



ESTUDOS *IN SILICO* E *IN VITRO* PARA BUSCA DE POTENCIAIS FÁRMACOS CONTRA O SARS-CoV-2 (COVID-19)¹.

Zaira Oliveira Santos², Bruno Silva Andrade³.

RESUMO

Conhecendo as características dos vírus de RNA e sua alta taxa de mutação, a identificação de novas drogas e profilaxias com potencial para o combate à COVID-19 foi essencial para mitigar esta pandemia. Visando buscar soluções a curto, médio e longo prazo para o combate ao COVID-19, a presente pesquisa pretendeu desenvolver novas estratégias farmacológicas computacionais que fossem capazes de propor profilaxias moleculares para o bloqueio da entrada do vírus SARS-CoV-2 em células humanas, utilizando ferramentas da Bioinformática e Química Computacional, permitindo a proposição de compostos químicos antivirais que possam ser utilizados em ensaios pré-clínicos e clínicos. Peptídeos salivares humanos, com propriedades antivirais conhecidas, foram manipulados mediante a utilização de ferramentas da bioinformática e química computacional, com o intuito de prever a sua capacidade de neutralizar ou bloquear a interação SARS-CoV-2 com a ACE2 e impedir seus efeitos em células humanas. Para identificar computacionalmente peptídeos salivares humanos potenciais para o tratamento profilático contra a COVID-19, foram utilizadas ferramentas computacionais de acoplamento e dinâmica molecular, selecionando moléculas candidatas a testes pré-clínicos e clínicos contra SARS-CoV-2. A proteína Spike correspondente às variantes ômicron, Delta e Gama foram obtidas através do Protein Data Bank (PDB) acopladas a um banco de peptídeos salivares humanos, com características antimicrobianas, utilizando o servidor Hpepdock 2.0. Como resultado, seis peptídeos foram identificados como, potencialmente inibidores e estes foram submetidos a cálculos de dinâmica molecular (DM) utilizando o programa GROMACS 2022.

Palavras chave: Docking Molecular, Dinâmica Molecular, Peptídeo, COVID-19, Proteína Spike.

¹ Fundação de amparo à pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB).

² Graduanda em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Campus Jequié. Bolsista de iniciação científica do Laboratório de Bioinformática e Química Computacional (LBQC/UESB). Rua José Moreira Sobrinho, s/n, Jequiezinho, 45200000 - Jequié, BA – Brasil.

³ Professor Titular (Medicina) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Jequié – BA. Coordenador do Laboratório de Bioinformática e Química Computacional - LBQC/UESB. Rua José Moreira Sobrinho, s/n, Jequiezinho, 45200000 - Jequié, BA – Brasil.

IN SILICO AND IN VITRO STUDIES TO SEARCH FOR POTENTIAL DRUGS AGAINST SARS-CoV-2 (COVID-19) ¹.

ABSTRACT

Understanding the characteristics of RNA viruses and their high mutation rate, the identification of new drugs and prophylactics with the potential to combat COVID-19 was essential in mitigating this pandemic. With the aim of finding short, medium, and long-term solutions for combating COVID-19, this research sought to develop new computational pharmacological strategies capable of proposing molecular prophylaxis for blocking the entry of the SARSCoV-2 virus into human cells. This was achieved by employing tools from Bioinformatics and Computational Chemistry, allowing for the proposition of antiviral chemical compounds that could be used in pre-clinical and clinical trials. Human salivary peptides, known for their antiviral properties, were manipulated using bioinformatics and computational chemistry tools to predict their ability to neutralize or block the interaction of SARS-CoV-2 with ACE2 and prevent its effects on human cells. To computationally identify potential human salivary peptides for prophylactic treatment against COVID-19, computational docking and molecular dynamics tools were used to select candidate molecules for pre-clinical and clinical tests against SARS-CoV-2. The Spike protein corresponding to the Omicron, Delta, and Gamma variants was obtained from the Protein Data Bank (PDB) and docked with a bank of human salivary peptides with antimicrobial properties using the Hpepdock 2.0 server. As a result, six peptides were identified as potential inhibitors, and these were subjected to molecular dynamics (MD) calculations using the GROMACS 2022 program. Keywords: Molecular Docking, Molecular Dynamics, Peptide, COVID-19, Spike Protein.

