

RESOLUÇÃO DA ESTRUTURA TRIDIMENSIONAL DE UMA PROTEÍNA VEGETAL COM POTENCIAL ANTI-COVID

Natália Chaves Gondim¹, Antonio Eufrásio Vieira-Neto², Ana Cristina de Oliveira Monteiro-
Moreira³

¹ Doutoranda em Biotecnologia pela Universidade Estadual do Ceará – Fortaleza-CE; ² Pesquisador de pós-doutorado em Ciências Médicas pela Universidade de Fortaleza; ³ Docente da Pós-graduação em Ciências Médicas da Universidade de Fortaleza³

Área temática: Inovações em Ciências Médicas

Modalidade: Comunicação Oral Online

E-mail dos autores: natyvieira@alu.ufc.br ; aevneto@gmail.com ; acomoreira@unifor.br

RESUMO

INTRODUÇÃO: As lectinas vegetais são proteínas que se ligam a carboidratos específicos, desempenhando um papel crucial na defesa das plantas contra patógenos e herbívoros. Na biotecnologia, elas são valorizadas por sua capacidade de reconhecer e se ligar a estruturas glicídicas específicas, possibilitando diversas aplicações, o que permite uma ampla aplicabilidade nas ciências médicas. **OBJETIVO:** Este trabalho descreve uma abordagem experimental para determinar a estrutura tridimensional da lectina de *Dioclea altíssima* (DAL) e avaliar seu potencial biomédico na inativação de proteínas estruturais do novo coronavírus através de simulações computacionais, o que caracteriza uma estratégia experimental inovadora sob a prospecção de biofármacos. **MÉTODOS:** O estudo emprega técnicas cristalográficas de biofísica para obtenção da estrutura 3D e a técnica de docking molecular para analisar a compatibilidade estrutural da DAL com a principal proteína do capsídeo do SARS-CoV-2, o novo coronavírus. **RESULTADOS:** As evidências químicas, espaciais e energéticas obtidas das interações entre a DAL e a proteína do coronavírus sustentam a hipótese de que a DAL pode ter potencial biomédico significativo, além das propriedades farmacológicas previamente descritas. Esses resultados corroboram achados anteriores que sugerem a biossegurança da DAL e indicam sua aplicabilidade no combate à Covid. A metodologia experimental demonstrou ser eficaz na validação da hipótese de que a estrutura tridimensional de proteínas vegetais pode fornecer dados valiosos para o desenvolvimento de fármacos, com base em sua compatibilidade química com receptores biológicos. **CONCLUSÃO:** Os resultados sugerem que a lectina vegetal DAL não apenas se liga a uma importante proteína viral, mas também pode servir como um biofármaco adjuvante no tratamento da Covid-19, abrindo caminho para futuros estudos in vitro, in vivo e pré-clínicos.

Palavras-chave: (lectinas vegetais), (*drug discovery*), (covid).

1 INTRODUÇÃO

A biologia estrutural é essencial para fornecer modelos 3D de proteínas, fundamentais para a modelagem de fármacos. Esses modelos permitem a compreensão detalhada dos sítios de ligação e interações moleculares, facilitando a criação de medicamentos mais eficazes e precisos, otimizando o processo de desenvolvimento. Como complemento, as simulações computacionais são ferramentas importantes na ciência médica, permitindo modelar sistemas biológicos complexos, prever a eficácia de tratamentos e acelerar o desenvolvimento de novas terapias, contribuindo para tratamentos mais eficazes e personalizados (Agu et al., 2023).

As lectinas vegetais, que se ligam a carboidratos específicos, têm grande potencial na biotecnologia, podendo ser usadas em biossensores e terapias direcionadas (Araújo et al., 2022). O estudo investiga a interação entre a lectina DAL e a proteína do capsídeo do SARS-CoV-2 usando a técnica de docking molecular, buscando compreender seu potencial biomédico. O trabalho apresenta a estratégia experimental para obter a estrutura tridimensional da lectina vegetal *Dioclea altíssima* (DAL) e explorar seu potencial biomédico por meio de simulações computacionais.

