



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

Desde o mês de março de 2020 o vírus SARS-CoV-2, causador da doença COVID-19, se espalhou rapidamente pelo mundo devido, principalmente, à transmissão furtiva iniciada na China no final de 2019. 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 SARSCoV-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 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 deste trabalho foi identificar computacionalmente peptídeos salivares humanos potenciais para o tratamento profilático contra a COVID-19, utilizando ferramentas computacionais através de estudos de acoplamento e dinâmica molecular, visando propor compostos candidatos a testes pré-clínicos e clínicos contra a COVID-19. A proteína Spike correspondente às variantes ômicron, Delta e Gama foram obtidas através do Protein Data Bank (PDB) foram acopladas a seis peptídeos salivares humanos, potencialmente inibidores, utilizando o servidor Haddock 2.4.

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, Jequezinho, 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, Jequezinho, 45200000 - Jequié, BA – Brasil.

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

ABSTRACT

Since March 2020, the SARS-CoV-2 virus, which causes the disease COVID-19, has spread rapidly around the world, mainly due to the stealthy transmission that started in China at the end of 2019. Knowing the characteristics of RNA viruses and its high mutation rate, the identification of new drugs and prophylaxis with potential to combat COVID-19 were essential to mitigate this pandemic. In order to search for short, medium and long-term solutions to combat COVID-19, the present research aimed to develop new computational pharmacological strategies that would be able to propose molecular prophylaxis to block the entry of the SARSCoV-2 virus into human cells, using Bioinformatics and Computational Chemistry tools, allowing the proposition of antiviral chemical compounds that can be used in pre-clinical and clinical trials. Human salivary peptides, with known antiviral properties, were manipulated using bioinformatics and computational chemistry tools, in order to analyze their ability to neutralize or block the SARS-CoV-2 interaction with ACE2 and prevent its effects on cells. human. The objective of this work was to computationally identify potential human salivary peptides for prophylactic treatment against COVID-19, using computational tools through coupling and molecular dynamics studies, aiming to propose candidate compounds for pre-clinical and clinical tests against COVID-19. . The Spike protein corresponding to the omicron, Delta and Gamma variants were obtained from the Protein Data Bank (PDB) and coupled to six potentially inhibitory human salivary peptides using the Haddock 2.4 server.

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 SARS-CoV-2 é a glicoproteína Spike (glicoproteína S), a qual está envolvida na ligação com o receptor celular humano ACE2.

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, o domínio de ligação ao receptor (RBD) da proteína Spike foi identificado como alvo mais promissor para a eficácia da produção de vacinas, os anticorpos produzidos contra ela são capazes de impedir a entrada do coronavírus, neutralizando-a (BASIT et al., 2021).

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 obtidos através do Protein Data Bank (PDB), foram acopladas à seis peptídeos salivares humanos, potencialmente inibidores, utilizando o servidor Haddock 2.4 (<https://wenmr.science.uu.nl/>). 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 complexos que apresentaram melhor energia de afinidade, sendo eles: Omicron-pep411, Delta-pep411 e Gama-pep409. Os complexos Spike-peptídeo foram acoplados à molécula ACE-2, com o intuito de averiguar se o peptídeo atuaria inibindo a ligação da Spike à proteína humana (Figura 01). Posteriormente, estes complexos foram submetidos à dinâmica molecular, simulação que permite uma visão do movimento e interação molecular em escala atômica, utilizando o pacote GROMACS 2021 e analisados no programa VMD.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As energias de interação da Spike com a ACE2 foram melhores na ausência dos peptídeos, ou seja, mais negativas, representando uma interação mais forte entre o complexo. Dessa forma, quando o peptídeo potencialmente inibidor (411) foi acoplado a proteína Spike e em seguida esse complexo foi acoplado à ACE2, observou-se um aumento dos valores negativos referentes à energia de interação, significando um

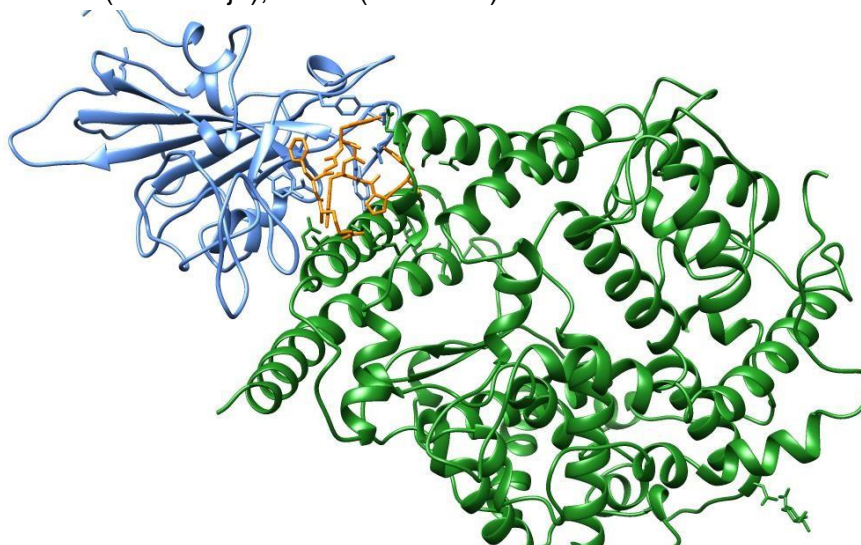
declínio na afinidade da proteína Spike com a ACE2. Tais observações foram verificadas para as variantes Ômicron, Delta e Gama, e seus respectivos peptídeos, 411, 411, 409 (Tabela 01).

Durante todo o tempo de simulação de dinâmica molecular (50 ns), os peptídeos 411 e 409 permaneceram interagindo fortemente á proteína Spike, apresentando RMSD abaixo de dois angstroms (Å). Além disso, observou-se a partir da visualização da simulação no VMD que os peptídeos atuam enfraquecendo as interações da proteína Spike com a ACE2, levando ao afastamento das proteínas.

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

DOCKING	ENERGIA DE AFINIDADE Spike-ACE S/PEPTIDEO INIBIDOR	ENERGIA DE AFINIDADE C/PEPTIDEO INIBIDOR
OMICRON (pep411)	-385.62 kcal/mol	-209.58 kcal/mol
DELTA (pep411)	-338.85 kcal/mol	-210.36 kcal/mol
IHU (pep411)	-348.11 kcal/mol	-267.81 kcal/mol
P1(GAMMA) (pep409)	-362.43 kcal/mol	-222.36 kcal/mol

FIGURA 01: Complexo - proteína Spike da variante Delta (em azul), peptídeo salivar humano (em laranja), ACE2 (em verde).



Fonte: A autora.

CONCLUSÕES

Foi possível concluir que os peptídeos salivares humanos (411 e 409) são potenciais inibidores da interação Spike-ACE2. Após a realização dos cálculos de simulação de dinâmica molecular, verificou-se a potencialidade desses peptídeos, tornando-os candidatos para síntese e posteriores estudos *in vitro*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARH, Debmalya et al. Potential chimeric peptides to block the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain. **F1000Research**, v. 9, 2020.
2. BASIT, Abdul et al. Designing Short Peptides to Block the Interaction of SARS-CoV-2 and Human ACE2 for COVID-19 Therapeutics. **Frontiers in pharmacology**, p. 2310, 2021.
3. SAXENA, Shailendra K. et al. Chasing COVID-19 through SARS-CoV-2 spike glycoprotein. 2020.