

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, Liliane 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, Liliane 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 2

ESTUDO DE DOCKING MOLECULAR COM O FÁRMACO CLOROQUINA FRENTE À
PROTEÍNA-CHAVE 3CL^{PRO} DO SARS-COV-2MOLECULAR DOCKING STUDY WITH THE DRUG CHLOROQUINE AGAINST THE KEY PROTEIN 3CL^{PRO} OF
SARS-COV-2

Joabe Lima Araújo¹
Alice de Oliveira Sousa²
Lucas Aires de Sousa³
Gardênia Taveira Santos⁴

RESUMO: Em Wuhan, China, um paciente foi diagnosticado com sintomas atípicos de pneumonia viral. A amostra encontrou um novo coronavírus, chamado de novo coronavírus 2019 (nCoV-2019). Em meio a isso, os cientistas estão procurando alternativas eficazes para lidar com a doença, pois ainda não existem medicamentos para o COVID-19. Assim, este estudo teve como objetivo elucidar o melhor ajuste e orientação da afinidade molecular da droga cloroquina frente à proteína 3CL^{PRO} do novo coronavírus. O acoplamento molecular foi realizado usando o software *Autodock Tools*. A proteína 3CL^{PRO} foi considerada rígida e a cloroquina flexível. Os resultados mostram forte interação da ponte de hidrogênio, obtendo afinidade de cloroquina com a proteína 3CL^{PRO}, energia de ligação livre de -5,59 Kcal.mol⁻¹ e constante de inibição de 79,37 μM, além de possuir potencial biológico promissor, sendo necessária uma análise *in vitro* para medir a eficácia de sua ação inibitória contra células SARS-CoV-2.

Palavras-chave: SARS-CoV-2, coronavírus, acoplamento molecular, afinidade molecular, cloroquina.

ABSTRACT: In Wuhan, China, a patient was diagnosed with atypical symptoms of viral pneumonia. The sample found a new coronavirus, which was called the new coronavirus 2019 (nCoV-2019). In the midst of this, scientists are looking for effective alternatives for coping with the disease, as there are still no drugs for COVID-19. Thus, this study aimed to elucidate the best fit adjustment and molecular affinity orientation of the drug chloroquine against the 3CL^{PRO} protein of the new coronavirus. Molecular docking was performed using the *Autodock Tools* software. The 3CL^{PRO} protein was considered rigid and chloroquine flexible. The results show strong hydrogen bridge interaction, obtaining chloroquine affinity with the 3CL^{PRO} protein, free binding energy of -5.59 Kcal.mol⁻¹ and inhibition constant of 79.37 μM, in addition, it has promising biological potential, being necessary an *in vitro* analysis to measure the effectiveness of its inhibitory action against SARS-CoV-2 cells.

Keywords: SARS-CoV-2, coronavirus, molecular docking, molecular affinity, chloroquine.

INTRODUÇÃO

Em dezembro de 2019, um paciente foi diagnosticado com sintomas atípicos de uma pneumonia viral em Wuhan, China. No dia 31 de dezembro o escritório da Organização Mundial da Saúde (OMS) situado em Pequim, identificou um grupo de pessoas que apresentavam os mesmos sintomas de pneumonia (Paules, Marston & Fauci, 2020). Posteriormente, cientistas do

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.

Grupo 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.

Grupo 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

² Grupo 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.

Instituto de Virologia de Wuhan fizeram análises metagenômicas utilizando o sequenciamento de uma amostra recolhida de um lavado broncoalveolar. Essa amostra identificou um novo coronavírus, que foi chamado de novo coronavírus 2019 (nCoV-2019) (Baek et al., 2020).

De acordo com o Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus os coronavírus fazem parte da subfamília *Coronavirinae* e da ordem *Nidovirales*, na qual se divide em quatro gêneros: *Alphacoronavirus*, *β-coronavirus*, *Gammacoronavirus* e *Deltacoronavirus*. Os dois primeiros gêneros acometem apenas os mamíferos, enquanto os dois últimos acometem aves (Zhu et al., 2020; Chen, Liu & Guo, 2020).

