

Uso de Quimioinformática para o Planejamento de Potenciais Inibidores de Alvos Relacionados com o Vírus SARS-CoV-2

Objetivo: uso de métodos *in silico* para analisar as possíveis interações entre um conjunto de substâncias sintéticas, disponíveis no catálogo da empresa MERCK do Brasil, e a enzima M^{pro}, um dos alvos relacionados com o ciclo de vida do SARS-CoV-2

Journal of Chemical Information and Modeling
Impact Factor 2021: 6.16
Citations 2021:30,162
CiteScore 2021: 7.7

Autora: Erica de Sousa Conrado

Cálculos de Acoplamento (Docking) Molecular

O inibidor cristalográfico foi construído e minimizado no programa Sybyl¹ para que ele fosse inserido no sítio da enzima SARS-CoV-2^{MP} (PDB ID: 6Y2F, resolução de 1,95 Å). Em seguida, foram realizadas as simulações de *redocking*. A execução foi feita variando a cavidade do sítio de ligação (5Å, 7Å e 10Å), assim como as funções de *scoring* disponíveis no pacote GOLD (ChemPLP, ASP, Goldscore e Chemscore)².

O resultado mais significativo foi encontrado com a função de *scoring* *ChemScore*, considerando um sítio de 7Å em torno do ligante e flexibilidade dos resíduos His163 e Gln189. A Figura 1 ilustra os resultados de *redocking* obtidos nesta etapa do trabalho.

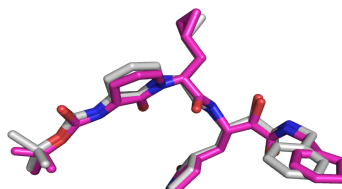


Figura 1. Resultados de *redocking* do ligante O6K na estrutura do SARS-CoV-2^{MP} (RMSD = 2,32 Å).

Os resultados de *docking* (Figura 2) indicaram a molécula 4-[(2R,3S)-4-(3,4-Dihidroxifenil)-2-3-dimetilbutil]1-2benzenodiol como promissora a partir do valor de ΔG obtido via cálculo com a função de *scoring* *ChemScore*, inspeção visual e propriedades ADME-Tox (Tabela 1).

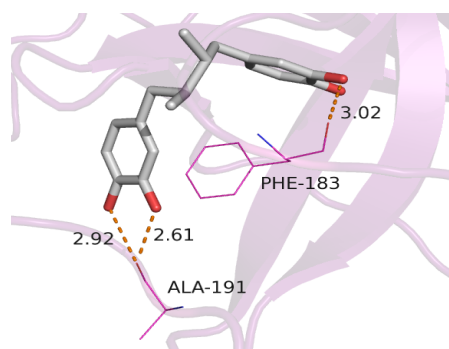


Figura 2. Interações com os resíduos Ala191 e Phe183 pertencentes ao sítio ativo da enzima SARS-CoV-2^{MP}

Cálculos de Propriedades Farmacocinéticas

As propriedades farmacocinéticas da molécula selecionada na etapa anterior foram calculadas utilizando o servidor SwissAdme³ que possibilitou calcular os valores de log *S*, solubilidade, absorção gastrointestinal (GI *absorption*), violações das regras de Lipinski (*druglikeness*) e lipofilicidade (log *P*). A Tabela 1 apresenta os valores das propriedades farmacocinéticas da molécula selecionadas na triagem virtual.

Tabela 1. Propriedades ADME obtidas no servidor *online* SwissAdme da molécula em estudo

Log S	Solubilidade	GI Absorção	Lipinski	Lipofilicidade (Consensus Log Po/W)
-4,74	8,96 10 ⁻³ mg/ml;	Alta	0 violações	2,96

Cálculos de Dinâmica Molecular

A primeira etapa da simulação foi a realização das minimizações com o objetivo de eliminar contatos muito próximos entre os átomos, pois estas regiões podem apresentar um valor alto de energia, ocasionando possíveis falhas nas simulações seguintes. Após essa etapa, o complexo foi aquecido com um banho térmico de 0 a 300K e a etapa de equilíbrio foi realizada para que fosse alcançado o equilíbrio térmico do sistema (tempo considerado = 10 ns). Em seguida, a simulação de dinâmica molecular foi realizada para o complexo (SARS-CoV-2^{MPro} + Molécula 1) e para a estrutura de SARS-CoV-2^{MPro} sem o ligante com um intervalo de tempo de 150 ns. Desta forma, após o término das simulações pelo programa AMBER18, a próxima etapa foi avaliar os gráficos de RMSD gerados pela plataforma CPPTRAJ implementada no programa AMBER. Essa análise foi feita com o intuito de verificar a evolução temporal do complexo (SARS-CoV-2^{MPro} + Molécula 1), a estabilidade e a mobilidade do potencial inibidor no sítio de ligação e da proteína sem ligante (SARS-CoV-2^{MPro})⁴. A Figura 3 apresenta os valores de RMSD.

