



Explorando a Proteína E do DENV2: Mapeamento de Regiões Susceptíveis à Ligação de Compostos Bioativos na Partícula Viral

Philippe O. Fernandes^{1*} (PG), Pedro T. T. F. Leite¹ (PG), Marcelo A. Chagas² (PQ), Pedro S. Lacerda³ (PG), Marcelo S. Castilho³ (PQ), Adolfo H. Moraes⁴ (PQ), Vinícius G. Maltarollo¹ (PQ)

¹Departamento de Produtos Farmacêuticos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Brasil

²Departamento de Ciências Exatas, Universidade do Estado de Minas Gerais (UEMG), Brasil

³Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia (UFBA), Brasil

⁴Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Brasil

*philipe.of@gmail.com

RESUMO

A dengue é uma arbovirose endêmica em regiões tropicais e subtropicais, representando um importante desafio de saúde pública mundial, com aproximadamente 390 milhões de infecções e 22 mil mortes anuais. A proteína de envelope (prE) do DENV2, principal mediadora da entrada viral, destaca-se como um alvo promissor para o desenvolvimento de antivirais. Neste trabalho, identificamos regiões estruturais com elevado potencial de ligação a compostos bioativos na superfície da partícula viral madura. Nossos resultados revelaram a exposição de resíduos-chave envolvidos na interação com receptores celulares e a presença de múltiplos *hotspots* com características favoráveis à ligação de moléculas com alta afinidade. A metodologia aplicada permitiu definir uma região composta por Glu172, Glu174, Tyr178, Thr180, Lys291 e Lys295, ressaltando seu potencial como alvo para o desenvolvimento racional novos antivirais.

Palavras-chave: Dengue, Proteína E, Modelagem Molecular, Mapeamento de cavidades, Dinâmica Molecular

Introdução

A dengue é uma arbovirose endêmica em regiões tropicais e subtropicais, representando um importante desafio de saúde pública. Estima-se que ocorram cerca de 390 milhões de infecções anuais no mundo, resultando em aproximadamente 22 mil mortes (1,2). No Brasil, o ano de 2024 foi marcado pelo maior surto já registrado, com mais de 6,6 milhões de casos e seis mil óbitos confirmados. Atualmente, o tratamento permanece sintomático devido à ausência de antivirais específicos.

A proteína de envelope (prE) do DENV2, principal componente da superfície viral, desempenha papel central na entrada do vírus na célula hospedeira e é um alvo promissor para o desenvolvimento de inibidores. Embora estudos anteriores tenham explorado regiões de ligação em estruturas monoméricas e diméricas da prE, a organização icosaédrica da partícula viral madura forma bolsos únicos, ausentes nas formas isoladas. Neste estudo, buscamos mapear regiões *druggable* na superfície viral, explorando uma unidade biológica trimérica da prE.

Experimental

Dinâmica Molecular

A estrutura da partícula viral do DENV2 foi obtida a partir da entrada 3J27 do PDB, com resolução de 3,60 Å, onde foi extraída a conformação do trímero proteína E. A dinâmica molecular foi

realizada com o software AMBER16, utilizando o campo de força ff14SB. O sistema foi solvatado, neutralizado e submetidos a minimização, aquecimento, equilíbrio e produção (10 ns, NPT, 300 K e 1 bar), com restrição ao *backbone*.

A trajetória foi analisada por meio do Desvio Quadrático Médio (RMSD) e submetidas a análise hierárquica de clusters (HCA) para a escolha de conformações representativas.

Mapeamento de bolsos

As estruturas selecionadas foram submetidas a mapeamento de bolsos de ligação utilizando os servidores FTMap, E-FTMap e FTSite. Devido ao tamanho da partícula viral, foram utilizadas versões reduzidas das estruturas para maximizar a identificação de bolsos acessíveis na superfície externa.

As interações entre as sondas e a proteína foram analisadas com o Protein Ligand Interaction Profiler (PLIP), considerando diferentes tipos de interações moleculares. Por fim, os *hotspots* de ligação foram classificados em categorias *druggable* (D) e *borderline druggable* (B) com o plugin XDrugPy (3,4).

Resultados e Discussão

A simulação de dinâmica molecular do trímero permitiu a flexibilização das cadeias laterais, especialmente de Lys291, cuja orientação inicial na estrutura de Cryo-EM estava voltada para o interior da partícula viral.



Durante a simulação, os resíduos Lys291 nas cadeias A e C apresentaram conformações estáveis com a extremidade da cadeia lateral orientada para fora da partícula, enquanto a cadeia B adotou um rotâmero distinto, mas também voltado para o exterior (Figura 1).

