



Relato de experiência no IFPR ou Externo - ação/projeto de enfrentamento ao Coronavírus (Covid-19)

## Estudo *in silico* de chalconas com potencial atividade antiviral

Daniel Rotella Cocco; Kelly Caroline de Lara; Maicon Rogério de Souza;  
Samira Pauluk Alarcon; Vitória Rezende Kurita

Instituição: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná (IFPR) - Campus Pitanga

Palavras-chave: 3CL<sup>PRO</sup>, Chalconas, Covid19, In Silico

### Introdução

Os coronavírus são um grande grupo de vírus responsáveis por diversas doenças em seres humanos e animais (Kim *et al.*, 2013). Em humanos costumam causar doenças como o resfriado comum, contudo, surtos globais de novas infecções causadas por coronavírus causam doenças respiratórias mais graves esporadicamente (RATHNAYAKE *et al.*, 2020). Em 2003 ocorreu a Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS-CoV), em 2012 a Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV) e, atualmente, está em curso a pandemia da SARS-Cov-2.

Covid-19 é uma infecção respiratória aguda potencialmente letal causada pela nova variante, SARS-Cov-2 (GORBALENYA *et al.*, 2020). Esta variante foi identificada em 2019, inicialmente na cidade chinesa de Wuhan (WU *et al.*, 2020). Desde sua descoberta a doença se espalhou para praticamente todos os países em pouco tempo (SANCHE *et al.*, 2020). Em janeiro de 2020 a Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou a Covid-19 um problema de saúde pública mundial e, posteriormente, em março de 2020, a existência de uma pandemia (LAI *et al.*, 2020). Os principais sintomas da doença são tosse seca, febre, falta de ar e dificuldade respiratória aguda podendo levar à morte (JIN *et al.*, 2020).

No início de abril de 2021 haviam sido relatados mais de 133 milhões de casos e cerca de 2,9 milhões de mortes em todo o mundo. O Brasil é atualmente o segundo país mais afetado no mundo e registra mais de 13 milhões de casos e 337.364 mortes (WORLDMETERS.INFO, 2021). Os números apresentados demonstram a importância do desenvolvimento de medicamentos que combatam o SARS-Cov-2.

Métodos computacionais, como a abordagem *in silico*, estão ganhando espaço na busca por novos insumos farmacêuticos ativos. O uso dessa abordagem apresenta vantagens como a não utilização de animais, custos inferiores, rapidez, reprodutibilidade e exatidão (SRINIVAS *et al.*, 2014). Os estudos *in silico* permitem o estudo de propriedades farmacodinâmicas, farmacocinéticas e toxicológicas de potenciais candidatos a fármacos (TOROPOVA, 2017). Mesmo com o desenvolvimento de vacinas, ainda será importante o uso de medicamentos antivirais que combatam a ação do vírus (KAUL, 2020).

Estudos indicam que a enzima 3CL<sup>PRO</sup> pode ser um ponto frágil na estrutura química do SARS-CoV-2. Esta enzima, no ciclo viral, atua no processo de clivagem e a inexistência de seu homólogo humano colocam essa enzima como potencial alvo para o desenvolvimento de medicamentos anti SARS-Cov-2 (LIU *et al.*, 2020).

Entre os diversos grupos de flavonóides estão as chalconas que foram o objeto de estudo deste projeto. Os flavonóides apresentam uma grande variedade de propriedades biológicas, tais como atividade antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória e antiviral (RUSSO *et al.*, 2020). Estudos demonstram que as chalconas podem inibir a atividade da 3CL<sup>PRO</sup> e serem usadas no desenvolvimento de antivirais contra SARS-CoV-2 (VIJAYAKUMAR *et al.*, 2020).

Neste cenário o estudo *in silico* das chalconas sobre a enzima 3CL<sup>PRO</sup> surge como uma promissora opção para o desenvolvimento de tratamentos para essa doença.

### Objetivos

O presente projeto teve como objetivo realizar o estudo *in silico* de chalconas e identificar compostos com atividade inibitória da proteína 3CL<sup>PRO</sup> com potencial para desenvolvimento de novos insumos farmacêuticos ativos destinados ao tratamento da Covid-19.

### Métodos

O estudo foi desenvolvido no segundo semestre de 2020 pelo Grupo Interdisciplinar de Pesquisas Aplicadas à Agroindústria (GIPAA) do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná (IFPR) Campus Pitanga. Os softwares e bancos de dados utilizados são grátis ou versões de testes para pesquisadores. Utilizou-se o estudo *in silico* pois essa abordagem é amplamente utilizada por ser uma alternativa prática e de custo mais baixo na pesquisa de possíveis novos candidatos a insumo farmacêutico ativo como uma etapa anterior a testes *in vitro* e *in vivo* (MAGALHÃES *et al.*, 2021).

