



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO



JAMILLY SALUSTIANO FERREIRA CONSTANTINO

**ESTUDOS POR DOCAGEM MOLECULAR PARA
INATIVAÇÃO DO SARS-CoV-2 POR NANOPARTÍCULAS DE
FERRO**

Campina Grande – PB

Março, 2022

JAMILLY SALUSTIANO FERREIRA CONSTANTINO

**ESTUDOS POR DOCAGEM MOLECULAR PARA
INATIVAÇÃO DO SARS-CoV-2 POR NANOPARTÍCULAS DE
FERRO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Departamento de Engenharia
Química da Universidade Federal de Campina
Grande, como requisito parcial para a
conclusão do curso de Bacharel em
Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Heleno Bispo da Silva Júnior

Coorientador: M.Sc. Rodolpho Ramilton de Castro Monteiro

Campina Grande – PB

Março, 2022

C758e Constantino, Jamilly Salustiano Ferreira.
Estudos por docagem molecular para inativação do SARS-COV-2 por nanopartículas de ferro / Jamilly Salustiano Ferreira Constantino. – Campina Grande, 2022.
43 f.: il. color.

Monografia (Graduação em Engenharia Química) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, 2022.

"Orientação: Prof. Dr. Heleno Bispo da Silva Júnior; Coorientação: Me. Rodolpho Ramilton de Castro Monteiro".

Referências.

1. Biotecnologia. 2. Docagem Molecular. 3. SARS-CoV-2. 4. Nanopartículas de Ferro. 5. Inativação Viral. 6. Similaridade Conformacional. I. Silva Júnior, Heleno Bispo da. II. Monteiro, Rodolpho Ramilton de Castro. III. Título.

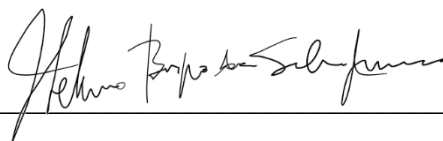
CDU 60(043)

JAMILLY SALUSTIANO FERREIRA CONSTANTINO

**ESTUDOS POR DOCAGEM MOLECULAR PARA
INATIVAÇÃO DO SARS-CoV-2 POR NANOPARTÍCULAS DE
FERRO**

Monografia apresentada e aprovada em 17 de Março de 2022.

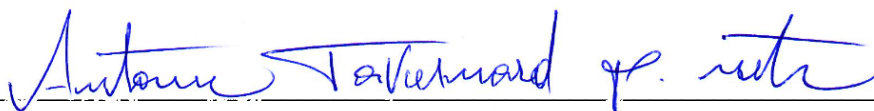
Banca Examinadora:



Prof. Dr. Heleno Bispo da Silva Junior
(DEQ/CCT/UFCG) – Orientador



M.Sc. Rodolpho Ramilton de Castro Monteiro
(UFC) – Coorientador



Prof. Dr. Antônio Tavernard Pereira Neto
(DEQ/CCT/UFCG) – Examinador Interno



Prof. Dr. Rennan Pereira de Gusmão
(UAEALI/CTRN/UFCG) – Examinador Externo

Campina Grande – PB

Março, 2022

DEDICATÓRIA

A Deus, o autor da minha vida. Aos meus pais, que se alegram comigo nas vitórias. A Rodrigo, meu esposo, por todo o apoio e incentivo. Ao meu querido irmão, Janderson. E a todos os amigos e professores que fizeram com que esse sonho se tornasse possível.

AGRADECIMENTOS

Durante esse ciclo, tantas pessoas cruzaram e impactaram positivamente na minha vida que é difícil expressar minha gratidão. Porém, gostaria de iniciar por aquele a quem devo o dom da vida, **Deus**, que me dá forças e me ampara em momentos difíceis para superar as dificuldades com perseverança.

À minha família, por acreditar nos meus sonhos.

Ao meu esposo, Rodrigo, pelo amor, dedicação, confiança e companheirismo. Você foi essencial para realização desse sonho.

Aos meus pais, Laudicéia Salustiano Ferreira e Josias Salustiano Ferreira, por me ensinarem a ser forte e por doarem cada dia de suas vidas por mim. Serei eternamente grata a vocês.

Ao meu irmão, Janderson, que abraça todos os meus sonhos. Tenho orgulho de você!

Gostaria de expressar minha gratidão e apreço ao meu orientador Dr. Heleno Bispo, pelo profissionalismo, respeito e incentivo durante toda a minha jornada. Obrigada por dedicar o seu tempo para me transmitir conhecimentos e fazer com que esse sonho se tornasse possível.

Agradeço ao meu coorientador, M.Sc. Rodolpho Monteiro por sua disponibilidade, generosidade e suporte para desenvolvimento desse trabalho.

Aos professores Dr. Antônio Tavernard e Dr. Rennan Gusmão por acompanhar minha jornada e sempre está disposto a contribuir e enriquecer com seus conhecimentos e experiências.

Ao Laboratório de Experimentação Numérica de Processos – LENP e IRIDIUM, onde tive a sorte de conhecer e adquirir conhecimentos. Minha gratidão!

Aos meus amigos, aqueles que acompanharam minha trajetória durante essa árdua caminhada e sempre estiveram ao meu lado, compartilhando sonhos, apoiando, aconselhando e tornando tudo mais leve.

Aos professores do Departamento de Engenharia Química por todo o conhecimento transmitido.

Por fim, a todos que contribuíram de forma direta ou indireta, minha sincera gratidão. Tenho a convicção de que, sozinha, eu não faria nada. Que o Senhor Deus abençoe cada um de vocês.

Constantino, Jamilly Salustiano Ferreira. **Estudos por docagem molecular para inativação do SARS-CoV-2 por nanopartículas de ferro**. 2022. 43 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Química). Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, PB. 2022.

RESUMO

O presente trabalho objetiva estudar através de simulação computacional as interações de nanopartículas de ferro (Fe_3O_4) com a glicoproteína espícula das variantes Delta e Ômicron do SARS-CoV-2 para inativação viral. Fe_3O_4 tem demonstrado potencial capacidade virucida, além disso, a FDA (*Food and Drugs Administration*) aprovou seu uso para fins terapêuticos devido sua biocompatibilidade. As ferramentas computacionais da bioinformática estrutural são fundamentais para produção e desenvolvimento de novas tecnologias e fármacos, pois economiza tempo e dinheiro, quando comparado aos métodos tradicionais laboratoriais. Diante disso, usou-se o software AutoDock Tools 1.5.7 para simular o complexo proteína-ligante das Delta e Ômicron do SARS-CoV-2 com Fe_3O_4 . Esse simulador utiliza a mecânica molecular para avaliar as contribuições entálpicas e entrópicas, incluindo a mobilidade conformacional do complexo ligante-proteína. Além disso, a ferramenta computacional VTR foi utilizada para investigar a similaridade entre o Domínio de Ligação do Receptor (DLR) da glicoproteína espícula de ambas as variantes. Como resultado, observou-se que o complexo Delta- Fe_3O_4 apresentou maior estabilidade quando comparado ao complexo Ômicron- Fe_3O_4 , com energia livre de ligação $-3,72$ kcal/mol para o complexo Delta- Fe_3O_4 e $-3,63$ kcal/mol para o complexo Ômicron- Fe_3O_4 . A energia de ligação é bastante similar para ambos os complexos devido as similaridades conformacionais das duas variantes. De fato, o DLR da Ômicron apresentaram 76,91% dos contatos combinados com o DLR da Delta e VTR de 0,04. Observou-se ainda que as interações do complexo são fortalecidas principalmente por ligações de hidrogênio e forças hidrofóbicas. Esse estudo reforçou uma potencial capacidade de inativação viral das variantes Delta e Ômicron por Fe_3O_4 .

Palavra-chave: docagem molecular, SARS-CoV-2, nanopartículas de ferro, inativação viral, similaridade conformacional.

Constantino, Jamilly Salustiano Ferreira. **Molecular docking studies of SARS-CoV-2 inactivation by iron nanoparticles**. 2022. 43 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Química). Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, PB. 2022.

ABSTRACT

The present work aims to study by computer simulation the interactions of iron nanoparticles (Fe_3O_4) with the spike glycoprotein of the Delta and Omicron variants of SARS-CoV-2 for viral inactivation. Fe_3O_4 has demonstrated virucidal potential, in addition, the FDA (*Food and Drugs Administration*) approved their use for therapeutic purposes due to their biocompatibility. The computational tools from structural bioinformatics are fundamental for the production and development of new technologies and medicines, as they save time and money when compared to traditional laboratory methods. Therefore, AutoDock Tools 1.5.7 software was used to simulate the protein-ligand complex of the Delta and Omicron variants of SARS-CoV-2 with Fe_3O_4 . This simulator uses molecular mechanics to assess enthalpic and entropic contributions, including the conformational mobility of the ligand-protein complex. In addition, the VTR computational tool was used to investigate the similarity between the Receptor Binding Domain (RBD) of the glycoprotein spike of the two variants. As a result, it was observed that the Delta- Fe_3O_4 complex presented greater stability when compared to the Omicron- Fe_3O_4 complex, with free binding energy -3.72 kcal/mol with RMSD 0.00 for the Delta- Fe_3O_4 complex and -3.63 kcal/mol for the Omicron- Fe_3O_4 complex with RMSD equal to 0.00. The binding energy is quite similar for both complexes due to the conformational similarities of the two variants. Indeed, the RBD of Omicron presented 76.91% of the contacts combined with the RBD of Delta and VTR of 0.04. It was also observed that the interactions of the complex are strengthened mainly by hydrogen bonds and hydrophobic forces. This study reinforced a potential viral inactivation capacity of Delta and Omicron by Fe_3O_4 .

Keywords: molecular docking, SARS-CoV-2, iron nanoparticles, viral inactivation, conformational similarity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Tendências bibliométricas para pesquisas sobre Sars-Cov-2.....	14
Figura 2. Representação em superfície da cadeia B da glicoproteína espícula do Sars-Cov-2 (variante Delta).....	16
Figura 3. Representação em superfície da cadeia B da glicoproteína espícula do Sars-Cov-2 (variante Ômicron).....	16
Figura 4. Importância de estudar a interação proteína-ligante para controle da disseminação do vírus SARS-CoV-2.....	18
Figura 5. Representação 3D da estrutura das nanopartículas de ferro.....	23
Figura 6. Etapas da simulação e análise dos resultados.....	23
Figura 7. Diagrama de interações (A) 3D e (B) 2D entre Fe ₃ O ₄ e o domínio de ligação ao receptor da glicoproteína espícula do Sars-Cov-2 (variante Delta B.1.617.2).....	30
Figura 8. Diagrama de interações (A) 3D e (B) 2D entre Fe ₃ O ₄ e o domínio de ligação ao receptor da glicoproteína espícula do Sars-Cov-2 (variante Ômicron B.1.1.529).....	31
Figura 9. Sobreposição da glicoproteína espícula variante Delta em verde (código PDB: 7WBQ) sobre a variante Ômicron em azul (código PDB: 7WBP).....	33
Figura 10. Contatos com maior (A) e menor (B) distância vetorial média da glicoproteína espícula variante Delta (código PDB: 7WBQ) e variante Ômicron (código PDB: 7WBP).....	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros da ancoragem molecular de DLR-Delta e Fe_3O_4	26
Tabela 2. Parâmetros da ancoragem molecular de DLR-Ômicron e Fe_3O_4	26
Tabela 3. Energia de ligação receptor-ligante para o complexo DLR-Delta/ Fe_3O_4 e DLR-Ômicron/ Fe_3O_4	29

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	13
2.1.Objetivo Geral.....	13
2.2. Objetivos Específicos	13
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1. Crise causada pelo novo coronavírus	14
3.2. O vírus SARS-CoV-2 e principais variantes na atualidade.....	15
3.2.1. Variante Delta (B.1.617.2) e Ômicron (B.1.1.529).....	15
3.3.Nanotecnologia e Aplicações.....	17
3.3.1. Nanopartículas metálicas.....	17
3.4. Simulação Computacional e docagem molecular.....	18
3.5.Conformação e Minimização de Energia.....	19
4. METODOLOGIA.....	22
4.1. Software e banco de dados.....	22
4.2.Estudos de Docagem Molecular.....	24
4.3.Estudos de Similaridade Molecular.....	24
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
5.1. Estudos de Docagem Molecular.....	26
5.2. Estudos de similaridade Molecular.....	32
6. CONCLUSÃO.....	36
REFERÊNCIAS.....	37

1. INTRODUÇÃO

A COVID-19 é a doença da síndrome respiratória aguda grave complexa causada pelo vírus SARS-CoV-2 (do inglês, *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*), o principal responsável pela pandemia em curso (McGonagle, Bridgewood, Meaney, 2021). Neste cenário, a Organização Mundial da Saúde (OMS) tem estabelecido sistematicamente medidas para resposta e enfrentamento da doença. Apesar do avanço nas vacinas, o surgimento de novas variantes (Ômicron, por exemplo) vem preocupando os cientistas (Ou *et al.*, 2022).

