

Guilherme Antônio Lopes de Oliveira
Liliane Pereira de Souza
(Organizadores)

A SOCIEDADE EM TEMPOS DE COVID-19

1.^a edição

MATO GROSSO DO SUL
EDITORA INOVAR
2020

Copyright © dos autores e autoras

Todos os direitos garantidos. Este é um livro publicado em acesso aberto, que permite uso, distribuição e reprodução em qualquer meio, sem restrições desde que sem fins comerciais e que o trabalho original dos autores e autoras seja corretamente citado.

Dados da Catalogação Anglo-American Cataloguing Rules

S678

A sociedade em tempos de Covid-19. / Organizadores: Guilherme Antônio Lopes de Oliveira, Liliâne Pereira de Souza. – Campo Grande, MS: Editora Inovar, 2020.
1957 p.; il.

Áreas temáticas: Diversos autores.

ISBN: 978-65-86212-48-8

DOI: 10.36926/editorainovar-978-65-86212-48-8

1. Pandemia – Covid-19. 2. Saúde – Generalidades 3. Biotecnologia. 4. Ciência da informação. 5. Construção civil. 6. Direito. 7. Educação. 8. Filosofia. 9. História. 10. Interdisciplinar. 11. Meio ambiente. 12. Psicologia. 13. Saúde. 14. Serviço social. 15. Sociologia. 16. Tecnologias.
I. Oliveira, Guilherme Antônio Lopes de. II. Souza, Liliâne Pereira de.

CDU 001.2 : 616-022.6

CDD 616.241

NLM QW 168.5.C8

LOC RA644.C67

Marcelo Diniz – Bibliotecário – CRB 2/1533. Resolução CFB nº 184/2017.

Os conteúdos dos capítulos são de responsabilidades dos autores e autoras.

Revisão de texto: os autores.

Conselho Científico da Editora Inovar:

Franchys Marizethe Nascimento Santana (UFMS/Brasil); Jucimara Silva Rojas (UFMS/Brasil); Maria Cristina Neves de Azevedo (UFOP/Brasil); Ordália Alves de Almeida (UFMS/Brasil); Otília Maria Alves da Nóbrega Alberto Dantas (UnB/Brasil).

Editora Inovar

www.editorainovar.com.br

79002-401 - Campo Grande – MS

2020

A SOCIEDADE EM TEMPOS DE COVID-19

BIOTECNOLOGIA

CAPÍTULO 1

ANÁLISE DA AFINIDADE MOLECULAR DO MEDICAMENTO ATAZANAVIR FRENTE À
PROTEÍNA-CHAVE 3CL^{PRO} DO SARS-COV-2ANALYSIS OF THE MOLECULAR AFFINITY OF THE DRUG ATAZANAVIR AGAINST THE KEY PROTEIN 3CL^{PRO}
OF SARS-COV-2Joabe Lima Araújo¹
Alice de Oliveira Sousa²
Lucas Aires de Sousa³
Gardênia Taveira Santos⁴

RESUMO: Em Wuhan, China, ocorreu um surto de pneumonia decorrente de infecções por SARS-CoV-2, que até o dia 28 de junho de 2020 já infectou cerca de 10.012.244 pessoas, levando 499.342 a óbito. Diante disso, ainda não existe tratamento para essa doença. Assim, este estudo teve como objetivo elucidar a melhor orientação de ajuste de encaixe e afinidade molecular do medicamento atazanavir frente à proteína-chave 3CL^{PRO} do SARS-CoV-2. O acoplamento foi realizado pelo software *Autodock Tools*. A proteína 3CL^{PRO} foi considerada rígida e o atazanavir flexível. O algoritmo genético lamarckiano com busca global e pseudo-Solis e Wets com busca local foram adotados para este estudo. Foi elucidado forte afinidade do atazanavir ao se ligar à proteína 3CL^{PRO}, apresentando energia livre de ligação de -6,47 Kcal.mol⁻¹ e constante de inibição de 18,2 µM. Mostrando possuir potencial biológico, sendo necessária análise *in vitro* para elucidar sua ação inibitória frente a células do SARS-CoV-2.

Palavras-chave: SARS-CoV-2, COVID-19, coronavírus, acoplamento molecular, pandemia.

