

PREDIÇÃO *IN SILICO* DE COMPOSTOS BIOATIVOS CONTRA SARS-COV-2

Elcio Ferreira Santana¹
Hean Talles Souza Ferreira²
Adriano Carlos Soares³

professoradrianosoares@gmail.com

ÁREA DO CONHECIMENTO: Ciências da Saúde

RESUMO

A pandemia do novo coronavírus se mostrou contagiosa e letal na população humana nos últimos anos, a variante ômicron ou B.1.1.529 demonstrou algumas mutações na proteína *spike* (pico ou S), em seu domínio de ligação ao receptor na unidade S1 que apresentou maior afinidade a Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ECA2). Este estudo demonstrou a análise de proteínas e ligantes presentes em seus domínios para serem extraídos e analisados a partir do *docking* molecular para possível terapêutica, dentre as 22 proteínas, que apresentaram em seu domínio ligantes semelhantes ao da estrutura 7ZXU (obtida no *Protein Data Bank*). Na análise do índice de instabilidade, ponto isoelétrico e meia vida e *Grand Average of Hydropathicity* (GRAVY), no *software* suíço *ProtParam* foram refinados 5 compostos e seus ligantes, pela acetilação refinados 2 compostos e depois 1 deles apresentou ligante e sua estrutura foi validada e preparada. Seus ligantes foram extraídos no banco de dados *Protein Data Bank*, os resultados do *docking* por *AutoDock* demonstraram energia livre favorável aos aminoácidos e o *DockThor* mostrou uma energia diferente justificada pelo grupo ligado e algoritmo. Os resultados mostraram ligações aos aminoácidos inibidores o que sustentou a hipótese.

PALAVRAS-CHAVE: Variante ômicron, *docking* molecular, bioinformática.

INTRODUÇÃO

O novo coronavírus é um vírus causador da pandemia de SARS-COV-2 iniciada no ano de 2020, sua afinidade pela Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ECA2) permitiu que infectasse os seres humanos e causasse sinais e sintomas respiratórios, inclusive a síndrome respiratória aguda grave que é um dos fatores de

¹ Graduando em Farmácia do Centro Universitário Vértice - Univértix – Acadêmico do PIBIC/UNIVÉRTIX.

² Acadêmicos do curso de Farmácia - Centro Universitário Vértice - Univértix

³ Farmacêutico Bioquímico (UFOP), Cirurgião Dentista (UNIVÉRTIX); Doutor em Bioquímica Aplicada (Biotecnologia) (UFV); Mestre em Ciências Naturais e da Saúde (UNEC); Especialista em Docência do Ensino Superior (UCAM, RJ). Professor dos cursos de Farmácia, Psicologia, Enfermagem, Biomedicina e Odontologia do Centro Universitário Vértice – UNIVÉRTIX

risco para a saúde, principalmente idosos (KHAN *et al.*, 2020, WU *et al.*, 2020). Em sua região codificadora há duas regiões principais: pp1a (capaz de codificar proteínas NSP1 ao NSP11), pp1ab (codifica do NSP1 ao NSP16) e a região que codifica as proteínas estruturais M, S (*spike* ou pico), E, N (HAQ *et al.*, 2021, ROBSON *et al.*, 2020).

Com isso, a variante ômicron surgiu em 2021 como uma das mais preocupantes devido a sua alta taxa de contaminação. Esse fator levou a ondas de casos confirmados no mundo, em seu domínio de ligação ao receptor foi observado 15 mutações fundamentais para infecção, essas mutações dificultam o tratamento e a produção de vacinas para o combate (ALKHATIB *et al.*, 2022). Seu domínio de ligação ao receptor da proteína de membrana *spike* (pico) pode ser representado por uma sequência de 202 aminoácidos que em uma de suas pontas apresenta 25 aminoácidos responsáveis pela sua interação com a ECA2 para realizar a infecção e os resíduos 452 e 486 também participam da interação como potentes inibidores (HE *et al.*, 2021, TUEKPRAKHON *et al.*, 2022). A ômicron infelizmente ainda não possui uma vacina ou medicamento que combata o vírus diretamente, os avanços da tecnologia demonstram que a alta taxa de mutações na variante dificulta esse processo que ainda pode levar tempo o que preocupa muito os cientistas (KHAN *et al.*, 2020)

Observando esses dados, na área da bioinformática, softwares utilizam cálculos de dinâmica molecular, mecânica quântica, estatísticos e muitos outros, para realiza a predição *in silico* de compostos, evitando experimentação física. Isso economiza tempo e dinheiro em pesquisas para instituições educacionais, empresas e laboratórios (KAUR, MADGULKAR, BHALEKAR, ASGAONKAR, 2019).