Inicialmente foi realizada uma pesquisa na base de dados do Núcleo de Bioensaios, Biosíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais (Nubbe) da Universidade Estadual Paulista (Unesp). Nessa etapa foram obtidas informações preliminares sobre chalconas, por exemplo, estrutura química, código SMILES, entre outros.

Na sequência verificou-se a biodisponibilidade oral das chalconas, conforme a Regra dos Cinco de Lipinski, através da análise dos seguintes parâmetros: número de doadores de ligações de hidrogênio (nDLH), massa molecular (MM), número de aceptores de ligações de hidrogênio (nALH), coeficiente de partição octanol-água (miLogP) e área de superfície polar (TPSA) (LIPINSKI *et al.*, 1997). Em conjunto com a Regra dos Cinco de Lipinski foi verificado o parâmetro de Veber (nrotb - número de bandas rotáveis). Os parâmetros



necessários para o estudo da biodisponibilidade oral foram obtidos utilizando a ferramenta *Molinspiration*.

Posteriormente utilizou-se a ferramenta Previsão do Espectro de Atividade para Substâncias *Online – Pass Online*. Esta faz a estimativa dos efeitos biológicos de compostos e apresenta os resultados utilizando os índices Pa (probabilidade de ser ativo) e Pi (probabilidade de ser inativo), variando em uma escala de 0 a 1 (SRINIVAS *et al.*, 2014). Nessa etapa identificou-se o composto com maior probabilidade de atividade inibitória da 3CL<sup>PRO</sup>.

A etapa posterior consistiu na análise das propriedades do composto identificado em relação a sua absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade. Foram utilizadas as ferramentas *ADMETSAR 2.0*, *Lazer Toxicity Predictions*, *Marvin Sketch* e *Osiris Property Explorer*. Foram analisados parâmetros como a toxicidade oral aguda, mutagenicidade, carcinogenicidade e dose máxima diária recomendada.

### Resultados

O levantamento realizado na base de dados Nubbe identificou 35 chalconas que foram o ponto inicial do estudo. Todas tiveram sua biodisponibilidade oral avaliada segundo a Regra dos Cinco de Lipinski. De acordo com essa regra, é necessário que candidatos a novos insumos farmacêuticos ativos estejam enquadrados em ao menos 4 dos 5 parâmetros avaliados (OLIVEIRAL *et al.*, 2018). 25 chalconas que obedecem a Regra dos Cinco de Lipinski e ao parâmetro de Veber, apresentando boa biodisponibilidade oral. Por meio da ferramenta *Pass Online* verificou-se que destas, 14 chalconas apresentam probabilidade de atividade inibitória da 3CL<sup>PRO</sup>.

Entre os composto analisados observou-se que o composto 3-(1,3-benzodioxol-5-il)-1-(4-metóxi-1-benzofuran-5-il)propan-1-onã violava a Regra dos Cinco de Lipinski e apresentou 32,4% de probabilidade de atividade inibitória da 3CL<sup>PRO</sup>, sendo essa a maior probabilidade verificada. Essa chalcona apresenta fórmula estrutural C<sub>19</sub>H<sub>16</sub>O<sub>5</sub> e código SMILES O=C(CCC4=CC=C3OCOC3=C4)C2=C(C1=C(C=C2)OC=C1)OC. A estrutura do composto é apresentada na Figura 1.



Figura 1 – Estrutura bidimensional do composto estudado.  
Fonte: MarvinSketch

A Tabela 1 apresenta os resultados obtidos com o software *Molinspiration* para os parâmetros analisados pela Regra dos Cinco de Lipinski, Parâmetro de Veber e os valores de referência.

O Parâmetro de Veber diz que o número de bandas rotáveis do composto deve ser igual ou inferior a 10 (nrtob ≤ 10). Esse parâmetro está associado com a flexibilidade de molécula e é uma importante característica a ser analisada na determinação da biodisponibilidade de uma molécula. O

composto não viola a Regra dos Cinco de Lipinski e nem o Parâmetro de Veber indicando que possui boa biodisponibilidade oral. O percentual de absorção teórica oral (%ABS) foi estimado através da equação: %ABS= 109 – (0,345 X TPSA) (MEDEIROS *et al.*, 2020). O resultado obtido foi de 89,0% ratificando a previsão de boa biodisponibilidade.

