

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 29/11/2026.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"



Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"
Instituto de Biociências de Botucatu
Programa de Pós-Graduação em Farmacologia e Biotecnologia

Gledson Vinicius Miranda dos Santos

**Triagem computacional de potenciais ligantes para os sítios de
ligação do substrato e do cofator catalítico do domínio
metiltransferase da RNA polimerase do Vírus Sincicial Respiratório
humano**

Botucatu-SP
2025



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"
Instituto de Biociências de Botucatu
Programa de Pós-Graduação em Farmacologia e Biotecnologia

Gledson Vinicius Miranda dos Santos

**Triagem computacional de potenciais ligantes para os sítios de
ligação do substrato e do cofator catalítico do domínio
metiltransferase da RNA polimerase do Vírus Sincicial Respiratório
humano**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa
de Pós-graduação em Farmacologia e Biotecnologia
do Instituto de Biociências de Botucatu da
Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita
Filho"

Candidato: Gledson Vinicius Miranda dos Santos

Orientador: Prof. Dr. Ícaro Putinhon Caruso

Coorientador: Profa. Dra. Fátima Pereira de Souza

Botucatu-SP

2025

S237t Santos, Gledson Vinicius Miranda dos
Triagem computacional de potenciais ligantes para os sítios de ligação do substrato e do cofator catalítico do domínio metiltransferase da RNA polimerase do Vírus Sincicial Respiratório humano / Gledson Vinicius Miranda dos Santos. -- Botucatu, 2024
92 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Botucatu
Orientadora: Ícaro Putinhon Caruso
Coorientadora: Fátima Pereira de Souza

1. Vírus Sincicial Respiratório Humano. 2. Agentes antivirais. 3. Bioinformática. 4. Farmacologia. I. Título.

Gledson Vinicius Miranda dos Santos

**Triagem computacional de potenciais ligantes para os sítios de
ligação do substrato e do cofator catalítico do domínio
metiltransferase da RNA polimerase do Vírus Sincicial Respiratório
humano**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-graduação em
Farmacologia e Biotecnologia do Instituto de
Biotecnologia de Botucatu da Universidade
Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Ícaro Putinhon Caruso

Departamento de Física – UNESP - São José do Rio Preto

Prof. Dr. Marcelo Andres Fossey

Departamento de Física – UNESP - São José do Rio Preto

Profa. Dra. Káthia Maria Honorio

Escola de Artes, Ciências e Humanidades (EACH) - Universidade de São Paulo
(USP)

Botucatu-SP

2025

*A minha família, em especial aos meus pais, Edson e
Elisângela, por serem a minha maior fonte de motivação e coragem.*

Agradecimentos

Este trabalho de mestrado é o resultado de um esforço gigantesco e coletivo, e não teria sido possível sem o apoio e a dedicação de muitas pessoas. A todos, meu mais sincero agradecimento.

Aos meus pais, pela paciência e compreensão ao longo desta jornada. Vocês foram minha inspiração e força nos momentos mais desafiadores. Aos meus amigos, por me apoiarem mesmo diante de minhas ausências e por sempre acreditarem no meu potencial.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Ícaro Putinhon Caruso, pela orientação atenta, paciência e encorajamento, especialmente nos momentos mais difíceis, quando sua sabedoria e dedicação foram essenciais para a continuidade deste projeto. Imagino o quão desesperador alguns momentos dessa orientação lhe devem ter parecido.

Aos meus coorientadores, Profa. Dra. Fátima Pereira de Souza e, em especial, ao Dr. Raphael Vinicius Rodrigues Dias, pela assistência mais que valiosa e pelo apoio constante ao longo de todo o processo.

À comissão examinadora, que gentilmente aceitou avaliar esta dissertação, contribuindo com seu tempo e expertise para o aprimoramento deste estudo.

À CAPES pelo suporte financeiro essencial (Processo 88887.670864/2022-00), assim como às outras agências de fomento que indiretamente contribuíram, pelo incentivo à pesquisa e desenvolvimento científico brasileiro.

Aos colegas e colaboradores que, direta ou indiretamente, participaram das pesquisas, oferecendo seu tempo, conhecimento e entusiasmo para a realização deste projeto, em especial aos colegas de equipe, Evelyn, João, Wan e Isabela.

A cada um de vocês, minha gratidão profunda por terem feito parte desta etapa tão importante da minha vida. Obrigado por acreditarem no valor do conhecimento e contribuírem para a construção deste trabalho.

Resumo

O Vírus Sincicial Respiratório Humano (HRSV) é um patógeno de grande relevância clínica, sendo uma das principais causas de morbidade respiratória em crianças, idosos e indivíduos imunocomprometidos. Apesar de sua importância, as opções terapêuticas disponíveis permanecem limitadas, destacando a urgência de identificar novas estratégias antivirais. Neste contexto, este estudo teve como objetivo a triagem computacional de potenciais ligantes dirigidos aos sítios de interação do substrato (GTP) e do cofator catalítico (SAM) no domínio metiltransferase (MTase) da RNA polimerase (proteína L) do HRSV. Modelos estruturais do domínio MTase foram construídos utilizando os servidores Swiss-Model, Alphafold, RosettaFOLD, RosettaTR e I-TASSER, tendo como base a estrutura cristalográfica 4UCI do vírus ortólogo Metapneumovírus humano (HMPV). A seleção dos modelos estruturais mais robustos foi baseada em métricas de RMSD e análises conformacionais a partir dos gráficos de Ramachandran. A estabilidade conformacional dos modelos foi avaliada por simulações de dinâmica molecular conduzidas no software GROMACS, garantindo a consistência estrutural para as etapas subsequentes. A triagem virtual de compostos, realizada nos bancos de dados ZINC15 e PubChem, possibilitou a identificação de moléculas com alta similaridade aos ligantes naturais do domínio MTase. Os compostos selecionados foram submetidos a análises físico-químicas utilizando as plataformas SwissADME e pkCMS, que forneceram *insights* detalhados sobre sua viabilidade como candidatos antivirais. Estudos de *docking* molecular realizados com os programas AutoDock e Vina, determinaram o padrão de interação entre os ligantes e os sítios de interesse. Por fim, novas simulações de dinâmica molecular e cálculos de energia livre de ligação, conduzidos pelo método MM-PBSA, confirmaram a estabilidade das interações nos complexos e permitiram comparar o desempenho dos compostos como potenciais candidatos antivirais contra o HRSV. Os resultados deste trabalho destacam a identificação de compostos promissores como potenciais agentes antivirais dirigidos ao HRSV. Este estudo reforça a relevância de abordagens computacionais integradas como ferramentas de extrema valia na busca por terapias antivirais inovadoras, além de fornecer uma base sólida para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas direcionadas especificamente ao domínio MTase.

Abstract

Human Respiratory Syncytial Virus (HRSV) is a clinically significant pathogen and one of the leading causes of respiratory morbidity in children, elderly individuals, and immunocompromised patients. Despite its importance, the available therapeutic options remain limited, emphasizing the urgent need to identify new antiviral strategies. In this context, the present study aimed to perform a computational screening of potential ligands targeting the substrate (GTP) and catalytic cofactor (SAM) binding sites of the methyltransferase (MTase) domain of the HRSV RNA polymerase. Structural models of the MTase domain were generated using Swiss-Model, Alphafold, RosettaFOLD, RosettaTR, and I-TASSER, based on the crystallographic structure 4UCI of the orthologous virus Human Metapneumovirus (HMPV). The selection of the most robust structural models was based on RMSD metrics and conformational analyses using Ramachandran plots. The conformational stability of the selected models was validated through molecular dynamics simulations performed in the GROMACS software, ensuring structural consistency for subsequent steps. Virtual screening of compounds was conducted in the ZINC15 and PubChem databases, identifying molecules with high similarity to the natural ligands of the MTase domain. The selected compounds were subjected to physicochemical analyses using the SwissADME and pkCMS platforms, providing detailed insights into their viability as antiviral candidates. Molecular docking studies, carried out with AutoDock and Vina, elucidated the interaction patterns between the ligands and the target binding sites. Finally, additional molecular dynamics simulations and binding free energy calculations using the MM-PBSA method confirmed the stability of the complexes and enabled the comparison of the compounds' performance as potential antiviral candidates against HRSV. The results of this study highlight the identification of promising compounds as potential antiviral agents against HRSV. This work underscores the importance of robust and integrated computational approaches as precious tools in the search for innovative antiviral therapies, providing a solid foundation for the development of therapeutic strategies specifically targeting the MTase domain.

Índice de Figuras e Legendas

FIGURA 1. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO HRSV APRESENTANDO A ORGANIZAÇÃO GENÔMICA E ESTRUTURA VIRAL COM SUAS 9 PROTEÍNAS ESTRUTURAIS..... 22

FIGURA 2. ORGANIZAÇÃO DOS DOMÍNIOS DA PROTEÍNA L DO HMPV JUNTAMENTE COM O DOMÍNIO C-TERMINAL. EM VERDE ESTÁ REPRESENTADO O DOMÍNIO CR-VI, QUE CONTÉM O MOTIF K-D-K-E TÍPICO DE ATIVIDADES 2' O-MTASES. O DOMÍNIO C-TERMINAL ESTÁ REPRESENTADO EM VERMELHO, CONTENDO O MOTIF K-K-G (AZUL). OS LIMITES DE CR-I A -V SÃO APROXIMADOS. CR-III CONTÉM O MOTIF ASSINATURA GDNQ PARA ATIVIDADES DE POLIMERASE (RdRP) E CR-V CONTÉM O MOTIF H-R PARA ATIVIDADES DE PRNTASE..... 23

FIGURA 3. COMPARAÇÃO DO DOMÍNIO CR-VI DO HMPV E HRSV EM TORNO SÍTIO DE LIGAÇÃO DO SUBSTRATO E SAM. A REPRESENTAÇÃO À ESQUERDA DO HMPV MOSTRA A DISTRIBUIÇÃO DE CARGAS NA SUPERFÍCIE, COLORIDAS EM AZUL (POSITIVO) E VERMELHO (NEGATIVO). OS LIGANTES ESTÃO REPRESENTADOS EM AMARELO. A REPRESENTAÇÃO À DIREITA MOSTRA O MESMO DOMÍNIO DO HRSV SOB A MESMA ORIENTAÇÃO. RESÍDUOS CONSERVADOS NO VÍRUS HRSV HOMÓLOGOS DO DOMÍNIO CR-VI ESTÃO COLORIDOS EM VERMELHO ESCURO (RESÍDUOS IDÊNTICOS) OU ROSA (RESÍDUOS SEMELHANTES)..... 26