Observando a urgência que a pandemia do novo coronavírus causou, se faz necessária a busca por compostos terapêuticos que auxiliem na luta contra esse vírus. Nesse sentido, o *docking* molecular (encaixe molecular) é uma técnica em que se utiliza uma molécula alvo e um ligante que irá fazer a interação com o alvo, esse *docking* permite obter as poses e as interações que ocorrem entre os compostos estudados e fornecendo assim dados para pesquisa de novos fármacos (SANOS, FERREIRA, CAFFARENA, 2019). É demonstrado que os estudos *in silico* são bastante eficientes, economizam tempo e dinheiro, o que é de suma importância visto

a urgência da pandemia, ao contrário de estudos *in vitro* que muitas das vezes são demorados e demandam enormes custos financeiros (SOARES, 2015). Portanto a abordagem de *docking* molecular permite a predição e triagem de compostos bioativos moleculares para combate a patógenos, visando a validação por cálculos muito bem estruturados e propriedades químicas dos compostos estudados (SANOS, FERREIRA, CAFFARENA, 2019). Logo, o objetivo deste estudo é a realização da predição *in silico* de compostos bioativos candidatos a novos compostos bioativos contra a proteína *spike* codificada pela variante ômicron do SARS-CoV-2 através do *docking* molecular.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Os vírus são parasitas intracelulares obrigatórios, devem de alguma forma adentrar na célula do hospedeiro para se reproduzir e proliferar a espécie (ADIL *et al.*, 2021). No vírus da COVID-19 há regiões codificadoras que são alvos de vários enfoques terapêuticos a ORF1a codificadora da PP1a e ORF1b ou ORF1ab codificadora da PP1ab. Uma das regiões codifica a proteína *spike* (S ou pico) que é um dos maiores alvos de possíveis agentes inibidores (TUEKPRAKHON *et al.*, 2022). Recentemente foi demonstrado que o composto 4-(2-hidroxiilo)-1-piperazina ácido elfnônico demonstrou atividade inibitória contra a proteína *spike* nas regiões 452 e 486 em seu domínio de ligação ao receptor, apresentando energia livre de ligação favorável e pose confirmada a partir de estudos *in silico* (SANTANA, SOARES, 2022).

Com a apresentação dessa energia e pontes de hidrogênio foi observada relevância na inibição da proteína *spike* da variante ômicron, esse é um grande passo para que posteriores estudos possam comprovar sua ação terapêutica (SANTANA, SOARES, 2022).

Alguns dos servidores mais sofisticados em bioinformática são utilizados para estudo ADMET (Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade) com grande eficácia, utilizando cálculos e aprendizado de máquina bem elaborados (DAOUD *et al.*, 2021). Os melhores para predição *in silico* desses parâmetros é o *SwissADME* (Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção Suíço) (<http://www.swissadme.ch/>) é um servidor suíço que a partir da estrutura molecular ou

código SMILES fornece todos os dados de Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção (IBRAHIM, UZAIRU, SHALLANGWA, ABECHI, 2021). Também é necessário o uso do servidor *ADMETlab* (<https://admetmesh.scbdd.com/>), esse também retorna dados de Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção, mas também os dados de Toxicidade (XIONG *et al.*, 2021).

METODOLOGIA

Essa pesquisa foi aprovada pelo Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica – PIBIC – Univértix.

Este trabalho consiste de um estudo experimental com abordagem quantitativa, procura delinear *softwares* que realizam cálculos de *docking* molecular para obtenção de afinidade da proteína *spike* com compostos bioativos. Sendo também uma pesquisa de caráter qualitativa (CATHALA, MOORLEY, 2018).

Para analisar compostos contra o novo coronavírus, é preciso buscar o *Receptor Binding Domain*, que indica o local exato da interação da proteína *spike* da variante ômicron (Lan *et al.*, 2020). A proteína complexada com um composto neutralizante pode ser obtida no *Protein Data Bank* (<https://www.rcsb.org/>), sendo utilizada como base para estudar novos ligantes e predizer novos compostos (SOARES, 2015).

Para obtenção de compostos semelhantes ao ligante é feita a busca no banco de dados *Uniprot (Universal Protein)*, a busca por proteínas que apresentem domínios funcionais com identidade favorável ao ligante (MORGAT *et al.*, 2020).

Os cálculos de alinhamento serão feitos a partir do *software BLAST (Basic Local Alignment Search Tools)* (Ferramenta Básica de Pesquisa de Alinhamento Local) (<https://www.uniprot.org/blast/>) que fornecerá alinhamento de proteínas semelhantes a obtida anteriormente e que estejam depositadas no banco de dados do *Swiss Prot (Proteínas Suíças)* (<https://www.sib.swiss/swiss-prot>) com estruturas validadas (SOARES, 2015). Posteriormente será feito o alinhamento dos dados obtidos no *software MEGA11 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis)* (Análise de Genética Evolutiva Molecular) (<https://www.megasoftware.net/>) que possibilitará a retirada de peptídeo de sinal, caso haja (TAMURA, STECHER, KUMAR, 2021).

Na predição de possíveis ancestrais comuns e relações de ancestralidade, o software *MEGA11* é capaz de fazer esse papel, com a sequência *FASTA* (sequência de aminoácidos de uma proteína) é possível fazer diferentes análises gerando uma *Topology Only* (SOARES, 2015).