Os principais sintomas gerados pela COVID-19 são: febre, tosse, resfriado, dificuldade para respirar e em casos mais graves desenvolve uma pneumonia. Estes mesmos sintomas foram observados nos primeiros 41 casos de indivíduos hospitalizados em Wuhan (Huang et al., 2020). O vírus já atingiu aproximadamente 10.015.904 pessoas em todo o mundo, ocasionando um total de 499.486 óbitos, segundo o Painel COVID-19 do Centro de Ciência e Engenharia de Sistemas da Universidade de Johns Hopkins, Estados Unidos (<https://coronavirus.jhu.edu/map.html>). Observando a necessidade de controle da doença devido sua rápida propagação e acometimento, pesquisas científicas estão sendo produzidas em diferentes países para suprir a falta de um tratamento com uso de fármacos específicos para combater a doença (Pacheco et al., 2020).

Na busca por interações potenciais medicamentosas para tratar a COVID-19, está à técnica de reposicionamento de fármacos já disponíveis no mercado farmacêutico, uma alternativa que visa o tratamento antiviral, pois, já é sabido sobre os seus efeitos colaterais, posologia e interações (Cattani, 2020). Dentre os fármacos em potencial tem-se a cloroquina, que se mostrou eficaz em estudos, com ação contra o SARS-CoV-2 (Colson, Rolain & Raoult, 2020).

Técnicas computacionais como o docking molecular estão sendo essenciais para reaproveitamento e planejamento de fármacos para tratar o vírus. Esta técnica permite e oferece uma investigação da interação entre um ligante e uma proteína-chave (Sekhar et al., 2020). Além de ser uma ferramenta que promove um processo de busca eficiente, chegando a diminuir 50% dos gastos com equipamentos e reagentes, obtém também, resultados em curto prazo da ação biológica de um determinado composto (Wang et al., 2020). Em razão disto, o estudo teve como objetivo elucidar o melhor ajuste e orientação da afinidade molecular da droga cloroquina frente à proteína 3CL^{pro} do novo coronavírus.

METODOLOGIA

Obtenção da geometria molecular da cloroquina empregando-se de cálculos DFT.

A estrutura química da cloroquina foi projetada utilizando o software *GaussView 5.0* (Araújo et al., 2020a), gerando as matrizes de coordenadas cartesianas correspondentes para geração de arquivos de entrada para os cálculos computacionais. Em seguida ocorreu à otimização de geometria empregando-se o método DFT (*Functional Density Theory* – Teoria do Funcional da Densidade) (Hohenberg & Kohn, 1964; Kohn & Sham, 1965) fazendo uso do funcional B3LYP do conjunto de funções de base 6-311++G(d,p) como disponível no software

Gaussian 09W (Araújo et al., 2019), as geometrias otimizadas foram usadas como entrada para as simulações de acoplamento molecular, conforme apresentado no protocolo de Araújo et al. (2020b).

Interação molecular entre a cloroquina 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 & Guntert, 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 a cloroquina 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 cloroquina.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A cloroquina tem chamado atenção através de estudos realizados com possível benefício, sendo um medicamento antimalárico, que por sua vez vem ganhando destaque, além de ser bastante citado em publicações como forma de tratamento de pacientes infectados por SARS-CoV-2 (Colson et al., 2020). Vale ressaltar que a comunidade científica deve considerar essas informações à luz de trabalhos anteriores com cloroquina no campo da pesquisa antiviral.