Essas variantes sofrem mutações genéticas na glicoproteína espícula (ou S, do inglês, *spike*) abrindo a possibilidade para que anticorpos neutralizantes parem de funcionar (Li, Lou, Fan, 2022). No entanto, do ponto de vista epidemiológico, a primeira linha possível de ação é a da prevenção (Ghasemiyeh *et al.*, 2021). Dentre essas medidas estabelecidas, a desinfecção de ambientes e superfícies são promissores para conter a disseminação (Corrêa *et al.*, 2021).

Diante disso, pesquisadores em todo mundo vêm intensificando suas pesquisas para desenvolver tecnologias voltadas para a prevenção (Carvalho, Conte-Junior, 2021). Dentre elas, a nanotecnologia apresenta uma plataforma promissora no desenvolvimento de sistemas de entrega de drogas (Huang *et al.*, 2022). Além disso, o uso de nanossistemas de alto desempenho parece também ser o método eficiente para combater variantes infecciosas do SARS-CoV-2, incluindo a mutação Ômicron, surgida recentemente (Tiwari *et al.*, 2022).

Nanopartículas metálicas em superfícies são potencialmente eficientes no combate ao novo coronavírus (Sportelli *et al.*, 2020). Dentre os metais, nanopartículas de ferro apresentam eficiência antimicrobiana, resultado de vários mecanismos de ação, como a produção de espécies reativas de oxigênio (Abo-zeid *et al.*, 2020). Nesse cenário, aplicar os conhecimentos de Engenharia, como termodinâmica e cinética química, é fundamental para potenciais aplicações.

A simulação computacional por docagem (ou ancoragem) molecular estuda as interações intermoleculares proteína-ligante, formando um complexo entre a glicoproteína espícula do SARS-CoV-2 (domínio de ligação ao receptor) e a nanopartícula de ferro (ligante) que pode ser usado para estimar a afinidade de ligação ou a força de associação entre essas duas moléculas (Abo-zeid *et al.*, 2020). Essas técnicas

são viáveis por serem baratas, economizando tempo e energia, além de flexíveis quando comparados aos trabalhos laboratoriais (Maia et al., 2020; Silva, 2017).

É sabido que quanto menor for a energia de ligação, maior a estabilidade do complexo (proteína-nanopartícula), ocorrendo o fenômeno físico chamado de adsorção (Abo-zeid et al., 2020; Fogler, 2017). Isso envolve fatores entálpicos (energia máxima de um sistema) e entrópicos (energia termodinâmica referente às reações químicas) considerando a flexibilidade do ligante com a proteína e o efeito na distribuição das cargas do ligante (Souza, 2012).

Posto isto, o presente estudo irá identificar a eficiência de nanopartículas de ferro para a inativação da glicoproteína espícula de diferentes variantes do SARS-CoV-2, avaliando o quanto o ligante poderá inativar determinada variante presente em uma superfície ou filtros de ar, contribuindo para o desenvolvimento de tecnologias voltadas para prevenção, como desinfecção de ambientes e superfícies.

2. OBJETIVOS

2.1.Objetivos gerais

Este trabalho objetiva estudar através de simulação computacional as interações de nanopartículas de ferro (Fe_3O_4) com a glicoproteína espícula das variantes Delta e Ômicron do SARS-CoV-2 para inativação viral.

2.2.Objetivos específicos

- Simular por docagem molecular as interações entre a glicoproteína espícula do SARS-CoV-2 (variantes Delta e Ômicron) e nanopartículas de ferro;
- Determinar a energia de ligação do complexo proteína-ligante;
- Determinar as interações hidrofóbicas, pontes de hidrogênio e aminoácidos de interação do complexo proteína-ligante;
- Analisar a atividade de inativação de nanopartículas de ferro às variantes Delta e Ômicron.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

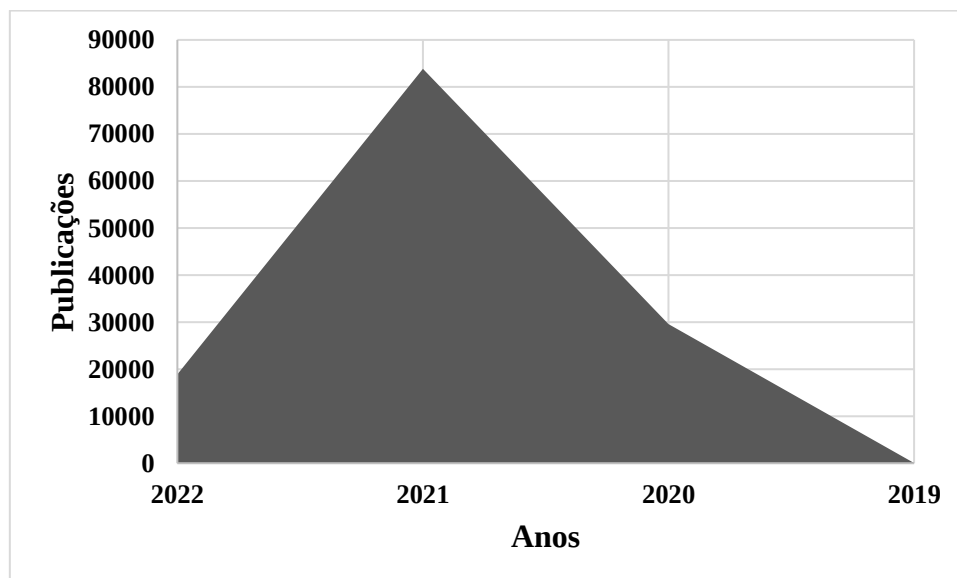
3.1. Crise causada pelo novo coronavírus

Em 2020, foi detectado pela primeira vez na China um novo vírus da família dos coronavírus, o SARS-CoV-2, principal causador da síndrome respiratória aguda grave, denominada COVID-19 (Wang *et al.*, 2020). Logo em seguida, foi reconhecido como uma pandemia em Março de 2020. Atualmente, já foram mais de 423 milhões de casos confirmados e 5,87 milhões de óbitos pelo novo coronavírus relatado em todo o mundo até o dia 22 de Fevereiro de 2021 (WHO, 2022).

Os impactos sanitários e econômico da pandemia do COVID-19 já é conhecido no mundo todo. Apesar dos avanços da ciência para contenção da doença, incluindo a vacinação em massa, de acordo com o Fundo Monetário Internacional, espera-se que o crescimento global desacelere para 3,8% em 2023 (IMF, 2022).

Diante disso, desde o início da pandemia, vários estudos têm sido relatados. De acordo com a Figura 1, só em 2021 foram publicados mais 80 mil artigos ou revisões relacionados ao novo coronavírus, incluindo estudos com diferentes mutações do vírus, desenvolvimento terapêutico (Guruprasad, 2022), vacinas (Kale *et al.*, 2021), drogas promissoras (Porto, Porto, 2022) e modificações químicas em superfícies virucida (Bataglioli *et al.*, 2021), filtros de ar (Yayehrad *et al.*, 2021), dentre outros estudos.

Figura 1. Tendências bibliométricas para pesquisas sobre Sars-Cov-2. Algoritmos de busca no Scopus: (TITLE-ABS-KEY (“Sars-Cov-2”))



Fonte: Elaborado pela autora.

3.2. O vírus SARS-CoV-2 e principais variantes na atualidade

A infecção por SARS-CoV-2 ainda é uma grande preocupação global de saúde. A glicoproteína espícula (S) compreende uma bolsa de ligação de ácidos graxos livres altamente conservada com função desconhecida e vantagem de seleção e evolutiva (Walls *et al.*, 2020). É através dessa glicoproteína que ocorre a entrada do coronavírus nas células e são os principais alvos dos anticorpos (Staufer *et al.*, 2022).

A glicoproteína espícula possui duas subunidades, S1 e S2. Na subunidade S1 está o domínio de ligação do receptor (ou RBD, do inglês, *Receptor Binding Domain*), que se liga ao ACE2 (do inglês, *Angiotensin Converting Enzyme 2*) na célula humana, infectando-a (Walls *et al.*, 2020). A proteína espícula é o alvo de praticamente todos os anticorpos neutralizantes encontrados nos soros de indivíduos convalescentes ou que são induzidos por vacinas (Cao *et al.*, 2021). Esses neutralizantes impedem a ligação do RBD da proteína do vírus com o ACE2 humano.

Como qualquer outro vírus, o SARS-CoV-2 é passível de sofrer mutações. Algumas dessas mudanças afetam as propriedades do vírus, podendo tornar a doença mais agressiva e/ou aumentar a taxa de transmissibilidade (Genovese *et al.*, 2022). Dentre as várias variações do novo coronavírus, a Delta e a Ômicron são alvos do estudo em questão.

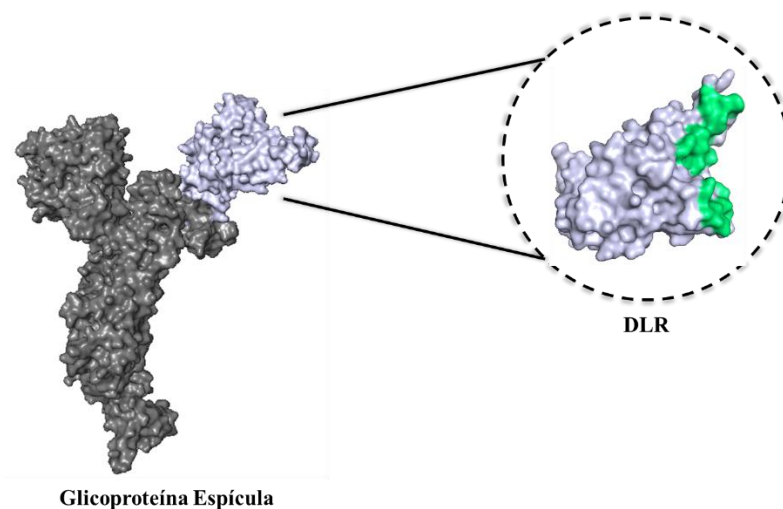
3.2.1. Variante Delta (B.1.617.2) e Ômicron (B.1.1.529)

As Figuras 2 e 3 apresentam o Domínio de Ligação do Receptor (DLR) das duas principais mutações do SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) e Ômicron (B.1.1.529).