O estudo de parâmetros físico-químicos é essencial para otimizar testes *in vitro*, poupando tempo e recursos. Os principais parâmetros de predição incluem o índice de estabilidade, ponto isoelétrico, meia-vida estimada e Grande Média de Hidropatia (GRAVY), obtidos através do software *ProtParam (Protein Parameters)* (Parâmetros Proteicos), disponível no Expsy (*Expert Protein Analysis System*) (<https://web.expasy.org/protparam/>) (DUTTA, BANERJEE, CHAKRABORTY, 2018).

O coronavírus necessita de uma acetilação importante na sua interação. Portanto, a predição destes locais é fundamental para o método de *docking* de melhor estado espacial entre as moléculas. Este visa prever interações em sítios de ligação e ativação das moléculas para melhorar a interação proteína-ligante. Diante disto, será utilizado o servidor *NetAcet (N-terminal acetylation in eukaryotic proteins)* (Acetilação N-terminal em proteínas eucarióticas) para realização deste procedimento (FOROUTAN *et al.*, 2021).

Esta etapa contribuirá no entendimento da percepção e recebimento celular, esse mecanismo ajuda a analisar como o possível composto bioativo irá “navegar” nos meios extracelulares e intracelulares. Para essa análise, será utilizado os servidores *Prediction of transmembrane helices in protein (TMHMM versão 2.0)*, <https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?TMHMM-2.0>) e a análise de seus depósitos no *Uniprot* para localização celular (FOROUTAN *et al.*, 2021).

Esta etapa será importante para conseguir a predição das conformações de enovelamento das moléculas com potencial bioativo e também da proteína alvo, então será possível obter uma noção de sua estrutura nas etapas seguintes. Usando o servidor e o *Secondary Structure Prediction – NPS (SOPMA)*, https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_sopma.html) será possível prever e validar a estrutura secundária. Servidores como o *Protein Data Bank* também oferecem uma estrutura secundária da variante ômicron e do coronavírus, o que facilitará a análise de *docking* molecular (GHAFFARI *et al.*, 2021).

Essa etapa tem como objetivo identificar a polaridade de cadeias laterais e hidrofobicidade, conseguir melhor alinhamento possível e determinar o modelo 3D. Sendo assim, será utilizado o banco de dados *SWISS-MODEL* onde essas proteínas serão validadas e refinadas a partir de seus depósitos e do gráfico de Ramachandran (MOTAMEDPOUR, DALIMI, PIRESTANI, GHAFARIFAR, 2020).

Após a predição de possíveis ligantes obtidos das proteínas até então preditas será realizado, o método de docagem (*docking* molecular) que visa a análise entre o ligante e a molécula alvo, estimando a afinidade ligante-molécula alvo (pontuação, *score*). Esta etapa utiliza a conformação e orientação do ligante (*pose*), analisando a complementariedade molecular entre o ligante e o alvo. O *software* utilizado será o *AutoDock* e o servidor *DockThor*, ambos com ligante rígido, conseguindo prever a energia de ligação e afinidade, respectivamente (GOODSELL, SANNER, OLSON, FORLI, 2020, GUEDES *et al.*, 2021).

Para esse processo são necessários alguns parâmetros fundamentais. Os parâmetros de cálculos considerados nessa função de busca serão: para o *DockThor* baseados no campo de força MMFF94S que realiza os cálculos a partir de sua função de avaliação, utilizando o sistema *grid* (*grade*) para representação do atrancamento mapeando as interações de Van Der Waals e eletrostáticas, gerando uma grade no local onde será direcionado o *Docking* a partir das coordenadas inseridas. Já para o *AutoDock* é utilizado cálculos uma função de avaliação híbrida (Empírico e Campo de Força), é gerada uma *grid box* (caixa de grade) formada na região tridimensional fornecida a partir das coordenadas inseridas e abrangendo o sítio alvo desejado, é possível fazer todas as ligações não rotacionáveis a partir da verificação dos ângulos de torção. Avaliando também a análise de campo de força (visando todas as interações entre o complexo). Para validação final, será utilizada as conformações e orientação do ligante (*pose*) no complexo, observado as energias de afinidade, Entropia e energia livre de ligação fornecidas no *AutoDock* e *DockThor* (GOODSELL, SANNER, OLSON, FORLI, 2020, GUEDES *et al.*, 2021).

A análise de resultados é o processo final no qual se busca obter a real validação do complexo ligante-molécula alvo predito no processo de *docking* molecular. Serão analisados os valores de pontuação no menor nível de energia

calculada do complexo, maior a estabilidade e melhor pose. É necessário ainda, analisar as interações ocorridas entre o ligante e o sítio de ligação, principalmente as ligações de hidrogênio que são extremamente importantes e outras. Essas análises demonstram como está sendo o reconhecimento molecular e permite a estruturação de pose. Por se tratar de um *docking* consenso, será buscada a energia de afinidade fornecida pelo *DockThor* e a energia livre do *AutoDock*. Caso os parâmetros sejam satisfatórios a molécula então apresentará um potencial bioativo contra a proteína analisada contra o SARS-CoV-2 (HEINZELMANN, GILSON, 2021).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

O banco de dados utilizado para a busca do ligante foi o *Protein Data Bank* (<https://www.rcsb.org/>), nele está depositado várias proteínas e assim foi procurado a proteína *spike* da variante ômicron. Foi encontrado a proteína *spike* complexada com anticorpo neutralizante com resolução de 1,78Å (PDB DOI: 10.2210/pdb7JMP/pdb) de onde havia o ligante com a nomenclatura: “2-acetamido-2-deoxy-beta-D-glucopyranose”, com fórmula molecular C₈ H₁₅ O₁₆ (TUEKPRAKHON *et al.*, 2022).

