



HENRIQUE FERNANDES SILVA

ESTUDOS IN SILICO DE POTENCIAIS INIBIDORES

DA PROTEASE DO SARS-CoV-2

LAVRAS – MG

2023

HENRIQUE FERNANDES SILVA

ESTUDOS IN SILICO DE POTENCIAIS INIBIDORES

DA PROTEASE DO SARS-CoV-2

Monografia apresentada a
Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências para a
obtenção do título de Licenciatura
em Química.

Orientadora:

Prof. Dra. Elaine Fontes Ferreira da Cunha

Coorientador:

Dr. Alexandre Alves de Castro

LAVRAS – MG

2023

*Ao meu pai e minha mãe pelo alicerce nessa caminhada, ao meu irmão pelo suporte e apoio,
Ofereço.*

AGRADECIMENTOS

Primeiro, agradeço aos meus pais Evandro e Lúcia, que foram a base para que essa caminhada fosse concluída, além de toda educação promovida para minha formação como pessoa.

Ao meu irmão Felipe, pelo apoio dentro e fora da universidade, um laço inseparável.

Aos meus professores que possibilitaram meu crescimento como ser humano e como futuro cientista.

À minha orientadora Elaine, que abriu as portas para um universo novo e intrigante no ramo da ciência.

Ao meu coorientador Alexandre, por todo conhecimento aprendido e construído, para além da amizade consolidada.

Aos meus amigos de graduação Artur, Iury, Karina, Rodrigo, Zandor e em especial o Guilherme, que passou quase todos os dias ao meu lado dando o suporte e os ensinamentos necessário para que tudo pudesse fluir, uma amizade para a vida toda.

Aos meus amigos Matheus, Samuel e Vinícius pela forte amizade e pelos momentos extraordinários que nos mantêm unidos mesmo estando longe.

Ao meu amigo Gabriel, pelas cervejas, conversas e jogatinas, à Isabela e Pedro pelas experiências e ensinamentos compartilhados, todos com quem dividi a moradia e fizeram parte dessa caminhada.

A minha namorada Gabrielly pelo apoio e companheirismo nos momentos difíceis.

À UFLA pelo espaço e oportunidades, como uma universidade pública de exímia qualidade.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

Obrigado!

RESUMO

Em 2019, na cidade de Wuhan, na China, um novo coronavírus (SARS-CoV-2) foi identificado e estabelecido como uma potencial ameaça global. O vírus se espalhou rapidamente e culminou em uma pandemia mundial a partir do ano de 2020. Para o combate ao novo coronavírus, diversos cientistas e pesquisadores trabalharam incansavelmente até produzirem dados suficientes para inibir a atividade viral. A M^{pro} (Main Protease – Protease Principal) do SARS-CoV-2 desempenha um papel fundamental no ciclo de replicação viral e é um alvo potencial para o desenvolvimento de inibidores. Para essa tarefa, os métodos computacionais podem contribuir efetivamente para descobertas e desenvolvimento de novos medicamentos para o combate ao vírus. Trabalhos e publicações anteriores a respeito da inibição da atividade viral do SARS-CoV serviram de base para o estudo de compostos com atividade inibitória contra a M^{pro} do SARS-CoV-2, uma vez que o alinhamento das sequências das duas enzimas M^{pro} possui uma similaridade de 86,125%. O Docking Molecular foi realizado com o software Molegro Virtual Docker (MVD®). Os resultados obtidos mostraram que os biflavonóides de *Torreya nucifera* apresentaram melhor energia de interação intermolecular para M^{pro} do SARS-CoV e SARS-CoV-2. Neste caso, três ligantes (**2l**, **2m** e **2n**) apresentaram energia de interação intermolecular de $-235.09 \text{ kcal mol}^{-1}$, $-223.42 \text{ kcal mol}^{-1}$ e $-222.39 \text{ kcal mol}^{-1}$, respectivamente, para SARS-CoV. De maneira semelhante, esses ligantes apresentaram energia de interação de $-228.89 \text{ kcal mol}^{-1}$, $-225.10 \text{ kcal mol}^{-1}$ e $-234.62 \text{ kcal mol}^{-1}$, respectivamente, para SARS-CoV-2. Os resultados do trabalho indicam que os potenciais inibidores da M^{pro} do SARS-CoV podem ser efetivos contra a M^{pro} do SARS-CoV-2. Portanto, os resultados deste trabalho se mostram relevantes e poderão servir de base para futuros projetos visando a atividade viral do SARS-CoV-2.

Palavras-chave: SARS-CoV, SARS-CoV-2, M^{pro}, química computacional, docking molecular

ABSTRACT

In 2019, in the city of Wuhan, China, a new coronavirus (SARS-CoV-2) was identified and established as a potential global threat. The virus spread rapidly and culminated in a worldwide pandemic starting in 2020. To combat the novel coronavirus, several scientists and researchers have worked tirelessly until they have produced enough data to inhibit viral activity. The M^{pro} (Main Protease) of SARS-CoV-2 plays a key role in the viral replication cycle and is a potential target for the development of inhibitors. For this task, computational methods can effectively contribute to the discovery and development of new drugs to combat the virus. Previous work and publications on the inhibition of SARS-CoV viral activity served as a basis for the study of compounds with inhibitory activity against the M^{pro} of SARS-CoV-2, since the alignment of the sequences of both M^{pro} enzymes has a similarity of 86.125%. Molecular docking was carried out using the Molegro Virtual Docker (MVD®) software. The results showed that *Torreya nucifera* biflavonoids showed the best intermolecular interaction energy for M^{pro} of SARS-CoV and SARS-CoV-2. In this case, three ligands (**2l**, **2m** e **2n**) showed intermolecular interaction energies of $-235.09 \text{ kcal mol}^{-1}$, $-223.42 \text{ kcal mol}^{-1}$ and $-222.39 \text{ kcal mol}^{-1}$, respectively, for SARS-CoV. Similarly, these ligands showed interaction energies of $-228.89 \text{ kcal mol}^{-1}$, $-225.10 \text{ kcal mol}^{-1}$ and $-234.62 \text{ kcal mol}^{-1}$, respectively, for SARS-CoV-2. The results of this work indicate that potential inhibitors of the SARS-CoV M^{pro} may be effective against the M^{pro} of SARS-CoV-2. Therefore, the results of this work are relevant and could serve as a basis for future projects targeting the viral activity of SARS-CoV-2.

Keywords: SARS-CoV, SARS-CoV-2, M^{pro}, Computational chemistry, molecular docking

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Coronavírus e seu ciclo viral. Fonte: (V'KOVSKI et al., 2021)	13
Figura 2: Estrutura química dos compostos Nirmatelvir (A), Lopinavir (B) e Ritonavir (C).....	17
Figura 3: Evusheld, composto pelos anticorpos monoclonais humanos tixagevimab e cilgavimab. Fonte: https://www.al.pi.leg.br/tv/noticias-tv-1/anvisa-aprova-remedio-contra-covid-19-para-imunocomprometidos . Acessado em 30/11/2023.....	18
Figura 4: (A) Estrutura cristalográfica da M ^{pro} do SARS-CoV em complexo com o inibidor N9 (B) e (C) estrutura cristalográfica da M ^{pro} do SARS-CoV-2 em complexo com o inibidor N3 (D).	24
Figura 5: Sobreposição dos ligantes cristalográficos da M ^{pro} do SARS-CoV (A) e M ^{pro} do SARS-CoV-2 (B) a partir dos cálculos de re-docking.....	25
Figura 6: Interações intermoleculares realizadas pelo melhor inibidor de cada grupo no sítio ativo da M ^{pro} do SARS-CoV, em que (A) 1d, (B) 2l, (C) 3b e (D) 4q.....	31
Figura 7: Interações intermoleculares realizadas pelos melhores inibidores de cada grupo no sítio ativo da M ^{pro} do SARS-CoV-2, em que (A) 1d, (B) 2n, (C) 3g, (D) 4q.	36
Figura 8 (S1): Alinhamento entre as sequências da M ^{pro} do SARS-CoV e M ^{pro} do SARS-CoV-2.....	58
Figura 9: Representação dos medicamentos de referência, similar e genérico. Fonte: https://www.ufsm.br/midias/arco/por-que-medicamentos-genericos-sao-mais-baratos . 67	67
Figura 10: Linha do tempo da química medicinal (adaptado de Barreira e Fraga, 2015)	68
Figura 11: Fotografia de Luca Borghi do Instituto Pasteur, em Paris.	69
Figura 12: Software que permite visualizar a interação de um composto em uma enzima.	70
Figura 13: Estudos in vitro feitos em laboratórios para avaliarem o composto estudado. Fonte: https://bcrlj.org.br/servicos/cursos-e-treinamentos/curso-de-toxicologia-in-vitro/	70
Figura 14: Testes pré-clínicos, realizados em laboratórios utilizando de animais como cobaias. Fonte: https://www.correiobraziliense.com.br/app/noticia/ciencia-e-saude/2020/03/27/interna_ciencia_saude,840688/cientistas-procuram-ratos-de-laboratorio-na-luta-contr	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Resultados de ancoramento molecular dos três ligantes de cada grupo no sítio ativo da M ^{pro} do SARS-CoV com melhores resut	26
Tabela 2: Resultados do cálculo de ancoramento molecular dos três melhores ligantes de cada grupo no sítio ativo da M ^{pro} do SARS-CoV-2.....	32
Tabela S1: Estrutura química e energia de interação intermolecular de todos os ligantes do grupo 1 investigados na M ^{pro} do SARS-CoV e M ^{pro} SARS-CoV-2.	48
Tabela S2: Estrutura química e energia de interação intermolecular de todos os ligantes do grupo 2 investigados na M ^{pro} do SARS-CoV e M ^{pro} SARS-CoV-2.	49
Tabela S3: Estrutura química e energia de interação intermolecular de todos os ligantes do grupo 3 investigados na M ^{pro} do SARS-CoV e M ^{pro} SARS-CoV-2.	51
Tabela S4: Estrutura química e energia de interação intermolecular de todos os ligantes do grupo 4 investigados na M ^{pro} do SARS-CoV e M ^{pro} SARS-CoV-2.	53

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1: Estudos computacionais no tratamento da COVID-19	9
1. Introdução	9
2. Objetivos	10
2.1. Objetivos específicos	11
3. Referencial teórico	11
3.1 SARS-CoV-2	11
3.2 Virologia	12
3.3 Variantes de SARS-CoV-2	13
3.4 COVID-19	14
3.5 Protease	15
3.6 3CL^{Pro} (M^{pro})	15
3.7 Vacinas	18
3.8 Modelagem Molecular	19
4. Metodologia	20
4.1. Preparação das proteínas	20
4.2 Preparação dos ligantes	20
4.3 Ancoramento Molecular	21
5. Resultados e discussões	23
6. Considerações finais	38
7. Referências bibliográficas	39
Material Suplementar	48
CAPÍTULO 2: A Química Medicinal na divulgação científica	65
1. Introdução	65
2. Objetivos	66
3. Texto de Divulgação Científica	67
4. Discussão	73
5. Conclusão	76
6. Referências bibliográficas	77

CAPÍTULO 1: Estudos computacionais no tratamento da COVID-19

1. Introdução

Em 2019, na cidade chinesa de Wuhan, surgiram os primeiros casos da doença do novo coronavírus, designada como COVID-19 (Coronavirus disease 2019, em inglês). Rapidamente se espalhou pelo mundo e causou sérios danos à saúde internacional e à economia (WU *et al.*, 2020; ZHOU *et al.*, 2020). O agente etiológico foi identificado como um novo vírus da família Coronaviridae e foi nomeado como Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2, em inglês) pelo Comitê Internacional na Taxonomia de Vírus. O motivo dessa denominação deve-se ao fato de seu genoma do RNA ser aproximadamente 82% idêntico ao do coronavírus SARS (SARS-CoV) (ZHANG, Linlin *et al.*, 2020). Além disso, o SARS-CoV-2 mostra uma semelhança de 79% com o coronavírus SARS (Severe Acute Respiratory Syndrome) e uma semelhança de 50% com o coronavírus MERS (Middle East Respiratory Syndrome) (PARK; THWAITES; OPENSHAW, 2020).

Em uma análise de dados no início do surto, foi evidenciado que o número total de casos confirmados de COVID-19 estava aumentando rapidamente pelo mundo até a data de 31 de dezembro de 2019. Dessa forma, ao passo que se o vírus se disseminava incontrolavelmente, a Organização Mundial da Saúde declarou a pandemia no dia 11 de março de 2020 (BALOCH *et al.*, 2020). Até 3 de julho de 2020, cerca de 217 países e outras áreas foram afetadas pelo vírus, e mais de 10,710,000 casos foram confirmados globalmente para além das 517,877 mortes (CHEN, Xi *et al.*, 2020). Após quase quatro anos desde o início da pandemia, esses números alcançaram valores inimagináveis. De acordo com os dados da Organização Mundial da Saúde (WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard), até a data de 12 de outubro de 2023 houve mais de 770 milhões de casos confirmados mundialmente e aproximadamente 7 milhões de mortes. Mas apesar disso, com os esforços dos cientistas e o avanço da tecnologia, a rápida produção das vacinas alcançou a marca de mais de 13,5 bilhões de doses de vacinas administradas, um marco histórico no âmbito das vacinas.

Para compreender a elevada propagação do vírus, primeiro é crucial entender que o SARS-CoV-2 se replica no trato respiratório superior, o que significa que os pacientes infectados produzem uma grande quantidade de partículas virais que contribuem para a

disseminação da infecção (CHAN *et al.*, 2020). Coincidindo com MERS e SARS, não há características clínicas distintas da COVID-19, e os sintomas são semelhantes a outras infecções respiratórias agudas graves (ARABI *et al.*, 2017; ARABI; MURTHY; WEBB, 2020; CHEN, Nanshan *et al.*, 2020; HUANG *et al.*, 2020). Todos os protocolos e caracterização foram coletados em pacientes em todo o mundo para melhor compreender a doença, em termos de histórico, perfis clínicos, modo de transmissão, técnicas de manejo e riscos, tudo para não comprometer a saúde do mundo (ARABI; MURTHY; WEBB, 2020; ZHANG, Tengyue *et al.*, 2020)

A principal protease do vírus SARS-CoV-2 (M^{pro}), também conhecida como SARS-CoV 3C-like protease (3CL^{pro}), é reconhecida como uma proteína não estrutural do coronavírus (Nsp5) e um alvo em potencial para o desenvolvimento de medicamentos (RUT *et al.*, 2021a). O site UniProt nos fornece, dentre outras funções, um resumo completo de todos os dados conhecidos sobre a sequência de proteínas, associado a um resumo das informações funcionais verificadas experimentalmente ou previstas computacionalmente sobre as proteínas (BATEMAN *et al.*, 2021). A fim de avaliar a semelhança entre as sequências de ambas as enzimas M^{pro} do SARS-CoV e do SARS-CoV-2, o site proveu os resultados apresentados no material suplementar (**Figura S1**), mostrando que a semelhança de suas identidades sequenciais atinge o valor de 86,125%.

Dessa forma, para o presente trabalho, primeiro foi realizado uma pesquisa em artigos e trabalhos anteriores que apresentavam potenciais inibidores da M^{pro} do SARS-CoV (LEE; LEE; LEE; KIM; *et al.*, 2009; LIU *et al.*, 2014; RAMAJAYAM *et al.*, 2010; RYU *et al.*, 2010). Em seguida, investigou-se estes mesmos compostos visando a protease, baseado em suas similaridades estruturais. Por meio de cálculos de ancoramento molecular, buscou-se avaliar os valores de energia de interação (afinidade) entre os compostos e as duas proteases, e assim verificar se os resultados seriam satisfatórios para ambos os alvos.

2. Objetivos

Investigar a provável aplicação de compostos inibidores da M^{pro} do SARS-CoV na M^{pro} do SARS-CoV-2 por meio de estudos computacionais.

2.1. Objetivos específicos

- Determinar as energias de interação intermolecular dos compostos inibidores nos dois alvos por meio do cálculo de Docking Molecular e parâmetros obtidos;
- Avaliar as energias e comprimento de ligação de hidrogênio dos compostos com os resíduos da cavidade nos dois alvos;
- Avaliar as interações dos compostos com a díade catalítica;
- Comparar os resultados do cálculo de Docking para o primeiro alvo com os resultados para o segundo alvo.

3. Referencial teórico

3.1 SARS-CoV-2

Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) é conhecido como um vírus da família Coronaviridae com alta taxa de transmissão, o qual causou a pandemia global, cuja doença ficou denominada como “Coronavirus Disease 2019” (COVID-19) (GORBALENYA *et al.*, 2020; RAVI; SAXENA; PANDA, 2022). A infecção em humanos é comumente associada a doenças respiratórias, sendo que a replicação do vírus pode ser identificada no trato respiratório superior e inferior, o que acomete sua alta taxa de transmissão. Contudo, também pôde ser detectado replicação no trato gastrointestinal (SALZBERGER *et al.*, 2021)

A avaliação do genoma do SARS-CoV-2 revela aproximadamente 88% de identidade de sequência com dois coronavírus encontrados em morcegos (bat-SLCoVZC45 e bat-SL-CoVZXC21), como também foi identificado 96.2% de similaridade genômica com um coronavírus (RaTG13) identificado no morcego *Rhinolophus affinis* (HU, Ben *et al.*, 2021; LU, Roujian *et al.*, 2020). Nesse sentido, as informações sugerem que o hospedeiro original do surto de SARS-CoV-2 era semelhante a um morcego (LU, Hongzhou; STRATTON; TANG, 2020).

Além disso, pôde ser identificado no SARS-CoV-2 um compartilhamento de 79% da sequência do nucleotídeo com o SARS-CoV, o responsável pela epidemia do SARS em 2002-2004 (JACKSON *et al.*, 2022). Não obstante, o novo coronavírus depende de seu receptor obrigatório para entrar nas células, a enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2), a mesma identificada em 2003 como receptor do SARS-CoV (HOFFMANN *et al.*, 2020; JACKSON *et al.*, 2022). Por outro lado, SARS-CoV-2 também apresenta cerca

de 50% de similaridade genética com o Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV), uma epidemia que acometeu o Oriente Médio (Arábia Saudita), em 2012 [<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32275259>].

3.2 Virologia

Os coronavírus (CoV) são identificados como vírus de RNA de cadeia positiva que podem ser encontrados em muitas espécies de animais (SINGH; YI, 2021). Esse vírus possui uma camada de glicoproteína constituída por duas subunidades S1 e S2 (JACKSON *et al.*, 2022). S1 é responsável pela adesão do vírus à célula hospedeira enquanto S2 ajuda com a fusão na membrana da célula hospedeira (RAVI; SAXENA; PANDA, 2022).

O vírus também contém suas devidas estruturas de proteínas, como a proteína do nucleocapsídeo (N), a proteína Spike (S), que é responsável pela ligação com o receptor, proteínas integrais de membrana e pequenas proteínas de membrana (proteínas M e E). A maioria das proteínas codificadas pelo SARS-CoV-2 possui uma semelhança de tamanho com as proteínas correspondentes ao SARS-CoV (HU, Ben *et al.*, 2021). O SARS-CoV-2 contém um RNA filogeneticamente diferente do gene da RNA polimerase dependente de RNA (RdRp) e proteínas como a 3CL^{pro} (3-chymotrypsin-like protease), protease do tipo papaína, dentre outras (RAVI; SAXENA; PANDA, 2022).

Foi constatado que no ciclo de vida intracelular, os coronavírus expressam e replicam o seu RNA genômico, produzindo cópias completas que são incorporadas em partículas virais recém-formadas. Os coronavírus possuem grandes genomas de RNA, flanqueados por regiões não traduzidas 5' e 3' que contêm estruturas de RNA secundário essenciais para a síntese de RNA. Na extremidade 5', o RNA genômico apresenta duas grandes estruturas de leitura aberta (ORF; ORF1a e ORF1b) que ocupam dois terços do genoma encapsulado e poliadenilado. A ORF1a e a ORF1b codificam 15-16 proteínas não estruturais (nsp, em inglês), das quais 15 compõem o complexo viral de replicação e transcrição (RTC, em inglês) que inclui, entre outras, enzimas de processamento e modificação de RNA e uma função de revisão de RNA necessária para manter a integridade do genoma do coronavírus >30kb (**Figura 1**) (V'KOVSKI *et al.*, 2021).

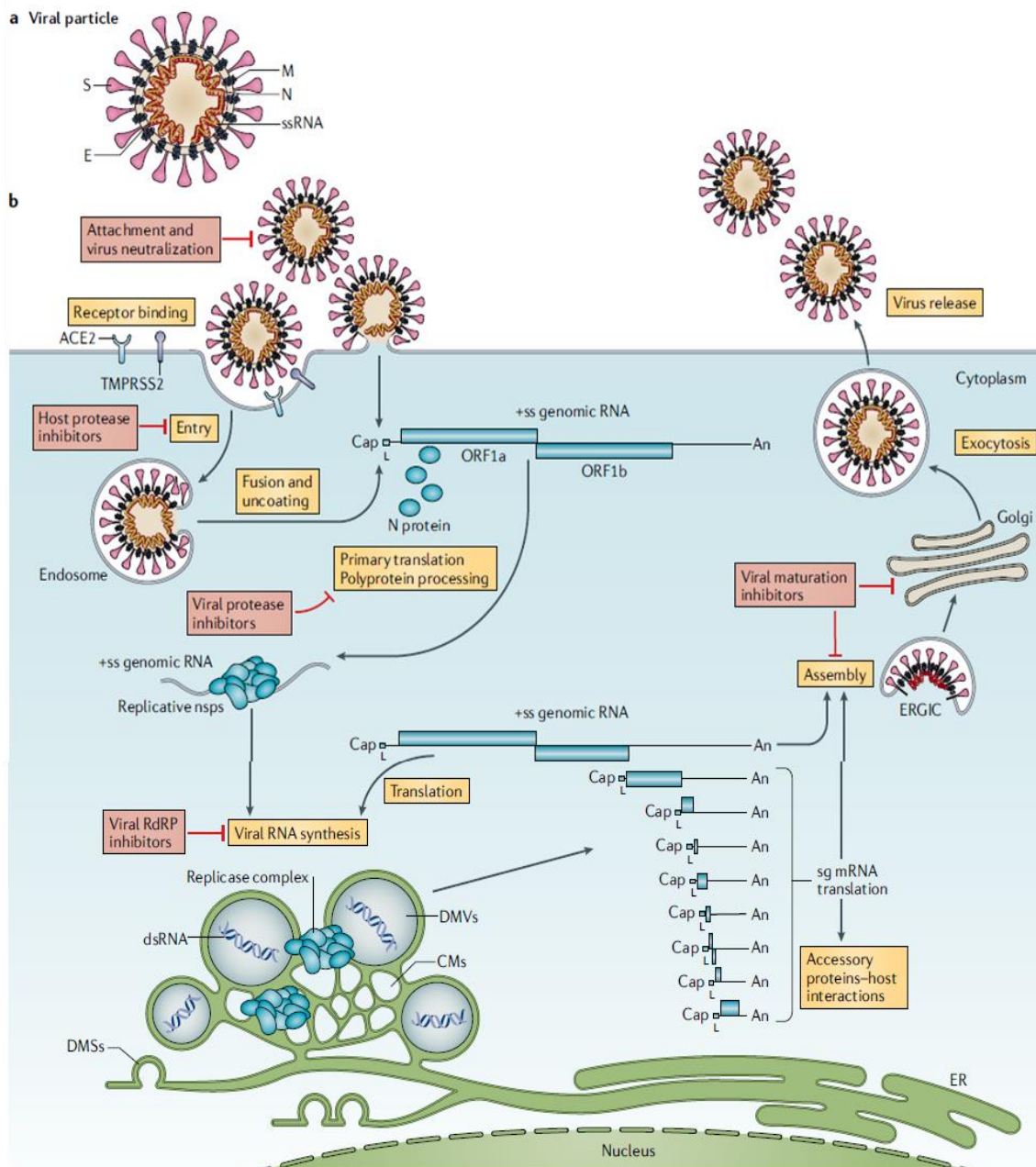


Figura 1: Coronavírus e seu ciclo viral. Fonte: (V'KOVSKI et al., 2021)

3.3 Variantes de SARS-CoV-2

Uma análise dos genomas do SARS-CoV-2, recolhidos pelo mundo todo durante o curso da pandemia, revelou o aparecimento de subgrupos do vírus com mutações distintas (SINGH; YI, 2021). A variante N439K foi descoberta e está preocupando os pesquisadores. Sua afinidade pelo receptor ACE2 é superior as demais, além disso ela contém características neutralizantes de alguns anticorpos monoclonais e policlonais presente no soro de quem se recupera da infecção (HARVEY *et al.*, 2021). Outra variante que se mostrou alarmante foi a ômicron, que apresenta muitas mutações, quando

comparado as outras. Somente na proteína Spike é possível encontrar cerca de 32 mutações que pode contribuir efetivamente para a replicação viral (WANG, Youchun *et al.*, 2022).

O Instituto Nacional de Alergia e Doenças Infecciosas (NIAID, em inglês) criou o programa SAVE (SARS-CoV-2 Assessment of Viral Evolution), em janeiro de 2021, para geração de dados do SARS-CoV-2 Interagency Group (SIG), para facilitar o compartilhamento rápido de dados com parceiros globais e a comunidade científica. O programa opera de forma a avaliar e fornecer avaliações sobre o risco de mutações emergentes relacionada ao SARS-CoV-2, que podem afetar a transmissibilidade, força viral e imunidade induzida pela infecção ou pela vacina (DEGRACE *et al.*, 2022).

3.4 COVID-19

A infecção do SARS-CoV-2 se tornou uma emergência de saúde pública à medida que a pandemia se instalava e o vírus se propagava. A doença causada pelo vírus foi então nomeada de coronavírus disease 2019 (COVID-19, em inglês) pela Organização Mundial da Saúde, em 11 de fevereiro de 2020 (CHEN, Xi *et al.*, 2020). A maioria dos sintomas encontrados nos pacientes que foram infectados são: febre, tosse seca, fadiga, dores de cabeça, e até mesmo dores abdominais e diarreia (SHI *et al.*, 2020).

Os agentes terapêuticos investigados durante a pandemia vão de medicações com diferentes mecanismos de ação, como os antivirais que promoviam inibição da replicação viral, anticorpos monoclonais recombinantes que bloqueiam a entrada do vírus na célula e até métodos terapêuticos que visam a resposta imune do hospedeiro (MURAKAMI *et al.*, 2023). Apesar das pesquisas terem trazido avanços significativos para as vacinas contra o SARS-CoV-2, ainda é necessário um foco no desenvolvimento de potenciais fármacos para o tratamento de pessoas com sintomas clínicos severos (YUAN *et al.*, 2023). Algumas pesquisas continuam sendo realizadas para analisar os efeitos da doença a longo prazo e das consequências da infecção, que podem afetar outros órgãos. Os primeiros relatórios, por exemplo, apresentam algumas manifestações causadas pela infecção do SARS-CoV-2, tais como fadiga, dispneia, dores no peito, perturbações cognitivas, artralgia e um certo declínio na qualidade de vida (NALBANDIAN *et al.*, 2021).

