

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ABC**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E HUMANAS**

Michael Ferreira de Oliveira

**PERSPECTIVAS SOBRE O USO DE COMPOSTOS ORGANOELEMENTO E  
ORGANOMETÁLICOS COMO AGENTES ANTIVIRAIS PARA SARS-CoV-2 E  
OUTROS CORONAVÍRUS**

Trabalho de Conclusão de Curso

Santo André - SP

2021

Michael Ferreira de Oliveira

**PERSPECTIVAS SOBRE O USO DE COMPOSTOS ORGANOELEMENTO E  
ORGANOMETÁLICOS COMO AGENTES ANTIVIRAIS PARA SARS-CoV-2 E  
OUTROS CORONAVÍRUS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Química da Universidade Federal do ABC, junto à Disciplina NHT4046-15 Trabalho de Conclusão de Curso em Química, como requisito para obtenção do grau de Bacharel em Química.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Luiz Oliveira Rodrigues Cunha

Santo André - SP

2021



## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus pela graça e a minha família por todo o apoio desde o início do Ensino Superior. Foram, sem dúvidas, muitos momentos de superação e resiliência que, com a ajuda de cada um, pude construir.

A todos os meus amigos por serem as pessoas que muitas vezes me inspiraram e serviram como exemplo, não somente de coisas boas, mas também por compartilhar dificuldades e momentos difíceis, superados com a ajuda mútua.

Ao meu orientador, Rodrigo Cunha, por ter aceitado me orientar, ter me dado ótimas dicas e conselhos não somente neste trabalho, mas também durante toda a graduação, desde as disciplinas até a todo acompanhamento dos meus estágios na Indústria.

Ao corpo docente da UFABC e, em particular, do Bacharelado e da Licenciatura em Química, por compartilhar, desenvolver e apoiar o meu desenvolvimento.

À UFABC, representando aqui todas as pessoas que são a essência desta instituição. Discentes, docentes, técnicos-administrativos, terceiros e comunidade local que a defendem de qualquer ação que tenta atingir o desenvolvimento e crescimento da Universidade pública, gratuita e de excelência.

## RESUMO

A Covid-19 é uma doença causada pelo novo coronavírus SARS-CoV-2 e com estado de pandemia declarado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em março de 2020. Causadora de Síndrome Respiratória Grave, ainda não há tratamento específico contra a Covid-19, sendo tomadas apenas medidas de amenização dos sintomas.

Devido à gravidade e o impacto global que tem causado, a busca por um tratamento contra a Covid-19 tem sido alvo de muitas pesquisas e esforços no mundo todo. O desenvolvimento de potenciais terapêuticos, juntamente com as vacinas, são caminhos importantes para a retomada da normalidade.

Entre muitos alvos, a inibição de proteases diretamente relacionadas ao ciclo viral tem sido muito explorada e tem se mostrado como promissora. Inibir as cisteíno proteases Mpro e PLpro, significa interferir em uma importante etapa da replicação do SARS-CoV-2 na célula hospedeira.

Diversos fármacos estão sendo testados para a inibição destas cisteíno proteases, entre eles compostos organoelemento e organometálico. Compostos orgânicos de selênio, telúrio e ouro já são alvos de pesquisas por apresentarem resultados anteriores eficazes em diversas patologias.

Este trabalho busca compreender se de fato compostos organoelemento e organometálico, em especial para compostos de Selênio e de Telúrio, e alguns outros exemplos são potenciais antivirais contra o SARS-CoV-2.

**Palavras-chave:** Covid-19, coronavírus, cisteíno protease, compostos organoelemento, inibidores de protease.

## ABSTRACT

Covid-19 is a disease caused by the new coronavirus SARS-CoV-2 with a pandemic status declared by the World Health Organization (WHO) in March 2020. Causing Severe Respiratory Syndrome, there is still no specific treatment against Covid-19, with measures to alleviate symptoms.

Due to the severity and global impact that it has caused, the search for treatment against Covid-19 has been the subject of much research and efforts worldwide. The development of therapeutic potentials, together with vaccines, are important ways to return to normality.

Among many targets, the inhibition of proteases causally related to the viral cycle has been widely explored and has shown promise. Inhibiting the cysteine proteases Mpro and PLpro, means interfering in an important stage of SARS-CoV-2 replication in the host cell.

