

# Cristalografia para Descoberta de Fármacos contra o SARS-CoV-2

Prof. Dr. Walter F. de Azevedo Jr.



A cristalografia por difração de raios X é a principal técnica usada para a determinação da estrutura tridimensional de biomoléculas. Aqui está descrito como podemos aplicar a técnica de cristalografia por difração de raios X para a descoberta de fármacos para tratar a COVID-19. As principais etapas da técnica são apresentadas de forma didática e objetiva. É discutida a analogia da chave-fechadura e como podemos usar esta abordagem para entendermos a interação intermolecular de um fármaco com sua proteína-alvo. É usada a protease principal do SARS-CoV-2 como exemplo de aplicação da cristalografia para a descoberta de fármacos para tratar a COVID-19.

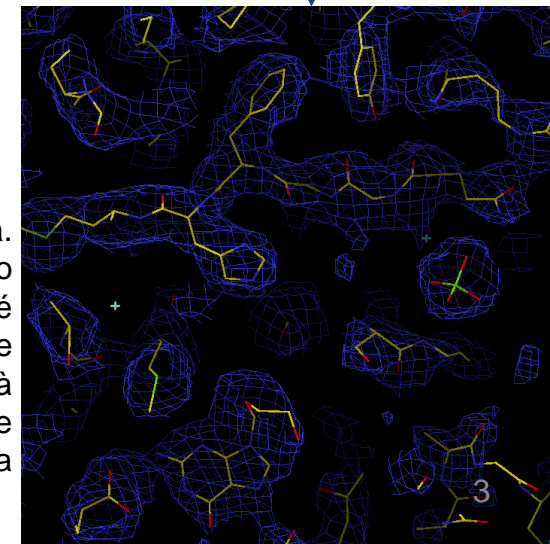
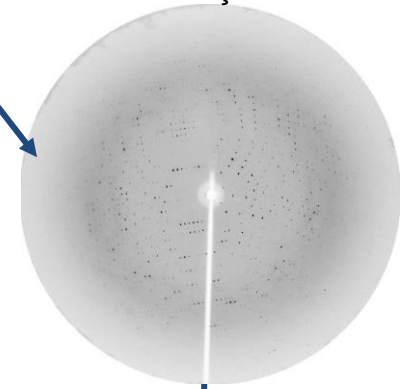


Etapas para resolução da estrutura 3D de macromoléculas biológicas por cristalografia

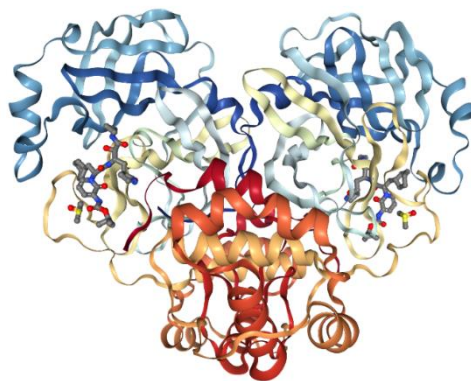


2. Coleta de dados de difração de raios X no LNLs. Os cristais apresentam um arranjo ordenado de moléculas, como uma pilha de tijolos ordenados. Na analogia, cada tijolo representa uma molécula. As distâncias entre os átomos são da ordem de 1 Å (0,1 nm ou  $10^{-10}$  m), usando-se raios X (com comprimento de onda da ordem de Å) teremos difração.

3. Interpretação do padrão de difração de raios X. A figura abaixo é o registro da difração de raios X de um cristal. Os raios X interagem com o cristal, o que produz um padrão de difração. A análise dessa informação possibilita a resolução de estrutura 3D.

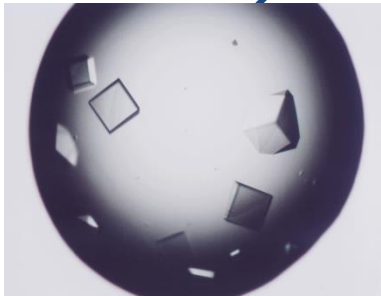


4. Resolução da estrutura. A partir da análise do padrão de difração é possível gerar mapas de densidade eletrônica (à direita). A interpretação de tais mapas gera a estrutura 3D de molécula.



