

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO – UFMA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DE SÃO BERNARDO - CCSB**  
**CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS NATURAIS/QUÍMICA**

**IANCA BATISTA AMORIM**

**REPOSICIONAMENTO DE FÁRMACOS ANTIPARASITÁRIOS PARA A COVID-19: UM ESTUDO *IN SÍLICO***

**SÃO BERNARDO - MA**

2022

**IANCA BATISTA AMORIM**

**REPOSICIONAMENTO DE FÁRMACOS ANTIPARASITÁRIOS PARA A COVID-19: UM ESTUDO *IN SÍLICO***

Monografia apresentada ao Curso de Licenciatura em Ciências Naturais/ Química, da Universidade Federal do Maranhão, Campus São Bernardo, como requisito para obtenção do título de Licenciado em Ciências Naturais/Química.

**Orientador:** Prof. Dr. Jefferson Almeida Rocha

SÃO BERNARDO - MA

2022

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).  
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Amorim, Ianca Batista.

Reposicionamento de fármacos antiparasitários para a covid-19: um estudo in silico / Ianca Batista Amorim. - 2022.

48 p.

Orientador(a): Jefferson Almeida Rocha.

Monografia (Graduação) - Curso de Ciências Naturais - Química, Universidade Federal do Maranhão, São Bernardo-MA, 2022.

1. Antiparasitários. 2. Coronavírus. 3. Docagem Molecular. I. Rocha, Jefferson Almeida. II. Título.

IANCA BATISTA AMORIM

**REPOSICIONAMENTO DE FÁRMACOS ANTIPARASITÁRIOS PARA A COVID-19: UM ESTUDO *IN SÍLICO***

Monografia apresentada ao Curso de Licenciatura em Ciências Naturais/ Química, da Universidade Federal do Maranhão, Campus São Bernardo, como um dos requisitos para obtenção do título de Licenciado em Ciências Naturais/Química.

Monografia aprovada em: 26/07/2022

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Jefferson Almeida Rocha (orientador)  
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

---

Profa. Dra. Louise Lee da Silva Magalhães  
Universidade Federal do Maranhão - UFMA

---

Prof. Me. Ruan Sousa Bastos  
Instituto Federal do Maranhão - IFMA

Dedico o resultado de todo esforço feito ao longo da vida acadêmica a todos aqueles que sempre me apoiaram e acreditaram na minha capacidade: aos meus pais, família, amigos, e em especial, meu falecido namorado.

## AGRADECIMENTOS

Agradecer é expressar gratidão a todos aqueles que foram importantes no decorrer dessa caminhada. Assim, agradeço primeiramente a Deus por ter me guiado ao longo desse percurso e por ter me dado coragem e força para não desistir, principalmente nos momentos mais difíceis. Agradeço imensamente aos meus pais Isenilde e Marcelo, pelo amor e confiança que depositaram em mim para a conquista desse objetivo. Ao meu irmão Ruan pela dedicação e disposição em ajudar todas as vezes que solicitei. Vocês são tudo para mim.

É com o coração apertado que manifesto meu sentimento de gratidão a meu namorado Axel que esteve comigo desde o início dessa caminhada, motivando-me e auxiliando-me no que fosse necessário, mas que infelizmente não pôde estar presente em vida para ver esse sonho sendo realizado. Sou grata também à sua família pelo carinho e pelo apoio.

A família é o bem mais precioso que temos, nela encontramos amor e proteção. Por esse motivo, agradeço à minha por toda demonstração de afeto e confiança. Aos meus avós maternos e paternos, aos meus tios e tias, aos meus primos Junior, Vanessa, Marílya, Isadora, Beatriz, Ivete e aos demais, mas em especial, a minha prima Maria, pessoa que, além de ter contribuído bastante para a realização desse trabalho, me inspira a lutar sempre pelos meus objetivos.

Os amigos são os irmãos que escolhemos, são quem nos acolhe e aconselha quando necessário. Assim, agradeço profundamente os meus grandes e fiéis amigos: Miquéias, Danny, Bia, Anália, Karol, Thomas, Vitória, especialmente a Bárbara e Juliana, minhas companheiras dentro e fora da Universidade, as quais vivenciaram comigo todos os perrengues da vida acadêmica. Obrigada por estarem sempre presente, torcendo e vibrando em todas as minhas conquistas.

A jornada acadêmica não é fácil, mas com boas companhias nenhuma caminhada é tão árdua. Sendo assim, gostaria de expressar minha gratidão àqueles que eu tive a sorte de ter conhecido nessa etapa e levei para a vida: Dudu, Daniel, Verônica, Erneron, Samuel, Marcelo Henrique, Yan, Patrícia, Marcelo Candeira, Mikael, Wagner, Sandro, Wellyda e outros.

E por fim, demonstro minha gratidão aos meus companheiros do grupo de pesquisa QUIMEBIO: Cássio, Vitória, Eduardo, Bárbara e os demais, e principalmente ao meu orientador Jefferson Almeida Rocha pela oportunidade de me tornar membro do grupo, pela paciência, companheirismo, dedicação e por tornar tudo isso possível.

**RESUMO:** Desde que se transformou em uma pandemia, o coronavírus (COVID-19) tem ocasionado diversos impactos negativos a população mundial. A disseminação do vírus já infectou e levou à óbito milhares de pessoas no mundo. Diante disso, essa pesquisa visa realizar um estudo *in silico* de drogas antiparasitárias por afinidade molecular com potencial ação antiviral contra a Covid-19. Em virtude disso, foram desenvolvidas docagens moleculares com o intuito de averiguar a afinidade molecular de fármacos antiparasitários com proteínas do coronavírus. Foram analisadas a afinidade molecular de 12 antiparasitários sendo eles, albendazol, cambendazol, levamisol, mebendazol, metronidazol, nitazoxanida, praziquantel, ivermectina, niclosamide, oxamniquine, benznidazol e tiabendazol com as proteínas Spike, ECA 2 (Enzima conversora de angiotensina 2), Spike/ECA e mPRO (proteína principal) do coronavírus. A metodologia utilizada para a realização da pesquisa foi feita através de busca de dados de produções científicas em bases de dados nacionais e internacionais para uma prospecção científica dos antiparasitários. Para as docagens, inicialmente as proteínas e os ligantes foram preparados com a remoção de todas as moléculas de água e outros grupos, como íons usando o software Chimera e, em seguida, as docagens entre ambos foram realizadas utilizando os programas AutoDock Tools e AutoDock Vina. Os resultados demonstram que a ivermectina, apresentou a melhor afinidade molecular com a proteína spike com energia de ligação de  $-9.3 \text{ kcal/mol}^{-1}$ . Com a proteína ECA 2 a ivermectina também obteve melhor afinidade com energia de  $-8.4 \text{ kcal/mol}^{-1}$ . Já com o acoplamento da proteína ECA 2 com a proteína Spike, o antiparasitário praziquantel obteve melhor interação com energia de  $-8.1 \text{ kcal/mol}^{-1}$ . Com a proteína mPRO a melhor afinidade molecular se deu também com o praziquantel com energia de  $-7.5 \text{ kcal/mol}^{-1}$ . Podemos sugerir que o antiparasitário praziquantel apresenta potencial contra a covid-19 segundo os métodos analisados, uma vez que esse fármaco apresentou resultados promissores para a inibição do vírus. No entanto, outros testes como dinâmica molecular, *in vitro*, *in vivo* e testes clínicos precisam ser realizados para a confirmação dos dados.

**Palavras-chave:** Docagem Molecular; Coronavírus; Antiparasitários.

**ABSTRACT:** Since becoming a pandemic, the coronavirus (COVID-19) has caused several negative impacts around the world. The spread of the virus has already infected and led to the death of thousands of people across the world. From this, this research aims to carry out a study on silica of antiparasitic drugs by molecular affinity with potential antiviral action against Covid-19. As a result, molecular drugs were developed to determine the molecular formula of antiparasitic drugs. They showed the same molecular similarity of 12 antiparasitic drugs, namely, albendazole, cambendazole, levamisole, mebendazole, metronidazole, nitazoxanide, praziquantel, niclosamide, oxamniquine, benznidazole and thiabendazole with the names Spike, ECA 2 (Angiotensin 2 Enzyme), Spike/ECA and mPRO (main protein) of the coronavirus. The methodology used to search for the research was carried out by scientists in national and international databases for the scientific prospection of antiparasitics. Initially, proteins and ligands were prepared by removing all such as water docks and other groups used as docks such as proteins and other used groups, then using AutoDock Tools and AutoDock Vision programs. The results with binding energy of  $-9\text{kcal/mol}$ . With ACE 2 to 8 the protein also improves with  $\text{Kmol.4}$  energy energy. With the interaction of the ACE 2 protein with a Spike protein, the best antiparasitic interaction was obtained with an energy of  $-8.1\text{ kcal/mol}$ . With an mPRO protein, the best molecular k also occurred at an energy of  $-7.5/\text{mol}$ . It is suggested that praziquantel has potential against the covid-19 method according to the methods, as this drug showed promising results for the We can produce virus. However, other dynamic molecular tests in vitro, in vivo, and clinical trials were performed to confirm the result.

**Keywords:** Molecular Docking; Coronavirus; Antiparasitic.



## LISTA DE FUGURAS

Figura 1: Estrutura proteica do vírus SARS-CoV-2.....	24
Figura 2: Estrutura química bidimensional dos antiparasitários selecionados mais utilizados na literatura com aplicações medicinais.....	31
Figura 3: Interação molecular do fármaco ivermectina (laranja) com a proteína spike (bege). a) sítio ativo do ligante-proteína em 3d, b) local da interação da ivermectina com os aminoácidos em 3d e c) interações hidrofóbicas e por ligação de hidrogênio da ivermectina em 2d.....	34
Figura 4: Interação molecular do fármaco ivermectina (laranja) com a proteína conversora de angiotensina – ECA (verde). a) sítio ativo do ligante-proteína em 3d, b) interações hidrofóbicas e por ligação de hidrogênio da ivermectina em 2d. e c) local do sítio ativo de interação da ivermectina com os aminoácidos (vermelho) em 3d.....	36
Figura 5: Interação molecular do fármaco praziquantel (laranja) com as proteínas spike (bege) e ECA2 (verde). a) sítio ativo do ligante-proteína em 3d, b) local da interação do praziquantel com os aminoácidos (vermelho) em 3d e c) interações hidrofóbicas e por ligação de hidrogênio do praziquantel em 2d.....	39
Figura 6: Interação molecular do fármaco praziquantel (laranja) com a proteína mPRO (azul). a) sítio ativo do ligante-proteína em 3d, b) local da interação do praziquantel no sítio ativo em 3d e c) interações hidrofóbicas do praziquantel em 2d. ....	41

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Parâmetros de afinidade molecular entre antiparasitários com a proteína Spike (PDB ID: 6VXX) do novo coronavírus Covid-19.....	32
Tabela 2: Parâmetros de afinidade molecular entre antiparasitários com a proteína ECA 2) (PDB ID: 1R42).....	35
Tabela 2: Parâmetros de afinidade molecular entre antiparasitários com a proteína ECA 2) (PDB ID: 1R42).....	37
Tabela 3: Parâmetros de afinidade molecular entre antiparasitários com as proteínas Spike/ECA 2 do novo coronavírus Covid-19. ....	38
Tabela 4: Parâmetros de afinidade molecular entre antiparasitários com a proteína mPRO (PDB ID: 6LU7) do novo coronavírus Covid-19. ....	40

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	14
2.1 OBJETIVO GERAL .....	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	14
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	15
3.1 O CORONAVÍRUS E A COVID-19 .....	15
3.2 O REPOSICIONAMENTO DE FÁRMACOS E OS ANTIPARASITÁRIOS .....	17
3.3 DOCAGEM MOLECULAR .....	20
3.4 PROTEÍNAS DO VÍRUS .....	23
3.5 BIOINFORMÁTICA E QUÍMICA COMPUTACIONAL .....	26
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	29
4.1 SELEÇÃO DE FÁRMACOS ANTIPARASITÁRIOS .....	29
4.2 DOCAGEM MOLECULAR .....	29
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	31
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	43
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	44

## 1 INTRODUÇÃO

Em 31 de dezembro de 2019 a Organização Mundial da Saúde anunciou o primeiro alerta para o surgimento de uma misteriosa pneumonia que surgira na China. O alerta foi noticiado após as autoridades notificarem casos desta nova doença na cidade de Wuhan, sétima maior cidade da China. O surto inicial partiu de pessoas que tiveram alguma relação com um mercado de frutos do mar, a partir de então, surgiram suspeitas de que a transmissão desta doença foi ocasionada por meio de animais marinhos para seres humanos. Posteriormente, com algumas pesquisas, foram apontadas novas possibilidades de transmissão, com isso, os estudiosos chegaram à conclusão de que o vírus partiu de cobras e morcegos (OMS, 2020).

O vírus causador da então pneumonia que surgira na China faz parte da família *coronaviridae*, uma família que compreende aproximadamente quarenta vírus que podem infectar diversas espécies de animais, como mamíferos, peixes e pássaros. Vale destacar que já haviam surgido variações mais antigas de coronavírus, como a síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV) identificado em 2012 e síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV) com indícios na China em 2002.

Em 9 de janeiro de 2020 foi notificado o primeiro óbito em decorrência desse vírus, um idoso de 61 anos de idade, hospitalizado por apresentar dificuldades em respirar. Em 30 de janeiro de 2020 a OMS declarou que as infecções causadas por esse tipo de coronavírus são uma emergência de saúde pública, pois já eram registrados casos em outros países. Em 11 de março de 2020, em Genebra, Suíça, o diretor geral da Organização Mundial da Saúde (OMS), declarou que a COVID-19 era agora caracterizado como uma pandemia global (OMS, 2020).