No banco de dados *UniprotKB* (<https://www.uniprot.org/help/uniprotkb>) o ligante foi pesquisado e resultou em 1 proteína com o ligante complexado com o código: Q96LB9, apresenta 340 resíduos de aminoácidos e os 17 primeiros sendo peptídeo de sinal. O alinhamento foi feito pelo servidor americano *BLASTP* que consegue alinhar os resíduos de aminoácidos e entregar proteínas com identidade desejada. Nessa busca foi utilizado como parâmetro serem proteínas depositadas no *Swiss Protein* (*SwissProt*) o que resultou num total de 36 proteínas. Como essas proteínas precisam ser refinadas foram considerados valores acima de 40% de identidade, resultou assim em 22 sequências de proteínas com os seguintes identificadores: Q96LB9, A1A547, Q96LB8, QOVB07, O75594, B5T255, Q8SPP7, O88593, Q9GK12, Q9JLN4, Q9VYX7, O76537, Q70PY2, Q765P3, Q70PR8, Q9VS97, Q9VXN9, Q765P4, Q8VCS0, Q866Y3, Q96PD5 e Q8SXQ7 (LIBERMAN, 2004). Após essa análise foi consultado no *Uniprot* a localização do peptídeo de sinal de cada proteína para que fossem removidos, logo após o software *PyMOL* (<https://www.schrodinger.com/produ>

[cts/pymol](#)) permitiu a edição de cada proteína para retirada dos mesmos. Posteriormente suas sequências de aminoácidos foram alinhadas novamente, para isso o software *MEGA11*. Alinhou os códons de todas elas. Em teste estatístico de significância feita pelo software *bioEstat 5.0* (<https://bioestat.software.informer.com/>) foi utilizado para o cálculo do *p-value* obtendo o resultado *p-value* < 0,0001 o que demonstra confiabilidade na pesquisa (SOARES, 2015).

Nessa fase, o software *MEGA11* a partir do alinhamento de códons, realizou a análise e construção da árvore, utilizou o método *Construct/Test Neighbor-Joining Tree* demonstrando que mesmo a diferença entre as espécies a linhagem evolutiva está conectada, apresentando ancestrais comuns (TAMURA, STECHER, KUMAR, 2021). Na análise de mutações foi observado que essas proteínas tiveram mutações sinônimas e não sinônimas (SOARES, 2015).

A análise físico-química foi adicionado as sequências *FASTA* de todas as 22 proteínas encontradas no servidor suíço *Swiss ProtParam ExPasy* na análise todas possuíam valor de *GRAVY* negativo (o que demonstrava caráter hidrofílico), ressalta que todas as proteínas são solúveis em água e que não levará a precipitação (KYTE, DOOLITTLE, 1982). O índice de instabilidade também foi feito para previsão de proteínas que são estáveis em sistemas biológicos, os valores considerados foram os menores que 40. Após a análise foram obtidos 8 compostos que apresentaram estabilidade e índice de instabilidade menores que 40, sendo elas: Q96LB8, Q9VYX7, O76537, Q765P3, Q70PR8, Q9VS97, Q765P4 e Q8VCS0 (HODA, TAJAJ, SALLAKU, 2021). Logo após foram analisados os pontos isoelétricos de cada proteína, visto que a solubilidade e repulsão elétrica são menores nesse ponto, portanto apresentarão precipitação e agregação maior. Para isso foram consideradas proteínas que não tivessem seu ponto isoelétrico entre 7 e 8 para evitar assim problemas no pH fisiológico e os resultados demonstraram que as proteínas consideráveis são: Q9VYX7 (pI= 6,58), O76537 (pI= 6,49), Q70PR8 (pI= 5,79), Q9VS97 (pI= 5,56) e Q8VCS0 (pI= 6,49). A meia-vida estimada destes compostos considerando sua cadeia N-terminal a partir da metionina por testes *in vivo* parametrizados, os valores encontrados foram respectivamente para as 5 proteínas descritas anteriormente: >20 horas (fermento, *in vivo*), > 10 horas (*Escherichia coli*, *in vivo*), >20 horas (fermento,

in vivo), > 10 horas (*Escherichia coli*, *in vivo*), >20 horas (fermento, *in vivo*), > 10 horas (*Escherichia coli*, *in vivo*), >20 horas (fermento, *in vivo*), > 10 horas (*Escherichia coli*, *in vivo*) e >20 horas (fermento, *in vivo*), > 10 horas (*Escherichia coli*, *in vivo*) (DUTTA, BANERJEE, CHAKRABORTY, 2018).