ABSTRACT: In Wuhan, China, there was an outbreak of pneumonia due to SARS-CoV2 infections, which by June 28, 2020 had already infected about 10,012,244 people, leading to 499,342 deaths. Therefore, there is still no treatment for this disease. Thus, this study aimed to elucidate the best fit adjustment and molecular affinity orientation of the drug atazanavir against the key protein 3CL^{PRO} from SARS-CoV-2. The coupling was performed using the *Autodock Tools* software. The 3CL^{PRO} protein was considered rigid and atazanavir flexible. The Lamarckian genetic algorithm with global search and pseudo-Solis and Wets with local search were adopted for this study. A strong affinity of atazanavir when binding to the 3CL^{PRO} protein was elucidated, presenting a free binding energy of -6.47 Kcal.mol⁻¹ and an inhibition constant of 18.2 µM. Showing to have biological potential, being necessary an *in vitro* analysis to elucidate its inhibitory action against SARS-CoV-2 cells.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, coronavirus, molecular docking, pandemic.

INTRODUÇÃO

Em dezembro de 2019 em Wuhan, na China, ocorreu um surto de pneumonia aguda grave decorrente de infecções pelo novo coronavírus denominado de SARS-CoV-2, que se disseminou por todo o mundo (Zhu et al., 2020). Posteriormente em 11 de Março de 2020 a Organização Mundial da Saúde (OMS) classificou o problema sanitário como pandemia (Neher et

¹Programa de Pós-Graduação em Nanociência e Nanobiotecnologia, Departamento de Genética e Morfologia, s/n Campus Universitário Darcy Ribeiro, Universidade de Brasília, Brasília, DF 70910-900, Brasil.

²Grupo de Pesquisa em Ciências Naturais e Biotecnologia, Universidade Federal do Maranhão, s/n Avenida Aurila Maria Santos Barros de Sousa, Frei Alberto Beretta, Grajaú, MA 65940-000, Brasil.

³Grupo de pesquisa em Química Medicinal e Biotecnologia, QUIMEBIO, s/n Universidade Federal do Maranhão, São Bernardo, MA 65550-000, Brasil.

* Email de correspondência: joabearaujobiotec@gmail.com

⁴Grupo de Pesquisa em Ciências Naturais e Biotecnologia, Universidade Federal do Maranhão, s/n Avenida Aurila Maria Santos Barros de Sousa, Frei Alberto Beretta, Grajaú, MA 65940-000, Brasil.

³ Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, Centro de Ciências Sociais, Saúde e Tecnologia, s/n Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz, MA 65900-410, Brasil.

⁴ Departamento de Enfermagem, Universidade Estadual do Maranhão, Colinas, MA 65690-000, Brasil.

al., 2020). De acordo com o painel do Centro de Ciência e Engenharia de Sistemas (CCES) (<https://coronavirus.jhu.edu/map.html>) da Universidade Johns Hopkins (UJH), o vírus já infectou cerca de 10.012.244 pessoas até o dia 28 de junho de 2020 e, levou a morte de aproximadamente 499.342 pessoas.

O SARS-CoV-2 faz parte da espécie de coronavírus WV1 do tipo SARS, um coronavírus com 125 nm apresentando-se maior do que os vírus influenza, SARS e MERS. Esta nova cepa partilha 79,5% da sequência genética do SARS-CoV e 96,2% de correlação com coronavírus específicos em morcegos, apontando uma provável descendência do vírus *Rhinolophus* (Del & Malani, 2020). Os aspectos clínicos e radiológicos comumente encontrados nos pacientes infectados são: febre, tosse, dispnéia, mialgia, confusão, cefaléia, inflamação na garganta, rinorreia, dor no peito, diarreia, perda do olfato e paladar, náuseas, vômitos e opacidade radiológica do pulmão em vidro fosco em casos mais graves (Corman et al., 2019).

A transmissão pode ocorrer pela proximidade e o contato entre pessoas desprotegidas com a presença de secreções ou excreções, principalmente através de gotículas salivares (Del & Malani, 2020). A transmissão do COVID-19 através de outros fluidos corporais ainda não foi elucidada, entretanto, são tomadas medidas preventivas pelos profissionais da saúde levando em consideração o risco de serem infectados ao ter contato desprotegido com sangue, fezes, vômitos e urina de pacientes, sendo obrigatório o uso de equipamento de proteção individual (EPI) no enfrentamento da doença (Schwartz et al., 2020).

