



XXVI SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA - 2022

ESTUDOS IN SILICO DO POTENCIAL PROFILÁTICO DE GLICANOS E PEPTIDEOSSALIVARES CONTRA O SARS-Cov 2(COVID 19).



João Victor Rebouças, Bruno Silva Andrade.

RESUMO

A pandemia da nova doença da COVID-19 que teve início em março de 2020, mudou totalmente a maneira com que vivemos e nos relacionamos, diante das vacinações o vírus se encontra mais controlado, todavia com suas características de alta taxa de mutação é necessário manter os cuidados e precauções. A identificação de novas drogas com potencial para o tratamento de COVID-19 é essencial para enfrentarmos a doença, já que fora a vacina, as maneiras que temos de nos resguardar do contágio é através do uso de máscaras e álcool 70%. Visando buscar soluções a curto, médio e longo prazo para o combate ao COVID-19, a presente pesquisa pretendeu desenvolver *in silico* novas estratégias farmacológicas que sejam capazes de propor drogas que bloqueiem a entrada e multiplicação do vírus SARS-CoV-2 em células humanas, utilizando ferramentas da Bioinformática e Química Computacional, permitindo a proposição de compostos profiláticos antivirais que possam ser utilizados em ensaios pré-clínicos e clínicos.

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

IN SILICO STUDIES OF THE PROPHYLATIC POTENTIAL OF GLYCANS AND PEPTIDEOSSALIVARS AGAINST SARS-Cov 2 (COVID 19).

ABSTRACT

The pandemic of the new disease of COVID-19 that began in March 2020, has totally changed the way we live and relate to each other, in the face of vaccinations the virus is more controlled, however with its high mutation rate characteristics it is necessary to maintain care and precautions. The identification of new drugs with potential for the treatment of COVID-19 is essential to face the disease, since apart from the vaccine, the ways we have to protect ourselves from contagion are through the use of masks and alcohol 70. short, medium and long term to combat COVID-19, the present research intends to develop *in silico* new pharmacological strategies that

are able to propose drugs that block the entry and multiplication of the SARS-CoV-2 virus in human cells, using tools from the Bioinformatics and Computational Chemistry, allowing the proposition of prophylactic antiviral compounds that can be used in pre-clinical and clinical trials.

Keywords: Molecular Docking, Molecular Dynamics, Molecular Modeling, COVID-19, Spike Protein.

INTRODUÇÃO

A doença pandêmica COVID-19 é um novo coronavírus também conhecido como SARS-CoV-2. A proteína estrutural chave do SARS-CoV-2 é a glicoproteína Spike (glicoproteína S), a qual está envolvida na ligação com o receptor celular humano ACE2. Através da proteína Spike o vírus consegue se acoplar ao ACE2 por reconhecimento proteico e assim adentrar na célula humana e dar início ao processo de 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.

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. Esse domínio é a região da proteína que possui os aminoácidos que interagem com outras moléculas. Anticorpos produzidos contra ela são capazes de impedir a entrada do coronavírus, neutralizando-o.

Em parceria com um grupo de pesquisadores da Universidade Federal de Uberlândia, está em processo estudos com glicanos e peptídeos salivares humanos que são capazes de interagir com a glicoproteína Spike parecem promissores. Essas moléculas estão sendo utilizados na presente pesquisa pois demonstram um potencial de interação interessante com a Spike.

O manuseio dessas moléculas *in silico* através das ferramentas de bioinformática e química computacional é essencial para otimização de tempo da pesquisa. Através de um processo de triagem podemos selecionar os melhores resultados de milhares de outros candidatos, além de que o processo é economicamente viável, tendo em vista o alto custo de aparelhos utilizados em bancadas de estudos *in vitro* e a demanda de tempo.

MATERIAL E MÉTODOS

Os glicanos(açúcares) utilizados na presente pesquisa são divididos entre O-Glicanos e N-Glicanos. Uma série de sequencia de glicanos potenciais foram distribuídos para nós pela Universidade Federal de Uberlândia. Essas sequencias foram levadas ao GLYCAN para convertê-las em PDB (Protein data Bank) o formato

de arquivo mais usado nos programas de docking. Os glicanos em PDB passaram pelo programa ORCA, que serve para minimizar a energia de ligação das moléculas. Através desse programa as ligações e torções moleculares ficam as mais estáveis possíveis adquirindo conformação estrutural o mais próximo da realidade. Esses açúcares são nossos ligantes no processo de docking molecular.

Posteriormente, através do site *Protein Data Bank* foi selecionada a estrutura da proteína cristalografada 6LZG de Wuhan do ano de 2019 que contem o complexo Spike-ACE2. Pelo programa QUIMERA podemos separar as cadeias da proteína e isolar a Spike que é o alvo do nosso estudo. A proteína S será nosso receptor no procedimento de Docking molecular. Tanto os Ligantes (glicanos) quanto o Receptor (Proteína Spike) passaram por melhorias de estrutura como retirada de hidrogênios não polares, mudança de cargas e mudança de torções para o acoplamento ser o mais fiel possível.