3.5 Protease

As proteases são enzimas que hidrolisam as ligações peptídicas de unidades de polipeptídios e proteínas (AGBOWURO *et al.*, 2018). Em humanos, há cinco famílias de proteases: serina, cisteína, aspartil, treonina e metalo proteases. A cisteína, treonina e serina proteases são caracterizadas pelo uso de resíduos nucleofílicos do sítio ativo para hidrolisar as ligações peptídicas, de forma que as aspartil proteases utilizam resíduos do sítio ativo para ativar moléculas de água para o ataque nucleofílico (SANMAN; BOGYO, 2014). Dessa forma, no corpo humano, suas funções vão desde regular fatores de crescimento, citocinas, quimiocinas e receptores celulares, tanto por meio da ativação como inativação, conduzindo a uma sinalização intracelular e regulação genética (CRAIK; PAGE; MADISON, 2011). Portanto, as proteases podem desempenhar papéis decisivos em diferentes setores, como o comercial, farmacêutico, analítico, de diagnóstico e muitos outros (GURUMALLESH *et al.*, 2019).

Uma vez que suas funções são numerosas e podem ocorrer intra- e extracelularmente, a regulação é um fator importante na aplicação das proteases como forma terapêutica. As descobertas e desenvolvimentos de antivirais, por exemplo, possui um grande valor na pesquisa sobre vírus, e esses estudos levaram ao uso clínico de diferentes fármacos direcionado às proteases e aos processos que são vitais para o ciclo viral (TONG, 2002). Nesse sentido, as enzimas virais fundamentais para a produção de vírus infecciosos passaram a representar potenciais alvos terapêuticos. A pesquisa e o desenvolvimento de inibidores contra esses alvos virais, por exemplo, podem ser auxiliados por bibliotecas de compostos e terapias racionais baseados em cristalografia de raios X e técnicas como a triagem de alto rendimento em (PATICK; POTTS, 1998).

3.6 3CL^{Pro} (M^{Pro})

Um estudo realizado na M^{Pro} do SARS-CoV constou que a protease contém três domínios. Localizado em uma fenda entre os domínios I e II, o sítio ativo possui uma díade catalítica formada pelos resíduos de aminoácidos Cys145 e His41 (ANAND *et al.*, 1999). Também há uma molécula de água com um hidrogênio ligado a His41 (TAN *et*

al., 2005), significando o surgimento de um terceiro componente de uma tríade catalítica. Nesse sentido, o terceiro domínio da M^{pro} é reconhecido como necessário para manter a atividade proteolítica, o que dá ao domínio II e à alça longa uma orientação cataliticamente favorável (ANAND *et al.*, 2002) e/ou orientando os resíduos N-terminais que atuam com um papel importante para a atividade (YANG *et al.*, 2003).

Com isso, as recentes propostas de fármacos contra o SARS-CoV-2 têm visado a sua protease principal M^{pro} (também conhecida por 3CL^{pro}), pois ela é a responsável pelo processamento da poliproteína que é traduzida a partir do RNA do vírus (SRIVASTAVA; YADAV; SARKAR, 2020). A protease é reconhecida como uma proteína não-estrutural do coronavírus (Nsp5) e um potencial alvo para o desenvolvimento de fármacos (RUT *et al.*, 2021b). Similar ao SARS-CoV, a M^{pro} do SARS-CoV-2 consiste em três domínios e o seu sítio ativo apresenta uma díade catalítica formada pelos resíduos de aminoácidos conservados His41 e Cys145 (HU, Qing *et al.*, 2022; JIN *et al.*, 2020a). Sendo assim, com as informações de estrutura e mecanismos da protease responsável pelo processamento viral, os estudos *in vitro*, *in vivo* e ensaios clínicos passam a ser conduzidos pela busca de compostos que possuam potencialidades inibitórias contra o alvo, tornando assim uma medida terapêutica apropriada contra o vírus.

Nirmatrelvir (PF-07321332) (**Figura 2**) é um agente antiviral administrado de forma oral com potencial de inibição da enzima M^{pro} do SARS-CoV-2. O composto pôde diminuir a atividade e replicação do vírus num vasto espectro do coronavírus *in vitro* (processo biológico que ocorre fora dos sistemas vivos) (HAMMOND *et al.*, 2022). O composto é capaz de se ligar ao sítio ativo da enzima e interromper a díade catalítica His41 e Cys145, perturbando o ciclo viral no organismo (AHMAD *et al.*, 2021). Por sua vez, lopinavir e ritonavir (**Figura 2**) são inibidores de protease do HIV-1 que foram identificados inibidores da M^{pro} do SARS-CoV-2 (RAFI *et al.*, 2022). Esses compostos são utilizados contra o atual vírus, pois são potenciais inibidores do SARS-CoV (NUKOOLKARN *et al.*, 2008).

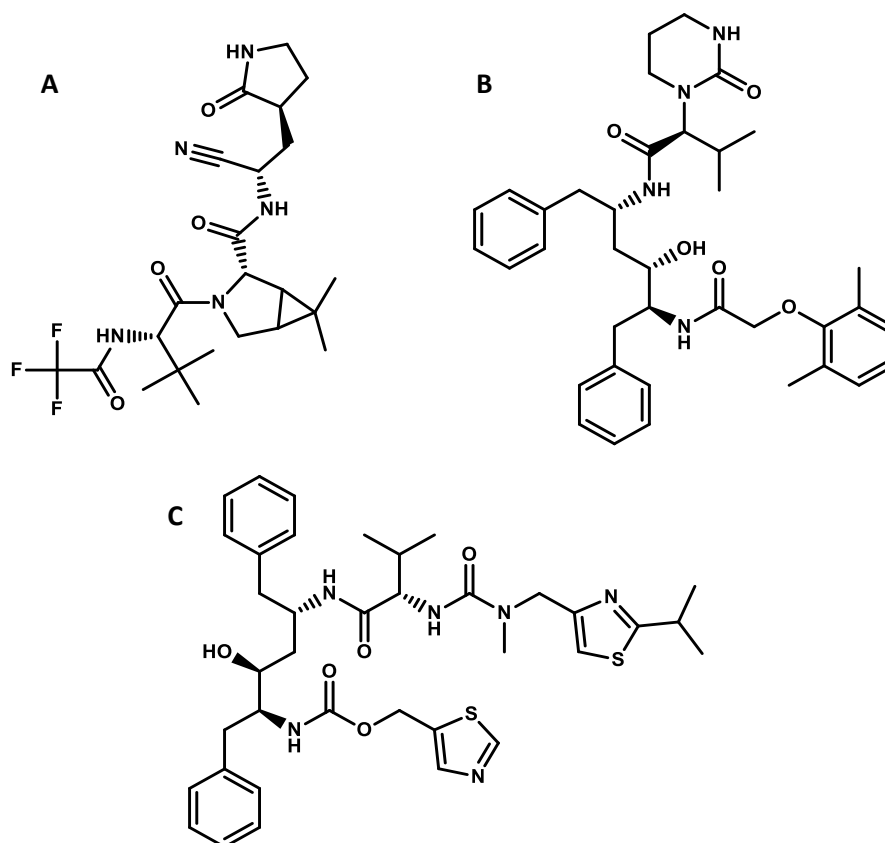


Figura 2: Estrutura química dos compostos Nirmatrelvir (A), Lopinavir (B) e Ritonavir (C).

O AZD7442, também conhecido como Evusheld, consiste em uma fusão de dois anticorpos monoclonais humanos de longa ação, denominados tixagevimab (AZD8895 ou COV2-2196) e cilgavimab (AZD1061 ou COV2-2130) (**Figura 3**). Estes anticorpos foram obtidos através do processo de clonagem de linfócitos B, isolados de células mononucleares presentes no sangue periférico de indivíduos que se recuperaram da COVID-19. Em fevereiro de 2022, a Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) aprovou a concessão de autorização temporária de uso emergencial, em caráter experimental, para o medicamento Evusheld (cilgavimab + tixagevimab). Este representa o primeiro medicamento com indicação profilática autorizado no Brasil, sendo constituído por anticorpos monoclonais IgG1 humanos recombinantes, disponibilizados em dois frascos co-embalados para administração intramuscular (ANVISA, 2022a & 2022b).



Figura 3: Evusheld, composto pelos anticorpos monoclonais humanos tixagevimab e cilgavimab. Fonte: <https://www.al.pi.leg.br/tv/noticias-tv-1/anvisa-aprova-remedio-contra-covid-19-para-imunocomprometidos>. Acessado em 30/11/2023.

3.7 Vacinas

O desenvolvimento de vacinas contra um agente etiológico geralmente é tardio até a garantia de suas eficácias e a devida distribuição à população. No entanto, as novas plataformas de produção, a concessão de antígenos com base na estrutura, a engenharia de proteínas, a biologia computacional, os variados bancos de dados de compostos e a síntese de genes forneceram as ferramentas necessárias para produzir vacinas com rapidez e precisão, que pôde muito bem ser evidenciado com as vacinas para a COVID-19 (GRAHAM, 2020).

As vacinas antivirais podem ser classificadas em duas grandes categorias. A primeira categoria refere-se as vacinas com tecnologia de RNA mensageiro. Ao ser administrada, a vacina introduz no organismo a sequência de RNA mensageiro, contendo a fórmula para que as células produzam uma proteína específica do agente que se pretende imunizar. Em outras palavras, a vacina instrui as células a sintetizarem a proteína precisa que desencadeia a produção de anticorpos pelo corpo. A segunda categoria refere-se as vacinas com microrganismos atenuados ou totalmente inativados, feitas com o microrganismo enfraquecido em laboratório, a partir de um indivíduo ou animal infectado, ou formuladas com o vírus morto e seus fragmentos. Diferente do imunizante

com vírus atenuado, neste tipo de vacina, ela apenas engana o organismo para que passe a desenvolver apenas os anticorpos, sem desenvolver a doença. Por um outro lado, há também a vacina de vetor viral, que é feita com determinados genes do vírus que são incapazes de se replicar no organismo. Esse vírus modificado funciona como um alerta para que o sistema imunológico comece a trabalhar contra os invasores. (GRAHAM, 2020).

De acordo com o Portal do Butantan, as vacinas que foram mais aplicadas para a população no Brasil foram: CoronaVac, vacina do Butantan feita em parceria com a Sinovac, AstraZeneca, Pfizer e Janssen. A CoronaVac utiliza a tecnologia de vírus inativado, onde no indivíduo ela induz uma resposta imunológica, mas não é capaz de causar a doença. AstraZeneca, que foi desenvolvida em parceria com a universidade de Oxford, foi produzida no Brasil pela Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), e a tecnologia empregada é o uso do vetor viral. O adenovírus, que infecta os chimpanzés, é geneticamente manipulado para que seja introduzido o gene da proteína Spike do SARS-CoV-2. Já a vacina da Pfizer se baseia na tecnologia de RNA mensageiro (mRNA). O mRNA sintético promove as instruções ao organismo para a produção de proteínas que se encontram na superfície do novo coronavírus, estimulando a resposta imune do sistema. Por fim, a Janssen, do grupo Johnson & Johnson, foi aplicada em uma única dose. Assim como a AstraZeneca, também é utilizado a tecnologia do vetor viral, baseado em um tipo específico de adenovírus que foi modificado geneticamente para não se replicar em humanos.

3.8 Modelagem Molecular

As técnicas de Modelagem Molecular em ambientes computacionais se tornaram uma ferramenta fundamental para facilitar a interpretação e predição de dados experimentais a nível molecular (VAN GUNSTEREN; DOLENC; MARK, 2008). A evolução dos computadores com o desenvolvimento da tecnologia tornou possível analisar, comparar e caracterizar dados complexos que são obtidos por meio de sistemas biomoleculares experimentais (VAN GUNSTEREN *et al.*, 2006).

As metodologias de Ancoramento Molecular apresentam estratégias de grande importância no planejamento e design de novos fármacos. Em suma, elas visam prever o

modo de interação e a afinidade de uma molécula no sítio de ligação do receptor de interesse (GUEDES; DE MAGALHÃES; DARDENNE, 2014). Sabe-se que no meio biológico o receptor pode ser encontrado no estado livre ou interagindo com um ligante endógeno ou exógeno de forma reversível ou não. Em equilíbrio (reversível), a fração de receptores em cada um desses estados depende da constante de dissociação, K_d , que é uma propriedade intrínseca de qualquer par ligante-receptor. Os valores de energias calculados pelos softwares podem ser aproximados da energia livre de Gibbs (ΔG_{lig}), que por sua vez pode ser usada para calcular K_d (PAGADALA; SYED; TUSZYNSKI, 2017):

$$\text{Energia calculada} \cong \Delta G_{lig} = \Delta H - T\Delta S = -RT\ln K_d \quad (\text{Eq. 1})$$

em que ΔH é a variação da entalpia, T é a temperatura absoluta em Kelvin, ΔS é a variação de entropia, R é a constante universal dos gases ideais e K_d é a constante de dissociação de ligação de uma possível reação.

4. Metodologia

4.1. Preparação das proteínas

Para investigar a afinidade de ligação entre compostos da literatura com SARS-CoV e SARS-CoV-2, as estruturas cristalográficas das duas enzimas virais foram obtidas do PDB (*Protein Data Bank*). A M^{pro} do SARS-CoV está complexada com o ligante N9, tem código PDB 2AMD e resolução de 1,85 Å (YANG *et al.*, 2005). A M^{pro} do SARS-CoV-2 está com o ligante N3 tem código PDB 6LU7 e resolução de 2,16 Å (YANG *et al.*, 2005). Os íons e moléculas de água foram removidos do PDB original. Os átomos de hidrogênio foram adicionados às estruturas utilizando o site PDB2PQR (<https://server.poissonboltzmann.org/pdb2pqr>).

4.2 Preparação dos ligantes

Os ligantes obtidos na literatura (LEE; LEE; LEE; KIM; *et al.*, 2009; LIU *et al.*, 2014; RAMAJAYAM *et al.*, 2010; RYU *et al.*, 2010) foram construídos utilizando o software GaussView e otimizados pelo pacote Gaussian 09 [<https://www.rsc.org/suppdata/c5/sc/c5sc02423d/c5sc02423d1.pdf>], a nível DFT,

utilizando o funcional de densidade B3LYP e conjunto de bases 6-31g (d,p). As cargas parciais dos átomos também foram calculadas utilizando o software Spartan Pro[®] (Hehre, W.J.; Deppmeier, B.J.; and Klunzinger, 1999).

4.3 Ancoramento Molecular

O ancoramento molecular foi realizado com o software Molegro Virtual Docker (MVD[®]) (THOMSEN; CHRISTENSEN, 2006). Os protocolos de ancoramento contêm um algoritmo de posicionamento e um sistema de ranqueamento. O algoritmo de posicionamento realiza múltiplas amostragens no espaço disponível para o ligante no sítio de ligação, gerando assim um extenso conjunto de poses, ou seja, possíveis posições do ligante. O sistema de ranqueamento avalia todas essas poses e identifica as mais prováveis. As enzimas M^{pro} (SARS-CoV e SARS-CoV-2) e as estruturas dos compostos obtidos da literatura foram usadas como receptores e ligantes, respectivamente.

No processo de ancoramento, uma região da enzima permaneceu fixa, enquanto a cadeia lateral dos aminoácidos na outra região foi mantida flexível. A flexibilidade da enzima foi preservada a partir do centro de cada ligante, abrangendo um raio de 12 Å para o SARS-CoV e 13 Å para o SARS-CoV-2. Esses parâmetros escolhidos englobam o ligante ativo e os principais resíduos em volta da cavidade, incluindo os resíduos da díade catalítica.

No programa MVD, a função score usada foi a MolDock Score [GRID] com uma resolução de 0,3 Å (THOMSEN; CHRISTENSEN, 2006). O algoritmo está baseado na combinação de técnicas de otimização por evolução diferencial com um algoritmo de predição da cavidade. Nesse sentido, os valores da função score do MolDock Score [GRID], E_{score} , são definidos pela Eq. 2:

$$E_{score} = E_{inter} + E_{intra} \quad (\text{Eq. 2})$$

em que E_{inter} é a energia intermolecular e E_{intra} é a energia intramolecular. E_{inter} é descrita por:

$$E_{inter} = \sum_{i \in \text{ligand}} \sum_{j \in \text{protein}} \left[E_{PLP}(r_{ij}) + 332,0 \frac{q_i q_j}{4r_{ij}^2} \right] \quad (\text{Eq. 3})$$

em que o termo E_{PLP} é a função de pontuação PLP (do inglês, Piecewise Linear Potential) para simular a complementaridade espacial (termo estérico ou Van der Waals) entre a estrutura do ligante e da enzima e ainda um potencial para representar a ligação de hidrogênio, que vai depender da distância e do ângulo entre os átomos. O segundo termo é o potencial de Coulomb, com uma constante dielétrica dependente da distância (que pode ser aproximadamente descrita como $D(r) = 4r$). Assim, o valor numérico de 332,0 é responsável pela unidade de energia eletrostática a ser dada em quilocalorias por mol (THOMSEN; CHRISTENSEN, 2006).

E_{intra} é definida como:

$$E_{intra} = \sum_{i \in \text{ligand}} \sum_{j \in \text{ligand}} E_{PLP}(r_{ij}) + \sum_{\text{flexiblebonds}} A[1 - \cos(m \cdot \theta - \theta_0)] + E_{clash} \quad (\text{Eq. 4})$$

Observa-se que a primeira parte da equação (soma dupla) está entre todos os pares de átomos do ligante, tirando aqueles conectados por duas ligações. Assim, nesta equação, o segundo termo denota a energia de torção, onde θ é o ângulo de torção da ligação. Assim, se várias torções podem ser determinadas, então cada energia de torção é considerada como uma média entre elas. Sendo que o último termo desta equação, E_{clash} , atribui (sem levar em conta conformações de ligantes inviáveis) uma penalidade de 1.000 aos que exibem a distância entre dois átomos pesados (por exemplo, com mais de duas ligações separadas) menor que 2,0 Å (THOMSEN; CHRISTENSEN, 2006).

O algoritmo MolDock é capaz de identificar automaticamente os possíveis sítios de ligação usando um algoritmo simples de previsão de cavidades do tipo “grid-based”. As cavidades encontradas são ativamente utilizadas pelo algoritmo de pesquisa (Evolução Diferencial Guiada) para focar a pesquisa durante a simulação de ancoramento molecular (THOMSEN; CHRISTENSEN, 2006).

O algoritmo de pesquisa utilizado foi o *Guided Differential Evolution*, que é baseada no conjunto das técnicas de otimização iterativa (inspiradas na Teoria da Evolução Darwiniana), o que implica um novo algoritmo de busca híbrida. Como tal, este híbrido combina uma técnica de otimização de evolução diferencial com um algoritmo de previsão de cavidade durante o processo de busca. Como resultado, esta abordagem

conduz a uma descrição simples, rápida e precisa de possíveis modos de ligação, que chamaremos de pose(s) (DA CUNHA *et al.*, 2010; SOUZA *et al.*, 2008; THOMSEN; CHRISTENSEN, 2006).

4.4. *Re-docking*

Para validar os parâmetros de ancoramento empregados neste trabalho, foi realizado o *re-docking* utilizando o MVD®. Esse cálculo foi feito de acordo com a orientação e conformação adotada pelo ligante ativo co-cristalizado no sítio ativo da enzima. A partir dele é possível encontrar o valor de RMSD (Root Mean Square Deviation, que significa raiz quadrada do desvio quadrático médio). Valores menores que 2 Å são considerados satisfatórios (DA CUNHA *et al.*, 2010).

5. Resultados e discussões

A partir da semelhança entre as identidades sequenciais de ambas as enzimas M^{pro} do SARS-CoV e do SARS-CoV-2, (**Figura S1**), com o valor de 86,125%, o primeiro passo foi validar os cálculos de ancoramento a partir dos cálculos de *re-docking*. Um valor de RMSD de 1,71 Å foi obtido SARS-CoV, e 1,50 Å para o SARS-CoV-2, sugerindo que o programa foi capaz de simular de forma correta e eficiente os dados experimentais para os respectivos ligantes. A **Figura 1** a seguir representa a estrutura obtida por cristalografia de Raios-X das duas enzimas M^{pro} em complexo com seus respectivos ligantes ativos. É fundamental observar que, a partir do código PDB, as duas enzimas utilizadas neste trabalho foram encontradas em suas formas nativas, ou seja, desprovidas de mutações.

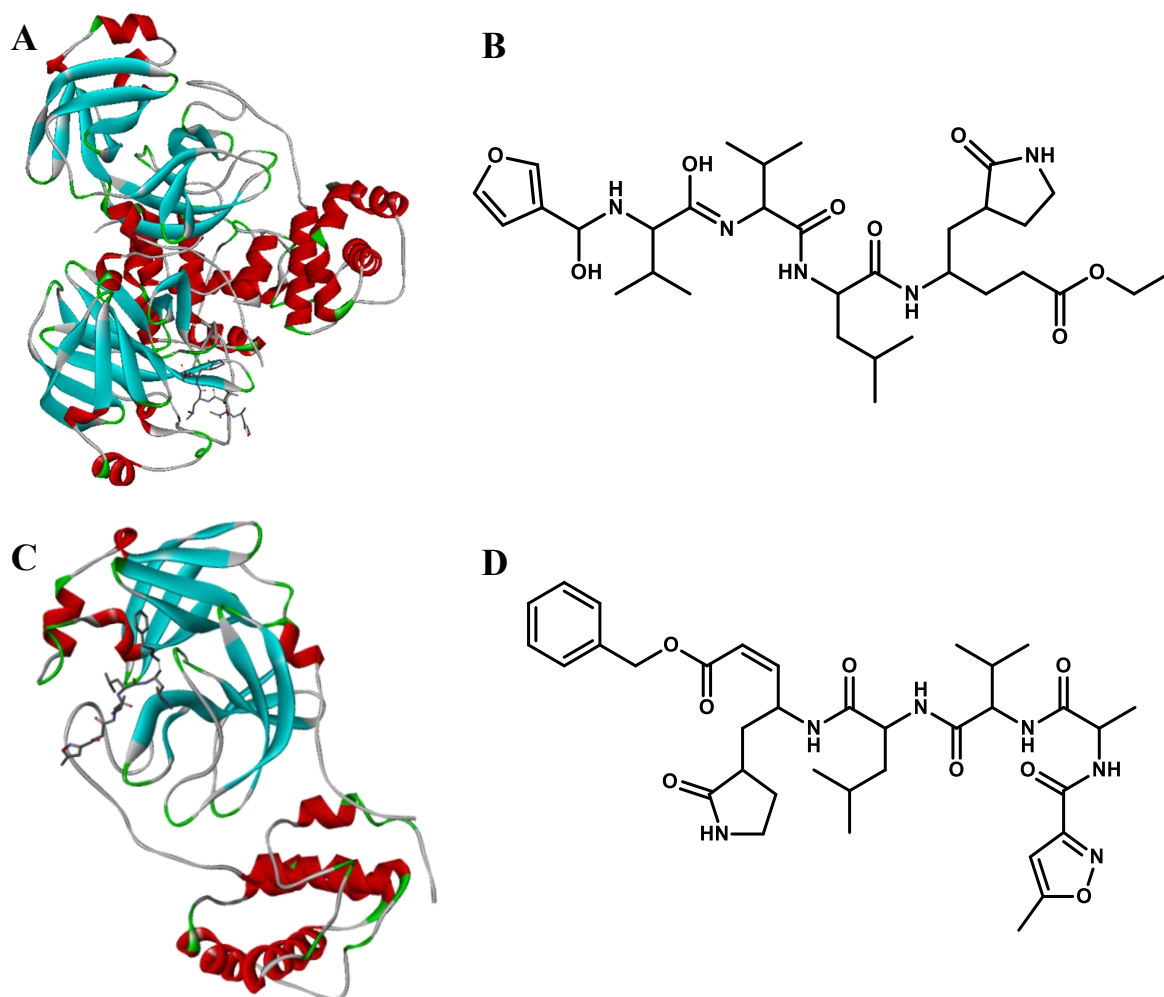


Figura 4: (A) Estrutura cristalográfica da M^{pro} do SARS-CoV em complexo com o inibidor N9 (B) e (C) estrutura cristalográfica da M^{pro} do SARS-CoV-2 em complexo com o inibidor N3 (D).

Nossos primeiros resultados mostraram que o desvio conformacional do ancoramento molecular foi adequado para realizar esses cálculos, indicando a boa sensibilidade e especificidade do método. A sobreposição de *re-docking* para ambas as enzimas pode ser encontrada na **Figura 2**. Com esses resultados, utilizamos os melhores parâmetros adquiridos a partir dos cálculos de *re-docking* para investigar os modos de interação dos candidatos a fármacos dentro dos sítios ativos das enzimas virais.

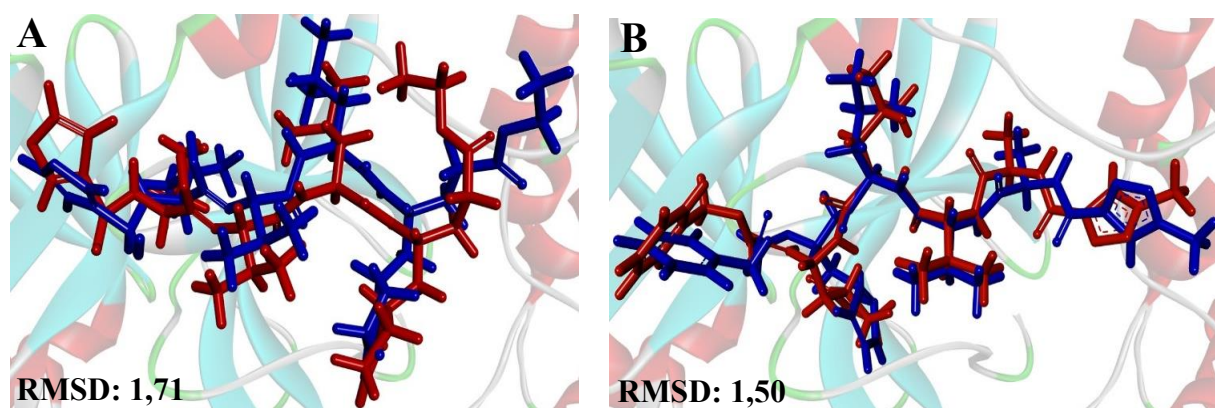
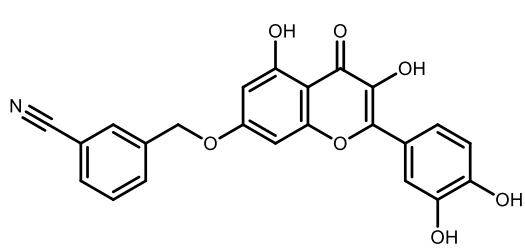
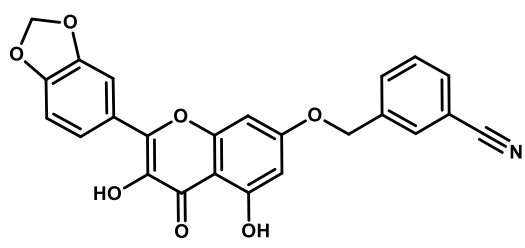
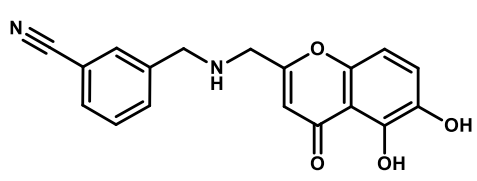


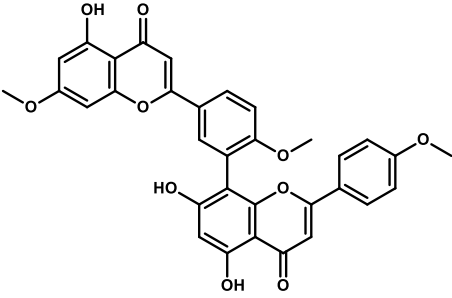
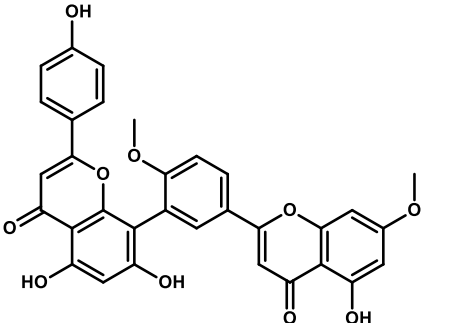
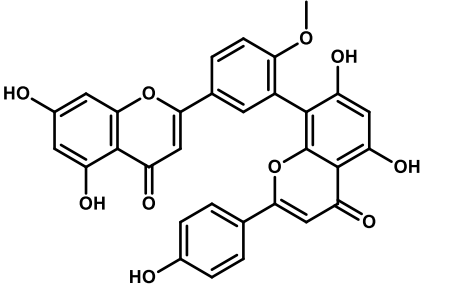
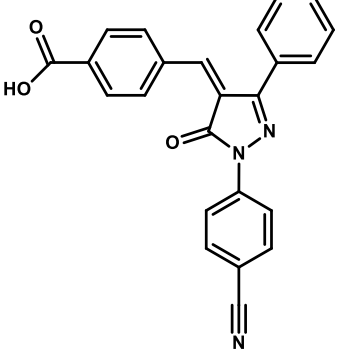
Figura 5: Sobreposição dos ligantes cristalográficos da M^{pro} do SARS-CoV (A) e M^{pro} do SARS-CoV-2 (B) a partir dos cálculos de *re-docking*.

