármacos mais eficazes.

2 JUSTIFICATIVA

A infecção por *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium representa um importante problema de saúde pública, sendo uma das principais causas de doenças transmitidas por alimentos em todo o mundo, incluindo o Brasil. Além disso, o aumento da resistência a antimicrobianos tem dificultado o tratamento dessas infecções, evidenciando a necessidade do desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas. Nesse contexto, o estudo de enzimas essenciais ao metabolismo bacteriano, como a glutamina sintetase, torna-se promissor como alvo terapêutico. Portanto, este trabalho se justifica na prospecção de inibidores desse alvo, com o objetivo de contribuir para o desenvolvimento de novas abordagens antimicrobianas mais eficazes e seguras.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Utilizar ferramentas bioinformáticas para selecionar e avaliar potenciais inibidores da enzima glutamina sintetase de *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium, visando a proposição de novos compostos com potencial atividade antimicrobiana

3.2 Objetivos específicos

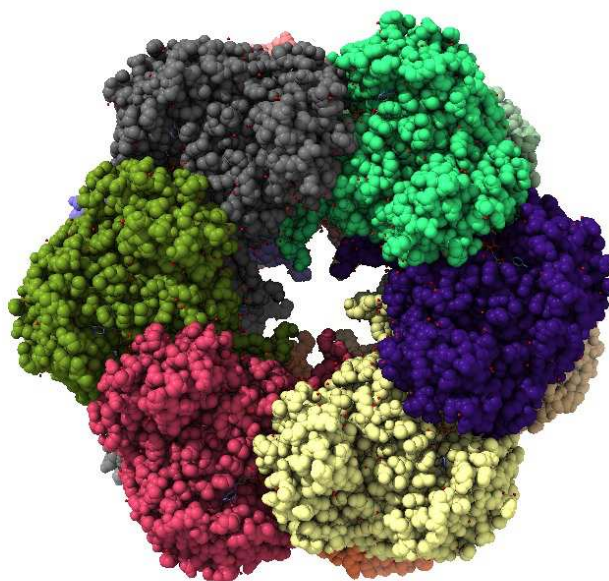
- Obter e preparar a estrutura tridimensional da glutamina sintetase de *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium para as análises computacionais;
- Construir um modelo baseado em forma a partir de um inibidor conhecido da glutamina sintetase;
- Selecionar moléculas semelhantes ao modelo baseado em forma por meio de triagem virtual;
- Avaliar a interação entre as moléculas selecionadas e a glutamina sintetase por meio de *docking* molecular;
- Avaliar as propriedades farmacocinéticas e toxicológicas das moléculas selecionadas utilizando o Deep-PK;
- Analisar as interações intermoleculares entre os compostos selecionados e a glutamina sintetase.

4 METODOLOGIA

4.1 Seleção e preparação da proteína

A estrutura tridimensional da enzima glutamina sintetase de *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium foi obtida a partir do banco de dados Protein Data Bank (PDB), sob o código de acesso 1FPY (Figura 3). A proteína foi preparada computacionalmente por meio da remoção de moléculas de água e íons não constituintes do sítio catalítico. Em seguida, foram adicionados hidrogênios polares e atribuídas as cargas parciais apropriadas para as simulações subsequentes. Por fim, foi isolada uma subunidade da macromolécula para ser utilizada como receptor nos ensaios de ancoragem molecular (*docking*).

Figura 3 - Estrutura cristal da glutamina sintetase da *Salmonella Typhimurium* com inibidor fosfinotricina (PDB ID: 1FPY)

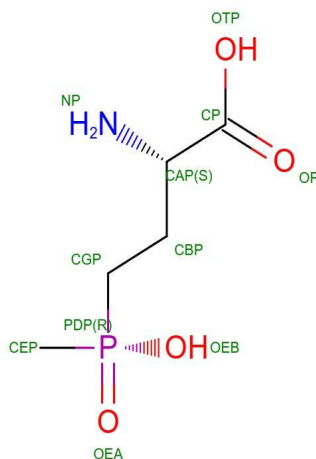


Fonte: Protein Data Bank (2001)

4.2 Seleção e preparação do inibidor de referência

A construção do modelo baseado em forma foi realizada com base na forma do ligante fosfinotricina (PPQ) (PDB id: 1FPY) (Figura 4), a partir do programa vROCS 3.6.2.0, OpenEyes Scientific Software, Santa fe, NM (HAWKINS; SKILLMAN; NICHOLLS,2007). Esse composto ocupa o sítio de ligação do substrato glutamato, estabilizando a alça do Glu327, atuando como inibidor competitivo ao bloquear a passagem desse substrato (GILL; EISENBERG,2001).

Figura 4 - Estrutura 2D do PPQ (PDB ID: 1FPY).



Fonte: Protein Data Bank (2001)

4.3 Preparação dos bancos de dados

O modelo gerado na etapa anterior foi utilizado na triagem virtual de cinco bibliotecas virtuais de compostos, sendo elas: NuBBEDB (VALLI et al., 2013), com mais de 2000 moléculas oriundas de produtos naturais brasileiros; FDA (Federal Drug Administration), com mais de 3000 fármacos comerciais; MolPort (MOLPORT, 2024), com milhões de compostos comerciais disponíveis para triagem; CNS, um subconjunto da base ZINC (ZINC, 2015), contendo aproximadamente 50.000 moléculas direcionadas ao sistema nervoso central; e os bancos de dados CL (Core Library) pertencentes à empresa Chembridge, com mais de 1 milhão de moléculas.

