

Identificação do possível padrão de reconhecimento molecular de compostos com atividade conhecida frente ao SARS-CoV-2 através de estratégias *in silico*

Identification of the possible molecular recognition pattern of compounds with known activity against sars-cov-2 through in silico strategies

Nadson de Jesus Nogueira; Larissa de Mattos Oliveira *

Centro Universitário Maria Milza - UNIMAM, Governador Mangabeira - Bahia, Brasil,
44350-000, nogueiranjn@gmail.com

Autora correspondente* lare.oliveira@yahoo.com.br, <https://orcid.org/0000-0002-6387-8035>

Resumo

A COVID-19 é uma doença provocada pelo vírus SARS-CoV-2 e é responsável por uma pandemia já ocasionou mais de 4,8 milhões de óbitos. Apesar de já existirem vacinas eficazes no controle à doença, ainda há a necessidade de desenvolver medicamentos específicos contra o SARS-CoV-2. Alguns estudos *in vitro* apontam moléculas promissoras para o combate ao vírus, no entanto, não esclarecem os padrões de reconhecimento molecular para a modulação da resposta biológica. Assim, o objetivo desse trabalho foi identificar o possível padrão de reconhecimento molecular de inibidores previamente estudados. Os estudos de acoplamento molecular foram realizados com o programa *Autodock vina*[®], sendo escolhidas as moléculas com melhores resultados para a realização da análise das interações intermoleculares. As interações encontradas nesse trabalho para os complexos estudados (M-pro e hexaclorofeno, Pl-pro e osajin, proteína S e oxiclozanida e Nsp15 com a niclosamida) coincidiram com resultados apresentados na literatura e, portanto, os resultados obtidos contribuem para futuros estudos de dinâmica molecular e testes *in vivo* para o desenvolvimento de abordagens terapêuticas para controle da COVID-19.

Palavras chave: SARS-CoV-2, COVID-19, acoplamento molecular, candidatos a fármacos.

Abstract

COVID-19 is a disease caused by the SARS-CoV-2 virus and is responsible for a pandemic that has caused more than 4.8 million deaths. Although there are already effective vaccines to control the disease, there is still a need to develop specific drugs against SARS-CoV-2. Some *in vitro* studies point to promising molecules for combating the virus, however, they do not clarify the molecular recognition patterns for the modulation of the biological response. Thus, the aim of this study was to identify the possible pattern of molecular recognition of previously studied inhibitors. Molecular coupling studies were carried out with the Autodock vina[®] program, and the molecules with the best results were chosen for the analysis of intermolecular interactions. The interactions found in this work for the studied complexes (M-pro and hexachlorophene, PI-pro and osajin, protein S and oxyclozanide and Nsp15 with niclosamide) coincided with results presented in the literature and, therefore, the results obtained contribute to future studies of molecular dynamics and *in vivo* tests for the development of therapeutic approaches to control COVID-19.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, molecular docking, drug candidates.

1. Introdução

Por volta do mês de dezembro de 2019, na cidade de Wuhan, China, surgiram casos de pneumonia atípica de etiologia desconhecida. Posteriormente, foi descoberto que se tratava de um novo patógeno da família do coronavírus, o SARS-CoV-2 (síndrome respiratória aguda severa coronavírus 2), responsável por uma pandemia (OMS, 2020) com sintomas como tosse, febre, cefaleia, hiposmia, hipogeusia e, em casos mais graves, pneumonia (CDC, 2020).

Em todo o mundo, já são mais de 235 milhões de casos de pessoas confirmadas com a COVID-19 e cerca de 4,8 milhões de óbitos, representando uma taxa de letalidade de 2% (OMS, 2021). No Brasil, os números ultrapassam 21 milhões de casos confirmados, com mais de 597 mil óbitos, representando 2,8% de letalidade (BRASIL, 2021). O risco de mortalidade varia, principalmente pelo fator idade, mas também é maior nos casos em que o indivíduo infectado apresenta alguma comorbidade (Hemmer et al., 2020).

Já existem vacinas eficazes (BRASIL, 2021) para a COVID-19, mas ainda não há medicamentos específicos, amplamente aceitos para o controle da doença (Tarighi et al., 2021). Atualmente o tratamento é sintomático, ou seja, busca o controle das complicações desencadeadas após a contaminação e, para os casos mais graves que necessitaram de hospitalização, estão sendo seguidas as estratégias de médicos e especialistas em terapia

intensiva, desenvolvidas durante epidemias anteriores de SARS e MERS (Wax et al., 2020).

Estudos recentes indicam que o tratamento com dexametasona reduz a mortalidade em pacientes que requerem oxigênio suplementar em comparação com o tratamento usual, porém ainda há a necessidade de mais medicamentos com melhor eficiência na inibição do vírus. Nesse sentido, o reposicionamento de fármacos, a busca por novos fármacos e até mesmo candidatos a fármacos que sejam eficientes no combate ao coronavírus ainda são alguns dos focos de estudos dos pesquisadores no mundo todo (Vardhan et al., 2020).