Several drugs are being tested to inhibit these cysteine proteases, including organoelement and organometallic compounds. Organic compounds of selenium, tellurium and gold are already targets of research because they present previous effective results in several pathologies.

This work aims to understand whether in fact organoelement and organometallic compounds, especially for Selenium and Tellurium compounds, and some other examples are potential antivirals against SARS-CoV-2.

**Key words:** Covid-19, coronavirus, cysteine protease, organoelement compounds, protease inhibitors

## SUMÁRIO

1. MOTIVAÇÃO E OBJETIVOS .....	8
2. FUNDAMENTAÇÃO.....	9
2.1. Coronavírus.....	9
<b>2.1.1. Epidemias e pandemias, sempre acompanhando a humanidade ..</b>	<b>11</b>
<b>2.1.2. Covid-19 .....</b>	<b>13</b>
<b>2.1.3. Ciclo Viral de SARS-CoV-2.....</b>	<b>16</b>
<b>2.1.4. Estratégias para tratamento da Covid-19 .....</b>	<b>18</b>
2.2. Biotóis .....	20
2.3. Cisteíno Proteases (CPs).....	23
<b>2.3.1. Mecanismo de catálise .....</b>	<b>24</b>
<b>2.3.2. CPs de coronavírus .....</b>	<b>25</b>
<b>2.3.3. Inibidores de CPs .....</b>	<b>30</b>
2.4. Agentes antivirais baseados na inibição da Mpro e PLpro.....	31
<b>2.4.1. Compostos organoelemento: Selênio e Telúrio .....</b>	<b>31</b>
<b>2.4.2. Outros elementos de interesse .....</b>	<b>35</b>
3. PERSPECTIVAS E CONCLUSÃO .....	38
4. REFERÊNCIAS.....	40

## 1. MOTIVAÇÃO E OBJETIVOS

Compostos orgânicos funcionalizados com elementos representativos como o Selênio, o Telúrio e o Arsênio apresentam atividades biológicas interessantes muitas vezes relacionadas com sua reatividade frente a tióis - isso vale também para compostos organometálicos de ouro, paládio, platina entre outros.

Do ponto de vista biológico, os tióis têm um papel central em função de sua reatividade como nucleófilos, bem como, em processos de oxirredução associados à manutenção da homeostase celular. Diversas enzimas possuem tióis reativos e, entre elas, destacaremos neste trabalho as cisteíno proteases, em função de seu papel no ciclo de replicação de coronavírus. Essas enzimas são consideradas um dos alvos para o desenvolvimento de antivirais para coronavírus, sendo que sua inibição é crítica para o ciclo de replicação viral; assim, inibidores destas enzimas têm mostrado inibição da replicação de SARS-CoV-1, MERS-CoV e SARS-CoV-2.

Portanto, busca-se responder neste trabalho a seguinte pergunta: Os compostos organoelemento e organometálico apresentam de fato potencial para a terapia antiviral para estes vírus?

