

## **ESTUDO IN SILICO NO FLAVONOIDE PECTOLINARINA COMO INIBIDOR DA SERINO PROTEASE NS1 DO VÍRUS DA DENGUE**

Francisco Aurecio Morais De Araújo<sup>1</sup>  
Aluisio Marques Da Fonseca<sup>2</sup>

### **RESUMO**

A dengue é uma doença que afeta vários países no mundo de clima tropical e subtropical, sendo a causadora de muitos óbitos quando pacientes adquirem uma forma mais letal. Pesquisas apontam que a glicoproteína NS1 é uma das principais responsáveis pela replicação do vírus no interior das células humanas. A pectolarina é uma flavonoide extraída das folhas da espécie vegetal Lantana Camara, conhecida popularmente como chumbinho ou camará-de-chumbo que apresenta ação antiviral, podendo atuar contra as larvas do mosquito vetor. O objetivo do trabalho é realizar o estudo computacional das interações entre a pectolarina e a proteína NS1 do vírus da Dengue. Para a utilização nos testes in silico as estruturas foram submetidas ao Docking molecular através do software Arguslab. Os resultados mostraram interações favoráveis no espaço entre as cavidades A, D e E da glicoproteína NS1. Os aminoácidos GLY D-585, GLY E-760, ASN E-759, THR A-264, ARG A-294, GLY A-295, VAL D-586, LYS A-347, ALA A-265 e PRO A-296 apresentaram interações fortes com a pectolarina com energia de afinidade de -8.84 kcal/mol. Conclui-se que há uma forte tendência para um local de possível inibição do vírus.

**Palavras-chave:** Dengue Pectolarina In silico Docking .

---

UNILAB, ICEN, Discente, aureciomorais@gmail.com<sup>1</sup>  
UNILAB, ICEN, Docente, aluisiomf@unilab.edu.br<sup>2</sup>



## INTRODUÇÃO

O vírus da dengue é uma doença negligenciada causadores de várias mortalidade nos países de clima tropical e subtropical pelo mundo, sendo transmitido pelo mosquito vetor *Aedes aegypti*. Existem um total de 4 sorotipos do vírus (DENV- 1, 2, 3 e 4) que apresentam sintomas desde febre a casos de complicações hemorrágicas, sua estrutura básica composta por um envelope que carrega o material genético ácido ribonucleico (RNA), onde o genoma é dividido em 3 genes que codificam o nucleocapsídeo que são o capsídeo (C), a pré-membrana (prM) e o envelope (E) e os sete genes de proteínas não-estruturais (NS) denominadas NS1, NS2A, NS2B NS3, NS4A, NS4B e NS5 (FARIAS, 2018). Segundo estudos, dentre as proteínas não-estruturais, a NS1 é a glicoproteína responsável pela replicação do vírus, que pode ser determinada por testes imunoenzimáticos na célula humana quando a doença está em níveis consideráveis (SILVA et al, 2017). O objetivo do trabalho é verificar a interação por testes in silico da flavonoide pectolinarina com a protease NS1 do vírus da dengue a fim de encontrar uma maneira de inibir a doença.

## METODOLOGIA

A metodologia utilizada foi uma pesquisa experimental utilizando o computador (in silico), conforme o trabalho de SILVA et al (2017). Foi realizada uma busca do flavonoide pectolinarina no repositório PUBCHEM (KIM et al, 2019) para obter sua estrutura, em seguida a estrutura é convertida ao formato MOL2. Foi pesquisado a estrutura da protease NS1 do vírus da dengue no repositório internacional Protein Data Bank (ROSE et al, 2016), que foi preparada removendo água e outras estruturas complexadas. Utilizando o software Arguslab (THOMPSON, 2004) foi realizado um Docking molecular (SILVA et al, 2017), onde o algoritmo de busca demonstrou somente a ligação de menor energia. A visualização dos resultados foi feita utilizando o software Discovery Studio (BIOVIA, 2020) onde é possível observar as interações com receptor-ligante.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A proteína NS1 do vírus da dengue é disposta do repositório Protein Data Bank ([www.rcsb.org](http://www.rcsb.org)) com o código 4OIG, obtida através do método experimental de difração de raio-X com resolução de 2,69 Å, R-Value Free: 0,268 e R-Value Work: 0,220 (EDELING, DIAMOND, FREMONT, 2014). Na figura abaixo está representada a estrutura.

