



Universidade Federal  
de São João del-Rei

**Raphael de Oliveira Eichman Jakob**

**Desenvolvimento Racional de Antivirais contra o Coronavírus por  
Ferramentas de Bioinformática**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC-III) apresentado ao Curso de Bacharelado em Biotecnologia da Universidade Federal de São João del-Rei, Campus Dom Bosco, como parte das exigências para a obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientadora: Alex Gutterres Taranto

São João del-Rei, MG

2022

# Sumário

<b>1. Introdução e justificativa</b>	<b>4</b>
<b>2. Revisão de literatura</b>	<b>5</b>
2.1. Pandemia COVID-19	5
2.2. Imunopatogênese e desafios no tratamento da COVID-19	6
2.3. Ferramentas de Bioinformática e desenvolvimento de novos fármacos	7
<b>2.3.1. Ancoragem Molecular</b>	<b>7</b>
<b>2.3.2. Ferramentas de Bioinformática</b>	<b>8</b>
<b>3. Objetivos</b>	<b>9</b>
3.1 Objetivo Geral	9
3.2 Metas Específicas	9
<b>4. Materiais e Métodos</b>	<b>10</b>
4.1. Critério e seleção dos alvos moleculares	10
4.2. Levantamento em bancos de dados de moléculas naturais brasileiras com possível potencial de ação nos alvos moleculares selecionados	10
4.3. Triagem e seleção de moléculas com potencial de ação nos alvos moleculares selecionados	11
4.4. Preparo e ancoragem das moléculas selecionadas para medir a afinidade	12
<b>5. Resultados e Discussão</b>	<b>13</b>
<b>6. Conclusão</b>	<b>21</b>
<b>7. Referências</b>	<b>21</b>

# Resumo

O surgimento do vírus SARS-CoV-2, que rapidamente se alastrou pelo mundo, criou uma situação pandêmica nos colocando em uma fase catastrófica tanto social quanto econômica. A pandemia trouxe a necessidade de se descobrir novos fármacos efetivos, porém leva-se diversos anos para se descobrir e testar novos fármacos, sendo inviável no estado atual do mundo. A avaliação de moléculas por bioinformática é uma opção de baixo custo e alta efetividade, acelerando o processo de descoberta de novos candidatos a fármacos. O que nos leva ao objetivo deste trabalho de se utilizar ferramentas de bioinformática para testar a afinidade de moléculas naturais brasileiras com estrutura definida e estudada contra o SARS-CoV-2, com as seguintes metas de estudo: seleção de alvos, triagem dos alvos, preparo das moléculas selecionadas e ancoragem molecular. Os alvos serão selecionados no banco de moléculas naturais brasileiras NuBBE, preparados por meio da remoção de moléculas de água, moléculas com coeficiente de partição maior do que 5 e moléculas que apresentam fatores mutagênicos e tumorigênicos. Utilizando os programas Pharmit e DataWarrior. O AutoDock Vina será utilizado como ferramenta de ancoragem molecular e predição da afinidade. Assim, ao liderarmos a seleção dos 5 ligantes que apresentam as melhores afinidades com alvos moleculares, temos conhecimento de 5 moléculas com maior potencial para desenvolvimento de fármacos, que requerem testes individuais *in vitro*.

**Palavras Chave:** SARS-CoV-2, Ancoragem Molecular, Bioinformática, Triagem Virtual, Moléculas Brasileiras.

# 1. Introdução e justificativa

No final de 2019 houve o descobrimento da nova variante de um novo vírus da família de coronavírus, SARS-CoV-2, que devido às suas características de fácil disseminação acabou afetando 530 milhões de pessoas numa escala global, causando mais de 6 milhões de mortes (DONG, 2020; WORLDOMETER, 2022). Por se tratar de uma doença nova, a falta de remédios com eficácia comprovada levou a uma corrida mundial para a produção de vacinas e métodos de tratamento efetivos contra o COVID-19 (DAS, 2020). A COVID-19 teve efeitos na economia como nunca antes visto, trazendo grandes investimentos na pesquisa para desenvolvimento de tratamentos, porém ao mesmo tempo impedindo a vida normal de todo tipo de estabelecimento de pequeno porte, levando a quase 600 mil falências de empresas e milhões de pessoas passando necessidades (VIECELI, 2021).

A maioria dos fármacos atuais são baseados ou têm alguma origem em algum produto natural (BARREIRO, 2009). Com a necessidade de novos fármacos efetivos contra o COVID-19, levantou-se a possibilidade de retornar as pesquisas aos produtos naturais já conhecidos. O Brasil, sendo uma das maiores potências de biodiversidade mundial, possui um potencial imenso de descoberta de novos fármacos (BARREIRO, 2009). Além do que, os fármacos já descobertos podem ser efetivos em doenças novas, como o COVID-19, desde que estudados para reposicionamento.

Para se desenvolver um novo fármaco, em geral são investidos vários anos de tentativas, erros e muitos testes para se estudar todas as propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas, além das capacidades mutagênicas e tumorigênicas dos novos fármacos (DURDAGI, 2020).

Na situação pandêmica atual do mundo, não há tanto tempo para se realizar anos de testes, o que leva à opção de utilizar a triagem virtual para acelerar o processo, apresentando vantagens como: ferramenta poderosa e de baixo custo; facilita o entendimento da interação molecular entre os ligantes; e traz a possibilidade da identificação de novos possíveis fármacos por meio de vastos bancos de moléculas (SILVA, 2020).

A maioria das moléculas presentes em bancos de moléculas já possui estudos prévios, incluindo vários produtos naturais brasileiros, sendo possível se prever qual sua interação com o organismo e seus efeitos colaterais. Esta previsão dispensa a necessidade de realização

de repetidos testes em inúmeras moléculas, já que o escopo foi reduzido para uma maior especificidade, consequentemente reduzindo drasticamente o tempo e dinheiro gasto, além de aumentar consideravelmente as chances de sucesso (DAS, 2020).

Por isso, este trabalho tem como objetivo unir a praticidade da triagem virtual com a grande variedade disponível nos bancos de moléculas, com foco nas moléculas naturais nacionais, para descobrir possíveis inibidores da infecção por SARS-CoV-2, permitindo o desenvolvimento de tecnologias nacionais perante o mercado internacional onde nenhum fármaco realmente tem um efeito totalmente garantido contra o COVID-19.

## 2. Revisão de literatura

### 2.1. Pandemia de COVID-19

O novo coronavírus, agente causador da COVID-19 (*coronavirus disease 2019*), foi detectado no começo de março de 2019 (FAN, 2019). O contágio do SARS-CoV-2 pode tanto se dar por meio direto, transmissão entre humanos, ou indireto, por meio de objetos contaminados e permanência do vírus no ar. As gotículas respiratórias causam o contágio direto, elas geralmente não possuem uma vida longa, não são expelidas a mais de dois metros e se mantém no ar por até três horas (DOREMALEN, 2020), o que reforça a necessidade de medidas necessárias para contenção, como uma boa ventilação no ambiente e o uso apropriado de desinfetantes (LOTFI, 2020). Devido ao atraso entre a manifestação dos sintomas e o isolamento, outras medidas de contenção como máscaras, distanciamento e o *lockdown* foram necessárias, afetando a economia e a vida social (HELLEWELL, 2020).