Considerada a pandemia de maior impacto na saúde pública da atualidade, a síndrome respiratória aguda coronavírus tipo 2 (SARS-CoV-2), foi alvo de grandes pesquisas na busca tratamentos farmacológicos, imunizações, bem como protocolos clínicos acerca da doença. Em abril de 2020 havia mais de 2,4 milhões de casos confirmados em vários continentes, levando a milhares de mortes (LIU *et al.*, 2020, WHO, 2020). Todo o investimento direcionado nas pesquisas em busca de elucidações sobre a COVID-19, se dá ao fato da velocidade de transmissão e na lacuna que existe entre as infecções leves ou assintomáticas, que dificultam o manejo da doença tornando-a altamente contagiosa. O vírus é responsável por causar infecções de trato respiratório inferior potencialmente fatal. A pneumonia infectada por coronavírus em humanos é responsável pelas gravidades respiratórias, apesar de outros sintomas serem reportados como febre, tosse seca, entre outros (BATTEGAY *et al.*, 2020).

O grande desafio diante dessa pandemia, sem dúvida é a prospecção de novos fármacos que possibilite um tratamento eficaz e acessível a população. O conhecimento de sua estrutura, transmissão e infecção podem direcionar a prospecção de novos fármacos com potencial antiviral (MANI, J.S. *et al*, 2020). A exploração de novos compostos foi abordada em pesquisas que buscaram possíveis fármacos para a COVID-19 (LU *et al.*, 2020; LU, 2020; LIN *et al.*, 2014). Entre eles podemos destacar alguns antiparasitários como a hidroxicloroquina que é um antimalárico e foi uma candidata a ser reposicionada contra o coronavírus (CORTEGIANI *et al.*, 2020), ivermectina um anti-helmíntico semissintético que também age contra parasitos não intestinais, como o piolho e a sarna (CALY *et al.* 2020) e a nitazoxanida um anti-helmíntico de amplo espectro, com ação contra parasitas, tais como: *Enterobius vermicularis*, *Ascaris lumbricoides*, *Strongyloides stercoralis*, *Ancylostoma duodenale* (KELLENI, 2020).

Com função de deter e prevenir os parasitas alojados no corpo de animais e no organismo dos seres humanos, os antiparasitários contribuem para a prevenção de doenças causadas por esses parasitários. Existem uma diversidade de antiparasitários e a administração desses medicamentos no tratamento de certas enfermidades é bastante eficaz. Surge a necessidade de testar a eficácia de medicamentos antiparasitários no tratamento e prevenção de doenças causadas não somente por parasitas, mas também outros organismos, como o vírus causador da Covid-19.

Como já mencionado, os antiparasitários ivermectina e nitazoxanida podem ter atividade *in vitro*, contra o SARS-CoV-2, entretanto, sua eficácia em humanos ainda não é comprovada cientificamente. Para que um medicamento seja liberado sua eficácia e segurança devem passar por algumas fases de estudos, como as fases pré-clínicas e clínicas. A biologia computacional traz aos testes biológicos novas possibilidades de modelos de drogas, baseados em simulação computacional, sem a necessidade de desperdício de solventes e reagentes. Essas novas possibilidades devem-se principalmente ao desenvolvimento das metodologias teóricas de simulação e ao desenvolvimento hardwares e softwares na área de informática nos últimos anos (Rocha *et al.*, 2018).

A escolha por optar por fármacos antiparasitários como ligantes para a docagem molecular abordada nessa pesquisa se deve ao fato de que, antes da chegada das vacinas, alguns medicamentos utilizados no tratamento de doenças causadas por vermes e parasitas teriam sido citados como possibilidades ao reposicionamento para o tratamento da Covid-19. Diante disso, a presente pesquisa visa verificar o potencial *in silico* de antiparasitários como candidatos à antivirais para a inibição do vírus SARS-CoV-2.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar um estudo *in silico* de reposicionamento de fármacos antiparasitários com potencial antiviral contra a covid-19.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Seleção das drogas antiparasitárias candidatas para os estudos de afinidade molecular;
- Seleção das proteínas do SARS-CoV-2 em banco de dados especializados;
- Docagem molecular com as proteínas e os ligantes selecionados.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 O CORONAVÍRUS E A COVID-19

A Covid-19 é uma doença infecciosa ocasionada pelo vírus SARS-CoV-2 da família *coronaviridae*, esta é uma família de vírus causadores de infecções respiratórias. Por ser uma doença que atinge o trato respiratório, na qual a transmissão é decorrente do contato com pessoas já infectadas e com objetos ou superfícies contaminadas, a Covid-19 pode provocar desde um quadro gripal simples, cujo sintomas aparentes podem ser tosse, coriza e dor de garganta até uma pneumonia mais agravante com febre alta e insuficiência respiratória aguda.

A propagação do vírus pode ocorrer através de formas distintas, tais como as mudanças ecológicas produzidas pelo homem e os fatores antropogênicos (ou seja, deslocamentos de indivíduos e expansão demográfica). Tais circunstâncias aumentam os níveis de transmissão nos hospedeiros, causando infecções mais rápidas e em maior extensão. Por tratar-se de uma virose emergente, conceito amplo e abrangente, entendido como doenças virais, a Covid-19, encaixa-se, segundo os autores, enquanto:

“Um novo vírus em uma determinada população. Vírus mantidos em ciclos enzoóticos restritos se dispersam para outras áreas com população susceptível, como Ebola, Nipah, Hendra, SARS-CoV, MERS-CoV e SARS-CoV-2. (BORGES *et al.*, 2020, p. 04).

As doenças causadas pelo surgimento dos coronavírus, desde 2002, foram diagnosticadas como infecções respiratórias leves. Porém, no final desse mesmo ano, um surto de síndrome respiratória mais agravante surgiu, ocasionando óbitos na província de Guangdong, na China. No entanto, esse cenário foi diferente das consequências decorrentes da Covid-19, pois o caso de Guangdong tratou-se apenas de uma epidemia. Isso ocorre, segundo as autoras, porque:

“Doenças infecciosas emergentes e reemergentes são constantes desafios para a saúde pública mundial. Recentes casos de pneumonia de causa desconhecida ocorridos em Wuhan, China, levaram à descoberta de um novo tipo de Coronavírus (2019-nCoV), que são vírus de RNA envelopados, comumente encontrados em humanos, outros mamíferos e aves, capazes de causar doenças respiratórias, entéricas, hepáticas e neurológicas” (BELASCO e FONSECA, 2020, p. 10).

Apesar da Covid-19 pertencer a família dos coronavírus, a configuração trazida pela mesma, acarretou resultados distintos dos observados em outras epidemias. O cenário agravante das infecções e transmissões do vírus sucedeu uma pandemia que exigiu várias medidas

sanitárias e a produção de vacinas emergentes, devido altos índices de internações nos hospitais e muitos óbitos ocasionados por seus efeitos.

Medidas de prevenção foram tomadas para diminuir a propagação do vírus, tais como: vacinas contra Covid-19, distanciamento social, higienização das mãos, etiqueta respiratória, uso obrigatório de máscaras e lockdown. Tais circunstâncias foram precisas devido a fácil transmissão da Covid-19, o Ministério da Saúde, organizou um documento que serve de orientação para as medidas de vigilância da proliferação dos vírus. Sobre a transmissão, eles escrevem:

“O conhecimento sobre a transmissão da covid-19 está sendo atualizado continuamente. A transmissão da doença pode ocorrer diretamente, pelo contato com pessoas infectadas, ou indiretamente, pelo contato com superfícies ou objetos utilizados pela pessoa infectada. Evidências atuais sugerem que a maioria das transmissões ocorre de pessoas sintomáticas para outras. Também já é conhecido que muitos pacientes podem transmitir a doença durante o período de incubação, geralmente 48 horas antes do início dos sintomas. Estas pessoas estão infectadas e eliminando vírus, mas ainda não desenvolveram sintomas (transmissão pré-sintomática)”. (BRASIL, 2021, p. 08).

A importância desse documento pauta-se na observação e orientação sobre as principais características do vírus, suas consequências e medidas necessárias.

A nível mundial, o contágio e a propagação do vírus necessitaram de estratégias de rastreamento, isolamento e monitoramento de contatos de casos infectados pela Covid-19, como maneira de identificar o avanço da pandemia nos países, principalmente naqueles onde os níveis de infecções foram mais elevados, no caso do Brasil. Outra estratégia para monitorar e controlar a expansão do vírus pelo país foi o uso de teste laboratoriais como: Teste molecular: RT-PCR em tempo real (RT-qPCR); Teste molecular: RT-LAMP; Teste rápido imunocromatográfico para pesquisa de antígeno viral; Testes imunológicos: teste rápido ou sorologia clássica para detecção de anticorpos (BRASIL, 2021).

Todas estas intervenções foram necessárias para o estancamento da expansão do vírus no país. Entretanto, as campanhas foram as principais formas de reduzir os níveis de ocupações hospitalares, já que:

“a vacinação contra a covid-19 tem como objetivo principal evitar internações e óbitos pela doença, principalmente entre os grupos de maior risco para agravamento. Os estudos de fase III das vacinas covid-19 demonstraram eficácia global satisfatória contra a infecção pelo SARSCoV-2, sendo mais de 70% de eficácia para casos graves da doença, evitando assim a necessidade de hospitalização”. (BRASIL, 2021, p. 22).



Infelizmente, por tratar-se de um vírus em propagação, a produção das vacinas não acompanhou o avanço das infecções mundiais da Covid-19, o que acarretou a morte de milhares de pessoas pelo mundo. O contingente populacional foi classificado de acordo com os níveis de comorbidades tidas como mais agressivas pelo contágio do vírus nos hospedeiros.

Tendo em vista a demora para a produção de vacinas, o reposicionamento de fármacos em conjunto com a bioinformática e a química computacional podem atuar como estratégias mais rápidas e eficazes, a depender de seu desenvolvimento e resultado medicinal. Este método de pesquisa pode ser utilizado como uma alternativa mais acelerada para o tratamento da Covid-19, evitando mortes e internações mais graves.

### 3.2 O REPOSICIONAMENTO DE FÁRMACOS E OS ANTIPARASITÁRIOS

Os fármacos ou princípios ativos são componentes principais de uma formulação farmacêutica empregada como medicamentos. Um fármaco, em geral, trata-se de uma molécula pequena, de origem natural ou sintética, na qual possui estrutura química definida e é capaz de ajustar ou modificar funções fisiológicas, sendo usado para tratar, curar ou prevenir doenças e disfunções em humanos (WERMUTH: 1998).

A bioinformática juntamente com as novas tecnologias computacionais são alternativas para a produção de medicamentos que demonstrem urgência em sua utilização. Milciades Atilio Villalba, em seu trabalho monográfico salienta:

“A bioinformática aliada com novas tecnologias e programas computacionais de simulação biológica é uma importante ferramenta que pode auxiliar na validação de novas terapias. Contudo, questões burocráticas, como normas de patentes e imposições financeiras por parte de indústrias farmacêuticas, precisam ser revistas e avaliadas, para que o reposicionamento de fármacos possa realmente ser uma alternativa para o estabelecimento de novos medicamentos, além de ser uma importante aliada no combate a doenças infecciosas graves, principalmente em países subdesenvolvidos” (VILLALBA, 2015, p. 01).

Villalba afirma como o reposicionamento de fármacos poderia ser utilizado como uma estratégia de combate às doenças infecciosas graves e de grande extensão, porém, necessita-se de recursos financeiros advindos das indústrias farmacêuticas e suas normas precisam ser constantemente avaliadas de maneira criteriosa.

Para a produção de um novo medicamento, ou seja, de um fármaco, chegar ao processo de venda, precisa-se passar por etapas demoradas de análises e normas burocráticas, o que nem sempre chega a um resultado positivo. As etapas principais são: a descoberta de um novo

composto (ou molécula), testes pré-clínicos, ensaios clínicos e finalmente a revisão por uma agência regulatória. Dentro do foco de ampliar as análises farmacológicas, o reposicionamento de fármacos assume a função de:

“uma nova abordagem para o estabelecimento de novas terapias. Esse conceito baseia-se na utilização de medicamentos já estabelecidos para o tratamento de novas doenças. Essa metodologia diminui o tempo de pesquisa, estudos clínicos e consequentemente os gastos; visto que a farmacologia e toxicologia desses medicamentos já são conhecidas. Portanto, esse enfoque aumenta as possibilidades de encontrar novos fármacos em uso, para novas terapias. Além disso, essa metodologia pode ser promissora para o tratamento de doenças negligenciadas, principalmente em países com baixo poder econômico” (VILLALBA, 2015, p. 13).

Pauta-se numa estratégia que permite ensaios clínicos e processos regulatórios mais rápidos, diante disso, a mesma aparece enquanto uma atividade bastante utilizada atualmente para o descobrimento de novas aplicações.

O reposicionamento de fármacos se apresenta enquanto uma metodologia que pode ser relevante para o tratamento de distintas doenças emergentes que necessitam de resultados mais rápidos e eficientes. Tal metodologia serve tanto para contribuir à criação de medicamentos para controle ou cura de determinadas doenças que já existem, mas que seus efeitos colaterais impedem uma eficácia maior. Como também para doenças que aparecem como emergentes, no caso da Covid-19, já que a solução mais significativa é a produção das vacinas (porém, é um processo demorado).