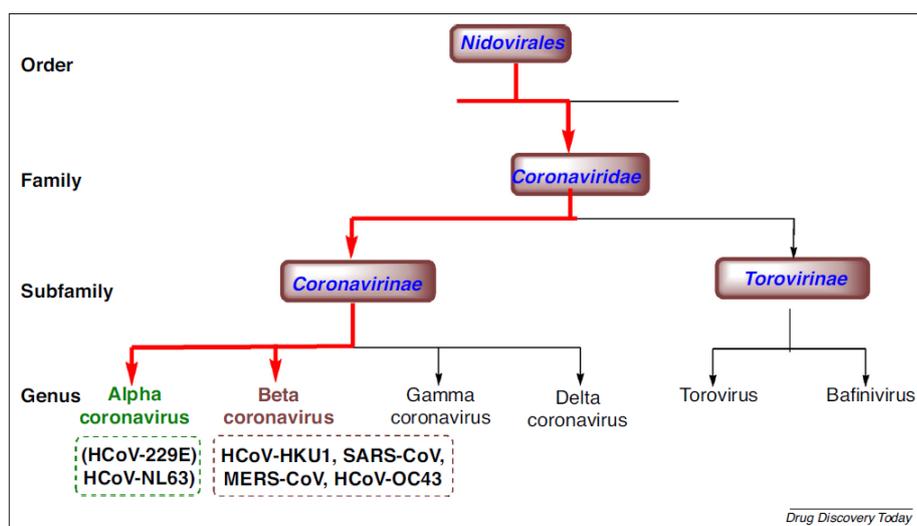
## 2. FUNDAMENTAÇÃO

### 2.1. Coronavírus

Coronavírus refere-se a uma classe de vírus de genoma RNA, responsáveis por causar diversas doenças, de leves a severas, desde gripes comuns até as mais graves como a síndrome aguda respiratória grave (do inglês, SARS), a síndrome respiratória do Oriente Médio (do inglês, MERS) e a Covid-19, cujo acometimento mais comum é em mamíferos e aves (WIKIPEDIA CONTRIBUTORS, 2021). Esta classe de vírus já é conhecida desde a década de 1960, quando pesquisas com vírus causadores de gripes comuns, normalmente rinovírus e adenovírus, indicavam estruturas diferentes e que não puderam ser cultivadas com as técnicas padrão da época.

De acordo com a classificação para os vírus, vista na taxonomia descrita na figura 1, os coronavírus pertencem à subfamília Orthocoronavirinae, um dos subgrupos da família Coronaviridae, ordem Nidovirales, do reino Riboviria. São divididos, por sua vez, em 4 grandes gêneros: Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Gammacoronavirus e Deltacoronavirus (PILLAIYAR *et al.* 2020) As espécies causadoras de síndromes respiratórias agudas graves, tais como MERS e Covid-19, pertencem ao gênero Betacoronavirus.

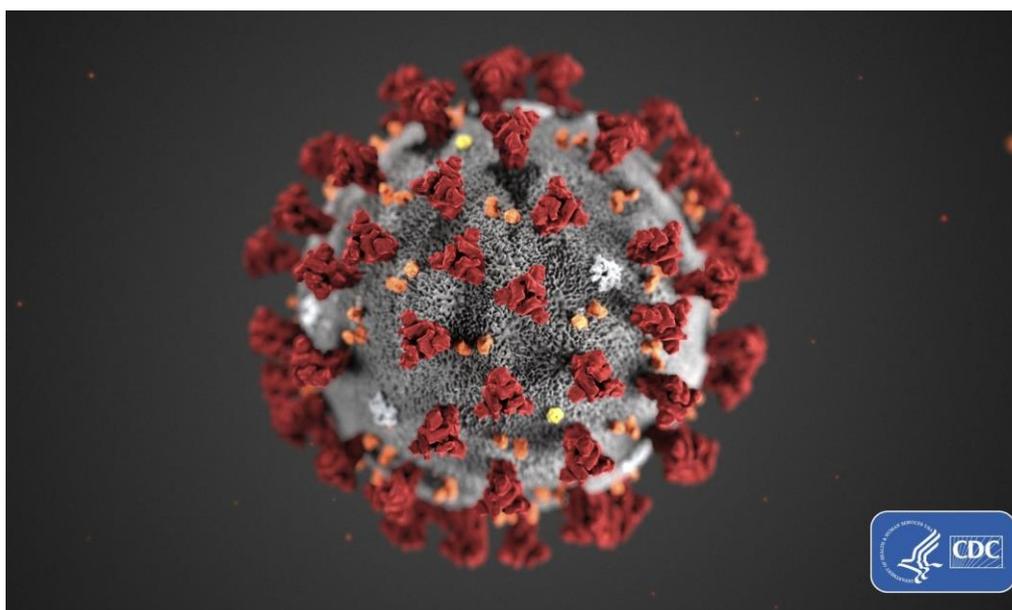
**Figura 1** – Taxonomia do Coronavírus. Fonte: PILLAIYAR *et al.*



Como outros vírus, os coronavírus possuem um envelope viral constituído de uma bicamada lipídica e proteínas de membrana, além do nucleocapsídeo, responsável por proteger seu material genético quando está fora da célula de algum organismo vivo. No caso dos coronavírus, estes possuem um RNA genômico de senso positivo, grupo IV (+)ssRNA, segundo a classificação de Baltimore<sup>1</sup>, isto é, a fita simples de RNA já atua como RNA mensageiro (RNAm), fazendo com que sejam lidos diretamente pelos ribossomos e traduzidos imediatamente em proteínas após a replicação, agilizando a sua disseminação no sistema do hospedeiro. Outra vantagem da fita simples de senso positivo dos coronavírus é a modulação da *autofagia celular*, dessa forma eles se aproveitam do mecanismo de degradação e reciclagem dos componentes celulares para proliferar e espalhar seu material genético a outras células (DÖMLING e GAO, 2020).