FIGURA 4. MODELOS ESTRUTURAIS DETERMINADOS PELOS SERVIDORES ALPHAFOLD, ROSETTAFOLD, ROSETTATR E ITASSER. ESTÃO SENDO APRESENTADOS DOIS ÂNGULOS DE CADA UM DOS 4 MODELOS COM MENORES VALORES DE RMSD QUANDO COMPARADOS COM O MODELO MOLDE (HRSV – SWISS MODEL). NA ORDEM DE A A D SÃO REPRESENTADOS OS MODELOS DE MELHOR VALOR DE RMSD GERADOS PELO ALPHAFOLD, ROSETTAFOLD, ROSETTATR E ITASSER, RESPECTIVAMENTE. AS ESTRUTURAS SECUNDÁRIAS ALFA HÉLICES, FOLHAS BETA E LOOPS ESTÃO COLORIDAS EM CIANO, MAGENTA E ROSA, RESPECTIVAMENTE. EM VERDE E VERMELHO ESTÃO MARCADOS SEGMENTOS DAS REGIÕES N-TERMINAL E C-TERMINAL, RESPECTIVAMENTE..... 39

FIGURA 5. PLOTAGENS DE RAMACHANDRAN PARA ÂNGULOS TORCIONAIS DOS RESÍDUOS DOS MELHORES MODELOS ESTRUTURAIS DO DOMÍNIO MTASE DA RNA POLIMERASE DO HRSV DETERMINADOS PELOS SERVIDORES. DE A – D ESTÃO REPRESENTADAS AS PLOTAGENS DOS MODELOS DETERMINADOS PELOS SERVIDORES ALPHAFOLD, ROSETTA FOLD, ROSETTATR E ITASSER, RESPECTIVAMENTE. REGIÕES MAIS FAVORÁVEIS ESTÃO REPRESENTADAS EM VERMELHO, REGIÕES ADICIONALMENTE PERMITIDAS EM AMARELO ESCURO, REGIÕES GENEROSAMENTE PERMITIDAS EM AMARELO CLARO E REGIÕES NÃO PERMITIDAS EM BRANCO..... 41

FIGURA 6. VALORES DE RMSD CALCULADOS A PARTIR DAS SIMULAÇÕES DE DINÂMICA MOLECULAR (100 NS). PARÂMETROS DE RMSD EXTRAÍDOS DAS SIMULAÇÕES DE DINÂMICA MOLECULAR PARA OS MODELOS ALPHAFOLD E ROSETTAFOLD. OS GRÁFICOS APRESENTAM OS VALORES DE RMSD AO LONGO DE 100 NS DE SIMULAÇÃO PARA O BACKBONE, ADN, SAM E GTP, RESPECTIVAMENTE. OS CALCULADOS FORAM REALIZADOS A PARTIR DO ALINHAMENTO AO BACKBONE DA PROTEÍNA NA POSIÇÃO INICIAL. UMA LINHA COM A MÉDIA DOS VALORES EM 100 PONTOS CORTA CADA UM DOS GRÁFICOS, REPRESENTADA EM VERMELHO PARA OS GRÁFICOS COM BACKBONE, AZUL PARA OS GRÁFICOS COM ADN, VERDE PARA OS GRÁFICOS COM SAM E AMARELO PARA OS GRÁFICOS COM GTP..... 43

FIGURA 7. NÚMERO DE CONTATOS EXTRAÍDOS DAS SIMULAÇÕES DE DINÂMICA MOLECULAR (100 NS) PARA OS MODELOS ALPHAFOLD E ROSETTAFOLD. OS GRÁFICOS APRESENTAM OS VALORES DE NÚMEROS DE CONTATOS COM A PROTEÍNA AO LONGO DE 100 NS DE SIMULAÇÃO PARA OS LIGANTES ADN, SAM E GTP, RESPECTIVAMENTE. UMA LINHA COM A MÉDIA DOS VALORES EM 100 PONTOS CORTA CADA UM DOS GRÁFICOS, REPRESENTADA EM AZUL PARA OS GRÁFICOS COM PROTEÍNA-ADN, VERDE PARA OS GRÁFICOS COM PROTEÍNA-SAM E AMARELO PARA OS GRÁFICOS COM PROTEÍNA-GTP..... 44

FIGURA 8. NÚMERO LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO CALCULADOS A PARTIR DAS SIMULAÇÕES DE DINÂMICA MOLECULAR (100 NS) - NÚMERO DE LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO EXTRAÍDOS DAS SIMULAÇÕES DE DINÂMICA MOLECULAR PARA OS MODELOS ALPHAFOLD E ROSETTAFOLD. OS GRÁFICOS APRESENTAM OS VALORES DE NÚMEROS DE LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO COM A PROTEÍNA AO LONGO DE 100 NS DE SIMULAÇÃO PARA OS LIGANTES ADN, SAM E GTP, RESPECTIVAMENTE. UMA LINHA COM A MÉDIA DOS VALORES EM 100 PONTOS CORTA CADA UM DOS GRÁFICOS, REPRESENTADA EM AZUL PARA OS GRÁFICOS COM PROTEÍNA-ADN, VERDE PARA OS GRÁFICOS COM PROTEÍNA-SAM E AMARELO PARA OS GRÁFICOS COM PROTEÍNA-GTP..... 45

FIGURA 9. FIGURAS REPRESENTATIVAS GERADAS PELO PROCESSO DE CLUSTERIZAÇÃO APÓS SIMULAÇÕES DE DINÂMICA MOLECULAR – EM A E B ESTÃO SENDO APRESENTADOS OS CLUSTERS REPRESENTATIVOS DAS SIMULAÇÕES DE DINÂMICA MOLECULAR PARA ALPHAFOLD E ROSETTA FOLD, RESPECTIVAMENTE, COM OS MODELOS COMPLETOS E UM ZOOM DE 20 Å. AS ESTRUTURAS SECUNDÁRIAS ALFA HÉLICES, FOLHAS BETA E LOOPS ESTÃO COLORIDAS EM CIANO, MAGENTA E ROSA, RESPECTIVAMENTE. EM AZUL, VERDE E AMARELO ESTÃO MARCADOS OS LIGANTES ADN, SAM E GTP, RESPECTIVAMENTE. 46

FIGURA 10. – SOBREPOSIÇÃO DOS CLUSTERS REPRESENTATIVOS DAS SIMULAÇÕES DE DINÂMICA MOLECULAR COLORIDOS COM BASE NOS VALORES DOS CÁLCULOS DE RMSD COMPARANDO OS DOIS MODELOS ESTRUTURAIS (ALPHAFOLD E ROSETTA FOLD) - EM A ESTÃO SENDO APRESENTADOS DE FORMA SOBREPOSTA OS CLUSTERS REPRESENTATIVOS DAS SIMULAÇÕES DE DINÂMICA MOLECULAR PARA ALPHAFOLD E ROSETTA FOLD EXPONDO OS SÍTIOS DE INTERAÇÃO DO MODELO ESTRUTURAL. EM B, AINDA DE FORMA SOBREPOSTA, OS MESMOS CLUSTERS REPRESENTATIVOS DAS SIMULAÇÕES DE DINÂMICA MOLECULAR ESTÃO REPRESENTADOS COM UM GIRO HORIZONTAL DE 180°. AS ESTRUTURAS ESTÃO COLORIDAS COM ESCALA DE CORES DE CIANO A VERMELHO DE ACORDO COM OS VALORES DE RMSD OBTIDO PELO ALINHAMENTO DESSAS ESTRUTURAS. EM AZUL, VERDE E AMARELO ESTÃO MARCADOS OS LIGANTES ADN, SAM E GTP, RESPECTIVAMENTE..... 47

FIGURA 11. ESTRUTURAS MOLECULARES DOS LIGANTES NATURAIS E ANÁLOGOS SELECIONADOS PARA O DOMÍNIO MTASE DA PROTEÍNA L. A FIGURA ILUSTRA AS ESTRUTURAS BIDIMENSIONAIS DOS LIGANTES NATURAIS SAM E GTP, ASSOCIADOS AO DOMÍNIO MTASE DA PROTEÍNA L, JUNTAMENTE COM OS COMPOSTOS ANÁLOGOS IDENTIFICADOS NA TRIAGEM VIRTUAL NOS BANCOS DE DADOS ZINC15 E PUBCHEM. O BLOCO A APRESENTA O SAM E OS COMPOSTOS ANÁLOGOS, ENQUANTO O BLOCO B EXIBE O GTP E SEUS ANÁLOGOS..... 57

FIGURA 13. POSICIONAMENTO DO LIGANTE NATURAL (SAM) NO MODELO ESTRUTURAL DO DOMÍNIO MTASE DA PROTEÍNA L DO HRSV DETERMINADO PELO ALPHAFOLD EM COMPARAÇÃO COM OS ANÁLOGOS SELECIONADOS PELA TRIAGEM VIRTUAL. EM A E B ESTÃO SENDO APRESENTADOS O POSICIONAMENTO DO LIGANTE NATURAL SAM EM INTERAÇÃO COM O MODELO ESTRUTURAL DETERMINADO PELO ALPHAFOLD. EM B É APRESENTADO A MESMA FIGURA QUE EM A, PORÉM COM UMA AMPLIAÇÃO DE 12 Å. EM C, D E E SÃO APRESENTADOS O POSICIONAMENTO DOS LIGANTES ANÁLOGOS DE SAM DE FORMA SOBREPOSTA COM O LIGANTE NATURAL E AMPLIAÇÃO DE 12 Å. ... 60

FIGURA 14. POSICIONAMENTO DO LIGANTE NATURAL (SAM) NO MODELO ESTRUTURAL DO DOMÍNIO MTASE DA PROTEÍNA L DO HRSV DETERMINADO PELO ROSETTA FOLD EM COMPARAÇÃO COM OS ANÁLOGOS SELECIONADOS PELA TRIAGEM VIRTUAL. EM A E B ESTÃO SENDO APRESENTADOS O POSICIONAMENTO DO LIGANTE NATURAL SAM EM INTERAÇÃO COM O MODELO ESTRUTURAL DETERMINADO PELO ROSETTA FOLD. EM B É APRESENTADO A MESMA FIGURA QUE EM A, PORÉM COM UMA AMPLIAÇÃO DE 12 Å. EM C, D E E SÃO APRESENTADOS O POSICIONAMENTO DOS LIGANTES ANÁLOGOS DE SAM DE FORMA SOBREPOSTA COM O LIGANTE NATURAL E AMPLIAÇÃO DE 12 Å. ... 61