A COVID-19 inclui um escopo de assintomáticos a casos mais graves, caracterizados pela sépsis e falha respiratória aguda, tendo como principais sintomas febre, tosse seca e falta de ar, e uma média de aparecimento dos sintomas de 5 dias após a exposição ao vírus. Aproximadamente 5% dos pacientes e 20% dos hospitalizados com COVID-19 acabam experienciando sintomas severos, necessitando de tratamento intensivo, sendo que mais de 75% dos pacientes hospitalizados necessitam de suplementação de oxigênio (WIERSING, 2020). Atualmente já foram afetadas mais de 530 milhões de pessoas numa escala global, causando mais de 6 milhões de mortes (WORLDMETER, 2022). A taxa de mortalidade do COVID-19 varia principalmente por idade, indo de 0,3 mortes para cada 1000 casos entre

jovens de 5 a 17 anos, e 304,9 mortes para cada 1000 casos entre idosos de 85 anos ou mais nos Estados Unidos, chegando a 40% de taxa de mortalidade de pacientes hospitalizados (WIERSING, 2020).

## 2.2. Imunopatogênese e desafios no tratamento da COVID-19

O SARS-CoV-2, é um vírus de RNA envelopado que diferente de outras versões conhecidas do SARS-CoV, que normalmente infectam a parte superior do trato respiratório e possuem evolução da infecção para o trato respiratório inferior, causando pneumonia e chegando a ser fatal. O SARS-CoV-2 tem como alvo as células epiteliais das vias aéreas, células epiteliais alveolares, células endoteliais vasculares e macrófagos no pulmão, todas que expressam a enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) (TAY, 2020).

A infecção do SARS-CoV-2 causa respostas inflamatórias agressivas que implicam em danos às vias respiratórias. Estas respostas inflamatórias resultam em um aumento da secreção de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas no sistema circulatório para atrair células imunes, monócitos e linfócitos T, podendo mitigar o dano causado nos pulmões. Porém, junto com os efeitos da infecção, surge um dano alveolar difuso, incluindo descamação de células alveolares, formação de uma membrana hialina e edema pulmonar. Isto limita a eficiência de troca gasosa, causando dificuldade para respirar e baixos níveis de oxigênio no sangue, além de deixar a pessoa mais vulnerável a infecções secundárias. Esta falta de ar e baixos níveis de oxigênio são responsáveis por 70% das causas de morte por COVID-19 (TAY, 2020).

O SARS-CoV-2 utiliza o sítio de ligação da proteína spike com os receptores celulares, idêntico a outras variações de coronavírus já conhecidas (V'KOVSKI, 2021). As proteínas spike da família SARS-CoV são glicoproteínas divididas em duas partes distintas, a primeira realiza a conexão ao receptor da célula, determinando a patogenicidade e o tropismo viral. A segunda parte contém o peptídeo de fusão, que irá realizar o rearranjo conformacional necessário para a fusão do vírus com a membrana celular (HUANG, 2020). Um dos receptores que o SARS-CoV-2 utiliza é o TMPRSS2 como entrada e para o *priming* (V'KOVSKI, 2021), que é uma área testada em outros SARS-CoV, tendo comprovada a efetividade de que, caso esta área seja inibida, há redução da entrada do vírus em culturas de células *in vitro* (KAWASE, 2012).

Outro possível alvo é a proteína não estrutural responsável pela endoribonuclease, a qual se encarrega da função de interferir com a resposta do sistema imune inato.

Um outro processo importante no ciclo viral do Sars-Cov-2 e possíveis alvos são as proteínas não estruturais como a endoribonuclease, responsável pela interferência na resposta do sistema imune inato para não ocorrer impedimentos na replicação viral (KIM, 2021).

Foi observado que no SARS-CoV-2, a estrutura responsável pela replicação e transcrição de seus genes é altamente similar à de outro SARS-CoV, que atingiu a população em 2002 (GAO, 2020; HILGENFELD, 2013). Esta estrutura da replicação e transcrição funciona por meio de uma polimerase dependente do RNA, que pode ser alvo de inibidores análogos de nucleosídeo (JORDAN, 2018) e ganha relevância como um alvo molecular para se trabalhar.

O último ponto essencial para todo o ciclo viral julgado como possível alvo molecular é a protease principal do Sars-Cov-2, responsável por mediar a clivagem de sítios de poliproteínas que irão gerar outras proteínas não estruturais (YOSHIMOTO, 2020), responsáveis pela maioria das outras funções, um ponto crítico para o ciclo viral (KUMAR, 2021).

## 2.3. Ferramentas de Bioinformática e desenvolvimento de novos fármacos

### 2.3.1. Ancoragem Molecular

A ancoragem molecular é um procedimento de design de fármacos baseado em suas estruturas *in silico*, ou seja, por meio de simulações computacionais. A ancoragem molecular tem como objetivo descobrir qual a interação e os processos bioquímicos de pequenas moléculas no sítio de ligação das proteínas, realizando medidas a nível atômico (MENG, 2011).

O processo de ancoragem envolve prever a posição e orientação das conformações no sítio de ligação do ligante, e medir a afinidade desta ligação da conformação no sítio (MENG, 2011). Este processo tem como base teórica que o sítio de ligação da proteína muda constantemente devido às ligações e interações com o ligante. O método mais popular de ancoragem molecular é realizar as medições tratando o ligante como flexível e o receptor como rígido, já que há um aumento de precisão em comparação com os dois rígidos. Na

ancoragem molecular não são utilizados os dois objetos de estudo flexíveis (ligante e receptor) devido à exigência de uma capacidade de processamento computacional maior do que a existente atualmente (MENG, 2011).

Existem diversos métodos de se realizar a ancoragem molecular, todos utilizando os mesmos princípios fundamentais. Sendo estes princípios executados por meio de testes de cada possibilidade disponível, movendo o ligante aleatoriamente, ou por meio do sistema definir modificações que mudarão o estado do ligante (GUEDES, 2014).

Com relação à análise de afinidade, o programa deve ser capaz de diferenciar cada estado de conformidade, e de dizer se o estado está ativo ou inativo, além de medir quanta atividade aconteceu naquele conformero (GUEDES, 2014).

### 2.3.2. Ferramentas de Bioinformática

O Protein Data Bank (PDB) é um recurso *online* aberto para se armazenar modelos estruturais de macromoléculas obtidos experimentalmente (por cristalografia de raios-X, por exemplo), sendo que o envio das estruturas estudadas para este banco digital é praticamente obrigatório para publicação de artigos, o que auxilia na divulgação de estruturas obtidas experimentalmente por meio das revistas científicas. No PDB, é atribuído um código de poucos caracteres para cada estrutura, numa tentativa de facilitar o compartilhamento e acesso de qualquer estrutura estudada (BERMAN, 2021).

Já o AutoDock Vina é uma ferramenta pensada para ter um requisito menor de conhecimento especializado. Foi desenvolvido de forma simples e otimizado para se realizar experimentos de ancoragem molecular, necessitando apenas do ligante, do alvo e a área do sítio de ligação (coordenada e dimensão). O cálculo de afinidade utiliza as ligações de hidrogênio, interações estéricas, hidrofobicidade e o número de ligações rotacionais ativas (TROTT, 2009).