Esses bancos de dados foram submetidos ao software FILTER do OMEGA 2.5.1.4 OpenEye Scientific Software, Santa Fe, NM (HAWKINS et al., 2010), o qual realiza a filtragem e seleção dos compostos ao combinar cálculos de propriedades físicas e estudo de grupos funcionais, eliminando ligantes indesejáveis, como aqueles de caráter tóxico ou que podem gerar interferências no processo experimental. Após a filtragem, as moléculas selecionadas passaram pelo programa QUACPAC 1.6.3.1, OpenEye Scientific Software, Santa Fe, NM. Esta etapa se baseia no pKa e nos tautômeros de cada composto, visando a obtenção de cargas precisas e compatíveis ao potencial hidrogeniônico do sangue. Por fim,

essas bibliotecas afuniladas e preparadas foram sujeitas à geração de confôrmeros por meio do programa OMEGA, uma etapa de extrema importância para a triagem virtual pois ela depende de conformações bioativas para alcançar melhores resultados.

4.4 Triagem virtual e *docking* molecular

O processo de triagem virtual foi realizado através do software vROCS 3.6.2.0, Santa FeNM (HAWKINS et al., 2010), tendo como base o modelo baseado em forma. Assim, aplicou-se o *score* Tanimoto combo (color force field: Implicit Mills-Dean) para avaliar os 500 melhores resultados de cada banco de dados, os quais puderam ser visualizados com uso do software VIDA 5.0.6.0, OpenEye Scientific Software, Santa Fe, NM.

Os 500 melhores ligantes de cada biblioteca foram submetidos à técnica de *docking* molecular a partir do programa GOLD (JONES et al., 1997). Esse software utiliza um algoritmo genético para avaliar a ancoragem flexível entre a proteína e os ligantes, ranqueando os melhores resultados pelo algoritmo de pontuação CHEMPLP. Dentre os 2500 compostos avaliados, os dez de maior *score* foram selecionados para a etapa de análise de propriedades farmacocinéticas.

4.5 Análise de propriedades farmacocinética *in silico*

Os dez melhores compostos obtidos na fase anterior foram sujeitos ao servidor online Deep-PK (MYUNG; DE SÁ; ASCHER, 2024). para análise de suas principais propriedades farmacocinéticas (ADMET): absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade. Esse processo é de grande importância para prever se esses inibidores selecionados apresentam características farmacológicas ideais, tendo como base homeostase do organismo humano.

4.6 Geração de diagramas de interação 2D proteína-ligante

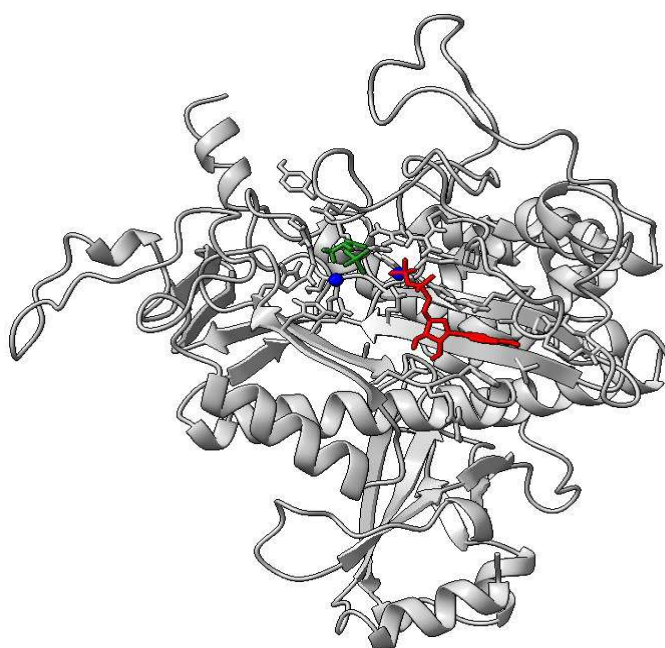
As moléculas selecionadas na etapa anterior foram submetidas à construção de diagramas 2D de sua interação intermolecular com a proteína GS. Esse processo foi realizado pelo uso do software Molecular Operating Environment (MOE) versão 2022.02 (Chemical Computing Group, 2022).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Seleção e preparação da proteína

A estrutura tridimensional utilizada como receptor alvo para os ensaios de triagem virtual foi obtida diretamente do Protein Data Bank (PDB), sob o código de acesso 1FPY. Este modelo cristalográfico representa a enzima glutamina sintetase de *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium resolvida experimentalmente em estrutura cristalográfica, complexada com o seu inibidor clássico, a fosfinotricina (Figura 4). A Figura 5 ilustra a estrutura tridimensional da subunidade isolada e preparada para as simulações, destacando a topografia do sítio ativo onde os novos candidatos a inibidores serão ancorados.

Figura 5 - Estrutura tridimensional da GS da *Salmonella* Typhimurium complexada com PPQ e FAD.



