

## DOCKING MOLECULAR EVIDENCIA O MENTOL COMO POTENCIAL INIBIDOR DE UMA PROTEÍNA DE REPLICAÇÃO VIRAL (NSP9) SARS-COV-2

**E**m meados de janeiro de 2020 começaram a ser divulgadas notificações a respeito do coronavírus (COVID-19) que teria surgido na região de Whuang, na China. Desde então, as pessoas têm sido contaminadas e a doença tem se espalhado pelo mundo. e ampliou o número de casos e de óbitos que se tornaram alarmantes. Em 11 de março, a OMS (Organização Mundial da Saúde) declarou o surto uma epidemia global. Em março, foi disponibilizado no PDB–Protein Data Bank a estrutura cristalográfica da enzima NSP9 do Covid-19.

**Rafael Trindade Maia**  
rafael.rafatrin@gmail.com

**Rafael de Lima Medeiros**  
rafael.ufcg@gmail.com

**Luana Camilla Cordeiro Braz**  
luana.braz@ifpb.edu.br

**Bruno Medeiros Roldão de Araújo**  
bruno.rol@gmail.com

**Glauciane Danusa Coelho**  
glauciane.coelho.pb@gmail.com

**Franklin Ferreira de Farias Nóbrega**  
franklinnobrega@yahoo.com.br

### *Como a pesquisa foi desenvolvida?*

As coordenadas atômicas da NSP9 foram obtidas no banco de dados PDB-Protein Data Bank através do código de acesso 6W4B. A estrutura foi analisada visualmente pelo software VMD–Visual Molecule Dynamics (HUMPFREY et al., 1996). A estrutura tridimensional do mentol foi obtida no banco de dados Pubchem no código de entrada 1254.

O experimento de docking proteína-ligante foi realizado no programa Autodock1.5.6 (MORRIS et al., 2009), no qual foi dimensionada uma grade cúbica de volume 126 x 126 x 126 Å, centrada no receptor. Utilizou-se o algoritmo genético lamarckiano (LGA) e os parâmetros de simulação foram de 10.000 réplicas, com análises de energia a cada 1.500.000 e 27000 gerações. O tamanho populacional foi mantido em 150 e as taxas de mutação e de crossing-over de 0.02 e 0.8 respectivamente.

Foram geradas 10 conformações ranqueadas por energias para cada complexo proteína-ligante. As conformações obtidas foram organizadas e analisadas por meio da opção Autodock tools. A conformação Visual Molecular Dynamics (HUMPFREY et al., 1996) e no software Discovery Studio. Os resíduos do sítio catalítico foram inferidos pelo servidor GHECOM (<http://strcomp.protein.osaka-u.ac.jp/ghecom/>).

A conformação do melhor complexo foi selecionada e a energia individual dos aminoácidos da NSP9 de maior interação com o mentol foi quantificada através de cálculos ab initio por Fracionamento Molecular com Caps Conjugados (MFCC), ainda na utilização do mesmo, foi

obtido os cálculos do balanço quântico final da interação proteína com o ligante candidato a inibidor.

### Resultados obtidos?

Os resultados do docking molecular mostraram valores negativos de energia de ligação, variando

de -5,05 kcal/mol a -4, 22 kcal/mol. As constantes de inibição variaram de -198,14 a 640,08  $\mu$ M. A figura 1 mostra os resíduos de aminoácidos que interagem com o mentol.

Os resíduos que interagem com o mentol e o tipo de interação pode ser verificado no diagrama 2D (Figura 2). Todos os resíduos que interagem com o mentol fazem parte do sítio catalítico predito pelo servidor GHECOM.