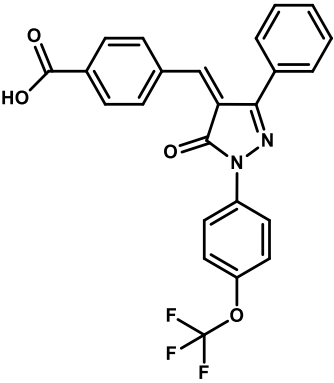
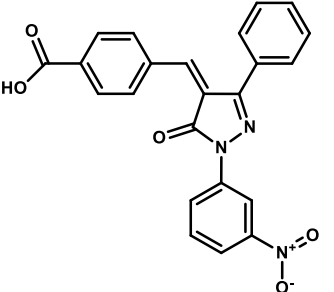
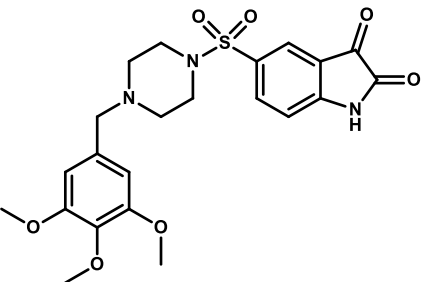
De fato, os cálculos de ancoramento são ferramentas adequadas para ajustar os ligantes dentro do sítio ativo de seus receptores. De acordo com o ancoramento, a M^{pro} do SARS-CoV apresentou uma cavidade de 166,9 Å³, enquanto a M^{pro} do SARS-CoV-2 apresentou uma cavidade de 128 Å³. Os resultados dos valores de energia de interação intermolecular são mostrados nas **Tabelas S1-S4** para os dois alvos, onde a partir deles é possível visualizar que houve compostos com energia de interação mais estável para a M^{pro} do SARS-CoV do que SARS-CoV-2, como também há compostos com energia intermolecular semelhante entre eles.

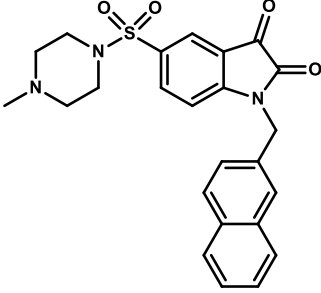
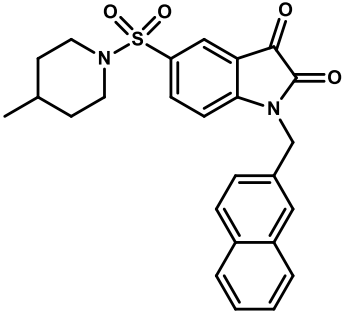
Esses valores obtidos de energia intermolecular nos estudos de mostram a energia de interação de 60 compostos obtidos da literatura direcionados a M^{pro} do SARS-CoV e SARS-CoV-2. Esses compostos foram divididos em quatro grupos (1-4) nos quais retratam os quatro trabalhos que estudaram potenciais inibidores da M^{pro} do SARS-CoV (LEE; LEE; LEE; KIM; *et al.*, 2009; LIU *et al.*, 2014; RAMAJAYAM *et al.*, 2010; RYU *et al.*, 2010). Sabendo disso, decidimos elucidar na **Tabela 1** e na **Tabela 2** os três principais compostos de cada grupo que apresentaram melhor afinidade com as enzimas e suas respectivas estruturas químicas. A partir da **Figura S1** também é possível visualizar a estrutura química de todos os 60 compostos investigados.

Tabela 1: Resultados de ancoramento molecular dos três ligantes de cada grupo no sítio ativo da M^{pro} do SARS-CoV com melhores resultados.

Ligantes	Energia de interação (kcal mol ⁻¹)	Resíduos de aminoácidos	Comprimento de ligação de hidrogênio (Å)	Energia de ligação de hidrogênio (kcal mol ⁻¹)
Grupo 1				
1d 	-288,47	His41	3,47 (H—N)	-0,64
		His164	3,01 (H—O)	-2,50
		Arg188	3,02 (H—N)	-1,41
			2,60 (H—O)	-2,49
		Val186	2,85 (H—O)	-2,50
		Gln192	3,39 (H—O)	-0,86
		Thr190	2,6 (H—O)	-2,50
			3,10 (H—O)	-2,50
		Gln192	3,04 (H—N)	-1,89
	2,99 (H—O)	-2,50		
1f 	-283,01	Arg188	2,99 (H—O)	-0,29
		Gln192	3,58 (H—O)	-0,07
		His164	2,94 (H—O)	-2,50
		His41	3,32 (H—N)	-1,40
		His163	2,95 (H—N)	-1,06
		Cys145	2,66 (H—N)	-2,50
		Asn142	3,53 (H—O)	-0,08
1i 	-237,89	Thr190	3,10 (H—O)	-2,50
		Gln192	2,51 (H—N)	-0,71
			2,93 (H—O)	-1,70
		Val186	2,86 (H—O)	-2,50
		Arg188	3,14 (H—O)	-2,30
			3,10 (H—N)	-1,62
Grupo 2				
2l	-235,09	Leu141	3,17 (H—O)	-2,13
		Ser144	3,26 (H—O)	-1,71

	<table border="0"> <tr> <td></td> <td>2,93 (H—O)</td> <td>-1,52</td> </tr> <tr> <td>Cys145</td> <td>3,01 (H—O)</td> <td>-2,50</td> </tr> <tr> <td>Glu166</td> <td>3,55 (H—O)</td> <td>-0,01</td> </tr> <tr> <td></td> <td>2,71 (H—N)</td> <td>-1,47</td> </tr> <tr> <td>Gln192</td> <td>2,69 (H—O)</td> <td>-2,50</td> </tr> <tr> <td></td> <td>2,76 (H—N)</td> <td>-1,39</td> </tr> <tr> <td></td> <td>2,93 (H—O)</td> <td>-0,13</td> </tr> <tr> <td>Thr190</td> <td>3,10 (H—O)</td> <td>-2,50</td> </tr> </table>		2,93 (H—O)	-1,52	Cys145	3,01 (H—O)	-2,50	Glu166	3,55 (H—O)	-0,01		2,71 (H—N)	-1,47	Gln192	2,69 (H—O)	-2,50		2,76 (H—N)	-1,39		2,93 (H—O)	-0,13	Thr190	3,10 (H—O)	-2,50
	2,93 (H—O)	-1,52																							
Cys145	3,01 (H—O)	-2,50																							
Glu166	3,55 (H—O)	-0,01																							
	2,71 (H—N)	-1,47																							
Gln192	2,69 (H—O)	-2,50																							
	2,76 (H—N)	-1,39																							
	2,93 (H—O)	-0,13																							
Thr190	3,10 (H—O)	-2,50																							
<p>2m</p> 	<table border="0"> <tr> <td></td> <td>3,28 (H—O)</td> <td>-1,59</td> </tr> <tr> <td></td> <td>3,44 (H—N)</td> <td>-0,49</td> </tr> <tr> <td>Thr190</td> <td>3,23 (H—O)</td> <td>-1,85</td> </tr> <tr> <td>His41</td> <td>3,36 (H—N)</td> <td>-1,21</td> </tr> <tr> <td>Leu141</td> <td>2,85 (H—O)</td> <td>-2,50</td> </tr> <tr> <td>Ser144</td> <td>2,34 (H—O)</td> <td>-0,30</td> </tr> <tr> <td>Gly143</td> <td>3,10 (H—N)</td> <td>-2,50</td> </tr> </table> <p style="text-align: center;">-223,42</p>		3,28 (H—O)	-1,59		3,44 (H—N)	-0,49	Thr190	3,23 (H—O)	-1,85	His41	3,36 (H—N)	-1,21	Leu141	2,85 (H—O)	-2,50	Ser144	2,34 (H—O)	-0,30	Gly143	3,10 (H—N)	-2,50			
	3,28 (H—O)	-1,59																							
	3,44 (H—N)	-0,49																							
Thr190	3,23 (H—O)	-1,85																							
His41	3,36 (H—N)	-1,21																							
Leu141	2,85 (H—O)	-2,50																							
Ser144	2,34 (H—O)	-0,30																							
Gly143	3,10 (H—N)	-2,50																							
<p>2n</p> 	<table border="0"> <tr> <td>Cys145</td> <td>2,78 (H—N)</td> <td>-2,50</td> </tr> <tr> <td>Ser144</td> <td>2,55 (H—O)</td> <td>-2,10</td> </tr> <tr> <td>Leu141</td> <td>2,95 (H—O)</td> <td>-2,50</td> </tr> <tr> <td>Tyr54</td> <td>2,81 (H—O)</td> <td>-2,50</td> </tr> <tr> <td>Asp187</td> <td>3,10 (H—O)</td> <td>-2,50</td> </tr> <tr> <td>Gln192</td> <td>3,41 (H—O)</td> <td>-0,96</td> </tr> </table> <p style="text-align: center;">-222,39</p>	Cys145	2,78 (H—N)	-2,50	Ser144	2,55 (H—O)	-2,10	Leu141	2,95 (H—O)	-2,50	Tyr54	2,81 (H—O)	-2,50	Asp187	3,10 (H—O)	-2,50	Gln192	3,41 (H—O)	-0,96						
Cys145	2,78 (H—N)	-2,50																							
Ser144	2,55 (H—O)	-2,10																							
Leu141	2,95 (H—O)	-2,50																							
Tyr54	2,81 (H—O)	-2,50																							
Asp187	3,10 (H—O)	-2,50																							
Gln192	3,41 (H—O)	-0,96																							
Grupo 3																									
<p>3b</p> 	<table border="0"> <tr> <td>Cys44</td> <td>2,53 (H—N)</td> <td>-1,89</td> </tr> <tr> <td>Asn142</td> <td>2,66 (H—N)</td> <td>-0,22</td> </tr> </table> <p style="text-align: center;">-252,31</p>	Cys44	2,53 (H—N)	-1,89	Asn142	2,66 (H—N)	-0,22																		
Cys44	2,53 (H—N)	-1,89																							
Asn142	2,66 (H—N)	-0,22																							

<p>3c</p> 	<p>-196,86</p> <table border="0"> <tr><td>Cys44</td><td>2,98 (H—O)</td><td>-2,50</td></tr> <tr><td>Met49</td><td>3,14 (H—O)</td><td>-0,57</td></tr> <tr><td>Asp187</td><td>2,72 (H—O)</td><td>-0,36</td></tr> <tr><td>Glu166</td><td>3,47 (H—N)</td><td>-0,66</td></tr> <tr><td></td><td>3,07 (H—N)</td><td>-2,50</td></tr> </table>	Cys44	2,98 (H—O)	-2,50	Met49	3,14 (H—O)	-0,57	Asp187	2,72 (H—O)	-0,36	Glu166	3,47 (H—N)	-0,66		3,07 (H—N)	-2,50															
Cys44	2,98 (H—O)	-2,50																													
Met49	3,14 (H—O)	-0,57																													
Asp187	2,72 (H—O)	-0,36																													
Glu166	3,47 (H—N)	-0,66																													
	3,07 (H—N)	-2,50																													
<p>3g</p> 	<p>-195,46</p> <table border="0"> <tr><td>Gln192</td><td>3,31 (H—O)</td><td>-1,45</td></tr> </table>	Gln192	3,31 (H—O)	-1,45																											
Gln192	3,31 (H—O)	-1,45																													
Grupo 4																															
<p>4q</p> 	<p>-203,40</p> <table border="0"> <tr><td>Ser0</td><td>2,88 (H—O)</td><td>-1,36</td></tr> <tr><td>Asn142</td><td>3,06 (H—O)</td><td>-0,06</td></tr> <tr><td>Gly143</td><td>3,10 (H—O)</td><td>-0,60</td></tr> <tr><td>Ser144</td><td>2,85 (H—O)</td><td>-1,94</td></tr> <tr><td></td><td>2,63 (H—O)</td><td>-1,38</td></tr> <tr><td>His163</td><td>3,06 (H—O)</td><td>-0,18</td></tr> <tr><td>Cys145</td><td>2,91 (H—N)</td><td>-2,50</td></tr> <tr><td></td><td>2,44 (H—O)</td><td>-1,16</td></tr> <tr><td></td><td>3,33 (H—N)</td><td>-1,37</td></tr> <tr><td>Tyr54</td><td>3,37 (H—O)</td><td>-1,13</td></tr> </table>	Ser0	2,88 (H—O)	-1,36	Asn142	3,06 (H—O)	-0,06	Gly143	3,10 (H—O)	-0,60	Ser144	2,85 (H—O)	-1,94		2,63 (H—O)	-1,38	His163	3,06 (H—O)	-0,18	Cys145	2,91 (H—N)	-2,50		2,44 (H—O)	-1,16		3,33 (H—N)	-1,37	Tyr54	3,37 (H—O)	-1,13
Ser0	2,88 (H—O)	-1,36																													
Asn142	3,06 (H—O)	-0,06																													
Gly143	3,10 (H—O)	-0,60																													
Ser144	2,85 (H—O)	-1,94																													
	2,63 (H—O)	-1,38																													
His163	3,06 (H—O)	-0,18																													
Cys145	2,91 (H—N)	-2,50																													
	2,44 (H—O)	-1,16																													
	3,33 (H—N)	-1,37																													
Tyr54	3,37 (H—O)	-1,13																													
<p>4z</p>	<p>-188,24</p> <table border="0"> <tr><td>Cys145</td><td>2,59 (H—O)</td><td>-2,44</td></tr> <tr><td></td><td>3,08 (H—O)</td><td>-1,18</td></tr> <tr><td>Ser144</td><td>3,03 (H—O)</td><td>-2,50</td></tr> <tr><td></td><td>2,74 (H—O)</td><td>-2,50</td></tr> </table>	Cys145	2,59 (H—O)	-2,44		3,08 (H—O)	-1,18	Ser144	3,03 (H—O)	-2,50		2,74 (H—O)	-2,50																		
Cys145	2,59 (H—O)	-2,44																													
	3,08 (H—O)	-1,18																													
Ser144	3,03 (H—O)	-2,50																													
	2,74 (H—O)	-2,50																													

			
<p>4j</p> 	<p>Ser144</p> <p>Cys145</p> <p>-185,15</p>	<p>2,38 (H—O)</p> <p>3,07 (H—O)</p> <p>3,14 (H—O)</p> <p>2,39 (H—O)</p>	<p>-0,68</p> <p>-2,29</p> <p>-0,85</p> <p>-0,73</p>

Conforme mostrado na **Tabela 1**, o grupo 1 refere-se ao trabalho de Lee et al (2009) (LEE; LEE; LEE; KIM; *et al.*, 2009). Os autores investigaram o espaço farmacofórico da NTPase/helicase do SARS-CoV por derivados de diidroxicromonas. A partir de trabalhos anteriores (LEE; LEE; LEE; JIN; *et al.*, 2009), os autores identificaram aril dicetoácidos (ADKs, em inglês) como possíveis agentes anti-SARS contra a atividade de desdobramento de DNA duplex da NTPase/helicase do SARS-CoV. A fim de promover um modelo farmacofórico completo por meio de variação estrutural na ADK, eles projetaram vários derivados de diidroxicromonas nos quais metade da estrutura da ADK com propriedades semelhantes ao fármaco é substituída por uma estrutura de diidroxicromonas. Da forma como esses compostos foram satisfatórios contra a NTPase/helicase, decidimos analisá-los visando a M^{pro} do SARS-CoV-2 como potenciais inibidores desse alvo molecular.

Baseado no critério da validação de *re-docking*, foi selecionado os três compostos com menor valor de energia (maior afinidade) para os quatro grupos. Sendo assim, os compostos **1d**, **1f** e **1i** apresentaram energia de interação de $-288,47 \text{ kcal mol}^{-1}$, $-283,01 \text{ kcal mol}^{-1}$ e $-237,89 \text{ kcal mol}^{-1}$, respectivamente. A respeito das interações com os resíduos, o composto **1d** realizou ligação de hidrogênio com a His41 (**Figura 3**), enquanto o composto **1f** apresentou ligações de hidrogênio com a His41 e Cys145. Este resultado

é bastante relevante uma vez que o composto **1f** apresenta ligações de hidrogênio com os resíduos da díade catalítica.

O grupo 2 retrata o trabalho de Ryu et al. (RYU *et al.*, 2010), que mostra biflavonóides de *Torreya nucifera* inibindo a M^{pro} do SARS-CoV, os quais foram utilizados para os cálculos de ancoramento molecular em nossos estudos. Os compostos **2l**, **2m** e **2n** representam três biflavonóides de *T. nucifera* que apresentaram energia de interação intermolecular de $-235,09 \text{ kcal mol}^{-1}$, $-223,42 \text{ kcal mol}^{-1}$ e $-222,39 \text{ kcal mol}^{-1}$, respectivamente. De todos os biflavonóides (**2k-2n**), os melhores resultados foram extraídos daqueles com grupo metóxi, enquanto o biflavonóide **2d** não possui este grupo (RYU *et al.*, 2010). Os outros ligantes (diterpenóides) não apresentaram energia de interação tão favorável quanto os compostos biflavonóides. Os resultados de interações intermoleculares com os resíduos de aminoácidos mostram interações com pelo menos um resíduo da díade catalítica, His41 ou Cys145 (**Figura 3**).

O grupo 3 retrata o trabalho de Ramajayam et al. (RAMAJAYAM *et al.*, 2010). Os autores mostram a avaliação de compostos de pirazolona como inibidores da M^{pro} do SARS-CoV. Em nossos estudos, os compostos **3b**, **3c** e **3g** exibiram os valores de energias de interação de $-252,31 \text{ kcal mol}^{-1}$, $-196,86 \text{ kcal mol}^{-1}$ e $-195,46 \text{ kcal mol}^{-1}$, respectivamente. Os compostos com grupos de substituição como halogênios, ciano e grupo nitro ligados ao anel benzílico da pirazolona podem apresentar um aumento na ação inibitória (RAMAJAYAM *et al.*, 2010). No entanto, não foram observadas interações com quaisquer resíduos da díade catalítica (**Figura 3**).

O grupo 4 refere-se ao trabalho de Liu et al (2014), que exibem a potencialidade de inibição de derivados de 5-sulfonil isatina na M^{pro} do SARS-CoV (LIU *et al.*, 2014). Para nossos cálculos, os compostos **4q**, **4z** e **4j** apresentaram valores de energia de interação intermolecular de $-203,40 \text{ kcal mol}^{-1}$, $-188,24 \text{ kcal mol}^{-1}$ e $-185,15 \text{ kcal mol}^{-1}$, respectivamente. A partir da molécula principal, os derivados com grupo carbonila, halogênios e átomo de nitrogênio na posição 1 da isatina são importantes na formação de ligações de hidrogênio (**Figura 3**) (LIU *et al.*, 2014).

É possível observar na **Figura 3** as ligações de hidrogênio realizadas pelo melhor ligante de cada grupo (1, 2, 3 e 4) com os resíduos da M^{pro} do SARS-CoV. Entre os compostos, pode-se observar interações semelhantes com os resíduos Thr190, Gln192, Ser144 e Cys145.

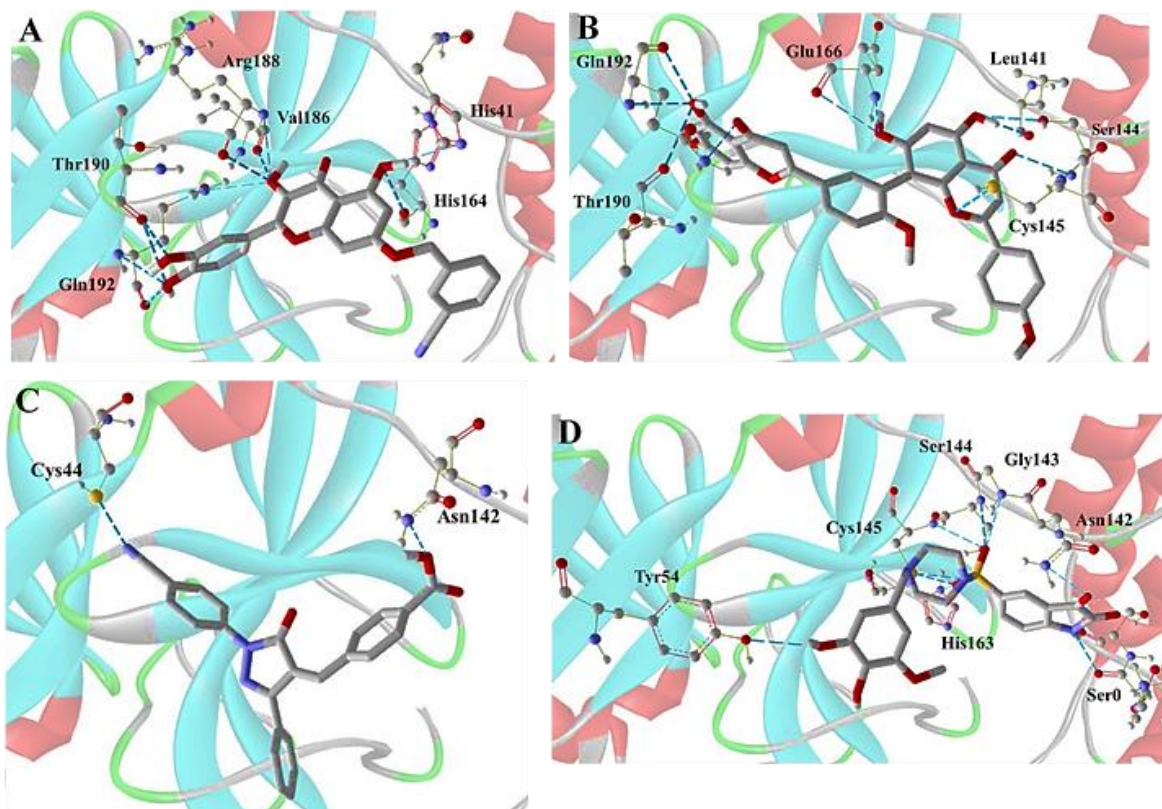
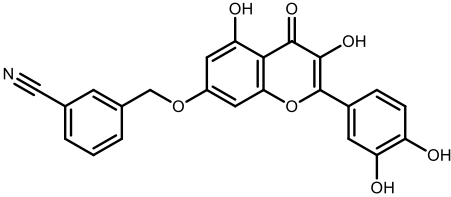
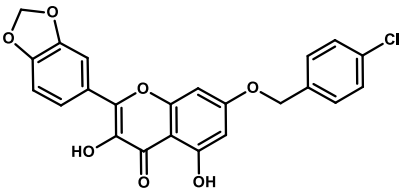
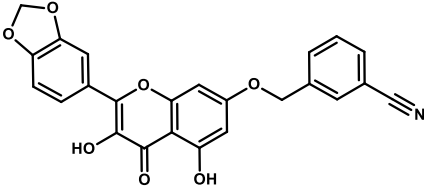
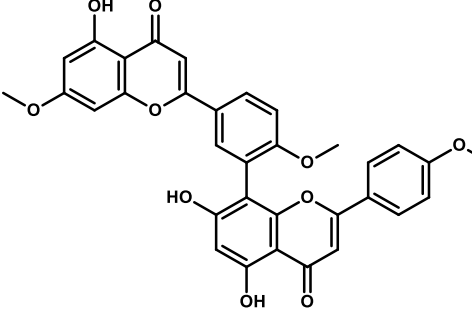
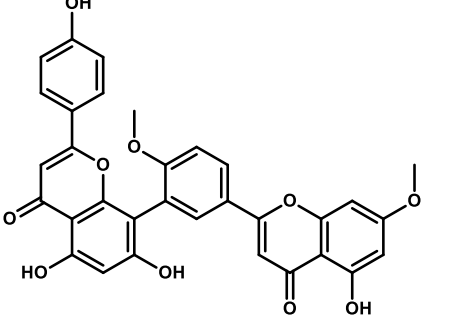
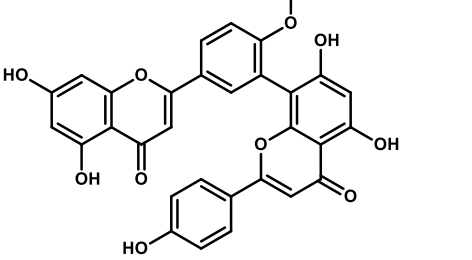


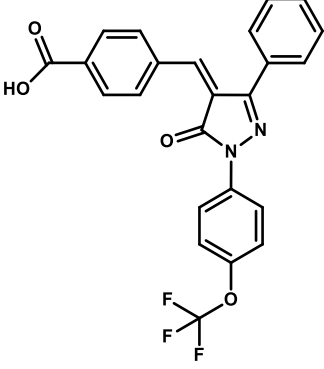
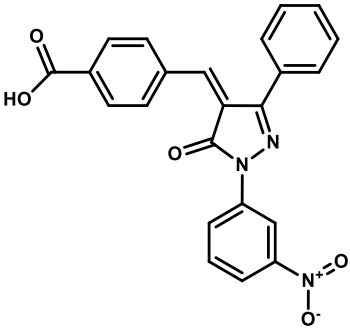
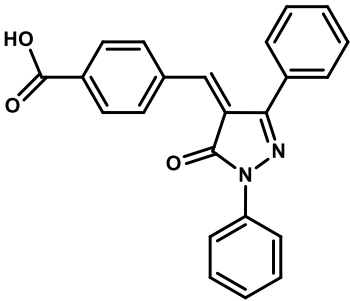
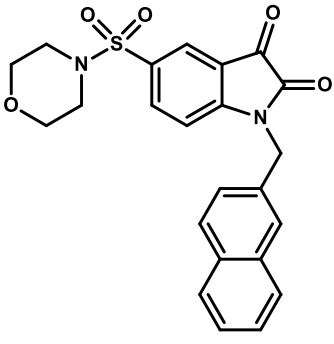
Figura 6: Interações intermoleculares realizadas pelo melhor inibidor de cada grupo no sítio ativo da M^{pro} do SARS-CoV, em que (A) 1d, (B) 2l, (C) 3b e (D) 4q.