Legenda: Proteína (cinza), ligante de referência (verde), ADP (vermelho) e íon Mn^{2+} (azul)

Fonte: Autoria própria (2026)

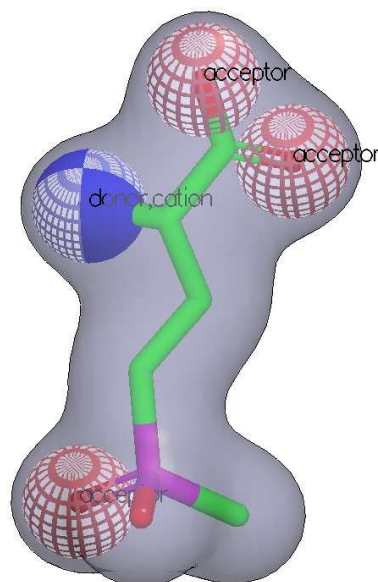
Optou-se pela utilização de apenas uma subunidade da glutamina sintetase, desconsiderando as demais cadeias do complexo, pois essa estratégia reduziu o custo computacional das etapas seguintes, como o *docking* molecular, ao diminuir o número de átomos processados. Além disso, como o objetivo deste trabalho foi investigar a interação de

novos ligantes com o sítio ativo presente em uma única cadeia da proteína, a utilização de apenas um monômero foi suficiente para atender aos objetivos do estudo.

5.2 Geração do modelo baseado em forma

A construção do modelo baseado em forma a partir do ligante PPQ foi bem-sucedida e pode ser visualizada na figura 6. O software vROCS 3.6.2.0 analisou a forma molecular e as características químicas do ligante de referência e criou um molde para comparação com outros compostos

Figura 6 - Modelo baseado em forma do ligante PPQ (PDB ID:1FPY).



As esferas vermelhas representam aceitor de ligação de hidrogênio; as azuis, grupos doadores de ligação de hidrogênio; e o envoltório em cinza, o volume e formato do modelo baseado em forma.

Fonte: Autoria própria (2026)

5.3 Preparação dos bancos de dados

As cinco bibliotecas virtuais de compostos (NuBBEDB, FDA, CL, CNS e MolPort) foram devidamente tratadas com uso dos softwares QUACPAC 1.6.3.1 e OMEGA 2.5.1.4 para possibilitar resultados mais satisfatórios nas etapas de triagem virtual e *docking*. Portanto, os compostos foram filtrados, protonados e sujeitos a geração de confôrmeros, o que eliminou potenciais interferentes, adaptou as moléculas ao potencial hidrogeniônico do sangue e gerou conformações bioativas.

5.4 Triagem virtual e *Docking*

A triagem virtual foi realizada pelo vROCS a partir dos cinco bancos de dados virtuais preparados previamente e o modelo baseado em forma (Figura 6). A partir da pontuação Tanimoto Combo (TC) retornada pelo software, os 500 compostos com maiores scores de cada biblioteca foram submetidos à técnica de *docking* molecular através do GOLD. Esse software utiliza o algoritmo de pontuação CHEMPLP para avaliar os melhores resultados de ancoragem. Dentre as 2500 moléculas avaliadas, as dez de maior *score* foram selecionadas para a próxima etapa (Tabela 1).

Tabela 1 – Valores de Tanimoto Combo e CHEMPLP das dez moléculas selecionadas após a triagem virtual e o *docking* molecular.

Composto	Tanimoto Combo	CHEMPLP
MP_29732	1,128	76,3052
ZINC000001530283	1,127	84,0272
CL_51448	0,945	73,8539
CL_50402	0,926	75,1769
ZINC000000156395	0,923	74,2374
ZINC000003831475	0,891	73,5273

ZINC000001531009	0,863	90,6394
NuBBE_265	0,862	84,8614
ZINC000003803652	0,859	93,0773
ZINC000000005560	0,846	73,5600

Os resultados da triagem virtual demonstraram que os compostos selecionados apresentaram valores de Tanimoto Combo variando entre 0,846 e 1,128, indicando boa a elevada similaridade tridimensional e química em relação à fosfinotricina, utilizada como molécula de referência. Dentre os compostos avaliados, MP_29732 e ZINC000001530283 apresentaram os maiores valores de similaridade (1,128 e 1,127, respectivamente), sugerindo maior sobreposição de forma molecular e de características farmacofóricas quando comparados aos demais compostos selecionados.

Esses resultados evidenciam que a metodologia empregada foi eficiente na seleção de moléculas estruturalmente semelhantes ao ligante de referência, tornando-as candidatas promissoras para as etapas subsequentes de *docking* molecular. Entretanto, embora o Tanimoto Combo seja um importante parâmetro para a triagem inicial, ele avalia apenas a similaridade entre moléculas, não sendo suficiente para predizer a afinidade de ligação com a proteína-alvo. Dessa forma, os compostos selecionados foram submetidos ao *docking* molecular, permitindo avaliar seu potencial de interação com o sítio ativo da glutamina sintetase.

O algoritmo CHEMPLP, utilizado pelo GOLD nessa etapa, é baseado em potenciais lineares por partes (*piecewise linear potentials*) que modelam interações entre ligante e proteína, ao considerar ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e repulsões estéricas. Seu *score* é adimensional e empregado para ranquear ligantes dentro de um mesmo experimento, sendo que valores mais altos correspondem a ancoragens mais favoráveis (KORB; STÜTZLE; EXNER, 2009). Assim, a análise de seus resultados não deve ser

realizada de forma absoluta, mas sim comparativa, o que permitiu selecionar os dez compostos mais promissores em meio aos 2500 testados.