Até o presente momento, não há tratamentos efetivos para o SARS-CoV-2, sendo prioridade para cientistas descobrirem uma alternativa eficaz de tratamento (Pacheco et al., 2020). Associado a isso, a técnica de reposicionamento de fármacos se torna atrativo em estudos de atividade biológica contra o SARS-CoV-2, por obter resultados preliminares a curto e médio prazo (Araújo et al., 2020a). Nas pesquisas efetuadas por Xing et al. (2020) e Beck et al. (2020), foi utilizado uma abordagem computacional que buscou identificar medicamentos com potencial biológico para tratar o SARS-CoV-2. Dentre os medicamentos recomendados, o atazanavir foi apontado como possível alternativa de enfrentamento ao COVID-19.

Dessa forma, temos como hipótese que o medicamento atazanavir possa apresentar afinidade molecular frente à proteína 3-quimotripsina (3CL^{pro}) que é responsável por mediar a replicação e transcrição viral do SARS-CoV-2. Assim, este estudo tem como objetivo elucidar a melhor orientação de ajuste de encaixe e afinidade molecular do medicamento atazanavir frente à proteína-chave 3CL^{pro} do SARS-CoV-2.

METODOLOGIA

Obtenção da geometria molecular do atazanavir empregando-se de cálculos DFT.

A estrutura química do atazanavir foi projetada utilizando o software *GaussView 5.0* (Araújo et al., 2020b), gerando as matrizes de coordenadas cartesianas. Após, foi submetido a cálculos quânticos pelo software *Gaussian 09W* (Araújo et al., 2019) utilizando o método DFT e o conjunto de bases 6-311++(d,p) de forma a obter a estrutura química tridimensional do

medicamento para realização do acoplamento molecular, conforme apresentado no protocolo de Araújo et al. (2020c).

Interação molecular entre o atazanavir e a proteína-chave 3CL^{pro} do SARS-CoV-2 por Docking molecular.

A proteína-alvo 3CL^{pro} foi obtida por meio do banco de dados do Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>) (Kirchner & Güntert, 2011). Em seguida, foi realizada a remoção de moléculas de água, íons e outros resíduos, através do software *CHIMERA v.13.1* (Morris et al., 2008) deixando a estrutura proteica “limpa” e preparada para receber o ligante. O processo de acoplamento molecular seguiu o método adotado por Fideles et al. (2020), utilizando o software *Autodock Tools (ADT) versão 1.5.6*. A proteína 3CL^{pro} foi considerada rígida e o atazanavir foi considerado flexível. O algoritmo genético lamarckiano (LGA) com busca global e pseudo-Solis e Wets com busca local foram adotados para este docking, sendo realizadas 100 execuções independentes na simulação (Ramos et al., 2012). Os demais parâmetros de encaixe molecular foram definidos com valores padrão. A análise de interação molecular focou na efetividade do encaixe do medicamento a proteína-alvo, sendo elucidado a região ativa da proteína 3CL^{pro} e os tipos de ligações formada com o medicamento atazanavir.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O atazanavir apresentou potencial biológico frente ao SARS-CoV-2. Um vírus de RNA de sentido positivo e cadeia simples, tendo genoma semelhante à de outros *β-coronavírus* (Chen, Liu & Guo, 2020). Possuindo 89,10% de similaridade nucleotídica com genes do SARS-CoV (Wu et al., 2020). Normalmente, após a transcrição do genoma é produzido polipeptídeo de ~800 kDa, este polipeptídeo é fundamental no processo de produção de novas proteínas, sendo dependente das proteases do tipo papaína (PL^{pro}) e 3-quimotripsina (3CL^{pro}) que realizam a mediação do processamento proteolítico. O 3CL^{pro} cliva a poliproteína em 11 locais distintos para serem produzidas novas proteínas não estruturais que são essenciais no processo de replicação viral (Anand et al., 2003). Deste modo, sua inibição impediria a replicação viral do SARS-CoV-2 no organismo, onde podemos observar forte afinidade molecular do medicamento atazanavir ao se ligar com a proteína 3CL^{pro}, apresentando energia livre de ligação de -6,47 Kcal.mol⁻¹ e constante de inibição de 18,2 μM (Tabela 1).