5. Análise. A partir da estrutura resolvida procedemos à análise, onde relaciona-se a estrutura 3D à sua função biológica.

1. Cristalização. Nesta etapa a macromolécula é trazida a um estado de supersaturação que favorece a formação de cristais, como os mostrados acima. Os cristais de moléculas biológicas normalmente apresentam dimensões inferiores a 1 mm de comprimento em cada aresta.



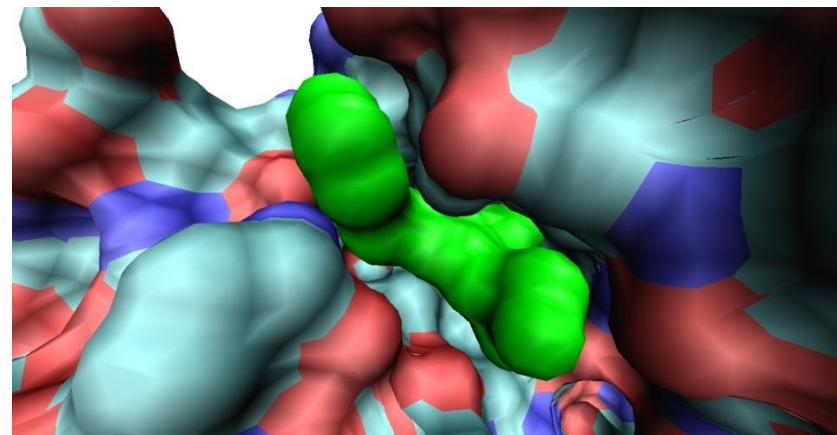
Muitos fármacos são desenvolvidos a partir do uso de simulações computacionais, inclusive baseados nas ideias da evolução darwiniana. Para entender tais estudos, temos que ver a interação do fármaco com uma proteína alvo. Podemos usar a analogia da interação da chave com a fechadura, onde o fármaco é a chave e a proteína alvo é a fechadura. No caso de enzimas a fechadura será o sítio ativo, e o inibidor a chave. Temos que destacar que tal analogia é só para captarmos a essencial da interação, o fenômeno da interação proteína-fármaco é mais complexo, mas para nossos propósitos será suficiente tal comparação.