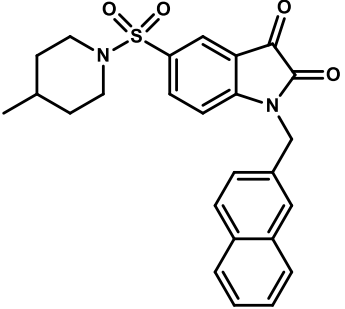
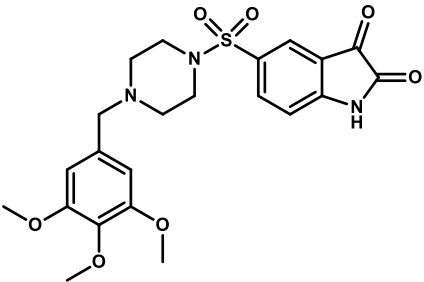
A **Tabela 2** a seguir apresenta em seu conteúdo os resultados obtidos dos compostos inibidores da M^{pro} do SARS-CoV aplicados à M^{pro} do SARS-CoV-2. As energias de interação avaliadas e comparadas evidenciam a potencialidade dos inibidores contra o novo coronavírus, sugerindo então que estes sejam inibidores com atividade dual.

Tabela 2: Resultados do cálculo de ancoramento molecular dos três melhores ligantes de cada grupo no sítio ativo da M^{pro} do SARS-CoV-2.

Ligantes	Energia de interação (kcal mol ⁻¹)	Resíduos de aminoácido	Comprimento de ligação de hidrogênio (Å)	Energia de ligação de hidrogênio (kcal mol ⁻¹)
Grupo 1				
1d 	-207,31	His41	3,35 (H—N)	-1,25
		His164	3,17 (H—O)	-2,14
		Arg188	3,34 (H—O)	-0,73
			2,59 (H—O)	-2,45
		Val186	3,12 (H—O)	-2,39
		Thr190	2,60 (H—O)	-2,49
		Gln192	3,25 (H—N)	-1,73
			3,22 (H—O)	-0,70
		3,40 (H—O)	-0,99	
1e 	-191,51	Val186	2,89 (H—O)	-2,50
		Gln192	3,16 (H—O)	-0,99
		Arg188	3,16 (H—N)	-1,30
			2,57 (H—O)	-2,24
		His41	3,30 (H—N)	-1,51
		His164	3,07 (H—O)	-2,50
1f 	-207,00	Gln192	3,38 (H—O)	-1,10
			3,14 (H—N)	-1,86
			2,68 (H—O)	-1,15
		Thr190	2,92 (H—O)	-2,50
		Gln192	2,68 (H—O)	-1,15
		Arg188	2,46 (H—O)	-1,30
			3,08 (H—O)	-1,97
		Val186	2,50 (H—O)	-1,62
Tyr54	3,15 (H—O)	-2,25		
Grupo 2				
2l	-228,89	His163	3,14 (H—N)	-2,30

	<table border="1"> <tbody> <tr> <td>Ser144</td> <td>2,91 (H—O)</td> <td>-2,50</td> </tr> <tr> <td></td> <td>2,49 (H—O)</td> <td>-1,58</td> </tr> <tr> <td></td> <td>2,60 (H—O)</td> <td>-1,40</td> </tr> <tr> <td>Leu141</td> <td>2,79 (H—O)</td> <td>-2,50</td> </tr> <tr> <td>Cys145</td> <td>3,01 (H—O)</td> <td>-0,75</td> </tr> <tr> <td>Thr26</td> <td>2,91 (H—O)</td> <td>-1,96</td> </tr> <tr> <td>Glu166</td> <td>2,44 (H—N)</td> <td>-0,69</td> </tr> <tr> <td>Gln192</td> <td>3,00 (H—O)</td> <td>-2,50</td> </tr> <tr> <td></td> <td>2,60 (H—O)</td> <td>-2,33</td> </tr> <tr> <td></td> <td>3,27 (H—O)</td> <td>-0,17</td> </tr> <tr> <td>Thr190</td> <td>2,78 (H—O)</td> <td>-2,50</td> </tr> </tbody> </table>	Ser144	2,91 (H—O)	-2,50		2,49 (H—O)	-1,58		2,60 (H—O)	-1,40	Leu141	2,79 (H—O)	-2,50	Cys145	3,01 (H—O)	-0,75	Thr26	2,91 (H—O)	-1,96	Glu166	2,44 (H—N)	-0,69	Gln192	3,00 (H—O)	-2,50		2,60 (H—O)	-2,33		3,27 (H—O)	-0,17	Thr190	2,78 (H—O)	-2,50
Ser144	2,91 (H—O)	-2,50																																
	2,49 (H—O)	-1,58																																
	2,60 (H—O)	-1,40																																
Leu141	2,79 (H—O)	-2,50																																
Cys145	3,01 (H—O)	-0,75																																
Thr26	2,91 (H—O)	-1,96																																
Glu166	2,44 (H—N)	-0,69																																
Gln192	3,00 (H—O)	-2,50																																
	2,60 (H—O)	-2,33																																
	3,27 (H—O)	-0,17																																
Thr190	2,78 (H—O)	-2,50																																
<p>2m</p> 	<table border="1"> <tbody> <tr> <td>Thr190</td> <td>2,69 (H—O)</td> <td>-2,50</td> </tr> <tr> <td>Gln192</td> <td>3,10 (H—N)</td> <td>-2,23</td> </tr> <tr> <td></td> <td>3,55 (H—O)</td> <td>-0,28</td> </tr> <tr> <td>His41</td> <td>3,30 (H—N)</td> <td>-1,50</td> </tr> <tr> <td>Gly143</td> <td>3,08 (H—O)</td> <td>-2,50</td> </tr> <tr> <td>Leu141</td> <td>2,71 (H—O)</td> <td>-2,50</td> </tr> <tr> <td>Ser144</td> <td>2,34 (H—O)</td> <td>-0,31</td> </tr> <tr> <td>His163</td> <td>3,06 (H—N)</td> <td>-2,50</td> </tr> </tbody> </table> <p style="text-align: center;">-225,10</p>	Thr190	2,69 (H—O)	-2,50	Gln192	3,10 (H—N)	-2,23		3,55 (H—O)	-0,28	His41	3,30 (H—N)	-1,50	Gly143	3,08 (H—O)	-2,50	Leu141	2,71 (H—O)	-2,50	Ser144	2,34 (H—O)	-0,31	His163	3,06 (H—N)	-2,50									
Thr190	2,69 (H—O)	-2,50																																
Gln192	3,10 (H—N)	-2,23																																
	3,55 (H—O)	-0,28																																
His41	3,30 (H—N)	-1,50																																
Gly143	3,08 (H—O)	-2,50																																
Leu141	2,71 (H—O)	-2,50																																
Ser144	2,34 (H—O)	-0,31																																
His163	3,06 (H—N)	-2,50																																
<p>2n</p> 	<table border="1"> <tbody> <tr> <td></td> <td>-234,62</td> <td>Tyr54</td> <td>2,68 (H—O)</td> <td>-2,50</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>Asp187</td> <td>2,95 (H—O)</td> <td>-2,50</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>His41</td> <td>2,60 (H—O)</td> <td>-2,50</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>Thr26</td> <td>2,79 (H—O)</td> <td>-2,50</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td>3,33 (H—N)</td> <td>-0,69</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>Glu166</td> <td>3,10 (H—O)</td> <td>-2,48</td> </tr> </tbody> </table>		-234,62	Tyr54	2,68 (H—O)	-2,50			Asp187	2,95 (H—O)	-2,50			His41	2,60 (H—O)	-2,50			Thr26	2,79 (H—O)	-2,50				3,33 (H—N)	-0,69			Glu166	3,10 (H—O)	-2,48			
	-234,62	Tyr54	2,68 (H—O)	-2,50																														
		Asp187	2,95 (H—O)	-2,50																														
		His41	2,60 (H—O)	-2,50																														
		Thr26	2,79 (H—O)	-2,50																														
			3,33 (H—N)	-0,69																														
		Glu166	3,10 (H—O)	-2,48																														
Grupo 3																																		
<p>3c</p>	<p style="text-align: center;">-187,06</p> <p style="text-align: center;">- - -</p>																																	

				
<p>3g</p> 	-188,26	Ser144	3,06 (H—O)	-2,50
<p>3h</p> 	-187,67	Ser144	3,33 (H—O)	-1,34
Grupo 4				
<p>4g</p> 	-184,07			
<p>4j</p>	-182,97	Tyr54	3,40 (H—O)	-0,98

			
4q 	-176,78	Cys145 Gly143 Glu166 Tyr54	3,10 (H—O) -2,39 3,34 (H—O) -0,53 2,80 (H—O) -2,50 3,14 (H—O) -2,28

Para o segundo alvo, baseado no critério da validação de *re-docking*, também foi selecionado os três compostos com menor valor de energia (maior afinidade) para os quatro grupos. Sendo assim, do grupo 1 para a M^{pro} do SARS-CoV-2, obteve-se os compostos **1d**, **1f** e **1e** como os melhores compostos com energia de interação de $-207,31$ kcal mol⁻¹, $-207,00$ kcal mol⁻¹ e $-191,51$ kcal mol⁻¹, respectivamente. É interessante notar que dois desses compostos (**1d** e **1f**) também foram ranqueados com melhor energia de interação intermolecular para a M^{pro} do SARS-CoV, apesar do valor de energia ter sido superior para o primeiro alvo.

De acordo com o ancoramento do grupo 2, os resultados nos forneceram os melhores ligantes, que foram **2l**, **2m** e **2n**, com energia de interação de $-228,89$ kcal mol⁻¹, $-225,10$ kcal mol⁻¹ e $-234,62$ kcal mol⁻¹, respectivamente. Se compararmos esses resultados do grupo 2 da **Tabela 1**, é importante notar que estes compostos biflavonóides com grupo metóxi tiveram os melhores resultados com valores de energia de interação intermolecular próximos, mas em diferentes níveis. Além disso, esses três compostos também tiveram interação com pelo menos um resíduo da díade catalítica (**Figura 4**).

Do grupo 3, os compostos **3c**, **3g** e **3h** apresentaram energia de interação de $-187,06$ kcal mol⁻¹, $-188,26$ kcal mol⁻¹ e $-187,67$ kcal mol⁻¹, respectivamente. Ao comparar este grupo da **Tabela 1**, houve dois compostos semelhantes que apresentaram alta afinidade com a enzima, sendo os compostos **3c** e **3g**. Ser144 foi o único resíduo que

interagiu com esses ligantes (**Figura 4**), sabendo-se que o composto **3c** não apresentou interações moleculares.

Do grupo 4, os compostos **4g**, **4j** e **4q** apresentaram as melhores energias de interação com a M^{pro} do SARS-CoV-2. Esses valores foram $-184,07 \text{ kcal mol}^{-1}$, $-182,97 \text{ kcal mol}^{-1}$ e $-176,78 \text{ kcal mol}^{-1}$, respectivamente. Comparando esses resultados com a **Tabela 1**, os compostos **4j** e **4q** também foram ranqueados como os melhores do quarto grupo para o primeiro alvo, porém, nota-se que as energias obtidas para o primeiro alvo se mostram superior que para o segundo alvo. Também é evidente que o primeiro composto não apresentou ligação de hidrogênio com nenhum resíduo, mas é capaz de conter interações hidrofóbicas e eletrostáticas que mantêm sua estabilidade. Apesar disso, foi ligeiramente melhor. O composto **4j** apresentou ligação de hidrogênio com a Tyr54, enquanto o composto **4q** apresentou interações com Cys145, Gly143, Glu166 e Ty54 (**Figura 4**).

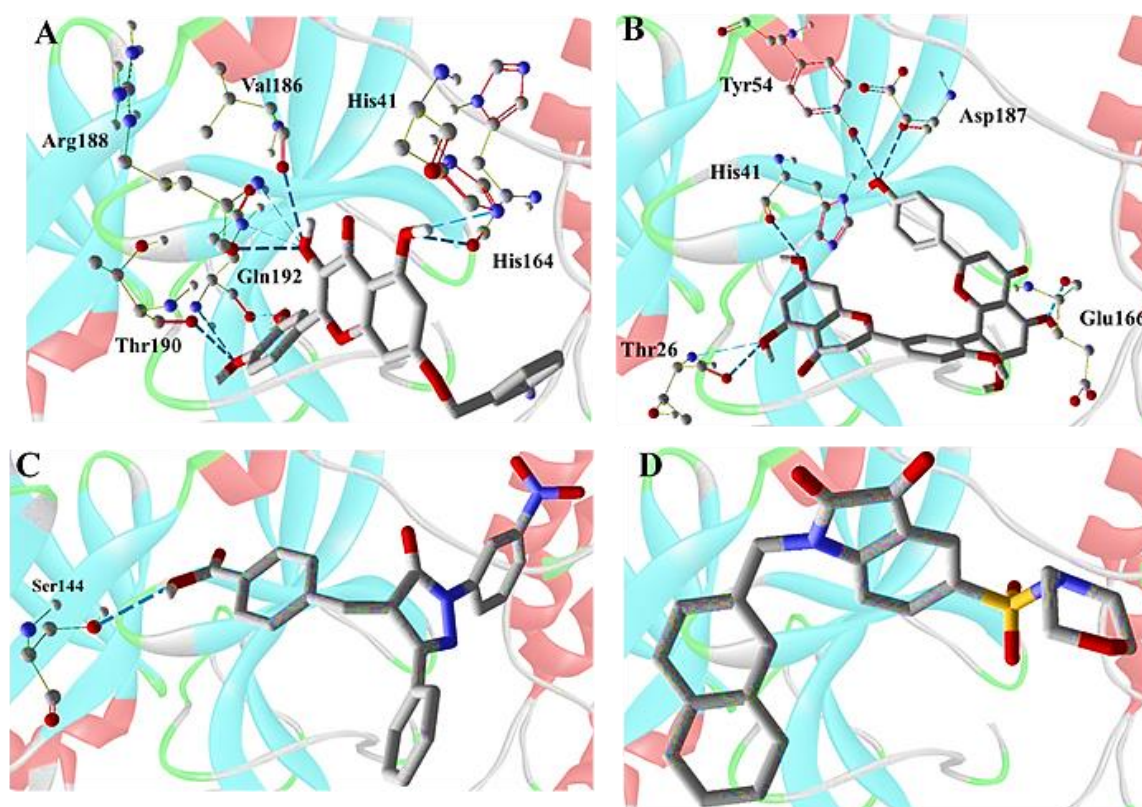


Figura 7: Interações intermoleculares realizadas pelos melhores inibidores de cada grupo no sítio ativo da M^{pro} do SARS-CoV-2, em que (A) 1d, (B) 2n, (C) 3g, (D) 4q.

A partir da **Figura 4**, é possível observar as interações intermoleculares realizadas pelos ligantes escolhidos de cada grupo (1, 2, 3 e 4) com os resíduos de aminoácido da

M^{pro} do SARS-CoV-2. Entre os compostos, é possível notar que eles possuem interação semelhante apenas com o resíduo His41. O composto **3g** apresentou apenas uma interação intermolecular, com a Ser144. Por outro lado, nenhuma interação é observada para o composto **4q**, mas como discutido, os ligantes com poucas interações do tipo ligação de hidrogênio também podem conter interações hidrofóbicas e eletrostáticas, que também são importantes para a estabilização do composto no sítio. Por fim, para compreender mais sobre as diferenças dos valores de energia de interação intermolecular advindas dos cálculos de docking, um segundo alinhamento sequencial do sítio ativo da M^{pro} do SARS-CoV e do SARS-CoV-2, foi realizada. Pelo site Uniprot, o alinhamento sequencial das duas cavidades trouxe um resultado de 75,76% de similaridade, evidenciando as diferenças dos resultados. Esse fato pode ser dado pela presença de resíduos de aminoácidos e nucleotídeos distintos quando se compara uma cavidade com a outra, promovendo as devidas interações para cada alvo.

Agora, é importante destacar que o grupo 2, os biflavonóides de *Torreya nucifera*, apresentou melhor afinidade para ambas M^{pro} de SARS-CoV e SARS-CoV-2. Neste caso, os ligantes **2n**, **2l** e **2m** apresentaram energias de interação de $-235,09 \text{ kcal mol}^{-1}$, $-223,42 \text{ kcal mol}^{-1}$ e $-222,39 \text{ kcal mol}^{-1}$, respectivamente, para SARS-CoV e os mesmos ligantes apresentaram energias de interação de $-228,89 \text{ kcal mol}^{-1}$, $-225,10 \text{ kcal mol}^{-1}$ e $-234,62 \text{ kcal mol}^{-1}$, respectivamente, para SARS-CoV-2. O composto **2k**, um quarto biflavonóide, também apresentou uma boa afinidade com ambas as enzimas, mas este carece do grupo metóxi, o que pode implicar que o grupo metóxi (R-OCH₃), para os biflavonóides, evidenciou ser um fator determinante para a afinidade.

Sendo assim, considerando os biflavonóides como os compostos que apresentaram potencial nesse trabalho, torna-se relevante uma análise em relação às suas propriedades farmacológicas. O *site* SwisADME fornece o acesso a uma série de parâmetros e modelos preditivos para calcular propriedades físico-químicas, estimar a farmacocinética como também a toxicidade de moléculas. Sendo assim, os três compostos foram submetidos ao site para analisar tais parâmetros, e os resultados são descritos a seguir: apresentam baixa absorção gastrointestinal; violam a regra de Lipinski somente segundo seus pesos moleculares, que ultrapassam o valor de 500 daltons; não apresentam violações segundo PAINS (do inglês Pan-assay interference compounds) e não apresentam alertas também segundo o parâmetro Brenk da química medicinal. Sendo assim, como compostos antivirais, as três moléculas (**2n**, **2l** e **2m**) podem ser possíveis

candidatas para o tratamento do SARS-CoV-2, sendo necessário estudos *in vitro* e *in vivo* para validar os mecanismos de inibição para o teste em humanos.

6. Considerações finais

Em suma, o reposicionamento de fármacos é uma estratégia útil para identificar novos usos para fármacos aprovados ou em investigação, na qual apoia, em questão de tempo e custos, as pesquisas contínuas de novos compostos potenciais contra o SARS-CoV-2. Nesse ponto, a investigação de trabalhos anteriores e contemporâneos colabora ainda mais no processo de descoberta de medicamentos. O ancoramento molecular, juntamente com outras estratégias, são ferramentas fundamentais para o desenho de fármacos auxiliado por computador, desempenhando papéis importantes em todo processo de investigação.

O objetivo deste trabalho foi estudar a inibição da M^{pro} do SARS-CoV-2 de acordo com a semelhança com o genoma da M^{pro} do SARS-CoV. O alinhamento feito indicou que as sequências da Protease Principal de ambas as enzimas apresentaram 86,125% de identidade sequencial (**Figura S1**). Sustentados nessa premissa, investigamos trabalhos anteriores que lidavam com potenciais compostos que poderiam inibir a M^{pro} do SARS-CoV, para que pudéssemos estudar esses mesmos compostos na M^{pro} do SARS-CoV-2, e então avaliar se os resultados (afinidade) seriam satisfatórios.

A partir dos resultados de ambas as tabelas (**Tabela 1** e **Tabela 2**) e de todas as discussões, é possível notar que muito dos compostos ranqueados para cada grupo foi semelhante quando empregado à M^{pro} do SARS-CoV e SARS-CoV-2, porém, majoritariamente esses compostos se mostraram com energia de interação intermolecular superior para o primeiro alvo. Esses resultados sugerem que os fármacos eficazes contra o SARS-CoV também podem ser eficazes contra o SARS-CoV-2. Contudo, estudos adicionais são necessários para comprovar estes resultados.

6. Perspectivas

A partir dos resultados obtidos nesse trabalho, torna-se necessário a utilização de outras metodologias que contribuam para validar com mais detalhes os modos de ligação dos potenciais inibidores com o alvo. Para isso, o estudo de Dinâmica Molecular pode auxiliar nesse processo, uma vez que a metodologia permite a análise do comportamento

do sistema receptor-ligante ao longo do tempo, para além do estudo termodinâmico e cinético, podendo estes parâmetros serem estáveis ou não.

7. Referências bibliográficas

ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Evusheld (cilgavimabe + tixagevimabe). 2022a. Acesso em 30/11/2023.

ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Anvisa autoriza uso emergencial de novo medicamento contra COVID-19 – O medicamento não substitui a vacina. 2022b. Acesso em 30/11/2023.

AGBOWURO, A. A.; HUSTON, W. M.; GAMBLE, A. B.; TYNDALL, J. D. A. Proteases and protease inhibitors in infectious diseases. **Medicinal Research Reviews**, vol. 38, nº 4, p. 1295–1331, 1 jul. 2018. <https://doi.org/10.1002/med.21475>.

AHMAD, B.; BATOOL, M.; AIN, Q. U.; KIM, M. S.; CHOI, S. Exploring the binding mechanism of PF-07321332 SARS-CoV-2 protease inhibitor through molecular dynamics and binding free energy simulations. **International Journal of Molecular Sciences**, vol. 22, nº 17, 1 set. 2021. <https://doi.org/10.3390/ijms22179124>.

ANAND, K.; PALM, G. J.; MESTERS, J. R.; SIDDELL, S. G.; ZIEBUHR, J.; HILGENFELD, R. Structure of coronavirus main proteinase reveals combination of a chymotrypsin fold with an extra α -helical domain. **EMBO Journal**, vol. 21, nº 13, p. 3213–3224, 1 jul. 2002. <https://doi.org/10.1093/emboj/cdf327>.

ANAND, K.; ZIEBUHR, J.; WADHWANI, P.; MESTERS, J. R.; HILGENFELD, R. **Coronavirus Main Proteinase (3CL pro) Structure: Basis for Design of Anti-SARS Drugs**. [S. l.: s. n.], 1999. Disponível em: www.sciencemag.org/cgi/content/full/300/5626/1758/.

ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Evusheld (cilgavimabe + tixagevimabe). 2022a. Acesso em 30/11/2023.

ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Anvisa autoriza uso emergencial de novo medicamento contra COVID-19 – O medicamento não substitui a vacina. 2022b. Acesso em 30/11/2023.

ARABI, Y. M.; AL-OMARI, A.; MANDOURAH, Y.; AL-HAMEED, F.; SINDI, A. A.; ALRADDADI, B.; SHALHOUB, S.; ALMOTAIRI, A.; AL KHATIB, K.; ABDULMOMEN, A.; QUSHMAQ, I.; MADY, A.; SOLAIMAN, O.; AL-AITHAN, A.

- M.; AL-RADDADI, R.; RAGAB, A.; AL MEKHLAFI, G. A.; AL HARTHY, A.; KHARABA, A.; ... BALKHY, H. H. Critically Ill patients with the middle east respiratory syndrome: A multicenter retrospective cohort study. **Critical Care Medicine**, vol. 45, n° 10, p. 1683–1695, 1 out. 2017. <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000002621>.
- ARABI, Y. M.; MURTHY, S.; WEBB, S. COVID-19: a novel coronavirus and a novel challenge for critical care. **Intensive Care Medicine**, vol. 46, n° 5, p. 833–836, 1 maio 2020. <https://doi.org/10.1007/s00134-020-05955-1>.
- BALOGH, S.; BALOGH, M. A.; ZHENG, T.; PEI, X. The coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic. **Tohoku Journal of Experimental Medicine**, vol. 250, n° 4, p. 271–278, 2020. <https://doi.org/10.1620/tjem.250.271>.
- BATEMAN, A.; MARTIN, M. J.; ORCHARD, S.; MAGRANE, M.; AGIVETOVA, R.; AHMAD, S.; ALPI, E.; BOWLER-BARNETT, E. H.; BRITTO, R.; BURSTEINAS, B.; BYE-A-JEE, H.; COETZEE, R.; CUKURA, A.; DA SILVA, A.; DENNY, P.; DOGAN, T.; EBENEZER, T. G.; FAN, J.; CASTRO, L. G.; ... TEODORO, D. UniProt: the universal protein knowledgebase in 2021. **Nucleic Acids Research**, vol. 49, n° D1, p. D480–D489, 8 jan. 2021. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1100>.
- BRETZ, R. R.; DE CASTRO, A. A.; LARA FERREIRA, I. F.; RAMALHO, T. C.; SILVA, M. C. Experimental and theoretical affinity and catalysis studies between halogenated phenols and peroxidases: Understanding the bioremediation potential. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, vol. 202, 1 out. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110895>.
- CHAN, J. F. W.; YUAN, S.; KOK, K. H.; TO, K. K. W.; CHU, H.; YANG, J.; XING, F.; LIU, J.; YIP, C. C. Y.; POON, R. W. S.; TSOI, H. W.; LO, S. K. F.; CHAN, K. H.; POON, V. K. M.; CHAN, W. M.; IP, J. D.; CAI, J. P.; CHENG, V. C. C.; CHEN, H.; ... YUEN, K. Y. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. **The Lancet**, vol. 395, n° 10223, p. 514–523, 15 fev. 2020. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30154-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30154-9).
- CHEN, N.; ZHOU, M.; DONG, X.; QU, J.; GONG, F.; HAN, Y.; QIU, Y.; WANG, J.; LIU, Y.; WEI, Y.; XIA, J.; YU, T.; ZHANG, X.; ZHANG, L. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. **The Lancet**, vol. 395, n° 10223, p. 507–513, 15 fev. 2020. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30211-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30211-7).
- CHEN, X.; LIAO, B.; CHENG, L.; PENG, X.; XU, X.; LI, Y.; HU, T.; LI, J.; ZHOU, X.; REN, B. The microbial coinfection in COVID-19. **Applied Microbiology and Biotechnology**, vol. 104, n° 18, p. 7777–7785, 1 set. 2020. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10814-6>.
- CRAIK, C. S.; PAGE, M. J.; MADISON, E. L. Proteases as therapeutics. **Biochemical Journal**, vol. 435, n° 1, p. 1–16, 1 abr. 2011. <https://doi.org/10.1042/BJ20100965>.
- DA CUNHA, E. F. F.; BARBOSA, E. F.; OLIVEIRA, A. A.; RAMALHO, T. C. Molecular modeling of mycobacterium tuberculosis dna gyrase and its molecular

docking study with gatifloxacin inhibitors. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, vol. 27, n° 5, p. 619–625, 2010.

<https://doi.org/10.1080/07391102.2010.10508576>.

DE CASTRO, A. A.; ASSIS, L. C.; DA CUNHA, E. F. F.; RAMALHO, T. C.; LA PORTA, F. A. New In Silico Insights into the Application of (Hydroxy)Chloroquine with Macrolide Antibiotic Co-Crystals against the SARS-CoV-2 Virus. **COVID**, vol. 2, n° 3, p. 230–243, 28 fev. 2022. <https://doi.org/10.3390/covid2030018>.

DE CASTRO, A. A.; POLISEL, D. A.; PEREIRA, B. T. L.; DA CUNHA, E. F. F.; KUČA, K.; NEPOVIMOVA, E.; RAMALHO, T. C. Understanding the interaction modes and reactivity of trimedoxime toward mmache inhibited by nerve agents: Theoretical and experimental aspects. **International Journal of Molecular Sciences**, vol. 21, n° 18, p. 1–13, 2 set. 2020. <https://doi.org/10.3390/ijms21186510>.