Foi relatado em estudos recentes que a proteína *spike* utiliza de uma maquinaria de acetilação para facilitar sua entrada na célula hospedeira. Com isso o *software* dinamarquês *NetAcet* 1.0 foi utilizado para predição devido seu alto grau de confiança, os resultados foram: proteínas Q9VS97 apresentou acetilação no contexto MTWIG e um *score* de 0,487 e a Q8VCS0 apresentou acetilação no contexto MKAWGA e um *score* de 0,479 (FOROUTAN *et al.*, 2021, ROUKA, GOURGOULIANIS, ZAROGIANNIS, 2021).

Com a previsão de domínios transmembrana para prever se essas proteínas são proteínas de transmembrana ou se estão em livre circulação, o servidor dinamarquês *TMHMM* 2.0 (<https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?TMHMM-2.0>) que ao acessar o servidor oferece um *plug-in* para o servidor *deepTMHMM* (<https://dtu.biolib.com/DeepTMHMM>) que fornece a previsão da localização de sequências de aminoácidos de uma proteína que podem ser hélices transmembrana utilizando o algoritmo *N-best*. Na pesquisa foram adicionadas a sequência *FASTA* das proteínas Q9VS97 e Q8VCS0 (que foram refinadas na etapa anterior) que foi obtida anteriormente no alinhamento e utilizada como *input* no *software*, ele então previu que as proteínas Q9VS97 e Q8VCS0 não são proteínas transmembrana. A localização celular é fornecida pelo banco de dados *UniprotKB* que ao digitar os códigos Q9VS97 e Q8VCS0 fornece informações sobre as proteínas, sendo então que na análise as proteínas se demonstraram excretadas e se localizam fora da célula (extracelular) (FOROUTAN *et al.*, 2021).

A avaliação da estrutura secundária demonstra os diversos tipos de estruturas que a proteína pode ter de acordo com a sua composição de resíduos de aminoácidos, eles de acordo com sua composição química podem ter alfa hélices, folhas beta, bobinas e giro. Para essa análise foi utilizado o servidor *PRABI-GERLAND RHONE-ALPES BIOINFORMATIC POLE GERLAND SITE (SOPMA)* onde através da sequência *FASTA* obtida anteriormente no alinhamento foi utilizada como *input* para

a análise. A proteína com o código Q9VS97 apresentou Hélice alfa (Hh) : 45 é 24,19%, 310 hélice, Vertente estendido (Ee): 35 é de 18,82%, Giro beta (Tt): 15 é de 8,06%, Bobina aleatória (Cc): 91 é de 48,92%, a proteína com o código Q8VCS0 apresentou Hélice alfa (Hh): 182 é de 34,34%, 310, Fio estendido (Ee): 66 é de 12,45%, Giro beta (Tt): 32 é de 6,04%, Bobina aleatória (Cc): 250 é de 47,17% (GHAFFARI *et al.*, 2021).

No modelo 3D todas estão depositadas no banco de dados suíço *Swiss Protein* (*SwissProt*) que fornece estruturas validadas das proteínas com parâmetros de confiabilidade. A estrutura 3D da proteína com o código Q9VS97 está depositada no *SwissProt* que está ligado a estrutura dessa proteína construída pelo maior banco de dados do mundo o *AlphaFold* (<https://alphafold.com/>) pelo código AF-Q9VS97-F1-model-v3 com confiança do modelo de 93,94 com a sua análise confirmada pela análise do gráfico de Ramachandran com 0,85 pontos (podendo ser maior com a retirada do peptídeo de sinal pois esta proteína está depositada com peptídeo de sinal onde suas estruturas secundárias não estão bem validadas, porém como o peptídeo de sinal foi retirado ele não irá interferir na validação) e também um modelo depositado com o código 2rkq.1.A com confiança de 92 com a sua qualidade validada com a análise do gráfico de Ramachandran que obteve 0,92 pontos. Já a proteína com o código Q8VCS0 também se encontra depositada no *SwissProt* com a sua estrutura ligada pelo *AlfaFold* pelo código AF-Q8VCS0-F1 com confiança de 81,14 com a sua qualidade foi confirmada através da análise do gráfico de Ramachandran que obteve 0,71 pontos e também há uma região de domínio depositada com o código 7nsz.1. A com confiança de 69 com a qualidade de 0,69 pontos confirmadas pela análise do gráfico de Ramachandran (MOTAMEDPOUR, DALIMI, PIRESTANI, GHAFFARIFAR, 2020).

Sendo assim, um ligante foi fornecido pela proteína 7nsz com o nome: 4-(2-hidroxiilo)-1-piperazina ácido elfnônico, o *docking* molecular foi feito utilizando o *software AutoDock* onde foram fornecidas a proteína *spike* (localizada na membrana do coronavírus) e o ligante foi otimizado e fornecido ao *software*, utilizando o protocolo para *docking* fornecido por ([AutoDock \(scripps.edu\)](http://Autodock.scripps.edu)), que foi interpretado e executado com êxito nas posições dos aminoácidos 452 (Arginina) e 456 (Valina). O *DockThor* também foi utilizado para *docking* e o ligante otimizado também foi fornecido, a

proteína alvo foi preparada no próprio servidor onde oferece recursos para o mesmo, foi obtido com êxito o *docking* nas posições 452 e 486 (GOODSELL, SANNER, OLSON, FORLI, 2020, GUEDES *et al.*, 2021).