*Interação da chave (fármaco) com a fechadura (sítio ativo da enzima)*

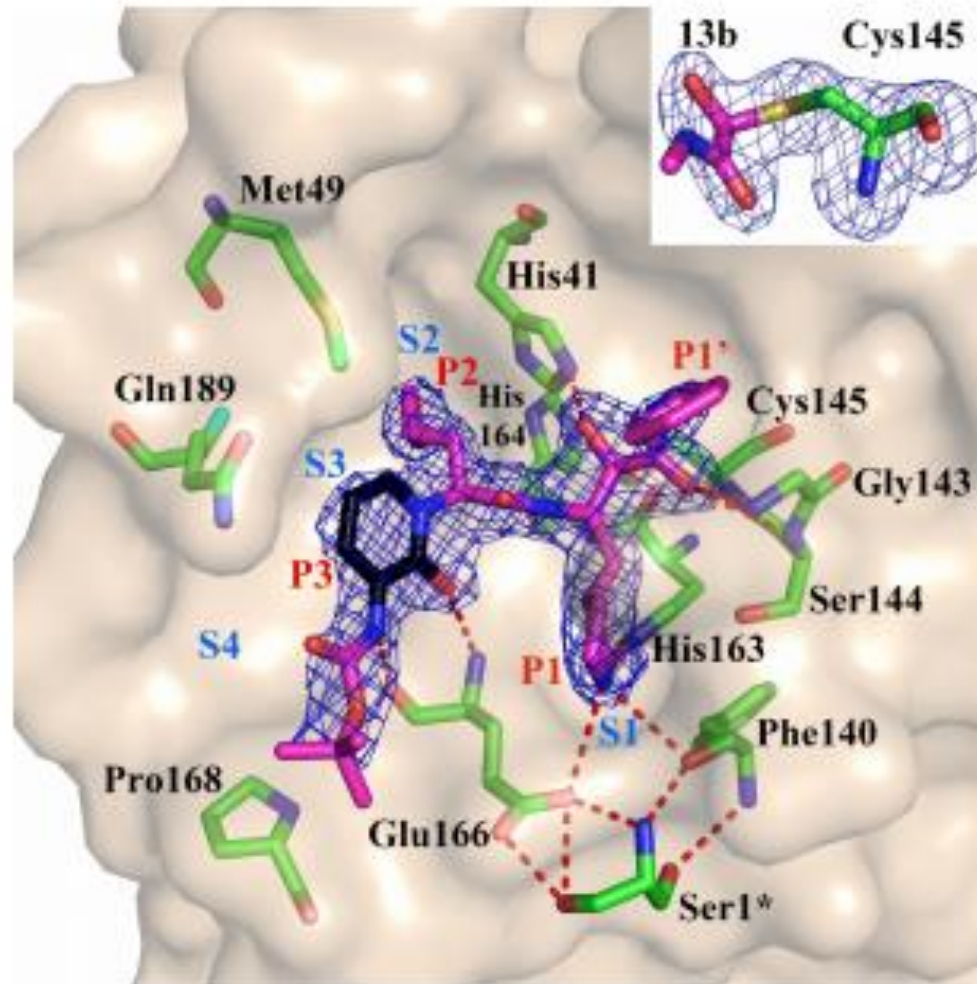


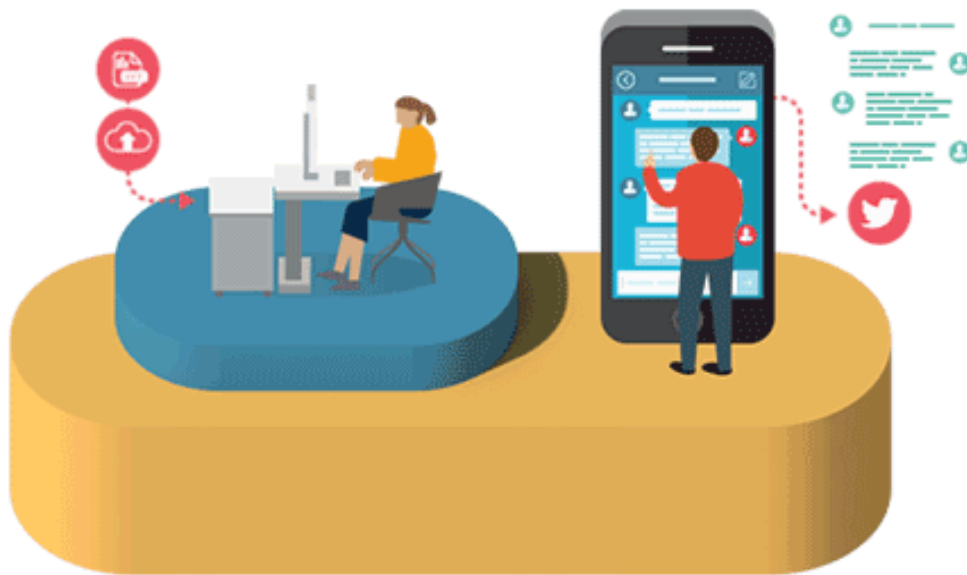
A interação de um possível inibidor de uma enzima pode ser obtida por meio de algoritmos evolucionários, num método chamado *docking* molecular (docagem molecular). Nesta simulação computacional, são tentadas várias posições possíveis para a chave (possível inibidor), mudando-se sua orientação relativa dentro do sítio ativo da enzima. Ao final da simulação temos várias posições possíveis para a chave (possível inibidor) no sítio ativo da enzima (fechadura). O melhor resultado (a melhor posição da chave na fechadura) é escolhido a partir de uma **função de ajuste (também chamada de score)**.