A variante Delta (Figura 2) obteve linhagem inicial Alpha, surgida no Reino Unido e foi detectada pela primeira vez na Índia em outubro de 2020 e se expandiu pelo mundo (WHO, 2020). Segundo a OMS, é uma das variantes mais preocupantes. Tem mutações na glicoproteína espícula que são capazes de afetar a transmissibilidade do vírus, juntamente com sua suscetibilidade de ser neutralizada pelos anticorpos das variantes anteriores do COVID-19 (Goher, Ali, Amin, 2022).

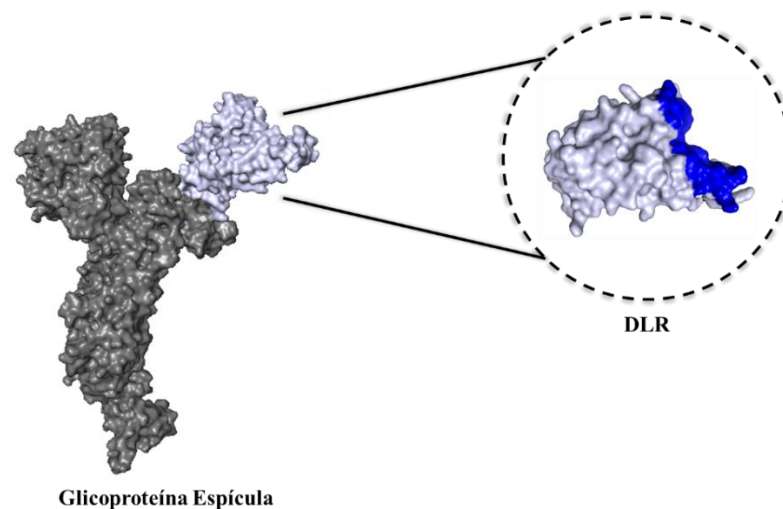
A variante Ômicron foi descoberta em 24 de Novembro de 2021 (WHO, 2022), na África do Sul e espalhou-se em quase todos os países com um tempo de duplicação menor que o Delta, taxa de transmissibilidade maior e diminuição das respostas dos anticorpos monoclonais neutralizantes (WHO, 2022; Ou *et al.*, 2022; Genovese *et al.*, 2022). Essa variante contém pelo menos 15 mutações do domínio de ligação ao receptor (RBD) (Figura 3) (Cao *et al.*, 2021).

Figura 2. Representação em superfície da cadeia B da glicoproteína espícula do Sars-Cov-2 (variante Delta). Domínio de ligação do receptor (DLR) destacado em branco e mutações em verde. Códigos PDB: 7TB4 e 7WBQ [Wang *et al.*, 2021][Han *et al.*, 2022]



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 3. Representação em superfície da cadeia B da glicoproteína espícula do Sars-Cov-2 (variante Ômicron). Domínio de ligação do receptor (DLR) destacado em branco e mutações em azul. Códigos PDB: 7TB4 e 7WBP [Wang *et al.*, 2021][Han *et al.*, 2022].



Fonte: Elaborado pela autora.

Ainda não há terapias ou fármacos para bloquear a disseminação de Ômicron ou Delta (Connor *et al.*, 2021). As habilidades de ligações das subunidades S1 com neutralizantes poderão contribuir com avanço ciência para contenção da transmissibilidade.

3.3. Nanotecnologia e Aplicações

Com o intuito de conter a disseminação da doença e evitar o surgimento de novas epidemias, tecnologias vêm sendo estudadas. A nanotecnologia aprimora a ciência na nanoescala e baseia-se na multidisciplinaridade entre física, química, biologia, engenharias, computação e medicina, o que permite sua aplicação em diversas áreas (Fahning, Lobão, 2011).

O físico Richard Feynman descreveu a ideia sobre manipular e controlar coisas em pequena escala em sua palestra “*There’s Plenty of Room at the Bottom*”, numa reunião anual da American Physical Society em Pasadena, Califórnia, em 29 de Dezembro de 1959 (WSJ, 2010). Porém, foi a partir do ano de 2000 que a nanotecnologia começou a ser desenvolvida e testada em laboratórios (Fahning, Lobão, 2011).

Utilizando técnicas que possibilitam ver e manipular átomos, como a construção de novas moléculas, a nanotecnologia tem sido proficiente para os benefícios terapêuticos, tais como, entrega controlada de drogas (Singh *et al.*, 2021), diagnóstico clínico (Atapour *et al.*, 2022), aplicações biomédicas (Khan *et al.*, 2021), nanossistemas como inativadores biológicos (Palestino *et al.*, 2020; Behzadinasab *et al.*, 2020), (), produção de nanofibras antibacteriana (Phan *et al.*, 2019) e atividade cicatrizante (Maghimaa *et al.*, 2020). As nanopartículas são fundamentais nessas aplicações.

3.3.1. Nanopartículas metálicas

Nanopartículas são aglomerados atômicos de estrutura cristalina ou amorfa que possuem propriedades físicas e químicas únicas associadas a tamanhos entre 1 a 100 nm (Singh *et al.*, 2021). Suas dimensões nanométricas permitem que eles interajam com diferentes estruturas dentro dos organismos vivos (Bamburowicz-Klimkowska *et al.*, 2019; Singh *et al.*, 2021, Cao *et al.*, 2022), podendo ser usadas para efetivação de nanossistemas de inativação viral, por exemplo.

Nanopartículas metálicas apresentam potencial ação antiviral (Chue-Gonzálvez *et al.*, 2021). Essa influência mútua entre a superfície do vírus e as nanopartículas podem ocorrer devido a interação entre as regiões hidrofóbicas e os lipídeos na superfície do vírus promovendo a desnaturação (Sportelli *et al.*, 2020; Palestino *et al.*, 2020).

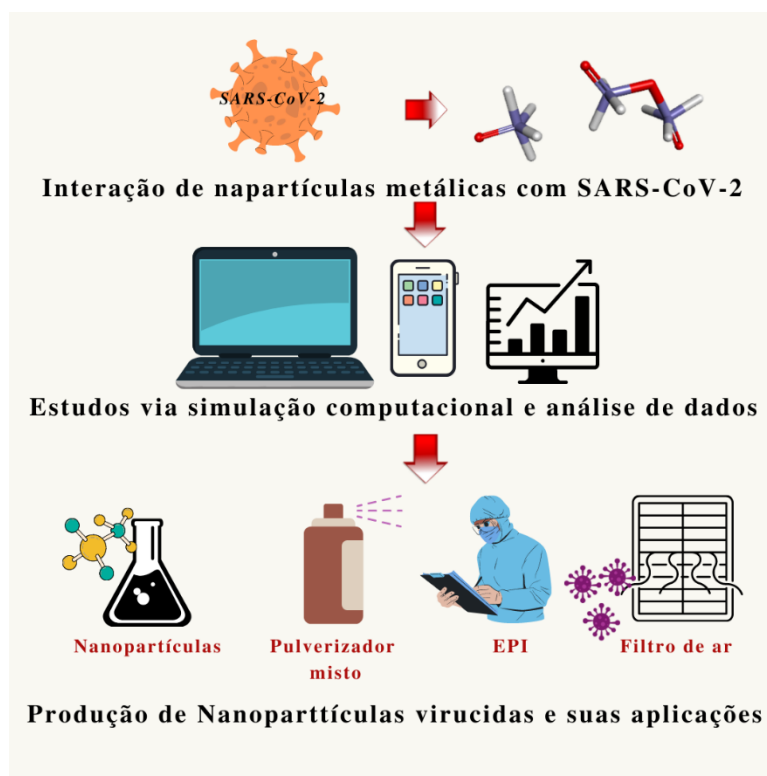
O óxido de ferro vem despertando interesse devido à sua biocompatibilidade e as múltiplas formas pelas quais se desencadeia atividades terapêuticas. Como por exemplo,

o carregamento de bioativos, produção de espécies reativas de oxigênio, terapia baseada no aumento da temperatura local (hipertermia magnética e terapia fototérmica) e terapia gênica (Alphandéry, 2020).

Tendo em vista as múltiplas formas de atividades terapêuticas e microbiológica do ferro, estudar as interações de nanopartículas com potencial capacidade de inativação viral é fundamental para o desenvolvimento de tecnologias virucida e microbiológica.

Diante disso, esse estudo de caso foi baseado no processo de interação molecular do vírus SARS-CoV-2 com o inativador viral. Estudar esse processo usando a simulação computacional é importante para autenticar sua aplicação e contribuir no desenvolvimento de nanotecnologias voltadas para recobrimento de superfícies com atividade virucida usando um pulverizador ou spray, na inserção de nanopartículas em tecidos individuais ou coletivos e também no processo de filtração de ar (Figura 4).

Figura 4. Importância de estudar a interação proteína-ligante para controle da disseminação do vírus SARS-CoV-2



Fonte: Elaborado pela autora.

3.4. Simulação computacional e docagem molecular

O desenvolvimento de ferramentas avançadas de biologia computacional está aumentando, isso porque a modelagem e docagem molecular auxiliam no desenvolvimento de medicamentos, design de drogas, dentre outros, tornando uma abordagem importante no desenvolvimento de terapias baseadas em alvos (Elengoe, Loganathan, 2021).

A docagem molecular é uma das ferramentas computacionais que pode ser utilizada na descoberta de fármacos através da avaliação das possíveis interações existentes entre um ligante e uma macromolécula. Essa técnica permite calcular a energia de interação do complexo ligante-macromolécula por meio da função de pontuação (score), fornecendo uma estimativa da afinidade existente entre eles (Dar, Mir, 2017; Maia *et al.*, 2020).

A simulações de docagem prevê a estrutura tridimensional de qualquer complexo, incluindo o corfómero ancorado otimizado com base na energia total do sistema (Dar, Mir, 2017). Devido a isso, ferramentas de projeto como simulação de dinâmica molecular, modelagem e docagem molecular têm auxiliado a gerar a estrutura 3D da proteína em estudo, analisar os sítios ativos dos modelos de proteína e determinar a interação do complexo proteína-ligante (Silva, 2017).

Algumas das principais aplicações da docagem molecular são: otimização, em que o encaixe molecular pode prever uma orientação otimizada do ligante em seu alvo e isso pode ser usado para desenvolver candidatos a drogas mais potentes, seletivas e eficientes; screening, que pode ser usado para avaliar grande banco de dados para descobrir um potente candidato a medicamento e direcionar a molécula de interesse; interação droga-DNA desempenha um papel proeminente na previsão inicial das propriedades de ligação do fármaco e ácido nucléico (Dar, Mir, 2017).

Por exemplo, Elengoe e Loganathan (2021) utilizaram ferramentas computacionais para auxiliar na compreensão dos mecanismos das proteínas-alvo do câncer de mama e modular suas funções para diminuir ou interromper as atividades do câncer em humanos. Como resultado, os cientistas descobriram que compostos vegetais, ácido ferúlico e quercetina tinham ligação estável com a proteína, apresentando, dessa forma, potencial como agentes anticancerígenos. Estudos como esse têm auxiliado na concepção de novos medicamentos clínicos (Elengoe, Loganathan, 2021).

As ferramentas da bioinformática estrutural tem sido usadas na visualização e análise de estruturas (bio)químicas e suas propriedades moleculares (Silva, 2017). O uso de simulação computacional contribui no desenvolvimento de novos medicamentos,

tendo que em vista que para a produção de novos medicamentos, uma quantidade substancial de tempo e dinheiro são investidos em todas as fases de desenvolvimento (Maia *et al.*, 2020).

