

Relatório parcial de andamento do projeto de pesquisa: “Proposição de potenciais fármacos contra a COVID-19 por estudos de modelagem molecular”

Equipe envolvida no projeto:

Coordenadores

TC QEM Erick Braga Ferrão **Galante** – Chefe das SE/5

TC R1 **Tanos** Celmar Costa França – Professor da SE/5

Maj QEM **Joyce** Sobreiro Francisco **Diz** de Almeida – Professora da SE/5

Membros

Maj Rodrigo Leonard Barboza **Rodrigues** – Subchefe da SE/5

Maj QEM **Marcelo** Carneiro dos Santos – Aluno de PG da SE/5

Cap QEM **Monique** Cardozo – Pesquisadora do IDQBRN

Cap QEM Daniel **Kitagawa** – Aluno de PG da SE/5

Cap QEM **Leandro Alegria** Vieira – Aluno de PG da SE/5

1º Ten QEM **Fernanda Diniz** Botelho – Aluna de PG da SE/5

Dr. Raphael Salles Ferreira da Silva – Professor do IFRJ/Pós-Doc do IME

Dr. Samir Frontino de Almeida Cavalcante – Pesquisador do IDQBRN

Dr. Felipe Rodrigues de Souza – Pós-Doc da PUC/RJ

Dr. Leonardo Costa Bastos – Professor do ensino médio

M.Sc. Mariana de Oliveira Tonelli Nogueira – Aluna de PG da SE/5

M.Sc. Priscila Ivo Rubim de Santana – Aluna de PG da SE/5

M.Sc. Juliana de Oliveira Carneiro Brum – Aluna de PG da SE/5

O Laboratório de Modelagem Molecular Aplicada à Defesa Química e Biológica (LMDQB), da Seção de Engenharia Química do IME (SE/5), integrou os esforços do Instituto no enfrentamento à COVID-19, com o objetivo de propor potenciais fármacos capazes de combater o vírus SARS-CoV-2, causador dessa doença. Em parceria com o Laboratório de Síntese Orgânica (LSO), do Instituto de Defesa Química, Biológica, Radiológica e Nuclear (IDQBRN), o LMDQB empregou duas abordagens. Na primeira delas foram avaliados medicamentos já existentes, empregados para fins diversos, que possam ser eficazes contra a COVID-19. Esta estratégia, conhecida como reposicionamento de fármacos, tem a vantagem de lidar apenas com substâncias já administradas como fármacos, o que garante que tenham sido aprovadas nos testes que antecedem seu emprego em seres humanos. Uma eventual liberação para o combate ao SARS-CoV-2, neste caso, seria quase imediata. A segunda abordagem teve por objetivo ampliar os horizontes da busca inicial, envolvendo moléculas ainda não utilizadas como medicamentos. Esta linha de ação, embora tenha uma abrangência consideravelmente maior, exige etapas adicionais antes que uma substância promissora possa ser efetivamente administrada como fármaco.

Como etapa inicial do trabalho, foi realizada uma pesquisa bibliográfica sobre o SARS-CoV-2 e os demais tipos de coronavírus, buscando identificar proteínas essenciais aos seus mecanismos de replicação e de invasão das células humanas, que possam servir de alvos moleculares para fármacos. Como resultados desta busca, foram identificadas as seguintes proteínas, cujas estruturas tridimensionais estão disponíveis no banco de dados de proteínas (<https://www.rcsb.org/>):

- Main protease (Mpro);
- RBD/ACE2-B0AT1;
- RNA dependent RNA Polimerase (RdRp);
- Nsp9 replicase; e
- Papain-like Protease (PLpro)

Em seguida, foi realizada a busca por potenciais inibidores dos alvos moleculares elencados acima, usando a abordagem conhecida como *Receptor-Based Virtual Screening* (RBVS), com base em estruturas propostas pelo LSO, em três bancos de fármacos propostos na literatura científica [1-13], e em bibliotecas de potenciais fármacos disponibilizadas por Otava Chemicals (<https://otavachemicals.com/>), Reaxense Inc. (<https://www.reaxense.com/>) e *Food and Drugs Administration* (FDA) (<https://www.fda.gov/>). Em paralelo foi aplicada a abordagem conhecida como *Ligand-Based Virtual Screening* (LBVS), para a construção de bibliotecas específicas de potenciais inibidores para os alvos moleculares acima, a partir dos bancos de moléculas: Zinc (<https://zinc.docking.org/>), DrugBank (<https://www.drugbank.ca/>), PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), Phytochem (<https://phytochem.nal.usda.gov/phytochem/search/list>) e SweetLead (<https://simtk.org/projects/sweetlead>). O critério de corte utilizado para a construção dessas bibliotecas foi 80% de similaridade estrutural frente aos ligantes disponíveis nas estruturas de cada alvo obtido do PDB. As bibliotecas assim construídas foram utilizadas em estudos subsequentes de RBVS para o ranqueamento dos compostos de acordo com as suas energias de interação com o respectivo alvo molecular.