5.5 Propriedades farmacocinéticas

Os 10 compostos selecionados pela etapa anterior foram submetidos à análise preditiva de suas propriedades farmacocinéticas (ADMET): absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade, através do servidor online Deep-PK.

A Tabela 2 apresenta os parâmetros de absorção feito pelas ferramentas do DeepPK, incluindo a biodisponibilidade oral humana de 20% e 50%, a absorção intestinal humana, bem como a interação dos compostos com a glicoproteína P (P-gp), na condição de inibidor e substrato (PIRES; BLUNDELL; ASCHER, 2015). A biodisponibilidade oral representa a fração do fármaco administrado por via oral que alcança a circulação sistêmica de forma inalterada, após superar o metabolismo de primeira passagem hepático. Os modelos de 20% e 50% estimam a probabilidade de o composto apresentar biodisponibilidade superior a esses valores, sendo que maiores probabilidades estão associadas a um potencial mais favorável para administração oral. A absorção intestinal humana (HIA) estima a porcentagem da dose absorvida pelo intestino delgado, considerando compostos com absorção superior a 30% como bem absorvidos. Entretanto, esse parâmetro não reflete, isoladamente, a biodisponibilidade oral, uma vez que esta também depende do metabolismo de primeira passagem. Além disso, foi avaliada a interação com a glicoproteína P (P-gp), um importante transportador de efluxo responsável por limitar a absorção e favorecer a eliminação de xenobióticos. Compostos classificados como inibidores da P-gp podem aumentar a absorção de fármacos substratos, embora também possam favorecer interações medicamentosas. Por outro lado, compostos classificados como substratos da P-gp tendem a ser transportados para fora das células, reduzindo sua absorção e biodisponibilidade, característica geralmente considerada desfavorável para candidatos a fármacos administrados por via oral.

Tabela 2 – Predição *in silico* das propriedades de absorção dos compostos selecionados

ADMET - Absorção	Biodisponibili- dade oral humana 20%	Absorção intestinal	Biodisponibili- dade oral 50%	Inibidor de P-gp	Substrato de P-gp
ZINC0000 03803652	Biodisponível	Absorvido	Não	Não inibidor	Não susbtrato
ZINC0000 01531009	Biodisponível	Absorvido	Biodisponível	Não inibidor	Não susbtrato
NuBBe_2 65	Biodisponível	Absorvido	Não	Não inibidor	Não susbtrato
ZINC0000 01530283	Biodisponível	Absorvido	Não	Não inibidor	Não susbtrato
MP_2973 2	Biodisponível	Absorvido	Não	Não inibidor	Não susbtrato
CL_50402	Biodisponível	Não	Não	Não inibidor	Não susbtrato
ZINC0000 00156395_	Biodisponível	Absorvido	Não	Não inibidor	Não susbtrato

2_18					
CL_51448	Biodisponível	Absorvido	Biodisponível	Não inibidor	Não susbtrato
ZINC0000 00005560_ 1_27	Biodisponível	Absorvido	Biodisponível	Não inibidor	Não susbtrato
ZINC0000 03831475_ 1_1	Biodisponível	Absorvido	Não	Não inibidor	Não susbtrato

Fonte: Autoria própria (2026)

Os parâmetros de distribuição avaliados pelo DeepPK estão apresentados na Tabela 3, incluindo a penetração da barreira hematoencefálica (BHE), a fração livre (FU) e a ligação às proteínas plasmáticas (PPB). A penetração da barreira hematoencefálica avalia a capacidade de um composto atravessar a BHE e alcançar o sistema nervoso central, sendo um parâmetro importante para estimar sua distribuição tecidual e o potencial de efeitos adversos neurológicos. A permeabilidade é expressa pelo valor de logPS, sendo compostos com valores ≥ -2 classificados como capazes de atravessar a barreira hematoencefálica (CNSp+) e aqueles com valores ≤ -3 considerados incapazes de atravessá-la (CNSp-). Considerando que os compostos avaliados neste estudo têm como alvo a glutamina sintetase de *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium, uma baixa permeabilidade à BHE pode ser considerada uma característica favorável, uma vez que reduz a exposição do sistema nervoso central e, conseqüentemente, o risco de efeitos adversos nesse tecido. A fração livre (FU) representa a proporção do fármaco que permanece não ligada às proteínas plasmáticas, estando disponível para exercer atividade farmacológica, sofrer metabolismo ou ser eliminada do organismo. Esse parâmetro influencia diretamente a distribuição, a eficácia e o perfil farmacocinético dos compostos. Por sua vez, a ligação às proteínas plasmáticas (PPB) corresponde à porcentagem do fármaco ligada de forma não específica às proteínas presentes no plasma, afetando a quantidade de molécula livre disponível na circulação. Em geral, compostos com elevada

ligação às proteínas plasmáticas apresentam menor fração livre, enquanto valores mais baixos de PPB favorecem uma maior disponibilidade do fármaco para alcançar seu alvo biológico.