*Na figura acima vemos o inibidor (chave) em verde bem acomodado no sítio ativo (fechadura). As cores da superfície molecular representam a carga elétrica parcial, com vermelho indicando concentração de carga negativa, azul positiva e ciano neutro.*

A figura ao abaixo mostra o sítio ativo da protease principal da SARS-CoV-2 obtida da estrutura resolvida por cristalografia de difração de raios X.



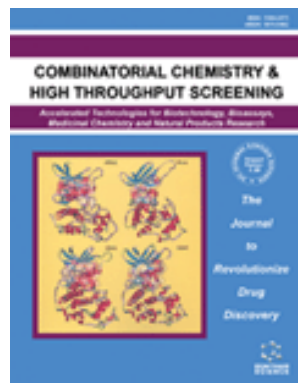
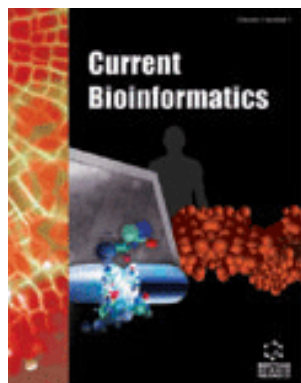
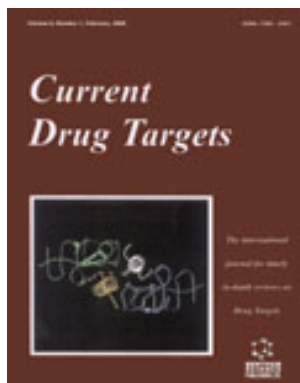


- 1) Na analogia com a chave-fechadura, qual parte é o fármaco e qual é o sítio ativo da enzima?
- 2) Qual o tipo de radiação é usada para resolver uma estrutura com cristalografia?



Prof. Azevedo is Frontiers Section Editor (Bioinformatics and Biophysics) of the Current Drug Targets, section editor (Bioinformatics in Drug Design and Discovery) of the Current Medicinal Chemistry, section editor (Combinatorial/Medicinal Chemistry) for the Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening, member of the editorial board of Current Bioinformatics, and editor of Docking Screens for Drug Discovery (Methods of Molecular Biology)(Springer Nature). He is also member of the editorial board of PeerJ, PeerJ Physical Chemistry, Organic & Medicinal Chemistry International Journal, and section editor in chief (Bioinformatics) of the Bioengineering International. He graduated in Physics (BSc in Physics) from the University of São Paulo (USP) in 1990. He completed a Master Degree in Applied Physics also from the USP (1992), working under the supervision of Prof. Yvonne P. Mascarenhas, the founder of crystallography in Brazil. His dissertation was about X-ray crystallography applied to organometallics compounds (De Azevedo Jr. et al., 1995). During his PhD, he worked under the supervision of Prof. Sung-Hou Kim (University of California, Berkeley), on a split Ph.D. program with a fellowship from Brazilian Research Council (CNPq)(1993-1996). His PhD was about the crystallographic structure of CDK2 (De Azevedo Jr. et al., 1996). His current position is coordinator of the Structural Biochemistry Laboratory at Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS). His research interests are interdisciplinary with two major emphases: molecular simulations and protein-ligand interactions. He published over 190 scientific papers about protein structures and computer models to assess intermolecular interactions involving biomolecules and potential ligands (H-index: 37, RG Index > 41.0). These publications have over 4900 citations in the Web of Science (Publons h-index: 37), more than 5600 citations in the Scopus (h-index: 41), and over 7100 citations in the Google Scholar (h-index: 44).