Nessa perspectiva, estudos já realizados (Weston et al., 2020; Jeon et al., 2020; Ellinger et al., 2020) apontam moléculas promissoras com dados biológicos de inibição para o SARS-CoV-2, com fármacos já disponíveis no mercado e compostos em estudos clínicos e pré-clínicos, como por exemplo a niclosamida ($IC_{50} = 0.28 \mu M$) que é um medicamento anti-helmíntico (Jeon et al., 2020). No entanto, esses estudos não esclarecem quais os padrões de reconhecimento molecular para a modulação da resposta biológica. Diante disso, é necessário estudar os possíveis modos de ligação dessas moléculas para contribuir com o processo de desenvolvimento de abordagens terapêuticas para o tratamento da COVID-19.

Uma forma de se propor um possível padrão de reconhecimento molecular de candidatos a fármacos é utilizar estratégias computacionais (estudos *in silico*), como o acoplamento molecular. A técnica busca realizar as simulações das interações entre as estruturas dos complexos receptor-ligante ou até receptor-proteína (Barreiro, 2014).

Com isso, o objetivo desse trabalho foi identificar o possível padrão de reconhecimento molecular de inibidores previamente estudados e com dados de atividade biológica frente ao SARS-CoV-2.

2. Material e Métodos

Organização do banco de moléculas e alvos do SARS-CoV-2

Para a realização desse estudo foi organizado um banco de moléculas com dados de atividade biológica (ensaios *in vitro* frente ao SARS-CoV-2), obtidas na literatura (Weston et al., 2020; Jeon et al., 2020; Ellinger et al., 2020), com $IC_{50} \leq 5 \mu M$, sendo excluídas as moléculas que já haviam sido relatadas em estudos *in silico*, também, frente ao SARS-CoV-2.

Em seguida, foi realizada uma categorização dessas moléculas de acordo com a potência e foram selecionadas para os estudos de acoplamento molecular as moléculas mais potentes da série (IC50 variando de 0,28 μM a 3,87 μM).

A busca dos alvos macromoleculares essenciais ao SARS-CoV-2 foi realizada no banco de estruturas macromoleculares PDB (do inglês, Protein Data Bank) (Berman, 2000) e a seleção foi baseada no método de obtenção (difração de raios x), no fator de resolução $< 2,5 \text{ \AA}$ e na presença de um ligante co-cristalizado com a proteína, sendo obtidas as estruturas 5R82 (M-pro), 6M0J (Proteína S), 6WLC (Nsp 15) e 6WX4 (Pl-pro).

Preparação dos ligantes

As moléculas foram obtidas a partir da plataforma *ChEMBL* e *PUBCHEM* e a conversão para a representação 3D foi feita por meio do programa *MarvinSketch* versão 6.0.1 (Chemaxon, 2013). Os sais conjugados foram removidos e, por fim, os ligantes foram salvos em formato “pdbqt” por meio do programa *Autodock Tools* 1.5.6 (Morris et al., 2009).

Acoplamento molecular

O acoplamento molecular foi realizado com o programa AutoDock Vina© 1.1.2 (Trott & Olson, 2010). O preparo das estruturas cristalográficas foi realizado com auxílio do módulo Chimera 1.10.1 (Pettersen et al., 2004), no qual foram removidas as moléculas de água do arquivo original e demais artefatos de cristalização. O processo de conversão das proteínas para o formato “pdbqt”, adição dos átomos de hidrogênio e delimitação do espaço de busca foi feito pelo programa Autodock tools 1.5.6 (Morris et al., 2009). Por fim, foram adicionadas cargas atômicas parciais Gasteiger-Huckel aos resíduos das estruturas macromoleculares.

A fim de avaliar a capacidade de predição correta do programa, foi feita uma avaliação baseada no RMSD (do inglês, Root-Mean-Square Deviation), calculado pelo programa visual molecular dynamics (VMD) 1.9.3 (Humphrey et al., 1996), entre as coordenadas do ligante cristalográfico e a conformação considerada como a melhor solução pela função de pontuação.

Para a estrutura PDB 6M0J não foi possível fazer essa avaliação, uma vez que não havia estrutura cristalográfica disponível em complexo com ligantes.

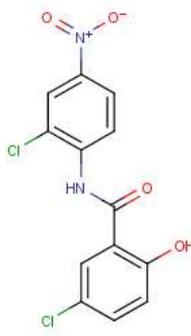
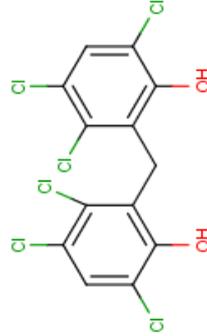
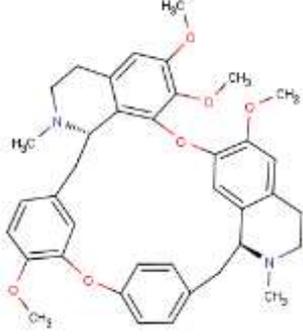
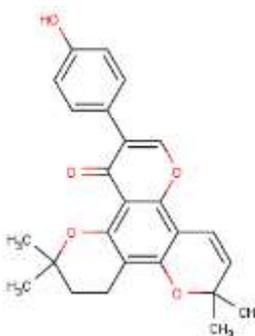
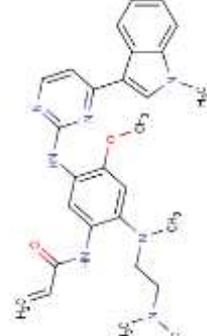
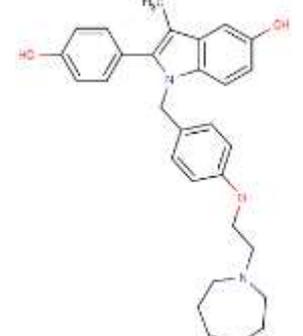
Avaliação das interações intermoleculares