O uso de reposicionamento de fármacos integrou muitas pesquisas científicas enquanto as produções das vacinas estavam em desenvolvimento. De acordo com as pesquisadoras (GRANDO; OLIVEIRA; FIERRO, p. 05):

“O esforço na busca de possibilidades terapêuticas resultou em inúmeras publicações tratando de fármacos, já aprovados para outras condições clínicas, como potenciais candidatos para o tratamento da COVID-19. Em grande parte das publicações mais de um fármaco é analisado no mesmo estudo. Mais da metade trata do reposicionamento de antivirais já conhecidos no mercado, no entanto, fármacos de diversas classes terapêuticas são abordados, como anticorpos monoclonais (tocilizumabe), antineoplásicos (imatinibe), imunossupressores (mofetil micofenolato), antiparasitários (niclosamida), anti-inflamatórios não esteroidais (glicocorticoides)”.

Grande parte dos trabalhos que buscaram a produção de um fármaco para a infecção da Covid-19, testaram antivirais já produzidos e comercializados, características que trazem uma agilidade para o uso emergencial de um medicamento. Porém, como dito anteriormente, a

elaboração de novos fármacos depende de investimentos de indústrias farmacológicas e de determinadas normas burocráticas, aspectos que dificultam a utilização do reposicionamento de fármacos em determinadas ocasiões.

O Brasil é um país que emprega uma ampla diversidade de medicamentos de forma intensiva para o tratamento de parasitoses, ou seja, doenças causadas por parasitas (KOGIEN e TEIXEIRA, 2011). Alguns fármacos antiparasitários, como a ivermectina e a nitazoxanida foram apontados como possíveis possibilidades de medicamentos promissores no tratamento da Covid-19.

Dentre os medicamentos mais utilizados para as enfermidades causadas por esses patógenos, encontra-se o mebendazol, fármaco bastante utilizado no tratamento da giardíase, uma infecção que afeta o intestino delgado, causada pelo parasita giárdia. O mebendazol distingue-se como um anti-helmíntico de vasto espectro, utilizado no tratamento de várias doenças de etiologia parasitária, como verme *Ascaris lumbricoides*, e outros (CASTIÑEIRAS; MARTINS, 2000).

As doenças causadas por agentes biológicos patogênicos como os parasitas são variadas, por esse motivo, algumas parasitoses têm tratamentos com medicamentos específicos. O tratamento para a *Schistosoma mansoni*, por exemplo, é realizado, exclusivamente, com os fármacos praziquantel e oxamniquine. O fármaco praziquantel é um procedente do núcleo isoquinoleínico-pirazínico de amplo espectro anti-helmíntico. Este tem ação esquistossomicida, na qual acontece em aproximadamente 15 minutos após aplicação, agindo na permeabilidade ao cálcio nas células do helminto. O medicamento aumenta a concentração desse íon, o que acaba provocando vacuolização e destruição tegumentar (VITORINO *et al.*, 2012).

Por outro lado, o oxamniquine constitui-se de um derivado da tetraidroquinoléinico, no qual possui uma atividade estrita sobre o *Schistosoma mansoni*, atuando em todos os seus estágios evolutivos. Seu mecanismo de ação é desconhecido, porém, ao que parece, o fármaco se liga ao material genético do helminto. Vitorino *et al.*, (2012) aponta "Sob o efeito do medicamento os vermes adultos interrompem a oviposição e são levados pela circulação porta ao fígado, onde são envolvidos pelo processo inflamatório e fagocitados".

A nitazoxanida (ANNITA), um medicamento antiparasitário de amplo espectro de ação, funciona como inibidor do desenvolvimento e proliferação de protozoários. Além disso, esse agente microbiano também apresenta atividade contra vermes, helmintos e bactérias anaeróbias. Inicialmente, apresentava atividade contra tênias, parasitas intestinais que pertencem ao grupo dos platelmintos, em seguida, a partir de estudos realizados, foi possível observar a sua eficiência contra helmintos e protozoários intestinais (BRAGA *et al.*, 2016). Os

autores citam que, a nitazoxanida foi sintetizada originalmente na década de 1980, a qual tem como base o anti-helmíntico niclosamida.

Sendo um dos fármacos propostos para o tratamento de pacientes infectados com o vírus causador da Covid-19, a nitazoxanida mostrou, a partir de estudos *in vitro*, que possui capacidade de inibição da produção de interleucinas (proteínas produzidas pelos leucócitos). Essa evidência indica a possibilidade de efeito antiviral do fármaco em relação ao vírus. A nitazoxanida manifestou atividade *in vitro* contra células infectadas por SARSCoV-2 em concentrações micromolares baixas ( $EC_{50} = 2,12 \mu M$ ,  $EC_{50}$ : Concentração Eficaz Média) (WANG *et al.*, 2020). Os autores relatam que outros estudos também mostraram que a nitazoxanida tem possível ação contra SARS-CoV-2, pois esta droga atinge concentrações máximas sistêmicas e nos pulmões que podem exceder o necessário para inibir a replicação viral em 50% e 90% (ARSHAD *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2020).

A ivermectina, outro agente antiparasitário de vasto espectro, sendo derivada das avermectinas, uma classe de drogas usadas para o tratamento de vermes e parasitas, foi outro fármaco antiparasitário proposto para o tratamento antiviral da Covid-19. A partir de suas estimativas, esse fármaco foi alvo de estudos *in vitro*. Os autores realizaram testes visando avaliar a atividade antiviral da ivermectina em relação ao vírus SARS-CoV-2. Para isso, células Vero/hSLAM foram infectadas com o vírus causador da Covid-19, e por meio de um experimento estas foram tratadas com diluições em série de ivermectina 2h após a infecção. O resultado observado após 24h do experimento demonstrou que houve uma redução de 93% no RNA viral sobrenadante das amostras tratadas com o fármaco e em 48 horas foi possível observar uma redução de até 99,8% (CALY *et al.*, 2020).

Diante dessas possibilidades, demais fármacos utilizados no tratamento de parasitoses tiveram potencial antiviral avaliado para o tratamento da Covid-19, se levássemos em consideração a urgência de um medicamento, as análises de fármacos atuam como alternativas que poderiam acelerar um processo de minimizar as situações emergenciais, no caso da Covid-19. Não queremos reduzir a eficácia das vacinas, porém, as pesquisas de fármacos também poderiam ter sido uma opção viável para o tratamento da doença podendo, desta forma, diminuir o quantitativo de óbitos causado pela pandemia.

### 3.3 DOCAGEM MOLECULAR

O processo de descoberta de novos medicamentos é longo, desafiador e requer altos custos. Segundo Wouters *et al.*, (2020), no ano de 2020, o custo médio para o desenvolvimento

de um novo fármaco foi avaliado em torno de US\$ 1,3 bilhão. Esse processo envolve cientistas de distintas áreas de conhecimento, como químicos, biólogos, farmacêuticos e outros, várias etapas até chegar em um resultado que pode ser ou não promissor e um prazo que pode variar de 3 a 20 anos até o medicamento chegar ao mercado (SANTOS, 2021). Todas essas etapas de estudos e preparação para a produção de um novo fármaco até sua inserção no mercado são fundamentais para assegurar a população quanto ao uso de medicamentos e evitar a ocorrência de catástrofes farmacêuticas.

Avista disso, metodologias que demandam menos tempo e custos, como no caso dos métodos computacionais são utilizados como ferramentas no desenvolvimento de novos fármacos. Dentre algumas dessas ferramentas podemos citar o estudo das relações entre estrutura e atividade (SAR – *structure-activity relationships*), o estudo das relações quantitativas entre a estrutura e atividade (QSAR – *quantitative structure-activity relationships*), e a investigação das possíveis orientações que uma determinada molécula pode assumir no interior do sítio ativo de um biorreceptor (*docking molecular*) (GUIDO; OLIVA; ANDRICOPULO, 2012).

A docagem molecular é caracterizada por ser um dos métodos mais populares da modelagem molecular. Baseia-se em uma técnica computacional na qual forma-se um complexo usado para avaliar a afinidade de ligação ou a força de associação entre duas moléculas, são priorizados os complexos que apresentam um “encaixe perfeito”, ou seja, moléculas que melhor se ligam à outra (SANTOS, 2021).

No processo de docagem molecular, as moléculas bioativas, as quais possuem baixa massa molecular e ampla diversidade química e efeitos diversos em organismos vivos, são testadas a fim de estabelecer qual, ou quais, delas possam apresentar melhor acomodação no sítio ativo ou sítio catalítico do alvo (região onde ocorre a atividade catalítica), no caso, os fármacos selecionados com bioatividade para com as proteínas do coronavírus. Os ensaios ou simulações computacionais caracterizadas como melhores resultados leva em consideração a energia de ligação exigida para que a molécula bioativa possa ligar-se ao sítio ativo do alvo molecular selecionado para teste. Assim, a molécula que apresentar menor quantidade de energia durante a ligação ao sítio ativo, é considerada aquela que, teoricamente, revela o melhor resultado de atividade (BARROS, 2015).

Baseado na maneira em que as macromoléculas, também citadas como enzimas ou proteínas interagem com os ligantes, como os fármacos testados como possibilidade de reposicionamento, Santos (2021) diz que o conceito adotado para docagem molecular pode ser fundamentado em prever a orientação prioritária e as interações geradas entre uma molécula

em relação a outra, na qual será descrita por meio de maneira computacional o possível complexo macromolécula-ligante que ocorre em ambiente biológico.

Segundo Kuntz *et al.*, (1982) destaca-se que na metodologia de docagem, o reconhecimento molecular a partir da interação entre ambas as moléculas, químico e geométrico, pode ser analisado por meio de modelos tridimensionais, tanto da macromolécula quanto do ligante. Sendo assim, a partir desses princípios essa metodologia é aplicada como um método acelerado de avaliar o modo de ligação de um determinado composto dentro de um alvo, além de prever a afinidade de tal ligação (PANTSAR, 2018). O autor também destaca o que pode ser um ponto negativo a respeito dessa metodologia. Eles citam que a estimativa de afinidade entre o alvo e o ligante pode ser considerada como não confiável, uma vez que a simplificação das interações iônicas, van der Waals e de hidrogênio entre esses elementos impostas no método de docagem molecular pode ser apontado como o problema mais difundido.

Uma das abordagens mais populares em relação ao processo de descobertas de novos fármacos utilizando a modelagem molecular, são as simulações computacionais, também chamada de docagem molecular. Esses métodos são largamente utilizados, vez que seu emprego pode resultar na exploração de hipóteses de forma ágil e com baixo custo em relação aos experimentos realizados em laboratório.

Barros (2015) salienta que dessa forma, a utilização da ferramenta de docagem molecular possibilita que várias estruturas moleculares de distintos compostos bioativos possam ser submetidas a testes com o objetivo de adquirir o *screening* virtual (triagem virtual) em que aquelas que expressarem melhores resultados seriam classificadas como promissoras, sendo encaminhadas para as etapas seguintes, acelerando assim a fase inicial de desenvolvimento de um novo fármaco. Por outro lado, este também traz a possibilidade de evitar avaliar a síntese biológica de uma molécula não promissora.

A cada passo o método de docagem molecular tem sido utilizado em união a outros métodos, como mecânica quântica (ADENIYI *et al.*, 2017) e dinâmica molecular (SANTOS *et al.*, 2019), entre outros. A participação em conjunto da docagem molecular com esses outros métodos pode permitir a validação e melhoria dos resultados obtidos a partir os testes de simulação. Com isso, essas técnicas podem ser vistas como fundamentais nos avanços científicos no que diz respeito a formação de novos complexos. Entretanto, esses resultados obtidos a partir de ensaios computacionais não podem ser legitimados, principalmente se levado em consideração suas simplificações. Assim, é necessário empregar-se técnicas mais precisas, como as clínicas, para a comprovação dos resultados adquiridos (SIMÕES, 2021).

### 3.4 PROTEÍNAS DO VÍRUS

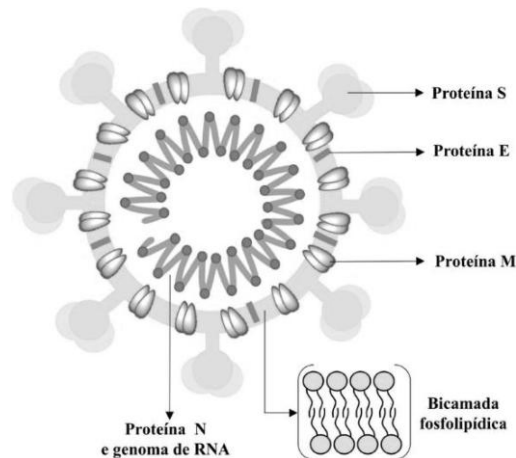
Para evitar a disseminação de um determinado tipo de vírus na população humana, é necessário estimular o sistema imunológico ou impedir que a carga viral se multiplique em suas células. Embora não sejam considerados como seres vivos pelo fato de serem acelulares, ou seja, não possuir células, os vírus se multiplicam utilizando as próprias células humanas de seu hospedeiro, Stephens *et al.*, (2009) ressalta que, apesar de terem capacidade de se replicar, os vírus não possuem em aparato enzimático suficiente para sua replicação, por esse motivo, esses são denominados parasitas intracelulares obrigatórios.

Stephens *et al.*, (2009) também frisa que os vírus possuem algumas propriedades físico-químicas e biológicas, tais como: massa molecular, temperatura, pH, densidade, estabilidade iônica, suscetibilidade a agentes químicos e físicos, composição proteica constituída de carboidratos e lipídios, transmissão e patogenicidade, natureza e afinidade antigênica e tropismo, ou seja, a capacidade que um determinado vírus tem de infectar especificamente um dado tipo de célula de um organismo.

Diante dessas propriedades, os vírus são capazes de infectar o organismo por meio de receptores característicos presentes na membrana celular das células hospedeiras. Dessa forma, a interação entre o vírus e o hospedeiro pode ser a explicação para muitas características das viroses, tanto no que diz respeito a transmissão do vírus quanto a sua competência de se sobressair em relação as defesas do organismo infectado. Assim, baseado na resposta do sistema imune e em relação a replicação viral a partir das células hospedeiras, cientistas tiveram a iniciativa de explorar outro alvo como possível alternativa para combater o vírus causador da covid-19: impedir a entrada do vírus na célula.