## 3. Objetivos

### 3.1. Objetivo Geral

Selecionar moléculas naturais brasileiras com potencial inibitório contra o SARS-CoV-2 por meio de ferramentas de bioinformática, medindo suas respectivas afinidades e potencial de ligação a proteínas-alvo no tratamento da COVID-19.

### 3.2. Metas Específicas

- 3.2.1. Definir os critérios por meio do estudo do ciclo de replicação viral do Sars-Cov-2, buscando-se uma lista de proteínas-alvo para seleção dos alvos moleculares que possam contribuir para o tratamento da COVID-19.
- 3.2.2. Realizar o levantamento de moléculas naturais brasileiras contendo um potencial de ação nos alvos moleculares selecionados, por meio da utilização de três bancos de dados de moléculas brasileiras.
- 3.2.3. Realizar a triagem das características tumorigênicas, mutagênicas e do coeficiente de partição das moléculas com potencial de ação selecionadas.
- 3.2.4. Preparar as moléculas selecionadas separando-as em arquivos, e realizando a conversão necessária para ser feita a ancoragem que irá medir a afinidade.
- 3.2.5. Realizar o estudo de ancoragem molecular dos ligantes selecionados nos alvos selecionados e classificar os ligantes quanto ao potencial de utilização como fármacos no tratamento da COVID-19.

## 4. Materiais e Métodos

Os softwares escolhidos para utilização no estudo são disponibilizados gratuitamente, não sendo necessário nenhum tipo de licença, e requerem apenas conexão com a internet, tornando estas análises extremamente econômicas.

### 4.1 Critério e seleção dos alvos moleculares

O critério utilizado para a seleção dos alvos moleculares tem como foco as principais estruturas necessárias para infecção, atividade e replicação do vírus Sars-Cov-2. Como exemplo de alvos moleculares do Sars-Cov-2 a serem estudados pode-se citar: a protease principal, que possui a função de mediar a clivagem em diferentes áreas de poliproteínas para a geração de outras proteínas não-estruturais (KUMAR, 2021); a atividade polimerase, utilizada para a replicação do genoma e a transcrição dos genes RNA (HILLEN, 2020); a endoribonuclease, responsável pela interferência na resposta do sistema imune inato (KIM, 2021); e a proteína responsável pelo reconhecimento do receptor e o processo de fusão com a membrana celular (HUANG, 2020).

Para se ter uma base de seleção, será acessado o site DockThor, que possui um recurso específico para proteínas da COVID-19, podendo selecioná-las no modo selvagem (*wild\_type*), e fornecer as estruturas no modo de um código do Protein Data Bank (PDB) (GUEDES, 2021). As proteínas selecionadas foram a Nsp5 (6W63) da protease principal, a Nsp12-RdPr (7BV2) da atividade polimerase do RNA, a Nsp15-NendoU (6WXC) da endoribonuclease e a proteína Spike (7BZ5).

### 4.2 Levantamento em bancos de dados de moléculas naturais brasileiras com possível potencial de ação nos alvos moleculares selecionados

Ao acessar *online* o site Pharmit, inicialmente é requerida a inserção do código PDB do ligante (SUNSERI, 2016). Os respectivos códigos PDB de cada proteína selecionada serão então inseridos (6W63, 7BV2, 6WXC e 7BZ5).

Para cada código inserido, é necessário selecionar um banco de moléculas com a finalidade de se realizar a pesquisa de propriedades e características similares de cada ligante. Neste caso, o banco selecionado é o NuBBE, de moléculas naturais brasileiras. Atualmente há três versões dele inseridas no Pharmit (SUNSERI, 2016). Com o objetivo de se ter um resultado mais preciso e uma pesquisa mais robusta (PILON, 2017), estes três bancos foram utilizados (nubbe, NuBBE database e Nubbe-DB-V2).

Tendo feito as pesquisas, o download dos resultados foi realizado no formato SDF e se obteve em média 100 resultados de moléculas coletadas para cada banco de moléculas, para cada código PDB inserido.

### 4.3 Triagem e seleção de moléculas com potencial de ação nos alvos moleculares selecionados

As moléculas extraídas dos bancos de dados, que estão em formato SDF, por terem sido pesquisadas em três bancos de moléculas diferentes, possuem similaridades, resultando em diversas moléculas duplicadas ao se comparar os resultados. Então todos os resultados foram inseridos no DataWarrior, que possibilita uma visualização mais clara de todos os resultados, e que também possui uma função de encontrar e deletar moléculas duplicadas (SANDER, 2015).

Com a redução do número de moléculas presentes após a remoção das duplicatas, foi utilizada a função do DataWarrior de buscar e medir o coeficiente de partição (LogP) maior do que 5, além de exibir os fatores mutagênicos e tumorigênicos, onde todos estes anteriores foram prontamente removidos, resultando em uma redução considerável do número, porém com uma especificidade maior, e permitindo extrair todas as moléculas em um único grande arquivo com formato SDF.

## 4.4 Preparo e ancoragem das moléculas selecionadas para medir a afinidade

Com a triagem realizada, precisa-se da ancoragem, que irá testar o posicionamento das moléculas inibidoras no ligante de todas as formas possíveis, para se identificar quais são os melhores ângulos do ligante, e ranqueá-las em ordem de menor energia, em termos da melhor afinidade (TROTT, 2009).

Para se utilizar o Vina, deve-se criar um arquivo contendo tanto o ligante quanto o receptor, e delimitar a área onde ocorrerá a ligação para o computador realizar os cálculos apenas para aquela área. Caso esta área seja muito grande, podem aparecer números discrepantes com o objetivo, além de exigir um maior poder de processamento do computador e tempo de execução (TROTT, 2009).

O arquivo SDF do DataWarrior possui todas as moléculas inclusas (SANDER, 2015). Mas para utilizar o Vina, é necessário que cada molécula esteja sozinha em um arquivo exclusivo no formato PDBQT (TROTT, 2009). Portanto foi utilizado o Open Babel, um programa de conversão entre diversos formatos utilizados em química computacional e modelagem molecular (O'BOYLE, 2011), que separou e converteu o arquivo SDF para cada molécula em seu respectivo arquivo PDBQT, atingindo todos os requisitos necessários da parte das moléculas para a execução do Vina (TROTT, 2009).

As quatro proteínas-alvo ainda requerem um preparo para funcionar no Vina. Ao se utilizar o AutoDockTools do Vina, as moléculas de água foram removidas, e adicionados hidrogênios polares junto com cargas de Kollman. Então estas novas informações também foram exportadas no formato PDBQT.

Juntando todos os arquivos PDBQT em apenas uma pasta, foi executado o AutoDock Vina selecionando os ligantes e uma única proteína, o que resultou em um novo arquivo contendo todas as variações do ligante e o ranqueamento molecular por ordem de menor energia. Neste caso, a primeira molécula do arquivo é aquela que possui a melhor afinidade com a proteína (TROTT, 2009). Esta execução do Vina foi repetida para cada alvo molecular selecionado com os mesmos ligantes, e também foram selecionadas as 5 moléculas com melhor afinidade para cada alvo molecular.