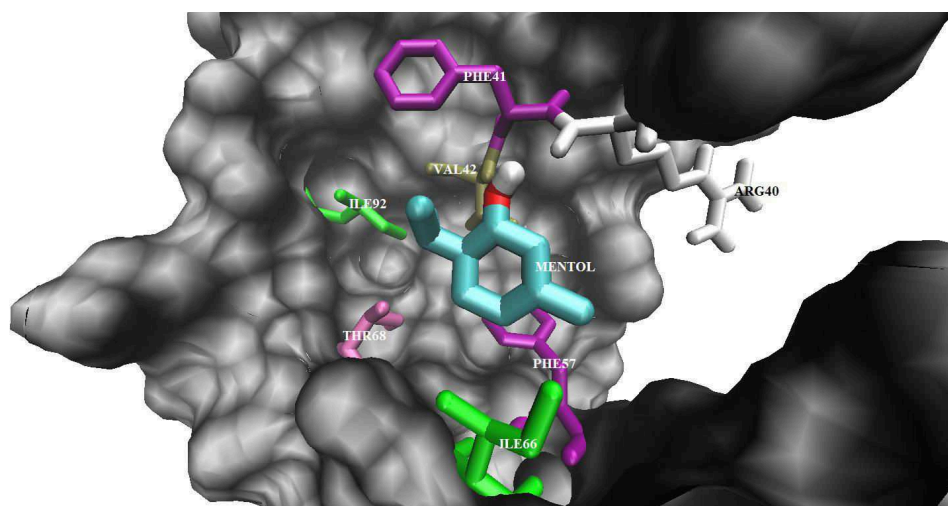


Figura 1. Representação do sítio catalítico da NSP9 com o ligante mentol. Em preto, a cadeia A da NSP9; os resíduos de ancoragem e o ligante mentol estão representados em “licorice”.

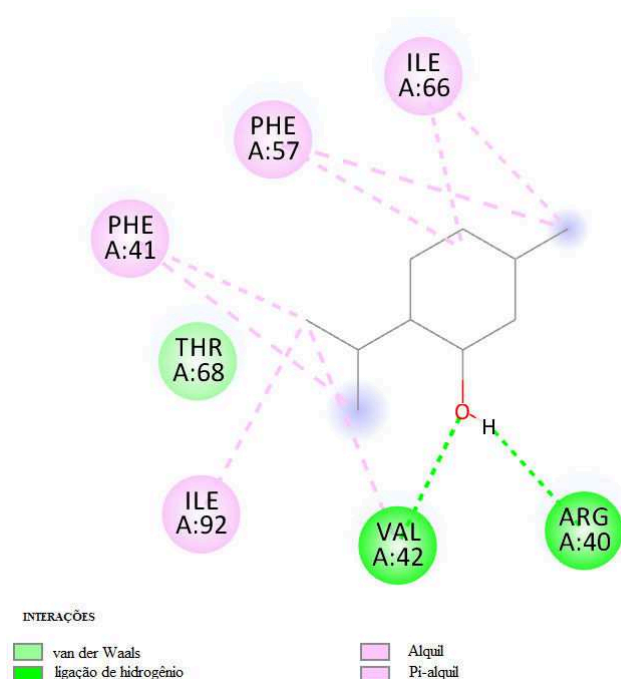


Figura 2. Diagrama 2D das interações entre os resíduos e o mentol

Entre as interações observadas pode-se destacar as ligações de hidrogênio dos resíduos ARG40

e VAL42, com o grupamento hidroxila do mentol. Outras interações importantes foram notadas a partir da ILE66 e PHE que fazem ligações do tipo  $\pi$ -alquil com o anel aromático do mentol. Há ainda interações alquil (PHE41, VAL42 e ILE92) e de van der Waals (THR68). Essas ações somadas ao fato de todos os complexos apresentarem energia de ligação em valores negativos. Isto representam uma sugestão teórico-computacional de forte afinidade entre a proteína NSP9 e o mentol. As constantes de inibição ( $K_i$ ) foram baixas, na ordem de micromolares ( $\mu$ M), sugerindo que a molécula é um potente inibidor.

Os resultados da técnica de MFCC mostram todos os resíduos, considerando um raio de corte de 12  $\text{\AA}$ , que interagem energeticamente com o mentol (Figura 3).

Todos os aminoácidos apresentaram valores de energia negativos, o que sugere a atração entre essas substâncias e o ligante (mentol). A única exceção foi o aminoácido LEU43 que mostrou um valor levemente positivo (sugerindo uma interação de repulsão).