FIGURA 15. POSICIONAMENTO DO LIGANTE NATURAL GTP NO MODELO ESTRUTURAL DO DOMÍNIO MTASE DA PROTEÍNA L DO HRSV DETERMINADO PELO ALPHAFOLD EM COMPARAÇÃO COM OS ANÁLOGOS SELECIONADOS PELA TRIAGEM VIRTUAL. EM A E B ESTÃO SENDO APRESENTADOS O POSICIONAMENTO DO LIGANTE NATURAL GTP EM INTERAÇÃO COM O MODELO ESTRUTURAL DETERMINADO PELO ALPHAFOLD. EM B É APRESENTADO A MESMA FIGURA QUE EM A, PORÉM COM UMA AMPLIAÇÃO DE 12 Å. EM C E D SÃO APRESENTADOS O POSICIONAMENTO DOS LIGANTES ANÁLOGOS DE GTP DE FORMA SOBREPOSTA COM O LIGANTE NATURAL E AMPLIAÇÃO DE 12 Å. 63

FIGURA 16. POSICIONAMENTO DO LIGANTE NATURAL GTP NO MODELO ESTRUTURAL DO DOMÍNIO MTASE DA PROTEÍNA L DO HRSV DETERMINADO PELO ROSETTA FOLD EM COMPARAÇÃO COM OS ANÁLOGOS SELECIONADOS PELA TRIAGEM VIRTUAL. EM A E B ESTÃO SENDO APRESENTADOS O POSICIONAMENTO DO LIGANTE NATURAL GTP EM INTERAÇÃO COM O MODELO ESTRUTURAL DETERMINADO PELO ROSETTA FOLD. EM B É APRESENTADO A MESMA FIGURA QUE EM A, PORÉM COM UMA AMPLIAÇÃO DE 12 Å. EM C E D SÃO APRESENTADOS O POSICIONAMENTO DOS LIGANTES ANÁLOGOS DE GTP DE FORMA SOBREPOSTA COM O LIGANTE NATURAL E AMPLIAÇÃO DE 12 Å. 64

FIGURA 17. GRÁFICO DE MÉDIA DE RMSD DOS MODELOS ESTRUTURAIS DETERMINADOS PELOS SERVIDORES ALPHAFOLD E ROSETTA FOLD AO LONGO DE 100 NS DE SIMULAÇÃO DE DINÂMICA MOLECULAR. GRÁFICO DE MÉDIA DE RMSD COM DESVIO PADRÃO E ERRO ASSOCIADO, ILUSTRANDO A ESTABILIDADE DAS ESTRUTURAS MODELADAS. O VALOR DE RMSD ESTABILIZA EM TORNO DE 0,3 NM EM AMBOS OS MODELOS. NOTA-SE QUE OS ERROS SÃO BAIXOS, PORÉM LIGEIRAMENTE MAIORES EM (A) DO QUE EM (B), O QUE SUGERE UMA MAIOR FLEXIBILIDADE CONFORMACIONAL DA ESTRUTURA CONSTRUÍDA PELO ALPHAFOLD. ESSA DIFERENÇA PODE INDICAR

UMA SENSIBILIDADE MAIOR DA CONFORMAÇÃO EM RESPOSTA ÀS INTERAÇÕES LIGANTE-ALVO NO MODELO DO ALPHAFOLD..... 66

FIGURA 18. MÉDIAS DOS VALORES DE RAIOS DE GIRO CALCULADAS A PARTIR DE TODAS AS SIMULAÇÕES DE DM COM OS DIFERENTES LIGANTES. GRÁFICO DE MÉDIA DE RAIOS DE GIRO COM DESVIO PADRÃO E ERRO ASSOCIADO, ILUSTRANDO A ESTABILIDADE DAS ESTRUTURAS MODELADAS. OS VALORES DE RAIOS DE GIRO SE MOSTRAM ESTÁVEIS ENTRE 2,3 E 2,4 NM EM AMBOS OS MODELOS. NOTA-SE QUE OS ERROS SÃO BAIXOS, PORÉM LIGEIRAMENTE MAIORES EM (A) DO QUE EM (B), O QUE SUGERE UMA MAIOR FLEXIBILIDADE CONFORMACIONAL DA ESTRUTURA CONSTRUÍDA PELO ALPHAFOLD. ESSA DIFERENÇA PODE INDICAR UMA SENSIBILIDADE MAIOR DA CONFORMAÇÃO EM RESPOSTA ÀS INTERAÇÕES LIGANTE-ALVO NO MODELO DO ALPHAFOLD. 68

FIGURA 19. GRÁFICOS DE RMSD DO LIGANTE NATURAL SAM EM COMPARAÇÃO COM OS COMPOSTOS ANÁLOGOS AO LONGO DE 100 NS DE SIMULAÇÃO DE DM COM OS MODELOS ESTRUTURAIS DETERMINADOS PELO ALPHAFOLD E ROSETTAFOLD. À DIREITA ESTÃO REPRESENTADOS OS GRÁFICOS DE RMSD DO LIGANTE SAM E SEUS ANÁLOGOS COM O MODELO ESTRUTURAL DETERMINADO PELO ALPHAFOLD E À ESQUERDA PELO ROSETTAFOLD AO LONGO DE 100 NS DE SIMULAÇÃO. EM VERMELHO, GRÁFICOS COM A MÉDIA DE 100 PONTOS SOBREPÕE OS GRÁFICOS DE RMSD DE FORMA A FACILITAR A VISUALIZAÇÃO..... 70

FIGURA 20. GRÁFICOS DE RMSD DO LIGANTE NATURAL GTP EM COMPARAÇÃO COM OS COMPOSTOS ANÁLOGOS AO LONGO DE 100 NS DE SIMULAÇÃO DE DM COM OS MODELOS ESTRUTURAIS DETERMINADOS PELO ALPHAFOLD E ROSETTAFOLD. À DIREITA ESTÃO REPRESENTADOS OS GRÁFICOS DE RMSD DO LIGANTE SAM E SEUS ANÁLOGOS COM O MODELO ESTRUTURAL DETERMINADO PELO ALPHAFOLD E À ESQUERDA PELO ROSETTAFOLD AO LONGO DE 100 NS DE SIMULAÇÃO. EM VERMELHO, GRÁFICOS COM A MÉDIA DE 100 PONTOS SOBREPÕE OS GRÁFICOS DE RMSD DE FORMA A FACILITAR A VISUALIZAÇÃO..... 71

FIGURA 21. GRÁFICOS DE NÚMEROS DE CONTATOS DO LIGANTE NATURAL SAM EM COMPARAÇÃO COM OS COMPOSTOS ANÁLOGOS AO LONGO DE 100 NS DE SIMULAÇÃO DE DM COM OS MODELOS ESTRUTURAIS DETERMINADOS PELO ALPHAFOLD E ROSETTAFOLD. À DIREITA ESTÃO REPRESENTADOS OS GRÁFICOS DE NÚMERO DE CONTATOS DO LIGANTE SAM E SEUS ANÁLOGOS COM O MODELO ESTRUTURAL DETERMINADO PELO ALPHAFOLD E À ESQUERDA PELO ROSETTAFOLD AO LONGO DE 100 NS DE SIMULAÇÃO. EM VERMELHO, GRÁFICOS COM A MÉDIA DE 100 PONTOS SOBREPÕE OS GRÁFICOS DE NÚMERO DE CONTATOS DE FORMA A FACILITAR A VISUALIZAÇÃO..... 73

FIGURA 22. GRÁFICOS DE NÚMEROS DE CONTATOS DO LIGANTE NATURAL GTP EM COMPARAÇÃO COM OS COMPOSTOS ANÁLOGOS AO LONGO DE 100 NS DE SIMULAÇÃO DE DM COM OS MODELOS ESTRUTURAIS DETERMINADOS PELO ALPHAFOLD E ROSETTAFOLD. À DIREITA ESTÃO REPRESENTADOS OS GRÁFICOS DE NÚMERO DE CONTATOS DO LIGANTE GTP E SEUS ANÁLOGOS COM O MODELO ESTRUTURAL DETERMINADO PELO ALPHAFOLD E À ESQUERDA PELO ROSETTAFOLD AO LONGO DE 100 NS DE SIMULAÇÃO. EM VERMELHO, GRÁFICOS COM A MÉDIA DE 100 PONTOS SOBREPÕE OS GRÁFICOS DE NÚMERO DE CONTATOS DE FORMA A FACILITAR A VISUALIZAÇÃO..... 74

FIGURA 23. GRÁFICOS DE LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO DO LIGANTE NATURAL SAM EM COMPARAÇÃO COM OS COMPOSTOS ANÁLOGOS AO LONGO DE 100 NS DE SIMULAÇÃO DE DM COM OS MODELOS ESTRUTURAIS DETERMINADOS PELO ALPHAFOLD E ROSETTAFOLD. À DIREITA ESTÃO REPRESENTADOS OS GRÁFICOS DE LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO DO LIGANTE SAM E SEUS ANÁLOGOS COM O MODELO ESTRUTURAL DETERMINADO PELO ALPHAFOLD E À ESQUERDA PELO ROSETTAFOLD AO LONGO DE 100 NS DE SIMULAÇÃO. EM VERMELHO, GRÁFICOS COM A MÉDIA DE 100 PONTOS SOBREPÕE OS GRÁFICOS DE LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO DE FORMA A FACILITAR A VISUALIZAÇÃO..... 76

FIGURA 24. GRÁFICOS DE LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO DO LIGANTE NATURAL GTP EM COMPARAÇÃO COM OS COMPOSTOS ANÁLOGOS AO LONGO DE 100 NS DE SIMULAÇÃO DE DM COM OS MODELOS ESTRUTURAIS DETERMINADOS PELO ALPHAFOLD E ROSETTAFOLD. À DIREITA ESTÃO REPRESENTADOS OS GRÁFICOS DE LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO DO LIGANTE GTP E SEUS ANÁLOGOS COM O MODELO ESTRUTURAL DETERMINADO PELO ALPHAFOLD E À ESQUERDA PELO ROSETTAFOLD AO LONGO DE 100 NS DE SIMULAÇÃO. EM VERMELHO, GRÁFICOS COM A MÉDIA DE 100 PONTOS SOBREPÕE OS GRÁFICOS DE LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO DE FORMA A FACILITAR A VISUALIZAÇÃO..... 77

