

## PROSPECÇÃO DE MOLÉCULAS ANTIVIRAIS CONTRA FEBRE ZIKA.

Kauana Caroline dos Santos Garcia (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Flavio Vicente Augusto Seixas (Orientador), e-mail: favseixas@gmail.com.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Agrárias/Umuarama, PR.

**Área e subárea do conhecimento: 21005001 - Farmacologia Bioquímica e Molecular**

**Palavras-chave:** Zika vírus, modelagem molecular, *docking* molecular.

### Resumo:

O vírus Zika é um flavivírus causador da febre Zika, associada a microcefalia congênita e síndromes neurológicas pós-infecciosas. Ainda não há vacina nem tratamento medicamentoso capaz de diminuir a multiplicação viral no organismo infectado. Sendo assim, este trabalho visou utilizar a estrutura tridimensional da proteína NS3-NS2B ligada ao inibidor 6T8 disponível no *Protein Data Bank* como alvo em simulações de varredura virtual para identificar um candidato a inibidor que possa ser adquirido para testes de bancada. Para isso foi obtida a biblioteca de produtos naturais com disponibilidade comercial da base de dados Zinc com 174.000 moléculas. Os programas *Autodock*, *Vina* e *Molegro* foram selecionados e o protocolo validado por *redocking* do inibidor 6T8, cujo escore médio foi de -8,01. Os compostos mais bem ranqueados que o 6T8 foram reavaliados por novas quatro repetições e os cinco compostos com reprodutibilidade foram então avaliados pelos critérios *ADMETox* por meio do programa *Osiris Property Explorer*. Foi selecionada uma molécula candidata com código Zinc238881516, que apresentou alta probabilidade de ligação na NS3 e baixa probabilidade de ser tóxica em células de mamíferos, a qual poderá ser adquirida para futuros testes *in vitro*.

### Introdução

Ainda não existe vacina nem sequer fármaco antiviral específico contra a febre Zika, sendo realizado tratamento sintomático (SAXENA et al, 2016). Desta forma, novos antivirais com alvo molecular específico para proteínas dos flavivírus vem sendo pesquisados (SAMPATH et al, 2009). Neste contexto, a proteína viral NS2B-NS3 apresenta três atividades enzimáticas: Serina protease, NTPase e RNA helicase, sendo necessária para processar a poliproteína viral e multiplicação do vírus na célula do hospedeiro (HOU et al, 2017), o que a torna um atraente alvo para o desenvolvimento de fármacos antivirais. Assim, este projeto utilizou a estrutura cristalográfica da proteína viral NS3 com seu cofator NS2B em simulações de varredura virtual na prospecção de moléculas candidatas a inibidores, com intuito de identificar, ao menos, uma molécula que possa ser adquirida para futuros testes *in vitro*.

## Materiais e métodos

A estrutura do complexo proteico NS3-NS2B ligada ao inibidor 6T8 foi obtida da base de dados *Protein Data Bank* (PDB) sob código de acesso 5lc0 (LEI et al, 2016) para ser utilizada nas simulações de varredura virtual. Foi dada preferência a estruturas resolvidas na presença de ligantes, o que facilitou a localização do sítio de inibição nestas proteínas.

Foram testados os programas *AutoDock 4.2.3*, *Vina*, *Molegro Virtual Docker 6.0*, *Gold* e *CLC drug discovery workbench 1.0* e, após a seleção do melhor programa o protocolo validado foi aplicado na varredura da biblioteca de produtos naturais da base de dados Zinc15, a qual foi separada em pastas com 1000 compostos mais a estrutura do ligante de referência 6T8. Somente os compostos melhores classificados que o inibidor de referência, foram considerados.

Foram aplicadas dinâmicas de minimização de energia no sistema, de modo a maximizar as interações com o ligante de referência e, com isso, obter a estrutura numa conformação cataliticamente favorável.

Os compostos indicados pela varredura virtual em quatro repetições foram filtrados pelos critérios *ADME/Tox* por meio do programa *Osiris Explorer*, que considera outros parâmetros além das regras de Lipinski.

## Resultados e Discussão

O arquivo com a estrutura do complexo proteico foi editado para remoção do peptídeo inibidor de modo a deixar a estrutura na conformação cataliticamente favorável. A estrutura foi minimizada por 20.000 passos de dinâmica molecular para maximizar as interações entre a proteína e o ligante. Após a minimização, foi realizado *redocking* do inibidor 6T8 para selecionar o programa que melhor “compreende” as interações do ligante com a enzima. Os protocolos para os programas *Autodock*, *Vina* e *Molegro* encontraram escores médios de -8,1 kcal/mol; -7,4 kcal/mol e -9,3 respectivamente.