No total os estudos por VS permitiram a avaliação de aproximadamente 22 mil moléculas. Os compostos mais bem avaliados para cada alvo foram selecionados para a continuidade do trabalho e avaliação experimental, totalizando 80 moléculas. Destas, 8 fármacos, obtidas do banco de fármacos da FDA, com possibilidade de reposicionamento imediato para o combate à COVID-19, são propostas como moléculas multialvo, ou seja, com potencial de ação em todos os alvos selecionados neste estudo. Dentre as moléculas

sugeridas para síntese pelo LSO (IDQBRN), 10 também apresentaram boas perspectivas de emprego como fármaco multialvo.

Os resultados dos estudos por VS foram corroborados por estudos adicionais de dinâmica molecular (DM), de alguns compostos selecionados, que evidenciaram a manutenção de interações químicas e a permanência dessas moléculas nos sítios de ligação dos respectivos alvos, fato que reforça sua potencial atuação como inibidores desses alvos moleculares.

Para garantir a continuidade desse projeto encontra-se em andamento a verificação de viabilidade de aquisição das moléculas propostas que estiverem disponíveis comercialmente, e a síntese daquelas selecionadas dentre as propostas do LSO. A obtenção dessas moléculas viabilizará a etapa subsequente de testes *in vitro*, em parceria com o Instituto de Biologia do Exército (IBEx), cujas tratativas já se encontram em andamento.

Os resultados dos estudos teóricos realizados no desenvolvimento desse projeto serão disponibilizados em detalhes para a comunidade científica por meio de artigo a ser submetido para publicação na literatura científica.

Referências

- [1] Chen, Y. *et al.* **Structure analysis of the receptor binding of 2019-nCoV.** Biochemical and Biophysical Research Communications, 2020. doi: 10.1016/j.bbrc.2020.02.071.
- [2] Dai, W. *et al.* **Structure-based design of antiviral drug candidates targeting the SARS-CoV-2 main protease.** Science, 2020. doi: 10.1126/science.abb4489.
- [3] Elfiky, A. A. **Anti-HCV, nucleotide inhibitors, repurposing against COVID-19.** Life Sciences, 2020, 248, p. 117477. doi: 10.1016/j.lfs.2020.117477.
- [4] Gordon, D.E. *et al.* **A SARS-COV-2 Human-Protein Interaction Map Reveals Drug Target and Potential Drug-Repurposing.** BioRxiv, 2020. doi: 10.1101/2020.03.22.002386.
- [5] Jin, Z. *et al.* **Structure of Mpro from 1 COVID-19 virus and discovery of its inhibitors.** BioRxiv, 2020. doi: 10.1101/2020.02.26.964882.
- [6] Lin, H. *et al.* **Identification of residues in the receptor-binding domain (RBD) of the spike protein of human coronavirus NL63 that are critical for the RBD – ACE2 receptor interaction.** Journal of General Virology, 2008, 89, p. 1015–1024. doi: 10.1099/vir.0.83331-0.



- [7] Miknis, Z. J. *et al.* **Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus nsp9 Dimerization Is Essential for Efficient Viral Growth.** *Journal of Virology*, 2009, p. 3007–3018. doi: 10.1128/JVI.01505-08.
- [8] Rabi, F. A. *et al.* **SARS-CoV-2 and Coronavirus Disease 2019: What We Know So Far.** *Pathogens*, 2020, 9, 231. doi:10.3390/pathogens9030231.
- [9] Wan, Y. *et al.* **Receptor Recognition by the Novel Coronavirus from Wuhan: an Analysis Based on Decade-Long Structural Studies of SARS Coronavirus.** *Journal of Virology*, 2020, 94 (7), p.e000127-20. doi: 10.1128/JVI.00127-20.
- [10] Wu, C. *et al.* **Analysis of therapeutic targets for SARS-CoV-2 and discovery of potential drugs by computational methods.** *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2020, S2211-3835(20)30299-9. doi: 10.1016/j.apsb.2020.02.008.
- [11] Yan, R. *et al.* **Structural basis for the recognition of the SARS-CoV-2 by full length human ACE2.** *Science*, 2020, p. 1-3. doi: 10.1126/science.abb2762.
- [12] Zang, H. *et al.* **Analysis of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) from different species sheds some light on cross-species receptor usage of a novel coronavirus 2019-nCoV.** *Journal of Infection*, 2020, 80(4), p. 469-496. doi: 10.1016/j.jinf.2020.02.013.
- [13] Zang, H. *et al.* **Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target.** *Intensive Care Med*, 2020. doi:10.1007/s00134-020-05985-9.

Rio de Janeiro, 28 de abril de 2020,



Erick Braga Ferrão Galante - TC QEM
Chefe da Seção de Engenharia Química