Índice de Tabelas

TABELA 1. VALORES DE RMSD DOS MODELOS SELECIONADOS DE CADA SERVIDOR.....	40
TABELA 2. PORCENTAGEM DE RESÍDUOS COM ÂNGULOS TORCIONAIS NAS DIFERENTES REGIÕES DOS GRÁFICOS DE RAMACHANDRAN	42
<i>TABELA 3. VALORES DE SCORES DE LIGAÇÃO DOS ANÁLOGOS DE SAM E GTP OBTIDOS PELA DOCAGEM MOLECULAR UTILIZANDO OS MODELOS ESTRUTURAIS DETERMINADOS PELO ALPHAFOLD E ROSETTAFOLD.....</i>	49
TABELA 4. RELAÇÃO DE DADOS FARMACOCINÉTICOS E FÍSICO-QUÍMICOS DOS COMPOSTOS ANÁLOGOS DE SAM E GTP SUBMETIDOS A ANÁLISE NO SWISSADME.....	50
TABELA 5. AVALIAÇÃO DOS COMPOSTOS EM RELAÇÃO ÀS REGRAS DE LIPINSKI, GHOSE, VEBER, EGAN E MUEGGE E NÚMERO DE VIOLAÇÕES OBSERVADAS.....	52
<i>TABELA 6. RELAÇÃO DE DADOS FARMACOCINÉTICOS E FÍSICO-QUÍMICOS DOS COMPOSTOS SAM E GTP SUBMETIDOS A ANÁLISE NO SWISSADME.....</i>	53
<i>TABELA 7. AVALIAÇÃO DOS COMPOSTOS SAM E GTP EM RELAÇÃO ÀS REGRAS DE LIPINSKI, GHOSE, VEBER, EGAN E MUEGGE E NÚMERO DE VIOLAÇÕES OBSERVADAS.....</i>	54
<i>TABELA 8. RELAÇÃO DE DADOS FÍSICO-QUÍMICOS E TOXICOLÓGICOS DOS COMPOSTOS ANÁLOGOS DE SAM E GTP SUBMETIDOS A ANÁLISE NO PKCMS.....</i>	55
<i>TABELA 9. RELAÇÃO DOS VALORES DE ENERGIA DE LIGAÇÃO TEÓRICA (ΔG_B) ENTRE OS MODELOS ESTRUTURAIS DA MTASE DO HRSV E OS LIGANTES CALCULADOS PELO MÉTODO DE MM-PBSA... </i>	79

Lista de Siglas e Abreviaturas

HRSV: *Human Respiratory Syncytial Virus (Vírus Sincicial Respiratório Humano)*

HMPV: *Human Metapneumovirus (Metapneumovírus Humano)*

RNA: *Ribonucleic Acid (Ácido Ribonucleico)*

DNA: *Deoxyribonucleic Acid (Ácido Desoxirribonucleico)*

SAM: *S-Adenosilmetionina*

GTP: *Guanosina Trifosfato*

ADN: *Adenina*

MTase: *Metiltransferase*

MM-PBSA: *Método de Energia Livre Molecular – Poisson-Boltzmann Surface Area*

RMSD: *Root Mean Square Deviation (Desvio Médio Quadrático da Raiz)*

PKCSM: *Platform for Predicting Small-Molecule Pharmacokinetics (Plataforma para Predição de Farmacocinética de Pequenas Moléculas)*

SwissADME: *Swiss Prediction of ADME Properties (Predição Suíça de Propriedades de Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção)*

NS1, NS2: *Non-Structural Proteins 1 and 2 (Proteínas Não Estruturais 1 e 2)*

TPSA: *Topological Polar Surface Area (Área de Superfície Polar Topológica)*

ΔG_B : *Energia Livre de Ligação (ΔG Bind)*

RdRP: *RNA-dependent RNA Polymerase (RNA Polimerase Dependente de RNA)*

CAP: *Estrutura de Capping no RNA mensageiro*

PDB: *Protein Data Bank (Banco de Dados de Proteínas)*

Sumário

1. Introdução.....	14
1.1. Introdução.....	15
1.2. Epidemiologia e Impacto do Vírus Sincicial Respiratório Humano (HRSV).....	16
1.3. Disseminação, Patogênese e Fatores de Risco	17
1.4. Tratamento e Perspectivas Futuras.....	19
1.5. Classificação e Estrutura Viral.....	20
2. Objetivos.....	27
2.1. Objetivos Específicos	28
3. Metodologia	30
3.1. Modelagem Estrutural	31
3.2. Simulações de Dinâmica Molecular dos Modelos.....	31
3.3. Triagem Virtual de Compostos	33
3.4. Análise Físico-Química dos Compostos	34
3.5. <i>Docking</i> Molecular.....	34
3.6. Cálculo de Energia Livre de Ligação	35
4. Resultados e Discussões	37
4.1. Modelagem	38
4.2. Simulações de Dinâmica molecular.....	43
4.3. Filtragem de ligantes e <i>Docking</i> Molecular	48
4.4. Ensaios de Dinâmica Molecular com os Complexos Formados	65
5. Conclusão.....	81
5.1. Conclusão Geral	82
6.Referências.....	83
6.1. Referências bibliográficas	84
7. Anexos.....	90
7.1. Anexo 1.....	91

1. Introdução

1.1. Introdução

O Vírus Sincicial Respiratório humano (HRSV, do inglês Human Respiratory Syncytial Virus) é um patógeno viral de grande importância médica, sendo um dos principais agentes causadores de doenças respiratórias agudas, tais como bronquiolite e pneumonia em crianças em todo o mundo. Esse vírus também é responsável pela morbidade respiratória em idosos, pessoas imunocomprometidas e com doenças cardiorrespiratórias. O principal grupo de risco relacionado com o HRSV é formado por crianças que apresentam imunodeficiência congênita, displasia broncopulmonar, doença cardíaca, hipertensão, prematuridade e baixo peso no nascim(MORRIS; BLOUNT; SAVAGE, 1956)ento (FALSEY, 2005; HALL et al., 2009; PL; JEJ, 2007; RICCETTO et al., 2009).

No ano de 1955, uma epizootia respiratória caracterizada por tosse, espirro e secreção mucopurulenta foi relatada em uma colônia de aproximadamente 20 chimpanzés no *Walter Reed Army Institute of Research (WRAIR) Washington, D.C, USA*. Foi isolado pela primeira vez, a partir de um *swab* de garganta de um chimpanzé fêmea, o Vírus Sincicial Respiratório (RSV), chamado neste momento de Agente da Coriza do Chimpanzé (*Chimpanzee Coryza Agent – CCA*) (MORRIS; BLOUNT; SAVAGE, 1956). Nos anos seguintes, esse vírus também foi isolado em bebês com doenças respiratórias graves (CHANOCK; FINBERG, 1957; CHANOCK; ROIZMAN; MYERS, 1957) e, desde então, demonstrou-se um patógeno ubíquo que infecta quase todas as crianças até os 2 anos de idade, com metade delas apresentando ao menos duas infecções durante esse período (GLEZEN et al., 1986). A partir de seu isolamento em 1956 o agente passou a ser denominado Vírus Sincicial Respiratório Humano (HRSV) por refletir seu tropismo quase que exclusivo pelo trato respiratório humano e sua capacidade de formar sincícios em culturas celulares (MORRIS; BLOUNT; SAVAGE, 1956).

No Brasil, o vírus foi isolado pela primeira vez em 1964 por Candeias, em um estudo com um grupo de 24 crianças que apresentavam quadros respiratórios graves, como bronquiolite e broncopneumonia em um hospital da cidade de São Paulo (CANDEIAS, 1967). Quatro amostras obtiveram sucesso no isolamento viral em culturas de células HeLa, apresentando efeito citopático ao fim do 7º dia e todas foram neutralizadas pelo soro homólogo padrão, confirmando a infecção por HRSV (CANDEIAS, 1967).

Um levantamento realizado em 2015 revelou que ocorreram cerca de 3,2 milhões de hospitalizações, das quais 59.600 crianças menores de cinco anos morreram devido à infecção por HRSV (SHI et al., 2017). Vale ressaltar que apesar de sua importância pediátrica, o vírus também acomete adultos, principalmente idosos e imunocomprometidos (FALSEY, 2005). Recentemente, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária no Brasil aprovou a vacina Arexvy, da empresa GlaxoSmith Kline, indicada para prevenção da doença do trato respiratório inferior causada pelo HRSV para uso em adultos com 60 anos de idade ou mais (GOV, 2023; Consultas - ANVISA, 2023). Entretanto, ainda não há uma vacina para imunização de recém-nascidos e crianças aprovada no Brasil. Já com relação a medicamentos, o único tratamento licenciado comumente oferecido é o anticorpo monoclonal direcionado à proteína de fusão F, Palivizumab, que é administrado às crianças de alto risco durante a estação de maior incidência de infecções, reduzindo a ocorrência da forma mais severa da doença. No entanto, esse medicamento é de alto custo e tem apresentado reações adversas (MORRIS et al., 2009b).

Os sintomas clínicos comumente observados da infecção por HRSV, semelhante a outras doenças do trato respiratório inferior, emergem principalmente como resultado da obstrução das vias aéreas, onde resíduos celulares inflamatórios, fibrina, agregados linfóides e muco levam a um fluxo aéreo restrito que resultam em sibilância e hipoxia (JOHNSON et al., 2007).

1.2. Epidemiologia e Impacto do Vírus Sincicial Respiratório Humano (HRSV)

O Vírus Sincicial Respiratório humano (HRSV) continua sendo um desafio significativo para a saúde pública, afetando predominantemente o trato respiratório e apresentando uma incidência sazonal com maior prevalência durante os meses de outono e inverno em regiões de clima temperado. A identificação do vírus em 1956 por Chanock e colaboradores marcou o início de décadas de investigações dedicada à compreensão da sua biologia e patogênese, bem como ao desenvolvimento de estratégias eficazes de prevenção e tratamento (CHANOCK; FINBERG, 1957; CHANOCK; ROIZMAN; MYERS, 1957).

Nos últimos anos, estudos epidemiológicos destacaram a importância do HRSV como uma das principais causas de infecções respiratórias agudas em crianças, particularmente nos países em desenvolvimento, onde a falta de recursos adequados

para diagnóstico e tratamento contribui para uma taxa de mortalidade ainda mais alarmante (WHO, 2017). Dados do Ministério da Saúde no Brasil revelam uma carga significativa de síndrome respiratória aguda grave (SARS) causada por HRSV, especialmente em crianças menores de quatro anos de idade, destacando a necessidade contínua de vigilância e intervenção eficaz (GOV — Ministério da Saúde”, [s.d.]).

Além disso, estudos epidemiológicos globais demonstraram que as epidemias do Vírus Sincicial Respiratório humano (HRSV) coincidem frequentemente com epidemias de gripe, destacando a importância de abordagens abrangentes de controle e prevenção para reduzir a morbidade e mortalidade associadas às infecções virais respiratórias (SHI et al., 2017; THOMPSON et al., 2003).

1.3. Disseminação, Patogênese e Fatores de Risco

A disseminação do HRSV ocorre principalmente a partir de três principais vias: grandes partículas ou gotículas de muco ou saliva, autoinoculação por toque em superfícies contaminadas e inalação de pequenas partículas. Estas rotas de transmissão direta e indireta contribuem para a propagação eficiente do vírus na comunidade (HALL et al., 1981, 2009). O HRSV é altamente contagioso e pode sobreviver em superfícies por várias horas, facilitando sua transmissão em ambientes comunitários e hospitalares (GRIFFITHS; DREWS; MARCHANT, 2017).