**Figura 1** - Estrutura da proteína NS1 do vírus da dengue tipo-1.



**Fonte:** Visualização no UCSF Chimera (PETTERSEN et al, 2004)

Na estrutura da figura 1, os grupos sulfatos (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) complexados na estrutura apresentam-se em forma de gravetos de coloração amarela, além de pequenos pontos vermelhos que representam as moléculas de água. Para a aplicação dos testes experimentais auxiliados pelo computador, a remoção é muito importante pois facilita a otimização e a interação com novos ligantes candidatos a inibidores, minimizando o tempo de cálculos realizados pelos softwares de química computacional, onde apresenta resultados mais confiáveis (FARIAS, 2018).

A pectolinarina é uma flavonoide encontrada nas folhas da Lantana Camara, planta da espécie verbenaceae facilmente encontrada no território brasileiro e popularmente conhecida como cambará-de-cheiro,



chumbinho, camará-de-chumbo etc. Na medicina popular apresenta características antissépticas e atua contra sintomas de resfriados, gripe e a replicação as larvas do mosquito Aedes (ZENIMORI, PASIN, 2006). A pectolarina é encontrada no repositório da PUBCHEM (KIM et al, 2019) pelo código de busca CID 168849, possui fórmula molecular C<sub>29</sub>H<sub>34</sub>O<sub>15</sub> e nome definido pela International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) de 5-hydroxy-6-methoxy-2- (4-metoxi fenil) -7 - [(2 S, 3 R, 4 S, 5 S, 6 R) -3,4,5-trihydroxy-6 - [(2 R, 3 R, 4 R, 5 R, 6 S) -3, 4, 5-trihidroxi-6-methyl oxan-2-il] oximeter] Oxan-2-il] yl chromen-4-one. A figura 2 abaixo apresenta a estrutura química da pectolarina.

**Figura 2** - Estrutura química da flavonoide pectolarina obtido na PubChem (CID 168849).



**Fonte:** Visualização no UCSF Chimera (PETTERSEN et al, 2004)

O software Arguslab (THOMPSON, 2004) é utilizado nos estudos de química computacional servindo como interface gráfica. Dentre as funcionalidades apresentadas, uma delas é o Docking molecular que faz um encaixe baseado no funcional de busca AScore levando em consideração a melhor pose do ligante. Uma vantagem é que a geração do Grid box automatizada, sendo posicionada onde há maiores cavidades topológicas no receptor, o que minimiza os erros na formação da caixa de encaixe.

No Docking realizado foram utilizados como ligante flexível a pectolarina e a proteína NS1 como ligante rígido no processo. O grid gerado obteve coordenadas de grid mínimo para X = 78.89, Y = -39.63 e Z = -1.76 e grid máximo para X = 138.89, Y = 20.40 e Z = 52.64 em angstroms, contemplando os canais A, D e E da NS1. Foram detectadas 15 torções ao longo da cadeia carbônica, gerando um total de 150 candidatos a posições favoráveis na busca pelo funcional AScore, em um tempo estimado de 264 segundos. Dentre as posições, 39 configurações únicas foram agrupadas na região determinada pelo grid. Apenas 1 posição otimizada foi acoplada com sucesso na protease NS1, com energia mínima de -8.84025 kcal/mol. Abaixo está representada a posição da molécula com maior estabilidade.

**Figura 3** - Imagem do docking molecular pelo Arguslab



**Fonte:** visualização no Arguslab (THOMPSON, 2004)

Ao final foi gerado um complexo receptor-ligante, visualizado utilizando o software Discovery Studio (BIOVIA, 2020). A figura 4 representa a interação da pectolarina com os grupos aminoácidos ao longo da proteína NS1 em estrutura bidimensional (2D).