2 MÉTODO

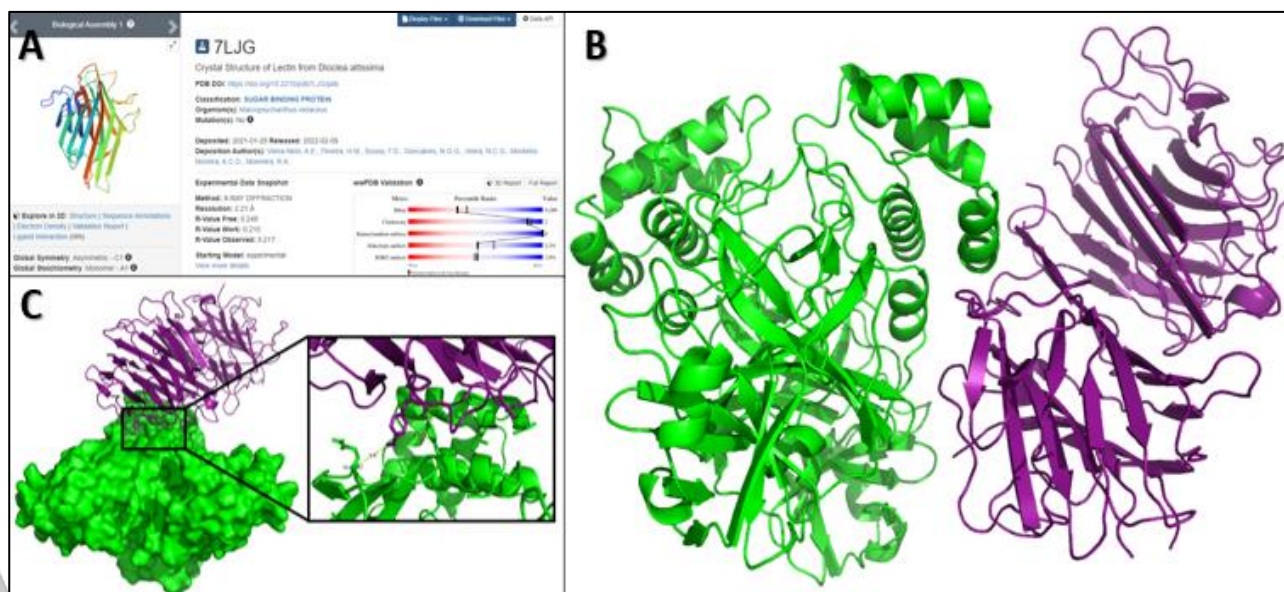
Para obter a proteína em conformação sólida, foi realizado um screening de meios cristalográficos, determinando a melhor condição química para cristalização por difusão de vapor. A lectina DAL foi purificada conforme Moreira et al. (1997) via cromatografia de afinidade, e dissolvida em tampão Tris-HCl a 6,0 mg/ml. A solução foi centrifugada e usada em ensaios de cristalização “hanging-drop” em placas Linbro a 293K, com 123 condições testadas (Crystal Screen, Crystal Screen 2, Index). Dados de difração de raios X foram coletados usando uma fonte Rigaku MicroMax-007 HF, com cristais imersos em solução crioprotetora para evitar congelamento. Os dados foram processados com iMosflm (Battye et al., 2011) e AIMLESS (Evans & Murshudov, 2013) em parceria com o Instituto de Física de São Carlos, adaptando o protocolo de Monteiro-Moreira et al. (2015). Em seguida, a substituição molecular foi feita com Phaser (McCoy et al., 2007), e a sequência de aminoácidos obtida via espectrometria de massas foi validada no Protein Data Bank (PDB ID: 7LJG). O docking molecular foi realizado com a MPRO do SARS-CoV-2 (PDB ID: 7WYP) e a DAL (PDB ID: 7LJG), usando o software Hex 8.0.0 (Macindoe et al., 2010), com análise feita no PyMol (Delano, 2014). O docking molecular é uma ferramenta que permite prever interações

entre proteínas e identificar alvos terapêuticos, ajudando no desenvolvimento de novos fármacos (Agu et al., 2023).

3 RESULTADOS

A estrutura obtida foi depositada no Protein Data Bank, e disponibilizada ao público geral com o código 7LJG (Figura 1A). O docking molecular revelou as 10 interações mais eficientes na associação da DAL com a proteína viral MPRO. A lectina apresentou compatibilidade espacial e energética num domínio tridimensional que pode bloquear, fisicamente, a função enzimática da MPRO (Figura 1B). Ao analisar o sítio de interação, é possível observar que a DAL interagiu de forma eficiente com 6 resíduos de aminoácidos da proteína MPRO (Gln107, Tyr178, Pro252, Leu253, Gln256 e Phe294), realizando 6 ligações químicas, que variam de 2.4 a 5.6 angstroms, o que pode comprometer a função biológica da enzima MPRO e inativar sua função viral (Figura 1C). A estrutura da enzima MPRO, ao associar-se com o domínio ligante da DAL, apresentou estabilização energética de -736.64kcal/mol, o que sugere uma diminuição na sua vibração intrínseca e no seu papel biológico.