Tabela 3 – Predição *in silico* das propriedades de distribuição dos compostos selecionados

ADMET - Distribuição	Barreira Hematoencefálica	Fração Não Amarrada (Humana)	Ligação à Proteína Plasmática
ZINC0000038 03652	Penetrável	0,59	13.0
ZINC0000015 31009	Penetrável	0,56	29,56
NuBBe_265	Penetrável	0.15	34,77
ZINC0000015 30283	Penetrável	-0.2	17,28
MP_29732	Penetrável	0,1	8.5
CL_50402	Não Penetrável	0.45	35.5
ZINC0000001 56395_2_18	Não Penetrável	0.15	58,64
CL_51448	Penetrável	0,59	52,97
ZINC0000000	Penetrável	1.43	77,15

05560_1_27			
ZINC0000038 31475_1_1	Penetrável	0.65	37,37

Fonte: Autoria própria (2026)

Para a avaliação da excreção, foi considerada a meia-vida de eliminação ($t_{1/2}$), importante parâmetro farmacocinético relacionado à permanência do fármaco no organismo, como mostrada na Tabela 4. A meia-vida corresponde ao tempo necessário para que a concentração plasmática de um composto seja reduzida à metade durante a fase de eliminação, após os processos de absorção e distribuição terem sido concluídos. Esse parâmetro é fundamental na avaliação farmacocinética, pois influencia a duração da ação terapêutica, a frequência de administração e o risco de acúmulo do fármaco no organismo. No DeepPK, os compostos são classificados de acordo com a probabilidade de apresentarem meia-vida de eliminação maior ou igual a 3 horas (Classe 1) ou inferior a 3 horas (Classe 0). De modo geral, compostos com meia-vida igual ou superior a 3 horas tendem a permanecer por mais tempo na circulação sistêmica, podendo proporcionar maior duração do efeito farmacológico e reduzir a frequência de administração. Por outro lado, compostos com meia-vida inferior a 3 horas são eliminados mais rapidamente, o que pode exigir administrações mais frequentes para a manutenção de concentrações terapêuticas adequadas.

Tabela 4 – Predição *in silico* das propriedades de excreção dos compostos selecionados

ADMET - Excreção	Meia-vida do medicamento
ZINC000003803652	Meia-vida < 3 horas
ZINC000001531009	Meia-vida < 3 horas

NuBBe_265	Meia-vida $\geq$ 3 horas
ZINC000001530283	Meia-vida $\geq$ 3 horas
MP_29732	Meia-vida $<$ 3 horas
CL_50402	Meia-vida $<$ 3 horas
ZINC000000156395 _2_18	Meia-vida $<$ 3 horas
CL_51448	Meia-vida $<$ 3 horas
ZINC000000005560 _1_27	Meia-vida $<$ 3 horas
ZINC000003831475 _1_1	Meia-vida $\geq$ 3 horas

Fonte: Autoria própria (2026)

Por fim, parâmetros de toxicidade apresentados na Tabela 5 compreendem a mutagênese de Ames, lesão hepática induzida por medicamentos (DILI), lesão hepática II, dose máxima tolerada (MTD), bloqueio do canal hERG e formação de micronúcleos. A mutagênese de Ames é um dos principais ensaios empregados na triagem inicial da genotoxicidade, sendo utilizada para identificar compostos com potencial mutagênico e, consequentemente, possível risco carcinogênico. Resultados positivos nesse teste indicam maior probabilidade de indução de mutações genéticas, enquanto resultados negativos sugerem menor potencial mutagênico. A lesão hepática induzida por medicamentos (DILI) e a lesão hepática II avaliam o potencial hepatotóxico dos compostos, considerando informações obtidas a partir de dados experimentais e clínicos em humanos. Esses parâmetros são fundamentais durante o desenvolvimento de novos fármacos, uma vez que a hepatotoxicidade

representa uma das principais causas de interrupção de estudos clínicos e retirada de medicamentos do mercado. A dose máxima tolerada (MTD) estima a maior dose capaz de ser administrada sem provocar efeitos tóxicos significativos, sendo expressa como $\log(\text{mg/kg/dia})$. Valores iguais ou inferiores a 0,477 $\log(\text{mg/kg/dia})$ indicam baixa toxicidade, enquanto valores superiores a esse limite estão associados a maior potencial tóxico. Também foi avaliado o potencial de bloqueio do canal hERG, importante biomarcador de cardiotoxicidade, uma vez que a inibição desse canal pode prolongar o intervalo QT e favorecer o desenvolvimento de arritmias ventriculares potencialmente fatais. Por último, o ensaio de micronúcleos avalia a capacidade de um composto induzir danos cromossômicos, sendo amplamente utilizado como indicador de genotoxicidade *in vivo*. Em conjunto, esses parâmetros permitem uma avaliação preliminar do perfil de segurança dos compostos, auxiliando na seleção de candidatos com menor potencial tóxico para etapas posteriores do desenvolvimento de fármacos.

Tabela 5 – Predição *in silico* das propriedades de toxicidade (ADMET) dos compostos selecionados

ADMET - Toxicidade	Mutagênesis e de AMES	Lesão Hepática Induzida por Medicamentos (DILI)	Lesão Hepática II	Dose máxima tolerada	Bloqueadores de hERG	Micronúcleos
ZINC000003803652	Seguro	Seguro	Tóxico	0,95	Seguro	Tóxico
ZINC000001531009	Seguro	Seguro	Tóxico	1,43	Seguro	Tóxico
NuBBe_265	Seguro	Seguro	Seguro	1,64	Seguro	Seguro