## 5. Resultados e Discussão

A seleção de potenciais fármacos por meio de ferramentas de bioinformática é um método baseado em conhecimento científico acumulado, mais prático, economicamente viável e ética e ambientalmente correto. Este tipo de seleção pode acelerar significativamente o desenvolvimento de novos fármacos e reduzir o custo e o número de animais a serem utilizados em testes laboratoriais. Em situação de urgência como a população mundial apresenta diante da pandemia de COVID-19, a seleção de ligantes pode contribuir sobremaneira para o desenvolvimento de tratamentos e enfrentamento da pandemia. Portanto trazendo a seleção dos 5 ligantes que apresentam as melhores afinidades com os alvos moleculares, se tem o conhecimento de 5 fármacos com maior potencial de desenvolvimento, precisando testá-los individualmente *in vitro*.

Devido ao fato de que todos os ligantes selecionados são originados e naturais brasileiros, o resultado dos testes possibilita uma contribuição para o desenvolvimento tecnológico nacional, gerando também um potencial econômico, além de ser mais socialmente aceito, uma vez que são derivados de fontes naturais nacionais.

Uma vez que todas as proteínas possuem correlação com a COVID, os ligantes também apresentam similaridades entre as proteínas. O NuBBE\_127, seguido da ZINC000198798576 apresentaram a maior e a segunda maior afinidades com todas as quatro proteínas; o NuBBE\_46 apresentou a terceira afinidade da 6W63, 6WXC e da 7BZ5, ao mesmo tempo sendo a quarta da 7BV2; O NuBBE\_107 mostrou os mesmos resultados do anterior, possuindo a quarta melhor afinidade com o 6W63, 6WXC, 7BZ5 e tendo a quinta melhor com o 7BV2. O Quadro 1 a seguir mostra estes ligantes.

Quadro 1: Ligantes com as melhores afinidades para os alvos moleculares

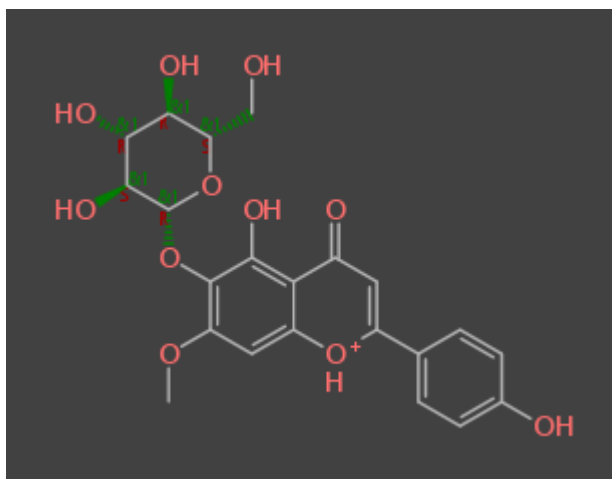
	6W63	6WXC	7BV2	7BZ5
1°	NuBBE_127	NuBBE_127	NuBBE_127	NuBBE_127
2°	ZINC000198798576	ZINC000198798576	ZINC000198798576	ZINC000198798576
3°	NuBBE_46	NuBBE_46	NuBBE_1865	NuBBE_46
4°	NuBBE_107	NuBBE_107	NuBBE_46	NuBBE_107
5°	NuBBE_1016	ZINC000026490614	NuBBE_107	ZINC000026490614

Por serem derivados de fontes naturais e nacionais, agregam uma abrangência maior de possibilidades de efeitos, tanto positivos quanto negativos. Positivamente, eles têm a capacidade de serem multifocais, em que várias proteínas alvo do SARS-CoV-2 são afetadas, facilitando o acerto. Porém essa maior abrangência também cria a possibilidade de afetarem proteínas fora das especificadas, gerando algum efeito colateral indesejado e apenas reforçando a grande necessidade dos testes *in vitro*.

As figuras 1 a 4 a seguir trazem as estruturas moleculares obtidas a partir dos principais ligantes com as proteínas apresentadas no Quadro 1.

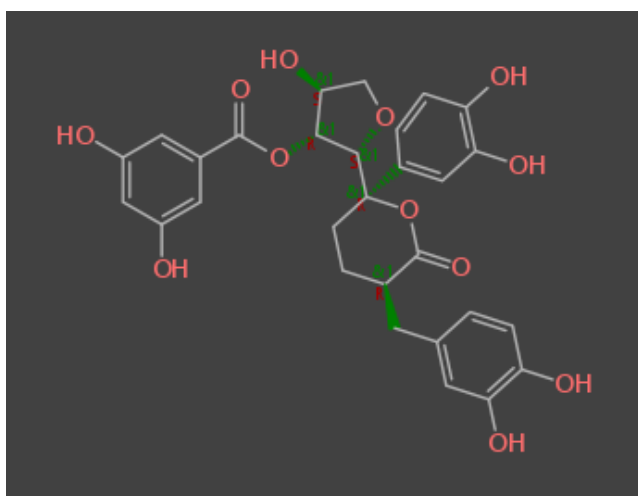
**Figura 1: Estruturas moleculares dos principais ligantes com a proteína 6W63**