Os resultados de energia livre de ligação, constante de inibição e ligações por ponte de hidrogênio estão disponíveis na Tabela 1. Os resultados evidenciam uma afinidade molecular para a principal proteína do SARS-CoV-2 um *β-coronavírus* de RNA não segmentado e de sentido positivo (subgênero *sarbecovirus*, subfamília *Orthocoronavirinae*) (Cui et al., 2019)

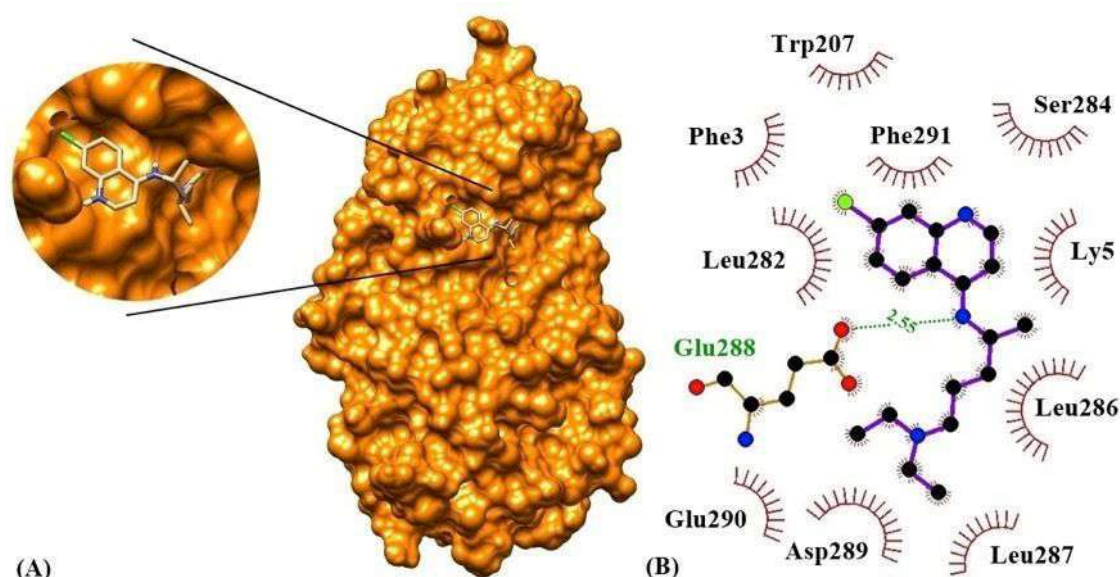
Tabela 1. Parâmetro de afinidade molecular para o medicamento cloroquina e a proteína 3CL^{pro} do SARS-CoV-2.

Complexo (ligante-proteína)	ΔG_{bind}^a (kcal.mol ⁻¹)	K _i ^b (μM)	Execuções independent es	Número de conformações no primeiro cluster	Interação de aminoácidos através de ligações de hidrogênio
Cloroquina - 3CL ^{pro}	-5,59	79,37 μM	100	61	Glu288

Fonte: Desenvolvido pelos próprios autores.

Com uma energia livre de ligação de $-5,59 \text{ Kcal.mol}^{-1}$ e uma constante de inibição de $79,37 \mu\text{M}$ (Tabela 1), os resultados de afinidade da cloroquina com a proteína 3CL^{pro} do SARS-CoV-2 mostram uma forte interação por ponte de hidrogênio no resíduo de aminoácido Glu288 (Figura 1B) e energia livre de ligação estável, indicando que esta age intensamente no local ativo da proteína-chave do patógeno (Figura 1A). Este resíduo de aminoácido Glu288 é o local com maior dano na proteína 3CL^{pro} tornando-se um local atrativo para inibir a principal proteína do SARS-CoV-2, onde o medicamento age com sua atividade farmacológica atuando no local e provocando danos na região, além disso, podendo obter uma alta capacidade de ligação à proteína principal, responsável por catalisar o processamento da poliproteína viral e, portanto, inibir a infecção viral por SAR-CoV-2 em humanos (Hoog et al., 1997)

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



Fonte: Desenvolvido pelos próprios autores.