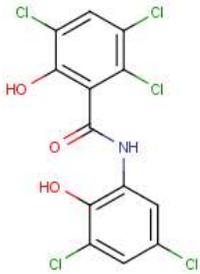
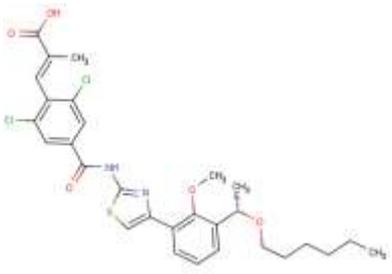
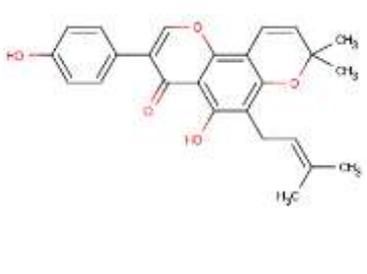
No intuito de analisar as interações intermoleculares, entre as moléculas estudadas e os resíduos do sítio ortostérico dos alvos selecionados do SARS-CoV-2, os complexos gerados, a partir da conformação melhor pontuada pela função de pontuação, foram submetidos ao servidor online PLIP (Salentin et al., 2015).

3. Resultados e discussão

Após o levantamento de moléculas com atividade biológica conhecida frente ao SARS-CoV-2, foram selecionadas aquelas com melhores valores de IC₅₀ e que não possuíam estudos *in silico*, já publicados na literatura, para realização dos estudos de acoplamento. As moléculas, assim como suas estruturas químicas são apresentadas no quadro 1.

Quadro 1. Moléculas selecionadas para o estudo, categorizadas de acordo com os valores de IC₅₀.

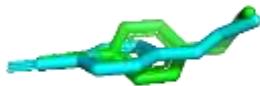
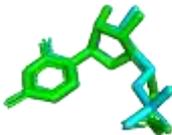
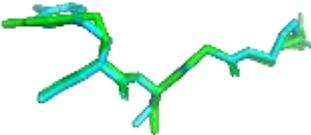
<p>NICLOSAMIDA</p>  <p>IC₅₀* = 0,28 μM*</p>	<p>HEXAFLOROFENO</p>  <p>IC₅₀ = 0,9 μM</p>	<p>TETRANDRINA</p>  <p>IC₅₀ = 3 μM</p>
<p>ISOOSAJIN</p>  <p>IC₅₀ = 3,22 μM</p>	<p>OSIMERTINIBE</p>  <p>IC₅₀ = 3,26 μM</p>	<p>BAZEDOXIFENO</p>  <p>IC₅₀ = 3,44 μM</p>

OXICLOZANIDA	LUSUTROMBOPAG	OSAJIN
		
IC ₅₀ = 3,71 μM	IC ₅₀ = 3,78 μM	IC ₅₀ = 3,87 μM

*IC₅₀: Concentração inibitória para 50% da amostra; *μM: Micromolar.

Para avaliar a qualidade da função de pontuação do programa *AutoDock Vina*® 1.1.2 para os sistemas em estudo, a avaliação do desvio médio quadrático (RMSD) foi realizada através do programa *visual molecular dynamics* (VMD) versão 1.9.3 (Humphrey et al., 1996). Os resultados podem ser acompanhados no quadro 2.

Quadro 2. Representação em varetas das conformações do ligante cristalográfico (ciano) dos alvos estudados e das melhores conformações dos seus respectivos ligantes (verde) geradas pelo *AutoDock Vina*® 1.1.2.

PDB ID	RMSD (Å)*	SOBREPOSIÇÃO DAS CONFORMAÇÕES
5R82	0,82	
6WLC	0,83	
6WX4	0,67	

* Å: angstrom.

Os valores de RMSD encontrados foram inferiores a 1 Å e, de acordo com a literatura, um resultado de RMSD inferior a 2 Å indica bom desempenho da rotina de acoplamento molecular (Brozell et al., 2012).

Após a avaliação, prosseguiu-se para os estudos de acoplamento com as moléculas selecionadas, sendo identificada a melhor conformação de cada molécula avaliada, definida por critérios energéticos (energia de afinidade) para, posteriormente, ser analisada aquela com melhor perfil de interação com os alvos farmacológicos do SARS-CoV-2 testados. Esses resultados foram compilados nas tabelas 1, 2, 3 e 4 dos itens subsequentes.

Protease principal (M-pro ou 3cl-pro) e hexaclorofeno

O hexaclorofeno, molécula melhor classificada de acordo com a energia de afinidade (-1,8 Kcal/mol) (tabela 1) é um fármaco antisséptico com ação bacteriostática contra organismos Gram-positivos, porém com pouca ação contra organismos Gram-negativos. Usado principalmente em sabonetes e cremes, mas também como um ingrediente de várias preparações usadas para doenças de pele (Drugbank, 2021), no entanto foi considerado tóxico para uso interno, segundo o estudo de Dashiell et al. (1984), cujo o objetivo era avaliar os efeitos de toxicidade aguda de 9 produtos químicos em ratos.