A família dos coronavírus possui quatro proteínas em sua superfície, o que seriam os possíveis pontos de ligação do vírus SARS-CoV-2 com as células humanas. Dentre elas estão: a do envelope, chamada de proteína (E), a da membrana (M), a do nucleocapsídeo (N) e a proteína *spike* (S), sendo essa a maior proteína estrutural do grupo.

Figura 1: Estrutura proteica do vírus SARS-CoV-2.



Fonte: LIMA, *et al.*, (2020).

Faustino (2020) aponta que as extremidades do coronavírus responsável pela última pandemia possuem projeções em espículas, essas são denominadas proteínas *spike*. Essas estruturas presentes ao redor do envelope viral são as responsáveis pelo aspecto de “coroa” do coronavírus. São formadas pelos domínios S1 e S2, os quais possuem, respectivamente, o domínio de ligação ao receptor da enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2) presente na célula e o domínio da fusão do vírus na membrana celular do hospedeiro.

A proteína S ou *spike* do SARS-CoV-2 que se liga à ECA2 presente em nossas células, já havia sido descoberta nas primeiras aparições de coronavírus, no caso o SARS-CoV e o MERS-CoV. No entanto, análises de cinética de ligação demonstraram que o receptor celular ECA 2 possui de 10 a 20 vezes mais afinidade com o SARS-CoV-2 do que com o SARS-CoV. Essa comparação de interação estrutural entre as duas variações do vírus em relação a ECA 2 pode elucidar o motivo da velocidade da transmissão da doença em todo o mundo (CHEN *et al.*, 2020; YAN *et al.* 2020). A ECA2 é o receptor humano para a introdução do SARS-CoV-2, assim, a proteína *spike*, a qual liga-se ao receptor enzimático, é classificada como estrutura fundamental na infectividade do vírus. Com base nisso, essa proteína tem sido alvo de vários estudos para o desenvolvimento de insumos, os quais visam a prevenção e tratamento da Covid-19.

A ECA2 está expressa na superfície das células humanas, esta é um homólogo da já conhecida ECA – responsável pela regulação da pressão arterial dentro do Sistema Renina-Angiotensina (OLIVEIRA, 2020). Essa enzima encontra-se presente em vários tipos de células e tecidos, como coração, pulmões, rins, fígado e vasos sanguíneos. Encontra-se também em



células epiteliais, as quais possuem a função de revestir determinados tecidos criando barreiras protetoras.

O gene da enzima conversora de angiotensina 2 (ECA 2) geralmente é expresso em pacientes com doenças crônicas, incluindo diabetes, hipertensão, dentre outras doenças cardiovasculares. Isso possibilita que esses pacientes se tornem mais vulneráveis a infecção pelo vírus SARS-CoV-2 (OLIVEIRA, 2020). A autora também aponta que, pelo fato de a entrada do vírus na célula ser facilitada, principalmente, em decorrência da ligação da proteína *spike* do vírus com o receptor ECA 2, o aumento da expressão dessa molécula nas extremidades das células desses pacientes com comorbidades, pode aumentar também as possibilidades de infecção, além de induzir a gravidade da doença.

A partir desses pressupostos, Faustino (2020) considera que os casos mais graves relacionados ao coronavírus estão associados à existência de comorbidades no histórico clínico dos pacientes, pode-se cogitar que àqueles cujos sintomas respiratórios são mais frequentes, significa que o trato respiratório apresenta a ECA 2. Dessa forma, as estratégias de prevenção e tratamento basearam-se especificamente no combate a replicação do viral a partir da ligação da ligação da proteína do vírus com a enzima da célula, para que assim o vírus seja impedido de introduzir-se no meio celular e, diante disso, não ter a capacidade de se multiplicar espalhando-o por todo organismo do paciente.

O SARS-CoV-2 apresenta uma camada composta de proteínas saturadas do aminoácido cisteína em seu envoltório, para que o vírus mantenha sua atividade estas precisam estar intactas e ativas. A Mpro é nomeada como a principal protease ou peptidase, essa é uma enzima responsável por quebrar as ligações peptídicas entre aminoácidos e proteínas, formando proteínas menores a partir da fragmentação de poliproteínas (SIMÕES, 2021). Essas enzimas podem atuar em vários processos fisiológicos e celulares. Além da quebra de ligações peptídicas de outras proteínas, elas também podem catalisar a hidrólise, ou seja, realizar a quebra de ligação covalente de uma molécula de água. Simões (2021) menciona que as minis proteínas originadas através da clivagem de poliproteínas, por sua vez, tem a função de produzir o RNA que codifica as proteínas relacionadas a estrutura do patógeno, como no caso da proteína *spike*, além das que formam o envelope viral.

Para o coronavírus, a protease Mpro é caracterizada como uma proteína essencial. Ela desempenha um papel fundamental para a replicação e transcrição viral. A relação da Mpro com a produção de RNA fez com que esta enzima fosse vista pelos pesquisadores e pela indústria farmacêutica como um importante ponto para o desenvolvimento de fármacos para o tratamento da Covid-19. De acordo com Simões, 2021:

“A possibilidade de influenciar ou bloquear a clivagem representa a quebra de uma das etapas iniciais do ciclo de replicação do vírus SARS-CoV-2. Dessa forma, um dos caminhos estratégicos é a sintetização de componentes químicos projetados para se ligar a pontos específicos da proteína, de forma a bloquear esse processo inativando-a”.

Com base nesse contexto, a bioinformática junto a química computacional e a biologia estrutural apresenta-se como um conjunto de ferramentas promissoras para iniciar a busca por compostos capazes de intervir na formação das cadeias proteicas do vírus. Para isso, utiliza-se as simulações computacionais ou dinâmica molecular visando estudar o movimento físico dos átomos e moléculas dos elementos em fase de teste, e assim, averiguar os pontos de vulnerabilidade do vírus, tensionando impedir sua entrada na célula hospedeira e evitar sua replicação.

### 3.5 BIOINFORMÁTICA E QUÍMICA COMPUTACIONAL

Na tentativa de produzir fármacos que tragam mais benefícios, a bioinformática e a química computacional aparecem como tecnologias que contribuem para o alcance de resultados significativos e rápidos.

De acordo com Pimentel e Bueno (2016):

“A bioinformática é a utilização de métodos computacionais, matemáticos e estatísticos para analisar dados biológicos, bioquímicos e biofísicos. Este é um campo de estudo relativamente recente, que evolui rapidamente, além disso, possui uma ampla definição devido ao vasto campo de estudo e interdisciplinaridade, dependendo da área do conhecimento ou objetivos a que se destina sua utilização. Podemos considerar a bioinformática como uma linha de pesquisa que envolve aspectos multidisciplinares e que surgiu a partir do momento em que se iniciou a utilização de ferramentas computacionais para a análise de dados genéticos, bioquímicos e de biologia molecular” (PIMENTEL e BUENO, 2016, p. 04).

A bioinformática envolve análises de dados biológicos, fundamentalmente aqueles que integram as sequências de DNA e RNA, além delas, os aminoácidos das proteínas – dados retirados dos genes e genomas.

O reposicionamento de fármacos depende, para atingir resultados mais rápidos e precisos, da utilização da bioinformática devido seu uso de dados computacionais que acelera os dados biológicos. Esta biotecnologia conta com uma gama de linhas de conhecimentos: variados sistemas de softwares, estatísticas, sistema computacional sobre biologia molecular, dados matemáticos e entre outros. Isso possibilita uma amplitude às análises de dados para a

produção de novos fármacos que demonstram emergência em sua utilização. A bioinformática tem como objetivo a organização e obtenção nas análises de dados biológicos, depois desse processo, centra-se na elaboração de métodos para integrar às informações coletadas. Segundo os autores:

“Os bancos de dados biológicos consistem em um conjunto de informações interrelacionadas, organizadas, acessíveis, gerenciáveis e atualizadas constantemente. Além disso, as ferramentas atualmente disponíveis permitem ao usuário além da pesquisa e consulta de informações, cruzar e correlacionar de dados seu interesse. Bem como a disponibilidade de técnicas de alto rendimento, os bancos de dados biológicos vêm sendo gerados de forma exponencial e a biologia moderna transformou-se em uma ciência rica em dados” (PIMENTEL e BUENO, 2016, p. 12).

Essas características contribuem para uma análise de dados mais precisa e veloz.

A química computacional assume a tarefa tanto de pesquisa quanto de linha de estudo científico nas universidades. Esta área de estudo, torna-se um ramo muito promissor para o desenvolvimento de pesquisas que necessitem de custos mais acessíveis, mas que tragam resultados relevantes para aquilo que anseia estudar. Segundo os autores: “o progresso no desenvolvimento de softwares e hardwares aliado a uma redução constante de custo dos materiais informáticos, torna a química computacional uma das áreas mais promissoras deste novo século” (RAUPP; SERRANO; MARTINS, 2008, p. 14). Esta metodologia permite uma ampla visualização e realização de cálculos matemáticos complexos, além disso, trata-se de programas computacionais que são facilmente atualizáveis, fator que contribui demasiadamente para as mudanças das pesquisas científicas. As análises não são fixas, as mesmas podem ser modificadas ou alteradas, isso é facilmente solucionado através do uso de programas computacionais, devido seu armazenamento de dados e atualizações feitas constantemente, tudo isso para o alcance de resultados mais precisos e velozes.

Enquanto objeto de pesquisa, a química computacional utiliza-se de programas de softwares e hardwares que intencionam calcular distintas propriedades e estruturas moleculares. Objetiva-se, com este método de pesquisa, completar os resultados retirados de experimentos químicos. Ou seja, além de oferecer uma precisão maior à pesquisa, auxilia-se na identificação de certos fenômenos, que no momento da experiência, pode não ter sido observada. Isso porque, a química computacional trabalha com “aproximações e resultados de cálculos parametrizados por grupos atômicos, a fim de economizar etapas de cálculo computacional” (RAUPP; SERRANO; MARTINS, 2008, p. 17).

O crescimento da utilização da química computacional partiu de seus resultados significativos trazido pelo avanço tecnológico através de computadores mais modernos e com programas mais específicos. A partir desse aspecto, ela é bastante utilizada na produção de novos fármacos por meio de seu reposicionamento. O ponto central dessa metodologia é a rapidez de seus resultados, isso ocorre porque os programas computacionais usam cálculos e recursos próprios dos computadores (como o armazenamento de memória), motivos que levam o aceleramento da pesquisa.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 SELEÇÃO DE FÁRMACOS ANTIPARASITÁRIOS

Para a realização da pesquisa foram feitas buscas em bancos de dados de produções científicas em bases de dados nacionais e internacionais: *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), Portal Regional da Biblioteca Virtual em Saúde (Bireme), *Nacional Center for Biotechnology information* (PubMed), *Thomson Reuters* (Web of Science), *Elsevier group* (Scopus), *Science Direct* e Google acadêmico (BASTOS *et al.*, 2021 e LIMA *et al.*, 2022).

Selecionou-se antiparasitários, comumente citados nas bases de dados científicas, anti-helmínticas, antimaláricos, compostos derivados de artemisininas, ozonidas, trioxaquininas, mefloquinonas entre outros. As estruturas químicas desses compostos foram adquiridas na base do PUBCHEM (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) para posterior análise de docagem molecular).

### 4.2 DOCAGEM MOLECULAR

As estruturas em 3D das proteínas do coronavírus foram obtidos no banco de dados de proteínas PDB Proteína Data Bank (PDB) (<http://www.rcsb.org/>) (BERMAN *et al.*, 2000) com os respectivos códigos. Estrutura da glicoproteína de pico SARS-CoV-2 (estado fechado) (PDB ID: 6VXX) (WALLS *et al.*, 2020), carboxipeptidase relacionada à Enzima Conversora de Angiotensina Humana Nativa (ECA 2) (PDB ID: 1R42) (TOWLER *et al.*, 2004), estrutura cristalina da principal protease (mPRO) do SARS-CoV-2 em complexo com um inibidor N3 (PDB ID: 6LU7) (LIU *et al.*, 2020) e receptor3 – sítio de interação Spike/ECA). Para as docagens, os arquivos de proteínas foram preparados pela remoção de todas as moléculas de água e outros grupos, como íons, usando o software Chimera v.13.1 (<https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/>) (PETTERSEN *et al.*, 2004). Em seguida, foram realizadas utilizando os programas Autodock Tools (ADT) (<http://autodock.scripps.edu/>), versão 1.5.6 (GOODSELL; MORRIS, 1996; GOODSELL, 2005; MORRIS *et al.*, 2008) para a preparação dos ligantes e das macromoléculas e o programa AutoDock Vina (<https://vina.scripps.edu/>) (TROTT e OLSON, 2009) para prepara o grid e as docagens.