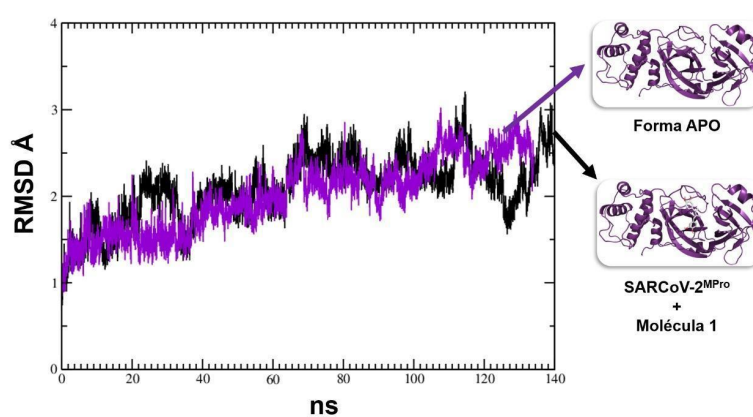


Figura 3. Valores de RMSD do SARS-CoV-2^{MPro} na presença do inibidor (molécula 1).
A cor violeta indica a proteína na forma APO (sem a presença do inibidor)
e a cor preta representa o complexo (SARS-CoV-2 + Molécula 1).

Além do gráfico de RMSD das trajetórias, também foram analisados os valores de RMSF (Figura 4). Essa análise mostra as flutuações dos resíduos de aminoácidos nas trajetórias de dinâmica molecular, sendo que os principais resíduos (Ser142, Cys143, His163, Glu164, His170, Arg186, Gln187, Thr188, Gln189 e Gln190) devem flutuar em graus menores que a enzima na forma APO. A Figura 14 apresenta as flutuações para o sistema de SARS-CoV-2^{MPro} com a molécula 1 (melhor ranqueada) acoplada no seu sítio ativo.

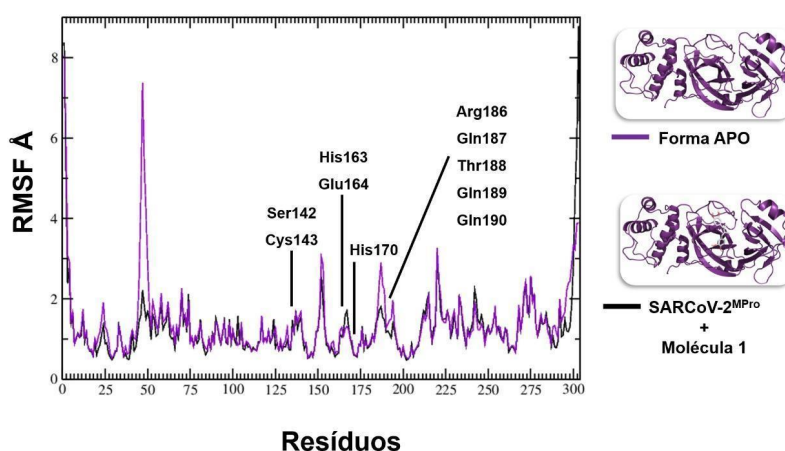


Figura 4. Gráfico de RMSF para o SARS-CoV-2^{MPro} na presença do inibidor (Molécula 1).
A cor violeta indica a proteína na forma APO (sem a presença do inibidor)
e a linha preta representa o complexo (SARS-CoV-2 + Molécula 1).

Cálculos MM-GBSA e MM-PBSA

Após a escolha da sub trajetória mais estável pelas simulações de dinâmica molecular (gráficos de RMSD), foi possível realizar os cálculos de energia livre de ligação (ΔG) referente ao complexo (SARS-CoV2^{MPro} + Molécula 1) em estudo, a partir dos métodos MM-PBSA e MM-GBSA. Essas simulações foram realizadas com o objetivo de analisar a estabilidade do complexo. Desta forma, os valores das energias livres de ligação calculadas pelos dois métodos (MM-GBSA e MM-PBSA) e os valores obtidos a partir do *docking* podem ser consultados na Tabela 6.

Tabela 2. Valores de energia livre de ligação estimados para o sistema (SARS-CoV-2^{MPro} + Molécula 1)

ΔG – Energia Livre (kcal/mol)		
ChemScore	MM-GBSA	MM-PBSA
-42,302	-52,45	-39,54

A partir dos resultados de MM-GBSA e MM-PBSA mostrados na Tabela 2, é possível constatar a estabilidade do complexo a partir do baixo valor de energia livre, o que se manteve desde a análise dos resultados de *docking*, indicando o potencial inibitório da molécula selecionada na triagem virtual.

Referências

1. Sybyl 8.1, Tripos Inc.St . Louis, USA, 2009.
2. Verdonk, M. L. *et al.* **Improved protein-ligand docking using GOLD.** *In. Proteins-Structure Function and Genetics*, nº52,2003, p. 609-623.
3. Daina, A.; Michielin, O.; Zoete, V., **SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules.** *In: Scientific Reports*, nº7, 2017.
4. D.A. Case, *et al.* **AMBER 2018**, AMBER: University of California, San Francisco, USA, 2018.