Uma vez dentro do organismo, o HRSV inicia sua replicação no epitélio das vias aéreas superiores e posteriormente se espalha para o trato respiratório inferior, onde a replicação viral é mais eficiente. A formação de sincícios entre células hospedeiras é uma característica marcante na patogênese do HRSV, levando à inflamação grave das vias aéreas e, em alguns casos, à obstrução das vias aéreas inferiores, principalmente em indivíduos imunocomprometidos ou com doenças pulmonares pré-existentes (DEVINCENZO et al., 2010; HEWITT et al., 2015).

A resposta imunológica ao HRSV envolve tanto a imunidade inata quanto a adaptativa. Inicialmente, a infecção viral é detectada por células epiteliais respiratórias e células imunológicas residentes, como macrófagos e células dendríticas. Estas células reconhecem componentes virais através de receptores de reconhecimento de padrão (PRRs), como os Toll-like receptors (TLRs) e os receptores do tipo RIG-I, que desencadeiam a produção de citocinas pró-inflamatórias e interferons (GOMEZ et al., 2014; JUNG; KIM; LEE, 2020; LUKACS et al., 2006; TALEB et al., 2018). Estes

mediadores inflamatórios recrutam células imunológicas adicionais para o local da infecção, incluindo neutrófilos, linfócitos T e células natural killer (NK).

Os linfócitos T CD8+ desempenham um papel crucial na eliminação de células infectadas pelo vírus, enquanto os linfócitos T CD4+ auxiliam na coordenação da resposta imunológica, promovendo a produção de anticorpos pelas células B e a ativação de macrófagos. No entanto, uma resposta imunológica mal orquestrada contribui ativamente para a patogênese da doença. De fato, estudos em modelos animais demonstraram que a depleção de células T CD4+ pode atenuar a inflamação pulmonar induzida pelo HRSV, sugerindo que a resposta exagerada de células T CD4+ pode atuar diretamente no agravamento dos danos teciduais causados pela infecção (COLLINS; GRAHAM, 2008; JOHNSON et al., 2007).

Além disso, mesmo uma resposta imunológica adaptativa ao HRSV pode ser insuficiente para conferir imunidade duradoura aos indivíduos. A produção de anticorpos neutralizantes específicos contra o HRSV é geralmente modesta e a memória imunológica gerada após a infecção primária pode não ser robusta o suficiente para prevenir infecções subsequentes, resultando em reinfecções frequentes ao longo da vida (COLLINS; GRAHAM, 2008).

Fatores de risco como idade e estado imunológico desempenham um papel crucial na suscetibilidade e gravidade das infecções por HRSV. A diminuição dos títulos de anticorpos maternos após os primeiros meses de vida coloca particularmente as crianças em risco de desenvolverem formas graves da doença do trato respiratório inferior após a primeira infecção por HRSV (KAMPMANN et al., 2023; OPENSHAW et al., 2017). Embora adultos geralmente apresentem quadros mais leves da infecção, indivíduos idosos e/ou imunocomprometidos continuam vulneráveis a complicações graves da doença (FALSEY et al., 2008; OTHUMPANGAT et al., 2009). Vale ressaltar que co-infecções com outros patógenos respiratórios bem como predisposições genéticas específicas também influenciam a gravidade da doença (LEHTINEN et al., 2006). Além disso, fatores ambientais e socioeconômicos, como viver em ambientes superlotados, exposição a poluentes, hábitos tabagistas entre outros, também podem aumentar a vulnerabilidade ao HRSV (ROBERTSON et al., 2005).

1.4. Tratamento e Perspectivas Futuras

Atualmente, o tratamento convencional para o HRSV baseia-se principalmente em medidas de suporte, como administração de corticosteróides, broncodilatadores e oxigenoterapia. No entanto, a eficácia destas intervenções é limitada e, dessa forma, urge o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas para combater a infecção pelo HRSV. Pesquisas recentes concentraram-se no desenvolvimento de terapias antivirais direcionadas especificamente ao HRSV, incluindo o uso de inibidores da replicação viral e anticorpos monoclonais. Medicamentos como Virazol (ribavirina) e Synagis (palivizumab) demonstraram benefícios clínicos, mas continuam a apresentar desafios em termos de eficácia, custo e administração (COLLINS; MURPHY, 2006; SILVA et al., 2009; TALEB et al., 2018; WALSH et al., 2023).

O desenvolvimento de vacinas contra o VSR enfrenta diversos desafios, incluindo a presença de anticorpos maternos em lactentes, que podem neutralizar a resposta imunológica induzida pela vacina (COLLINS; MURPHY, 2006; KAMPMANN et al., 2023; TALEB et al., 2018). Além disso, a imaturidade do sistema imunológico em recém-nascidos e a possibilidade de potenciação da doença induzida pela vacina (VAERD) são barreiras adicionais (DELGADO; POLACK, 2004). Diversas abordagens têm sido exploradas para desenvolver uma vacina eficaz contra o HRSV. Essas incluem o uso de vacinas de subunidade, vacinas de vírus atenuado, vacinas de vetores virais e vacinas baseadas em partículas semelhantes a vírus (VLPs) (COLLINS; MURPHY, 2006; SILVA et al., 2009; TALEB et al., 2018; WALSH et al., 2023). A vacinação com proteínas de fusão prefusionadas (F) tem mostrado um potencial significativo devido à sua capacidade de induzir uma resposta imunológica robusta sem os riscos associados às vacinas de vírus atenuado.

Estudos recentes destacam os avanços no desenvolvimento de vacinas contra o HRSV. Um estudo avaliou a eficácia de uma vacina baseada na proteína F prefusionada em adultos mais velhos, um grupo particularmente vulnerável ao HRSV devido à imunossenescência (PAPI et al., 2023). Os resultados demonstraram que a vacina induziu uma resposta imunológica significativa, com níveis elevados de anticorpos neutralizantes sem evidências de eventos adversos graves, indicando sua segurança e potencial eficácia nesta população. Outro estudo investigou a eficácia de uma vacina

bivalente de proteína F prefusionada administrada a gestantes para prevenir a infecção por RSV em lactentes (KAMPMANN et al., 2023). Os resultados mostraram que a vacinação materna foi bem tolerada e resultou em níveis elevados de anticorpos específicos contra o HRSV nos neonatos, oferecendo proteção passiva durante os primeiros meses de vida, quando os bebês são mais vulneráveis à infecção viral.

As investigações em andamento fornecem informações importantes sobre os mecanismos de replicação viral e resposta imunológica à infecção pelo HRSV, o que pode levar ao desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas e vacinas mais eficazes. Novas estratégias, incluindo o desenvolvimento de vacinas dirigidas a diferentes grupos populacionais, são também uma prioridade para reduzir o fardo das doenças associadas ao HRSV e melhorar a saúde populacional (COCKERILL; GOOD; MATHEWS, 2019; FALSEY et al., 2008; GIRMA, 2024; KAMPMANN et al., 2023; PAPI et al., 2023).

Em resumo, o HRSV continua sendo um importante desafio para a saúde pública, exigindo uma abordagem integrada e multidisciplinar envolvendo investigação básica, clínica e epidemiológica. Os investimentos contínuos em pesquisa e desenvolvimento são essenciais para alavancar a compreensão e controle desta infecção viral e melhorar os resultados clínicos e a qualidade de vida dos pacientes afetados.

1.5. Classificação e Estrutura Viral

O HRSV é classificado como membro da ordem *Mononegavirales*, a qual possui outros representantes de importância médica, como o vírus da raiva (família *Rhabdoviridae*) e o vírus Ebola (família *Filoviridae*). Está incluso na família *Pneumoviridae*, que apresenta dois gêneros: o Metapneumovirus que infectam mamíferos e pássaros; e o Orthopneumovirus, ao qual pertence o Vírus Sincicial Respiratório, da espécie Orthopneumovirus humano. Dentro da espécie tem-se também o Orthopneumovirus bovino e o Orthopneumovirus murino (KING et al., 2012).

Trata-se de um vírus de RNA de fita simples e polaridade negativa, não segmentado e acondicionado em um envelope lipídico. Seu genoma é composto por 15.222 nucleotídeos organizado em 10 genes que obedecem a seguinte ordem: 3' – NS1 – NS2 – N – P – M – SH – G – F – M2 – L – 5'. Cada um dos 10 genes codificados pelo HRSV contém uma ORF (Open Reading Frame), com exceção de M2 que possui duas,

codificando as proteínas M2-1 e M2-2, totalizando 11 proteínas codificadas pelo vírus, entre proteínas estruturais e não estruturais (GOULD; EASTON, 2007; HUANG; WERTZ, 1982).

No envelope viral, derivado da membrana plasmática da célula hospedeira por brotamento, encontram-se três glicoproteínas de superfície que formam projeções semelhantes a espículas de 10-14 nm de comprimento e 8-11 nm de espaçamento entre si (COLLINS, [s.d.]; PL; JEJ, 2007). São elas a proteína de adesão (G), a proteína de fusão (F) e a pequena proteína hidrofóbica (SH).

Na face interna do envelope viral, encontra-se a proteína de matriz (M) que possui 256 resíduos de aminoácidos e desempenha papel-chave na montagem e liberação viral através da formação de um endoesqueleto helicoidal que fornece suporte para o complexo ribonucleoproteico (RNP) e as glicoproteínas do envelope viral também organizadas de forma helicoidal (GHILDYAL et al., 2002, 2005).

O nucleocapsídeo presente nos vírions do HRSV é composto pelo RNA genômico associado às proteínas N, P, L e M2-1 (COLLINS, 1991; PL; JEJ, 2007). A proteína nucleocapsídica N, de 391 resíduos de aminoácidos e massa molecular de 43,4 kDa, é central nesse processo, estando associada ao RNA genômico e desempenhando papel fundamental na estruturação do nucleocapsídeo (COLLINS, 1991; PL; JEJ, 2007). O complexo proteína N-RNA, essencial para a síntese de RNA viral, desempenha múltiplas funções, incluindo a prevenção de estruturas secundárias na molécula de RNA e a proteção contra a degradação por nucleases (COWTON; MCGIVERN; FEARNES, 2006).

A interação dessas proteínas com o RNA viral é suficiente para iniciar a replicação do material genético (COLLINS; HUANG; WERTZ, 1984; YU; HARDY; WERTZ, 1995). Contudo, a presença da proteína M2-1 é indispensável para uma transcrição eficiente do genoma pela RNA polimerase viral haja visto que a M2-1 atua na transcrição como um fator de processamento e antiparada e M2-2 age como um “interruptor” molecular entre a transcrição e replicação viral (ASENJO; VILLANUEVA, 2016; BERMINGHAM; COLLINS, 1999; LAMB; PARKS, 2007; SPANN et al., 2004).