3.5. Conformação e Minimização de Energia

A análise conformacional visa descobrir a forma energeticamente estável, desempenhando um papel fundamental em várias operações químicas computacionais, como docagem molecular, otimização e design de moléculas (Ferreira *et al.*, 2015). A identificação de um conformero de baixa energia de uma molécula pode ser obtida empregando diferentes algoritmos de busca, que envolvem variação sistêmica do ângulo de torção, variação estocástica de coordenadas cartesianas, variação estocástica de distâncias internucleares e métodos que utilizam dinâmica molecular (Roy, Kar, Das, 2015).

A minimização de energia é essencial para determinar o arranjo molecular adequado no espaço, sendo isso feito usando modelos matemáticos como a mecânica molecular, quântica e modelos estatísticos (Roy, Kar, Das, 2015). O uso de algoritmos adequados pode aumentar a energia de deformação da estrutura e levar a um conformero mais estável, com o mínimo de energia global (Ferreira *et al.*, 2015).

A mecânica molecular é um dos modelos mais usados para sistemas biológicos (Silva, 2017) sendo utilizada para determinar a energia conformacional das moléculas (Ferreira *et al.*, 2015). Nesse sentido, a mecânica molecular é um método clássico que considera as equações da física clássica e são aplicadas apenas no núcleo desconsiderando os elétrons. São realizadas através de duas operações: o algoritmo de busca, realiza uma pesquisa no espaço conformacional disponível para o ligante, procurando diferentes conformações e orientações desse ligante no complexo (pose); e a função de pontuação, que é aplicada para calcular a energia do complexo, com base nas interações não covalentes existente entre o ligante e a macromolécula (Ferreira *et al.*, 2015; Lewars, 2003; Huey *et al.*, 2007).

Baseada em um modelo mecânico, considera esferas (correspondente aos átomos) unidas por molas (correspondentes às ligações), permitindo assim a aplicação das leis da mecânica clássica (Lewars, 2003; Roy, Kar, Das, 2015). Esse modelo ignora os elétrons e usa conceitualmente o modelo mecânico de uma molécula para encontrar sua geometria de energia mínima (para moléculas flexíveis as geometrias dos vários conformeros) (Lewars, 2003).

A mecânica molecular usa uma abordagem para avaliar contribuições entálpicas como dispersão/repulsão e ligações de hidrogênio e uma abordagem empírica para avaliar a contribuição entrópica de mudanças na solvatação e mobilidade conformacional (Huey *et al.*, 2007). A forma de expressão matemática para a energia e os parâmetros constituem os campos de força. A energia total do sistema pode ser representada da seguinte forma:

$$E_{total} = \sum E_{alongamento} + \sum E_{ângulos} + \sum E_{van\ der\ Waals} + \sum E_{Colombiano} + \sum E_{Torsão} \quad (3.1)$$

Estima-se que a energia livre de ligação seja igual a diferença entre o ligante e a proteína nos estados ligado e não-ligado e a energia do complexo ligante-proteína. (Huey *et al.*, 2007). Como apresentado na equação 3.2, o campo de força apresenta seis avaliações de pares (V) e uma estimativa da entropia conformacional perdida após a ligação (ΔS_{conf}):

$$\Delta G = (V_{ligado}^{L-L} - V_{não-ligado}^{L-L}) + (V_{ligado}^{P-P} - V_{não-ligado}^{P-P}) + (V_{ligado}^{P-L} - V_{não-ligado}^{P-L} + \Delta S_{conf}) \quad (3.2)$$

Onde, L refere-se ao ligante e P a proteína em um complexo proteína-ligante. Essa abordagem é igualmente válida para quaisquer tipos de moléculas em um complexo. Os dois primeiros termos são as energias intramoleculares para os estados ligado e não ligado do ligante, e os dois termos seguintes são energias intramoleculares para os estados ligado e não ligado da proteína. A mudança na energia intermolecular entre os estados ligado e não ligado está no terceiro parênteses. Assume-se que as duas moléculas estão suficientemente distantes uma da outra no estado não ligado, logo, $V_{não-ligado}^{P-L}$ é zero (Huey *et al.*, 2007). A perda de entropia de torção após a ligação (ΔS_{conf}) é diretamente proporcional ao número de ligações rotativas na molécula (N_{tors}), que inclui todos os graus de liberdade, incluindo átomos de rotação de hidrogênio polar em grupos hidroxilas e semelhantes (Equação 3.3) (Huey *et al.*, 2007):

$$\Delta S_{conf} = W_{conf} N_{tors} \quad (3.3)$$

4. METODOLOGIA

A docagem molecular das nanopartículas de ferro (Fe_3O_4) e a glicoproteína espícula do SARS-CoV-2 foi desenvolvido no Laboratório de Experimentação Numérica de Processos (LENP) pertencente a Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) de forma remota. A Figura 6 apresenta uma representação geral das etapas para o desenvolvimento desse trabalho.

4.1. Software e banco de dados

As estruturas tridimensionais do domínio de ligação do receptor (DLR) da glicoproteína espícula do SARS-CoV-2 estão disponíveis no banco de dados Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>). Os *smiles* para a obtenção das nanopartículas de ferro foram retirados do banco de dados PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

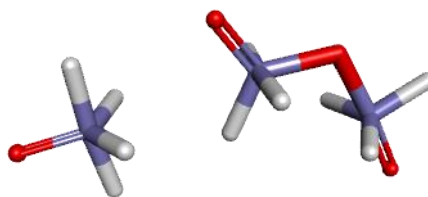
Para a obtenção estrutura 3D das nanopartículas de ferro, utilizou-se o software Chem3D Pro 12.0 (CambridgeSoft). Para a obtenção das estruturas 3D das glicoproteína do definição do DLR, utilizou-se o software Pymol versão 2.4.1 (Schrodinger). A docagem molecular foi simulada no software AutoDock 1.5.7 (Olson Laboratory –The Scripps Research Institute). Para a visualização da docagem e estruturas 3D, utilizou-se o software Discovery Studio 4.1 versão 2021 (Accelrys Software Inc.); para a visualização da docagem e estruturas 2D, utilizou o software o LibPlot versão 2.2.5 (European Bioinformatics Institute/EMBL-EBI).

4.2. Estudo de Docagem Molecular

A estrutura do DLR da variante Delta – B.1.617.2 (código PDB: 7WBQ) e para Ômicron – B.1.1.529 (código PDB: 7WBP) (Han *et al.*, 2022) foram obtidos do Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>).

As coordenadas do mineral Fe_3O_4 foram obtidas do PubChem CID 16211978 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) como modelo de nanopartículas. Este foi convertido a estrutura tridimensionais usando o Chem3D Pro e calculado a minimização e conformação de energia utilizando o modelo de mecânica molecular. A Figura 5 apresenta a estrutura do ligante em formato 3D. A energia total após a minimização foi de 42,306 kcal/mol. Para preparar as estruturas do ligante, foram adicionados hidrogênios polares e cargas Gasteiner. A adição das cargas é muito importante para os cálculos de potenciais eletrostáticos durante a simulação da docagem.

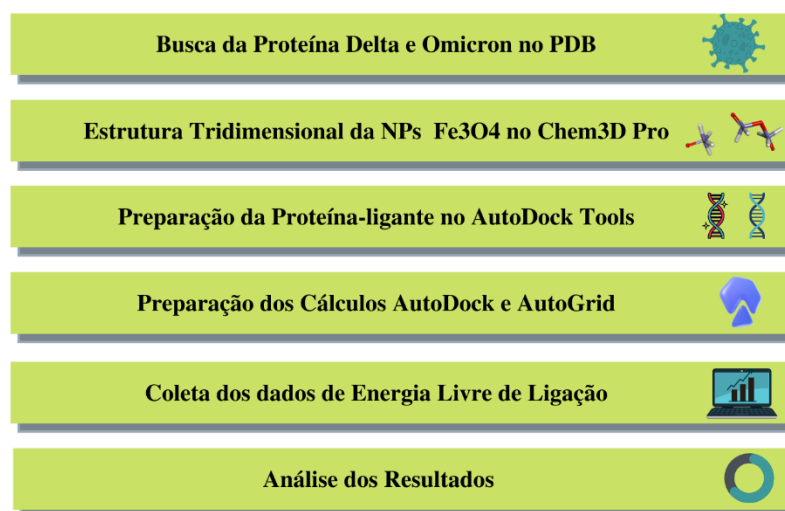
Figura 5. Representação 3D da estrutura das nanopartículas de ferro.



Fonte: Elaborado pela autora.

Para os estudos de ancoragem, utilizou-se o software AutoDock 4.2. As estruturas proteicas também foram preparadas fazendo a remoção da água, adicionando hidrogênios polares e cargas Kollman. O protocolo de encaixe foi primeiramente validado e então usado para estudar as interações proteína-ligante e prever seus modos e/ou afinidades de ligação. As etapas do presente estudo estão descritas na Figura 6.

Figura 6. Etapas da simulação e análise dos resultados



Fonte: Elaborado pela autora.

Após as modificações nas estruturas, os arquivos de ligante e proteína foram salvos com a extensão “*.pdbqt*”, principal formato para os cálculos de AutoGrid e realização da docagem. Nessa extensão estão as coordenadas dos átomos no espaço, as cargas e os pontos de torção das estruturas moleculares.

Tanto para a variante Delta (PDB ID: 7WBQ) quanto para Ômicron (PDB ID: 7WBP) foi utilizado o domínio de ligação do receptor da glicoproteína espícula. É importante ressaltar ainda que na estrutura original o domínio de ligação do receptor estava ligado ao ACE2 humano. Essa proteína foi retirada, juntamente com os resíduos de co-cristalização, heteroátomos e qualquer outro ligante ou substância utilizada para cristalização, ficando apenas a proteína espícula (domínio de ligação) puro.

O AutoGrid do software AutoDock Tools executa o cálculo dos mapas de grade energia (*grid*) para cada átomo do ligante que irão interagir com o receptor. Dito isto, os arquivos salvos em “.pdbqt” foram usados para criação e execução do *grid*. O *grid* foi definido de forma a englobar todo o DLR da proteína, a partir de valores para as coordenadas x, y e z em Grid Box e salvo na extensão “.gpf”. Para a docagem molecular, utilizou-se como algoritmo de busca o algoritmo genético Lamarckiano, já que este apresenta os melhores resultados na busca por mínimo global para estruturas biológicas. Os parâmetros da docagem foram salvos na extensão “.dpf”, considerando 10 poses.

A simulação foi dividida em duas partes. A primeira foi busca conformacional por diferentes modos de ligação do ligante no DLR da proteína; e, a segunda etapa, a avaliação da afinidade de cada um dos modos de ligação. O software Ligplot foi usado para gerar as figuras 2D com as ligações de hidrogênio e as interações hidrofóbicas, e o software Discovery Studio foi usado para gerar as figuras com estruturas 3D.

Uma das informações adicionais obtida durante a docagem molecular são as constantes de inibição, calculada no software através da equação 4.1, equação essa bem conhecida nos estudos de Termodinâmica Química:

$$\Delta G_L = RT \ln K_i \quad (4.1)$$

Onde, ΔG_L é a energia de ligação, R é a constante universal dos gases, T a temperatura em Kelvin (298,15K) e K_i a constante de inibição. A distância entre o ponto inicial da docagem e a análise da energia de ligação possibilita encontrar em qual das conformações o ligante esteve mais próximo do sítio ativo da macromolécula (Silva, 2017).