A análise realizada a partir do software *Osiris Property Explorer* indicou que o composto não apresenta riscos em relação a sua toxicidade. Observou-se que o composto não apresenta atividade mutagênica, tumorigênica, efeitos irritantes e não afeta o sistema reprodutivo. Também foi observado um valor satisfatório de 0,42 para o parâmetro *drug-score*, contudo, o parâmetro *druglikeness* apresenta valor negativo. Isso indica que a molécula estudada não apresenta grupos químicos frequentemente encontrados em medicamentos comerciais (BELTRAME; ROMERO; ROMERO, 2013).

O software *AdmetSar2.0* indica alta probabilidade de absorção do composto no intestino humano e o classifica na categoria III em relação a sua toxicidade oral aguda necessitando de grandes doses diárias para apresentar riscos à saúde. Compostos classificados nessa categoria apresentam Dose Letal Média (DL50) entre 500 e 5000 mg/dia (COCCO *et al.*, 2020). Com o software *Lazar Toxicity Predictions* foi determinada que a dose diária máxima recomendada para humanos é 5,42 mg/kg/dia, indicando não ser necessário o consumo de doses que representem riscos.

O composto analisado apresenta bons parâmetros em relação a sua biodisponibilidade, absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade demonstrando potencial para o desenvolvimento de novos medicamentos destinados ao tratamento da Covid-19. Espera-se realizar o processo de otimização da estrutura da chalcona estudada visando obter melhores resultados para o parâmetro *druglikeness*.

“Esse relato foi originado a partir de uma adaptação de um projeto já em andamento e foi importante por analisar parâmetros iniciais de compostos que podem passar por estudos mais avançados e serem utilizados no enfrentamento da atual pandemia. Agradeço ao IFPR por proporcionar condições de realizarmos pesquisas relacionadas a temas atuais.”

Maicon Rogério de Souza  
Servidor docente do IFPR

Tabela 1 – Parâmetros analisados na Regra dos Cinco de Lipinski e Parâmetro de Veber.

Parâmetro	Referência	Valor Obtido
miLogP	≤ 5	3,96
TPSA	≤ 140 Å <sup>2</sup>	57,91
MM	≤ 500 g/mol	324,33
nALH	≤ 10	5
nDLH	≤ 5	0
Nrotb	≤ 10	5