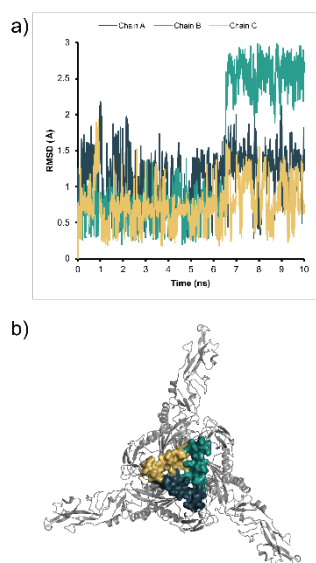


Figura 1. Dinâmica conformacional do trimer de PrE: a) RMSD do resíduo de Lys291; b) destaque em superfície da região selecionada para o mapeamento.

O mapeamento de solvente com a estrutura completa não foi eficiente devido à identificação de sítios internos inacessíveis. Para contornar essa limitação, uma estrutura reduzida foi gerada, preservando resíduos críticos de ligação a glicosaminoglicanos na porção DIII (Figura 1b). A análise de RMSD desses resíduos, combinada com HCA, indicou que dezesseis estruturas representativas foram suficientes para capturar a variabilidade conformacional do trimer. A análise das interações revelou que os resíduos Lys291, Lys295, Glu172, Glu174, Thr180 e Ser298 foram os mais frequentemente envolvidos em interações não covalentes, incluindo ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas, contatos iônicos e π -cátion. Destacam-se Lys291 e Lys295 por sua capacidade de participar simultaneamente de múltiplos tipos de interação, incluindo aquelas relevantes para a ligação a GAGs, uma etapa chave do processo de entrada viral (5).

A classificação realizada pelo XDrugPy identificou um *hotspot* do tipo *druggable* (Classe D), contendo 18 sondas, além de cinco *hotspots* *borderline* (Classe B), com 14 a 15 sondas cada (Figura 2). A análise dos resultados do FTMMap pelo XDrugPy identificou um *hotspot* de Classe D, PD-C16-T, com 18 sondas e cinco *hotspots* de Classe B contendo 14 ou 15 sondas. A dinâmica das cadeias laterais revelou comportamento intercambiável entre os bolsos. Por exemplo PD-C16-T, localizado próximo à cadeia A, também aparecendo como dois *hotspots* Classe B em diferentes conformações (PB-C2-T e PB-C6-T).

Devido à simetria do sistema, um bolso equivalente ao PD-C16-T, foi identificado em outra cadeia, apresentando uma similaridade de 0,89 (PB-C11-T). Esse bolso também compartilha características estruturais com PB-C2-T e PB-C6-T. Por fim, os bolsos PB-C2-T, PB-C3-T e PB-C10-T também ocuparam a mesma região, com alta similaridade (0,88–1,00).

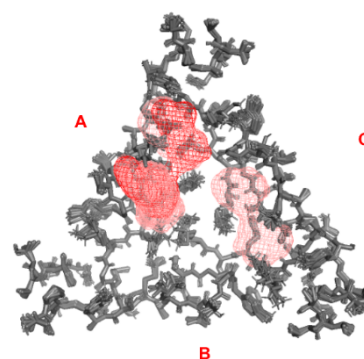


Figura 2. Sobreposição dos *hotspots* mapeados na PrE. Em vermelho o *hotspot* *druggable* e em salmão os *hotspots* *borderline*.

A sobreposição dos resultados dos diferentes protocolos indicou uma região consenso, composta por Glu172, Glu174, Tyr178, Thr180, Lys291 e Lys295, com características estruturais e funcionais favoráveis à ligação de compostos bioativos, racionalizando o potencial dessa região como alvo para o desenvolvimento racional de antivirais contra o DENV2.

Conclusões

O uso de estruturas de Cryo-EM da partícula viral permitiu identificar regiões de ligação previamente inacessíveis na prE do DENV2. Os resíduos mapeados apresentam alto potencial para interação com pequenas moléculas, sendo consistentes com regiões já descritas como críticas para entrada viral. Esses resultados oferecem uma base estrutural para o desenvolvimento de modelos farmacofóricos e a aplicação de triagens virtuais, além de possibilitar futuros estudos com inibidores conhecidos de entrada viral. Coletivamente, os resultados apresentados contribuem para o avanço de estratégias terapêuticas direcionadas à dengue.

Agradecimentos

Os autores agradecem às agências de fomento CNPq, CAPES e FAPEMIG.

Referências

1. Bhatt, S. *et al.* Nature 2013, 496 (7446), 504.
2. Sharp, T. M. *et al.* N. Engl. J. Med. 2021, 384 (23), 2257
3. Teixeira, O *et al.* J. Comput. Aided Mol. Des. 2021, 35 (8), 871
4. Kozakov, D. *et al.* J. Med. Chem. 2015, 58 (23), 9063.
5. Watterson, D.; *et al.* J. Gen. Virol. 2012, 93 (1), 72