a) NuBBE\_127



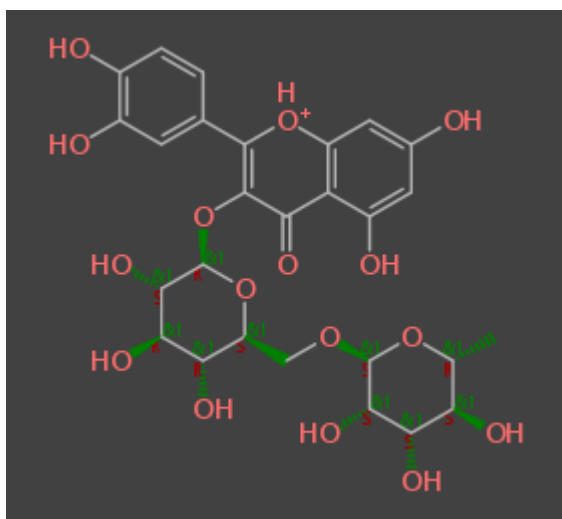
Afinidade: -17.2

b) ZINC000198798576



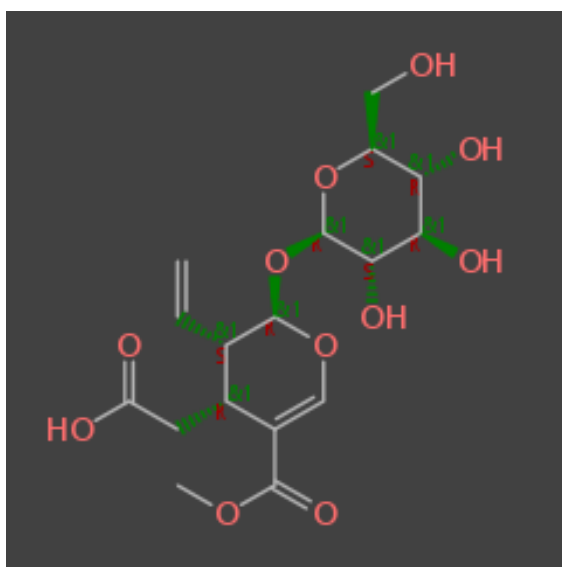
Afinidade: -14.1

c) NuBBE\_46



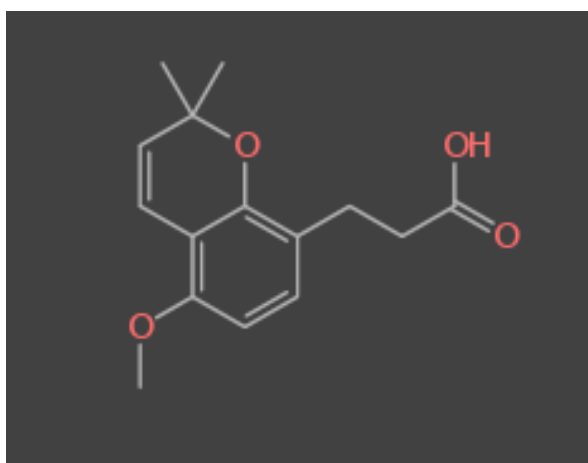
Afinidade: -13.7

d) NuBBE\_107



Afinidade: -13.7

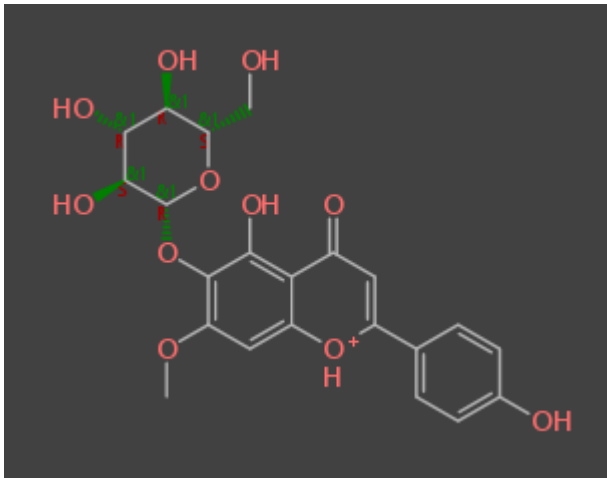
e) NuBBE\_1016



Afinidade: -12.8

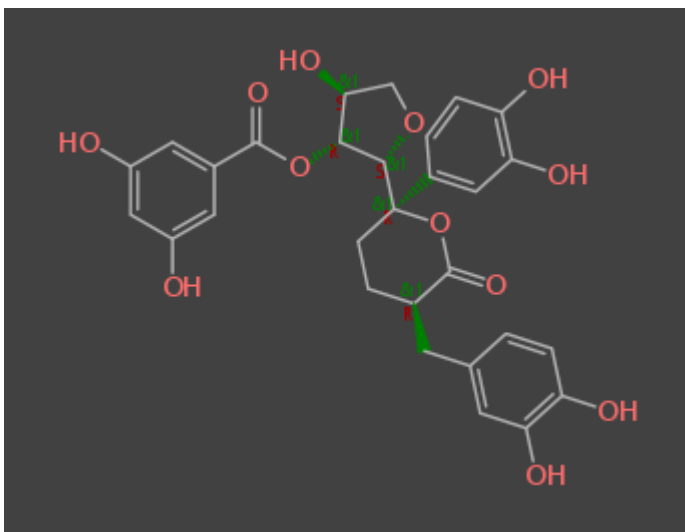
**Figura 2: Estruturas moleculares dos principais ligantes com a proteína 6WXC**