Por sua vez, a fosfoproteína P, com 241 resíduos de aminoácidos e massa molecular de aproximadamente 35 kDa, desempenha um papel vital na transcrição e replicação do HRSV (COLLINS, 1991; SIMABUCO et al., 2011a, 2011b). Constituinte da polimerase viral, a proteína P parece facilitar a interação entre a proteína L (polimerase)

e o complexo proteína N-RNA, como observado em vírus relacionados (TRAN et al., 2007).

Há também duas proteínas não estruturais, NS1 e NS2, com 139 e 124 resíduos de aminoácidos, respectivamente, que atuam na resposta imunológica do hospedeiro agindo como antagonistas de interferons (INF) tipo I e III, suprimindo a resposta imunológica do hospedeiro ao inibir a atuação de múltiplas proteínas ligadas à cascata de sinalização disparada pelo reconhecimento de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), ganhando tempo para uma replicação viral efetiva. (GIRMA, 2024; LUKACS et al., 2006; SPANN et al., 2004).

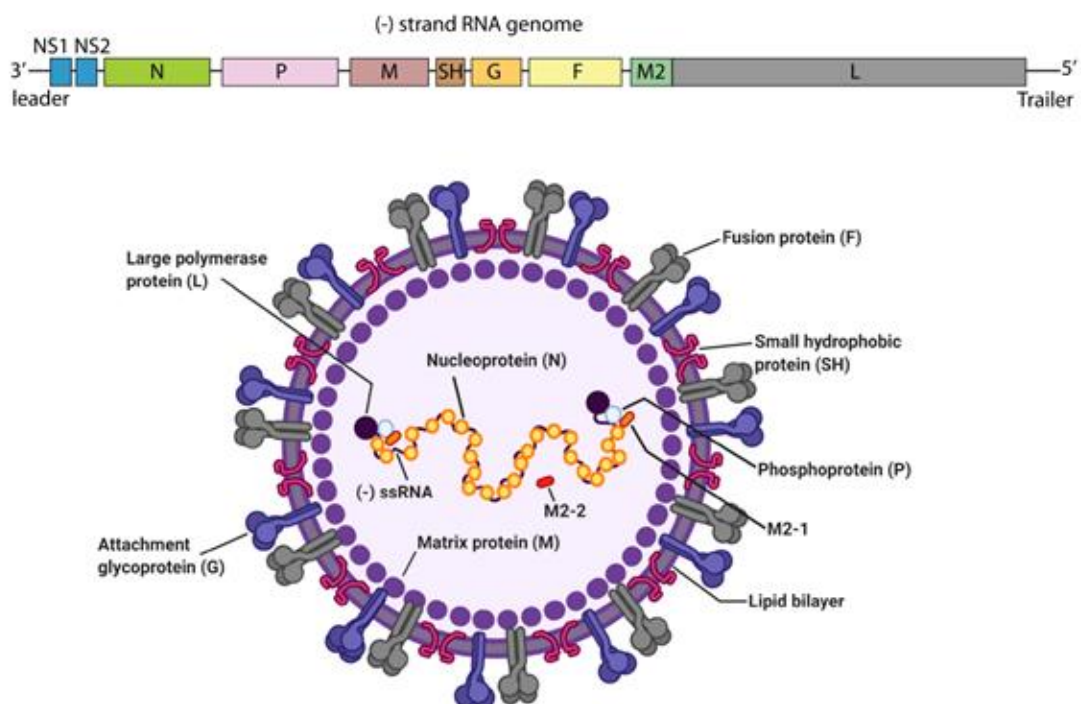


Figura 1. Representação esquemática do HRSV apresentando a organização genômica e estrutura viral com suas 9 proteínas estruturais.

Fonte: Adaptado de JUNG; KIM; LEE, 2020.

Já a RNA polimerase (proteína L) do HRSV, sua maior proteína com 2165 resíduos de aminoácidos e foco deste trabalho, é crucial para a replicação do genoma viral e transcrição do RNA mensageiro viral. Desempenhando dois papéis distintos, não apenas polimeriza o RNA, mas também sintetiza estruturas CAP5' metiladas (RAHMEH et al., 2010). Em organismos eucarióticos, a adição da estrutura CAP5' desempenha múltiplos papéis biológicos como i) proteção contra a degradação do mRNA por exonucleases 5'-

3', ii) garantia de um reconhecimento eficiente do mRNA por fatores de iniciação de tradução, iii) direcionamento de *splicing* do pré-RNA mensageiro e exportação para fora do núcleo, e iv) reconhecimento ou identificação do RNA como próprio ou estranho, incluindo transcritos virais (SUTTO-ORTIZ et al., 2021, 2023). Dessa forma a presença de uma estrutura CAP5' metilada ao RNA mensageiro viral atua como uma etiqueta de identificação que dentre outros mecanismos permite ao organismo viral camuflar a sua presença e evadir o sistema imune do hospedeiro. De fato, o CAP5' protege os RNA mensageiros contra exonucleases 5'-3' e promove o transporte e a tradução do RNA, enquanto a metilação 2'O impede a detecção por sensores de imunidade celular (DAFFIS et al., 2010; DECROLY et al., 2011; ZÜST et al., 2011).

A proteína L do HRSV é composta por seis domínios conservados (CR-I a CR-VI). Cada um desses domínios está associado a funções específicas: i) CR-I a CR-III estão relacionados à atividade de polimerase e poliadenilação; ii) CR-IV é um domínio menos caracterizado em termos de função específica, mas acredita-se que ele desempenhe um papel estrutural crucial na organização e coordenação funcional entre os domínios catalíticos da proteína L, facilitando a interação e posicionamento adequado durante o processo de replicação e transcrição do RNA viral iii) CR-V está envolvido na adição do CAP5' ao mRNA; iv) CR-VI é responsável pela metilação do CAP5'.

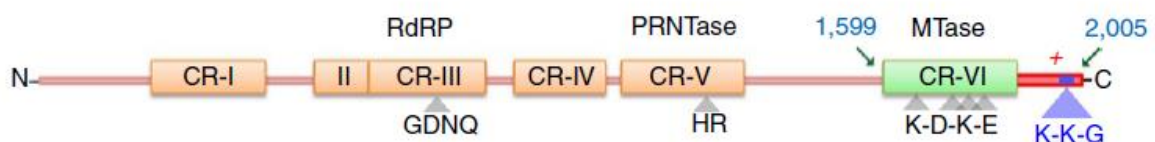


Figura 2. Organização dos domínios da proteína L do HMPV juntamente com o domínio C-terminal. Em verde está representado o domínio CR-VI, que contém o motif K-D-K-E típico de atividades 2'O-Mtases. O domínio C-terminal está representado em vermelho, contendo o motif K-K-G (azul). Os limites de CR-I a -V são aproximados. CR-III contém o motif assinatura GDNQ para atividades de polimerase (RdRP) e CR-V contém o motif H-R para atividades de PRNTase.

Fonte: Adaptado de PAESEN et al., 2015.

O domínio CR-VI da proteína L do HRSV apresenta uma dobra típica de metiltransferase (MTase) dependente de S-adenosilmetionina (SAM), essencial para a metilação das posições N7 e 2'O do cap do mRNA. No estudo da estrutura por raios-X de uma porção da proteína L do HMPV, que inclui o domínio CR-VI, foi identificado um

sítio de ligação a SAM e uma nova cavidade que pode acomodar um nucleosídeo (PAESEN et al., 2015b). Este domínio também exibe atividades de trifosfatase de nucleotídeos, sugerindo que o CR-VI desempenha múltiplas funções catalíticas. A sequência *motif* K-D-K-E, conservada entre as metiltransferases, facilita a transferência do grupo metil (LI et al., 2008; LIANG, 2020; SUTTO-ORTIZ et al., 2021, 2023).

Neste racional, temos que os sítios de interação da proteína L são essenciais para suas funções catalíticas e desempenho de suas atividades como polimerase. Os sítios de interação presentes neste domínio incluem: i) sítio de ligação a SAM, crucial para a metilação; ii) nova cavidade, acomoda nucleosídeos durante o processo de metilação; e iii) sítio de fosfodiesterase, facilita a atividade trifosfatase.

O processo de adição do CAP5' envolve a adição cotranscricional de uma guanossina (G) ao primeiro nucleotídeo (N₁) da cadeia de RNA nascente por meio de uma ponte trifosfato 5'-5', resultando em uma estrutura GpppN₁. Normalmente, isso é seguido pela metilação do nitrogênio 7 (N7) da guanossina, dando origem a mGpppN₁, e do oxigênio 2' (2'O) da ribose N₁ (mGpppN_{1m}). O processo de metilação do CAP5' é catalisado pelo domínio metiltransferase (MTase) da proteína L dependente do cofator S-adenosilmetionina (SAM), que ao se posicionar ao lado do átomo alvo no RNA (substrato), permite a transferência direta de um grupamento metil, convertendo o SAM em S-adenosilomocisteína (SAH) (PAESEN et al., 2015a). Dada a importância deste mecanismo na infecção viral, este contexto revela na proteína L da HRSV tanto diretamente por sua atividade de síntese de RNA bem como sua atividade como MTase um alvo promissor para o desenvolvimento de fármacos antivirais com alta especificidade.

A proteína L do HMPV, um ortólogo próximo do HRSV, cuja estrutura já é conhecida pelo método de difração de raios-X, compartilha muitas similaridades estruturais e funcionais com a proteína L do HRSV. O domínio CR-VI do HMPV também contém a sequência *motif* K-K-G, que lembra o *motif* de guanililtransferase (GTase) dos eucariotos, sugerindo que esses vírus podem usar uma atividade GTase para a adição de CAP (SUTTO-ORTIZ et al., 2021, 2023). Apesar das semelhanças estruturais e funcionais entre estas proteínas ortólogas, a estrutura cristalina do domínio CR-VI+ do HMPV revelou um mecanismo de metilação sequencial onde a 2'O-metilação precede a N7-metilação, uma ordem também observada no vírus da estomatite vesicular (VSV), que difere mecanisticamente do HRSV, mas ainda fornece insights valiosos sobre a estrutura

e mecanismos envolvidos no processo de replicação viral (RAHMEH et al., 2010; SUTTO-ORTIZ et al., 2021). De fato, estudos comparativos entre as proteínas L do HRSV e HMPV destacam semelhanças evolutivas preservadas como a conservação de seus domínios funcionais, sítios de ligação e atividades enzimáticas (KING et al., 2012; PL; JEJ, 2007; SILVA et al., 2009). Na Figura 3, é apresentada uma comparação entre os dois domínios CR-VI, evidenciando tanto a conservação de resíduos como a distribuição de cargas na superfície, informações que fundamentam os estudos de ligação ao SAM e ao substrato. Essas comparações são fundamentais para entender a funcionalidade das proteínas L e identificar alvos para o desenvolvimento de inibidores antivirais específicos, destacando a importância dos sítios de interação como pontos críticos para intervenções terapêuticas no combate às infecções virais.