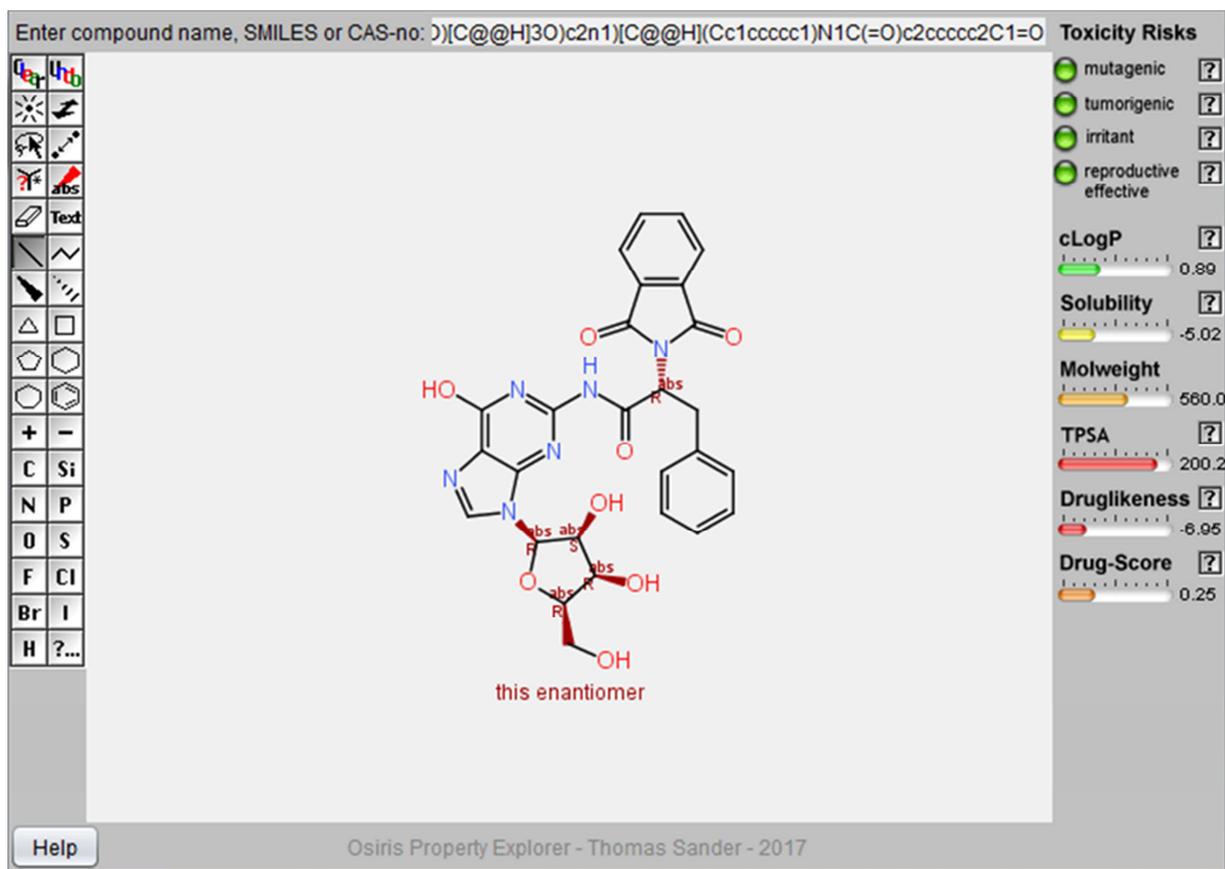
A biblioteca de produtos naturais da base de dados Zinc continha 174.000 moléculas que foram convertidas no formato 3D pelo programa *LigPrep*. Em seguida foi realizada varredura virtual por meio dos programas selecionados e os melhores candidatos foram eleitos considerando os melhores scores dos programas. Afim de se evitar falso-positivos, foram executadas quatro repetições com os compostos mais bem classificados cujos escores médios estão representados na tabela 01.

**Tabela 1.** Escores médios dos ligantes selecionados em todas as repetições.

COMPOSTO	ESCORE MÉDIO
225559408	-9,30 +/- 0,00
19790021	-9,17 +/- 0,04
238881516	-9,07 +/- 0,04
150342358	-9,25 +/- 0,15
1088003	-9,05 +/- 0,05
Ligante referência 6T8	-8,01 +/- 0,00

Os compostos são representados pelo respectivo código identificador da base de dados Zinc15.

Foi realizada análise de predição da toxicidade de todos os compostos selecionados na varredura virtual por meio do programa *Osiris Property Explorer*.



**Figura 02.** Análise de predição da toxicidade do composto Zinc 238881516.

Dentre os cinco compostos que foram selecionados pela varredura virtual, o que apresentou alta probabilidade de se ligar na proteína NS3-NS2B e menor toxicidade para mamíferos foi o composto Zinc238881516. Até então, esta molécula nunca havia sido avaliada em ensaios como inibidor de protease viral ou outra atividade antimicrobiana. Esta substância foi então selecionada para ser adquirida para realização de futuros estudos *in vitro* de inibição da enzima recombinante e atividade antiviral em células.

## Conclusões

Os resultados da pesquisa indicam que o composto Zinc238881516 possui alta probabilidade de se ligar a enzima viral NS2B-NS3 e baixa probabilidade de ser tóxico para células de mamíferos, podendo ser considerado para realização de ensaios de bancada *in vitro*, visando inibir a protease viral e posterior candidato a medicamento contra a febre Zika.

## Agradecimentos

Os autores agradecem ao PIBIC/CNPq - Fundação Araucária - UEM pelo auxílio financeiro.

## Referências

HOU, S. *et al.* Zika virus hijacks stress granule proteins and modulates the host stress response. **Journal of Virology**, v. 91, n. 16, p. e00474-17, 2017.

LEI, J. *et al.* Crystal structure of Zika virus NS2B-NS3 protease in complex with a boronate inhibitor. **Science**, v. 353, p. 503-505, 2016.

SAMPATH, A.; PADMANABHAN, R. Molecular targets for flavivirus drug discovery. **Antiviral Research**, v.81, p. 6–15, 2009.

SAXENA, S.K. *et al.* Zika virus outbreak: an overview of the experimental therapeutics and treatment. **Virus Disease**, v. 27, p. 111–115, 2016.