Aminoácido	Energia	ENERGIA TOTAL	
		Kcal/mol	eV
ALA 31	-0,08	-6,75E+01	-2,90
ALA 44	-0,50		
ALA 55	0,05		
ARG 56	-0,82		
GLY 39	-0,21		
ILE 66	-7,88		
ILE 92	-2,45		
LEU 43	0,52		
LYS 59	-0,25		
MET 13	-11,88		
PHE 41	-9,71		
PHE 57	-7,12		
PRO 58	-0,30		
THR 36	-0,18		
THR 65	-0,54		
THR 68	-7,56		
VAL 42	-18,57		

Figura 3. Energias por aminoácido (coluna à esquerda) e balanço energético total do sistema (coluna da direita)

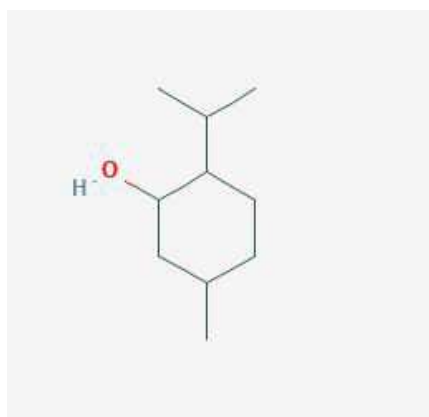


Figura 4. Estrutura 2D e 3D do mentol.

substância antiviral para outras espécies de vírus. Vale salientar que outras técnicas computacionais, como simulações de dinâmica molecular, poderão estender e aprofundar ainda mais o conhecimento deste sistema, em particular na interação NSP9-mentol. A partir destes resultados, outros estudos podem ser desenvolvidos para moléculas análogos ao mentol.

O mentol (Figura 4) é um composto orgânico que pode ser sintetizado ou extraído do óleo da planta *Mentha piperita*, e é classificado como monoterpreno.

### Informações adicionais

A NSP9 (do inglês non-structural protein 9) é uma enzima associada à replicação do RNA viral (uma replicase) (Figura 5). É um homodí-

No balanço total assume-se que valores menores que -1,0 eletrovolts (eV) sugerem a existência de ligação covalente com o ligante. O valor que foi obtido para o mentol, de -2,9 eV representa uma forte evidência (ab initio) que o mentol se liga covalentemente aos resíduos do sítio catalítico.

Esses resultados apontam que o mentol tem uma grande afinidade com a NSP9 e pode ser um inibidor para a proteína NSP9. Neste contexto, há possibilidade de que o mentol desempenhe função antiviral para o Covid-19. Contudo, estudos experimentais e ensaios *in vitro* e *in vivo* são necessários para a confirmação desta hipótese, antes de qualquer possibilidade de uso medicamentoso do mentol para tratamento específico do Covid-19.

Além disso, o mentol já foi apontado como

mero e um promissor alvo para fármacos antivirais direcionados por ser específico da família Coronaviridae. Recentemente sua estrutura tridimensional foi elucidada e disponibilizada no PDB-Protein Data Bank.

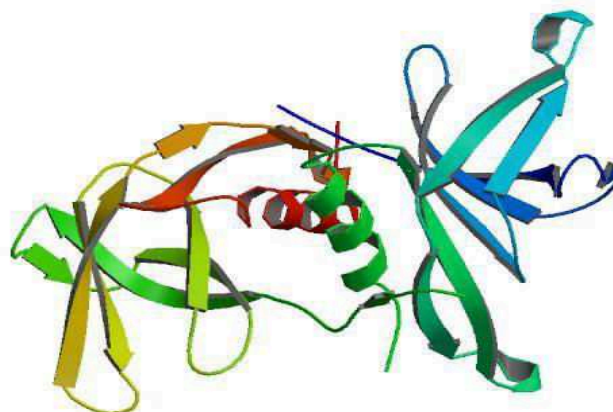


Figura 5. Imagem dimérica NSP9 do Covid-19. PDB-ID: 6W4B