ZINC000001530283	Seguro	Seguro	Seguro	1.31	Seguro	Tóxico
MP_29732	Seguro	Seguro	Seguro	2.7	Seguro	Seguro
CL_50402	Seguro	Seguro	Seguro	0,75	Seguro	Tóxico
ZINC000000156395_2_18	Seguro	Seguro	Tóxico	1.22	Seguro	Tóxico
CL_51448	Seguro	Seguro	Tóxico	-0,15	Seguro	Tóxico
ZINC000000005560_1_27	Seguro	Tóxico	Tóxico	1.18	Seguro	Seguro
ZINC000003831475_1_1	Tóxico	Seguro	Tóxico	1,26	Seguro	Seguro

Fonte: Autoria própria (2026)

Com base nos parâmetros farmacocinéticos e toxicológicos preditos pelo DeepPK, observou-se que a maioria dos compostos apresentou perfil favorável quanto à mutagenicidade de Ames. Apenas o composto ZINC000003831475_1_1 foi predito como mutagênico, característica que reduz seu potencial como candidato a fármaco. Em relação à hepatotoxicidade, alguns compostos apresentaram resultados de predição positivos para lesão hepática, indicando a necessidade de cautela em estudos futuros. Por outro lado, no estudo de predição todos os compostos foram classificados como seguros quanto ao bloqueio do canal hERG, sugerindo baixo risco de cardiotoxicidade. Considerando conjuntamente os parâmetros de absorção, distribuição, excreção e toxicidade, destacam-se compostos como NuBBe_265 e MP_29732, que apresentaram um perfil farmacocinético e toxicológico mais promissor, justificando sua seleção para análises mais detalhadas das interações proteína-ligante.

5.6 Diagramas de interação 2D proteína-ligante

As dez moléculas selecionadas na etapa anterior, juntamente com a fosfinotricina, utilizada como ligante de referência, foram submetidas à construção de diagramas 2D de suas interações intermoleculares com a glutamina sintetase por meio do software Molecular Operating Environment (MOE), versão 2022.02 (Figura 7). Essa análise permitiu identificar os principais resíduos envolvidos na interação entre os ligantes e a proteína, bem como comparar o padrão de ligação dos compostos selecionados com o da fosfinotricina.

Os diagramas bidimensionais demonstraram que os compostos permaneceram ancorados na mesma região do sítio ativo da glutamina sintetase, estabelecendo interações com resíduos importantes para o reconhecimento do ligante e para a atividade catalítica da enzima. Entre os resíduos mais frequentemente envolvidos destacaram-se Arg359, His210, Tyr179, Glu327 e Glu220, além dos íons metálicos Mn469 e Mn470, presentes no sítio catalítico. A recorrência dessas interações entre os diferentes compostos sugere que esses resíduos desempenham papel fundamental na estabilização dos complexos proteína-ligante.

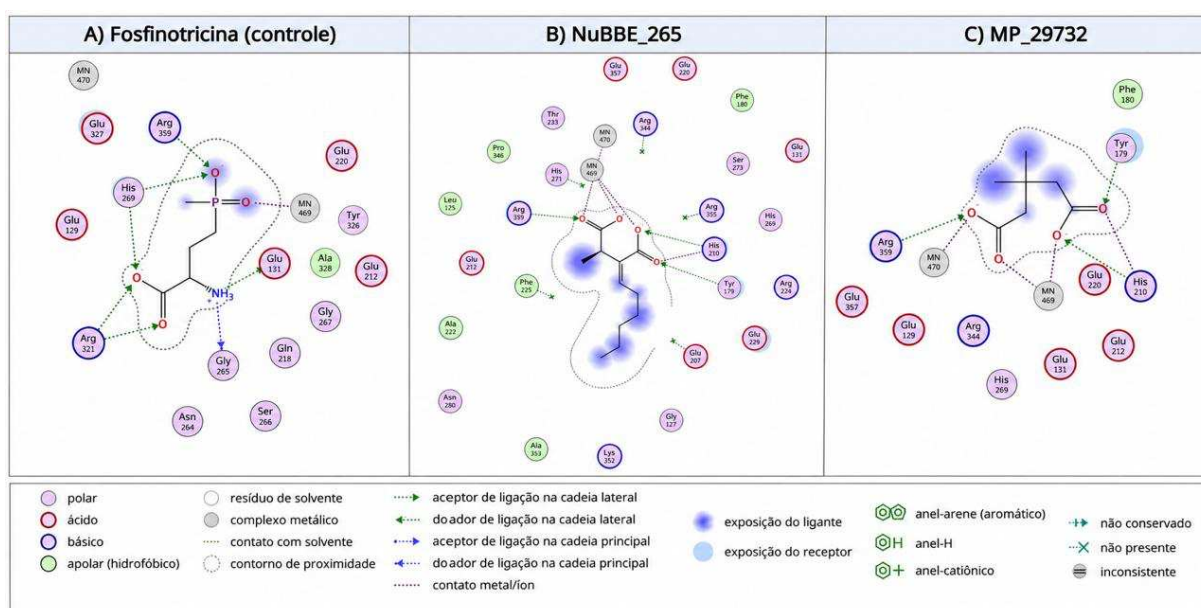
A fosfinotricina apresentou diversas ligações de hidrogênio e interações com os íons manganês, servindo como referência para a comparação dos demais ligantes. De forma semelhante, vários dos compostos selecionados preservaram interações com resíduos equivalentes aos observados para a molécula de referência, indicando que foram capazes de ocupar adequadamente o sítio ativo da enzima.