DE CASTRO, A. A.; SOARES, F. V.; PEREIRA, A. F.; SILVA, T. C.; SILVA, D. R.; MANCINI, D. T.; CAETANO, M. S.; DA CUNHA, E. F. F.; RAMALHO, T. C. Asymmetric biodegradation of the nerve agents Sarin and VX by human dUTPase: chemometrics, molecular docking and hybrid QM/MM calculations. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, vol. 37, n° 8, p. 2154–2164, 24 maio 2019. <https://doi.org/10.1080/07391102.2018.1478751>.

DEGRACE, M. M.; GHEDIN, E.; FRIEMAN, M. B.; KRAMMER, F.; GRIFONI, A.; ALISOLTANI, A.; ALTER, G.; AMARA, R. R.; BARIC, R. S.; BAROUCH, D. H.; BLOOM, J. D.; BLOYET, L. M.; BONENFANT, G.; BOON, A. C. M.; BORITZ, E. A.; BRATT, D. L.; BRICKER, T. L.; BROWN, L.; BUCHSER, W. J.; ... SUTHAR, M. S. Defining the risk of SARS-CoV-2 variants on immune protection. **Nature**, vol. 605, n° 7911, p. 640–652, 26 maio 2022. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04690-5>.

GORBALENYA, A. E.; BAKER, S. C.; BARIC, R. S.; DE GROOT, R. J.; DROSTEN, C.; GULYAEVA, A. A.; HAAGMANS, B. L.; LAUBER, C.; LEONTOVICH, A. M.; NEUMAN, B. W.; PENZAR, D.; PERLMAN, S.; POON, L. L. M.; SAMBORSKIY, D. V.; SIDOROV, I. A.; SOLA, I.; ZIEBUHR, J. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. **Nature Microbiology**, vol. 5, n° 4, p. 536–544, 1 abr. 2020. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z>.

GRAHAM, B. S. Rapid COVID-19 vaccine development. **Science**, vol. 368, n° 6494, p. 945–946, 29 maio 2020. <https://doi.org/10.1126/science.abb8923>.

GUEDES, I. A.; DE MAGALHÃES, C. S.; DARDENNE, L. E. Receptor-ligand molecular docking. **Biophysical Reviews**, vol. 6, n° 1, p. 75–87, mar. 2014. <https://doi.org/10.1007/s12551-013-0130-2>.

GURUMALLESH, P.; ALAGU, K.; RAMAKRISHNAN, B.; MUTHUSAMY, S. A systematic reconsideration on proteases. **International Journal of Biological Macromolecules**, vol. 128, p. 254–267, 1 maio 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.01.081>.

HAMMOND, J.; LEISTER-TEBBE, H.; GARDNER, A.; ABREU, P.; BAO, W.; WISEMANDLE, W.; BANIECKI, M.; HENDRICK, V. M.; DAMLE, B.; SIMÓN-

- CAMPOS, A.; PYPSTRA, R.; RUSNAK, J. M. Oral Nirmatrelvir for High-Risk, Nonhospitalized Adults with Covid-19. **New England Journal of Medicine**, vol. 386, n° 15, p. 1397–1408, 14 abr. 2022. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2118542>.
- HARVEY, W. T.; CARABELLI, A. M.; JACKSON, B.; GUPTA, R. K.; THOMSON, E. C.; HARRISON, E. M.; LUDDEN, C.; REEVE, R.; RAMBAUT, A.; PEACOCK, S. J.; ROBERTSON, D. L. SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape. **Nature Reviews Microbiology**, vol. 19, n° 7, p. 409–424, 1 jul. 2021. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00573-0>.
- HOFFMANN, M.; KLEINE-WEBER, H.; SCHROEDER, S.; KRÜGER, N.; HERRLER, T.; ERICHSEN, S.; SCHIERGENS, T. S.; HERRLER, G.; WU, N. H.; NITSCHKE, A.; MÜLLER, M. A.; DROSTEN, C.; PÖHLMANN, S. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. **Cell**, vol. 181, n° 2, p. 271–280.e8, 16 abr. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>.
- HU, B.; GUO, H.; ZHOU, P.; SHI, Z. L. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. **Nature Reviews Microbiology**, vol. 19, n° 3, p. 141–154, 1 mar. 2021. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7>.
- HU, Q.; XIONG, Y.; ZHU, G. H.; ZHANG, Y. N.; ZHANG, Y. W.; HUANG, P.; GE, G. B. The SARS-CoV-2 main protease (Mpro): Structure, function, and emerging therapies for COVID-19. **MedComm**, vol. 3, n° 3, 1 set. 2022. <https://doi.org/10.1002/mco2.151>.
- HUANG, C.; WANG, Y.; LI, X.; REN, L.; ZHAO, J.; HU, Y.; ZHANG, L.; FAN, G.; XU, J.; GU, X.; CHENG, Z.; YU, T.; XIA, J.; WEI, Y.; WU, W.; XIE, X.; YIN, W.; LI, H.; LIU, M.; ... CAO, B. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. **The Lancet**, vol. 395, n° 10223, p. 497–506, 15 fev. 2020. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5).
- JACKSON, C. B.; FARZAN, M.; CHEN, B.; CHOE, H. Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, vol. 23, n° 1, p. 3–20, 1 jan. 2022. <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00418-x>.
- JIN, Z.; DU, X.; XU, Y.; DENG, Y.; LIU, M.; ZHAO, Y.; ZHANG, B.; LI, X.; ZHANG, L.; PENG, C.; DUAN, Y.; YU, J.; WANG, L.; YANG, K.; LIU, F.; JIANG, R.; YANG, X.; YOU, T.; LIU, X.; ... YANG, H. Structure of Mpro from SARS-CoV-2 and discovery of its inhibitors. **Nature**, vol. 582, n° 7811, p. 289–293, 11 jun. 2020a. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2223-y>.
- JIN, Z.; DU, X.; XU, Y.; DENG, Y.; LIU, M.; ZHAO, Y.; ZHANG, B.; LI, X.; ZHANG, L.; PENG, C.; DUAN, Y.; YU, J.; WANG, L.; YANG, K.; LIU, F.; JIANG, R.; YANG, X.; YOU, T.; LIU, X.; ... YANG, H. Structure of Mpro from SARS-CoV-2 and discovery of its inhibitors. **Nature**, vol. 582, n° 7811, p. 289–293, 11 jun. 2020b. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2223-y>.
- KUCA, K.; MUSILEK, K.; JUN, D.; NEPOVIMOVA, E.; SOUKUP, O.; KORABECNY, J.; FRANÇA, T. C. C.; DE CASTRO, A. A.; KREJCAR, O.; DA CUNHA, E. F. F.; RAMALHO, T. C. Oxime K074—in vitro and in silico reactivation of

- acetylcholinesterase inhibited by nerve agents and pesticides. **Toxin Reviews**, vol. 39, n° 2, p. 157–166, 2 abr. 2020. <https://doi.org/10.1080/15569543.2018.1485702>.
- LEE, C.; LEE, J. M.; LEE, N. R.; KIM, D. E.; JEONG, Y. J.; CHONG, Y. Investigation of the pharmacophore space of Severe Acute Respiratory Syndrome coronavirus (SARS-CoV) NTPase/helicase by dihydroxychromone derivatives. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, vol. 19, n° 16, p. 4538–4541, 15 ago. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.07.009>.
- LEE, C.; LEE, J. M.; LEE, N.-R.; JIN, B.-S.; JANG, K. J.; KIM, D.-E.; JEONG, Y.-J.; CHONG, Y. Aryl diketoacids (ADK) selectively inhibit duplex DNA-unwinding activity of SARS coronavirus NTPase/helicase. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, vol. 19, n° 6 ed. 2009/02/09, p. 1636–1638, 15 mar. 2009. DOI 10.1016/j.bmcl.2009.02.010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19233643>.
- LIU, W.; ZHU, H. M.; NIU, G. J.; SHI, E. Z.; CHEN, J.; SUN, B.; CHEN, W. Q.; ZHOU, H. G.; YANG, C. Synthesis, modification and docking studies of 5-sulfonyl isatin derivatives as SARS-CoV 3C-like protease inhibitors. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, vol. 22, n° 1, p. 292–302, 1 jan. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2013.11.028>.
- LU, H.; STRATTON, C. W.; TANG, Y. W. Outbreak of pneumonia of unknown etiology in Wuhan, China: The mystery and the miracle. **Journal of Medical Virology**, vol. 92, n° 4, p. 401–402, 1 abr. 2020. <https://doi.org/10.1002/jmv.25678>.
- LU, R.; ZHAO, X.; LI, J.; NIU, P.; YANG, B.; WU, H.; WANG, W.; SONG, H.; HUANG, B.; ZHU, N.; BI, Y.; MA, X.; ZHAN, F.; WANG, L.; HU, T.; ZHOU, H.; HU, Z.; ZHOU, W.; ZHAO, L.; ... TAN, W. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. **The Lancet**, vol. 395, n° 10224, p. 565–574, 22 fev. 2020. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8).
- MORRIS, C. J.; CORTE, D. Della. Using molecular docking and molecular dynamics to investigate protein-ligand interactions. **Modern Physics Letters B**, vol. 35, n° 8, 20 mar. 2021. <https://doi.org/10.1142/S0217984921300027>.
- MURAKAMI, N.; HAYDEN, R.; HILLS, T.; AL-SAMKARI, H.; CASEY, J.; DEL SORBO, L.; LAWLER, P. R.; SISE, M. E.; LEAF, D. E. Therapeutic advances in COVID-19. **Nature Reviews Nephrology**, vol. 19, n° 1, p. 38–52, 1 jan. 2023. <https://doi.org/10.1038/s41581-022-00642-4>.
- NALBANDIAN, A.; SEHGAL, K.; GUPTA, A.; MADHAVAN, M. V.; MCGRODER, C.; STEVENS, J. S.; COOK, J. R.; NORDVIG, A. S.; SHALEV, D.; SEHRAWAT, T. S.; AHLUWALIA, N.; BIKDELI, B.; DIETZ, D.; DER-NIGOGHOSSIAN, C.; LIYANAGE-DON, N.; ROSNER, G. F.; BERNSTEIN, E. J.; MOHAN, S.; BECKLEY, A. A.; ... WAN, E. Y. Post-acute COVID-19 syndrome. **Nature Medicine**, vol. 27, n° 4, p. 601–615, 1 abr. 2021. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01283-z>.
- NUKOOLKARN, V.; LEE, V. S.; MALAISREE, M.; ARUKSAKULWONG, O.; HANNONGBUA, S. Molecular dynamic simulations analysis of ritronavir and

lopinavir as SARS-CoV 3CLpro inhibitors. **Journal of Theoretical Biology**, vol. 254, n° 4, p. 861–867, 21 out. 2008. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2008.07.030>.

PAGADALA, N. S.; SYED, K.; TUSZYNSKI, J. Software for molecular docking: a review. **Biophysical Reviews**, vol. 9, n° 2, p. 91–102, 1 abr. 2017. <https://doi.org/10.1007/s12551-016-0247-1>.

PARK, M.; THWAITES, R. S.; OPENSHAW, P. J. M. COVID-19: Lessons from SARS and MERS. **European Journal of Immunology**, vol. 50, n° 3, p. 308–311, 1 mar. 2020. DOI <https://doi.org/10.1002/eji.202070035>. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/eji.202070035>.

PATICK, A. K.; POTTS, K. E. **Protease Inhibitors as Antiviral Agents**. [S. l.: s. n.], 1998. Disponível em: <https://journals.asm.org/journal/cmr>.

PEREIRA, A. F.; DE CASTRO, A. A.; SOARES, F. V.; SOARES LEAL, D. H.; DA CUNHA, E. F. F.; MANCINI, D. T.; RAMALHO, T. C. Development of technologies applied to the biodegradation of warfare nerve agents: Theoretical evidence for asymmetric homogeneous catalysis. **Chemico-Biological Interactions**, vol. 308, p. 323–331, 2019. DOI <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2019.06.007>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009279718316910>.

POLISEL, D. A.; DE CASTRO, A. A.; MANCINI, D. T.; DA CUNHA, E. F. F.; FRANÇA, T. C. C.; RAMALHO, T. C.; KUČA, K. Slight difference in the isomeric oximes K206 and K203 makes huge difference for the reactivation of organophosphorus-inhibited AChE: Theoretical and experimental aspects. **Chemico-Biological Interactions**, vol. 309, p. 108671, 2019. DOI <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2019.05.037>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009279719302959>.

RAFI, M. O.; BHATTACHARJE, G.; AL-KHAFAJI, K.; TASKIN-TOK, T.; ALFASANE, M. A.; DAS, A. K.; PARVEZ, M. A. K.; RAHMAN, M. S. Combination of QSAR, molecular docking, molecular dynamic simulation and MM-PBSA: analogues of lopinavir and favipiravir as potential drug candidates against COVID-19. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, vol. 40, n° 8, p. 3711–3730, 2022. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1850355>.

RAMAJAYAM, R.; TAN, K. P.; LIU, H. G.; LIANG, P. H. Synthesis and evaluation of pyrazolone compounds as SARS-coronavirus 3C-like protease inhibitors. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, vol. 18, n° 22, p. 7849–7854, 15 nov. 2010. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2010.09.050>.

RAVI, V.; SAXENA, S.; PANDA, P. S. Basic virology of SARS-CoV 2. **Indian Journal of Medical Microbiology**, vol. 40, n° 2, p. 182–186, 1 abr. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.ijmmb.2022.02.005>.

RUT, W.; GROBORZ, K.; ZHANG, L.; SUN, X.; ZMUDZINSKI, M.; PAWLIK, B.; WANG, X.; JOCHMANS, D.; NEYTS, J.; MŁYŃNARSKI, W.; HILGENFELD, R.; DRAG, M. SARS-CoV-2 Mpro inhibitors and activity-based probes for patient-sample imaging. **Nature Chemical Biology**, vol. 17, n° 2, p. 222–228, 1 fev. 2021a. <https://doi.org/10.1038/s41589-020-00689-z>.

RUT, W.; GROBORZ, K.; ZHANG, L.; SUN, X.; ZMUDZINSKI, M.; PAWLIK, B.; WANG, X.; JOCHMANS, D.; NEYTS, J.; MŁYNARSKI, W.; HILGENFELD, R.; DRAG, M. SARS-CoV-2 Mpro inhibitors and activity-based probes for patient-sample imaging. **Nature Chemical Biology**, vol. 17, n° 2, p. 222–228, 1 fev. 2021b. <https://doi.org/10.1038/s41589-020-00689-z>.

RYU, Y. B.; JEONG, H. J.; KIM, J. H.; KIM, Y. M.; PARK, J. Y.; KIM, D.; NAGUYEN, T. T. H.; PARK, S. J.; CHANG, J. S.; PARK, K. H.; RHO, M. C.; LEE, W. S. Biflavonoids from *Torreya nucifera* displaying SARS-CoV 3CLpro inhibition. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, vol. 18, n° 22, p. 7940–7947, 15 nov. 2010. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2010.09.035>.

SALZBERGER, B.; BUDER, F.; LAMPL, B.; EHRENSTEIN, B.; HITZENBICHLER, F.; HOLZMANN, T.; SCHMIDT, B.; HANSES, F. Epidemiology of SARS-CoV-2. **Infection**, vol. 49, n° 2, p. 233–239, 1 abr. 2021. <https://doi.org/10.1007/s15010-020-01531-3>.

SANMAN, L. E.; BOGYO, M. Activity-based profiling of proteases. **Annual Review of Biochemistry**, vol. 83, p. 249–273, 2014. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060713-035352>.

SHI, Y.; WANG, G.; CAI, X. peng; DENG, J. wen; ZHENG, L.; ZHU, H. hong; ZHENG, M.; YANG, B.; CHEN, Z. An overview of COVID-19. **Journal of Zhejiang University: Science B**, vol. 21, n° 5, p. 343–360, 1 maio 2020. <https://doi.org/10.1631/jzus.B2000083>.

SINGH, D.; YI, S. V. On the origin and evolution of SARS-CoV-2. **Experimental and Molecular Medicine**, vol. 53, n° 4, p. 537–547, 1 abr. 2021. <https://doi.org/10.1038/s12276-021-00604-z>.

SOUZA, T. C. S.; JOSA, D.; RAMALHO, T. C.; CAETANO, M. S.; DA CUNHA, E. F. F. Molecular modelling of *Mycobacterium tuberculosis* acetolactate synthase catalytic subunit and its molecular docking study with inhibitors. **Molecular Simulation**, vol. 34, n° 7, p. 707–713, jun. 2008. <https://doi.org/10.1080/08927020802129974>.

SRIVASTAVA, V.; YADAV, A.; SARKAR, P. Molecular docking and ADMET study of bioactive compounds of *Glycyrrhiza glabra* against main protease of SARS-CoV2. 49., 2020. **Materials Today: Proceedings** [...]. [S. l.]: Elsevier Ltd, 2020. vol. 49, p. 2999–3007. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.10.055>.

TAN, J.; VERSCHUEREN, K. H. G.; ANAND, K.; SHEN, J.; YANG, M.; XU, Y.; RAO, Z.; BIGALKE, J.; HEISEN, B.; MESTERS, J. R.; CHEN, K.; SHEN, X.; JIANG, H.; HILGENFELD, R. pH-dependent conformational flexibility of the SARS-CoV main proteinase (Mpro) dimer: Molecular dynamics simulations and multiple X-ray structure analyses. **Journal of Molecular Biology**, vol. 354, n° 1, p. 25–40, 18 nov. 2005. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2005.09.012>.

THOMSEN, R.; CHRISTENSEN, M. H. MolDock: A new technique for high-accuracy molecular docking. **Journal of Medicinal Chemistry**, vol. 49, n° 11, p. 3315–3321, 1 jun. 2006. <https://doi.org/10.1021/jm051197e>.

TONG, L. Viral proteases. **Chemical Reviews**, vol. 102, n° 12, p. 4609–4626, dez. 2002. <https://doi.org/10.1021/cr010184f>.

VAN GUNSTEREN, W. F.; BAKOWIES, D.; BARON, R.; CHANDRASEKHAR, I.; CHRISTEN, M.; DAURA, X.; GEE, P.; GEERKE, D. P.; GLÄTTLI, A.; HÜNENBERGER, P. H.; KASTENHOLZ, M. A.; OOSTENBRINK, C.; SCHENK, M.; TRZESNIAK, D.; VAN DER VEGT, N. F. A.; YU, H. B. Biomolecular modeling: Goals, problems, perspectives. **Angewandte Chemie - International Edition**, vol. 45, n° 25, p. 4064–4092, 19 jun. 2006. <https://doi.org/10.1002/anie.200502655>.

VAN GUNSTEREN, W. F.; DOLENC, J.; MARK, A. E. Molecular simulation as an aid to experimentalists. **Current Opinion in Structural Biology**, vol. 18, n° 2, p. 149–153, abr. 2008. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2007.12.007>.

V'KOVSKI, P.; KRATZEL, A.; STEINER, S.; STALDER, H.; THIEL, V. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. **Nature Reviews Microbiology**, vol. 19, n° 3, p. 155–170, 1 mar. 2021. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00468-6>.

WANG, Q.; HUANG, C. R.; JIANG, M.; ZHU, Y. Y.; WANG, J.; CHEN, J.; SHI, J. H. Binding interaction of atorvastatin with bovine serum albumin: Spectroscopic methods and molecular docking. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, vol. 156, p. 155–163, 5 mar. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.12.003>.

WANG, Y.; ZHANG, L.; LI, Q.; LIANG, Z.; LI, T.; LIU, S.; CUI, Q.; NIE, J.; WU, Q.; QU, X.; HUANG, W. The significant immune escape of pseudotyped SARS-CoV-2 variant Omicron. **Emerging Microbes and Infections**, vol. 11, n° 1, p. 1–5, 2022. <https://doi.org/10.1080/22221751.2021.2017757>.

WU, F.; ZHAO, S.; YU, B.; CHEN, Y. M.; WANG, W.; SONG, Z. G.; HU, Y.; TAO, Z. W.; TIAN, J. H.; PEI, Y. Y.; YUAN, M. L.; ZHANG, Y. L.; DAI, F. H.; LIU, Y.; WANG, Q. M.; ZHENG, J. J.; XU, L.; HOLMES, E. C.; ZHANG, Y. Z. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. **Nature**, vol. 579, n° 7798, p. 265–269, 12 mar. 2020. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2008-3>.

YANG, H.; XIE, W.; XUE, X.; YANG, K.; MA, J.; LIANG, W.; ZHAO, Q.; ZHOU, Z.; PEI, D.; ZIEBUHR, J.; HILGENFELD, R.; KWOK, Y. Y.; WONG, L.; GAO, G.; CHEN, S.; CHEN, Z.; MA, D.; BARTLAM, M.; RAO, Z. Design of wide-spectrum inhibitors targeting coronavirus main proteases. **PLoS Biology**, vol. 3, n° 10, 2005. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0030324>.

YANG, H.; YANG, M.; DING, Y.; LIU, Y.; LOU, Z.; ZHOU, Z.; SUN, L.; MO, L.; YE, S.; PANG, H.; GAO, G. F.; ANAND, K.; BARTLAM, M.; HILGENFELD, R.; RAO, Z. **The crystal structures of severe acute respiratory syndrome virus main protease and its complex with an inhibitor**. [S. l.: s. n.], 2003. Disponível em: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1835675100.

YUAN, Y.; JIAO, B.; QU, L.; YANG, D.; LIU, R. The development of COVID-19 treatment. **Frontiers in Immunology**, vol. 14, 26 jan. 2023. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1125246>.

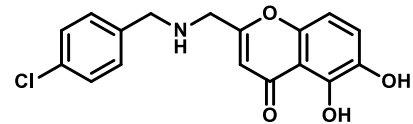
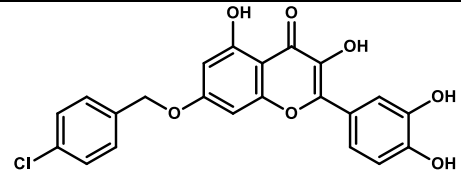
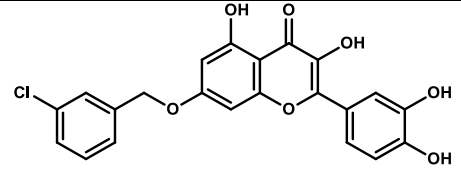
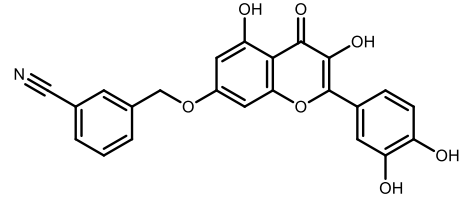
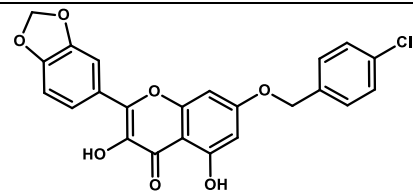
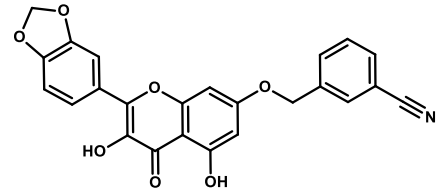
ZHANG, L.; LIN, D.; SUN, X.; CURTH, U.; DROSTEN, C.; SAUERHERING, L.; BECKER, S.; ROX, K.; HILGENFELD, R. Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved a-ketoamide inhibitors. **Science**, vol. 368, n° 6489, p. 409–412, 24 abr. 2020. <https://doi.org/10.1126/science.abb3405>.

ZHANG, T.; HE, Y.; XU, W.; MA, A.; YANG, Y.; XU, K. F. Clinical trials for the treatment of Coronavirus disease 2019 (COVID-19): A rapid response to urgent need. **Science China Life Sciences**, vol. 63, n° 5, p. 774–776, 1 maio 2020. <https://doi.org/10.1007/s11427-020-1660-2>.

ZHOU, P.; YANG, X. Lou; WANG, X. G.; HU, B.; ZHANG, L.; ZHANG, W.; SI, H. R.; ZHU, Y.; LI, B.; HUANG, C. L.; CHEN, H. D.; CHEN, J.; LUO, Y.; GUO, H.; JIANG, R. Di; LIU, M. Q.; CHEN, Y.; SHEN, X. R.; WANG, X.; ... SHI, Z. L. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. **Nature**, vol. 579, n° 7798, p. 270–273, 12 mar. 2020. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>.

Material Suplementar

Tabela S3: Estrutura química e energia de interação intermolecular de todos os ligantes do grupo 1 investigados na M^{pro} do SARS-CoV e M^{pro} SARS-CoV-2.

Ligantes	Estruturas 2D	SARS-CoV Energia de interação (kcal mol ⁻¹)	SARS-CoV- 2 Energia de interação (kcal mol ⁻¹)
1a		-150,42	-156,22
1b		-197,93	-182,78
1c		-200,63	-178,49
1d		-288,47	-207,31
1e		-192,91	-191,51
1f		-283,01	-207,00

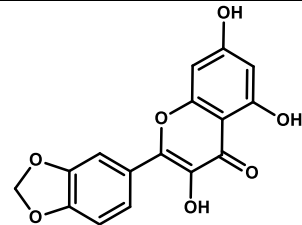
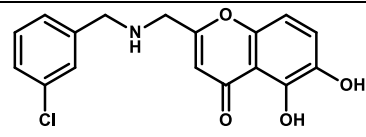
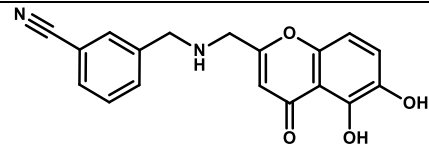
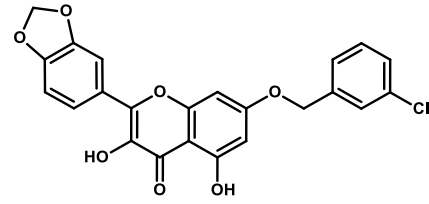
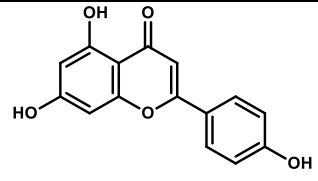
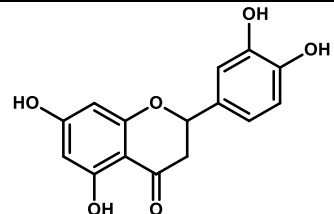
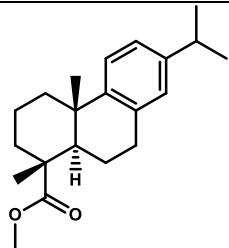
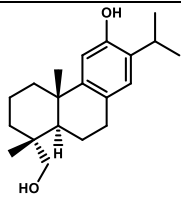
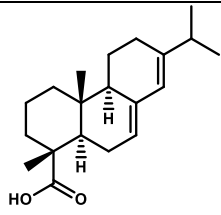
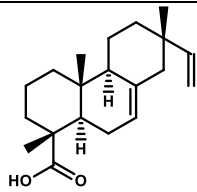
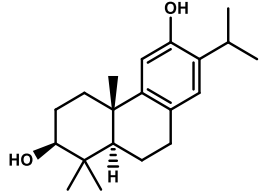
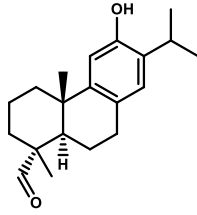
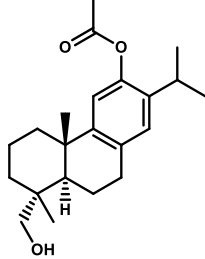
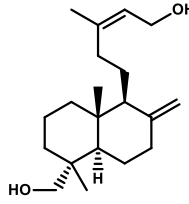
1g		-154,17	-152,48
1h		-152,21	-162,48
1i		-237,89	-164,96
1j		-196,01	-180,76

Tabela S4: Estrutura química e energia de interação intermolecular de todos os ligantes do grupo 2 investigados na M^{pro} do SARS-CoV e M^{pro} SARS-CoV-2.