a) NuBBE\_127



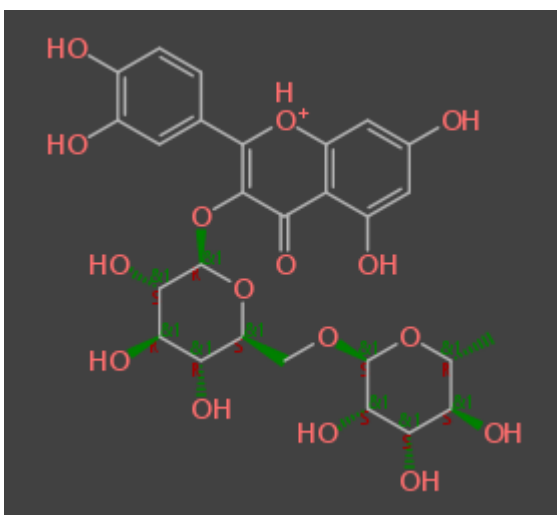
Afinidade: -19.3

b) ZINC000198798576



Afinidade: -17.5

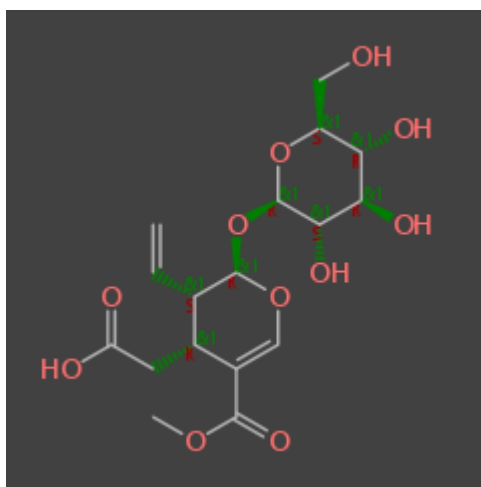
c) NuBBE\_46



Afinidade: -16.5

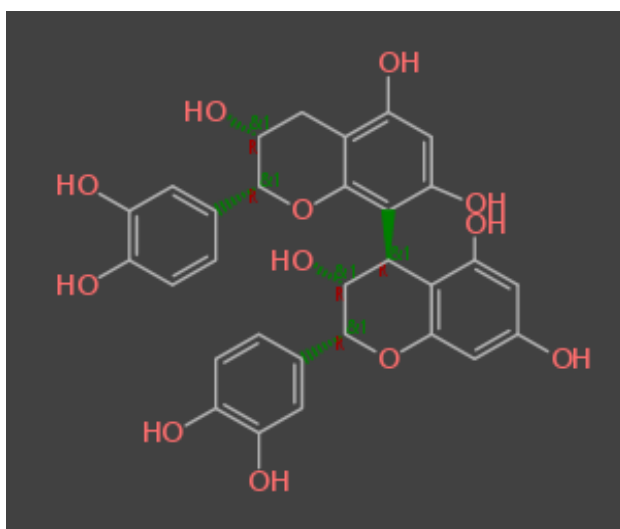


d) NuBBE\_107



Afinidade: -16.5

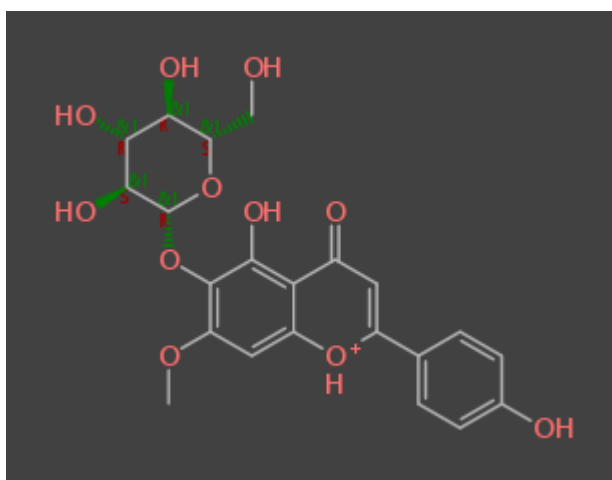
e) ZINC000026490614



Afinidade: -15.6

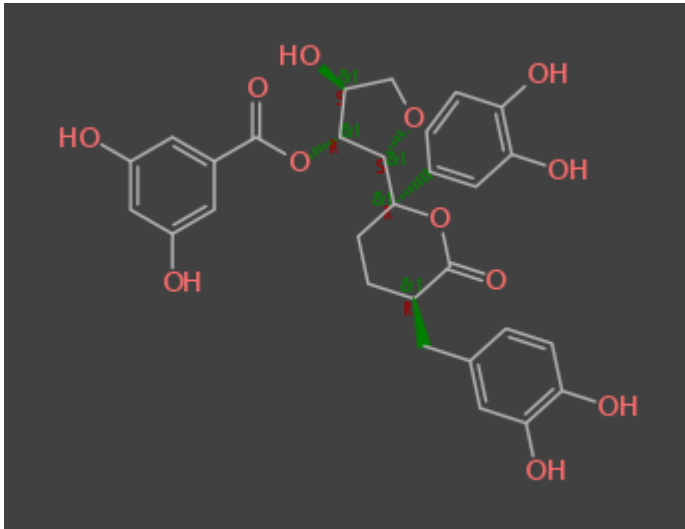
**Figura 3: Estruturas moleculares dos principais ligantes com a proteína 7BV2**

a) NuBBE\_127



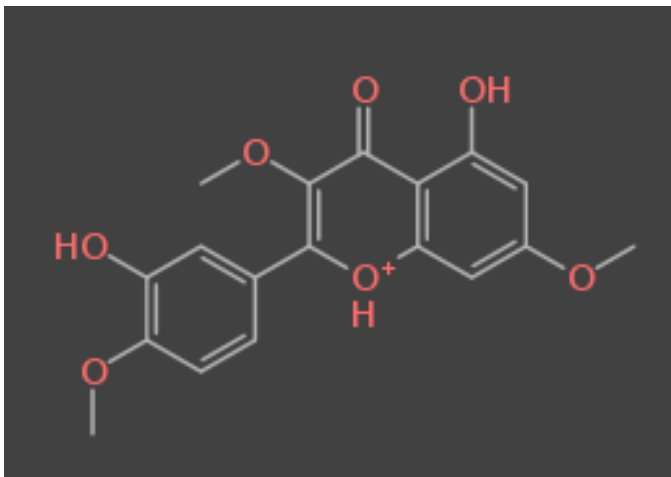
Afinidade: -21.3

b) ZINC000198798576



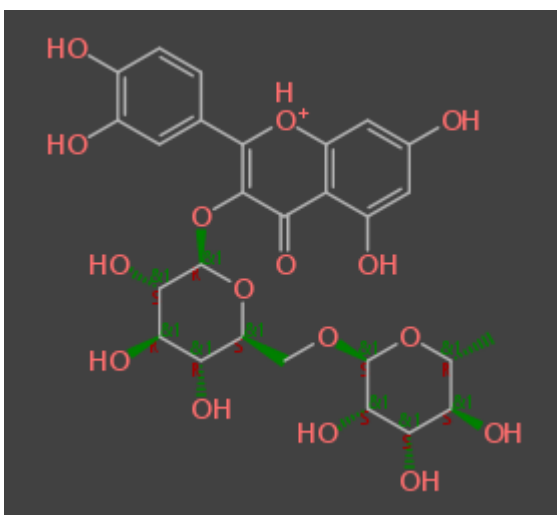
Afinidade: -17.5

c) NuBBE\_1865



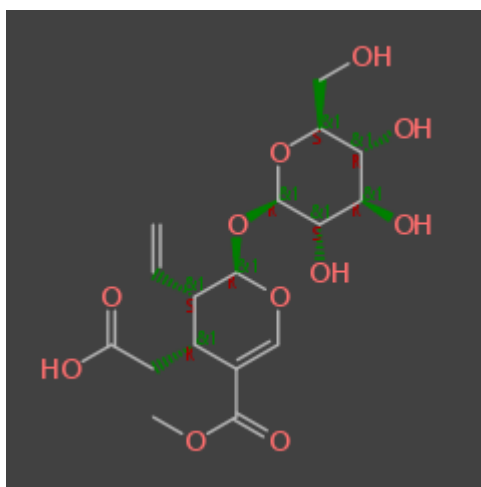
Afinidade: -17.4

d) NuBBE\_46



Afinidade: -16.9

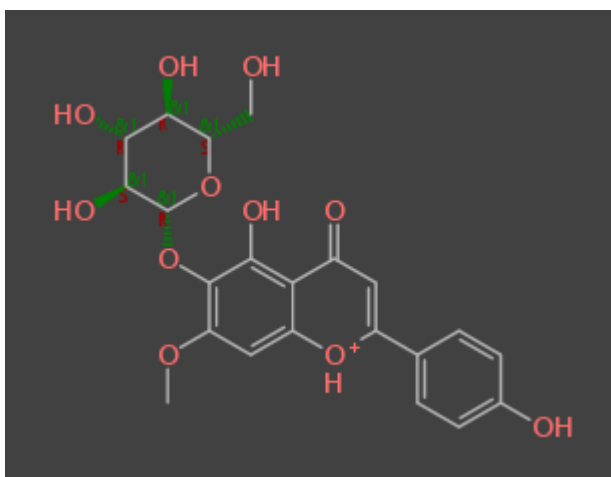
e) NuBBE\_107



Afinidade: -16.9

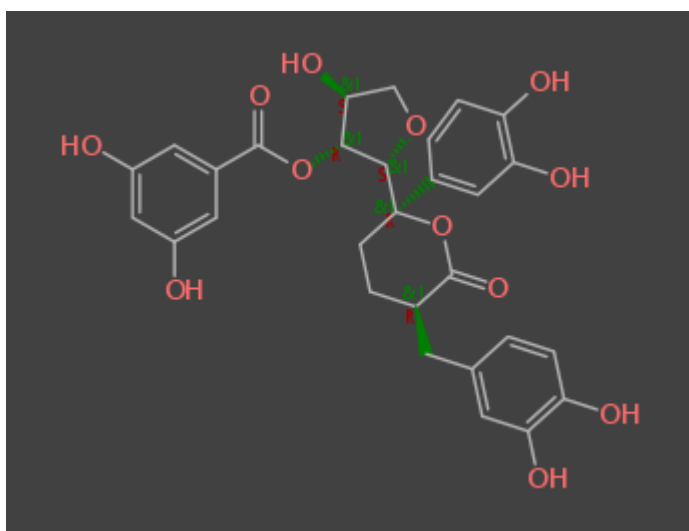
**Figura 4: Estruturas moleculares dos principais ligantes com a proteína 7BZ5**