Tabela 1. Valores de energia de afinidade da série de moléculas testada frente à enzima M-pro (PDB 5R82).

Fármacos	Afinidade (Kcal/mol)
Hexaclorofeno	-1,8
Niclosamida	-0,3
Oxiclozanida	4,8
Bazedoxifeno	24,8
Osimertinibe	40,3
Isoosajin	84,2
Osajin	118,3
Lusutrombopag	ND*
Tetrandrina	ND

*ND: Sem resultado.

A molécula trata-se de uma estrutura organoclorada que possui dois grupamentos fenilmetano, em que cada um dos grupos fenil é substituído por cloro nas posições 2, 3 e 5, e por um grupo hidroxila na posição 6. No complexo entre o hexaclorofeno e 5R82 (figura 1), pode-se notar uma interação hidrofóbica, na qual o carbono 4 do grupamento fenilmetano interage com o resíduo de aminoácido MET165 com uma distância de 3,40 Å e uma interação de hidrogênio que acontece entre o grupamento hidroxila e o resíduo ASN142 com 3,78 Å de distância.

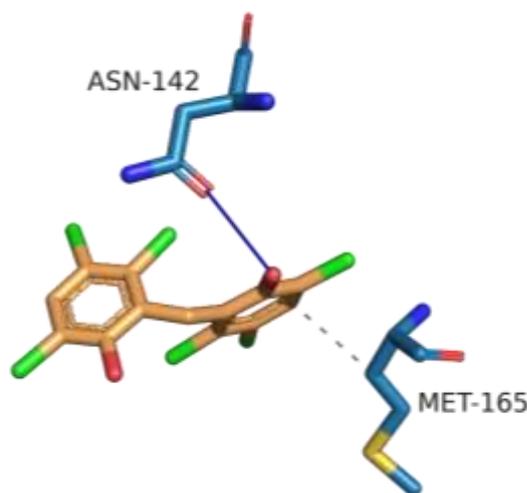


Figura 1. Interações intermoleculares entre a estrutura da M-pro e o hexaclorofeno. Linha em azul: interação de hidrogênio; tracejado em cinza: interação hidrofóbica.

Interações semelhantes entre esses resíduos envolvidos (MET165 e ASN142) foram notadas em estudos como o de Douangamath et al. (2020), em que um fragmento do ligante cristalográfico (Z219104216) também obteve uma interação hidrofóbica com MET165 e o fragmento PCM-0102389 formou a interação de hidrogênio com o ASN142. Em outro estudo no qual foi sintetizado dois compostos (11a e 11b) direcionados a M-pro e exibiram excelente atividade inibitória (100% para 11a e 96% para 11b a 1 µM), também foram identificadas interação hidrofóbica e interação de hidrogênio entre os resíduos MET165 e ASN142 com o composto 11a (Dai et al., 2020).

Protease semelhante a papaína (PI-pro) e osajin

Entre os compostos avaliados para esse alvo, a molécula osajin obteve o a melhor classificação de acordo com os critérios energéticos (tabela 2). A molécula foi, originalmente,

isolada e identificada a partir dos frutos da *Maclura pomifera*, conhecida como laranjeira-de-osage (do inglês, Osage orange), abundante no sul dos Estados Unidos (Kim, 2017).

Sendo osajin, o principal isoflavonoide bioativo presente na fruta e, por se tratar de uma classe de compostos fenólicos, demonstram exibir várias funções biológicas, incluindo potencial antioxidante, anti-inflamatório, antialérgico e atividades antivirais (Santos et al., 2017). Demonstrou, ainda, atividade cardioprotetora (Florian et al., 2006) e atividade *in vitro* contra o câncer de próstata (Huang et al., 2019).

Tabela 2. Valores de energia de afinidade da série de moléculas testada frente à enzima PI-pro (PDB 6WX4).

Fármacos	Afinidade (Kcal/mol)
Osajin	-7.2
Hexaclorofeno	-7.0
Oxiclozanida	-6.4
Niclosamida	-6.2
Bazedoxifeno	-5.5
Osimertinibe	-4.7
Lusutrombopag	-1.8
Isoosajin	-3.4
Tetrandrina	39.6

O osajin em complexo com a protease PI-pro (figura 2), mostrou formar interações de hidrogênio e interações hidrofóbicas em diversos sítios. Os resíduos de aminoácidos envolvidos foram: GLU161D, LEU162D, PRO248D, TYR264D, TYR268D. Os carbonos 3 e 2 do grupamento fenol formam interações hidrofóbicas com os resíduos GLU161 e LEU162, a hidroxila do mesmo grupamento, ainda forma duas interações de hidrogênio com os mesmos resíduos. As interações hidrofóbicas estão a uma distância de 3,96 Å e 3,67 Å, enquanto as interações de hidrogênio estão a 2,9 Å e 2,99 Å, respectivamente.

TYR268, TYR264 e PRO248 também interagem por meio de interações hidrofóbicas, porém com os átomos finais da cadeia carbônica (metilbutano). O resíduo TYR264 ainda realiza uma interação de hidrogênio (3,48 Å) com o grupamento fenol entre os diidropiranos.