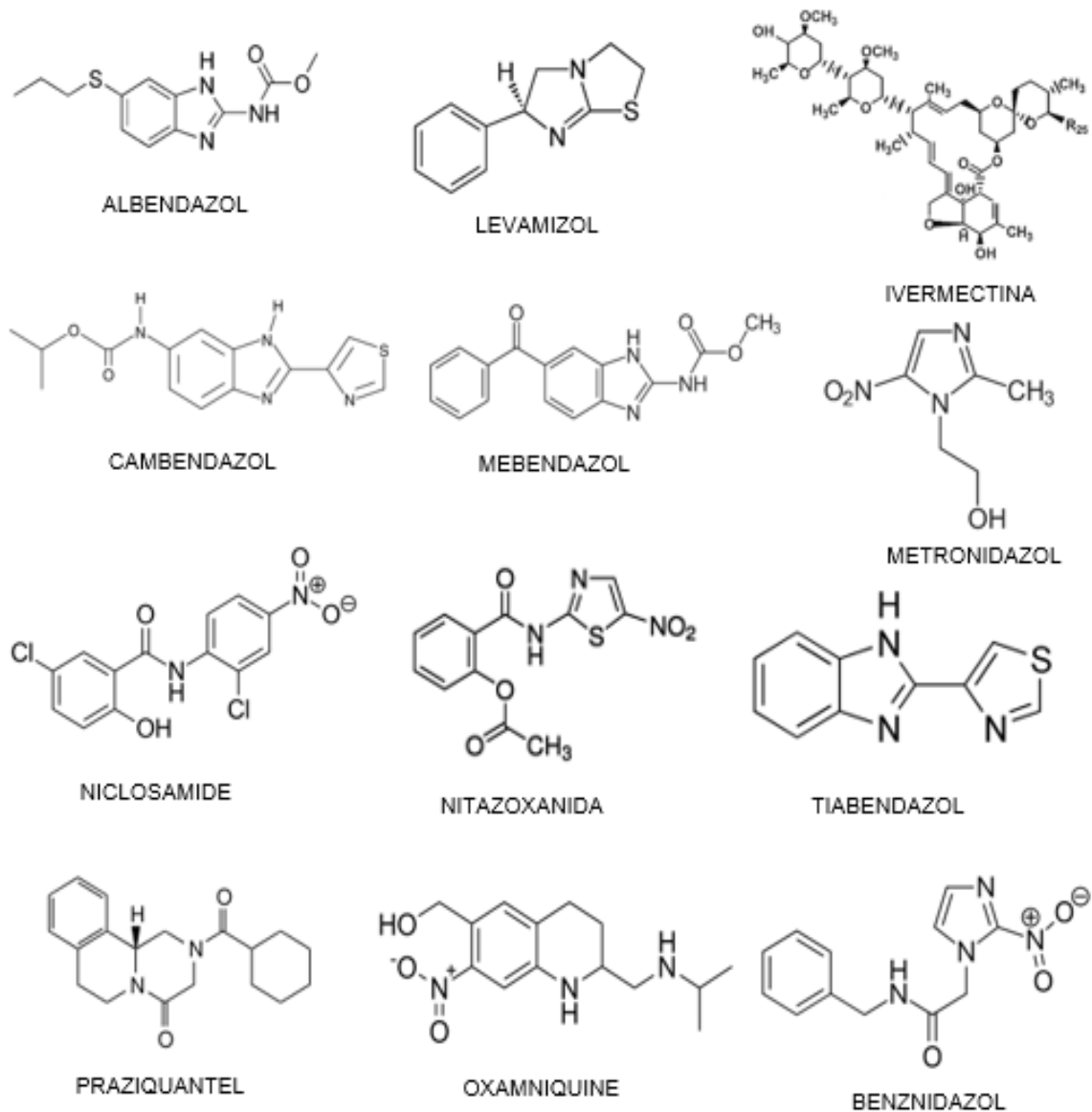
O receptor foi considerado rígido, enquanto cada ligante foi considerado flexível. As cargas parciais Gasteiger (GASTEIGER e MARSILI, 1980) foram calculadas após a adição de todos os hidrogênios. Os átomos de hidrogênio não polares de proteínas e ligantes foram subsequentemente mesclados. Foi gerada uma caixa cúbica de 30 x 30 x 30 pontos com resolução de 0,35 Å entre os pontos da grade para todo o alvo da proteína. Os centros das grades

de afinidade molecular foram definidos a partir das coordenadas x, y e z. O restante dos parâmetros do docking molecular foi definido com os valores padrões. As análises foram concentradas nos grupos de menor energia. A conformação de menor energia combinada com inspeção visual foi escolhida para uma análise mais detalhada (ROCHA *et al.*, 2018).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram selecionados após a busca em bases de dados científicos um total de 12 antiparasitários que são amplamente utilizados para o tratamento de diversas doenças (Figura 02).

Figura 2: Estrutura química bidimensional dos antiparasitários selecionados mais utilizados na literatura com aplicações medicinais.



Fonte: Autoria própria (2022)

Os 12 antiparasitários selecionados foram testados por docagem molecular em 04 proteínas do novo coronavírus. As proteínas selecionadas são as mais utilizadas nos estudos de docagem molecular e nos aspectos de atividade biológica do vírus, uma vez que a proteína Spike é responsável pela entrada do vírus na célula hospedeira, a ECA 2 da célula facilita a infecção do vírus devido a sua ligação com a proteína Spike e a mPRO que tem função de replicar o vírus dentro da célula. Os resultados de interação molecular são apresentados nas tabelas 01, 02, 03 e 04, abaixo. Para fins de classificação escolhemos os valores de afinidade molecular abaixo de -7.0 kcal/mol para continuidade dos testes computacionais.

A proteína Spike é a principal chave de entrada do coronavírus nas células. Entender sua estrutura biológica e como interagem com as proteínas pode ser um grande passo para evitar a entrada celular do vírus. Entre os antiparasitários testados contra a proteína S, o mais promissor deles seria a ivermectina, porém esse fármaco que foi amplamente divulgado durante o período pandêmico e mesmo consumido por diversas pessoas, passou por vários testes clínicos no qual comprovaram sua ineficácia contra a doença. Os parâmetros de afinidade molecular dos antiparasitários com a proteína S (spike) (PDB ID: 6VXX) do coronavírus estão apresentados na tabela 01.

Tabela 1: Parâmetros de afinidade molecular entre antiparasitários com a proteína Spike (PDB ID: 6VXX) do novo coronavírus Covid-19.

<b>Complexo (Proteína-ligante)</b>	<b><math>\Delta G_{bind}^a</math> (kcal/mol)</b>	<b>Aminoácidos que interagiram por ponte de hidrogênio</b>	<b>Aminoácidos que interagiram por ligação hidrofóbica</b>
Ivermectina	-9,3	Asp40	Arg44 (B), Arg567 (A), Arg983 (B), Asp198 (B), Glu516 (A), His519 (A), Leu517 (A), Leu518 (A), Phe464 (A), Phe515 (A), Pro426 (A), Ser514 (A), Ser974 (B), Thr430 (A), Tyr200 (B), Val42 (B)
Mebendazol	-7,8	Arg983, Thr430	Asp198 (B), Glu516 (A), Ile197 (B), Leu517 (A), Leu518(A), Lys202 (B), Phe515(A), Tyr200 (B)
Benznidazol	-7,5	Arg1000, Gly744	Asn856 (B), Ile742 (B), Leu966 (B), Met740 (B), Phe855 (B), Pro589 (A), Thr572 (A), Thr573 (A)
Niclosamide	-7,4	Arg983, Ser514	Glu516 (A), Leu517 (A), Leu518 (A), Phe515 (A), Thr430 (A), Tyr200 (B)
Praziquantel	-7,3	-	Arg44 (B), Arg567 (A), Asp568 (A), Asp571 (A), His49 (B), Ile569 (A), Lys964 (B), Ser967 (B)

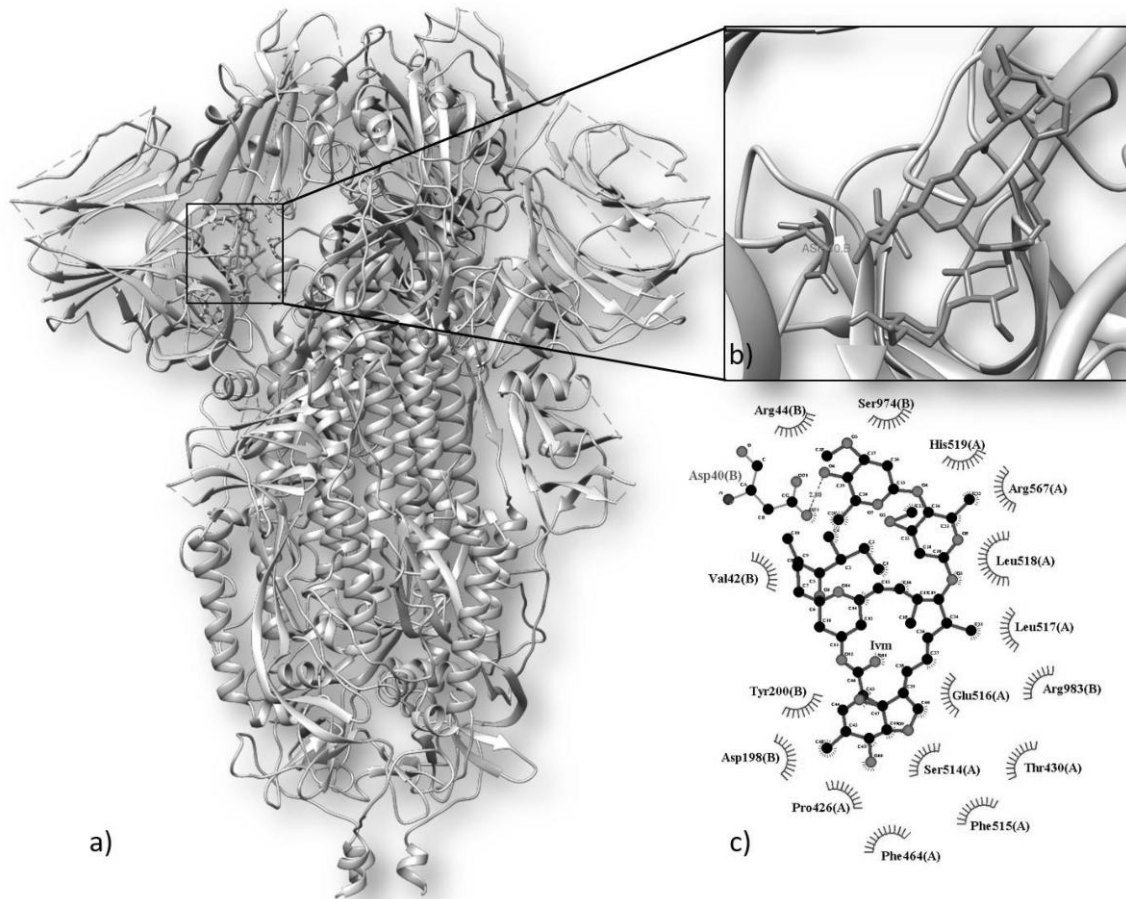


Oxamniquine	-7,2	Arg1000, Gly744, Leu977, Thr549	Asn978 (B), Asp745 (B), Ile587 (A), Leu966 (B), Phe541 (A), Pro589 (A), Thr572 (A)
Nitazoxanida	-6,6	Arg983 (B), Phe515 (A), Thr430 (A)	Phe464 (A), Ser514 (A), Tyr200 (B), Glu516 (A), Asp198 (B), Pro426 (A), Phe429 (A), Asp428 (A), Leu517 (A)
Cambendazol	-6,6	Arg983 (B), Phe515 (A)	Asp979 (B), Glu516 (A), His519 (A), Leu517 (A), Leu518 (A), Phe464 (A), Ser514 (A), Ser974 (B), Thr420 (A), Tyr200 (B)
Albendazol	-6,4	Thr573(A)	Arg1000 (B), Asn856 (B), Asp568 (A), Asp574 (A), Gly744 (B), Ile587 (A), Leu966 (B), Phe855 (B), Pro589 (A), Thr572 (A)
Levamisol	-6,3	-	Asn856 (B), Asp568 (A), Phe541 (A), Phe855 (B), Pro589 (A), Thr547 (A), Thr572 (A), Thr573 (A)
Tiabendazol	-5,8	Thr430 (A)	Arg983 (B), Asp428 (A), Glu516 (A), Leu517 (A), Leu518 (A), Phe429 (A), Phe515 (A), Pro426 (A), Ser514 (A)
Metronidazol	-5.4	Arg1000, Gly744, Leu977	Leu966 (B), Asn856 (B), Thr572 (A), Val976 (B)

(a) Energia de ligação da melhor conformação (kcal.mol<sup>-1</sup>)

Foi possível observar que seis fármacos tiveram energia abaixo de -7.0 kcal/mol, sendo eles a ivermectina (-9.3 kcal/mol), mebendazol (-7.8 kcal/mol), benznidazol (-7.5 kcal/mol), niclosamide (-7.4 kcal/mol), praziquantel (-7.3 kcal/mol) e oxamniquine (-7.2 kcal/mol). Observa-se que houve uma maior afinidade do fármaco ivermectina com a proteína spike entre os compostos testados. É possível observar que a ivermectina interagiu por ligação de hidrogênio com o aminoácido Asp40, além disso, formou dezesseis ligações hidrofóbicas (Figura 02).

Figura 3: Interação molecular do fármaco ivermectina (laranja) com a proteína spike (bege). a) sítio ativo do ligante-proteína em 3d, b) local da interação da ivermectina com os aminoácidos em 3d e c) interações hidrofóbicas e por ligação de hidrogênio da ivermectina em 2d.



**Fonte:** Autoria própria (2022)

Observa-se também que o mebendazol interagiu com os aminoácidos Thr430 e Arg983 da proteína Spike. Houve interação com oito aminoácidos por ligação hidrofóbica. O fármaco benznidazol interagiu por ligação de hidrogênio com os aminoácidos Gly744 e Arg1000, formou-se também oito ligações hidrofóbicas. O niclosamide, por ligação de hidrogênio, interagiu com os aminoácidos Arg983 e Ser514, e por ligação hidrofóbica com seis aminoácidos. Já o praziquantel não interagiu por ligação de hidrogênio, mas interagiu por ligação hidrofóbica com oito aminoácidos. Nota-se que o oxamniquine fez interações com quatro aminoácidos por ligação de hidrogênio e com sete aminoácidos por ligação hidrofóbica, (Tabela 01).