Ligantes	Estruturas 2D	SARS-CoV Energia de interação (kcal mol⁻¹)	SARS-CoV-2 Energia de interação (kcal mol⁻¹)
2a		-142,31	-142,32
2b		-148,07	-151,59

2c		-132,59	-132,48
2d		-126,30	-124,20
2e		-120,02	-118,08
2f		-121,23	-121,00
2g		-125,02	-119,92
2h		-124,23	-133,31
2i		-143,65	-148,16
2j		-135,75	-142,79

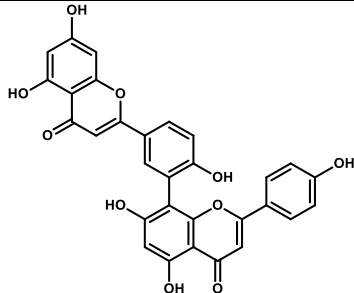
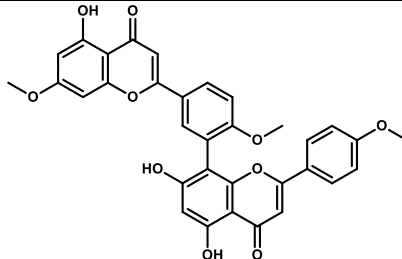
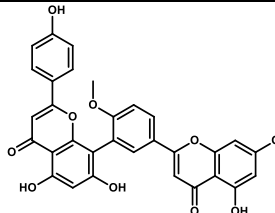
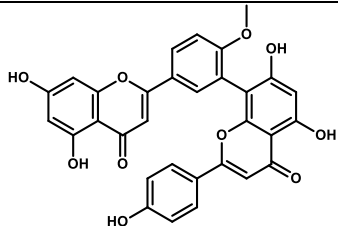
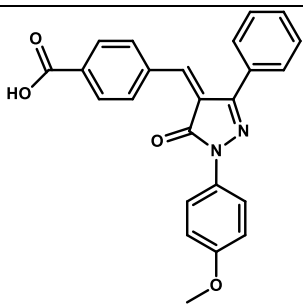
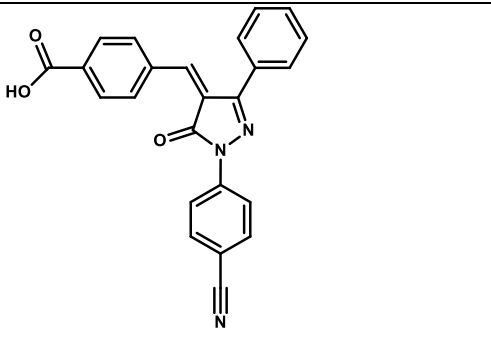
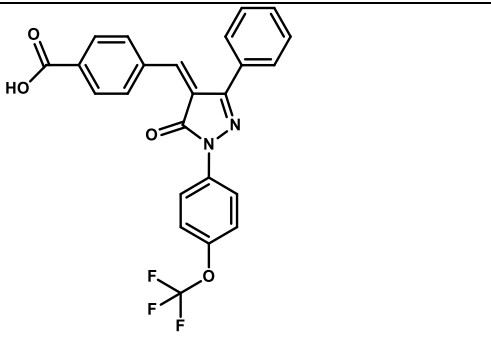
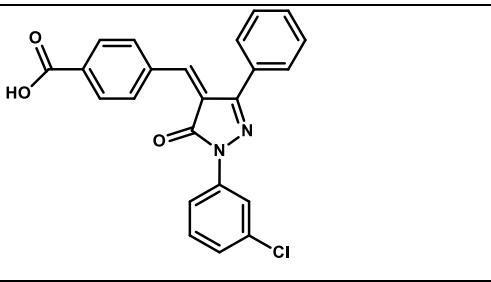
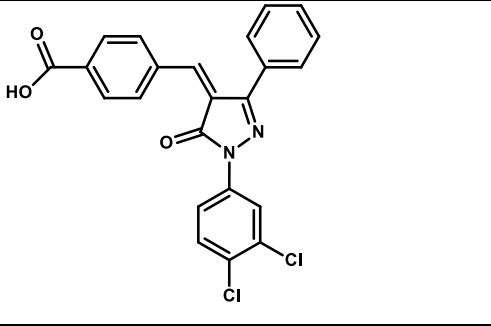
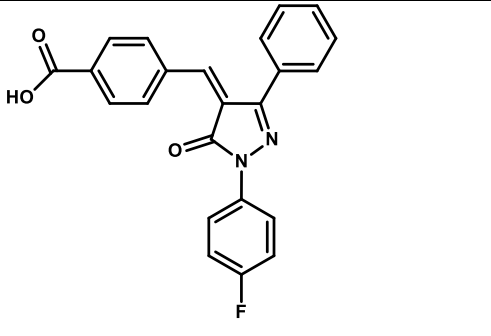
2k		-220,92	-215,31
2l		-235,09	-228,89
2m		-223,42	-225,10
2n		-222,39	-234,62

Tabela S5: Estrutura química e energia de interação intermolecular de todos os ligantes do grupo 3 investigados na M^{pro} do SARS-CoV e M^{pro} SARS-CoV-2.

Ligantes	Estruturas 2D	SARS-CoV Energia de interação (kcal mol⁻¹)	SARS-CoV- 2 Energia de interação (kcal mol⁻¹)
3a		-185,74	-184,49

3b		-252,31	-179,50
3c		-196,86	-187,06
3d		-180,45	-185,20
3e		-183,78	-183,47
3f		-172,93	-175,70

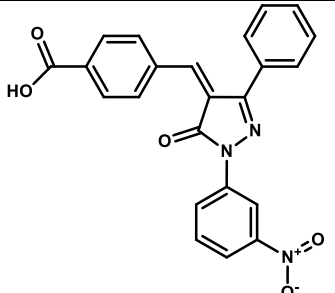
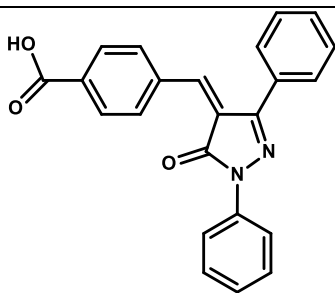
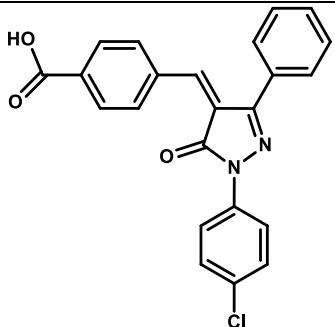
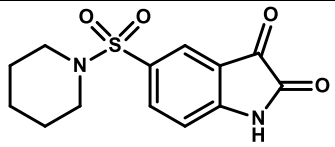
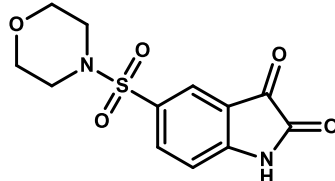
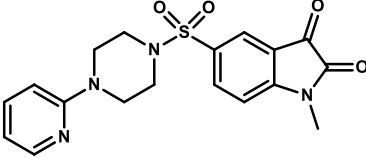
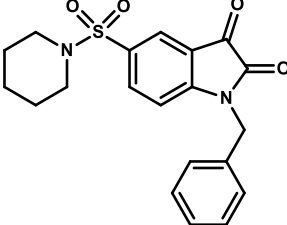
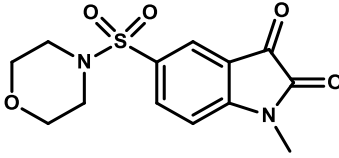
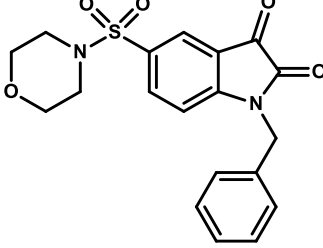
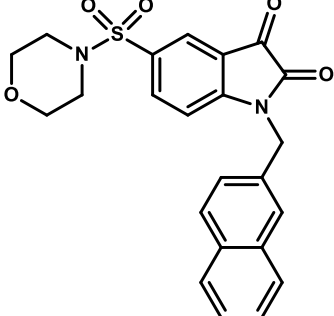
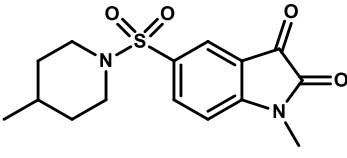
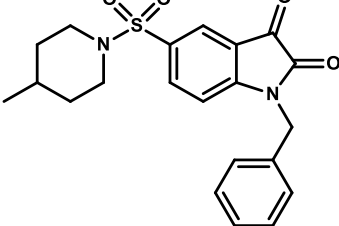
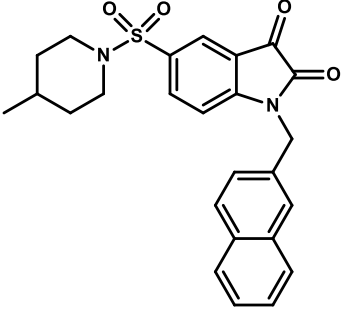
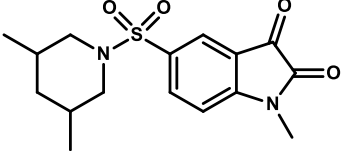
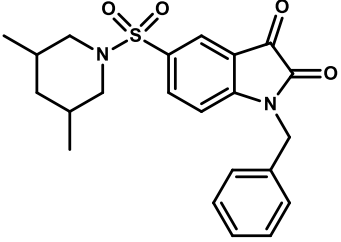
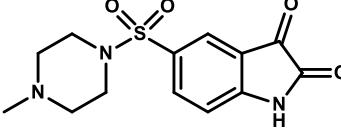
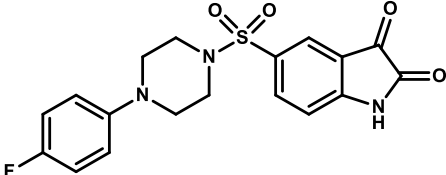
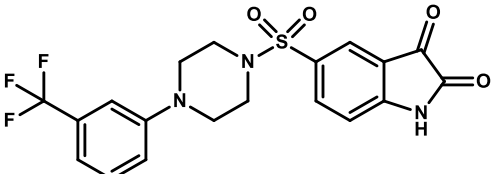
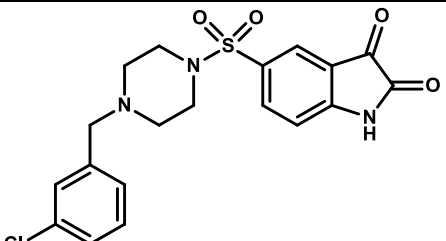
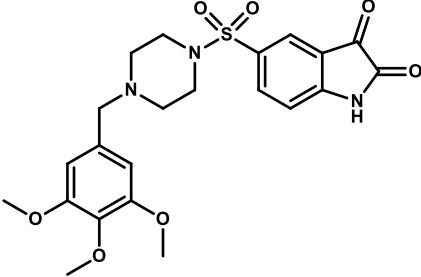
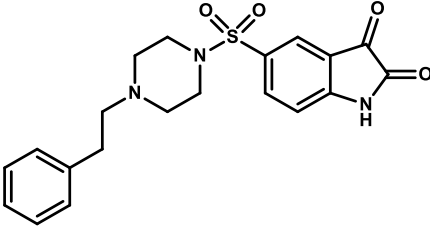
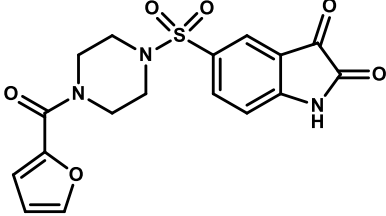
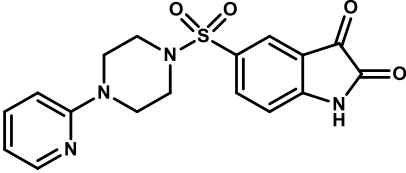
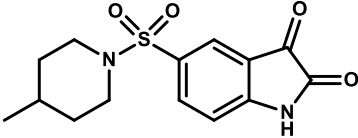
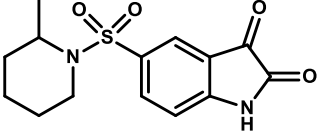
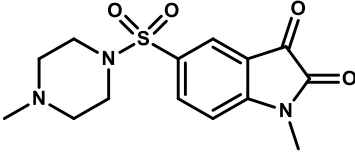
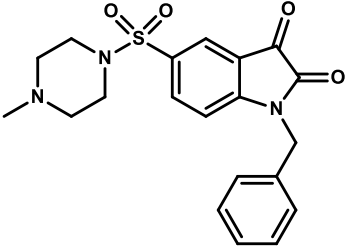
3g		-195,46	-188,26
3h		-185,57	-187,40
3i		-173,13	-178,06

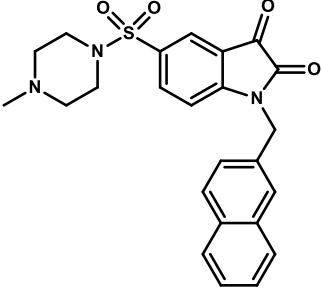
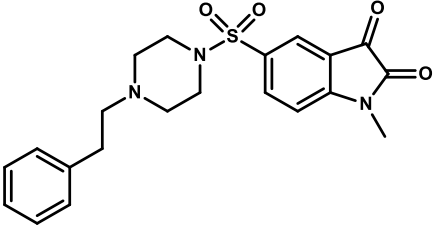
Tabela S6: Estrutura química e energia de interação intermolecular de todos os ligantes do grupo 4 investigados na M^{pro} do SARS-CoV e M^{pro} SARS-CoV-2.

Ligantes	Estruturas 2D	SARS-CoV Energia de interação (kcal mol⁻¹)	SARS-CoV-2 Energia de interação (kcal mol⁻¹)
4a		-125,13	-126,30
4b		-132,46	-131,27

4c		-159,67	-159,23
4d		-167,75	-159,94
4e		-131,19	-131,42
4f		-158,90	-157,22
4g		-179,89	-184,07
4h		-133,94	-130,23
4i		-168,75	-159,00

4j		-185,15	-182,97
4k		-134,79	-144,89
4l		-173,37	-174,41
4m		-133,95	-125,20
4n		-164,43	-145,82
4o		-181,40	-168,72
4p		-170,58	-163,43

4q		-203,40	-176,78
4r		-172,92	-164,52
4s		-164,65	-154,93
4t		-163,15	-154,11
4u		-132,45	-124,11
4v		-126,71	-127,24
4x		-133,12	-132,15
4y		-176,24	-158,49

4z		-188,24	-176,40
4za		-174,55	-174,96

```

SP|P0C6X7|R1AB_SARS RITFELDERVVKVLENEKCSVYTVESGTEVTEFACVWAEAVVKTLPVSDLLTNMGIDLDE 900
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 NITFELDERIDKVLNEKCSAYTVELGTEVNEFACVWADAVIKTLQPVSELLTPLGIDLDE 899
.*****:*****.*** ***.*****:*.*****:*** :*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS WSVATFYLFDDAGEENFSSRMYSFYPPDEEEEDDAECEEEEDTCEHEYGTEDDYQGL 960
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 WSMATYYLFDESGEFKLASHMYCSFYPPDEDEE -EGDCEEEEFEPSTQYEGTEDDYQGL 958
**.*:***:.* :*:*****:.* :*:****: : :*:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS PLEFGASAETVRVEEEEDWLDLDTTEQSEIEPE-----P-----E- 996
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 PLEFGATSALQPEEEQEEDWLDDSDQQTGVQDQGSQEDNQTTTIQTIVEVQPQLEMELTP 1018
*****: : : : *:*:***** :*: : : *

SP|P0C6X7|R1AB_SARS PTPEEPVNFQFTGYLKLTDNVAIKCVDIVKEAQSANPMVIVNAANIHLKHGGGVAGALNKA 1056
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 VVQTIENVNSFSGYLKLTDNVYIKNADIVEEAKKVKPTVVNAANVYLKHGGGVAGALNKA 1078
. **.*:***** * * .***:*.:. * *:****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS TNGAMQKESDDYIKLNGPLTVGGSCLLSGHNLAKKCLHVVGNLNGEDIQLLKAAYENF 1116
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 TNMAMQVESDDYIATNGPLKVGSCVLSGHNLAKHCLHVVGNVKNKGEDIQLLKSAAYENF 1138
**.* ** * * * * * .***.***.*****:*****.* *****:****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS NSQDILLAPLLSAGIFGAKPLQSLQVCVQTVRTQVYIAVNDKALYEQVMDYLDNLKPRV 1176
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 NQHEVLLAPLLSAGIFGADPIHSLRVCVDTVRTNVYLAVFDKNLYDKLVSSFLEMKSEKQ 1198
*.:*:*****.*:*.***:***:*.** * * * :*: * .*: . :

SP|P0C6X7|R1AB_SARS EAPKQEEPPNTE--DSKTEEKSVWQKPVQVVKPKIKACIDEVTTTLEETKFLTNKLLLFAD 1234
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 VEQKIAEIPKEEVKPFITESKPSVEQRKQDDKIKACVEEVTTLLEETKFLTENLLLYID 1258
* * * : * **.* * : : . *****:*****:****: *

SP|P0C6X7|R1AB_SARS INGKLYHDSQMLRGEDMSFLEKDAPYMGVDVITSGDITCVIPSKKAGGTTEMLSRALK 1294
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 INGNLHPDSATLVSDIDITFLKKDAPYIVGDVWQEGVLTAVWIPTTKAGGTTEMLAKALR 1318
***:.* ** : : . *:*:*****:****: . * :*.****:*****:****:

SP|P0C6X7|R1AB_SARS KVPVDEYITTYPGQGCAGYTL EEAKTALKKCKSAFYVLPSEAPNAKEEILGTVSWNLREM 1354
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 KVPTDNYITTYPGQLNGYVVEAKTVLKKCKSAFYILPSIISNEKQELGTVSWNLREM 1378
**.*:***** **.*:****.*****:*** * *:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS LAHAEETRKLMPICMDVRAIMATIQRKYKGIKIQEGIVDYGVRRFFYTSKEPVASIIITKL 1414
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 LAHAEETRKLMPVCVETKAIIVSTIQRKYKGIKIQEGVVDYGARFYFYSKTTVASLINTL 1438
*****:*.:.*:.*:*****:****.*:**** **.*:.*

SP|P0C6X7|R1AB_SARS NSLNEPLVTMPIGYVTHGFNLEEAARCMRSLKAPAVSVSSPDAVTTYNGYLTSSSKTSE 1474
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 NDLNETLVTMPLGYVTHGLNLEEAARYMRSLKVPATVSVSSPDAVTAYNGYLTSSSKTPE 1498
*.* ** * * * .***.***.***** ***.**.*:*****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS EHFVETVSLAGSYRDWSYSGQRTLGVEFLKRGDKIVYHTLESPVEFHLDGEVLSLDKLG 1534
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 EHFIEIISLAGSYKDWYSYSGQSTQLGIEFLKRGDKSVYYT-SNPTTFHLDGEVITFDNLK 1557
**.*:*****:***** *:*:***** **.* ..* *****:*.**

SP|P0C6X7|R1AB_SARS SLLSLREVKTIKVFTTVDNLTNLHTQLVDMSTYGGQFGPTYLDGADVTKIKPHVNHEGKT 1594
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 TLLSLREVRTIKVFTTVDNINLHTQVDMSTYGGQFGPTYLDGADVTKIKPHNSHEGKT 1617
:*****:***** *****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS FFVLPSSDTRLRSEAFEYHTLDESFLGRYMSALNHTKKWKFPQVGLTSIKWADNNCYLS 1654
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 FYVLPNDDTLRVEAFEYHTTDPSEFLGRYMSALNHTKKWKYPQVNGLTSIKWADNNCYLA 1677
*:*.* **** * *****:***.*****:

SP|P0C6X7|R1AB_SARS SVLLALQQLEVKFNAPALQEAYRARAGDAANFCALILAYSNTKVGELGDVRETMTLLQ 1714
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 TALLTLQQIELKFNPPALQDAYRARAGEANFCALILAYCNKTVGELGDVRETMSYLFQ 1737
:*.***:*.** ***.***:*****:*****:*****:*.**

```

Figura S1 (Continued): Alinhamento entre as sequências da M^{Pto} do SARS-CoV e M^{Pto} do SARS-CoV-2.

SP|P0C6X7|R1AB_SARS HANLESKRVLNVVCKHCGQKTTTLTGVEAVMYMGTLSDNLKTGVSIPCVCGRATQYL 1774
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 HANLDSCKRVLNVVCKTCGQQQTLLKGVEAVMYMGTLSEYEQFKKGVIQIPCTCGKQATKYL 1797
 .*.** **.*.***.*****;.:.*.**.*.*.*.*.***

SP|P0C6X7|R1AB_SARS VQEQESSFVMSAPPAEYKLLQGGTFLCANEYTGNYQCQGHYTHITAKETLYRIDGAHLTKMS 1834
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 VQEQESPFVMSAPPAQYELKHGFTFCASEYTGNYQCQGHYKHITSKETLYCIDGALLTKSS 1857
 *****.*.*.*** **.*.*****.***.***** **.*.*.*

SP|P0C6X7|R1AB_SARS EYKGPVTDVFKETSYYTTTTIKPVSYKLDGVTYTEIEPKLDGYKKNAYYTEQPIDLVPT 1894
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 EYKGPITDVFYKENSYYTTTTIKPVTYKLDGVCTEIDPKLDNYKKNDSYFTEQPIDLVPN 1917
 *****.*.*****.*****.***** **.*.***.*****.*.*.*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS QPLPNASFDNFKLTCSENTKFADDLNQMGTGFTKASRELSVTFPPDLNGDVAIDYRHYSA 1954
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 QPYPNASFDNFKFVCDNIKAFADDLNQLTGYYKASRELKVTFFPDNGDVAIDYKHYTP 1977
 ** *****.*.* *****.*.* *****.*****.*****.*.*:

SP|P0C6X7|R1AB_SARS SFKKGAKLLHKPIVWHINQATTKTTFKNTWCLRCLWSTKPVDSNSFEVLAVEDTQGMD 2014
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 SFKKGAKLLHKPIVWHVNNATNKATYKNTWCIRCLWSTKPVETSNSFDVLKSEDAQGMD 2037
 *****.*.*.*.*.*****.*****.*****.*.* **.*.***

SP|P0C6X7|R1AB_SARS NLACESQQPTSEEVVENPTIQKEVIECDVKTTEVGVNVLKPSDEGVKVTQELGHEDLMA 2074
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 NLACEDLKPVSEEVVENPTIQKDVLECNVKTTEVGVDIILKPANNSLKITEEVGHTDLMA 2097
 *****.*.*.*****.*.*.*****.*****.*****.*****.*****.*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS AYVENTSITIKKPNELSLALGLKTIATHGIAAINSVPWSKILAYVKPFLGQAAITTSNCA 2134
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 AYVDNSSLTIKKPNELSRVLGLKTLATHGLAAVNSVPWDIANYAKPFLNKVSTTTNIV 2157
 .*.*.** .*****.*.*.*****.*.* *.*.***.*** **.*

SP|P0C6X7|R1AB_SARS KRLAQRVFNMYVFTLLFQLCTFTKSTNSRIRASLPTTIKNSVKSVAKLCLDAGINY 2194
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 TRCLNRVCTNYMPYFTLLFQLCTFTRSTNSRIKASMPPTIAKNTVKSVMGKFCLEASFNY 2217
 .* **.*.*****.*****.*****.*****.*.*.*****.*.*.*.*.***

SP|P0C6X7|R1AB_SARS VKSPKFSKLFTIAMWLLLLSICLGLSICVTAAGVLLSNFGAPSYCNGVRELYLNSSNVT 2254
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 LKSPNFSKLINIIWFLLLSVCLGSLIYSTAALGVLSNMGPMPSYCTGYREGYLNSTNVT 2277
 ;***.*.*.*.*.*.*.***** **.*.***.*.* **.*.* **.*.*.***

SP|P0C6X7|R1AB_SARS TMDFCESGFPCISCLSGLDLSYPALETIQTISSYKLDLTLGLAAEWLAYMLFTKF 2314
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 IATYCTGSIPCSVLCSGLDLDYPSLETIQTISSFKWDLTAFGLVAEWFAYILFTRF 2337
 :* **.*.***.*****.*.*.*****.*****.* **.* **.*.***.*.*.***

SP|P0C6X7|R1AB_SARS FYLLGLSAIMQVFFGYFASHFISNSWLMWFIISIVQMAPVSAMVRMYIFFASFYIWKSY 2374
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 FYVLGLAAIMQLFFSYFAVHFISNSWLMWLIINLVQMAPISAMVRMYIFFASFYVWKS 2397
 .*.*.*.*.* **.* *****.*.*.*****.*****.*****.*****.***

SP|P0C6X7|R1AB_SARS VHIMDGCTSSTCMCYKRNRRATRVECTTIVNGMRSFYVYANGGRGFCKTHNWNCLNCDT 2434
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 VHVVDGCNSSTCMCYKRNRRATRVECTTIVNGVRRSFYVYANGGKGFCKLHNWNCVNC 2457
 .*.*.*****.*****.*****.*****.*****.*****.*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS FCTGSTFISDEVARDLSLQFKRPINPTDQSSYIVDSVAVKNGALHLYFDKAGQKTYERHP 2494
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 FCAGSTFISDEVARDLSLQFKRPINPTDQSSYIVDSVTVKNGSIHLYFDKAGQKTYERHS 2517
 .*.***.*****.*****.*****.*****.*****.*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS LSHFVNLDNLRANNTKGLSPINVIVFDGKSKCEDESAKSASVYYSQLMCQPILLDDQALV 2554
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 LSHFVNLDNLRANNTKGLSPINVIVFDGKSKCEESSAKSASVYYSQLMCQPILLDDQALV 2577
 *****.*.*.*****.*****.*****.*****.*****.*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS SDVGDSTEVSVKMFDAVDTFSATFSVPMKLLKALVATAHSELAKGVALDGVLTSTFVSAA 2614
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 SDVGDSEAVKMFDAVNTFSSTFVPMKLLKLVATAEAEAKNVSLDNLVSTFISAA 2637
 *****.*.*.*****.*****.*.*.*****.*****.*.*.*.*.***

Figura S1 (Continued): Alinhamento entre as sequências da M^{Pto} do SARS-CoV e M^{Pto} do SARS-CoV-2.