Neste contexto, este trabalho teve por objetivo contribuir com a busca por ligantes como potenciais candidatos antivirais especificamente que tenham como alvo os sítios de ligação de substrato (RNA) e de cofator catalítico (SAM) do domínio metiltransferase (MTase) da RNA polimerase do Vírus Sincicial Respiratório humano a partir de abordagens computacionais usando ferramentas de modelagem, *docking* e dinâmica molecular, assim como cálculos de energia livre de ligação teórica via MM-PBSA.

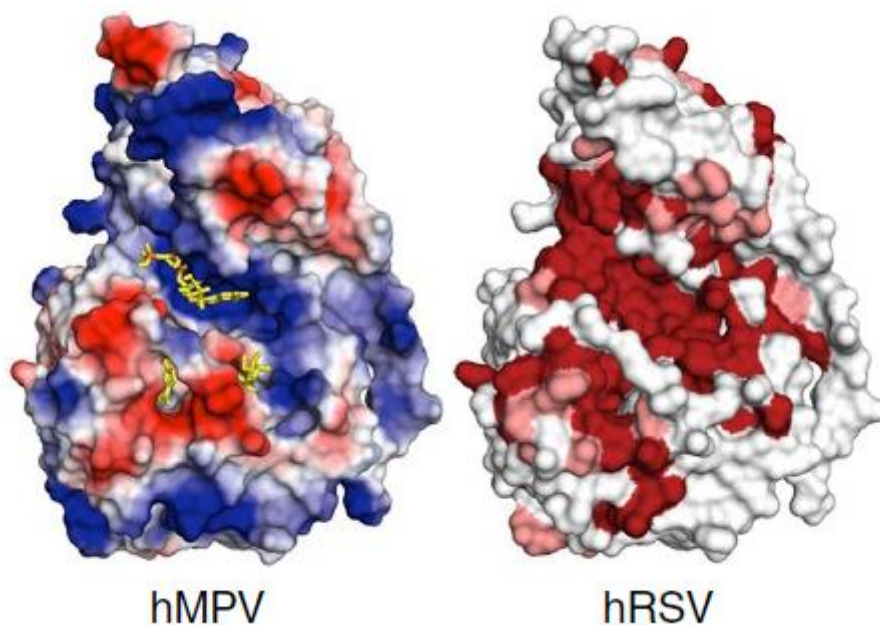


Figura 3. Comparação entre os domínios CR-VI + C-terminal do HMPV e HRSV em torno dos sítios de ligação do substrato e do cofator catalítico (SAM). À esquerda, o modelo do HMPV, baseado na estrutura cristalográfica determinada por difração de raios-X (PDB: 4UCI), apresenta a distribuição de cargas na superfície (azul: cargas positivas; vermelho: cargas negativas), com os ligantes representados em amarelo. À direita, o modelo do HRSV, gerado por homologia, exibe resíduos conservados destacados em vermelho escuro (idênticos) e rosa (semelhantes), permitindo a comparação entre os dois modelos quanto à conservação estrutural e funcional do domínio.

Fonte: Adaptado de PAESEN et al., 2015.

6.Referências

6.1. Referências bibliográficas

Anvisa aprova registro de primeira vacina para bronquiolite — Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2023/anvisa-aprova-registro-de-primeira-vacina-para-bronquiolite>>. Acesso em: 20 nov. 2024.

ASENJO, A.; VILLANUEVA, N. Phosphorylation of the human respiratory syncytial virus P protein mediates M2-2 regulation of viral RNA synthesis, a process that involves two P proteins. **Virus Research**, v. 211, p. 117–125, 4 jan. 2016.

BAEK, M. et al. Accurate prediction of protein structures and interactions using a three-track neural network. **Science**, v. 373, n. 6557, p. 871–876, 20 ago. 2021.

BERMINGHAM, A.; COLLINS, P. L. The M2-2 protein of human respiratory syncytial virus is a regulatory factor involved in the balance between RNA replication and transcription. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 96, n. 20, p. 11259–11264, 28 set. 1999.

BIASINI, M. et al. SWISS-MODEL: modelling protein tertiary and quaternary structure using evolutionary information. **Nucleic Acids Research**, v. 42, n. W1, p. W252–W258, 1 jul. 2014.

CANDEIAS, J. A. N. Isolation of the respiratory syncytial virus from children with acute respiratory infections. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 9, n. 1, p. 27–30, 15 fev. 1967.

CHANOCK, R.; FINBERG, L. RECOVERY FROM INFANTS WITH RESPIRATORY ILLNESS OF A VIRUS RELATED TO CHIMPANZEE CORYZA AGENT (CCA): EPIDEMIOLOGIC ASPECTS OF INFECTION IN INFANTS AND YOUNG CHILDREN. **American Journal of Epidemiology**, v. 66, n. 3, p. 291–300, 1 nov. 1957.

CHANOCK, R.; ROIZMAN, B.; MYERS, R. RECOVERY FROM INFANTS WITH RESPIRATORY ILLNESS OF A VIRUS RELATED TO CHIMPANZEE CORYZA AGENT (CCA): ISOLATION, PROPERTIES AND CHARACTERIZATION. **American Journal of Epidemiology**, v. 66, n. 3, p. 281–290, 1 nov. 1957.

COCKERILL, G. S.; GOOD, J. A. D.; MATHEWS, N. **State of the Art in Respiratory Syncytial Virus Drug Discovery and Development.** **Journal of Medicinal Chemistry** American Chemical Society, , 11 abr. 2019.

COLLINS, P. L. The Molecular Biology of Human Respiratory Syncytial Virus (RSV) of the Genus Pneumovirus. **The Paramyxoviruses**, p. 103–162, 1991.

COLLINS, P. L. **The Molecular Biology of Human Respiratory Syncytial Virus (RSV) of the Genus Pneumovirus.** [s.l: s.n.].

COLLINS, P. L.; GRAHAM, B. S. Viral and Host Factors in Human Respiratory Syncytial Virus Pathogenesis. **Journal of Virology**, v. 82, n. 5, p. 2040–2055, mar. 2008.

COLLINS, P. L.; HUANG, Y. T.; WERTZ, G. W. Identification of a tenth mRNA of respiratory syncytial virus and assignment of polypeptides to the 10 viral genes. **Journal of virology**, v. 49, n. 2, p. 572–578, fev. 1984.

COLLINS, P. L.; MURPHY, B. R. **Vaccines against Human Respiratory Syncytial Virus. Perspectives in Medical Virology**, 2006.

Consultas - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <<https://consultas.anvisa.gov.br/#/medicamentos/3602487?nomeProduto=Arexvy>>. Acesso em: 20 nov. 2024.

COWTON, V. M.; MCGIVERN, D. R.; FEARN, R. **Unravelling the complexities of respiratory syncytial virus RNA synthesis. Journal of General Virology**, jul. 2006.

DAFFIS, S. et al. 2'-O methylation of the viral mRNA cap evades host restriction by IFIT family members. **Nature** **2010 468:7322**, v. 468, n. 7322, p. 452–456, 17 nov. 2010.

DAINA, A.; MICHIELIN, O.; ZOETE, V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. **Scientific Reports** **2017 7:1**, v. 7, n. 1, p. 1–13, 3 mar. 2017.

DARDEN, T.; YORK, D.; PEDERSEN, L. Particle mesh Ewald: An N·log(N) method for Ewald sums in large systems. **The Journal of Chemical Physics**, v. 98, n. 12, p. 10089–10092, 15 jun. 1993.

DECROLY, E. et al. Conventional and unconventional mechanisms for capping viral mRNA. **Nature Reviews Microbiology** **2011 10:1**, v. 10, n. 1, p. 51–65, 5 dez. 2011.

DELGADO, M. F.; POLACK, F. P. Involvement of antibody, complement and cellular immunity in the pathogenesis of enhanced respiratory syncytial virus disease. **Expert review of vaccines**, v. 3, n. 6, p. 693–700, dez. 2004.

DEVINCENZO, J. P. et al. Viral Load Drives Disease in Humans Experimentally Infected with Respiratory Syncytial Virus. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 182, n. 10, p. 1305, 15 nov. 2010.

EGAN, W. J.; MERZ, K. M.; BALDWIN, J. J. Prediction of drug absorption using multivariate statistics. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, n. 21, p. 3867–3877, 19 out. 2000.

FALSEY, A. R. Respiratory syncytial virus infection in elderly and high-risk adults. **Experimental Lung Research**, v. 31, n. SUPPL. 1, p. 77, 28 set. 2005.

FALSEY, A. R. et al. Comparison of the safety and immunogenicity of 2 respiratory syncytial virus (rsv) vaccines--nonadjuvanted vaccine or vaccine adjuvanted with alum--given concomitantly with influenza vaccine to high-risk elderly individuals. **The Journal of infectious diseases**, v. 198, n. 9, p. 1317–1326, 1 nov. 2008.

GHILDYAL, R. et al. Respiratory syncytial virus matrix protein associates with nucleocapsids in infected cells. **Journal of General Virology**, v. 83, n. 4, p. 753–757, 1 abr. 2002.

GHILDYAL, R. et al. Nuclear import of the respiratory syncytial virus matrix protein is mediated by importin β 1 independent of importin α . **Biochemistry**, v. 44, n. 38, p. 12887–12895, 27 set. 2005.

GHOSE, A. K.; VISWANADHAN, V. N.; WENDOLOSKI, J. J. A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases. **Journal of Combinatorial Chemistry**, v. 1, n. 1, p. 55–68, 1999.

GIRMA, A. Biology of human respiratory syncytial virus: Current perspectives in immune response and mechanisms against the virus. **Virus Research**, v. 350, p. 199483, 1 dez. 2024.

GLEZEN, W. P. et al. Risk of Primary Infection and Reinfection With Respiratory Syncytial Virus. **American Journal of Diseases of Children**, v. 140, n. 6, p. 543–546, 1 jun. 1986.

GOMEZ, R. S. et al. **Respiratory Syncytial Virus: Pathology, therapeutic drugs and prophylaxis**. **Immunology Letters** Elsevier B.V., , 1 nov. 2014.

GOULD, P. S.; EASTON, A. J. Coupled Translation of the Second Open Reading Frame of M2 mRNA Is Sequence Dependent and Differs Significantly within the Subfamily Pneumovirinae. **Journal of Virology**, v. 81, n. 16, p. 8488, 15 ago. 2007.