4.3. Estudos de Similaridade Molecular

Utilizou-se a ferramenta computacional web VTR (<http://bioinfo.dcc.ufmg.br/vtr>). A ferramenta web VTR foi desenvolvida utilizando CodeIgniter (<https://codeigniter.com/>), D3 (<https://d3js.org>), jQuery (<https://jquery.com>), DataTables (<https://datatables.net>), e biblioteca Bootstrap CSS e JavaScript (<https://getbootstrap.com>).

A ferramenta identifica cinco tipos de interações possíveis: hidrofóbicas, atrativas/repulsivas, ligações de hidrogênio, empilhamento aromático e ligações de dissulfeto. O VTR ignora os contatos entre os átomos da cadeia principal de resíduos da vizinhança (até atingir quatro posições). No entanto, por meio da ferramenta web, os

usuários podem habilitar a detecção desses contatos (aumentar o tempo de processamento).

O AVD (do inglês, *Average Vector Distance*) é uma medida para quantificar a distância média entre dois contatos da proteína e é obtido calculando a média mínima das distâncias entre os pontos dos vetores de contatos, como apresentado na equação 4.2:

$$AVD = \min \left(\frac{D(p1, q1) + D(p2, q2)}{2}, \frac{D(p1, q2) + D(p2, q1)}{2} \right) \quad (4.2)$$

Onde, p representa o contato entre os átomos p1 e p2 da proteína A; q representa o contato entre os átomos q1 e q2 da proteína B; e D é uma função que retorna a distância Euclidiana entre as coordenadas atômicas. Para detectar uma correspondência de contato em p e q, o AVD deve ser o valor mais baixo (Pimentel *et al.*, 2021). O VTR é determinado com base na equação 4.3:

$$VTR = \frac{\sum_{i=1}^n AVD_i (d_1 + d_2)}{C \cdot n (c_1 + c_2)} \quad (4.3)$$

Onde as proteínas 1 e 2 são analisadas; n é o número de correspondências encontradas; C é o ponto de corte determinado para AVD; d₁ e d₂ são os números de contatos correspondentes; c₁ e c₂ são o número de contatos encontrados em cada proteína. A pontuação VTR é um valor entre 0 e 1, onde quanto menor o valor, mais semelhante são as duas proteínas em termos de contatos inter-resíduos (Pimentel *et al.*, 2021). O VTR é uma maneira de medir quão diferentes são duas proteínas com base na diferença de tamanho e na média de AVD dos contatos.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Estudos de Docagem Molecular

A partir da docagem molecular, 10 poses foram obtidas e os seus respectivos valores da energia livre de ligação (ΔG_L) para os complexos proteína-ligante. As Tabelas 1 e 2 apresentam os resultados da docagem molecular das nanopartículas de ferro (Fe_3O_4) com o Domínio de Ligação do Receptor (DLR) da subunidade S1 da glicoproteína espícula das variante Delta e Ômicron do SARS-CoV-2, respectivamente.

Tabela 1. Parâmetros da ancoragem molecular de DLR-Delta e Fe_3O_4

Pose	ΔG_L [kcal/mol]	RMSD Å
1	-3,48	1,19
2	-3,72	0,02
3	-3,71	0,03
4	-3,72	0,00
5	-3,72	0,03
6	-3,65	0,00
7	-3,71	0,05
8	-3,48	0,13
9	-3,64	0,71
10	-3,48	1,33

Tabela 2. Parâmetros da ancoragem molecular de DLR-Ômicron e Fe_3O_4

Pose	ΔG_L [kcal/mol]	RMSD Å
1	-3,42	0,51
2	-3,43	1,10
3	-3,37	0,93
4	-3,16	1,54
5	-3,59	0,64

6	-3,58	0,62
7	-3,42	1,21
8	-3,63	0,00
9	-3,46	0,00
10	-3,62	0,11

De acordo com os dados na Tabela 1, para a variante Delta, o complexo 4 apresentou menor energia livre de ligação (-3,72 kcal/mol) com RMSD igual a 0,00 (do inglês, *Root-Mean-Square Deviation* ou, em tradução livre, Desvio Quadrático Médio). O RMSD permite a quantificação das diferenças entre duas estruturas, podendo estas ser estruturas com sequências de aminoácidos iguais e diferentes, sendo capaz de reproduzir de forma confiável uma conformação cristalográfica conhecida e suas respectivas interações intramoleculares (Maia *et al.*, 2020).

Já na Tabela 2, para a variante Ômicron, o complexo 8 apresentou menor energia livre (-3,63 kcal/mol) com RSMD igual a 0,00. Logo, a energia livre de ligação para o complexo da variante Delta com Fe₃O₄ é menor que o complexo da variante Ômicron com o Fe₃O₄, indicando maior estabilidade do complexo Delta-Fe₃O₄. Uma maior estabilidade dessas interações proteína-ligante pode estar associada a alterações irreversíveis na estrutura do vírus (Abo-zeid *et al.*, 2020). Espera-se que essas interações mais estáveis estejam associadas a alterações conformacionais das proteínas estruturais virais e que, posteriormente, inibam a entrada do vírus nas células hospedeiras (Souza *et al.*, 2020), limitando a replicação do vírus e a infecção (Abo-zeid *et al.*, 2020).

Dessa forma, em última análise, o complexo Delta-Fe₃O₄ possui maior potencial à inativação do vírus, ou seja, as nanopartículas de ferro possuem maior atividade de inativação para a variante Delta do que para a variante Ômicron do SARS-CoV-2. Entretanto, a energia livre de ligação para ambos os complexos é bastante similar, de forma que é precipitado afirmar que as nanopartículas de ferro são mais ativas para uma variante Delta do que para a variante Ômicron. De fato, Han e seus colaboradores (2022) ao avaliar as propriedades de ligação e a estrutura das duas principais variantes Delta e Ômicron utilizando o ACE2 como ligante, encontraram semelhança na energia de ligação para ambos os complexos. Isso é justificável também pela similaridade da estrutura tridimensional do DLR das duas variantes (Han *et al.*, 2022). Visto isso, com o objetivo de melhor compreender as similaridades conformacionais das variantes Delta e Ômicron

do SARS-CoV-2, um estudo mais detalhado foi realizado, como descrito no tópico a seguir.

Além disso, a interação entre as nanopartículas de ferro com o DLR das variantes Delta e Ômicron também pode desencadear a destruição do vírus, devido a formação de espécies reativas de oxigênio, atacando simultaneamente vários sítios do microrganismo, processo relatado por Abo-zeid e Williams (2019). Para que ocorra a fixação viral e a entrada na célula hospedeira, o SARS-CoV-2 deve ligar-se a receptores específicos na superfície das células. O SARS-CoV-2 liga-se aos receptores da enzima conversora de angiotensina-2 (ou ACE2, do inglês, *Angiotensin-Converting Enzyme 2*), ancorando a glicoproteína espícula do vírus do RLD da subunidade S1. Nanopartículas de ferro tem sido investigadas como agente virucida já que podem dificultar ou impedir a entrada do vírus na célula hospedeira e a produzem espécies reativas de oxigênio que podem causar dano a estrutura dos vírus por meio de oxidação (Abo-zeid *et al.*, 2020).

A variante Delta do SARS-CoV-2 possui a mutação D614G na glicoproteína espícula, o que lhe confere alta taxa de infecção (Aatif *et al.*, 2021). A Ômicron contém mutações em 33 locais da glicoproteína espícula, o que consequentemente pode aumentar a disseminação do vírus, diminuir a capacidade de ligação do anticorpo neutralizante e aumentar o RNA viral (Qin *et al.*, 2021). De fato, devido à alta afinidade de ligação da glicoproteína espícula da Ômicron com o ACE2 humano em comparação com Delta (Qin *et al.*, 2021; Genovese *et al.*, 2021), observou-se através de um estudo de caso, maior infectividade por contato da variante Ômicron compara a Delta (UKHSA, 2021).

A Tabela 3 apresenta como as energias livres de ligação mais favoráveis e/ou estáveis (ΔG mais negativo) das interações DLR-Delta e Fe_3O_4 e DLR-Ômicron e Fe_3O_4 . Para tanto, foi usado o algoritmo genético Lamarckiano, que busca as melhores conformações e emprega uma função empírica para estabelecer as interações por meio da energia livre de ligação proteína-ligante (Silva, 2017).

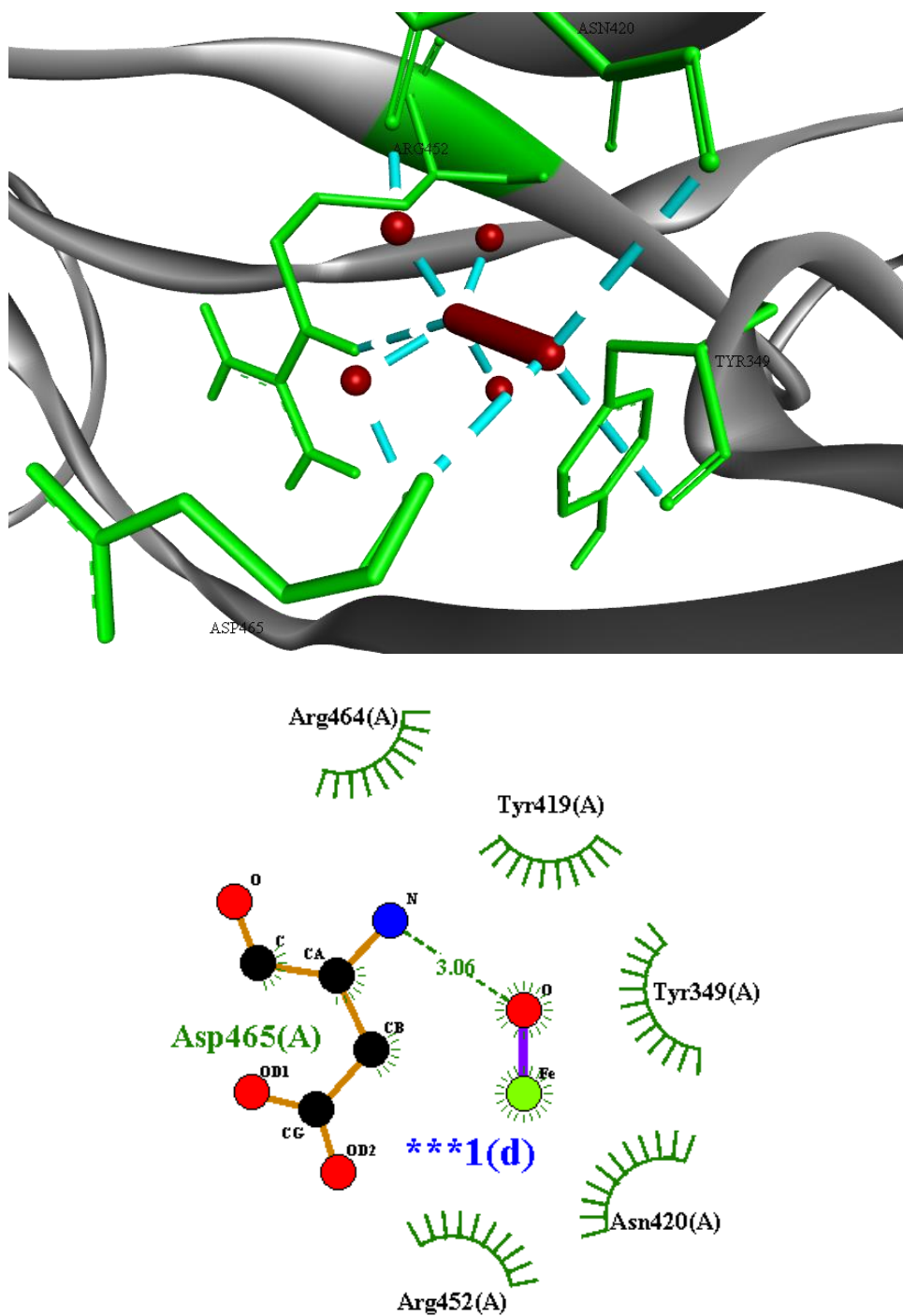
Tabela 3. Energia de ligação receptor-ligante para o complexo DLR-Delta/Fe₃O₄ e DLR-Ômicron/Fe₃O₄