SP|P0C6X7|R1AB_SARS RQGVWDTVDVTDKDVIECLKLSHSDLEVTGDSCNNFMLTYNKVENMTPRDLGACIDCNAR 2674
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 RQGFVDSOVETKDVVECLKLSHQSDIEVTGDSCNNYMLTYNKVENMTPRDLGACIDCSAR 2697
 .*::****:*****:*:*****:*****:*****.*

SP|P0C6X7|R1AB_SARS HINAQVAKSHNVSLIWNVKDYMSLSEQLRKQIRSAAKNNIPFRLTCATTRQVNVITTK 2734
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 HINAQVAKSHNIALIWNVKDFMSLSEQLRKQIRSAAKNNLPFKLTATTRQVNVVTTK 2757
 *****:*:*****:*****:*****:*:*****:***

SP|P0C6X7|R1AB_SARS ISLKGKIVSTCFKMLKATLLCVLAALVCYIVMPVHTLSIHGTYNEIIGYKAIQDGV 2794
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 IALKGGKIVNNWLKQLIKVTLVFLVAEIFYLITPVHVMKHTDFSSEIIGYKAIDGGVT 2817
 *:*****:..* :*:**::.* :*:***:* * :*:*****:***

SP|P0C6X7|R1AB_SARS RDIISTDDCFANKHAGFDWFSQRGGSYKNDKSCPVAIITREIGFIVPGLPGTVLRAI 2854
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 RDIASTDTCFANKHADFDTWFSQRGGSYTNDKACPLIAAVITREVGTVVPLPGTILRRT 2877
 *** ** *****.*:*****.***:*:***:***:***:****:***:

SP|P0C6X7|R1AB_SARS NGDFLHFLPRVFSAVGNICYTPSKLIEYDFATSACVLAEECTIFKDAMGKVPVPCYDTN 2914
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 NGDFLHFLPRVFSAVGNICYTPSKLIEYDFATSACVLAEECTIFKDasGKVPVPCYDTN 2937
 *****:*****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS LLEGSISYSELRPDTRYVLMDSIIQFPNTYLEGSRVWTTFDAEYCRHGTCERSEVGIC 2974
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 VLEGSVAYESLRPDTRYVLMDSIIQFPNTYLEGSRVWTTFDSEYCRHGTCERSEAGVC 2997
 :***:*. *****:*****:*****.*:

SP|P0C6X7|R1AB_SARS LSTSGRWLNNHEHYRALSGVFCGVDAMNLIANIFTPLVQPVGALDVSASVWAGGIIAILV 3034
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 VSTSGRWLNNDYRSLPGVFCGVDANLLTNMFTPLIQPIGALDISASIVAGGIVAIIV 3057
 :*****:***:* *****:*:***:***:***:***:***:***:***:

SP|P0C6X7|R1AB_SARS TCAAYYFMKFRRVFGEYNHVAANALLFLMSFTILCLVPAYSFLPGVYSVYLYLTFYFT 3094
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 TCLAYYFMRFRRAFGEYSHVAFNTLLFLMSFTVLCCLTPVYSFLPGVYSVIYLYLTFYLT 3117
 ** *****.*:***.*:*****:***.*:*****:*****:***:

SP|P0C6X7|R1AB_SARS NDVSLAHLQWFMFSPIVPWITAIYVFCISLKHCHWFNNYLRKRVMFNGVTFSTFEE 3154
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 NDVSLAHLQWVMFMTPLVPFWITIAIYICISTKHFYWFNSNLYKRRVVFNGVSTFEE 3177
 *****:***:*:***** *:*:*** ** :***.***:***:***:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS AALCTFLLNKEMYLKLRSETLLPLTQYNRYLALYNKYKYFSGALDTTSYREAACCHLAKA 3214
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 AALCTFLLNKEMYLKLRSDVLLPLTQYNRYLALYNKYKYFSGAMDTTTSYREAACCHLAKA 3237
 *****:*****:*****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS LNDFSNSGADVLYQPPTSITSAVLQSGFRKMAFSPGKVEGCMVQVTCGTTTLNGLWLD 3274
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 LNDFSNSGSDVLYQPPTSITSAVLQSGFRKMAFSPGKVEGCMVQVTCGTTTLNGLWLD 3297
 *****:*****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS TVYCPRHVICTAEDMLNPNYEDLLIRKSNHFLVQAGNVQLRVIGHSMQNCVLLKVDTS 3334
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 VVYCPRHVICTSEDMLNPNYEDLLIRKSNHFLVQAGNVQLRVIGHSMQNCVLLKVDTA 3357
 .*****:*****:*****:*****:***:

SP|P0C6X7|R1AB_SARS NPKTPKYKFVRIQPGQTFVSLACYNGSPSGVYQCAMPNHTIKGSFLNGSCGSVGFNIDY 3394
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 NPKTPKYKFVRIQPGQTFVSLACYNGSPSGVYQCAMPNFTIKGSFLNGSCGSVGFNIDY 3417
 *****:*****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS DCVSFCYMHMELPTGVHAGTDLEGKFYGPVDRQTAQAAGDITITLNVLAWLAAVIN 3454
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 DCVSFCYMHMELPTGVHAGTDLEGNFYGPVDRQTAQAAGDITITVNVLAWLAAVIN 3477
 *****:*****:*****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS GDRWFLNRFTTTTLNDFNLVAMKYNIEPLTQDHVDILGPLSAQTGIAVLDMCAALKELLQN 3514
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 GDRWFLNRFTTTTLNDFNLVAMKYNIEPLTQDHVDILGPLSAQTGIAVLDMCASLKELLQN 3537
 *****:*****:*****

Figura S1 (Continued): Alinhamento entre as sequências da M^{pro} do SARS-CoV e M^{pro} do SARS-CoV-2.

SP|P0C6X7|R1AB_SARS GMNGRTILGSTILEDEFTPFQVVRQCSGVTFQGKFKKIVKGTTHHWMLLTFLLTSLLLVQS 3574
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 GMNGRTILGSALLEDEFTPFQVVRQCSGVTFQSAVKRTIKGTHHWMLLTLTLLVQS 3597
 *****:*****.*****.*****.*****.*****.*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS TQWSLFFFVYENAFLPFTLGIMAIACAMLLVKHKHAFLLCLFLLPSLATVAYFNMVYMPA 3634
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 TQWSLFFFLYENAFLPFAMGIIAMSAFAMMFVKHKHAFLLCLFLLPSLATVAYFNMVYMPA 3657
 *****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS SWVMRIMTWLELADTSLSGYRLKDCVMYASALVLLILMTARTVYDDAARRVWTLMNVTIL 3694
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 SWVMRIMTWLDMVDTSLSGFKLKDCVMYASAVLLILMTARTVYDDGARRVWTLMNVTIL 3717
 *****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS VYKVYYGNALDQAISMWALISVTSNYSVGVTTIMFLARAIIVFCVEYYPPLFITGNTLQ 3754
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 VYKVYYGNALDQAISMWALISVTSNYSVGVTTVMFLARGIVFMCVEYCPDIFFITGNTLQ 3777
 *****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS CIMLVYCFGLGYCCCYFGLFCLLNRYFRLTLGVYDYLVTQEFYRMYNSQGLLPPKSSIDA 3814
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 CIMLVYCFGLGYFCTCYFGLFCLLNRYFRLTLGVYDYLVTQEFYRMYNSQGLLPPKNSIDA 3837
 ***** * *****:*****.*****.*****.*****.*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS FKLNIKLLGIGGKPCIKVATVQSKMSDVKCTSVVLLSVLQQLRVESSSKLWAQCQVLHND 3874
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 FKLNIKLLGVGGKPCIKVATVQSKMSDVKCTSVVLLSVLQQLRVESSSKLWAQCQVLHND 3897
 *****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS ILLAKDTTEAFEKMSVLLSLLSMQGAVDINRLCEEMLDNRATLQAIASEFSSLPYAAAY 3934
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 ILLAKDTTEAFEKMSVLLSLLSMQGAVDINKLCEEMLDNRATLQAIASEFSSLPYAAF 3957
 *****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS ATAQEAYEQAVANGDSEVLLKLLKSLNVAKSEFDRDAAMQRKLEKMAQAMTQMYKQAR 3994
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 ATAQEAYEQAVANGDSEVLLKLLKSLNVAKSEFDRDAAMQRKLEKMAQAMTQMYKQAR 4017
 *****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS SEDKRAKVTSAMQTMFTMLRKLDNDALNNIINNARDGCVPLNIIPLTAAKLMVVPDY 4054
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 SEDKRAKVTSAMQTMFTMLRKLDNDALNNIINNARDGCVPLNIIPLTAAKLMVIPDY 4077
 *****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS GTYKNTCDGNTFTYASALWEIQQVVDADSKIVQLSEINMDNSPNLAWPLIVTALRANSV 4114
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 NTYKNTCDGNTFTYASALWEIQQVVDADSKIVQLSEISMDNSPNLAWPLIVTALRANSV 4137
 *****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS KLQNNELSPVALRQMSCAAGTTQACTDDNALAYYNNKGGRFVLLALLSDHQDLKWARFP 4174
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 KLQNNELSPVALRQMSCAAGTTQACTDDNALAYYNTTKGGRFVLLALLSDLQDLKWARFP 4197
 *****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS KSDGTGTIYTELEPPCRFVTDTPKGPVKYLYFIKGLNLRGMVLGSLAATVRLQAGNA 4234
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 KSDGTGTIYTELEPPCRFVTDTPKGPVKYLYFIKGLNLRGMVLGSLAATVRLQAGNA 4257
 *****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS TEVPANSTVLSFCFAVDPKAYKDYLASGGQPITNCVKMLC THTGTGQAITVTPEANMD 4294
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 TEVPANSTVLSFCFAVDAKAYKDYLASGGQPITNCVKMLC THTGTGQAITVTPEANMD 4317
 ***** *****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS QESFGGASCCLYCRCHIDHPNPKGFCDLKGYVQIPTTCANDPVGFTLRNTVCTVCGMWK 4354
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 QESFGGASCCLYCRCHIDHPNPKGFCDLKGYVQIPTTCANDPVGFTLRNTVCTVCGMWK 4377
 *****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS GYGSCDQLREPLMQSADASTFLNRVCGVSAARLTPCGTGTSTDVWYRAFDIYNEKVAGF 4414
 SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 GYGSCDQLREPLMQSADAQSFLLNRVCGVSAARLTPCGTGTSTDVWYRAFDIYNDKVAGF 4437
 *****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****

Figura S1 (Continued): Alinhamento entre as sequências da M^{P10} do SARS-CoV e M^{P10} do SARS-CoV-2.

SP | P0C6X7 | R1AB_SARS AKFLKTNCCRFQEKDEEGNLLDSYFVVKRHTMSNYQHEETIYNLVKDCPAVAVHDFKFR 4474
 SP | P0DTD1 | R1AB_SARS2 AKFLKTNCCRFQEKDEDDNLLDSYFVVKRHTFSNYQHEETIYNLLKDCPAVAKHDFKFR 4497
 *****:.*:*****:*****:***** *****

SP | P0C6X7 | R1AB_SARS VDGDMVPHISRQRLTKYTMADLVYALRHFDEGNCDTLKEILVTYNCCDDDYFNKKDWDYDF 4534
 SP | P0DTD1 | R1AB_SARS2 IDGDMVPHISRQRLTKYTMADLVYALRHFDEGNCDTLKEILVTYNCCDDDYFNKKDWDYDF 4557
 :*****

SP | P0C6X7 | R1AB_SARS VENPDILRVYANLGERVRQSLKTVQFCDAMRDAGIVGVLTLDNQDLNGNWDYDFGDFVQV 4594
 SP | P0DTD1 | R1AB_SARS2 VENPDILRVYANLGERVRQALLKTVQFCDAMRNAGIVGVLTLDNQDLNGNWDYDFGDFIQT 4617
 *****:*****:*****:*****:*.

SP | P0C6X7 | R1AB_SARS APGCGVPIVDSYSSLMPILTLTRALAAESHMDADLAKPLIKWDLKDYDFTEERLCLFDR 4654
 SP | P0DTD1 | R1AB_SARS2 TPGSGVPVWDSYSSLMPILTLTRALTAESHVDTLTKPYIKWDLKDYDFTEERLKLDFDR 4677
 :*.*:***:*****:***:*.**.* *****

SP | P0C6X7 | R1AB_SARS YFKYWDQTYHPNCINCLDDRCILHCANFNVLFTVFPPTSFGPLVRKIFVDGVPFVWSTG 4714
 SP | P0DTD1 | R1AB_SARS2 YFKYWDQTYHPNCVNLDDRCILHCANFNVLFTVFPPTSFGPLVRKIFVDGVPFVWSTG 4737
 *****:*****

SP | P0C6X7 | R1AB_SARS YHFRELGVVHNQDVNLHSSRSLFKELLVYAADPAMHAASGNLLLDKRTTCFSVAALTNNV 4774
 SP | P0DTD1 | R1AB_SARS2 YHFRELGVVHNQDVNLHSSRSLFKELLVYAADPAMHAASGNLLLDKRTTCFSVAALTNNV 4797

SP | P0C6X7 | R1AB_SARS AFQTVKPGNFNKDFYDFAVSKGFFKEGSSVELKHFFFAQDGNAAISDYDYRYNLPMTCD 4834
 SP | P0DTD1 | R1AB_SARS2 AFQTVKPGNFNKDFYDFAVSKGFFKEGSSVELKHFFFAQDGNAAISDYDYRYNLPMTCD 4857

SP | P0C6X7 | R1AB_SARS IRQLLFVVEVVDKYFDCYDGGCINANQVIVNNLDKSAGFPFNKWGKARLYYDSMSYEDQD 4894
 SP | P0DTD1 | R1AB_SARS2 IRQLLFVVEVVDKYFDCYDGGCINANQVIVNNLDKSAGFPFNKWGKARLYYDSMSYEDQD 4917

SP | P0C6X7 | R1AB_SARS ALFAYTKRNVIPITITQMNLYAISAKNRARTVAGVSICSTMTNRQFHQKLLKSIATRGA 4954
 SP | P0DTD1 | R1AB_SARS2 ALFAYTKRNVIPITITQMNLYAISAKNRARTVAGVSICSTMTNRQFHQKLLKSIATRGA 4977

SP | P0C6X7 | R1AB_SARS TVWIGTSKFYGGWHNMLKTVYSDVETPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIMASLVLARKHNTC 5014
 SP | P0DTD1 | R1AB_SARS2 TVWIGTSKFYGGWHNMLKTVYSDVENPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIMASLVLARKHTTC 5037
 *****:*****

SP | P0C6X7 | R1AB_SARS CNLSHRFYRLANCAQVLSMVMCGGSLYVKPGGTSSGDATTAYANSVFNICQAVTANVN 5074
 SP | P0DTD1 | R1AB_SARS2 CSLSHRFYRLANCAQVLSMVMCGGSLYVKPGGTSSGDATTAYANSVFNICQAVTANVN 5097
 *.******

SP | P0C6X7 | R1AB_SARS ALLSTDGINKIADKYVRNLQHRLYECLYRNRDVEDHEFVDEFYAYLRKHFSSMMILSDDAVVC 5134
 SP | P0DTD1 | R1AB_SARS2 ALLSTDGINKIADKYVRNLQHRLYECLYRNRDVEDDFVNEFYAYLRKHFSSMMILSDDAVVC 5157
 *****:.*:*****

SP | P0C6X7 | R1AB_SARS YNSNYAAQGLVASIKNFKAVLYYQNNVMSEAKCWTETDLTKGPHEFCSQHTMLVKQGDD 5194
 SP | P0DTD1 | R1AB_SARS2 FNSTYASQGLVASIKNFKSVLYYQNNVMSEAKCWTETDLTKGPHEFCSQHTMLVKQGDD 5217
 :*.*:*****:*****

SP | P0C6X7 | R1AB_SARS YVYLPYPDPSRILGAGCFVDDIVKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHPNQEYADVFLHLYL 5254
 SP | P0DTD1 | R1AB_SARS2 YVYLPYPDPSRILGAGCFVDDIVKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHPNQEYADVFLHLYL 5277

SP | P0C6X7 | R1AB_SARS QYIRKLHDELGTGHMLDMYSVMLTNDNTSRYWEPEFYEAMYTPHTVLQAVGACVLCNSQTS 5314
 SP | P0DTD1 | R1AB_SARS2 QYIRKLHDELGTGHMLDMYSVMLTNDNTSRYWEPEFYEAMYTPHTVLQAVGACVLCNSQTS 5337

Figura S1 (Continued): Alinhamento entre as sequências da M^{pro} do SARS-CoV e M^{pro} do SARS-CoV-2.

```
SP|P0C6X7|R1AB_SARS LRCGACIRRPFLCCKCCYDHSVISTSHKLVLSVNPYVCNAPGCDVTDVTQLYLGMSYCK 5374
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 LRCGACIRRPFLCCKCCYDHSVISTSHKLVLSVNPYVCNAPGCDVTDVTQLYLGMSYCK 5397
*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS SHKPPISFPLCANGQVFGLYKNTCVGSDNVDFNAIATCDWTNAGDYILANTCTERLKL 5434
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 SHKPPISFPLCANGQVFGLYKNTCVGSDNVDFNAIATCDWTNAGDYILANTCTERLKL 5457
*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS AAETLKATEETFKLSYGIATVREVLSDRELHLSWEVGKPRPPLNRNYVFTGYRVTKNSKV 5494
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 AAETLKATEETFKLSYGIATVREVLSDRELHLSWEVGKPRPPLNRNYVFTGYRVTKNSKV 5517
*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS QIGEYTFEKG DYGDVAVYRGTTTYKLVNGDYFVLTSHVTMPLSAPTLVPQEHYVRITGLY 5554
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 QIGEYTFEKG DYGDVAVYRGTTTYKLVNGDYFVLTSHVTMPLSAPTLVPQEHYVRITGLY 5577
*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS PTLNISDEFSSNVANYQKVG MQYSTLQGGPGTGKSHFAIGLALYPSARIVYTACSHAA 5614
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 PTLNISDEFSSNVANYQKVG MQYSTLQGGPGTGKSHFAIGLALYPSARIVYTACSHAA 5637
*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS VDALCEKALKYLPIDKCSRIIPARARVECFDKFKVNSTLEQYV FCTVNALPETTADIWF 5674
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 VDALCEKALKYLPIDKCSRIIPARARVECFDKFKVNSTLEQYV FCTVNALPETTADIWF 5697
*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS DEISMATNYDLSVNNARLRAKHVYVIGDPAQLPAPRLLTKGTLEPEYFNSVCRLMKTIG 5734
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 DEISMATNYDLSVNNARLRAKHVYVIGDPAQLPAPRLLTKGTLEPEYFNSVCRLMKTIG 5757
*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS PDMFLGTCRRCPAEIVD TVSALVYDNKLKAHKDKSAQCFKMFYKGVITHDVSSAINRPQI 5794
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 PDMFLGTCRRCPAEIVD TVSALVYDNKLKAHKDKSAQCFKMFYKGVITHDVSSAINRPQI 5817
*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS GVVREFLTRNPAWRKAVFISPYN SQNAVASKILGLPTQTVDSSQGSEYDVI FTQTETA 5854
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 GVVREFLTRNPAWRKAVFISPYN SQNAVASKILGLPTQTVDSSQGSEYDVI FTQTETA 5877
*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS HSCNVNRFNVAITRAKIGILCIMS DRDLYDKLQFTSLEIPRRNVATLQ AENV TGLFKDCS 5914
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 HSCNVNRFNVAITRAKIGILCIMS DRDLYDKLQFTSLEIPRRNVATLQ AENV TGLFKDCS 5937
*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS KIITGLHPTQAPHL SVDIKFKTEGLCVDIPGIPKDM TYRRLISM MGFKMNYQVNGYPNM 5974
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 KVI TGLHPTQAPHL SVDTKFKTEGLCVDIPGIPKDM TYRRLISM MGFKMNYQVNGYPNM 5997
* .*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS FITREEAIRHVR A WIGFDVEGCHATRDAVGTNLPLQLGFSTGVNLVAVPTGYVD TENNTE 6034
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 FITREEAIRHVR A WIGFDVEGCHATRDAVGTNLPLQLGFSTGVNLVAVPTGYVD TPNNTD 6057
***** .*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS FTRVNAKPPPGDQFKHLIPLMYKGLPWNVVR IKIVQMLSDTLKGLSDR VVFLWAHGFEL 6094
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 FSRVSAKPPPGDQFKHLIPLMYKGLPWNVVR IKIVQMLSDTLKGLSDR VVFLWAHGFEL 6117
* .*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS TSMKYFVKIGPERTCCLCDKRATCFSTSSDYACWNH SVGF DYVYV NPFMIDVQQWGF TGN 6154
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 TSMKYFVKIGPERTCCLCDRRATCFSTASDYACWHHSIGFDYVYV NPFMIDVQQWGF TGN 6177
***** .***** .***** .*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS LQSNHDQHCQVHGNAHVASCDAIMTRCLAVHECFVKRVDW SVEYPIIGDEL RVNSACR KV 6214
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 LQSNHDLYCQVHGNAHVASCDAIMTRCLAVHECFVKRVDW TIEYPIIGDELKINAACR KV 6237
***** .***** .***** .*****
```

Figura S1 (Continued): Alinhamento entre as sequências da M^{pro} do SARS-CoV e M^{pro} do SARS-CoV-2.

SP|P0C6X7|R1AB_SARS QHMVKSALLADKFPVLHDIIGNPKAIKCVQAEVEWKFYDAQPCSDKAYKIEELFYSYAT 6274
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 QHMVKAALLADKFPVLHDIIGNPKAIKCVQADVEWKFYDAQPCSDKAYKIEELFYSYAT 6297
*****:*****:*****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS HHDKFTDGVCLFWNCNVDRYPANAIVCRFDTRVLSNLNLPGCDGGSLYVNKHAFHTPAFD 6334
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 HSDKFTDGVCLFWNCNVDRYPANSIVCRFDTRVLSNLNLPGCDGGSLYVNKHAFHTPAFD 6357
* *****:*****:*****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS KSAFTNLKQLPFFYYSDSPCESHGKQVSDIDYVPLKSATCITRCNLGGAVCRHHANEYR 6394
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 KSAFVNLKQLPFFYYSDSPCESHGKQVSDIDYVPLKSATCITRCNLGGAVCRHHANEYR 6417
.**:*****:*****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS QYLDAYNMMISAGFSLWIYKQFDTYNLWNTFTRLQSLNVAYNVWNKGFHDGHAGEAPVS 6454
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 LYLDAYNMMISAGFSLWYKQFDTYNLWNTFTRLQSLNVAFNVWNKGFHDGQGEVPS 6477
*****:*****:*****:*****: **.*

SP|P0C6X7|R1AB_SARS IINNAVYTKVDGIDVEIFENKTTLPVNVAFELWAKRNIKVPVEIKILNNLGVDIAANTVI 6514
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 IINNTVYTKVDGVDVELFENKTTLPVNVAFELWAKRNIKVPVEIKILNNLGVDIAANTVI 6537
:**:***:*****:*****:*****:*****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS WDYKREAPAHVSTIGVCTMTDIAKKPTESACSSLTVLFDGRVEGQVDLFRNARNGVLITE 6574
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 WDYKRDAPAHISTIGVCSMTDIAKKPTETICAPLTVFDGRVDGQVDLFRNARNGVLITE 6597
****:***:*****:*****: *: **.*:*****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS GSVKGLTPSKGPAQASVNGVTLIGESVKTQFNYFKKVDGIIQQLPETYFTQSRDLEDFKP 6634
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 GSVKGLQPSVGPKQASLNGVTLIGEAVKTQFNYYKKVDGVVQQLPETYFTQSRNLQEFKP 6657
***** ** * ** *:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS RSQMETDFLELAMDEFIQRYKLEGYAFEHIVYGDFSHGQLGGLHLMIGLAKRSQDSPLKL 6694
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 RSQMEIDFLELAMDEFIERYKLEGYAFEHIVYGDFSHSQLGGLHLLIGLAKRFKESPFEL 6717
***** *****:*****:*****:*****:*****:***** :*:***:*

SP|P0C6X7|R1AB_SARS EDFIPMDSTVKNYFITDAQTGSSKCVCSVIDLLDDFVEIISKQDLSVSKVWKTIDYA 6754
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 EDFIPMDSTVKNYFITDAQTGSSKCVCSVIDLLDDFVEIISKQDLSVSKVWKTIDYT 6777
*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS EISFMLWCKDGHVETFPYKQLQASQAWQPGVAMPNLYKMQRMLLEKCDLQNYGENAVIPKG 6814
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 EISFMLWCKDGHVETFPYKQLQSSQAWQPGVAMPNLYKMQRMLLEKCDLQNYGDSATLPKG 6837
*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS IMMNVAKYTQLCQYLNTLTLAVPYNMRVIHFAGSDKGVAPGTAVLRQWLPPTGTLVDS 6874
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 IMMNVAKYTQLCQYLNTLTLAVPYNMRVIHFAGSDKGVAPGTAVLRQWLPPTGTLVDS 6897
*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS LNDFVSDADSTLIGDCATVHTANKWDLIISDMYDPRTKHKVTENDSKEGFFTYLCGFIKQ 6934
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 LNDFVSDADSTLIGDCATVHTANKWDLIISDMYDPKTKNVTENDSKEGFFTYICGFIQQ 6957
*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS KLALGGSIIVKITEHSWNADLYKLMGHFSAWTAFTVNTVNASSEAFIIGANYLGKPKQEI 6994
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 KLALGGSAIVKITEHSWNADLYKLMGHFAWTAFTVNTVNASSEAFIIGCNLYGKPREQI 7017
*****:*. *****:*****:*****:*****:*****:*****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS DGYTMHANYIFWRNTNPIQLSSYSLFDMSKFPKLRGTAVMSLKENQINDMIYSLLEKGR 7054
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 DGYVMHANYIFWRNTNPIQLSSYSLFDMSKFPKLRGTAVMSLKEGQINDMILSLLSKGR 7077
.**:*****:*****:*****:*****:*****:*****:*****

SP|P0C6X7|R1AB_SARS LIIRENNRVVSSDILVNN 7073
SP|P0DTD1|R1AB_SARS2 LIIRENNRVVSSDILVNN 7096
*****:*****:*****:*****

Figura S1 (Continued): Alinhamento entre as sequências da M^{pro} do SARS-CoV e M^{pro} do SARS-CoV-2.

CAPÍTULO 2: A Química Medicinal na divulgação científica

1. Introdução

Um conceito amplamente explorado pelos acadêmicos é a divulgação científica e a relevância fundamental de seu papel na sociedade. Até os dias atuais, observa-se uma significativa mobilização em torno da cultura científica, essencial para a construção de uma força de trabalho altamente especializada e para a formação cidadã, possibilitando os indivíduos a avaliarem de maneira crítica as promessas e ações de seus governantes (Lordêlo e Porto, 2012).

De acordo com Carlos Vogt (2007), melhor que alfabetização científica, popularização da ciência e compreensão pública da ciência, a expressão “cultura científica” é capaz de englobar esses conceitos e ainda conter em si a ideia de que o processo que envolve o desenvolvimento científico seria um processo cultural, podendo ser considerado pelo ponto de vista de sua produção, de sua difusão na dinâmica social, do ensino e da educação, ou do ponto de vista de sua própria divulgação na sociedade, podendo ser estabelecidas relações críticas para os cidadãos e os valores culturais que permeiam a sociedade de sua época.

Henrique César da Silva (2006) destaca que a divulgação científica não se refere a um tipo específico de texto, mas sim à maneira como o conhecimento científico é produzido, apresentado e permeia nossa sociedade. Em seu texto, ele ressalta que a proposta de divulgação da ciência não é uma novidade decorrente dos avanços exponenciais da tecnologia e ciência, mas sim parte de um processo contínuo. Para ilustrar, no século XVIII, os anfiteatros europeus capturavam a atenção de um público entusiasmado em conhecer as novas máquinas, participar de demonstrações de fenômenos pneumáticos, mecânicos e elétricos. Além disso, exposições e palestras eram realizadas, abordando conteúdos vinculados à física, química ou medicina, transitando entre cidades e até mesmo países.