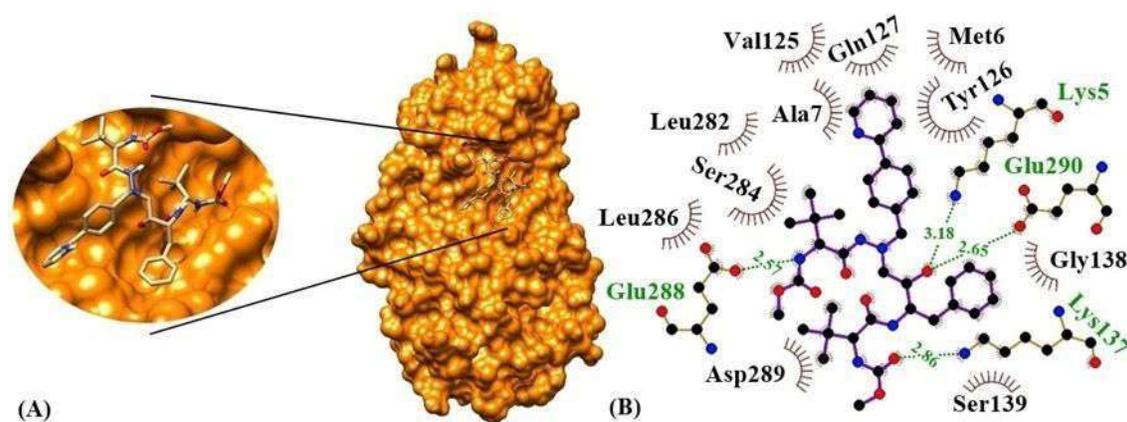
Tabela 1. Parâmetro de afinidade molecular para o medicamento atazanavir e a proteína 3CL^{pro} do SARS-CoV-2.

Complexo (ligante-proteína)	ΔG_{bind}^a (kcal.mol ⁻¹)	K_i^b (μM)	Execuções independentes	Número de conformações no primeiro cluster	Interação de aminoácidos através de ligações de hidrogênio
Atazanavir-3CL ^{pro}	-6,47	18,2 μM	100	1	Lys5, Lys137, Glu290, Glu288

Fonte: Desenvolvido pelos próprios autores.

A sua afinidade molecular foi analisada, onde a interação entre o atazanavir e a proteína 3CL^{pro} formaram 4 pontes de hidrogênio nos resíduos de aminoácidos Ly5, Lys137, Glu290 e Glu288 (Figura 1B). Este último resíduo de aminoácido (Glu288) é o local que sofre maior dano na proteína 3CL^{pro} se tornando um local atrativo para inibir a principal proteína do SARS-CoV-2, com interações intensas por ponte de hidrogênio, onde o medicamento age com sua atividade farmacológica atuando no local e provocando danos na região (Hoog et al., 1997).

Figura 1. Acoplamento molecular entre a proteína 3CL^{pro} e o atazanavir: A) Local do encaixe molecular na proteína-alvo; B) Interação molecular entre o atazanavir e a proteína 3CL^{pro} do SARS-CoV-2.



Fonte: Desenvolvido pelos próprios autores.

Estes resultados sugerem estudos *in vitro* com o medicamento para avaliar sua ação inibitória frente a células do SARS-CoV-2. Sabendo que este medicamento já está disponível no mercado farmacêutico para o tratamento de infecções pelo vírus da imunodeficiência humana (Taburet et al., 2004), se tornam vantajosos estudos clínicos devido à necessidade atual em descobrir um agente inibidor do SARS-CoV-2.

CONCLUSÃO

Foi possível elucidar através de estudo por docking a efetividade do encaixe molecular do medicamento atazanavir à proteína-chave 3CL^{pro} do SARS-CoV-2 com energia livre de ligação estável e ação inibitória no sítio ativo da proteína, sendo as interações por ligação de hidrogênio as mais intensas. Assim, a ação farmacológica do medicamento age mais intensamente nos resíduos de aminoácidos Lys5, Lys137, Glu290 e Glu288, apresentando potencial biológico contra o SARS-CoV-2, sendo necessária análise *in vitro* para elucidar sua ação inibitória frente a células do SARS-CoV-2.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA) pelo apoio à bolsa de estudos. Os autores também agradecem a Universidade de Brasília (UnB), Universidade Federal do Maranhão (UFMA) e Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) pelo incentivo a pesquisa e desenvolvimento científico.

REFERÊNCIA

Anand K, et al. Coronavirus main proteinase (3CL^{pro}) structure: basis for design of anti-SARS drugs. **Science**, v. 300, n. 5626, p. 1763-1767, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.1085658>

Araújo J. L, et al. Evaluation by Molecular Docking of Inhibitors of the Enzyme Pteridine Reductase 1 from Leishmania. **Revista Prevencao de Infeccao e Saúde**, v. 5, p. e9056, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.26694/repis.v5i0.9056>

Araújo J. L, et al. DFT, molecular docking, and ADMET screening investigations of market-available drugs against SARS-CoV-2. **Journal of Infection**, [enproof], 2020a.