	ΔG [kcal/mol]	DLR-Delta e Fe ₃ O ₄	DLR-Ômicron e Fe ₃ O ₄
1	$\Delta G_H + \Delta G_D + \Delta G_{DR} + \Delta G_E$	-4,31	-4,22
2	ΔG_I	+0,00	+0,00
3	ΔG_T	+0,60	+0,60
4	ΔG_{NL}	+0,00	+0,00
ΔG_L	1 + 2 + 3 + 4	-3,72	-3,63

A energia intermolecular total (van der Waals, ligações de hidrogênio, potencial eletrostático e solvatação) encontrada foi -4,31 kcal/mol para o complexo Delta-Fe₃O₄ e -4,22 kcal/mol para Ômicron-Fe₃O₄. A soma de todas as energias do sistema (intermolecular total, energia interna, energia torcional) equivale a energia livre de ligação. Para ambos os complexos, como esperado, a energia intermolecular total foi a que mais contribuiu à soma final da energia livre de ligação. Além disso, a energia torcional contribuiu positivamente para ambos os sistemas, o que pode estar associado a não formação de complexos proteína-ligante estáveis devido a impedimentos estéricos, por exemplo. A constante de inibição (K_i) do complexo Delta-Fe₃O₄ foi 1,88 mM e do complexo Ômicron-Fe₃O₄ 2,20 mM. As Figuras 5 e 6 apresenta o diagrama de interações 3D e 2D da Fe₃O₄ com o DLR da variante Delta. As constantes de inibição está diretamente relacionado com a energia livre de ligação (ΔG_L) (Equação 4.1), em que menores energia de ligação possuem valores mais baixos de K_i.

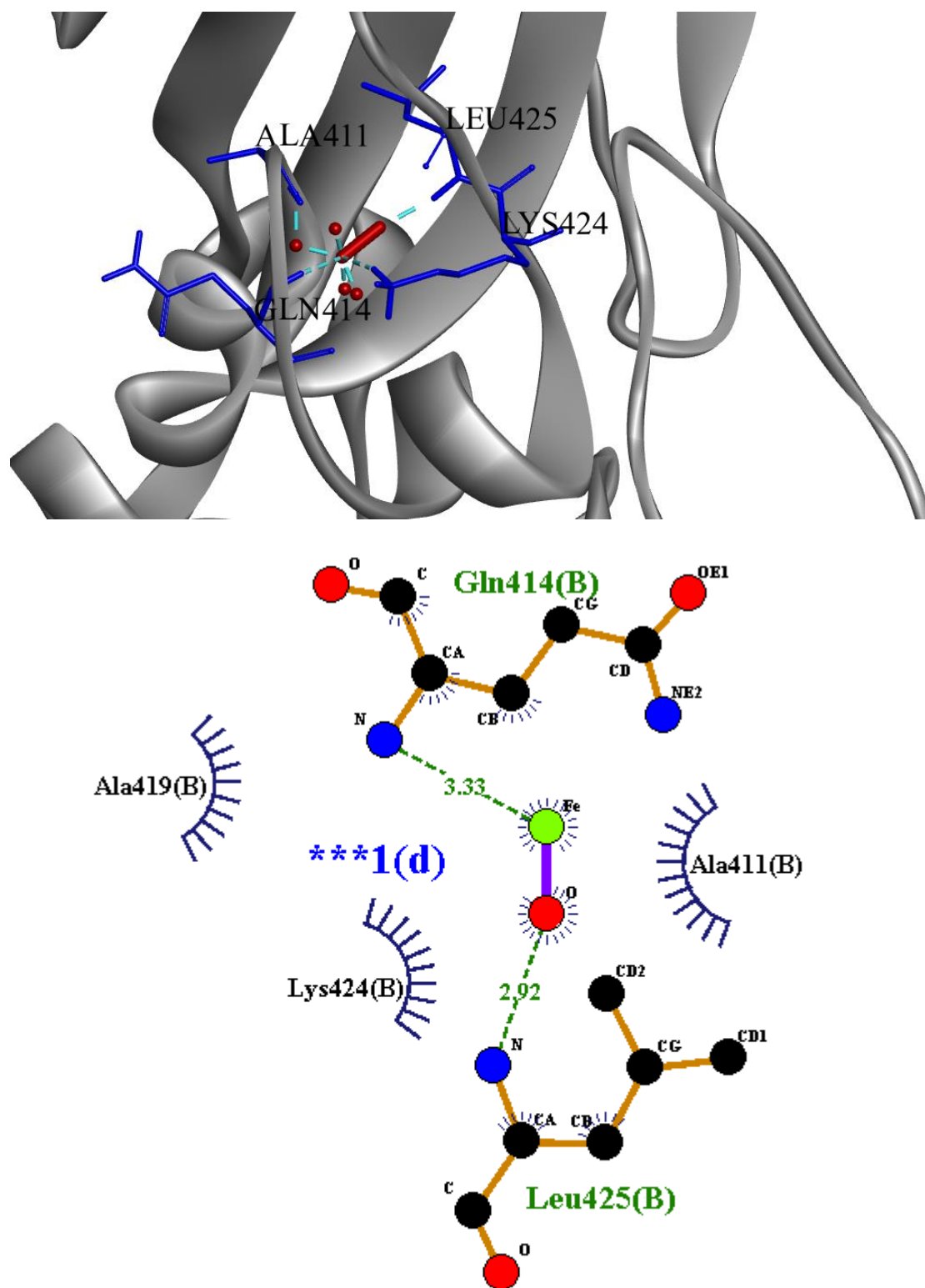
As Figuras 7 e 8 apresenta o diagrama das interações tridimensional (3D) e em formato 2D entre o Fe₃O₄ e o domínio de ligação do receptor da glicoproteína espícula das principais variantes do SARS-CoV-2 (Delta e Ômicron).

Figura 7. Diagrama de interações (A) 3D e (B) 2D entre Fe_3O_4 e o domínio de ligação ao receptor da glicoproteína espícula do Sars-Cov-2 (variante Delta B.1.617.2).



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 8. Diagrama de interações (A) 3D e (B) 2D entre Fe_3O_4 e o domínio de ligação ao receptor da glicoproteína espícula do Sars-Cov-2 (variante Ômicron B.1.1.529).



Fonte: Elaborado pela autora.

Na Figura 7, dentre os resíduos de aminoácidos com interação ativa, observa-se que o aminoácido Asp465 do DLR da glicoproteína espícula do SARS-CoV-2 (variante Delta) estabeleceu maiores interações com o ligante (Fe_3O_4). Essa interação foi formada principalmente por ligações de hidrogênio. O hidrogênio ligado ao oxigênio da nanopartícula de ferro se juntou ao nitrogênio presente no aminoácido. Essa representação está detalhada na Figura 7B. A linha não contínua verde são as pontes de hidrogênio com comprimento de 3,06 Å. Ainda sobre o complexo Delta- Fe_3O_4 , várias interações hidrofóbicas foram observadas entre a nanopartícula de ferro e os resíduos de aminoácidos da glicoproteína. De fato, os resíduos de aminoácido Arg464, Tyr419, Tyr349, Asn420 e Arg452 apresentam interações hidrofóbicas com os átomos de ferro e oxigênio do ligante. A ligação do ligante representado pela linha contínua roxa equivale a uma ligação covalente.

Na Figura 8, é observado que os átomos de ferro e oxigênio do ligante interagem com o átomo de nitrogênio dos resíduos de aminoácidos Gln414 e Leu425 Asp465 do DLR da glicoproteína espícula do SARS-CoV-2 (variante Ômicron) através de ligações de hidrogênio, com comprimento de 3,33 e 2,92 Å, respectivamente. Ainda, três resíduos de aminoácidos (Ala419, Lys424 e Ala411) hidrofobicamente com o ligante, representado pelos arcos azuis raiados.

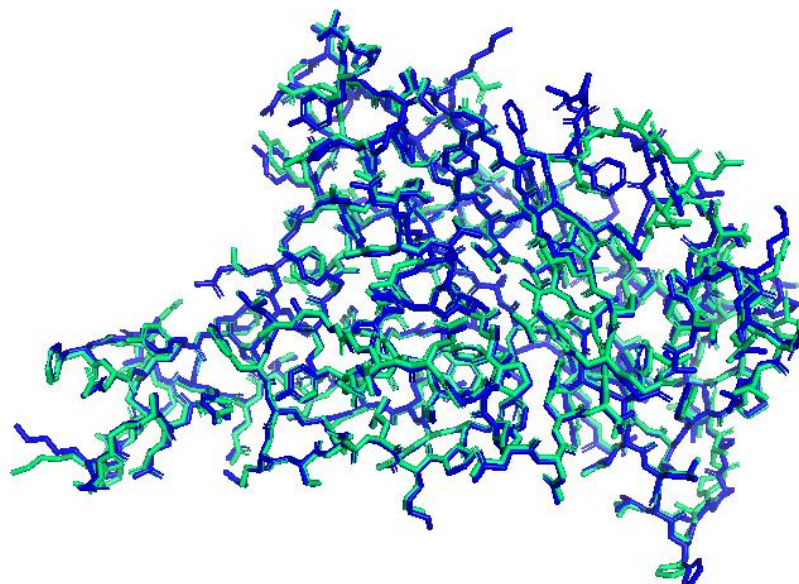
As ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas desempenham um papel essencial na inibição viral, pois são os principais responsáveis pela estabilização do complexo ligante-proteína (Wang *et al.*, 2020). Por exemplo, Han e colaboradores (2022) estudando as interações entre o receptor hACE2 e o DLR das variantes Delta e Ômicron encontraram fortes ligações hidrofóbicas no complexo.

5.2. Estudos de Similaridade Molecular

As sobreposições estruturais, cálculos de contato e as correspondências de contato da glicoproteína espícula variante Delta e Ômicron do SARS-CoV-2 foram melhor avaliadas por meio da ferramenta VTR. A Figura 9 apresenta a sobreposição do DLR da glicoproteína espícula das variantes Delta e Ômicron. De acordo com o resultado encontrado, comparando as estruturas do DLR da glicoproteína espícula de ambas as variantes, a Ômicron apresentou 76,91% dos contatos combinados com a variante Delta, apresentando grande similaridade estrutural na cadeia. Como mencionado acima, a pontuação VTR é um valor entre 0 e 1, em que quanto menor o valor, mais semelhantes

são duas proteínas em termos de contatos inter-resíduos. A pontuação VTR para as proteínas em estudo foi igual a 0,04.