a) NuBBE\_127



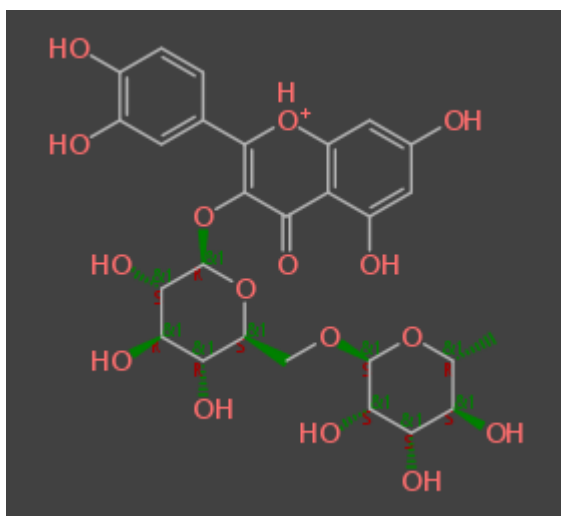
Afinidade: -18.5

b) ZINC000198798576



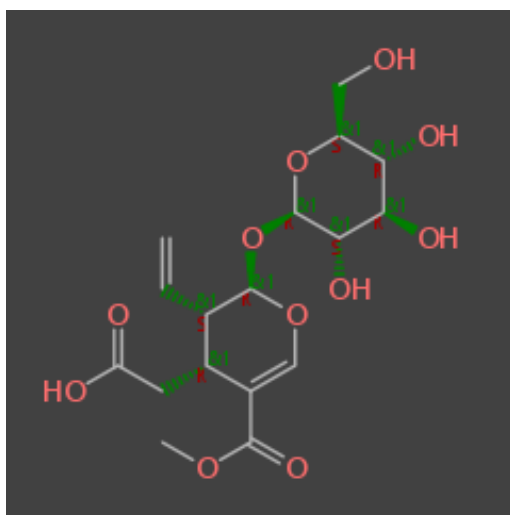
Afinidade: -16.4

c) NuBBE\_46



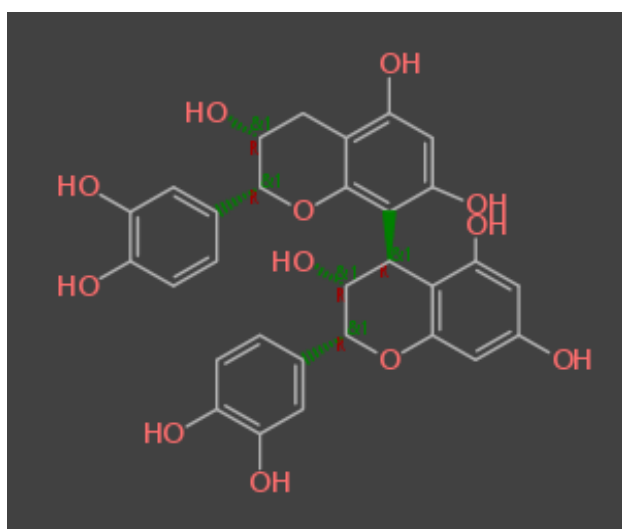
Afinidade: -16.3

d) NuBBE\_107



Afinidade: -16.0

e) ZINC000026490614



Afinidade: -14.3

## 6. Conclusão

A partir da utilização dos softwares descritos anteriormente, este estudo mostrou a descoberta de quatro estruturas moleculares (figuras 1 a 4) que potencialmente possuem efeitos inibidores em múltiplas proteínas alvo do SARS-CoV-2, aumentando sua relevância de utilização além do uso convencional de fontes nacionais.

Além disso, deve-se ressaltar que estruturas moleculares que apresentem uma múltipla seleção de ligantes, e que coincidentemente também afetem múltiplas proteínas, possuem maior eficácia terapêutica. Mas, por serem multifocais, há um risco de terem uma maior resistência do organismo ou algum efeito colateral indesejado, mesmo sendo providas de fontes naturais.

Neste caso, é necessária a realização de testes *in vitro* para se provar a real efetividade destes ligantes.

Assim, este estudo mostrou a viabilidade de se encontrar estruturas com potencial de aumentar a eficácia terapêutica no combate à COVID - destacando aqui quatro possibilidades - mas novos estudos são requeridos para avaliar sua viabilidade final, a partir, por exemplo, dos testes *in vitro*, conforme mencionado acima.

Mas o primeiro passo foi dado, e espero ter contribuído para o avanço do conhecimento nesta área, e que outros estudos possam dar continuidade a estas descobertas científicas.

## 7. Referências

Das, S., Sarmah, S., Lyndem, S., & Singha Roy, A. (2020). An investigation into the identification of potential inhibitors of SARS-CoV-2 main protease using molecular docking study. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1763201>

Durdagi, S., Aksoydan, B., Dogan, B., Sahin, K., Shahraki, A., & Birgul-Iyison, N. (2020). *Screening of Clinically Approved and Investigation Drugs as Potential Inhibitors of*

*SARS-CoV-2 Main Protease and Spike Receptor-Binding Domain Bound with ACE2 COVID19 Target Proteins: A Virtual Drug Repurposing Study.* www.durdagilab.com

da Silva, F. M. A., da Silva, K. P. A., de Oliveira, L. P. M., Costa, E. v, Koolen, H. H., Pinheiro, M. L. B., de Souza, A. Q. L., & de Souza, A. D. L. (2020). Flavonoid glycosides and their putative human metabolites as potential inhibitors of the SARS-CoV-2 main protease (Mpro) and RNA-dependent RNA polymerase (RdRp). *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 115. <https://doi.org/10.1590/0074-02760200207>

Sunseri, J., & Koes, D. R. (2016). Pharmit: interactive exploration of chemical space. *Nucleic Acids Research*, 44(W1). <https://doi.org/10.1093/nar/gkw287>

Pilon, A. C., Valli, M., Dametto, A. C., Pinto, M. E. F., Freire, R. T., Castro-Gamboa, I., Andricopulo, A. D., & Bolzani, V. S. (2017). NuBBEDB: an updated database to uncover chemical and biological information from Brazilian biodiversity. *Scientific Reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-07451-x>

Sander, T., Freyss, J., von Korff, M., & Rufener, C. (2015). DataWarrior: An Open-Source Program For Chemistry Aware Data Visualization And Analysis. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 55(2). <https://doi.org/10.1021/ci500588j>

Trott, O., & Olson, A. J. (2009). AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>

O'Boyle, N. M., Banck, M., James, C. A., Morley, C., Vandermeersch, T., & Hutchison, G. R. (2011). Open Babel: An open chemical toolbox. *Journal of Cheminformatics*, 3(1). <https://doi.org/10.1186/1758-2946-3-33>

Barreiro, E. J., & Bolzani, V. da S. (2009). Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. *Química Nova*, 32(3). <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000300012>

Guedes, I. A., Costa, L. S. C., dos Santos, K. B., Karl, A. L. M., Rocha, G. K., Teixeira, I. M., Galheigo, M. M., Medeiros, V., Krempser, E., Custódio, F. L., Barbosa, H. J. C., Nicolás, M. F., & Dardenne, L. E. (2021). Drug design and repurposing with DockThor-VS web server focusing on SARS-CoV-2 therapeutic targets and their non-synonym variants. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84700-0>