Em outras palavras, a divulgação científica vive com o propósito de vincular o conhecimento técnico científico com o público em geral, necessitando, portanto, uma via que traduza um em outro. Nos tempos atuais, a sociedade está constantemente conectada às mídias sociais, o que torna esse meio de comunicação uma possível ferramenta para a difusão do conhecimento científico. A utilização das redes sociais como ferramenta de difusão do conhecimento gerado pela produção científica reduz a distância entre a pesquisa e a prática clínica e proporciona acesso e diálogo não apenas a áreas específicas do conhecimento, mas também a diferentes públicos (Navas et al, 2020). Em outra mão, os Textos de Divulgação Científica (TDC) também têm sido sugeridos de forma a complementar o uso de materiais educativos tradicionais, como os livros didáticos. As pesquisas que discorrem sobre esse material discutem sobre a importância que deve ser dada a práticas em sala de aula que facilitem a incorporação do saber científico, mas que possam colaborar para a formação de hábitos e atitudes nos estudantes que permaneçam mesmo após a saída da escola ou da universidade. (Ferreira e Queiroz, 2012).

A importância da divulgação científica, por exemplo, foi fortemente evidenciada durante a pandemia de COVID-19, quando um vírus ainda desconhecido estava amplamente sendo disseminado entre países e continentes e havia pouquíssimas informações sobre o vírus e mecanismos de ação para combatê-lo. Nesse sentido, foi necessário um esforço dobrado para que o conhecimento sobre o vírus e métodos de prevenção chegasse à população e ainda combater as desinformações que eram bastante compartilhadas entre as pessoas alertando sobre esse “combate” ao vírus.

Em vista disso, a divulgação científica se mostra de extrema importância para toda a comunidade, e para que um conteúdo da divulgação científica seja comunicativo, é necessário em primeiro lugar uma linguagem acessível ao público. Apesar da comunidade científica estar em contato com a produção de artigos científicos com uma escrita formal para uma determinada área, é importante distar um pouco dela para a produção da divulgação. Por um outro lado, também é necessário que a apresentação do tema seja clara e bem explicada, podendo ser constituído de imagens, textos, vídeos, áudios etc.

2. Objetivos

Este capítulo tem como objetivo apresentar, por meio de um Texto de Divulgação Científica, as etapas envolvidas na produção de medicamentos para o tratamento de diversas patologias. A intenção é proporcionar à população jovem, adulta e idosa, uma

compreensão mais clara sobre como esses medicamentos são desenvolvidos, incentivando o uso racional e proporcionando insights sobre sua origem. O capítulo 1 trouxe uma das metodologias que é empregada para a produção de fármacos, servindo como um bom exemplo aplicado para o que é discutido ao longo do TDC.

3. Texto de Divulgação Científica

De onde vem os remédios que tomamos?

Desde os tempos antigos, o ser humano busca na natureza maneiras de controlar suas doenças. Ele interagia com a natureza de forma a assegurar sua sobrevivência, por isso buscava refúgio em cavernas para fugir de tempestades ou ruído de predadores ferozes. Com a mesma ideia, o uso de plantas na alimentação e na tradição de povos para o tratamento de algumas enfermidades ocorriam com frequência, mas não passavam de tradições ou conhecimento popular.

Atualmente, quando adoecemos, seja um resfriado, uma inflamação, uma febre ou até mesmo dores mais crônicas, temos a possibilidade de irmos até uma farmácia ou drogaria e adquirirmos remédios que possam tratar essas enfermidades. Mas já se perguntou de onde vem esses remédios? Como são produzidos? Qual a diferença entre um remédio genérico, similar ou de referência? E o porquê da diferença dos valores entre eles? Bom, durante essa leitura será possível descobrir um pouco sobre esses assuntos.



Figura 9: Representação dos medicamentos de referência, similar e genérico. Fonte: <https://www.ufsm.br/midias/arco/por-que-medicamentos-genericos-sao-mais-baratos>

A história começa por volta do ano 1700, com o surgimento da farmacognosia, uma disciplina das ciências farmacêuticas dedicada ao estudo das substâncias presentes nos medicamentos de origem natural (**Figura 6**). Após anos de pesquisa e análise das relações entre plantas e seus potenciais medicinais, um marco significativo ocorreu no período pós-Revolução Francesa, uma era de intensa atividade intelectual. Em 1811, durante esse contexto, o médico fisiologista francês François Magendie apresentou o

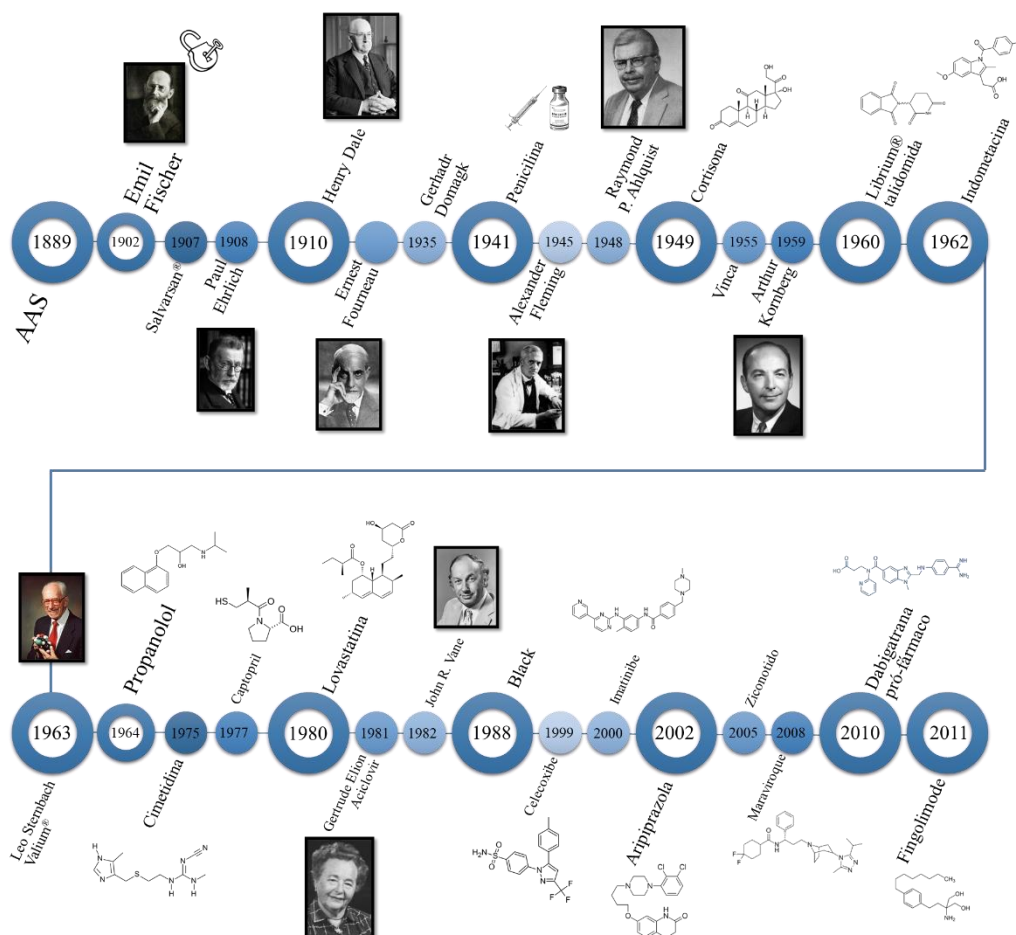


Figura 10: Linha do tempo da química medicinal (adaptado de Barreira e Fraga, 2015).

"Formulaire", uma obra que abordava o uso de diversos remédios da época. Esse trabalho não apenas contribuiu para o conhecimento da farmacologia, mas também introduziu de maneira sistemática o uso de animais de laboratório na investigação médica, conferindo a Magendie o reconhecimento como pioneiro nesse campo. A partir desse contexto, bases científicas foram formadas de maneira a favorecer o avanço sobre o uso de plantas medicinais. Os princípios da farmacognosia acabaram tomando rumos diferentes durante o século XIX, onde trilhou em direção ao que veio ser a fitoquímica (estudo dos compostos advindo dos vegetais) e depois a química de produtos naturais, dedicada ao

isolamento e à purificação dos princípios ativos (conceito que será trabalhado ao longo da sessão) das plantas medicinais.

Com o passar do tempo e dos avanços científicos na área da química e da biologia, as técnicas de isolamento e purificação das substâncias advindas das plantas se aperfeiçoaram e se tornaram cada vez mais eficientes. A partir do Instituto Pasteur (**Figura 7**), em Paris, nos laboratórios de Ernest Fourneau, surgiram as atividades de pesquisa que moldaram a Química Medicinal.



Figura 11: Fotografia de Luca Borghi do Instituto Pasteur, em Paris.

Agora, é importante explicar e descrever como e quais são as etapas que cabem a identificação e formulação de um novo medicamento para que ele seja comercializado nas prateleiras de uma farmácia ou drogaria.

As primeiras etapas ocorrem geralmente em universidades e são financiadas pelo governo e fundações. Primeiro, consiste na identificação de um alvo que está associado a alguma doença, seja uma célula, uma proteína, uma enzima, entre outros. A partir disso, é realizado uma varredura em trabalhos publicados que mostrem esse alvo e possíveis compostos ou substâncias que tenham interações com ele. Sendo assim, os métodos *in silico*, ou seja, os métodos que utilizam de simulações no computador (Modelagem

Molecular, Ancoramento Molecular, Dinâmica Molecular, etc.), colaboram para compreender de maneira teórica, como se dão essas interações. Uma vez que os *Softwares* utilizados (**Figura 8**) indiquem positivamente uma boa interação desse composto com o alvo, futuros trabalhos em laboratórios podem ser realizados. Por meio das simulações computacionais, também é possível estudar os prováveis mecanismos de reação pelos quais este composto age.

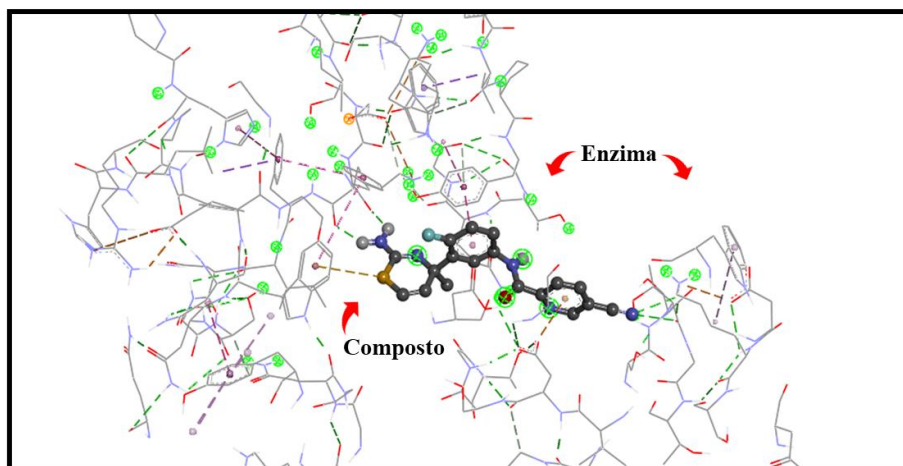


Figura 12: Software que permite visualizar a interação de um composto em uma enzima.

A partir dessa etapa, os estudos *in vitro* (**Figura 9**) começam a ser realizados, ou seja, estudos com microorganismos, células ou moléculas extraídas do seu contexto biológico que contém o alvo que está sendo trabalhado/estudado.

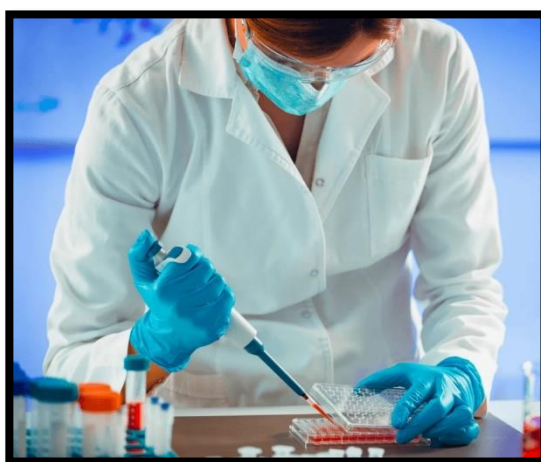


Figura 13: Estudos *in vitro* feitos em laboratórios para avaliarem o composto estudado. Fonte: <https://bcrj.org.br/servicos/cursos-e-treinamentos/curso-de-toxicologia-in-vitro/>

A próxima etapa consiste nos testes pré-clínicos (**Figura 10**), também conhecidos como testes *in vivo*, que são realizados com os animais como cobaias. Nesse ponto, os testes são executados para avaliar o potencial efeito terapêutico do composto que tem probabilidade de se tornar um novo medicamento. Além disso, avaliações de toxicidade, possíveis efeitos colaterais e potencial carcinogênico também são realizadas. É importante ressaltar também que mesmo que os compostos passem por essas avaliações, não implica necessariamente que os mesmos efeitos acontecerão em humanos.



Figura 14: Testes pré-clínicos, realizados em laboratórios utilizando de animais como cobaias. Fonte: https://www.correiobraziliense.com.br/app/noticia/ciencia-e-saude/2020/03/27/interna_ciencia_saude,840688/cientistas-procuram-ratos-de-laboratorio-na-luta-contra

Se o fármaco passa positivamente os testes anterior, a essa altura é hora de iniciar os ensaios clínicos, que finalmente testa em humanos a efetividade do possível fármaco. Os ensaios clínicos são divididos em até 4 fases. A primeira fase começa com um pequeno grupo de participantes voluntários que possuam alguma doença que está relacionada ao que se estudou até então. O objetivo dessa fase é analisar a interação do composto com o organismo humano, ou seja, avaliar a segurança, dosagem ou efeitos colaterais. A duração da primeira etapa pode ocorrer durante alguns meses.

Se o composto foi bem avaliado na primeira fase, segue então para a segunda. Na etapa 2, há um grupo maior de participantes voluntários e o período de duração pode ir até 2 anos. Nessa fase, é realizada uma avaliação mais criteriosa de eficácia, análise de segurança ao passo que se altera a dosagem e avalia os comportamentos dos indivíduos no processo. Já a fase 3 é mais completa e criteriosa, mas uma vez que o composto atingiu essa fase, ele apresenta características potenciais de um bom fármaco. Nessa terceira fase, o número de candidatos voluntários é ainda maior e a duração pode chegar a até 4 anos. Os objetivos vão desde análise da eficácia à identificação de efeitos adversos ao longo do período dos testes. É realizado também comparações com placebo, que seria um medicamento que não contém qualquer tipo de substâncias ativas nele, para avaliar se há efeitos nos pacientes.

Por fim, se o medicamento obteve aprovação na fase 3, significa que as agências regulatórias analisaram os resultados do ensaio e então decidem sobre a aprovação ou não do medicamento para a comercialização. Sendo assim, se aprovado, ele vai para a última etapa dos ensaios clínicos, a etapa 4. Essa etapa é realizada depois da aprovação e início da comercialização do medicamento, porém, há monitoramento de sua segurança ao longo de um período variado e investigações para possíveis casos. Dessa forma, os medicamentos podem ser encontrados nas farmácias ou drogarias e apresenta em seu conteúdo o princípio ativo, que é o composto que foi estudado em todas as etapas.

Depois de tantas informações, ainda há um tópico a ser discutido: Qual a diferença entre um medicamento genérico, similar ou de referência? E o porquê da diferença dos valores entre eles? Percebemos que ao comprarmos um medicamento, a pessoa responsável pelo atendimento geralmente nos pergunta se desejamos o genérico, de referência ou até mesmo o similar. Começando com o de referência, que geralmente é o mais encarecido dos três, é um medicamento com um determinado composto, denominado de princípio ativo, que atua no organismo em uma determinada dosagem por uma certa via de administração (oral, sublingual, injetável, dermatológica etc.). O motivo dessa classe de medicamento ser a mais cara é porque a empresa responsável por sua produção e comercialização teve de submeter por todos os testes até aqui citados para sua efetivada entrada no comércio.

Mas e o medicamento genérico e similar? Ambos possuem o mesmo princípio ativo, na mesma dosagem e é consumido pela mesma via, porém, após a queda da patente do medicamento de referência, a indústria dos genéricos e os responsáveis pelos similares

podem sintetizar somente o princípio ativo, uma vez que se as propriedades do de referência forem replicadas, o mesmo efeito pode ser obtido quando consumido, logo, sua produção é barateada por não precisar de repassar pelos testes já comentados.

Gostou do tópico de hoje? Aguarde que traremos mais informações sobre temas do seu dia a dia para que você possa ficar mais bem-informado e ajude a difundir o conhecimento científico.

4. Discussão

Até os dias atuais, espera-se que a divulgação científica vá além do conceito de tornar o conhecimento científico mais acessível ao público (Jensen e Gerber, 2020). Entretanto, para discorrer sobre o conhecimento científico e a sociedade, torna-se importante falar da CTS (Ciência, Tecnologia e Sociedade) e CTSA (Ciência, Tecnologia, Sociedade e Ambiente).

O desenvolvimento exponencial da ciência e da tecnologia têm promovido inúmeras transformações na sociedade atual, o que implica diretamente nos setores políticos, econômicos e social. O que a princípio parecia uma ideia brilhante e progressista, aos poucos mostrou seu outro lado. De forma que o uso abusivo da tecnologia tornou mais evidente, com os problemas ambientais, a concepção de C&T (Ciência e Tecnologia) servindo para facilitar ao homem a exploração da natureza para seu bem, passou a ser questionada por muitos (Angotti e Auth, 2001). Como complemento:

“É inegável a contribuição que a ciência e a tecnologia trouxeram nos últimos anos. Porém, apesar desta constatação, não podemos confiar excessivamente nelas, tornando-nos cegos pelo conforto que nos proporcionam cotidianamente seus aparatos e dispositivos técnicos. Isso pode resultar perigoso porque, nesta anestesia que o deslumbramento da modernidade tecnológica nos oferece, podemos nos esquecer que a ciência e a tecnologia incorporam questões sociais, éticas e políticas.” (Bazzo apud Pinheiro et al., 2007: 98, p. 72)

Nesse sentido, a exploração da natureza sem precedentes juntamente ao avanço científico e tecnológico não é de todo um benefício coletivo. À medida que poucos foram expandindo seus domínios, disfarçado no discurso de neutralidade da C&T e sobre a ideia de um progresso que beneficia a todos, muitos cessaram seus domínios e outros

permaneceram marginalizados ou acabaram sendo marginalizados (Angotti e Auth, 2001). Com os crescentes questionamentos acerca da neutralidade da C&T e seu ideal de progresso, nas décadas de 1960 e 1970 foi moldado uma organização do movimento Ciência, Tecnologia e Sociedade, que trazia consigo uma visão crítica sobre C&T à medida que discutia o âmbito da tecnologia e ciência em um nível político (Campos, 2010).

O aumento dos debates desenvolvidos pela perspectiva CTS passa a decorrer da compreensão de que a tecnologia se tornou algo tão importante ao desenvolvimento que é difícil de nos entender sem ela, mas para isso é fundamental que a sociedade se coloque em uma posição de reivindicação de participação mais democrática nas decisões que envolvem o contexto científico tecnológico para o contexto em que pertencem (Freitas e Segatto, 2014). Não obstante, as questões que permeiam a CTSA também condizem com o pensamento de que a tecnologia afeta a vida do ser humano, demandando problemas de ordem ética e política, principalmente ambiental, e ainda reforça a ideia do acesso ao conhecimento, exigindo uma implantação de uma nova postura para compreensão da educação tecnológica (Silva, 2010).

Havendo compreensão da cultura científica, das fortes relações entre ciência tecnologia e sociedade, a divulgação científica desempenha um papel importante para que a população em geral tenha um discernimento mínimo sobre problemas que ocorrem em sua volta, e que com isso sejam capazes de discutir e criticar para um bem comum.

Ademais, quando se fala de material de divulgação científica, ainda não há características concretas do que torna um determinado material de qualidade. Porém, é sabido que a mescla entre textos e imagens torna o entendimento e compreensão do texto pelo leitor muito mais valiosa. Não obstante, para além da importância dos recursos para visualização, contribuindo para a clareza do texto científico, as imagens também exercem um papel essencial na constituição das ideias científicas e na sua conceitualização (Martins et al, 2005).

Em outra mão, a linguagem científica possui suas características próprias que a distinguem da linguagem comum. São conceitos que foram sendo estabelecidos ao longo de todo o desenvolvimento da ciência, de maneira a registrar e ampliar o conhecimento. Muitas das vezes, a linguagem científica se torna estranha e difícil para os alunos,

portanto, reconhecer as diferenças implica em reconhecer que a aprendizagem da ciência é inseparável da aprendizagem da linguagem científica (Mortimer e Alvarenga, 1998).

Para a elaboração de um texto de divulgação científica eficaz, é essencial que o autor empregue uma linguagem acessível, permitindo uma compreensão facilitada do conteúdo abordado. Em outras palavras, embora seja apropriado evitar o excesso de termos técnicos, a presença controlada destes é recomendada. O Texto de Divulgação Científica apresentado neste capítulo adota uma linguagem acessível ao público, acompanhada de imagens, proporcionando uma compreensão mais clara do tema atraindo a atenção do leitor. Conforme destacado por Raimundo Martins (2011), a cultura visual desempenha um papel crucial ao conferir um olhar crítico ao poder das imagens. Através dela, é possível construir um conhecimento mais profundo, rico e abrangente, enfatizando a importância da compreensão do conteúdo.

No início do TDC, é possível visualizar um título chamativo (“Como surgem os remédios que tomamos?”). O título foi criado com a intenção de chamar a atenção do leitor, uma vez que é uma pergunta, e a busca por essa resposta raramente é feita pela população que costuma comprar medicamentos na farmácia ou drogaria. Nesse sentido, uma vez que o leitor realmente se dá conta de nunca ter procurado entender como funciona o processo de aprovação de fármacos até que cheguem nas prateleiras para o comércio, passa a fazer sentido em atraí-lo para a leitura.

Com relação a condução do TDC, foi possível construir parágrafos chamativos que introduzem um assunto, bem como propor uma situação do cotidiano que remete à compra de remédios quando nos encontramos doentes. Em seguida, mais perguntas aparecem ao leitor (“Mas já se perguntou de onde vem esses remédios?”, “Como são produzidos?”, “Qual a diferença entre um remédio genérico, similar ou de referência? E o porquê da diferença dos valores entre eles?”) de modo a engajá-lo ainda mais no assunto para prosseguir com a leitura. Desde os primórdios da humanidade, a busca por respostas foi fundamental para o progresso do ser humano, mas para isso, teve de haver perguntas, como: “Quem sou?”, “De onde eu vim” e “Para onde vou?”. Desse modo, perguntar é uma ação que sempre foi presente na vida do homem, e a partir da curiosidade de se buscar respostas, o aprendizado pode acontecer (Rubinstein, 2019).

Posteriormente, a condução do texto se dá pelo processo histórico que moldou a Química Medicinal. A linha do tempo criada ajuda o leitor a se situar de onde começou e

para onde pode ir, sendo evidenciado a ideia do progresso do estudo de fármacos. A partir desse ponto, começa a caracterização dos processos atuais que são realizados para a aprovação de um novo medicamento. O texto buscou criar uma narrativa sequencial, do início dos processos (simulações computacionais) até os testes em laboratório com o uso de microorganismos, células ou moléculas extraídas do seu contexto biológico que contém o alvo que está sendo trabalhado/estudado, para então prosseguir com os testes em animais e depois em humanos.

Por fim, o texto retoma as perguntas realizadas inicialmente, a respeito dos medicamentos de referência, genéricos e similares. A informação discorrida serve como base para que o público possa entender um pouco mais sobre os remédios adquirem. O texto finaliza com uma interação com o leitor e informa que novos textos que abordem questões de seu dia a dia está por vir para que ele possa se manter mais bem informado e que ajude a compartilhar as ideias aprendidas até então.

5. Conclusão

Em resumo, torna-se cada vez mais imperativo que a população tenha o direito e o acesso à informação relacionada ao desenvolvimento tecno-científico, além da oportunidade de participar das decisões que impactam diretamente o ambiente em que vivem. Os textos de divulgação científica, assim como outros meios de comunicação, desempenham um papel crucial na disseminação do conhecimento e das ideias científicas. Ao assimilar esses conteúdos, a população adquire uma base sólida para participar de discussões informadas e questionar os processos que ocorrem ao seu redor, contribuindo para a busca de soluções para os desafios enfrentados.

6. Referências bibliográficas

- ANGOTTI, José André Peres; AUTH, Milton Antonio. Ciência e tecnologia: implicações sociais e o papel da educação. **Ciência & Educação (Bauru)**, v. 7, p. 15-27, 2001.
- CAMPOS, F. R. G. Ciência, tecnologia e sociedade. **Florianópolis: IFSC**, 2010.
- DA SILVA, H. C. O que é divulgação científica? **Ciência & Ensino (ISSN 1980-8631)**, v. 1, n. 1, 2007.
- DA SILVA, L. C. L. O método científico: algumas relações entre ciência, tecnologia, sociedade e ambiente. **Kínesis-Revista de Estudos dos Pós-Graduandos em Filosofia**, v. 2, n. 03, p. 306–315-306–315, 2010.
- FREITAS, C. C. G.; SEGATTO, A. P. Ciência, tecnologia e sociedade pelo olhar da Tecnologia Social: um estudo a partir da Teoria Crítica da Tecnologia. **Cadernos EBAPE. BR**, v. 12, p. 302-320, 2014.
- JACOBUCCI, D. F. C. Contribuições dos espaços não-formais de educação para a formação da cultura científica. **Revista em extensão**, v. 7, n. 1, 2008.
- JENSEN, E.A.; Gerber, A. Evidence-Based Science Communication. **Front Commun (Lausanne)** 2019, 4.
- LORDÉLO, F. S.; PORTO, C. de M. Divulgação científica e cultura científica: conceito e aplicabilidade. **Revista Ciência em Extensão**, v. 8, n. 1, p. 18-34, 2012.
- MARTINS, Isabel; GOUVÊA, Guaracira; PICCININI, Cláudia. Aprendendo com imagens. **Ciência e Cultura**, v. 57, n. 4, p. 38-40, 2005.
- NAVAS, A. L. G. P.; Berti, L.; Trindade, E. R.; Lunardelo, P. P. Divulgação científica como forma de compartilhar conhecimento. In: **CoDAS**. Sociedade Brasileira de Fonoaudiologia, 2020.
- PINHEIRO, N. A. M.; SILVEIRA, R. M. C. F.; BAZZO, W. A. Ciência, tecnologia e sociedade: a relevância do enfoque CTS para o contexto do ensino médio. **Ciência & Educação (Bauru)**, v. 13, p. 71-84, 2007.
- RUBINSTEIN, E. A pergunta no processo de ensino-aprendizagem. **Revista Psicopedagogia**, v. 36, n. 111, p. 317-331, 2019.
- SANTOS, S.C.C. dos; Valle, M.G. do Divulgação... de Qual Ciência? Reflexões Sobre a Representação de Cientistas Na Revista Ciência Hoje Das Crianças. **Ciência & Educação (Bauru)** 2023, 29, doi:10.1590/1516-731320230004.
- VOGT, C. A espiral da cultura científica. **ComCiência: Revista Eletrônica de Jornalismo Científico**, v. 45, p. 4-16, 2003.