Assim, sugerimos outros potenciais fármacos apresentados neste trabalho como o mebendazol, benznidazol, niclosamide, praziquantel e oxamniquine que também poderia

interagir com a proteína spike impedindo a entrada do vírus na célula, vez que estes apresentaram resultados promissores em relação a afinidade de ligação com a proteína.

A proteína Spike também foi um alvo importante na busca por inibidores contra a Covid-19. Uma pesquisa realizada por BASTOS *et al.*, (2020), os autores testaram dois alvos enzimáticos (6VSB, que é utilizada pelo 2019-nCoV para poder entrar entrada nas células hospedeiras e 6M17, que atua convergindo a angiotensina, um hormônio peptídico que controla a vasoconstrição e a pressão sanguínea. Além de poder explorar a proteína de membrana ACE2 para infecção do hospedeiro) em interação com os fármacos Ledipasvir e Ombitasvir. Os testes entre as proteínas e os ligantes resultaram em energias de interação iguais a -6.88 kcal/mol com o fármaco Ledipasvir e a proteína 6VSB (Spike S) e -6.25 kcal/mol com a proteína 6M17. E para os mesmos alvos, o fármaco Ombitasvir obteve energia de interação iguais a -5,96 e -4,53 kcal/mol, respectivamente.

A afinidade molecular dos antiparasitários com a enzima conversora de angiotensina (ECA 2) (PDB ID: 1R42) do coronavírus está apresentada na tabela 02.

Tabela 2: Parâmetros de afinidade molecular entre antiparasitários com a proteína ECA 2) (PDB ID: 1R42).

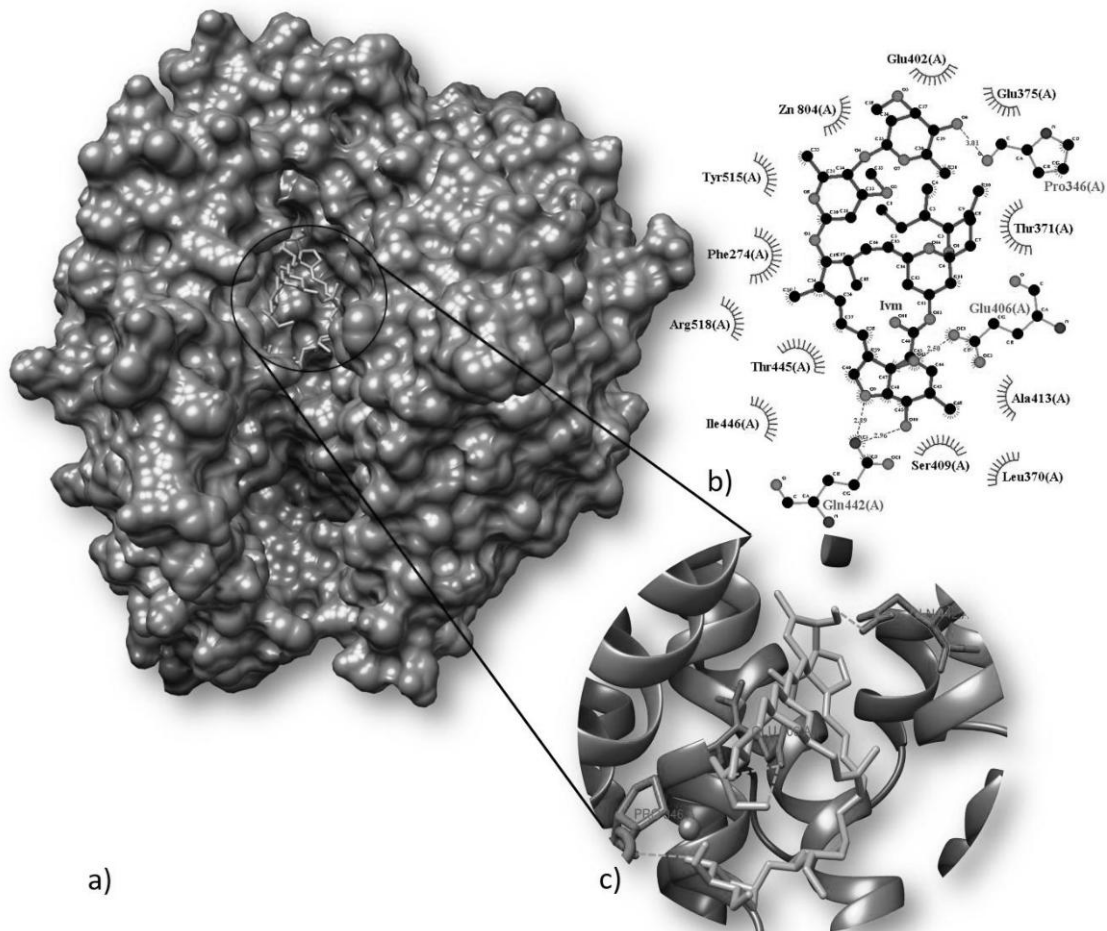
<b>Complexo (Proteína-ligante)</b>	<b><math>\Delta G_{bind}^a</math> (kcal/mol)</b>	<b>Aminoácidos que interagiram por ponte de hidrogênio</b>	<b>Aminoácidos que interagiram por ligação hidrofóbica</b>
Ivermectina	-8,4	Gln442, Glu406, Pro346	Ala413, Arg518, Glu375, Glu402, Ile446, Leu370, Phe274, Ser409, Thr371, Thr445, Tyr515, Zn 804,
Praziquantel	-7,3	Ala348	Asn394, Asp350, His378, His401, Ser44, Thr347, Trp349
Mebendazol	-7,2	Glu402, His401	Ala348, Arg393, Asn394, Asp350, Asp382, Glu375, His378, Phe40, Thr347, Tyr385, Zn804
Nitazoxanida	-7,0	Asp350, Tyr385	Ala348, Arg393, Asn394, Phe40, Ser44, Ser47, Trp349,
Niclosamide	-6,9	Asp350, Tyr385	Ala348, Arg393, Phe40, Ser47, Trp349
Cambendazol	-6,9	Ala348, Glu375, Pro346,	Asp350, Asp382, His378, His401, Thr347, Tyr385
Benznidazol	-6,8	Asp350, Tyr385	Arg393, Asn394, Asp382, His401, Phe40, Ser44, Trp349
Oxamniquine	-6,3	Ala348, Asn51	Asp350, Asp382, Thr347, Trp349
Tiabendazol	-6,1	Tyr385	Arg393, Asp350, Asp382, His378, Ala348, His401
Levamisol	-5,5	-	Ala348, Asp350, Phe40, Trp349

Albendazol	-5,5	-	Ala348, Asp350, His378, His401, Phe40, Ser44, Ser47, Trp349
Metronidazol	-4,1	Ala348, Tyr385	Asn394, Asp350, Asp382, His378 His401

(a) Energia de ligação da melhor conformação (kcal.mol<sup>-1</sup>)

Foi possível observar que quatro fármacos tiveram energia abaixo de  $-7.0$  kcal/mol, sendo eles a ivermectina ( $-8.4$  kcal/mol), praziquantel ( $-7.3$  kcal/mol), mebendazol ( $-7.2$  kcal/mol) e nitazoxanida ( $-7.0$  kcal/mol). Observa-se que houve novamente uma maior afinidade do fármaco ivermectina com a proteína ECA entre os compostos avaliados. Foi possível observar que a ivermectina interagiu por ligação de hidrogênio com os aminoácidos Pro346, Glu406 e Gln442 da proteína ECA2, além disso, formou doze ligações hidrofóbicas (Figura 03).

Figura 4: Interação molecular do fármaco ivermectina (laranja) com a proteína conversora de angiotensina – ECA (verde). a) sítio ativo do ligante-proteína em 3d, b) interações hidrofóbicas e por ligação de hidrogênio da ivermectina em 2d. e c) local do sítio ativo de interação da ivermectina com os aminoácidos (vermelho) em 3d.



Fonte: Autoria própria (2022)

Observa-se também que o praziquantel possui a segunda maior afinidade com a proteína ECA2, interagindo com o aminoácido Ala348 por ligação de hidrogênio e com sete aminoácidos por ligação hidrofóbica. O mebendazol destaca-se em terceiro lugar na posição de maior afinidade com a proteína ECA 2, este interagiu com os aminoácidos Glu402, His401 por ligação de hidrogênio, interagindo também com onze aminoácidos por ligação hidrofóbica. A nitazoxanida também se revelou como um fármaco de boa afinidade com a proteína, realizando interação com os aminoácidos Tyr385 e Asp350 por ligação de hidrogênio e interações com sete aminoácidos por ligação hidrofóbica (Tabela 02).

Tabela 3: Parâmetros de afinidade molecular entre antiparasitários com a proteína ECA 2) (PDB ID: 1R42).

<b>Complexo (Proteína-ligante)</b>	<b><math>\Delta G_{\text{bind}}^a</math> (kcal/mol)</b>	<b>Aminoácidos que interagiram por ponte de hidrogênio</b>	<b>Aminoácidos que interagiram por ligação hidrofóbica</b>
Ivermectina	-8,4	Gln442, Glu406, Pro346	Ala413, Arg518, Glu375, Glu402, Ile446, Leu370, Phe274, Ser409, Thr371, Thr445, Tyr515, Zn 804,
Praziquantel	-7,3	Ala348	Asn394, Asp350, His378, His401, Ser44, Thr347, Trp349
Mebendazol	-7,2	Glu402, His401	Ala348, Arg393, Asn394, Asp350, Asp382, Glu375, His378, Phe40, Thr347, Tyr385, Zn804
Nitazoxanida	-7,0	Asp350, Tyr385	Ala348, Arg393, Asn394, Phe40, Ser44, Ser47, Trp349,
Niclosamide	-6,9	Asp350, Tyr385	Ala348, Arg393, Phe40, Ser47, Trp349
Cambendazol	-6,9	Ala348, Glu375, Pro346,	Asp350, Asp382, His378, His401, Thr347, Tyr385
Benznidazol	-6,8	Asp350, Tyr385	Arg393, Asn394, Asp382, His401, Phe40, Ser44, Trp349
Oxamniquine	-6,3	Ala348, Asn51	Asp350, Asp382, Thr347, Trp349
Tiabendazol	-6,1	Tyr385	Arg393, Asp350, Asp382, His378, Ala348, His401
Levamisol	-5,5	-	Ala348, Asp350, Phe40, Trp349
Albendazol	-5,5	-	Ala348, Asp350, His378, His401, Phe40, Ser44, Ser47, Trp349
Metronidazol	-4,1	Ala348, Tyr385	Asn394, Asp350, Asp382, His378 His401

(a) Energia de ligação da melhor conformação (kcal.mol<sup>-1</sup>)

A proteína conversora de angiotensina (ECA 2) é a principal receptora do vírus nas células, interagindo diretamente com a proteína Spike do vírus. Observamos novamente a ivermectina com melhor resultado de interação, porém já sabemos que o direcionamento computacional já foi descartado durante os diversos ensaios clínicos realizados, ficando então a disposição os fármacos candidatos praziquantel, mebendazol e nitazoxanida que interagiram com a proteína ECA2. O fármaco nitazoxanida foi aprovado e amplamente divulgado sua utilização para os estágios iniciais de tratamento da doença.

Avaliamos também afinidade molecular dos antiparasitários na inibição do acoplamento da enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2) com a proteína Spike do coronavírus que está representado na tabela 03.

Tabela 4: Parâmetros de afinidade molecular entre antiparasitários com as proteínas Spike/ECA 2 do novo coronavírus Covid-19.

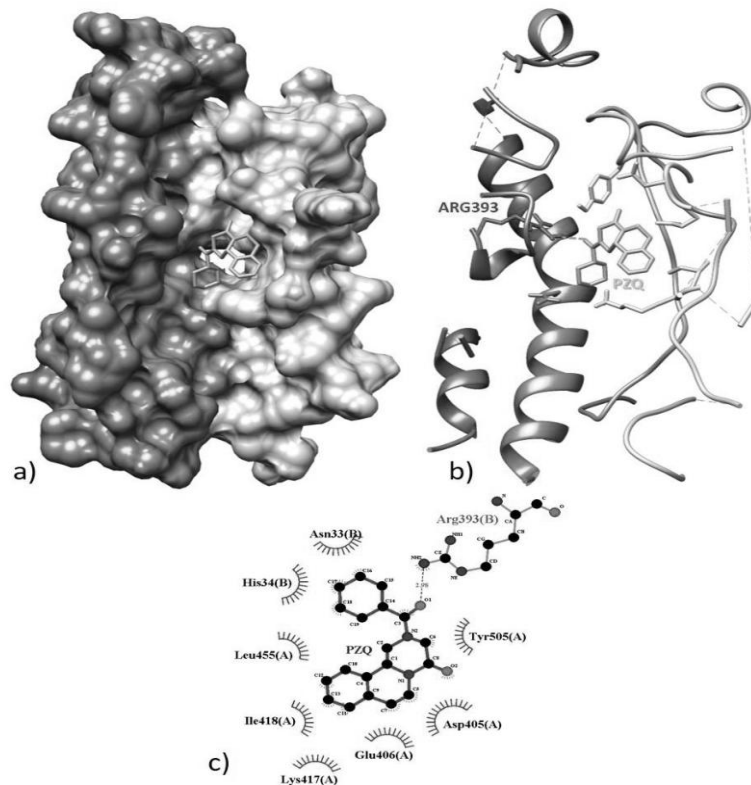
<b>Complexo (Proteína-ligante)</b>	<b><math>\Delta G_{bind}^a</math> (kcal/mol)</b>	<b>Aminoácidos que interagem por ponte de hidrogênio</b>	<b>Aminoácidos que interagem por ligação hidrofóbica</b>
Praziquantel	-8,1	Arg393	Asn33 (B), Asp405 (A), Glu406 (A), His34 (B), Ile418 (A), Leu455 (A), Lys417 (A), Lys418 (A), Tyr505 (A)
Ivermectina	-8,0	Lys417	Ala387(B), Arg403 (A), Asn33 (B), Asp30 (B), Gln96 (B), Glu37 (B), Leu29 (B), Leu455 (A), Lys26 (B), Pro389 (B)
Mebendazol	-7,9	Arg403, Asn33, Phe390, Tyr453	Arg393(B), Asp38(B), Glu37(B), His34(B), Lys417(A), Pro389(B), Ser494(A), Tyr495(A)
Niclosamide	-6,8	Arg393, Arg403, Tyr453	Ala387(B), Asn33(B), Gln388(B), Glu37(B), His34(B), Lys417(A), Pro389(B)
Cambendazol	-6,8	Gln493, Glu37, Tyr505	Ala387(B), Arg393(B), Arg403(A), Asn33(B), His34(B), Ser494(A), Tyr453(A), Tyr495(A)
Benznidazol	-6,7	Asp405, Gly354, Tyr505	Ala386(B), Ala387(B), Arg393(B), Asp350(B), Gly352(B), Lys353(B), Phe356(B), Phe390(B)
Albendazol	-6,4	Cys488, Gly485, Lys31, Phe490	Glu484(A), Glu75(B), Leu79(B), Phe486(A), Tyr489(A)
Nitazoxanida	-6,3	Arg393, Arg403	Ala386(B), Ala387(B), Asn33(B), Gln388(B), Glu37(B), His34(B), Lys417(A), Pro389(B)