INTRODUÇÃO

A COVID-19, doença infecciosa ainda incidente no mundo até os dias atuais, é causada por um coronavírus recém-surgido, o SARS-CoV-2, que afetou milhões de pessoas em todo o mundo. Uma das proteínas estruturais mais importantes do SARSCoV-2 é a glicoproteína Spike (glicoproteína S), a qual está envolvida na ligação com o receptor celular humano ACE2. Os picos de glicoproteínas na superfície externa dos coronavírus são responsáveis pela ligação e entrada do vírus nas células hospedeiras (SHEREEN et al. 2020).

A proteína S se acopla ao ACE2 e sofre uma divisão para que haja a fusão da membrana viral com a célula ou a endocitose. A partir disso, é liberado o RNA que está no interior do vírus (SAXENA et al., 2020).

Desse modo, a identificação de pequenas moléculas capazes de atingir interações proteína-proteína (PPIs) é de interesse para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos, incluindo o bloqueio da entrada viral do SARS-CoV-2 através da interação RBD do pico ACE2 (TEDESCO et al. 2022).

Peptídeos salivares humanos, com propriedades antivirais conhecidas, foram manipulados mediante a utilização de ferramentas da bioinformática e química computacional, com o intuito de analisar a sua capacidade de neutralizar ou bloquear a interação SARS-CoV-2 com a ACE2 e impedir seus efeitos em células humanas.

O objetivo principal deste trabalho foi identificar in silico compostos químicos naturais e/ou sintéticos potenciais para o tratamento ao COVID-19, utilizando ferramentas da

Bioinformática e Química Computacional, realizando a modelagem molecular dos alvos protéicos do SARS-CoV-2, testes de acoplamento e dinâmica molecular, a fim de propor compostos candidatos a testes pré-clínicos e clínicos contra a COVID-19.

MATERIAL E MÉTODOS

A proteína Spike correspondente às variantes ômicron, Delta e Gama foram obtidas através do Protein Data Bank (PDB), foram acopladas a um banco de peptídeos salivares humanos, com características antimicrobianas, utilizando o servidor Hpepdock 2.0 (<http://huanglab.phys.hust.edu.cn/hpepdock/>). Para a realização do acoplamento, foi delimitado um sítio de interação na região RBD da Spike de cada variante. Após execução do docking, foram selecionados os seis peptídeos com melhores energias de afinidade. Os complexos Spike-peptídeo foram acoplados à molécula hACE-2, com o intuito de averiguar se o peptídeo atuaria inibindo a ligação da Spike à proteína humana. Posteriormente, estes complexos foram submetidos à dinâmica molecular de 50 (ns), simulação que permite uma visão do movimento e interação molecular em escala atômica, utilizando o pacote GROMACS 2023 combinado campo de força amber93.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os seis peptídeos selecionados no acoplamento molecular, três tiveram melhores resultados: Gama-pep409, Omicron-pep411 e Delta-pep411, sendo que o último também apresentou inibição em testes *in vitro* (em fase de publicação) na variante Wuhan. As energias de interação da proteína Spike com a ACE2 apresentaram valor de -385.62 KJ/mol, embora os resultados ancoragem molecular dos peptídeos não sejam superiores à da proteína-proteína os resultados obtidos ainda assim foram promissores. Uma vez que o pep411 ao ser acoplado na proteína Spike e em seguida ao receptor ACE2 exibiram uma energia de interação no valor de -209.58 KJ/mol, podendo ser evidenciado um declínio na afinidade da proteína Spike com a ACE2 (Tabela 1). Mostrando que o pep411 é capaz de interferir na ligação entre a proteína viral e o receptor humano.