Araújo J. L, et al. Predição computacional de alvos moleculares de um complexo metálico de rutênio com epiisopiloturina e óxido nítrico. **Revista de Saúde**, v.11, n. 1, p. 42-48, 2020b. Disponível em: <https://doi.org/10.21727/rs.v11i1.2197>

Araújo J. L, et al. Molecular Docking and Evaluation of Antileishmania Activity of a Ruthenium Complex with Epiisopiloturine and Nitric Oxide. **Journal of Biosciences and Medicines**, v. 8, n. 5, p. 42-53, 2020c. Disponível em: <https://doi.org/10.4236/jbm.2020.85005>

Beck B. R, et al. Predicting commercially available antiviral drugs that may act on the novel coronavirus (SARS-CoV-2) through a drug-target interaction deep learning model. **Computational and structural biotechnology journal**, v. 18, p. 784-790, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2020.03.025>

Chen Y, Liu Q & Guo D. Emerging coronaviruses: genome structure, replication, and pathogenesis. **Journal of medical virology**, v. 92, n. 4, p. 418-423, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jmv.25681>

Corman V. M, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. **Eurosurveillance**, v. 25, n. 3, p. 2000045, 2020. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.2807%2F1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>

Del R. C & Malani P. N. 2019 novel coronavirus-important information for clinicians. **Jama**, v. 323, n. 11, p. 1039-1040, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/jama.2020.1490>

Fideles L. de S, et al. Role of Rutin in 5-Fluorouracil-Induced Intestinal Mucositis: Prevention of Histological Damage and Reduction of Inflammation and Oxidative Stress. **Molecules**, v. 25, p. 2786e, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules25122786>

Hoog S. S, et al. Active site cavity of herpesvirus proteases revealed by the crystal structure of herpes simplex virus protease/inhibitor complex. **Biochemistry**, v. 36, n. 46, p. 14023-14029, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/bi9712697>

Kirchner D. K & Güntert, P. Objective identification of residue ranges for the superposition of protein structures. **BMC bioinformatics**, v. 12, n. 1, p. 1-11, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>

Morris G. M, Huey R., Olson A. J. Using autodock for ligand-receptor docking. **Current protocols in bioinformatics**, v. 24, n. 1, p. 8.14. 1-8.14. 40, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/0471250953.bi0814s24>

Neher R. A, et al. Potential impact of seasonal forcing on a SARS-CoV-2 pandemic. **Swiss medical weekly**, v. 150, n. 1112, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.4414/smw.2020.20224>

Pacheco T. J. A, et al. Panorama mundial de estudos com a hidroxicloroquina para o tratamento da COVID-19. **Journal of Health & Biological Sciences**, v. 8, n. 1, p. 1-4, 2020. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.12662/2317-3076jhbs.v8i1.3288.p1-4.2020>

Peirano G, et al. Characteristics of Escherichia coli sequence type 131 isolates that produce extended-spectrum β -lactamases: global distribution of the H30-Rx sublineage. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 58, n. 7, p. 3762-3767, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AAC.02428-14>

Ramos R. M, et al. Interaction of wild type, G68R and L125M isoforms of the arylamine-N-acetyltransferase from Mycobacterium tuberculosis with isoniazid: a computational study on a new possible mechanism of resistance. **Journal of molecular modeling**, v. 18, n. 9, p. 4013-4024, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00894-012-1383-6>

Schwartz A, et al. Decontamination and reuse of N95 respirators with hydrogen peroxide vapor to address worldwide personal protective equipment shortages during the SARS-CoV-2 (COVID-19) pandemic. **Applied Biosafety**, v. 25, n. 2, p. 67-70, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1177%2F1535676020919932>

Taburet A.M, et al. Interactions between atazanavir-ritonavir and tenofovir in heavily pretreated human immunodeficiency virus-infected patients. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 48, n. 6, p. 2091-2096, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AAC.48.6.2091-2096.2004>

Wu F, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. **Nature**, v. 579, n. 7798, p. 265-269, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2008-3>

Xing J, et al. Reversal of Infected Host Gene Expression Identifies Repurposed Drug Candidates for COVID-19. bioRxiv, 2020a. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1101%2F2020.04.07.030734>

Zhou F, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. **The lancet**, v. 395, n. 10229, p. 1054-1062, 2020. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30566-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3)

Zhu N, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. **New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 8, p. 727-733, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001017>