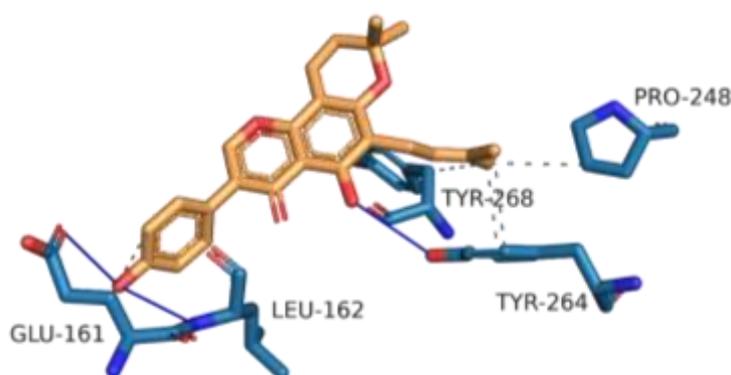


Figura 2. Interações intermoleculares entre a estrutura da PI-pro e osajin. Linhas em azul: interações de hidrogênio; tracejados em cinza: interações hidrofóbicas.

Em comparação com o ligante cristalográfico, alguns resultados semelhantes podem ser observados, como na preferência dos resíduos PRO248, TYR264 e TYR268 em realizar interações hidrofóbicas. No entanto, não foram identificadas interações de hidrogênio envolvendo os resíduos GLU161 e LEU162 (Rut et al., 2020). Em outros estudos, interações de hidrogênio apenas foram relatadas em resíduos semelhantes, como GLU160 (Kandeel et al., 2020) e LEU163 (Welker et al., 2021).

Proteína S (*spike*) e oxiclozanida

A infecção do SARS-CoV-2 a uma célula depende da ligação da proteína S ao receptor da superfície celular (enzima conversora da angiotensina 2 ou ECA2). A proteína S do SARS-CoV-2 contém 1273 aminoácidos de comprimento e consiste, estruturalmente, em dois domínios: o domínio S1 do N-terminal e o domínio S2 do C-terminal, ambos ainda, apresentando subdomínios importantes, atuando desde a mediação para ligação ao receptor celular, até a fusão com a membrana. E o domínio de ligação ao receptor (RBD do inglês receptor-binding domain) que consiste em subdomínios centrais e externos responsáveis pela formação do trímero de glicoproteína (Wrapp, 2020).

Desde então, seis resíduos do RBD demonstraram ser essenciais para a interação da proteína S com a ECA2: LEU445; PHE486; GLN493; SER494; ASN501; TYR505 (Hussain et al., 2020).

A oxiclozanida, um medicamento amplamente utilizado no meio veterinário, é uma salicilanilida anti-helmíntica que atua, principalmente, desacoplando a fosforilação oxidativa.

Como uma molécula anti-helmíntica de amplo espectro, a oxiclozanida tem sido utilizada no tratamento de infecções oriundas da *Fasciola gigantica*, *F. hepática*, *Paramphistomum leydeni* e *Calicophoron daubneyi*, bem como outros trematódeos intestinais e nematódeos gastrointestinais (Zhang, 2019).

Estudos como o de Jeon et al, (2020), mostraram inibição *in vitro* contra o SARS-CoV-2 (IC₅₀ = 3,71 µM), frente à proteína S (PDB: 6M0J), a oxiclozanida foi a melhor classificada (tabela 3), obtendo um valor de energia de afinidade de -3,4 Kcal/mol.

Tabela 3. Valores de energia de afinidade da série de moléculas testada frente à proteína S (PDB 6M0J).

Fármacos	Afinidade (kcal/mol)
Oxiclozanida	-3,4
Hexaclorofeno	-2,9
Niclosamida	0,3
Bazedoxifeno	3,6
Osimertinibe	4,4
Osajin	11,3
Isoosajin	14,7
Lusutrombopag	24
Tetrandrina	163,4

O complexo formado pela oxiclozanida e a proteína 6M0J (figura 3), apresenta interações de hidrogênio entre o grupamento amida da cadeia central e a hidroxila do triclorofenol com o resíduo de aminoácido GLN493E. A distância entre cada interação é de 3,17 Å e 2,60 Å, respectivamente.

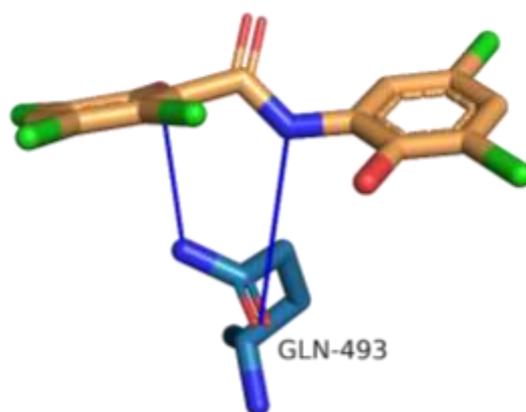


Figura 13. Interações intermoleculares entre a estrutura da proteína S e a oxiclozanida. Linha em azul: interações de hidrogênio.

Pode-se notar que a molécula interage através de interações de hidrogênio com o resíduo de glutamina (GLN493), assim como no estudo de Lan et al. (2020), no qual foram analisadas as interações entre o RBD da proteína S e a ECA2. Notou-se que na posição GLN493/ASN479, GLN493 da SARS-CoV-2 interage com LYS31, HIS34 e GLU35 da ECA2 formando uma ligação de hidrogênio. GLN493 também é notado no complexo proteína S/ECA2, realizado por Wan et al. (2020) e ainda, destacado como um dos resíduos de aminoácidos essenciais para uma interação favorável com a enzima.