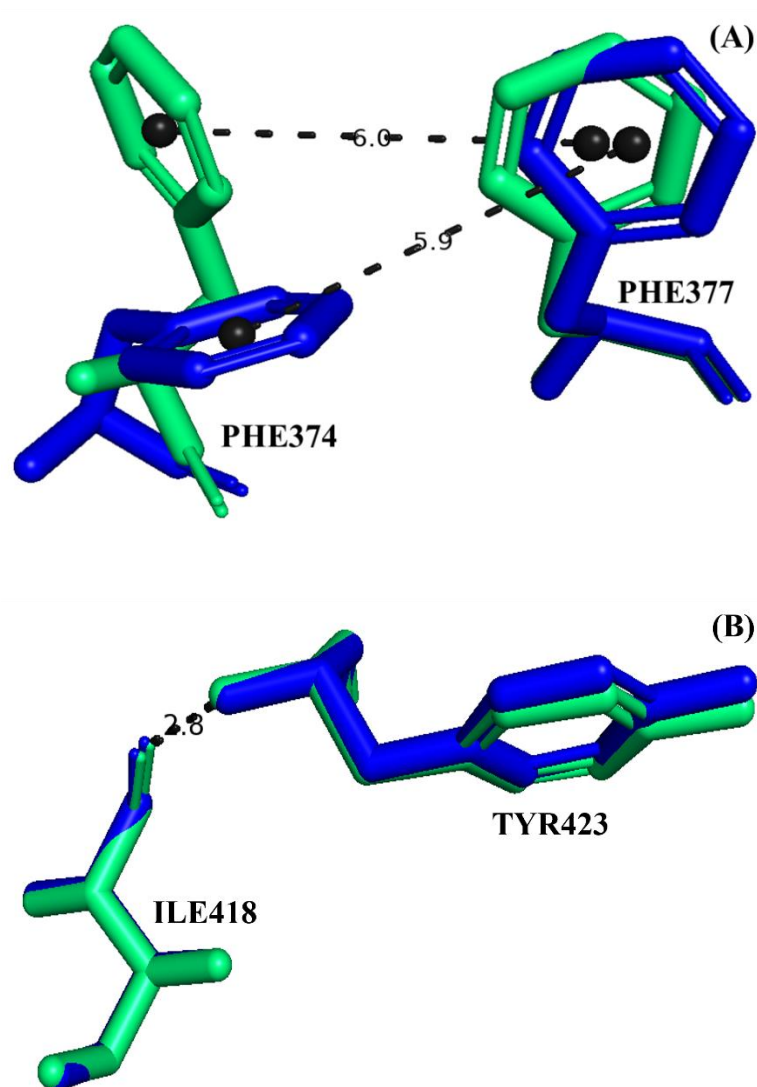
Figura 9. Sobreposição da glicoproteína espícula variante Delta em verde (código PDB: 7WBQ) sobre a variante Ômicron em azul (código PDB: 7WBP) [Wang *et al.*, 2021][Han *et al.*, 2022].



Fonte: Elaborado pela autora.

A Figura 10 apresenta os contatos com maior e menor distância vetorial média entre dois pontos da glicoproteína das duas variantes em estudo, em um espaço n-dimensional. Para a Ômicron, o VTR detectou 182 ligações de hidrogênio, 534 forças hidrofóbicas com 62 forças atrativas e 14 repulsivas, com 14 empilhamentos aromáticos com 4 ligações de dissulfeto. Já para a variante Delta, foram encontrados 172 ligações de hidrogênio, 526 forças hidrofóbicas, sendo 60 atrativas e 4 repulsiva, 12 empilhamento aromático e 4 ligações de dissulfeto. Pimentel e seus colaboradores (2021) avaliaram a ferramenta VTR para compreender semelhança funcional nas estruturas de proteínas, avaliando inclusive a proteína do SARS-CoV-2 com o SARS-CoV (coronavírus do primeiro surto epidêmico em 2004), identificaram os resíduos relevantes para interação do SARS-CoV-2 com o receptor e observaram que a maioria desses resíduos encontrados é altamente conservado e compartilhado com o SARS-CoV.

Figura 10. Contatos com maior (A) e menor (B) distância vetorial média da glicoproteína espícula variante Delta (código PDB: 7WBQ) e variante Ômicron (código PDB: 7WBP) [Wang *et al.*, 2021][Han *et al.*, 2022]



Fonte: Elaborado pela autora.

Ainda sobre a Figura 10, o resíduo PHE374 está interagindo com o resíduo PHE377 na variante Delta; similarmente, o resíduo PHE374 está interagindo com o resíduo PHE377 na variante Ômicron. Porém, apesar de possuírem a mesma composição química e estarem ocupando as mesmas posições na estrutura proteica, esses resíduos apresentam uma conformação espacial diferente na variante Delta em relação a variante Ômicron, de forma que a sobreposição desses resíduos é dificultada. De fato, dentre todas as interações residuais intramoleculares, tanto para a variante Delta quanto para a variante

Ômicron, a interação PHE374-PHE377 foi a que apresentou o maior AVD (1,93Å) e, portanto, maior distância entre os pontos dos vetores de contato. Como mencionado anteriormente, o AVD deve ser o valor mais baixo possível a fim de se detectar uma correspondência de contato entre duas proteínas (Pimentel *et al.*, 2021). Felizmente, a maioria dos pares de contato apresentaram baixo valor de AVD, com média de 0,39Å. Por exemplo, os resíduos ILE418 e TYR423 apresentaram o menor AVD (0,08Å) dentre todas as interações intramoleculares possíveis para ambas as variantes. As demais interações intramoleculares entre os resíduos de aminoácidos para o DLR da glicoproteína espícula variantes Delta e Ômicron estão disponíveis na ferramenta online VTR e podem ser acessados via web pelo endereço: [http://bioinfo.dcc.ufmg.br/vtr/vtr?omicron_x_delta-BBBB2\\$1646351607](http://bioinfo.dcc.ufmg.br/vtr/vtr?omicron_x_delta-BBBB2$1646351607).

6. CONCLUSÃO

A pandemia em curso proveniente de uma infecção viral tem trazido impactos negativos não apenas à saúde, mas socioeconômicos também. Diante disso, esse estudo revelou que Fe_3O_4 interagem eficientemente com as glicoproteínas do SARS-CoV-2 apresentando um complexo mais estável para DLR-Delta em comparação ao DLR-Ômicron. Porém, a energia livre de ligação encontrado para ambos os complexos são próximas ou semelhantes. Isso pode ser justificado através do estudo de similaridade conformacional apresentado nesse trabalho. A estabilidade desse complexo está associada diretamente a energia de ligação livre, além disso, foram observadas no presente estudo que essas interações são fortalecidas devidas as ligações hidrofóbicas e pontes de hidrogênio entre o ligante e a proteína. Essas interações encontradas estão associadas as alterações conformacionais em proteínas estruturais virais e subsequente inativação do vírus. Diante disso, recomenda-se o uso de nanopartículas de ferro na fabricação utensílios, recobrimento de superfícies, filtros de alto desempenho e outras medidas avançadas de controle da infecção.

REFERÊNCIAS

- Aatif, M., Muteeb, G., Alsultan, A., Alshoaibi, A., & Khelif, B. Y. (2021). Dieckol and its derivatives as potential inhibitors of sars-cov-2 spike protein (UK strain: VUI 202012/01): A computational study. *Marine Drugs*, 19(5), 242. <https://doi.org/10.3390/md19050242>
- Abo-zeid, Y., Ismail, N. S. M., McLean, G. R., & Hamdy, N. M. (2020). A molecular docking study repurposes FDA approved iron oxide nanoparticles to treat and control COVID-19 infection. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 153, 105465. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2020.105465>
- Abo-zeid, y., Williams, G. R. (2019). The potential anti-infective applications of metal oxide nanoparticles: A systematic review. *Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 12 (2), 1592. doi: 10.1002/wnan.1592
- Alphandéry. (2020). Nano-Therapies for glioblastoma treatment. *Cancers*, 12(1), 242. <https://doi.org/10.3390/cancers12010242>
- Atapour, A., Khajehzadeh, H., Shafie, M., Abbasi, M., Mosleh-Shirazi, S., Kasaei, S. R., & Amani, A. M. (2022). Gold nanoparticle-based aptasensors: A promising perspective for early-stage detection of cancer biomarkers. *Materials Today Communications*, 30, 103181. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2022.103181>
- Bamburowicz-Klimkowska, M., Poplawska, M., & Grudzinski, I. P. (2019). Nanocomposites as biomolecules delivery agents in nanomedicine. *Journal of Nanobiotechnology*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12951-019-0479-x>
- Bataglioli, R. A., Rocha Neto, J. B. M., Calais, G. B., Lopes, L. M., Tsukamoto, J., Moraes, A. P., Arns, C. W., & Beppu, M. M. (2021). Hybrid alginate–copper sulfate textile coating for coronavirus inactivation. *Journal of the American Ceramic Society*. <https://doi.org/10.1111/jace.17862>
- Behzadinasab, S., Chin, A., Hosseini, M., Poon, L., & Ducker, W. A. (2020). A Surface Coating that Rapidly Inactivates SARS-CoV-2. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 12(31), 34723–34727. <https://doi.org/10.1021/acsami.0c11425>
- Cao, S., Deng, Y., Zhang, L., & Aleahmad, M. (2022). Chitosan nanoparticles, as biological macromolecule-based drug delivery systems to improve the healing potential of artificial neural guidance channels: A review. *International Journal*

- of *Biological Macromolecules*, 201, 569–579.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.01.017>
- Cao, Y., Wang, J., Jian, F., Xiao, T., Song, W., Yisimayi, A., Huang, W., Li, Q., Wang, P., An, R., Wang, J., Wang, Y., Niu, X., Yang, S., Liang, H., Sun, H., Li, T., Yu, Y., Cui, Q., ... Xie, X. S. (2021). *Omicron escapes the majority of existing SARS-CoV-2 neutralizing antibodies*. Cold Spring Harbor Laboratory.
<http://dx.doi.org/10.1101/2021.12.07.470392>
- Carvalho, A. P. A., & Conte-Junior, C. A. (2021). Recent advances on nanomaterials to COVID-19 management: A systematic review on antiviral/virucidal agents and mechanisms of sars-cov-2 inhibition/inactivation. *Global Challenges*, 5(5), 2000115. <https://doi.org/10.1002/gch2.202000115>
- Chue-Gonçalves, M., Pereira, G. N., Faccin-Galhardi, L. C., Kobayashi, R. K. T., & Nakazato, G. (2021). Metal nanoparticles against viruses: Possibilities to fight sars-cov-2. *Nanomaterials*, 11(11), 3118. <https://doi.org/10.3390/nano11113118>
- Connor, B. A., Couto-Rodriguez, M., Barrows, J. E., Gardner, M., Rogova, M., O'Hara, N. B., & Nagy-Szakal, D. (2021). Monoclonal antibody therapy in a vaccine breakthrough sars-cov-2 hospitalized delta (B.1.617.2) variant case. *International Journal of Infectious Diseases*, 110, 232–234.
<https://doi.org/10.1016/j.ijid.2021.07.029>
- Corrêa, T. Q., Blanco, K. C., Vollet-Filho, J. D., Morais, V. S., Trevelin, W. R., Pratavieira, S., & Bagnato, V. S. (2021). Efficiency of an air circulation decontamination device for micro-organisms using ultraviolet radiation. *Journal of Hospital Infection*, 115, 32–43. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2021.06.002>
- Dar, A. M., & Mir, S. (2017). Molecular docking: Approaches, types, applications and basic challenges. *Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques*, 08(02).
<https://doi.org/10.4172/2155-9872.1000356>
- Elengoe, A., Loganathan, V. (2021) Molecular modeling and docking studies on phyto-compounds against caspase-3, BRCA1, and Rb. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 12(6), 7606–7620. <https://doi.org/10.33263/briac126.76067620>
- Fahnin, B. M, Lobão, E. B. *Nanotecnologia aplicada a fármacos*. TCC (Trabalho de Conclusão de Curso para título de Bacharel em Farmácia). Faculdade Católica Salesiana do Espírito Santo, Vitória, 2011.