Dentre os compostos avaliados, NuBBe_265 e MP_29732 destacaram-se por apresentarem um conjunto favorável de interações intermoleculares, associado aos melhores perfis farmacocinéticos obtidos nas análises de ADMET. Ambos estabeleceram contatos com resíduos importantes do sítio ativo e apresentaram interações com os íons metálicos presentes na região catalítica, características que podem contribuir para a estabilidade do complexo proteína-ligante e para um potencial efeito inibitório sobre a glutamina sintetase.

Embora os demais compostos também tenham apresentado interações relevantes com a proteína, foram observadas diferenças quanto ao número e ao tipo de contatos estabelecidos, indicando variações no modo de ligação ao sítio ativo. Essas diferenças podem estar relacionadas às variações observadas nos escores de *docking* molecular e reforçam a importância da avaliação conjunta da afinidade de ligação, das interações moleculares e das propriedades farmacocinéticas na seleção de candidatos promissores.

De forma geral, os resultados obtidos indicam que os compostos selecionados apresentam potencial para atuar como inibidores da glutamina sintetase de *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium. No entanto, estudos experimentais in vitro e in vivo ainda são necessários para confirmar sua atividade biológica e seu potencial farmacológico.

Figura 7 – Diagramas bidimensionais das interações entre a glutamina sintetase de *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium e os ligantes avaliados.



Diagramas bidimensionais das interações moleculares entre a glutamina sintetase de *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium e a fosfotricina (A), o composto NuBBE_265 (B) e o composto MP_29732 (C), gerados pelo software Molecular Operating Environment (MOE).

Fonte: Autoria própria (2026).

6 CONCLUSÃO

A glutamina sintetase desempenha papel essencial no metabolismo do nitrogênio de *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium, sendo responsável pela assimilação de amônia e pela síntese de glutamina, processo indispensável para o crescimento, manutenção celular e virulência bacteriana. Dessa forma, sua importância biológica reforça o potencial dessa enzima como alvo terapêutico para o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos.

Neste trabalho, a aplicação integrada de ferramentas de bioinformática permitiu a identificação de potenciais inibidores da glutamina sintetase por meio de técnicas de triagem virtual, *docking* molecular e análise *in silico* de propriedades farmacocinéticas e toxicológicas. A utilização da fosfinotricina como molécula de referência possibilitou a construção de um modelo baseado em forma capaz de selecionar compostos estruturalmente semelhantes dentre mais de 12 milhões de moléculas provenientes de diferentes bibliotecas virtuais.

Entre os compostos avaliados, NuBBe_265 e MP_29732 destacaram-se por apresentarem resultados favoráveis quanto ao encaixe no sítio ativo da enzima, perfil farmacocinético predito e padrão de interações intermoleculares semelhante ao observado para a fosfinotricina. Esses resultados sugerem que ambos representam candidatos promissores para futuras etapas de validação experimental.

Assim, os achados deste estudo demonstram a eficiência das abordagens computacionais na prospecção de novos compostos bioativos, reduzindo o número de moléculas candidatas e direcionando de forma mais racional as etapas experimentais do desenvolvimento de fármacos. Embora estudos *in vitro* e *in vivo* sejam necessários para confirmar a atividade biológica e a segurança dos compostos identificados, os resultados obtidos contribuem para a busca de novas estratégias terapêuticas frente ao crescente problema da resistência antimicrobiana em *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium.

7 REFERÊNCIAS

1. ABELL, L. M.; VILLAFRANCA, J. J. Investigation of the mechanism of phosphinothricin inactivation of *Escherichia coli* glutamine synthetase using rapid quench kinetic techniques. *Biochemistry*, v. 30, n. 25, p. 6135–6141, 25 jun. 1991.
2. ANDERSON, C. J.; KENDALL, M. M. *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Strategies for Host Adaptation. *Frontiers in Microbiology*, v. 8, 12 out. 2017.
3. AURASS, P. et al. *glnA* Truncation in *Salmonella enterica* Results in a Small Colony Variant Phenotype, Attenuated Host Cell Entry, and Reduced Expression of Flagellin and SPI-1-Associated Effector Genes. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 84, n. 2, 2 jan. 2018.
4. BERLICKI, Ł. et al. Design, Synthesis, and Activity of Analogues of Phosphinothricin as Inhibitors of Glutamine Synthetase. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 48, n. 20, p. 6340–6349, 14 set. 2005.
5. BETTERIDGE, P. R.; AYLING, P. D. The Regulation of Glutamine Transport and Glutamine Synthetase in *Salmonella typhimurium*. *Journal of General Microbiology*, v. 95, n. 2, p. 324–334, 1 ago. 1976.
6. BURLEY, S. K. et al. RCSB Protein Data Bank: Biological Macromolecular Structures Enabling Research and Education in Fundamental Biology, Biomedicine, Biotechnology and Energy. *Nucleic Acids Research*, v. 47, p. D464–D474, 8 jan. 2019.
7. CHEMICAL COMPUTING GROUP. Molecular Operating Environment (MOE), version 2022.02. Montreal: Chemical Computing Group, 2022.
8. DEMIANKOVA, M. V. et al. Antibacterial Activity of Peptide Derivatives of Phosphinothricin against Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Molecules*, v. 28, n. 3, 27 jan. 2023.
9. FÀBREGA, A.; VILA, J. *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Skills To Succeed in the Host: Virulence and Regulation. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 26, n. 2, p. 308–341, 1 abr. 2013.
10. GILL, H. S.; EISENBERG, D. The Crystal Structure of Phosphinothricin in the Active Site of Glutamine Synthetase Illuminates the Mechanism of Enzymatic Inhibition. *Biochemistry*, v. 40, n. 7, p. 1903–1912, 20 fev. 2001.
11. GULZAR, I. et al. Identification of Peptidoglycan Glycosyltransferase FtsI as a Potential Drug Target against *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium Serovars Through Subtractive Genomics, Molecular Docking and Molecular Dynamics Simulation Approaches. *Current Pharmaceutical Design*, v. 30, n. 36, p. 2882–2895, 2024.
12. HAWKINS, P. C. D.; SKILLMAN, A. G.; NICHOLLS, A. Comparison of Shape-Matching and *Docking* as Virtual Screening Tools. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 50, n. 1, p. 74–82, 11 jan. 2007.