A partir da geometria otimizada com o método DFT, a cloroquina foi usada como entrada para as simulações de acoplamento molecular, sendo, portanto, fundamental na verificação do medicamento em interação com a proteína por meio de ligações de hidrogênio. Assim, estes resultados sugerem estudos *in vitro* com o intuito de poder avaliar sua ação inibitória contra o SARS-CoV-2. Estudos clínicos com a função e pela necessidade de descobrir um agente inibidor, se tornam vantajosos, uma vez que este medicamento já se encontra disponível no mercado farmacêutico para o tratamento da malária e lúpus (Ventura et al., 2003).

CONCLUSÃO

Verificou-se que o medicamento cloroquina, com a estrutura química otimizada via DFT, interage com a proteína-chave por meio de ligações de hidrogênio, conforme revelado nos

estudos de acoplamento. Deste modo, foi possível elucidar a interação através de estudo por docking a realização do encaixe molecular do medicamento à proteína-chave 3CL^{pro}, com energia de ligação estável e ação inibitória no sítio ativo da proteína. A ação farmacológica investigada do medicamento age mais intensamente no resíduo de aminoácido Glu288 apresentando possuir potencial biológico ativo contra proteína 3CL^{pro}, sendo necessária análise *in vitro* para a medição da eficácia de 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.

REFERÊNCIAS

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, 2020a. 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, 2020b. Disponível em: <https://doi.org/10.4236/jbm.2020.85005>

Baek Y. H, et al., Development of a reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification as a rapid early-detection method for novel SARS-CoV-2. **Emerging microbes & infections**, v. 9, n. 1, p. 998-1007, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1756698>

Cattani M, et al. Global coalition to accelerate COVID-19 clinical research in resource-limited settings. **Lancet**, p. 30798-4, 2020. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30798](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30798)

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>

Colson P. R. J & Raoult, D. Chloroquine for the 2019 novel coronavirus SARS-CoV-2. **International journal of antimicrobial agents**, v. 55, n. 3, p. 105923, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105923>

Colson P. R. J, et al. Cloroquina para o novo coronavírus SARS-CoV-2 de 2019. **Revista internacional de agentes antimicrobianos**, v. 55, n. 3, p. 105923, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105923>

Cui J, et al. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. **Nature Reviews Microbiology**, v. 17, n. 3, p. 181-192, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9>

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>

Hohenberg P, et al. Inhomogeneous electron gas. **Physical Review**, v. 136, n. 3B, p. B864, 1964. Disponível em: <https://doi.org/10.1103/PhysRev.136.B864>

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>

Huang C, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. **The lancet**, v. 395, n. 10223, p. 497-506, 2020. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)

Johns Hopkins University [website]. Coronavirus COVID-19 Global Cases by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE). [acesso em 28 jun. 2020]. Disponível em: <https://gisanddata.maps.arcgis.com/apps/opsdashboard/index.html#/bda7594740fd40299423467b48e9ecf6>

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>

Kohn W, et al. Self-consistent equations including exchange and correlation effects. **Physical Review**, v. 140, n. 4A, p. A1133, 1965. Disponível em: <https://doi.org/10.1103/PhysRev.140.A1133>

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>

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>

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: <http://dx.doi.org/10.12662/2317-3076jhbs.v8i1.3288.p1-4.2020>

Paules C. L, et al. Coronavirus infections—more than just the common cold. **Jama**, v. 323, n. 8, p. 707-708, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/jama.2020.0757>

Sekhar T, et al. One-pot synthesis of thiazolo [3, 2-a] pyrimidine derivatives, their cytotoxic evaluation and molecular docking studies. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 231, p. 118056, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118056>

Ventura D. F, et al. Color vision loss in patients treated with chloroquine. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 66, n. 5, p. 9-15, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0004-27492003000600002>

Wang X, et al. Discovery of the Novel Inhibitor Against New Delhi Metallo- β -Lactamase Based on Virtual Screening and Molecular Modelling. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 10, p. 3567, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms21103567>

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://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2001017>