Os resultados do *docking* demonstraram que pelo *AutoDock* nas posições 452 e 486 apresentaram energia livre de ligação: -5.50 kcal/mol e -3.99 kcal/mol, respectivamente, assim como está demonstrado na Figura 1.

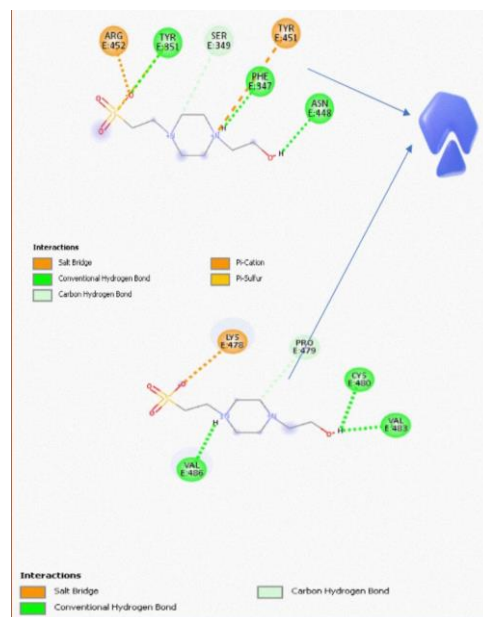


Figura 1: *Docking* molecular com *Autodock*.

O *DockThor* foi apresentado para as mesmas posições uma energia livre de ligação: -6. 471 Kcal/mol, demonstrado na Figura 2.

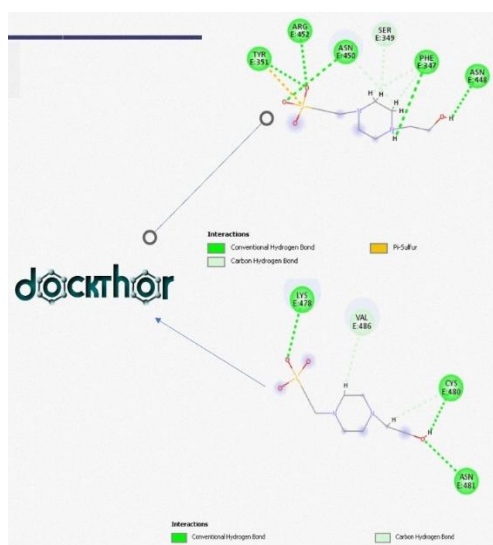


Figura 2: Docking molecular com DockThor.

Logo, a partir da validação por energia livre calculada pelo *AutoDock* o complexo proteína-ligante (*spike* com o ligante) apresenta afinidade na ligação devido a um processo espontâneo e seus valores negativos (GUEDES *et al.*, 2021). Os dados fornecidos pelo *DockThor* apresentando a energia de afinidade demonstraram a energia de ligação menores que o valor de referência citado, uma das explicações observadas foi que neste *software* houve a rotação de um dos carbonos da cadeia e que sua ligação, o algoritmo utilizado no *DockThor* foi diferente. Sendo os do *AutoDock* apesar de a posição 452 ligar ao grupo com enxofre a sua ligação foi pi-enxofre e da posição 486 foi ligação de hidrogênio (AHMAD *et al.*, 2021).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As proteínas são grandes fontes de compostos complexados e podem fornecer bastantes informações. Dentro do contexto do SARS-COV-2, a proteína *spike* da variante ômicron se mostrou um importante alvo terapêutico, sendo ela bastante estudada em todo mundo. Os dados de *docking* molecular forneceram pelo *AutoDock* energias de ligação favoráveis que permite observar um potencial ligação nas posições 452 e 486 do domínio de ligação ao receptor da proteína *spike*. O *DockThor* chegou a um valor menor devido a sua ligação ser em local diferente pois a ligação do aminoácido Valina ao ligante se dá em um carbono e é uma ligação *carbon*

hydrogen bond (ligação carbono hidrogênio), ao contrário do *Autodock* que se ligou a uma região nitrogenada no ligante formando uma *Conventional hydrogen bond* (ligação de hidrogênio convencional) e o fato de o *AutoDock* possuir uma função de busca híbrida. Portanto, é possível concluir que esta pesquisa forneceu dados de extrema importância para um possível inibidor da proteína *spike* da variante ômicron do SARS-CoV-2 através do *docking* molecular. Entretanto, esses dados são muito importantes e estudos posteriores são fundamentais para maiores confirmações.

REFERÊNCIAS

ADIL, M. *et al.* SARS-CoV-2 and the pandemic of COVID-19. **Postgraduat Medical Journal**. Luton, Reino Unido, v. 97, n. 1144, p. 110-116. 25 de janeiro de 2021.

AHMAD, S. *et al.* Molecular screening of glycyrrhizin-based inhibitors against ACE2 host receptor of SARS-CoV-2. **Journal of Molecular Modeling**. Peshawar, Paquistão, v. 27, nº 7, p.206-219. Junho de 2021.