13. HERRERO-FRESNO, A.; OLSEN, J. E. *Salmonella* Typhimurium Metabolism Affects Virulence in the Host – A Mini-Review. *Food Microbiology*, v. 71, p. 98–110, 1 maio 2018.
14. HOLLINGSWORTH, S. A.; DROR, R. O. Molecular Dynamics Simulation for All. *Neuron*, v. 99, n. 6, p. 1129–1143, 19 set. 2018.
15. HU, P. et al. Sensing of Nitrogen Limitation by *Bacillus subtilis*: Comparison to Enteric Bacteria. *Journal of Bacteriology*, v. 181, n. 16, p. 5042–5050, 1 ago. 1999.
16. IRWIN, J. J. et al. ZINC20: A Free Ultralarge-Scale Chemical Database for Ligand Discovery. *Journal of Chemical Information and Modeling*, v. 60, n. 12, p. 6065–6073, 22 dez. 2020.
17. JAJERE, S. M. A Review of *Salmonella enterica* with Particular Focus on the Pathogenicity and Virulence Factors, Host Specificity and Antimicrobial Resistance Including Multidrug Resistance. *Veterinary World*, v. 12, n. 4, p. 504–521, 6 abr. 2019.
18. JONES, G.; WILLETT, P.; GLEN, R. C.; LEACH, A. R.; TAYLOR, R. Development and Validation of a Genetic Algorithm for Flexible Docking. *Journal of Molecular Biology*, v. 267, n. 3, p. 727–748, 4 abr. 1997.
19. KAUR, S. et al. Genomic Dissection of the Antimicrobial Resistance Epidemiology of *Salmonella* Typhimurium. *Frontiers in Microbiology*, v. 16, 19 nov. 2025.
20. KUSTU, S. G. et al. Nitrogen Control of *Salmonella* typhimurium: Co-Regulation of Synthesis of Glutamine Synthetase and Amino Acid Transport Systems. *Journal of Bacteriology*, v. 138, n. 1, p. 218–234, 1 abr. 1979.
21. MIYAKOSHI, M. et al. Glutamine Synthetase mRNA Releases sRNA from its 3'UTR to Regulate Carbon/Nitrogen Metabolic Balance in Enterobacteriaceae. *eLife*, v. 11, 28 nov. 2022.
22. MOLPORT. MolPort. Disponível em: <https://www.molport.com>. Acesso em: 8 jul. 2026.
23. MOWBRAY, S. L. et al. Inhibition of Glutamine Synthetase: A Potential Drug Target in *Mycobacterium tuberculosis*. *Molecules*, v. 19, n. 9, p. 13161–13176, 29 ago. 2014.
24. NARIMISA, N.; RAZAVI, S.; MASJEDIAN JAZI, F. Prevalence of Antibiotic Resistance in *Salmonella* Typhimurium Isolates Originating from Iran: A Systematic Review and Meta-analysis. *Frontiers in Veterinary Science*, v. 11, 18 jun. 2024.
25. OPENEYE SCIENTIFIC SOFTWARE. FILTER, version 2.5.1.4. Santa Fe, NM, USA, 2010.
26. OPENEYE SCIENTIFIC SOFTWARE. OMEGA, version 2.5.1.4. Santa Fe, NM, USA, 2010.
27. OPENEYE SCIENTIFIC SOFTWARE. QUACPAC, version 1.6.3.1. Santa Fe, NM, USA.

28. PEREZ-SEPULVEDA, B. M.; JAY. Microbe Profile: *Salmonella Typhimurium*: the master of the art of adaptation. *Microbiology*, v. 171, n. 1, 9 jan. 2025.
29. PHILIPP AURASS et al. ** *glnA* Truncation in *Salmonella enterica* Results in a Small Colony Variant Phenotype, Attenuated Host Cell Entry, and Reduced Expression of Flagellin and SPI-1-Associated Effector Genes.** *Applied and Environmental Microbiology*, v. 84, n. 2, 17 nov. 2017.
30. SERIBELLI, A. P. et al. Insights about the epidemiology of *Salmonella Typhimurium* isolates from different sources in Brazil using comparative genomics. *Gut Pathogens*, v. 13, n. 1, 28 abr. 2021.
31. SHANMUGAM, G.; JEON, J. Computer-Aided Drug Discovery in Plant Pathology. *The Plant Pathology Journal*, v. 33, n. 6, p. 529–542, 1 dez. 2017.
32. WILLIS, R. C.; IWATA, K. K.; FURLONG, C. E. Regulation of Glutamine Transport in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, v. 122, n. 3, p. 1032–1037, jun. 1975.