Oxamniquine	-6,2	Glu484, Lys31, Phe490,	Gln76(B), Leu79(B), Phe28(B), Tyr489(A)
Tiabendazol	-6,1	Arg393, Asp350	Gly452(B), Leu391(B), Phe356(B), Phe390(B), Phe40(B)
Levamisol	-5,4	Asp350	Arg393(B), Gly352(B), Phe390(B) Phe40(B)
Metronidazol	-4,6	Arg393, Phe390	Asn33(B), Glu37(B), Lys417(A), Pro389(B), Tyr505(A)

(a) Energia de ligação da melhor conformação (kcal.mol<sup>-1</sup>)

Foi possível observar que três fármacos tiveram energia abaixo de -7.0 kcal/mol, sendo eles o praziquantel (-8.1 kcal/mol), ivermectina (-8.0 kcal/mol) e mebendazol (-7.9 kcal/mol). Observa-se que houve uma ligação com maior energia do fármaco praziquantel entre as proteínas ECA2 e Spike. Foi possível observar que o praziquantel interagiu por ligação de hidrogênio com o aminoácido Arg393 da proteína ECA, além disso, formou nove ligações hidrofóbicas (Figura 05).

Figura 5: Interação molecular do fármaco praziquantel (laranja) com as proteínas spike (bege) e ECA2 (verde). a) sítio ativo do ligante-proteína em 3d, b) local da interação do praziquantel com os aminoácidos (vermelho) em 3d e c) interações hidrofóbicas e por ligação de hidrogênio do praziquantel em 2d.



Fonte: Autoria própria (2022)

O fármaco ivermectina destaca-se com a segunda maior afinidade com as proteínas ECA2 e Spike, apresentando interação com o aminoácido Lys417 e interações com dez aminoácidos por ligação hidrofóbica. Nota-se também que o mebendazol aparece novamente como um dos fármacos de maior afinidade com as proteínas do coronavírus. É possível observar que houve interação com os aminoácidos Phe390, Asn33, Arg403, Tyr453 por ligação de hidrogênio e interação com oito aminoácidos por ligação hidrofóbica (Tabela 03).

Os parâmetros de afinidade molecular dos antiparasitários com a proteína principal (mPRO) (PDB ID: 6LU7) do coronavírus está representado na tabela 04.

Tabela 5: Parâmetros de afinidade molecular entre antiparasitários com a proteína mPRO (PDB ID: 6LU7) do novo coronavírus Covid-19.

<b>Complexo (proteína-ligante)</b>	<b><math>\Delta G_{bind}^a</math> (kcal/mol)</b>	<b>Aminoácidos que interagem por ponte de hidrogênio</b>	<b>Aminoácidos que interagem por ligação hidrofóbica</b>
Praziquantel	-7,5	-	Cys145, Gln189, Glu166, His163, His164, His41, Leu141, Met165, Met49, Phe140, Thr26
Mebendazol	-7,1	His163, Tyr54	Arg188, Asn142, Asp187, Glu166, His164, His41, Leu141, Met165, Met49, Phe140
Ivermectina	-7,0	Asn142, Gly143	Gln189, Glu166, His164, His41, Leu141, Met49, Pro168, Ser46, Thr25
Niclosamide	-6,9	-	Asn142, Asp187, Cys145, Gln189, Glu166, His41, Leu141, Met185, Met49, Phe140
Nitazoxanida	-6,8	His164, His41, Tyr54	Arg188, Asn142, Asp187, Cys145, Gln189, Gly143, His163, Leu141, Met185, Met49
Cambendazol	-6,6	Arg188, His164, His41	Cys145, Gln189, Glu166, Gly143, Met165, Met49, Pro168, Thr190, Thr25
Oxamniquine	-6,4	His164	Arg188, Asn142, Asp187, Cys145, Gln189, Glu166, His163, His172, His41, Leu141, Met165, Phe140, Tyr54
Benznidazol	-6,2	Cys145, Gly143, Ser144	Asn142, His41, Leu27, Thr26, Leu141, His164, Met49, Thr25, Met165
Tiabendazol	-5,8	His164	Asn142, Asp187, Cys145, Gly143, His41, Leu141, Met165, Met49, Tyr54

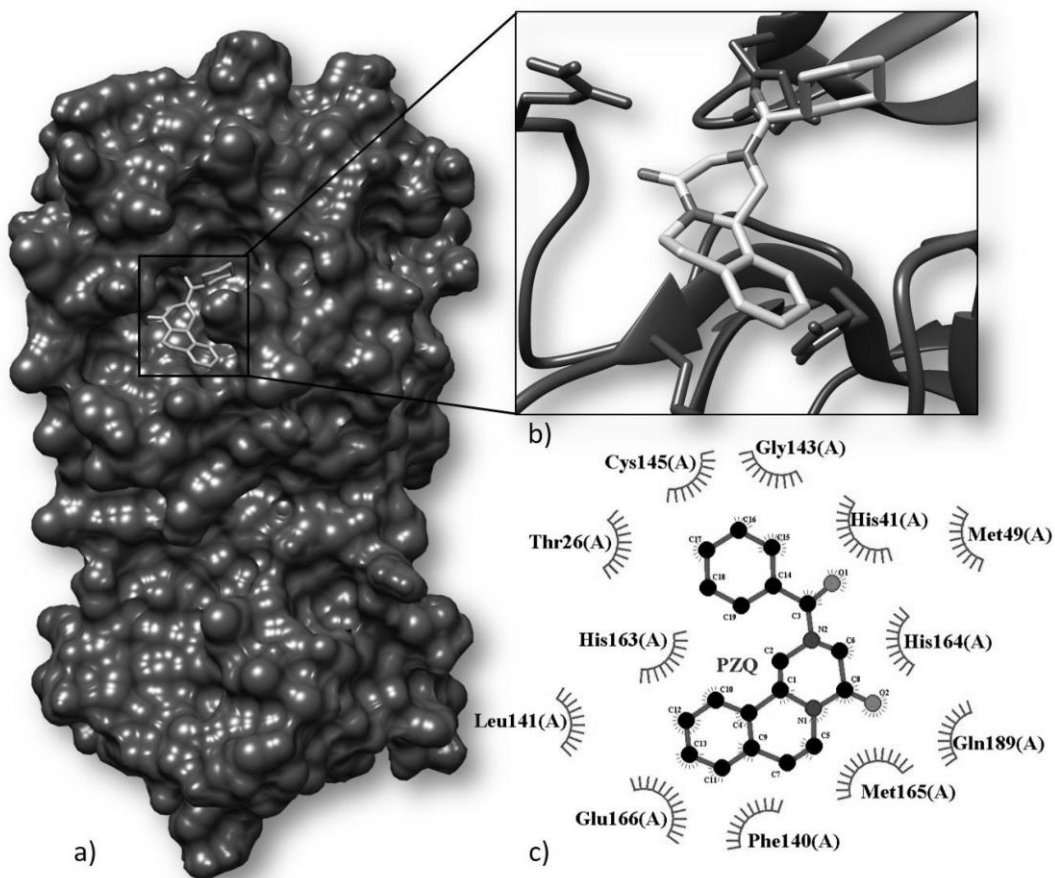


Albendazol	-5,7	His164	Arg188, Asn142, Asp187, Cy145, Glu166, His163, His41, Leu141, Met165, Phe140
Levamisol	-5,5	His164	Arg188, Asn142, Asp187, Cys145, Gln189, Glu166, His41, Met165, Met49
Metronidazol	-4,8	Cys145, His163, Ser144	Asn142, Glu166, Gly143, His164, His172, Leu141, Met165, Phe140

(a) Energia de ligação da melhor conformação (kcal.mol<sup>-1</sup>)

Foi possível observar que três fármacos tiveram energia abaixo de -7.0 kcal/mol, sendo eles o praziquantel (-7.5 kcal/mol), mebendazol (-7.1 kcal/mol) e ivermectina (-7.0 kcal/mol). Observa-se que houve uma ligação com maior energia do fármaco praziquantel com a proteína mPRO. Foi possível observar que o praziquantel não interagiu por ligação de hidrogênio, porém realizou onze ligações hidrofóbicas (Figura 06).

Figura 6: Interação molecular do fármaco praziquantel (laranja) com a proteína mPRO (azul). a) sítio ativo do ligante-proteína em 3d, b) local da interação do praziquantel no sítio ativo em 3d e c) interações hidrofóbicas do praziquantel em 2d.



Fonte: Autoria própria (2022).

Além disso, nota-se também que o fármaco mebendazol apresenta interação com os aminoácidos His163 e Tyr54 por ligação de hidrogênio e interação com dez aminoácidos por ligação hidrofóbica. A ivermectina também interagiu com dois aminoácidos por ligação de hidrogênio, que são eles: Gly143, Asn142, no entanto, realizou nove interações com aminoácidos por ligação hidrofóbica (Tabela 04).

No estudo feito por Gonçalves *et al.*, (2020), os autores analisaram a afinidade molecular de fármacos como a fármacos cloroquina, hidroxicloroquina, azitromicina, vitamina D, derivado de pirazol e derivado de leucinamida com a protease principal do SARS-CoV-2 (Mpro). Os testes *in silico* realizados no trabalho dos autores demonstraram que, a cloroquina apresentou energia livre de ligação de -6,0 kcal/mol, a hidroxicloroquina -6,3 kcal/mol, azitromicina -6,7 kcal/mol, a vitamina D -6,9 kcal/mol, o derivado de pirazol apresentou-se mais fracamente, com energia de ligação de -3,8 kcal/mol, enquanto o derivado de leucinamida se ligou mais fortemente, com energia livre de -7,7 kcal/mol. Assim, com base nos valores de afinidade molecular escolhidos para continuidade de testes, no qual são classificados aqueles abaixo de -7.0 kcal/mol, o fármaco o derivado de pirazol, que demonstrou valor mais distante do ideal já seria descartada para testes *in vitro*, quanto o derivado de leucinamida apresenta-se como um possível inibidor contra o vírus.

As análises realizadas por estudos *in silico* foram utilizadas em diversas pesquisas no ano de 2020, 2021 e 2022. Tal tipo de abordagem está relacionada à modelagem molecular, na qual faz uso de programas computacionais que auxiliam na previsão dos efeitos e riscos de um determinado composto químico. Por esse motivo, a modelagem molecular se tornou uma importante ferramenta para a produção de fármacos, consequentemente acelerando o processo de descoberta de novos medicamentos. De acordo com Hodgson (2001), a utilização dessas simulações computacionais desempenha um papel fundamental na indústria, entretanto, ainda é necessário que haja testes *in vivo* e *in vitro* para obter-se uma melhor resposta a respeito da ação do medicamento. Contudo, levando em consideração a diversidade de trabalhos publicados, é possível averiguar que esse método se mostrou muito útil considerando a busca pela obtenção de resultados rápidos.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O coronavírus (COVID-19) acarretou um caos ao mundo desde seu surgimento. Desde então, a busca por um fármaco que apresentasse efeitos satisfatórios no combate ao vírus se transformou em uma missão para a ciência.

Tendo isso em vista, com a o auxílio da biologia computacional na realização de testes biológicos por meio de simulações tecnológicas, essa pesquisa procurou solucionar esse problema buscando fármacos que poderiam possuir potencial *in silico* para ser candidato na ação antiviral para a inibição do vírus causador da COVID-19. No entanto, embora o estudo através de softwares computacionais comprove a ação dos fármacos (ligantes) com as proteínas do vírus, ainda não é possível utiliza-los para estes fins, pois para isso são necessários testes clínicos para a garantia de suas eficácias. Porém, estes estudos são fundamentais para a acelerar o processo de averiguação de fármacos inibidores.