O termo *coronavírus* deriva das imagens obtidas em microscopias eletrônicas, uma vez que as glicoproteínas projetadas para fora do envelope fosfolipídico, chamadas de *spike proteins*, lembram uma coroa solar; em inglês, corona significa coroa. É justamente através da *spike protein* que o vírus consegue se ligar à célula hospedeira no organismo infectado, dando início ao processo de replicação viral e, posteriormente, ao desenvolvimento das doenças que podem causar.

**Figura 2** – Ilustração gráfica do Coronavírus SARS-CoV-2. Fonte: AP



---

<sup>1</sup> Definida por David Baltimore para classificar os vírus segundo o seu genoma e estratégia de replicação.

### **2.1.1. Epidemias e pandemias, sempre acompanhando a humanidade**

Desde muito cedo na história, o ser humano vive em contato com agentes responsáveis por muitas doenças. De vírus a bactérias, passando por parasitas diversos e fungos, o contato se dá por vários meios, como o ar, água e lixo, além da interação com o ambiente e os animais, uma das principais causas da crescente vertente infecciosa na população humana.

Segundo HØIBY (2021), há milhares de anos, as interações humanas com o meio ambiente e as aglomerações entre os indivíduos não era um problema do ponto de vista epidemiológico, visto que as comunidades eram compostas por cerca de 25 a 40 pessoas. No entanto, há cerca de 10 mil anos a.C., a humanidade já traçava novos caminhos e comportamentos, que iam desde a agricultura e domesticação de animais até a constituição de grandes comunidades e cidades. O aumento das relações humanas entre si, com o ambiente e cada vez mais com os animais, além de grandes processos exploratórios e migratórios que levaram a maiores densidades populacionais, permitiu uma alteração do perfil para o surgimento de condições propícias para o surgimento de doenças e, posteriormente, às epidemias e pandemias.

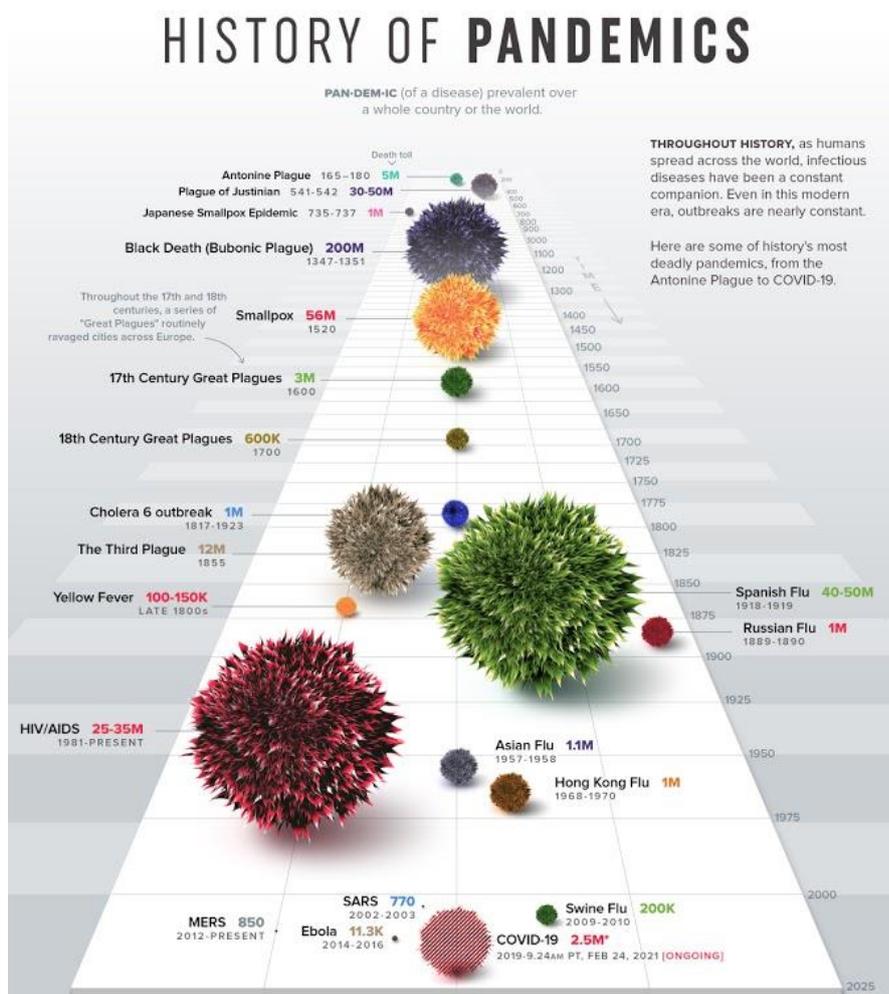
Os primeiros registros de epidemias são chineses e datam de 243 a.C. Com o passar dos anos e com o crescimento populacional, os casos de doenças levando a surtos também se tornaram mais frequentes. Embora não se saiba quais e nem como os microrganismos causaram tais epidemias, de acordo com HØIBY (2021) “a correlação entre o tamanho crescente da população e o aumento frequente de surtos é importante para a compreensão da dinâmica de propagação de epidemias e pandemias”