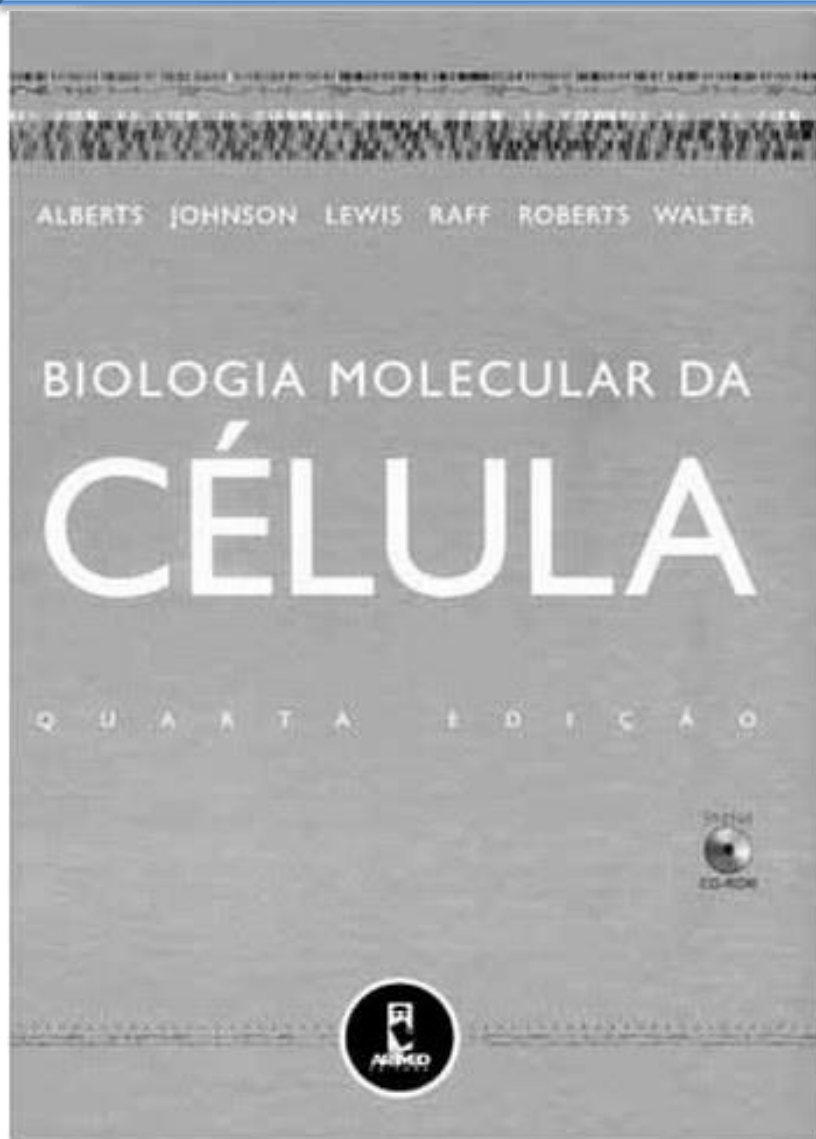
**PROUD**  
to be  
a **Springer Author**  
Read a free  
preview!