Portanto, por meio dos resultados obtidos a partir da interação dos fármacos antiparasitários e quatro proteínas (spike, ECA, ECA/spike e mPRO) do coronavírus, concluiu-se que os fármacos praziquantel e mebendazol expressaram resultados satisfatórios, uma vez que demonstraram boa afinidade molecular com as quatro proteínas selecionadas, apresentando valores dentro da classificação escolhida como maior afinidade, ou seja, energias de ligação igual ou abaixo de  $-7,0$  kcal/mol. Com isso, o reposicionamento dessas drogas pode ser estudado e testado por meio de estudos *in vitro*, *in vivo* e estudos clínicos como uma alternativa promissora no combate à doença.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADENIYI, A.A.; SOLIMAN, M.E.S. Implementing QM in Docking Calculations: Is It a Waste of Computational Time? *Drug discovery today* 2017, 22, 1216–1223. *JAMA*

ARAÚJO, K. S.; SOUSA S. F.; SOUSA A. A. A.; SILVA J. S.; ROCHA J. A. Prospecção científica e tecnológica da dengue no Brasil e no Maranhão no período de 1994 a 2014. *Caderno de Prospecção*, v. 9, n. 3, p. 337-346. 2016.

ARSHAD U, PERTINEZ H, BOX H, TATHAM L, RAJOLI RK, CURLEY P, et al. Prioritisation of AntiSARS-Cov-2 Drug Repurposing Opportunities Based on Plasma and Target Site Concentrations Derived from their Established Human Pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther.* 2020 May.

BARROS, Maria Ester de Sá Barreto. **Estudos de Docking Molecular, síntese e atividade biológica de análogos da (-)- massoialactona e da combretastatina A-4** / Maria Ester de Sá Barreto Barros. – 2015. 128 f.: fig., tab.

BASTOS, R.S; SOUSA, C.S; OLIVEIRA, J.S; SILVA, M.H.V; LIMA, F.C.A; ROCHA, J.A. **Prospecção de Proteínas do Novo Coronavírus, COVID-19, e Potencial da Bioinformática na Busca de Novas Drogas Promissoras.** *Cadernos de Prospecção – Salvador*, v. 13, n. 2, Edição Especial, p. 347-358, abril, 2020.

BASTOS, Ruan Sousa, et al. Cadmio complexes with biological activity: Scientific and technological prospection. 2021.

BATTEGAY Manuel, KUEHL Richard, Tschudin-Sutter Sarah, Hirsch Hans H., Widmer Andreas F., Neher Richard A. 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV): estimating the case fatality rate – a word of caution. *Swiss Medical Weekly.* 2020.

BELASCO Angélica Gonçalves Silva. FONSECA, Cassiane Dezoti. Coronavírus 2020. **Revista Brasileira de Enfermagem:** 2020. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/0034-7167-2020730201>.

BERMAN, H. M.; WESTBROOK, J.; FENG, Z.; GILLILAND, G.; BHAT, T. N.; WEISSIG, H.; SHINDYALOV, I. N.; BOURNE, P. E. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research.* v.28, p. 235-242, 2000.

BORGES, A. A.; SUZUKAWA, A. A.; ZANLUCA, C.; SANTOS, C. N. D. dos. SARS-CoV-2: origem, estrutura, morfogênese e transmissão. *In: BARRAL-NETTO, M.; BARRETO, M. L.; PINTO JUNIOR, E. P.; ARAGÃO, E. (org.). Construção de conhecimento no curso da pandemia de COVID-19: aspectos biomédicos, clínico-assistenciais, epidemiológicos e sociais.* Salvador: Edufba, 2020. v. 1. DOI: <https://doi.org/10.9771/9786556300443.002>.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise em Saúde e Doenças não Transmissíveis. **Guia de vigilância epidemiológica Emergência de saúde pública de Importância nacional pela Doença pelo coronavírus 2019 – covid-19:** Ministério da Saúde, 2021.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise em Saúde e Doenças não Transmissíveis. **Guia de vigilância epidemiológica Emergência de saúde pública de Importância nacional pela Doença pelo coronavírus 2019 – covid-19** [recurso

eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – Brasília : Ministério da Saúde, 2021.

CALY, L.; DRUCE, J. D.; CATTON, M. G. et al. The FDA-approved drug ivermectin inhibits the replication of SARS-CoV-2 in vitro, **Antiviral Research**, V.178, 2020.

CASTIÑEIRAS, M.T.P.P.; MARTINS, F.S.V. Infecções por helmintos e enteroprotzoários. Rio de Janeiro: Centro de Informação em Saúde para Viajantes – Cives, 2000.

CHEN, Y et al. Structure analysis of the receptor binding of 2019-nCoV. *Biochem Biophys Res Comm.*, v. 525, n. 1, p. 135-140, 2020. doi: 10.1016/j.bbrc.2020.02.071.

CORTEGANI, A.; INGOGLIA, G.; IPPOLITO, M.; GIARRATANO, A.; EINA V S. A systematic review on the efficacy and safety of chloroquine for the treatment of COVID-19. **Journal of Critic Care**. 2020.

FAUSTINO, Vinícius. **Você sabe como o SARS-CoV-2 invade a célula?** | Colunistas. Sanar Medicina. Publicado em 09 de novembro de 2020. Disponível em: <  
<https://www.sanarmed.com/voce-sabe-como-o-sars-cov-2-invade-uma-celula-colunistas>> .  
Acesso em 30 de maio de 2022.

GASTEIGER, J.; MARSILI, M. Iterative partial equalization of orbital electronegativity-a rapid access to atomic charges. **Tetrahedron**, v. 36, n. 22, p. 3219-3228, 1980.

GATEIGER, J. **The central role of chemo informtics**. *Chemometric and Intelligent Laboratory Systems*, v. 82, n. 1-2, 200-209, 2006.

GONÇALVES ,S.Q.B; FILHO, E.A.S; OLIVEIRA, A.S. Coronavírus e sua protease principal: uma visão para o planejamento de fármacos por docagem molecular. *Revista IfesCiência*. Volume 6 – Edição Especial n.1 – 2020.

GOODSELL D. S. Acoplamento computacional de complexos biomoleculares com o Auto-Dock. Em: Golemis E. A., Adams P. D., editores. *Interações proteína-proteína: um manual de clonagem molecular*. 2ª ed. Nova Iorque: **Cold Spring Harbor Laboratory Press**; 2005.

GOODSELL, D. S.; MORRIS, G. M.; OLSON, A. J. Automated docking of flexible ligands: applications of AutoDock. **Journal of Molecular Recognition**, v. 9, n. 1, p. 1-5, 1996.

GRANDO, Rafaela Lora. Oliveira, Ana Claudia Dias de. FIERRO, Iolanda M. **O reposicionamento de fármacos como uma potencial estratégia para o tratamento da COVID-19**. Observatório em Ciência, Tecnologia e Inovação em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz.

GUIDO, R. V. C.; OLIVA, G. ANDRICOPULO, A. D. Structure- and ligandbased drug design approaches for neglected tropical diseases. **Pure and Applied Chemistry**, 84, 1857-1866, 2012.

HODGSON, John. ADMET—turning chemicals into drugs. **Nature Biotechnology**, v. 19, n. 8, p. 722-726, 2001. doi: 10.1038/90761

KELLENI, M. Nitazoxanide/Azithromycin Combination for COVID-19: A Suggested New Protocol for COVID-19 Early Management. Preprints 2020, 2020040432 (doi: 10.20944/preprints202004.0432.v1).

KOGIEN, M.; TEIXEIRA, C.A. Mebendazol no tratamento de helmintíases intestinais – revisão de literatura e considerações de Enfermagem. *Revista Eletrônica trimestral de Enfermagem*. Porto Velho, RO, v. 24, p. 233 - 236, 2011.

Kuntz, I.D.; Blaney, J.M.; Oatley, S.J.; Langridge, R.; Ferrin, T.E. A Geometric Approach to Macromolecule-Ligand Interactions. *Journal of molecular biology* 1982, 161, 269–288.

LIMA, Cleiane Dias, et al. Prospecção Científica e Tecnológica de *Montrichardia linifera* (Arruda) Schott com Enfoque na Atividade Anti-helmíntica. *Research, Society and Development*, 2022, 11.5: e9111527841-e9111527841.

LIN, L.T.; HSU, W.C.; Lin C.C. Antiviral natural products and herbal medicines **Journal Traditional Complement Medicine**. v.4, n.1, pp. 24-35, 2014.

LIU, X.; WANG, X. Potential inhibitors for 2019-nCoV coronavirus M protease from clinically approved medicines. **bioRxiv**, 2020.

LU H. Drug treatment options for the 2019-new coronavirus (2019-nCoV). **Bioscience Trends**, v.14, n. 1, pp. 69-71, 2020.

MANI, J.S.; JOHNSON, J. B.; et al. Natural product-derived phytochemicals as potential agents against coronaviruses: **A review, Virus Research**, Volume 284, 2020, 197989.

MORRIS, G. M. et al. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. **Journal of computational chemistry**, v. 19, n. 14, p. 1639-1662, 1998.

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.

OLIVEIRA, Iara Bezerra de. Bioquímica da Interação do SARS-CoV-2 com a proteína ACE2 e agravo da COVID-19. **IV Congresso Brasileiro de Ciências e Saúde – CONBRACIS**, 2020.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Organização Pan-americana de Saúde. Folha informativa – COVID-19 (doença causada pelo novo coronavírus). Principais informações. 24 abr. 2020. Disponível em: [https://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_content&view=article&id=6101:covid19&Itemid=875](https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=6101:covid19&Itemid=875) . Acesso em: 25 ago. 2021.

PANG, J.; WANG, M.X. ; ANG, I.Y.H. ; TAN, S.H.X. ; LEWIS, R.F. ; CHEN, J.I.-P.; GUTIERREZ, R.A.; GWEE, S.X.W. ; CHUA, P.E.Y; YANG Q. Potential rapid diagnostics, vaccine and therapeutics for 2019 novel Coronavirus (2019-nCoV): a systematic review **J. Clin. Med.**, 9 (3) (2020), p. 623

Pantsar, T.; Poso, A. Binding Affinity via Docking: Fact and Fiction. *Molecules* 2018, 23, 1899.

PETTERSEN, E.F.; GODDARD, T.D.; HUANG, C.C.; COUCH, G.S.; GREENBLATT, D.M.; MENG, E.C.; FERRIN, T.E. UCSF Chimera-a visualization system for exploratory research and analysis. **Journal of Computational Chemistry**, v.25, p.1605-1612, 2004.

PIMENTEL, Arethusa Lobo. BUENO, Paulo Sérgio Alves. **Ferramentas de bioinformática na caracterização de alvos de medicamentos**. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas Área de Concentração: Biologia Celular e Molecular.

RAMOS, R. M. et al. Interaction of wild type, G68R and L125M isoforms of the arylamine-Nacetyltransferase 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.

RAUPP Daniele. SERRANO Agostinho. MARTINS, Tales Leandro Costa. A evolução da química computacional e sua contribuição para a educação em Química. **Revista Liberato**, Novo Hamburgo, v. 9, n. 12, p. 13-22, jul./dez. 2008.

ROCHA, J. A. et al. Computational quantum chemistry, molecular docking, and ADMET predictions of imidazole alkaloids of *Pilocarpus microphyllus* with schistosomicidal properties. **PloS one**, v. 13, n. 6, p. e0198476, 2018.

Santos, L.H.S.; Ferreira, R.S.; Caffarena, E.R. Integrating molecular docking and molecular dynamics simulations. In *Docking screens for drug discovery*; Springer, 2019; pp. 13–34.

SANTOS, Lucianna Helene. Docagem Molecular: em busca do encaixe perfeito e acessível. **BIOINFO - Revista Brasileira de Bioinformática**. 1ª Ed, 2021.

SANTOS-LIMA, T.M. et al. Plantas medicinais com ação antiparasitária: conhecimento tradicional na etnia Kantaruré, aldeia Baixa das Pedras, Bahia, Brasil. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.18, n.1, supl. I, p.240-247, 2016.

SIMÕES, Janaina. **Novo método de simulação computacional pode acelerar a busca de medicamentos contra a COVID-19**. Agência FAPESP, 2021.

SOLIS, F. J.; WETS, R. J.-B. Minimization by random search techniques. **Mathematics of operations research**, v. 6, n. 1, p. 19-30, 1981.

STEPHENS, Paulo Roberto Soares. OLIVEIRA, Maria Beatriz Siqueira. RIBEIRO, Flávia Coelho. CARNEIRO, Leila Abboud Dias. In: Capítulo 2: Virologia. **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde**. Org: Etelcia Moraes Molinaro. Rio de Janeiro: EPSJV, IOC, 2009.

TROTT, O.; OLSON, A. J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, eficiente optimization, and multithreading. *J. Comput. Chem.* 2009, 31, 455– 461.

VILLALBA, Milciades Atilio. **Reposicionamento de fármacos para tratamento de doenças infecciosas bacterianas**. Monografia. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte: 2015.

VITORINO, et al . Esquistossomose mansônica: diagnóstico, tratamento, epidemiologia, profilaxia e controle. *Rev Bras Clin Med*. São Paulo. p. 39-45 , jan/ fev .2012.

WALLS, Alexandra C. et al. Structure function, and antigenicity of the SARS-Cov-2 spike glycoprotein. **Cell**, 2020.

Wang M, Cao R, Zhang L, Yang X, Liu J, Xu M, et al. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. Vol. 30, *Cell research*. England; 2020. p. 269–71.

World Health Organization, 2020. WHO MERS Global Summary and Assessment of Risk, may 2020 World Health Organization (2020)

Wouters, O.J.; McKee, M.; Luyten, J. Estimated Research and Development Investment Needed to Bring a New Medicine to Market, 2009-2018 [Published March 3, 2020].

YAN, T; XIAO, R; LIN, G. Angiotensin-converting enzyme 2 in severe acute respiratory syndrome coronaviruse and SARS-CoV-2: A double-edged sword?. The FASEB Journal, v. 34, p. 6017-6026, 2020. doi: 10.1096/ fj.202000782.