Burley, S. K., Bhikadiya, C., Bi, C., Bittrich, S., Chen, L., Crichlow, G. v, Christie, C. H., Dalenberg, K., di Costanzo, L., Duarte, J. M., Dutta, S., Feng, Z., Ganesan, S., Goodsell, D. S., Ghosh, S., Green, R. K., Guranović, V., Guzenko, D., Hudson, B. P., ... Zhuravleva, M. (2021). RCSB Protein Data Bank: powerful new tools for exploring 3D structures of biological macromolecules for basic and applied research and education in fundamental biology, biomedicine, biotechnology, bioengineering and energy sciences. *Nucleic Acids Research*, *49*(D1). <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1038>

Kumar, A., Yashvardhini, N., & Jha, D. K. (2022). Analysis of SARS-CoV-2 mutations in the main viral protease (NSP5) and its implications on the vaccine designing strategies. *Vacunas*, *23*. <https://doi.org/10.1016/j.vacun.2021.10.002>

Hillen, H. S., Kokic, G., Farnung, L., Dienemann, C., Tegunov, D., & Cramer, P. (2020). Structure of replicating SARS-CoV-2 polymerase. *Nature*, *584*(7819). <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2368-8>

Kim, Y., Wower, J., Maltseva, N., Chang, C., Jedrzejczak, R., Wilamowski, M., Kang, S., Nicolaescu, V., Randall, G., Michalska, K., & Joachimiak, A. (2021). Tipiracil binds to uridine site and inhibits Nsp15 endoribonuclease NendoU from SARS-CoV-2. *Communications Biology*, *4*(1). <https://doi.org/10.1038/s42003-021-01735-9>

Huang, Y., Yang, C., Xu, X., Xu, W., & Liu, S. (2020). Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antivirus drug development for COVID-19. *Acta Pharmacologica Sinica*, *41*(9). <https://doi.org/10.1038/s41401-020-0485-4>

Meng, X.-Y., Zhang, H.-X., Mezei, M., & Cui, M. (2011). Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. *Current Computer Aided-Drug Design*, *7*(2). <https://doi.org/10.2174/157340911795677602>

Fan, Y., Zhao, K., Shi, Z.-L., & Zhou, P. (2019). Bat Coronaviruses in China. *Viruses*, *11*(3). <https://doi.org/10.3390/v11030210>

Hellewell, J., Abbott, S., Gimma, A., Bosse, N. I., Jarvis, C. I., Russell, T. W., Munday, J. D., Kucharski, A. J., Edmunds, W. J., Funk, S., Eggo, R. M., Sun, F., Flasche, S., Quilty, B. J., Davies, N., Liu, Y., Clifford, S., Klepac, P., Jit, M., ... van Zandvoort, K. (2020). Feasibility of controlling COVID-19 outbreaks by isolation of cases and contacts. *The Lancet Global Health*, *8*(4). [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(20\)30074-7](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(20)30074-7)

- van Doremalen, N., Bushmaker, T., Morris, D. H., Holbrook, M. G., Gamble, A., Williamson, B. N., Tamin, A., Harcourt, J. L., Thornburg, N. J., Gerber, S. I., Lloyd-Smith, J. O., de Wit, E., & Munster, V. J. (2020). Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *New England Journal of Medicine*, 382(16). <https://doi.org/10.1056/NEJMc2004973>
- Lotfi, M., Hamblin, M. R., & Rezaei, N. (2020). COVID-19: Transmission, prevention, and potential therapeutic opportunities. *Clinica Chimica Acta*, 508. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.05.044>
- Riou, J., & Althaus, C. L. (2020). Pattern of early human-to-human transmission of Wuhan 2019 novel coronavirus (2019-nCoV), December 2019 to January 2020. *Eurosurveillance*, 25(4). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.4.2000058>
- V'kovski, P., Kratzel, A., Steiner, S., Stalder, H., & Thiel, V. (2021). Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. *Nature Reviews Microbiology*, 19(3). <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00468-6>
- Li, F. (2016). Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins. *Annual Review of Virology*, 3(1). <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-110615-042301>
- Kawase, M., Shirato, K., van der Hoek, L., Taguchi, F., & Matsuyama, S. (2012). Simultaneous Treatment of Human Bronchial Epithelial Cells with Serine and Cysteine Protease Inhibitors Prevents Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Entry. *Journal of Virology*, 86(12). <https://doi.org/10.1128/JVI.00094-12>
- Guedes, I. A., de Magalhães, C. S., & Dardenne, L. E. (2014). Receptor–ligand molecular docking. *Biophysical Reviews*, 6(1). <https://doi.org/10.1007/s12551-013-0130-2>
- Deng, X., Hackbart, M., Mettelman, R. C., O'Brien, A., Mielech, A. M., Yi, G., Kao, C. C., & Baker, S. C. (2017). Coronavirus nonstructural protein 15 mediates evasion of dsRNA sensors and limits apoptosis in macrophages. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(21). <https://doi.org/10.1073/pnas.1618310114>
- Hilgenfeld, R., & Peiris, M. (2013). From SARS to MERS: 10 years of research on highly pathogenic human coronaviruses. *Antiviral Research*, 100(1). <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.08.015>



Gao, Y., Yan, L., Huang, Y., Liu, F., Zhao, Y., Cao, L., Wang, T., Sun, Q., Ming, Z., Zhang, L., Ge, J., Zheng, L., Zhang, Y., Wang, H., Zhu, Y., Zhu, C., Hu, T., Hua, T., Zhang, B., ... Rao, Z. (2020). Structure of the RNA-dependent RNA polymerase from COVID-19 virus. *Science*, 368(6492). <https://doi.org/10.1126/science.abb7498>

Jordan, P. C., Stevens, S. K., & Deval, J. (2018). Nucleosides for the treatment of respiratory RNA virus infections. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, 26. <https://doi.org/10.1177/2040206618764483>

Yoshimoto, F. K. (2020). The Proteins of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS CoV-2 or n-COV19), the Cause of COVID-19. *The Protein Journal*, 39(3). <https://doi.org/10.1007/s10930-020-09901-4>

Dong, E., Du, H., & Gardner, L. (2020). An interactive web-based dashboard to track COVID-19 in real time. *The Lancet Infectious Diseases*, 20(5). [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30120-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30120-1)

Tay, M. Z., Poh, C. M., Rénia, L., MacAry, P. A., & Ng, L. F. P. (2020). The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nature Reviews Immunology*, 20(6). <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0311-8>

Wiersinga, W. J., Rhodes, A., Cheng, A. C., Peacock, S. J., & Prescott, H. C. (2020). Pathophysiology, Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *JAMA*, 324(8). <https://doi.org/10.1001/jama.2020.12839>

Vieceli, L., Fraga, E.. Quase 600 mil empresas fecham as portas e dificultam recuperação do emprego. (2021) Folha de São Paulo. <https://www1.folha.uol.com.br/mercado/2021/09/quase-600-mil-empresas-fecham-as-portas-e-dificultam-recuperacao-do-emprego.shtml>

WORLDOMETER. Covid-19 Coronavirus Pandemic Disponível em <https://www.worldometers.info/coronavirus/>. Acesso em 30 de junho de 2022. (2022)