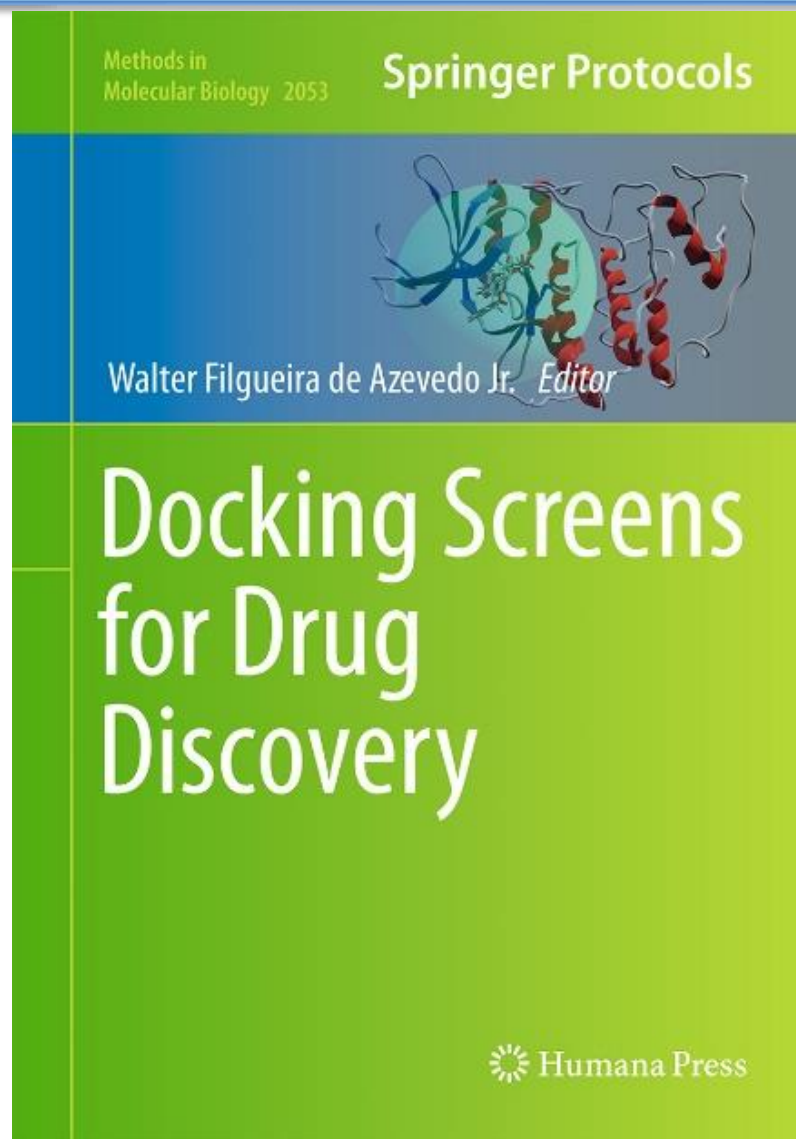


<https://www.facebook.com/azevedolab.net/>

The screenshot shows the Facebook profile page for 'azevedolab.net'. At the top, there is a navigation bar with the Facebook logo and login fields for 'Email ou telefone' and 'Senha', with an 'Entrar' button and a link for 'Esqueceu a conta?'. Below the navigation bar is a left sidebar with menu items: 'Página inicial', 'Sobre', 'Fotos', 'Website', 'Vídeos', 'Publicações', and 'Comunidade'. The main content area features a 'Fotos' section with a large schematic flowchart titled 'Schematic Flowchart for Application of Bioinformatics Tools to Discover Drugs Against COVID-19'. The flowchart illustrates a process starting with 'Protein Structures of SARS-CoV-2' and 'Selection of Targets of SARS-CoV-2', leading to 'Machine Learning' (involving IC50 and 3D Structures), 'Molecular Docking', 'Virtual Screening', and 'Selection of the Best Hits (Potential New Drugs Against COVID-19)'. It also mentions 'Protein-Ligand Binding Affinity Databases' and 'ZINC Database'. Below the flowchart are three smaller images: a book cover 'TOP DOWNLOADED PAPER 2018-2019' by Walter Filgueira de Azevedo, Jr., a book cover 'CHEMICAL BIOLOGY & DRUG DESIGN', and a movie poster for 'ALIEN'. To the right of the main content, there are sections for 'Azevedolab' (Ciência, tecnologia e engenharia em Porto Alegre, Rio Grande do Sul), 'Comunidade' (97 pessoas curtiram isso, 97 pessoas estão seguindo isso), and 'Sobre' (Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS) (5,61 km), 90619-900 Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Como chegar, +55-53535555, azevedolab.net, Ciência, tecnologia e engenharia).



ALBERTS, B. *et al.* **Biologia Molecular da Célula**. 4a edição. Porto Alegre: Artmed editora, Porto Alegre, 2004.



FILGUEIRA DE AZEVEDO, W. Jr. (Editor) **Docking Screens for Drug Discovery**. **Methods in Molecular Biology**. Vol. 10 2053. Springer Science+Business Media, 2019.