Através do programa *AutoDock Tools* foi selecionada a região do Receptor que é desejável que ocorra as interações intermoleculares. Esse procedimento é a construção da GridBox. Com as medidas tridimensionais da região de interesse que fica na RBD da proteína demos início ao docking pelo programa VINA. Foram feitas cerca de 200 simulações com todos os glicanos disponíveis.

Os resultados obtidos através do docking vina são dados em energia de afinidade, quanto menor, mais negativo o resultado for, melhor foi a interação do acoplamento. Dentre as centenas de resultados foram selecionados os melhores de cada, mais precisamente 5 de cada. através do programa PLIP (Protein-Ligand Interaction Profiler) analisou-se os resultados obtidos conseguindo ver o tipo de interação da proteína com o ligante e podendo construir um mapa de interação das moléculas.

Com os complexos obtidos mediante Docking Molecular, os que apresentaram melhores energias de ligação foram selecionados para o processo de Dinâmica molecular (simulação que permite uma visão do movimento e interação molecular em escala atômica), com a utilização do programa computacional GROMACS, processo este em andamento no atual momento da pesquisa. O GROMACS permite uma simulação ainda mais fidedigna das interações pois ele inclui elementos que o docking não calcula, como solventes, cargas elétricas e íons. Tudo para representar fielmente como seria a interação numa bancada ou dentro da célula humana.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pode-se observar que glicanos de tamanho intermediário (entre 30 e 50 carbonos) dentre os que foram usados na pesquisa tiveram melhor energia de

afinidade. Isso se dá pelo fato de que eles possuem o a estrutura ideal para se acoplarem a RBD da Spike, pois abrangem toda a extensão da região. A RBD (domínio de ligação do receptor) possui alguns aminoácidos mais pertinentes no momento da interação com o ligante, eles estão situados na região de domínio, são: LEU(455), PHE(486), GLY(493), ASN(501) e TYR(505).

o-glicano	3a	8a	9	15	17c
Energia de afinidade	-7,5 kcal/mol	-7,5 kcal/mol	-7,8 kcal/mol	-7,4 kcal/mol	-7,5 kcal/mol

Tabela 1: melhores resultados dos o-glicanos

n-glicano	1	2	3	7	17
Energia de afinidade	-6,0 kcal/mol	-7,2 kcal/mol	-6,0 kcal/mol	-6,1 kcal/mol	-6,0 kcal/mol

Tabela 2: melhores resultados dos n-glicanos

Dentre os resultados obtidos dos glicanos pode-se perceber que os o-glicanos tiveram uma interação melhor com a região da proteína sendo esses mais propícios a se tornarem inibidores. Isso se dá, pois, a interação dos o-glicanos é nos átomos de oxigênio dos aminoácidos, o que tende a ser uma interação de wan der walls mais forte por conta da eletronegatividade e pares não ligantes em relação a ligação dos n-glicanos que acontece nos átomos de Nitrogênio do aminoácido Asparagina (ASN).

O programa Vina que é regido pela linguagem de programação em python nos dá 9 resultados de docking. Esses nove “modes” são as combinações possíveis das conformações que o ligante pode fazer. Cada maneira com que o ligante pode interagir afeta na energia de afinidade do mesmo, sendo então necessário o usuário analisar todos os modelos e observar qual possui a estrutura mais interessante para prosseguir na triagem. Através do programa PLIP podemos observar o tipo de interação que o ligante faz com os aminoácidos e assim escolher qual modelo interage mais fortemente com os aminoácidos da proteína.

CONCLUSÕES

Pode-se concluir que os Glicanos de melhor resultado de afinidade podem ser levados a etapa de teste em bancada e analisar sua interação in vitro. Assim então

teremos mais precisão em verificar sua atuação inibitória do vírus sars-cov-2 e passar a usar tal açúcar como uma maneira de profilaxia contra a doença.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a instituição UESB por ter financiado meus estudos e por ter me dado a oportunidade de adentrar no projeto de iniciação científica e proporcionar inúmeros aprendizados.

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. CHOUDHURY, Abhigyan; MUKHERJEE, Suprabhat. In silico studies on the comparative characterization of the interactions of SARS-CoV-2 spike glycoprotein with ACE-2 receptor homologs and human TLRs. **Journal of medical virology**, v. 92, n. 10, p. 2105-2113, 2020.
4. Edgar RC. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Res.* 2004;32(5):1792-1797. Published 2004 Mar 19. doi:10.1093/nar/gkh340.
5. SALENTIN, Sebastian et al. PLIP: fully automated protein–ligand interaction profiler. **Nucleic acids research**, v. 43, n. W1, p. W443-W447, 2015.
6. SAXENA, Shailendra K. et al. Chasing COVID-19 through SARS-CoV-2 spike glycoprotein. 2020.