Endoribonuclease (Nsp15) e niclosamida

A niclosamida pertencente à classe das salicilanilidas (assim como a oxiclozanida), foi aprovada pela FDA (*Food and Drug Administration*) como um anti-helmíntico usado no tratamento de infecções por vermes intestinais (Drugbank, 2021) e recentemente demonstrou ter atividades anticâncer, antibacteriana e antidiabética (Pic et al., 2019). Em um estudo *in vitro* cujo o objetivo foi avaliar um conjunto de 48 medicamentos aprovados pela FDA contra o SARS-CoV-2 que foram pré-selecionados por um ensaio de SARS-CoV, apresentou valor de $IC_{50} = 0,9 \mu M$ (Jeon et al., 2020). No presente estudo, a niclosamida foi a molécula com maior afinidade frente ao sítio de ligação da endoribonuclease, como demonstrado na tabela 4.

Tabela 4. Valores de energia de afinidade da série de moléculas testada frente à enzima Nsp15 (PDB 6WLC).

Fármacos	Afinidade (kcal/mol)
Niclosamida	-6,4
Hexaclorofeno	-5,6
Oxiclozanida	-5,6
Osimertinibe	-2,4
Bazedoxifeno	-0,4
Osajin	1,5
Isoosajin	4
Lusutrombopag	44,1
Tetrandrina	122,2

A niclosamida interage com a endoribonuclease (PDB: 6WLC) (figura 4), por meio de interações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e empilhamento π , em que as interações de hidrogênio ocorrem entre a hidroxila do grupamento amida e do grupamento clorofenol com os resíduos de aminoácido HIS250 e LYS290 a uma distância de 3,43 Å e 3,07 Å. O resíduo TYR343 realiza um empilhamento π , de tipo paralelo, com o grupamento para-nitroclorobenzeno a uma distância de 4,43 Å, com uma angulação de 25,6°. E as interações hidrofóbicas ocorreram entre o carbono 5 do nitroclorobenzeno e o carbono 6 do clorofenol com os resíduos de VAL292 e TYR343, com distâncias de 3,90 e 3,74 Å, respectivamente.

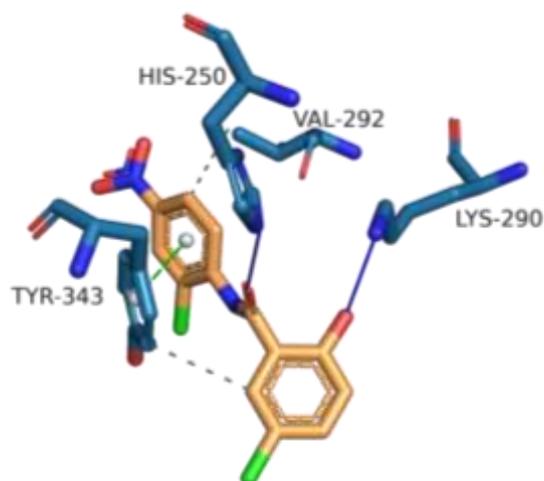


Figura 4.2 Interações intermoleculares entre a estrutura da endoribonuclease e niclosamida. Linha em azul: interações de hidrogênio; tracejado em cinza: interações hidrofóbicas; tracejado em verde: empilhamento π .

Assim como no presente estudo, o complexo entre enzima 6WLC com o ligante cristalográfico (*Uridine-5'-Monophosphate* (5'UMP)) apresenta interações de hidrogênio

envolvendo os resíduos de HIS250 e LYS290 e também entre os resíduos de VAL292 e TYR343. Porém não foi observado empilhamento π e nem interações hidrofóbicas envolvendo os mesmos resíduos (TYR343, VAL292 e TYR343) no complexo 6WLC/5'UMP (Kim et al., 2021). Apenas na literatura pôde ser observado interações hidrofóbicas contendo TYR343, no complexo nsp15/remdesivir (Shalayel et al., 2020), e contendo VAL292 nos complexos nsp15/Sibutramina, nsp15/irinotecano e nsp15/elbasvir (López & Martínez, 2021).

4. Considerações finais

A utilização do programa *Autodock vina*[®] 1.1.2 mostrou bom desempenho na qualidade da rotina de acoplamento molecular para os sistemas analisados, uma vez que os resultados de RMSD foram inferiores a 1 Å. Apesar de não ser possível a avaliação do RMSD para a proteína S, um dos resíduos de aminoácidos encontrados no complexo do presente estudo foi apontado na literatura como um resíduo importante para uma interação favorável com a célula receptora do hospedeiro, a ECA2.

As moléculas com melhores resultados foram: osajin (-7,2 kcal/mol) e niclosamida (-6,4 kcal/mol). Seus complexos apresentaram, principalmente, interações de hidrogênio e interações hidrofóbicas, envolvendo, em sua maioria, resíduos de aminoácidos já descritos na literatura, revelando-se candidatas promissoras para estudos in vivo e simulações de dinâmica molecular.