ALGHAMDI, H. *et al.* Repurposing the inhibitors of COVID-19 key proteins through molecular docking approach. **Process Biochem**. Abha, Arábia Saudita, v. 1, nº 10, p. 216-222. Novembro de 2021.

ALKHATIB, M. *et al.* Update on SARS-CoV-2 Omicron Variant of Concern and Its Peculiar Mutational Profile. **Microbiology Spectrum**. Roma, Itália, v.10, nº 2, p. 2732-2749. Março de 2022.

ANAND, R.; RAGHUWANSHI, R. Insights into the molecular docking study of Wedelolactone to improve the performance of computer-aided drug design. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**. Allahabad, Índia, v. 7, nº 2, p. 798- 806. Abril de 2016.

BARRETO-VIEIRA, D. *et al.* SARS-CoV-2: Ultrastructural Characterization of Morphogenesis in an In Vitro System. **Viruses**. Rio de Janeiro, Brasil, v.14, nº 2, p.0. Janeiro de 2022.

CATHALA, X.; MOORLEY, C. How to appraise quantitative research. *Evid Based Nurs*. **Evidence-Based Nursing**. Londres, Reino Unido, v. 21, nº4, p. 99-101. Outubro de 2018.

DUTTA, B.; BANERJEE, A.; CHAKRABORTY, P.; BANDOPADHYAY, R. In silico studies on bacterial xylanase enzyme: Structural and functional insigh. **Journal of Genetic Engineering & Biotechnology**. Bengala Ocidental, Índia, v.16, nº2, p. 749-756. Dezembro de 2018.

FOROUTAN, M. *et al.* Bioinformatics analysis of calcium-dependent protein kinase 4 (CDPK4) as *Toxoplasma gondii* vaccine target. **BMC research notes**. Behbahan, Irã, v.14, n.1, p.1-9, 2021. Disponível no endereço eletrônico: <https://doi.org/10.1186/s13104-021-05467-1>. Acesso em: 26/11/2021.

GHAFFARI, A. *et al.* Immunoinformatic analysis of immunogenic B-and T-cell epitopes of MIC4 protein to designing a vaccine candidate against *Toxoplasma gondii* through an in-silico approach. **Clinical and Experimental Vaccine Research**. Teerã, Irã, v.10, n.1, p.59, 2021. Disponível no endereço eletrônico: <https://ecevr.org/DOIx.php?id=10.7774/cevr.2021.10.1.59>. Acesso em: 27/11/2021.

GOODSELL, D.; SANNER, M.; OLSON, A.; FORLI, S. A suíte AutoDock aos 30. **Protein Science**. Piscataway, New Jersey, Estados Unidos, v. 30, n. 1, p. 31-43. Setembro de 2020.

GUEDES, I. *et al.* Projeto e reaproveitamento de medicamentos com o servidor web DockThor-VS com foco em alvos terapêuticos SARS-CoV-2 e suas variantes não sinônimas. **Science Republic**. Petrópolis, Brasil, v. 11, nº 1, p. 5543 – 5563. Março de 2021.

GUEDES, I. *et al.* Novas funções de aprendizagem de máquina e pontuação baseada em física para descoberta de drogas. **Science Republic**. Petrópolis, Brasil, v. 11, nº1, p. 3198-3217. Fevereiro de 2021.

HAQ, A. *et al.* Annotation of Potential Vaccine Targets and Design of a Multi-Epitope Subunit Vaccine against *Yersinia pestis* through Reverse Vaccinology and Validation through an Agent-Based Modeling Approach. **Vaccines**. Suate, Paquistão, v.9, nº 11, p. 1327-1346. Novembro de 2021.

HE, X. *et al.* SARS-CoV-2 Omicron variant: Characteristics and prevention. **MedComm**. Chengdu, China, v.2, nº 4, p. 838-845. Dezembro de 2021.

HEINZELMANN, G.; GILSON, M. Automation of absolute protein-ligand binding free energy calculations for docking refinement and compound evaluation. **Science Republic**. Santa Catarina, Brasil, v. 11, nº 1, p. 1116-1134. Janeiro de 2021.

HODA, A.; TAJAJ, M.; SALLAKU, E. In silico Structural, Functional and Phylogenetic Analyses of cellulase from *Ruminococcus albus*. **Journal of Genetic Engineering & Biotechnology**. Tirana, Albania, v. 19, nº 1, p. 58-73. Abril de 2021.

IBRAHIM, Z.; UZAIRU, A.; SHALLANGWA, G.; ABECHI, S. Application of QSAR Method in the Design of Enhanced Antimalarial Derivatives of Azetidine-2-carbonitriles, their Molecular Docking, Drug-likeness, and SwissADME Properties. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**. Zaria, Nigéria, v. 20, n. 3, p. 254-270. 1 de junho de 2021.

KAUR, T.; MADGULKAR, A.; BHALEKAR, M.; ASGAONKAR, K. Molecular Docking in Formulation and Development. *Drug Discovery Technologies*. Maharashtra, Índia, v. 19, n° 1, p. 30-39. Junho de 2019. KHAN, M et al. COVID-19: A Global Challenge with Old History, *Epidemiology and Progress So Far. Molecules*. Basileia, Suíça, v. 26, n° 1, p. 39-64. Dezembro de 2020.