**Figura 4** - Representação 2D das interações do ligante com os aminoácidos âncoras.



**Fonte:** Visualização no Discovery Studio (BIOVIA, 2020).

O Discovery Studio (BIOVIA, 2020) permite gerar uma tabela com as interações receptor-ligante, levando em consideração os aminoácidos envolvidos e os tipos de ligações realizadas. A tabela 1 abaixo demonstra todos os dados obtidos, tipo de ligação, resíduos e as distâncias em angstroms.

**Tabela 1**- Interações químicas entre o receptor NS1 e o ligante Pectolarina.



**Fonte:** BIOVIA Discovery Studio, 2020.



Os dados da tabela mostram que as ligações de Hidrogênio convencional (verde) tiveram menores distâncias no complexo de 2,69; 3,00 e 3,04 Å assim como as ligações de Hidrogênio-Carbono (ciano) de 2,62; 2,91 e 3,62 Å o que pode indicar uma forte interação da pectolinarina com a NS1 do vírus da Dengue.

## CONCLUSÕES

Segundo os dados obtidos no Docking pelo software de química computacional Arguslab, o melhor valor de energia de ligação da Pectolinarina com a NS1 é -8,84 kcal/mol, ligando-se com a protease nos aminoácidos GLY D-585, GLY E-760, ASN E-759, THR A-264, ARG A-294, GLY A-295, VAL D-586, LYS A-347, ALA A-265 e PRO A-296 através de ligações de hidrogênio em sua totalidade. Como as distâncias do comprimento das ligações no complexo receptor-ligante foram pequenas, pode-se concluir que há uma forte interação com a pectolinarina, podendo ser futuramente um alvo de potencial farmacológico para a inibição do vírus da dengue, podendo gerar trabalhos futuros nesta perspectiva.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC/UNILAB) pelo incentivo financeiro, a UNILAB (Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira) e ao GIQ (Grupo Interdisciplinar em Química).

## REFERÊNCIAS

- BIOVIA, **Discovery studio visualizer**. Release 2017, Dassault Systèmes, 2016. 2017. San Diego. 2020
- EDELING, M.C.E.S; DIAMOND, M. S., & FREMONT, D. H. Structural basis of Flavavirus NS1 assembly and antibody recognition. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 111(11), p. 4285-4290, 2014. Disponível em: . Acesso em: 21 out. 2019.
- FARIAS, H. M. **Análise in silico de inibidores em potencial de uma proteína de replicação viral (NS5 Rdrp) do vírus da zika**. 2018. 59 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos) - Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, Universidade Federal de Campina Grande, Sumé, 2018. Disponível em: . Acesso em: 11 fev. 2020.
- KIM S. et al. PubChem 2019 update: improved access to chemical data. **Nucleic Acids Research**, v. 47, D1, p. D1102-D1109, 2019. Disponível em: . Acesso em: 20 ago. 2020.
- LUPI, O; CARNEIRO, C. G.; COELHO, I. C. B. Manifestações mucocutâneas da dengue. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 82, n. 4, p. 291-305, 2007. Disponível em: . Acesso em: 21 out. 2020.
- PETERSEN, F. et al. UCSF Chimera - a visualization system for exploratory research and analysis. **Journal of Computational Chemistry**, v. 25, n. 13, p. 1605-1612, 2004. Disponível em: . Acesso em: 16 out. 2019.
- ROSE P. W, et al. The RCSB protein data bank: integrative view of protein, gene and 3D structural information. **Nucleic Acids Research**, v. 45, n. D1, p. D271-D281, 2017. Disponível em: Acesso em: 15 mar. 2019.



SILVA, J. et al. Bixinoids potentially active against dengue virus: a molecular docking study. **International Journal of Scientific & Engineering Research**, v. 8, n. 4, p. 882-887, 2017. ISSN 2229-5518. Disponível em: . Acesso em: 21 out. 2019.

THOMPSON, M. A. Molecular docking using arguslab: an efficient shape-based search algorithm and the AScore scoring function. Poster presentation. In: **Fall ACS meeting**, Philadelphia. 2004.

ZENIMORI, S. & L. A. A. P. PASIN. **Aspectos da biologia floral de Lan-tana (Lantanacamara L.)**. In: Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, X e Encontro Latino Americano de Pós-Graduação, VI. Universidade do Vale do Paraíba, 2006. Disponível em: . Acesso em: 15 mar. 2019.