Por fim, os resultados contribuem para o desenvolvimento das propriedades farmacológicas e possíveis otimizações moleculares, a fim de se obter um novo medicamento para o combate à infecção por SARS-CoV2.

Referências

- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. (2014). *Química Medicinal: As bases moleculares da ação dos fármacos*. 3ª ed., Artmed Editora, 608p.
- BERMAN, H. M. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*, v. 28, n. 1, p. 235-242, 2000.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. (2021). Painel Coronavírus. Disponível em: <https://covid.saude.gov.br/>. Acessado em: 03 set. 2021.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. (2021). O que você precisa saber. Disponível em: <https://coronavirus.saude.gov.br/>. Acessado em: 15 mai. 2021.

BROZELL, S. R.; MUKHERJEE, S.; BALIUS, T. E. et al. (2012). Evaluation of DOCK 6 as a pose generation and database enrichment tool. *Journal of computer-aided molecular design*, v. 26, n. 6, p. 749-773. <https://doi.org/10.1007/s10822-012-9565-y>

CDC. (2020). Symptoms of Coronavirus. Disponível em: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/symptoms-testing/symptoms.html>. Acessado em: 03 abr. 2020.

CHEMAXON; MarvinSketch, version 6.0.1; ChemAxon, Cambridge, 2013.

DAI, W.; ZHANG, B.; JIANG, X. M. et al. (2020). Structure-based design of antiviral drug candidates targeting the SARS-CoV-2 main protease. *Science*, v. 368, n. 6497, p. 1331-1335, abr. <https://doi.org/10.1126/science.abb4489>

ASHIELL, O. L.; KENNEDY JR, Gerald L. (1984). The effects of fasting on the acute oral toxicity of nine chemicals in the rat. *Journal of applied toxicology*, v. 4, n. 6, p. 320-325. <https://doi.org/10.1002/jat.2550040608>

DOUANGAMATH, Alice et al. (2020). Crystallographic and electrophilic fragment screening of the SARS-CoV-2 main protease. *Nature communications*, v. 11, n. 1, p. 1-11, <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18709-w>

DRUGBANK. (2021). Hexachlorophene. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00756>. Acessado em: 29/04/2021.

DRUGBANK. (2021). Niclosamide. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB06803>. Acessado em: 01/04/2021.

ELLINGER, B.; BOJKOVA, D.; ZALIANI, A. et al. (2020). Identification of inhibitors of SARS-CoV-2 in-vitro cellular toxicity in human (Caco-2) cells using a large scale drug repurposing collection. *Research Square*, <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-23951/v1>

FLORIAN, T.; NECAS, J.; BARTOSIKOVA, L. et al. (2006). Effects of prenylated isoflavones osajin and pomiferin in premedication on heart ischemia-reperfusion. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* v. 150, n. 1, p. 93-100. <https://doi.org/10.5507/bp.2006.013>

HEMMER, C. J.; GEERDES-FENGE, H. F.; REISINGER, E. C. (2020). COVID-19: epidemiology and clinical facts. *Der Radiologe*, v. 60, n. 10, p. 893-898, <https://doi.org/10.1007/s00117-020-00741-y>

HUANG, S. Y., HUANG, G. J., HSIEH, P. F. et al. (2019). Osajin displays potential antiprostata cancer efficacy via impairment of fatty acid synthase and androgen receptor expression. *The Prostate*, v. 79, n. 13, p. 1543-1552. <https://doi.org/10.1002/pros.23876>

HUMPHREY, W.; DALKE, A.; SCHULTEN, K. (1996). VMD - Visual Molecular Dynamics", *Journal of molecular graphics*, v. 14, p. 33-38.

- HUSSAIN, A.; HASAN, A.; BABADAEI, M. M. N. et al. (2020). Targeting SARS-CoV2 spike protein receptor binding domain by therapeutic antibodies. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, p. 110559. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110559>
- JEON, S.; KO, M.; LEE, J. et al. (2020). Identification of antiviral drug candidates against SARS-CoV-2 from FDA-approved drugs. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, <https://doi.org/10.1128/aac.00819-20>
- KANDEEL, Mahmoud; ABDELRAHMAN, A. H.; OH-HASHI, K. et al. (2020). Repurposing of FDA-approved antivirals, antibiotics, anthelmintics, antioxidants, and cell protectives against SARS-CoV-2 papain-like protease. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, p. 1-8. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1784291>
- KIM, J. E.; HEO, Y. S.; LEE, K. W. (2017). Osajin inhibits solar UV-induced cyclooxygenase-2 expression through direct inhibition of RSK2. *Journal of cellular biochemistry*, v. 118, n. 11, p. 4080-4087. <https://doi.org/10.1002/jcb.26063>
- KIM, Y.; WOWER, J.; MALTSEVA, N. et al. (2021). Tipiracil binds to uridine site and inhibits Nsp15 endoribonuclease NendoU from SARS-CoV-2. *Communications biology*, v. 4, n. 1, p. 1-11. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-01735-9>
- LAN, J.; GE, J.; YU, J. et al. (2020). Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature*, v. 581, n. 7807, p. 215-220. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2180-5>
- LÓPEZ, Y. S. & MARTÍNEZ, M. A. (2021). Drug repositioning to target NSP15 protein on SARS-CoV-2 as possible COVID-19 treatment. *Journal of Computational Chemistry*, <https://doi.org/10.1002/jcc.26512>
- MORRIS, G. M.; HUEY, R.; LINDSTROM, W. et al. (2009). Autodock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility. *Journal Computational Chemistry*, 16: 2785-91. <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>
- OMS. (2020). Novel Coronavirus (2019-nCoV): SITUATION REPORT – 1, 21 JANUARY 2020. Disponível em: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200121-sitrep-1-2019-ncov.pdf?sfvrsn=20a99c10_4. Acessado em: 03 abr. 2020.
- OMS. (2021). WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. Disponível em: <https://covid19.who.int/>. Acessado em: 03 set. 2021.
- PETTERSEN, E.F.; GODDARD, T.D.; HUANG, C.C. et al. (2004). UCSF Chimera - a visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of computational chemistry*, v. 25, p. 1605-1612. <https://doi.org/10.1002/jcc.20084>
- PIC, E.; BURGAIN, A.; SELLAM, A. (2019). Repurposing the anthelmintic salicylanilide oxyclozanide against susceptible and clinical resistant *Candida albicans* strains. *Medical mycology*, v. 57, n. 3, p. 387-390. <https://doi.org/10.1093/mmy/myy027>
- RUT, W.; ZMUDZINSKI, M.; PATCHETT, S. et al. (2020). Activity profiling and crystal structures of inhibitor-bound SARS-CoV-2 papain-like protease: A framework for anti-