- Ferreira, L., dos Santos, R., Oliva, G., & Andricopulo, A. (2015). Molecular docking and structure-based drug design strategies. *Molecules*, 20(7), 13384–13421. <https://doi.org/10.3390/molecules200713384>
- Fogler, H. S. (2017). *Essentials of chemical reaction engineering*. Prentice Hall.
- Genovese, L., Zaccaria, M., Farzan, M., Johnson, W., & Momeni, B. (2021). *Investigating the mutational landscape of the SARS-CoV-2 Omicron variant via ab initio quantum mechanical modeling*. Cold Spring Harbor Laboratory. <http://dx.doi.org/10.1101/2021.12.01.470748>
- Ghasemiyeh, P., Mohammadi-Samani, S., Firouzabadi, N., Dehshahri, A., & Vazin, A. (2021). A focused review on technologies, mechanisms, safety, and efficacy of available COVID-19 vaccines. *International Immunopharmacology*, 100, 108162. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.108162>
- Goher, S. S., Ali, F., & Amin, M. (2022). The Delta variant mutations in the receptor binding domain of SARS-CoV-2 show enhanced electrostatic interactions with the ACE2. *Medicine in Drug Discovery*, 13, 100114. <https://doi.org/10.1016/j.medidd.2021.100114>
- Guruprasad, K. (2022). Mutations in human SARS-CoV-2 spike proteins, potential drug binding and epitope sites for COVID-19 therapeutics development. *Current Research in Structural Biology*, 4, 41–50. <https://doi.org/10.1016/j.crstbi.2022.01.002>
- Han, P., Li, L., Liu, S., Qi, J., Gao, G. F., Wang, P. (2022). Receptor binding and complex structures of human ACE2 to spike RBD from omicron and delta SARS-CoV-2. *Cell*, 185 (4), 630-640. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.01.001>
- Huang, L., Yang, J., Wang, T., Gao, J., & Xu, D. (2022). Engineering of small-molecule lipidic prodrugs as novel nanomedicines for enhanced drug delivery. *Journal of Nanobiotechnology*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s12951-022-01257-4>
- Huey, R., Morris, G. M., Olson, A. J., & Goodsell, D. S. (2007). A semiempirical free energy force field with charge-based desolvation. *Journal of Computational Chemistry*, 28(6), 1145–1152. <https://doi.org/10.1002/jcc.20634>
- IMF – International Monetary Fund, 2022. Acesso em 24/02/2022. <https://www.imf.org/en/Publications/WEO>

- Kale, P., Gupta, E., Bihari, C., Patel, N., Rooge, S., Pandey, A., Bajpai, M., Khillan, V., Chattopadhyay, P., Devi, P., Maurya, R., Jha, N., Mehta, P., Kumar, M., Sharma, P., Saifi, S., Swaminathan, A., Alam, S., Uppili, B., ... Sarin, S. K. (2021). Vaccine Breakthrough Infections by SARS-CoV-2 Variants after ChAdOx1 nCoV-19 Vaccination in Healthcare Workers. *Vaccines*, 10(1), 54. <https://doi.org/10.3390/vaccines10010054>
- Keiper, A. (2010, January 8). Richard Feynman, the futurists and the nanotechnology initiative. *The Wall Street Journal*. <https://www.wsj.com/articles/SB10001424052748703580904574638160601840456>
- Khan, J., Rudrapal, M., Bhat, E. A., Ali, A., Alaidarous, M., Alshehri, B., Banwas, S., Ismail, R., & Egbuna, C. (2021). Perspective insights to bio-nanomaterials for the treatment of neurological disorders. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.724158>
- Lewars, E. (2003). *Computational chemistry: Introduction to the theory and applications of molecular and quantum mechanics*. Springer Science & Business Media.
- Li, M., Lou, F., & Fan, H. (2022). SARS-CoV-2 variant Omicron: Currently the most complete “escapee” from neutralization by antibodies and vaccines. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41392-022-00880-9>
- Maghimaa, M., & Alharbi, S. A. (2020). Green synthesis of silver nanoparticles from *Curcuma longa* L. and coating on the cotton fabrics for antimicrobial applications and wound healing activity. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 204, 111806. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2020.111806>
- Maia, E. H. B., Assis, L. C., de Oliveira, T. A., da Silva, A. M., & Taranto, A. G. (2020). Structure-Based virtual screening: From classical to artificial intelligence. *Frontiers in Chemistry*, 8. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00343>
- McGonagle, D., Bridgewood, C., & Meaney, J. F. M. (2021). A tricompartamental model of lung oxygenation disruption to explain pulmonary and systemic pathology in severe COVID-19. *The Lancet Respiratory Medicine*, 9(6), 665–672. [https://doi.org/10.1016/s2213-2600\(21\)00213-7](https://doi.org/10.1016/s2213-2600(21)00213-7)

- Ou, J., Zhang, Y., Wang, Y., Zhang, Z., Wei, H., Yu, J., Wang, Q., Wang, G., Zhang, B., & Wang, C. (2022). ACE2-Targeting antibody suppresses SARS-CoV-2 Omicron and Delta variants. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41392-022-00913-3>
- Palestino, G.; García-Silva, I.; González-Ortega, O.; Rosales-Mendoza, S. Can nanotechnology help in the fight against COVID-19? *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, v. 18, Issue 9, p. 849-864, 23 Jun, 2020. <https://doi.org/10.1080/14787210.2020.1776115>
- Phan, D.-N., Dorjjugder, N., Khan, M. Q., Saito, Y., Taguchi, G., Lee, H., Mukai, Y., & Kim, I.-S. (2019). Synthesis and attachment of silver and copper nanoparticles on cellulose nanofibers and comparative antibacterial study. *Cellulose*, 26(11), 6629–6640. <https://doi.org/10.1007/s10570-019-02542-6>
- Pimentel, V., Mariano, D., Cantão, L. X. S., Bastos, L. L., Fischer, P., Lima, L. H. F. de, Fassio, A. V., & Melo-Minardi, R. C. de. (2021). VTR: A Web Tool for Identifying Analogous Contacts on Protein Structures and Their Complexes. *Frontiers in Bioinformatics*. <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fbinf.2021.730350>
- Porto, V. A., Porto, R. S. (2022) In silico Studies of Novel Synthetic Compounds as Potential Drugs to Inhibit Coronavirus (SARS-CoV-2): A Systematic Review. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 12(4), 4293–4306. <https://doi.org/10.33263/briac124.42934306>
- Qin, S., Cui, M., Sun, S., Zhou, J., Du, Z., Cui, Y., & Fan, H. (2021). Genome characterization and potential risk assessment of the novel sars-cov-2 variant omicron (B.1.1.529). *Zoonoses*, 1(1). <https://doi.org/10.15212/zoonoses-2021-0024>
- Roy, K., Kar, S., & Das, R. N. (2015). *Understanding the basics of QSAR for applications in pharmaceutical sciences and risk assessment*. Academic Press.
- Saif, S., Tahir, A., Chen, Y. (2016). Green Synthesis of iron nanoparticles and their environmental applications and implications. *Nanomaterials*, 6 (11), 209. [10.3390/nano6110209](https://doi.org/10.3390/nano6110209)
- Silva, Viviane Aparecida da Silva. (2017). Estudo, por modelagem molecular, da inibição da enzima acetohidroxiácido sintase utilizando diferentes derivados

- pirimidinilsalicilados. Dissertação (Mestrado em Química). Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, 67f, 2017.
- Singh, S., Batish, Y., Sharma, N., Arora, S., Kakkar, V., Batra, S. (2021) Unveiling the nanotechnology-based drug delivery systems and patent literature for diabetic retinopathy. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 12(5), 6651–6667. <https://doi.org/10.33263/briac125.66516667>
- Souza, P. F. N., Lopes, F. E. S., Amaral, J. L., Freitas, C. D. T., & Oliveira, J. T. A. (2020). A molecular docking study revealed that synthetic peptides induced conformational changes in the structure of SARS-CoV-2 spike glycoprotein, disrupting the interaction with human ACE2 receptor. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 66–76. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.174>
- Souza, Simone Decembrino de. Estudo de inibidores de colinesterases aplicando técnicas de QSAR-2D (HQSAR) e docking molecular. Tese (Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas), Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012. http://www.mestradoti.com.br/site/arquivos_up/documentos/00e3c961f685225cbf6915e004469666.pdf
- Sportelli, M. C., Izzi, M., Kukushkina, E. A., Hossain, S. I., Picca, R. A., Ditaranto, N., Cioffi, N. (2020) Can nanotechnology and materials science help the fight against SARS-CoV-2? *Nanomaterials (Basel)*, 10(4):802. 10.3390/nano10040802
- Staufer, O., Gupta, K., Hernandez Bücher, J. E., Kohler, F., Sigl, C., Singh, G., Vasileiou, K., Yagüe Relimpio, A., Macher, M., Fabritz, S., Dietz, H., Cavalcanti Adam, E. A., Schaffitzel, C., Ruggieri, A., Platzman, I., Berger, I., & Spatz, J. P. (2022). Synthetic virions reveal fatty acid-coupled adaptive immunogenicity of SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Nature Communications*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28446-x>
- Tiwari, S., Juneja, S., Ghosal, A., Bandara, N., Khan, R., Wallen, S. L., Ramakrishna, S., & Kaushik, A. (2022). Antibacterial and antiviral high-performance nanosystems to mitigate new SARS-CoV-2 variants of concern. *Current Opinion in Biomedical Engineering*, 21, 100363. <https://doi.org/10.1016/j.cobme.2021.100363>

- UKHSA – United Kingdom Health Security Agency. (2021). *SARS-CoV-2 Variants of Concern and Variants Under Investigation in England: Technical briefing 31*.
- Walls, A. C., Park, Y.-J., Tortorici, M. A., Wall, A., McGuire, A. T., & Veesler, D. (2020). *Structure, function and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein*. Cold Spring Harbor Laboratory. <http://dx.doi.org/10.1101/2020.02.19.956581>
- Wang, C., Horby, P. W., Hayden, F. G., & Gao, G. F. (2020). A novel coronavirus outbreak of global health concern. *The Lancet*, 395(10223), 470–473. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)30185-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(20)30185-9)
- Wang, L., Zhou, T., Zhang, Y., Yang, E. S., Schramm, C. A., Shi, W., Pegu, A., Oloniniyi, O. K., Henry, A. R., Darko, S., Narpala, S. R., Hatcher, C., Martinez, D. R., Tsybovsky, Y., Phung, E., Abiona, O. M., Antia, A., & ... (2021). Ultrapotent antibodies against diverse and highly transmissible SARS-CoV-2 variants. *Science*, 373(6556). <https://doi.org/10.1126/science.abh1766>
- Wang, Y., Liu, M., & Gao, J. (2020). Enhanced receptor binding of SARS-CoV-2 through networks of hydrogen-bonding and hydrophobic interactions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(25), 13967–13974. <https://doi.org/10.1073/pnas.2008209117>
- WHO – World Health Organization Coronavirus, 2022. Acesso em 22/02/2022. <https://covid19.who.int/>
- Yayehrad, A. T., Siraj, E. A., Wondie, G. B., Alemie, A. A., Derseh, M. T., & Ambaye, A. S. (2021). Could nanotechnology help to end the fight against COVID-19? Review of current findings, challenges and future perspectives. *International Journal of Nanomedicine*, Volume 16, 5713–5743. <https://doi.org/10.2147/ijn.s327334>