Fonte: Maicon Rogério de Souza



## REFERÊNCIAS

- BELTRAME, Karla Karine; ROMERO, Rafaelle Bonzanini; ROMERO, Adriano Lopes. ESTUDO IN SILICO DO ACETATO DE 1'S-1'-ACETOXIEUGENOL E DE SEUS INTERMEDIÁRIOS SINTÉTICOS. **O Método Científico**, Campo Mourão, v. 1, n. 1, p. 1-7, out. 2013.
- COCCO, Daniel Rotella *et al.* 88Journal of Medicine and Health Promotion. 2020; 5(2):88-99.USO DE MÉTODOS COMPUTACIONAIS PARA ANÁLISE FARMACOLÓGICA E TOXICOLÓGICA DO VELUTIN. **Journal of Medicine and Health Promotion**, Patos, v. 5, n. 2, p. 88-99, 15 abr. 2020. Disponível em: <http://jmhp.fiponline.edu.br/pdf/cliente=13-aec006979db0a72cabad444a29ab1491.pdf>. Acesso em: 28 mar. 2021.
- GORBALENYA, Alexander *et al.* The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-ncov and naming it sars-cov-2. **Nature Microbiology**, [S.L.], v. 5, n. 4, p. 536-544, 2 mar. 2020. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z>.
- JIN, Ying-Hui *et al.* A rapid advice guideline for the diagnosis and treatment of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infected pneumonia (standard version). **Military Medical Research**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 120-131, 6 fev. 2020. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/s40779-020-0233-6>.
- KAUL, Dinesh. An overview of coronaviruses including the SARS-2 coronavirus – Molecular biology, epidemiology and clinical implications. **Current Medicine Research And Practice**, [S.L.], v. 10, n. 2, p. 54-64, mar. 2020. Medknow. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmrp.2020.04.001>.
- KIM, Yunjeong *et al.* Potent inhibition of feline coronaviruses with peptidyl compounds targeting coronavirus 3C-like protease. **Antiviral Research**, [S.L.], v. 97, n. 2, p. 161-168, fev. 2013. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2012.11.005>.
- LAI, Chih-Cheng *et al.* Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): the epidemic and the challenges. **International Journal Of Antimicrobial Agents**, [S.L.], v. 55, n. 3, p. 105924, mar. 2020. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105924>.
- LIPINSKI, Christopher A. *et al.* Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [S.L.], v. 23, n. 1-3, p. 3-25, jan. 1997. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0169-409x\(96\)00423-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0169-409x(96)00423-1). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169409X96004231>. Acesso em: 07 mar. 2021.
- LIU, Yuzhi *et al.* The development of Coronavirus 3C-Like protease (3CLpro) inhibitors from 2010 to 2020. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 206, p. 1-18, nov. 2020. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112711>.
- MAGALHÃES, Camila Fortes Castelo Branco *et al.* Avaliação in silico do potencial antiinflamatório de alcaloides indólicos presentes nas sementes de Couroupita guianensis. **Research, Society And Development**, [S.L.], v. 10, n. 2, p. 1-11, 15 fev. 2021. Research, Society and Development. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i2.12514>. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/12514/11266>. Acesso em: 07 mar. 2021.
- Medeiros Herbert Igor Rodrigues de, *et al.* Rational planning of a drug candidate: in silico studies, synthesis and structural elucidation. **Research, Society and Development** [Internet]. 2020 Dezembro [Acessado em: 15 fev. 2021]; 9(11):1-27. DOI <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i11.10605>. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/10605/9337>
- OLIVEIRAL, Vinicius Figueiras de *et al.* Análise farmacológica e toxicológica do flavonoide 5-Hidroxi-4',7-Dimetoxiflavona. **Journal Of Medicine And Health Promotion**, Patos, v. 1, n. 3, p. 913-921, 01 mar. 2018. Trimestral. Disponível em: <http://jmhp.fiponline.edu.br/pdf/cliente=13-58ef02fe07ddb8bed51caca2387c43eb.pdf>. Acesso em: 07 mar. 2021.
- RATHNAYAKE, Athri D. *et al.* 3C-like protease inhibitors block coronavirus replication in vitro and improve survival in MERS-CoV-infected mice. **Science Translational Medicine**, [S.L.], v. 12, n. 557, p. 1-10, 3 ago. 2020. American Association for the Advancement of Science (AAAS). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1126/scitranslmed.abc5332>.
- RUSSO, Maria *et al.* Roles of flavonoids against coronavirus infection. **Chemico-Biological Interactions**, [S.L.], v. 328, p. 1-13, set. 2020. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2020.109211>.
- SANCHE, Steven *et al.* High Contagiousness and Rapid Spread of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2. **Emerging Infectious Diseases**, [S.L.], v. 26, n. 7, p. 1470-1477, jul. 2020. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3201/eid2607.200282>.
- SRINIVAS, Nakka *et al.* N Vitro Cytotoxic Evaluation and Detoxification of Monocrotaline (Mct) Alkaloid: An In Silico Approach. **International Invention Journal Of Biochemistry And Bioinformatics**, [s. l.], v. 2, n. 2, p. 20-29, 01 mar. 2014. Disponível em: [https://www.researchgate.net/profile/Dr-Sandeep-Kusuma/publication/262182857\\_In\\_Vitro\\_Cytotoxic\\_Evaluation\\_and\\_Detoxification\\_of\\_Monocrotaline\\_Mct\\_Alkaloid\\_An\\_In\\_Silico\\_Approach/links/00463536e089219384000000/In-Vitro-Cytotoxic-Evaluation-and-Detoxification-of-Monocrotaline-Mct-Alkaloid-An-In-Silico-Approach.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Dr-Sandeep-Kusuma/publication/262182857_In_Vitro_Cytotoxic_Evaluation_and_Detoxification_of_Monocrotaline_Mct_Alkaloid_An_In_Silico_Approach/links/00463536e089219384000000/In-Vitro-Cytotoxic-Evaluation-and-Detoxification-of-Monocrotaline-Mct-Alkaloid-An-In-Silico-Approach.pdf). Acesso em: 07 abr. 2021.
- TOROPOVA, Mariya A. Drug Metabolism as an Object of Computational Analysis by the Monte Carlo Method. **Current Drug Metabolism**, [S.L.], v. 18, n. 12, p. 1123-1131, 12 fev. 2018. Bentham Science Publishers Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2174/1389200218666171010124733>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29032749/>. Acesso em: 07 abr. 2021.
- VIJAYAKUMAR, Balaji Gowrivel *et al.* In silico pharmacokinetic and molecular docking studies of natural flavonoids and synthetic indole chalcones against essential proteins of SARS-CoV-2. **European Journal Of Pharmacology**, [S.L.], v. 886, p. 1-11, nov. 2020. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173448>.
- WORLDMETERS.INFO. **Worldmeter**. 2021. Disponível em: <https://www.worldometers.info/coronavirus/#countries>. Acesso em: 04 abr. 2021.
- WU, Fan *et al.* A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. **Nature**, [S.L.], v. 579, n. 7798, p. 265-269, 3 fev. 2020. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2008-3>.