KYTE, J.; DOOLITTLE, F. A simple method for displaying the hydropathic character of a protein. *Molecular Biology*. Califórnia, Estados Unidos, v. 157, n° 1, p. 105-132. Maio de 1982.

LAN, J. et al. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature*. Pequim, China, v.581, n° 7807, p. 215-220. Março de 2020.

LIBERMAN, F. (2004). **Análise dos fatores determinantes para a qualidade da anotação genômica automática**. Tese de Mestrado (Biotecnologia e Ciências genômicas) – Universidade Católica de Brasil. Brasília, 2004.

MORGAT, A. *et al.* Enzyme annotation in UniProtKB using Rhea. *Bioinformatics*. Genebra, Suíça, v.36, n° 6, p.1896–1901. Março de 2020.

MOTAMEDPOUR, L. *et al.* In silico analysis and expression of a new chimeric antigen as a vaccine candidate against cutaneous leishmaniasis. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, v. 23, n. 11, p. 1409, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33235698/>. Acesso em: 26/11/2021.

PATIL, N.; ROHANE, S. Organization of Swiss Dock: In study of Computational and Molecular Docking Study. *Asian Journal of Research in Chemistry*. Satara, Índia, v. 14, n°. 2, p. 145-148. Abril de 2021.

ROBSON, F *et al.* Coronavirus RNA Proofreading: Molecular Basis and Therapeutic Targeting. *Molecular Cell*. Bristol, Reino Unido, v. 79, n° 5, p. 710-727. Setembro de 2020.

ROUKA, E., GOURGOULIANIS, K., ZAROGIANNIS,S. In silico investigation of the viroporin E as a vaccine target against SARS-CoV-2. *American Journal of Physiology Lung Cellular and Molecular Physiology*. Larissa, Grécia, v. 320, n° 6, p.1057-1063. Junho de 2021.

SANOS, L.; FERREIRA, R.; CAFFARENA, E. Integrating Molecular docking and Molecular Dynamics Simulations. *Metods Molecular Biology*. Belo Horizonte, MG, Brasil, v. 2053, n° 1, p. 13-34. Agosto de 2019.

SANTANA, E.; SOARES, A. Predição in silico de compostos bioativos contra SARS-CoV-2. Matipó. 08 de dez. 2022. Website. Disponível em: <https://revistadeciencias.univertix.net/>. Acesso em: 05/01/2022.

SHANNON, A. *et al.* **Favipiravir strikes the SARS-CoV-2 at its Achilles heel, the RNA polymerase.** 15 de maio de 2020. Marseille, França. Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.05.15.098731v1>. Acesso em: 26/11/2021.

SOARES, A. (2015). **Identificação de lipocalinas com domínio de ligação a histamina e serotonina e validação de genes de referência em transcriptomas de glândula salivar, intestino e ovário do carrapato *Amblyomma sculptum*.** Tese de doutorado (tese em Bioquímica Aplicada) - UFV, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular. Viçosa. 113p.

TAMURA, K.; STECHER, G.; KUMAR, S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Versão 11. **Molecular Biology and Evolution.** Pensilvânia, Estados Unidos, v.38, n° 7, p. 3022-3027. Junho de 2021.

TANTIVITAYAKUL, P. *et al.* Identification and in silico functional prediction of lineage specific SNPs distributed in DosR-related proteins and resuscitationpromoting fator proteins of Mycobacterium tuberculosis. **Heliyon.** Bangkok, Tailândia, v. 6, n.12, p. e05744, 2020. doi: 10.1016/j. Disponível em: https://cell.com/heliyon/retrieve/pii/S2405844020325871?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS2405844020325871%3Fshowal%3Dtrue. Acesso em: 26/11/2021.

TUEKPRAKHON, A. *et al.* Antibody escape of SARS-CoV-2 Omicron BA.4 and BA.5 from vaccine and BA.1 serum. **Cell.** Oxford, Reino Unido, v. 185, n° 14, p. 2422-2433. Julho de 2022.

WATERHOUSE, A. *et al.* SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. **Nucleic Acids Research.** Basel, Suíça, v. 46, n° 1, p. 296-303. Julho de 2018.

WU, N. *et al.* Um modo de ligação alternativo de anticorpos IGHV3-53 ao domínio de ligação do receptor SARS-CoV-2. **Cell Reports.** Califórnia, Estados Unidos, v.33, n°3, p. 108274, 2020. Disponível no endereço eletrônico: [https://www.cell.com/cellreports/fulltext/S22111247\(20\)312638?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS2211124720312638%3Fshowall%3Dtrue#](https://www.cell.com/cellreports/fulltext/S22111247(20)312638?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS2211124720312638%3Fshowall%3Dtrue#). Acesso em: 12/05/2022.

XIONG, G *et al.* ADMETlab 2.0: an integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties. **Nucleic Acids Research.** Hunan, China, v. 49, n. 1, p. 5-14. 2 de julho de 2021.