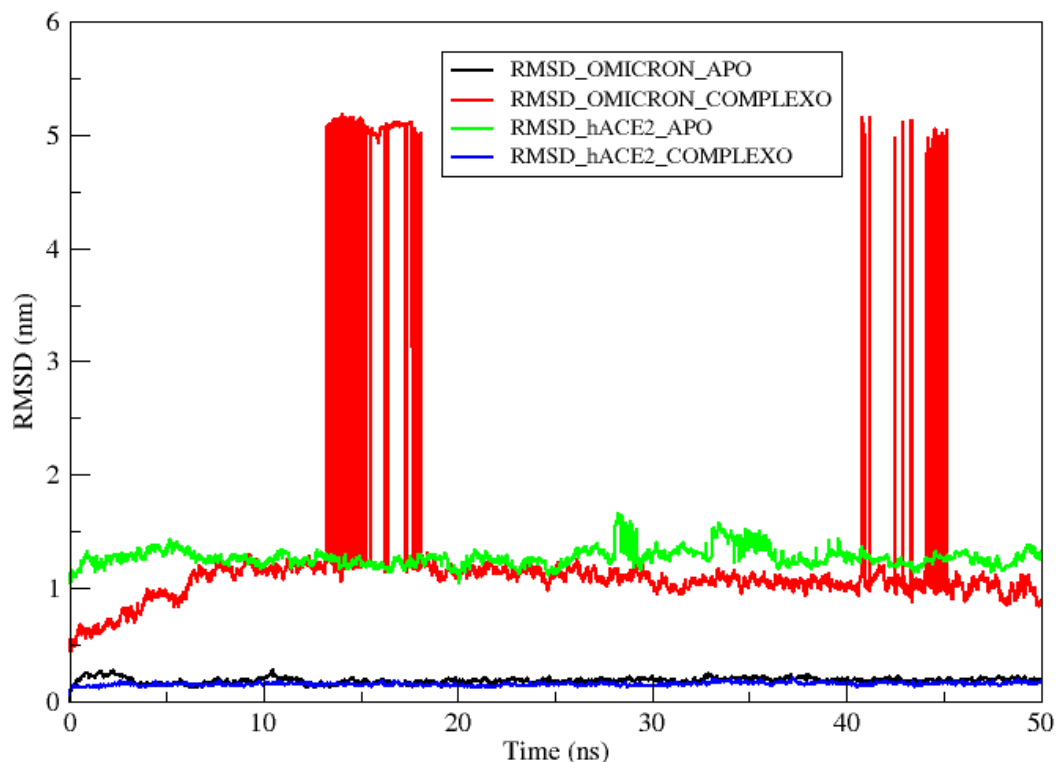
TABELA 1: Avaliação das energias de interação após cálculos de docking molecular.

Ancoragem Molecular	OMICRON (kcal/mol)
EI Spike-ACE S/Peptídeo	-385.62
EI Complexo pep411	-209.58
EI Complexo pep86	-215.868
EI Complexo pep91	-209.852
EI Complexo pep193	-212.210
EI Complexo pep337	-236.549
EI Complexo pep409	-235.093

Fonte: autoral

No início do projeto foram trabalhados com três variantes, mas apenas a Omicron foi destacada para análise final, uma vez que apresenta resultados promissores no gráfico de RMSD (Figura 1). Nesse gráfico é possível ver que a proteína na forma APO (apenas RBD) está abaixo da proteína complexada com peptídeos e com o receptor humano, isso indica que houve uma modificação na estrutura e que foi capaz de interferir na interação da proteína viral RBD com hACE2. Durante todo o tempo de simulação de dinâmica molecular, o peptídeo 411 permaneceu interagindo com a proteína Spike, apresentando RMSD abaixo de dois angstroms (Å). Fazendo uso do VMD, foi possível observar todas as interações que o peptídeo realizava durante todo o período de 50ns, sendo possível evidenciar o afastamento das proteínas.

Figura 1: Gráfico de RMSD do complexo hACE2-Spike-pep411 juntamente com as proteínas na forma pura (APO).



Fonte: a autora.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos por meio de ancoragem e dinâmica molecular nos permitem supor que o peptídeo salivar humano (pep411) pode ser um possível inibidor capaz de interferir na interação Spike-ACE2. Após a realização dos cálculos de simulação de dinâmica molecular, verificou-se a possibilidade de avançar para testes *in vitro* para a validação dos estudos teóricos realizados por meio de ferramentas computacionais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. SAXENA, Shailendra K. et al. Chasing COVID-19 through SARS-CoV-2 spike glycoprotein. 2020.
2. SHEREEN, M. A. et al. **COVID-19 infection: Origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses.** Journal of advanced research, v. 24, p. 91–98, 2020.
3. Tedesco, F., Calugi, L., Lenci, E., & Trabocchi, A. (2022). **Peptidomimetic small-molecule inhibitors of 3CLPro activity and spike–ACE2 interaction: Toward dual-action molecules against Coronavirus infections.** The Journal of Organic Chemistry, 87(18), 12041–12051. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.2c01047>