GRIFFITHS, C.; DREWS, S. J.; MARCHANT, D. J. Respiratory syncytial virus: Infection, detection, and new options for prevention and treatment. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 30, n. 1, p. 277–319, 1 jan. 2017.

HALL, C. B. et al. Infectivity of respiratory syncytial virus by various routes of inoculation. **Infection and Immunity**, v. 33, n. 3, p. 779, 1981.

HALL, C. B. et al. The Burden of Respiratory Syncytial Virus Infection in Young Children. **New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 6, p. 588–598, 5 fev. 2009.

HEWITT, R. et al. The role of viral infections in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease and asthma. **Therapeutic Advances in Respiratory Disease**, v. 10, n. 2, p. 158, 1 abr. 2015.

HUANG, Y. T.; WERTZ, G. W. The genome of respiratory syncytial virus is a negative-stranded RNA that codes for at least seven mRNA species. **Journal of virology**, v. 43, n. 1, p. 150–157, jul. 1982.

ISELE-HOLDER, R. E.; MITCHELL, W.; ISMAIL, A. E. Development and application of a particle-particle particle-mesh Ewald method for dispersion interactions. **Journal of Chemical Physics**, v. 137, n. 17, 7 nov. 2012.

JOHNSON, J. E. et al. The histopathology of fatal untreated human respiratory syncytial virus infection. **Modern Pathology**, v. 20, n. 1, p. 108–119, 1 jan. 2007.

JUMPER, J. et al. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. **Nature** **2021 596:7873**, v. 596, n. 7873, p. 583–589, 15 jul. 2021.

JUNG, H. E.; KIM, T. H.; LEE, H. K. **Contribution of dendritic cells in protective immunity against respiratory syncytial virus infection**. **Viruses** MDPI AG, , 2020.

KAMPMANN, B. et al. Bivalent Prefusion F Vaccine in Pregnancy to Prevent RSV Illness in Infants. **New England Journal of Medicine**, v. 388, n. 16, p. 1451–1464, 20 abr. 2023.

- KING, A. M. Q. et al. (EDS.). Order - Mononegavirales. Em: **Virus Taxonomy**. San Diego: Elsevier, 2012. p. 653–657.
- KUMARI, R.; KUMAR, R.; LYNN, A. G-mmpbsa -A GROMACS tool for high-throughput MM-PBSA calculations. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 54, n. 7, p. 1951–1962, 28 jul. 2014.
- LAMB, R. A.; PARKS, G. D. Paramyxoviridae: the viruses and their replication. Em: FIELDS, B. N.; KNIPE, D. N.; HOWLEY, P. M. (Eds.). **Fields virology**. 5. ed. [s.l.] Lippincott, Williams, and Wilkins, 2007. p. 1449–1496.
- LEHTINEN, P. et al. Bacterial coinfections in children with viral wheezing. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 25, n. 7, p. 463, jul. 2006.
- LI, J. et al. A Conserved Motif in Region V of the Large Polymerase Proteins of Nonsegmented Negative-Sense RNA Viruses That Is Essential for mRNA Capping. **Journal of Virology**, v. 82, n. 2, p. 775–784, 15 jan. 2008.
- LIANG, B. Structures of the Mononegavirales Polymerases. **Journal of Virology**, v. 94, n. 22, p. e00175-20, 27 out. 2020.
- LIPINSKI, C. A. et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 23, n. 1–3, p. 3–25, 15 jan. 1997.
- LUKACS, N. W. et al. Differential immune responses and pulmonary pathophysiology are induced by two different strains of respiratory syncytial virus. **American Journal of Pathology**, v. 169, n. 3, p. 977–986, 1 set. 2006.
- MALDE, A. K. et al. An Automated force field Topology Builder (ATB) and repository: Version 1.0. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 7, n. 12, p. 4026–4037, 13 dez. 2011.
- MORRIS, G. M. et al. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. **Journal of Computational Chemistry**, v. 30, n. 16, p. 2785–2791, 1 dez. 2009a.
- MORRIS, J. A.; BLOUNT, R. E.; SAVAGE, R. E. Recovery of Cytopathogenic Agent from Chimpanzees with Goryza. <https://doi.org/10.3181/00379727-92-22538>, v. 92, n. 3, p. 544–549, 1 jul. 1956.
- MORRIS, S. K. et al. A meta-analysis of the effect of antibody therapy for the prevention of severe respiratory syncytial virus infection. **BMC Infectious Diseases**, v. 9, n. 1, p. 1–9, 5 jul. 2009b.
- MUEGGE, I.; HEALD, S. L.; BRITTELLI, D. Simple selection criteria for drug-like chemical matter. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, n. 12, p. 1841–1846, 7 jun. 2001.
- OPENSHAW, P. J. M. et al. Protective and Harmful Immunity to RSV Infection. **Annual review of immunology**, v. 35, p. 501–532, 26 abr. 2017.
- OTHUMPANGAT, S. et al. NGF is an essential survival factor for bronchial epithelial cells during respiratory syncytial virus infection. **PloS one**, v. 4, n. 7, 31 jul. 2009.

PAESEN, G. C. et al. X-ray structure and activities of an essential Mononegavirales L-protein domain. **Nature Communications**, v. 6, 9 nov. 2015a.

PAESEN, G. C. et al. X-ray structure and activities of an essential Mononegavirales L-protein domain. **Nature Communications** 2015 6:1, v. 6, n. 1, p. 1–10, 9 nov. 2015b.

PAPI, A. et al. Respiratory Syncytial Virus Prefusion F Protein Vaccine in Older Adults. **New England Journal of Medicine**, v. 388, n. 7, p. 595–608, 16 fev. 2023.

PIRES, D. E. V.; BLUNDELL, T. L.; ASCHER, D. B. pkCSM: Predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 58, n. 9, p. 4066–4072, 14 maio 2015.

PL, C.; JEJ, C. Respiratory syncytial virus and metapneumovirus. **Fields virology**, p. 1601–1646, 2007.

RAHMEH, A. A. et al. Molecular architecture of the vesicular stomatitis virus RNA polymerase. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 107, n. 46, p. 20075–20080, 16 nov. 2010.

RICCETTO, A. G. L. et al. Genotypes and clinical data of respiratory syncytial virus and metapneumovirus in brazilian infants: a new perspective. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 13, n. 1, p. 35–39, 2009.

ROBERTSON, S. E. et al. Respiratory syncytial virus infection: denominator-based studies in Indonesia, Mozambique, Nigeria and South Africa. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 82, n. 12, p. 914, dez. 2005.

Services – UCLA-DOE Institute. Disponível em: <<https://www.doe-mpi.ucla.edu/services/>>. Acesso em: 20 nov. 2024.

SHI, T. et al. Global, regional, and national disease burden estimates of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children in 2015: a systematic review and modelling study. **The Lancet**, v. 390, n. 10098, p. 946–958, 2 set. 2017.

SILVA, L. H. A. DA et al. Vírus Respiratório Sincicial Humano e Metapneumovírus Humano. **Clinical and Biomedical Research**, v. 29, n. 2, 24 ago. 2009.

SIMABUCO, F. M. et al. STRUCTURAL ANALYSIS OF HUMAN RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS P PROTEIN: IDENTIFICATION OF INTRINSICALLY DISORDERED DOMAINS. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 42, p. 340–345, 2011a.

SIMABUCO, F. M. et al. STRUCTURAL ANALYSIS OF HUMAN RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS P PROTEIN: IDENTIFICATION OF INTRINSICALLY DISORDERED DOMAINS. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 42, p. 340–345, 2011b.

Situação Epidemiológica — Ministério da Saúde. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/g/gripe-influenza/situacao-epidemiologica>>. Acesso em: 20 nov. 2024.

SPANN, K. M. et al. Suppression of the Induction of Alpha, Beta, and Gamma Interferons by the NS1 and NS2 Proteins of Human Respiratory Syncytial Virus in Human Epithelial Cells and Macrophages. **Journal of Virology**, v. 78, n. 8, p. 4363–4369, 15 abr. 2004.

STROET, M. et al. Automated Topology Builder Version 3.0: Prediction of Solvation Free Enthalpies in Water and Hexane. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 14, n. 11, p. 5834–5845, 13 nov. 2018.

SUTTO-ORTIZ, P. et al. The methyltransferase domain of the Respiratory Syncytial Virus L protein catalyzes cap N7 and 2'-O-methylation. **PLoS pathogens**, v. 17, n. 5, p. e1009562, 1 maio 2021.

SUTTO-ORTIZ, P. et al. **Biochemistry of the Respiratory Syncytial Virus L Protein Embedding RNA Polymerase and Capping Activities**. **VirusesMDPI**, , 1 fev. 2023.

TALEB, S. A. et al. **Human respiratory syncytial virus: pathogenesis, immune responses, and current vaccine approaches**. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases** Springer Verlag, , 1 out. 2018.

THOMPSON, W. W. et al. Mortality Associated With Influenza and Respiratory Syncytial Virus in the United States. **JAMA**, v. 289, n. 2, p. 179–186, 8 jan. 2003.

TRAN, T. L. et al. The nine C-terminal amino acids of the respiratory syncytial virus protein P are necessary and sufficient for binding to ribonucleoprotein complexes in which six ribonucleotides are contacted per N protein protomer. **The Journal of general virology**, v. 88, n. Pt 1, p. 196–206, 2007.

VEBER, D. F. et al. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 12, p. 2615–2623, 6 jun. 2002.

WALSH, E. E. et al. Efficacy and Safety of a Bivalent RSV Prefusion F Vaccine in Older Adults. **New England Journal of Medicine**, v. 388, n. 16, p. 1465–1477, 20 abr. 2023.

WHO Preferred Product Characteristics for Respiratory Syncytial Virus (RSV) Vaccines. Disponível em: <<https://www.who.int/publications/i/item/WHO-IVB-17.11>>. Acesso em: 20 nov. 2024.

YANG, J. et al. Improved protein structure prediction using predicted interresidue orientations. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 117, n. 3, p. 1496–1503, 21 jan. 2020.

YANG, J.; ZHANG, Y. I-TASSER server: new development for protein structure and function predictions. **Nucleic acids research**, v. 43, n. W1, p. W174–W181, 2015.

YU, Q.; HARDY, R. W.; WERTZ, G. W. Functional cDNA clones of the human respiratory syncytial (RS) virus N, P, and L proteins support replication of RS virus genomic RNA analogs and define minimal trans-acting requirements for RNA replication. **Journal of virology**, v. 69, n. 4, p. 2412–2419, abr. 1995.

ZÜST, R. et al. Ribose 2'-O-methylation provides a molecular signature for the distinction of self and non-self mRNA dependent on the RNA sensor Mda5. **Nature Immunology** 2011 12:2, v. 12, n. 2, p. 137–143, 9 jan. 2011.