Figura 1: Potencial anti-covid da lectina de *Dioclea altíssima* (DAL) avaliado *in silico* através de simulação computacional; (A) estrutura inédita obtida através de técnicas cristalográficas e depositada no Protein Data Bank; (B) Complexo DAL-MPRO evidenciando a ligação da lectina com a proteína viral; (C) Sítio de ligação evidenciando as ligações químicas que indicam a atividade lectínica desestabilizadora da principal proteína estrutural do novo coronavírus.



Fonte: autora.

4 DISCUSSÃO

As evidências químicas, espaciais e energéticas observadas na interação entre a MPRO e a DAL sustentam o potencial biomédico observado em outros estudos farmacológicos (Araújo et al, 2022) e corrobora sua biossegurança, sugerindo que além das atividades farmacológicas relatadas na literatura, a DAL também apresenta potencial biomédico contra Covid-19. Neste caso, a lectina vegetal teve sua estrutura 3D resolvida e demonstrou-se capaz de complexar uma importante proteína viral do novo coronavírus, ao estabelecer ligações químicas, recrutar resíduos de aminoácidos importantes para sua conformação tridimensional e reduzir sua energia intrínseca.

5 CONCLUSÃO

Com base no que foi apresentado, pode-se concluir que a estratégia experimental foi eficiente na elucidação da hipótese sugerida no método científico: a estrutura tridimensional de uma proteína vegetal pode fornecer dados que, associados a técnicas computacionais, são capazes de promover o desenvolvimento de fármacos com base na sua compatibilidade química com receptor biológicos. Os dados desta pesquisa certamente poderão fomentar estudos *in vitro*, *in vivo* e estudos pré-clínicos de validação desta proteína vegetal como biofármaco adjuvante no tratamento da Covid-19.

REFERÊNCIAS

- AGU, P. C. et al. Molecular docking as a tool for the discovery of molecular targets of nutraceuticals in diseases management. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 1–18, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40160-2>
- ARAÚJO, J. R. C. et al., Dioclea Altissima Seed Lectin (DAL) Prevents Anxiety-like Behavioral Responses in Adult Zebrafish (Danio Rerio): Involvement of GABAergic and 5-HT Systems. **CNS Neurol Disord Drug Targets**. 2022;21(1):95-103. <http://doi:10.2174/187152732066621021211265>
- BATTYE, T. G. G. et al. iMOSFLM : a new graphical interface for diffraction-image processing with MOSFLM. *Acta Crystallographica Section D Biological Crystallography*, v. 67, n. 4, p. 271–281, 1 abr. 2011. Disponível em: <https://scripts.iucr.org/cgi-bin/paper?S0907444910048675>
- DELANO, W. L. The PyMOL Molecular Graphics System, Version 1.8. Schrödinger LLC, p. <http://www.pymol.org>, 2014.
- MACINDOE, L. et al., HexServer: an FFT-based protein-docking server powered by graphics processors. **Nucleic Acids Research**. 38, 445–449, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nar/gkq311>
- MAZALOVSKA, M. et al. Plant-Derived Lectins as Potential Cancer Therapeutics and Diagnostic Tools. **BioMed Research International**, v. 2020, 2020.

MONTEIRO-MOREIRA, A.C. et al., Crystallization and preliminary X-ray diffraction studies of frutalin, an α -D-galactose-specific lectin from *Artocarpus incisa* seeds. **Acta Crystallogr F Struct Biol Commun.** 2015 Oct;71(Pt 10):1282-5. Doi: <http://10.1107/S2053230X15015186>

MOREIRA, R.A. et al., Isolation and characterization of *Dioclea altissima* var. megacarpa seed lectin, **Phytochemistry**, Volume 46, Issue 1, 1997.

Rani, C., Rajput, V.S., Ubaid-ullah, S. (2023). Structural Biology an Essential Tool for Drug Discovery and Development. In: Rajput, V.S., Runthala, A. (eds) **Drugs and a Methodological Compendium** . Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-19-7952-1_2