COVID-19 drug design. *Science advances*, v. 6, n. 42. <https://dx.doi.org/10.1101%2F2020.04.29.068890>

SALENTIN, S. et al. (2015). PLIP: fully automated protein-ligand interaction profiler. *Nucleic Acids Research*. v. 43, n. 14 <https://dx.doi.org/10.1093/nar/gkv315>

SANTOS, E. L.; MAIA, B. H. L. N. S.; FERRIANI, A. P.; TEIXEIRA, S. D. (2017). Flavonoids: Classification, biosynthesis and chemical ecology. *Flavonoids-From Biosynthesis to Human Health*; IntechOpen: London, UK, p. 1-14. <http://dx.doi.org/10.5772/67861>

SHALAYEL, M. H.; AL-MAZAIDEH, G. M.; ALADAILEH, S. H. et al. (2020). Vitamin D is a potential inhibitor of COVID-19: In silico molecular docking to the binding site of SARS-CoV-2 endoribonuclease Nsp15. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 33, n. 5. <http://10.0.143.113/PJPS.2020.33.5.REG.2179-2186.1>

TARIGHI, P.; EFTEKHARI, S.; CHIZARI, M. et al. (2021). A review of potential suggested drugs for coronavirus disease (COVID-19) treatment. *European Journal of Pharmacology*, p. 173890. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.173890>

TROTT, O. & OLSON, A.J. (2010). AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of computational chemistry*, v. 31, n. 2, p. 455-461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>

VARDHAN, S.; SAHOO, S. K. (2020). In silico ADMET and molecular docking study on searching potential inhibitors from limonoids and triterpenoids for COVID-19. *Computers in biology and medicine*, v. 124, p. 103936. <https://doi.org/10.1016/j.compbiomed.2020.103936>

WAN, Y.; SHANG, J.; GRAHAM, R. et al. (2020). Receptor recognition by the novel coronavirus from Wuhan: an analysis based on decade-long structural studies of SARS coronavirus. *Journal of virology*, v. 94, n. 7. <https://doi.org/10.1128/JVI.00127-20>

WAX, R. S.; CHRISTIAN, M. D. (2020). Practical recommendations for critical care and anesthesiology teams caring for novel coronavirus (2019-nCoV) patients. *Canadian Journal of Anesthesia*, v. 67, p. 1-9, <https://doi.org/10.1007/s12630-020-01591-x>

WELKER, Armin et al. (2021). Structure-Activity Relationships of Benzamides and Isoindolines Designed as SARS-CoV Protease Inhibitors Effective against SARS-CoV-2. *ChemMedChem*, v. 16, n. 2, p. 340. <https://dx.doi.org/10.1002%2Fcmdc.202000548>

WESTON, S.; COLEMAN, C. M.; SISK, J. M. et al. (2020). Broad anti-coronaviral activity of FDA approved drugs against SARS-CoV-2 in vitro and SARS-CoV in vivo. *Journal of virology*. <https://doi.org/10.1128/JVI.01218-20>

WRAPP, D.; WANG, N.; CORBETT, K. S. (2020). Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science*, v. 367, n. 6483, p. 1260-1263. <https://doi.org/10.1126/science.abb2507>

ZHANG, J.; BAI, Y.; LI, B. et al. (2019). Determination and pharmacokinetics study of oxytocin suspension in cattle by LC-MS/MS. *BMC veterinary research*, v. 15, n. 1, p. 1-9. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1963-0>

.....

Direitos autorais (Copyrights)

Financiamento: Esta pesquisa não recebeu nenhum financiamento.

Conflitos de interesse: Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Aprovação do comitê de ética: Não aplicável.

Disponibilidade dos dados da pesquisa: Todos os dados gerados ou analisados neste estudo estão incluídos no manuscrito.

Contribuição dos autores: Idealização e revisão final da pesquisa: Oliveira, L.M.; Condução do experimento: Nogueira, N. J.; Oliveira