De acordo a Organização Mundial da Saúde (OMS), uma epidemia consiste em um aumento do número de casos, acima de um valor esperado, de uma determinada doença em uma região não especificamente delimitada, podendo haver também diversos focos em dadas regiões. Diferencia-se do surto pois este último limita-se a uma região bem específica, podendo ser um bairro ou uma cidade. A pandemia, por sua vez, refere-se a uma disseminação a nível mundial de uma doença para a qual não existe imunidade, segundo a própria OMS. Cabe à OMS, inclusive, declarar o estado de pandemia, através de seus dirigentes em consulta a profissionais de saúde

do mundo todo e com base na dinâmica da disseminação da patologia em diferentes regiões.

São muitos os casos de epidemias e pandemias na história, como elucidada a figura 3. Peste bubônica, varíola, cólera, gripe espanhola, entre outras, são exemplos de cenários que os homens já vivenciaram, e onde foram dizimados em alguns deles. A partir do início do século XXI, as epidemias mais recentes estão relacionadas, principalmente, às infecções do trato respiratório, como a Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS, em inglês), ocorrida entre 2002 e 2003 na China, Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS) em 2012 e a Doença do Coronavírus (COVID-19), em 2019. Em comum, todas elas são causadas por Coronavírus, uma classe de vírus de genoma RNA, transmitidos aos humanos por meio de algum animal hospedeiro e disseminados pelas interações dos indivíduos em uma sociedade altamente dinâmica e conectada (ALANAGREH *et al.* 2020).

**Figura 3** – Linha do tempo das principais epidemias e pandemias da história. Fonte: Visual Capitalist



### 2.1.2. Covid-19

A Covid-19, do inglês Coronavirus Disease 2019, *doença do Coronavírus 2019* em tradução livre, é uma síndrome respiratória grave causada por uma espécie de Coronavírus, especificamente o SARS-CoV-2. Entre seus sintomas mais comuns estão febre, tosse, falta de ar, dor de garganta e perda de olfato e paladar, que costumam surgir a partir do segundo dia de contato com o vírus e durar cerca de 2 semanas, com tempo de médio de 5 dias, apesar de diversas sequelas serem descritas a longo prazo (WIKIPEDIA CONTRIBUTORS, 2021).

A contaminação se dá pelo contato com fluidos corporais da pessoa contaminada, tais como gotículas que são espalhadas ao tossir, espirrar e falar. Estas partículas podem atingir diretamente boca, nariz e olhos ou ficarem depositadas sobre superfícies, como embalagens e objetos de uso comum, tornando-se potenciais vetores para a infecção de indivíduos saudáveis. Boas práticas de higiene, que incluem lavar bem as mãos, evitar o contato direto com o rosto, cobrir nariz e boca com um lenço ou cotovelo ao tossir e espirrar, juntamente com medidas de distanciamento social e uso de máscaras em lugares públicos, são os meios mais eficazes de combater e evitar a disseminação da doença entre as pessoas.

As infecções por coronavírus e, mais especificamente por betacoronavírus, gênero do SARS-CoV-2, já eram conhecidas em animais há algumas décadas e há alguns anos começaram a ser relatadas e comprovadas como a causa de algumas infecções respiratórias em humanos, caso da SARS e MERS. Nestes dois casos e até então a hipótese mais aceita para a Covid-19, os vírus tiveram origem em morcegos e foram transmitidos aos humanos por meio de algum outro animal mais próximo às pessoas (SINGHAL, 2020). Com o primeiro caso relatado na província de Hubei, em Wuhan, China, em dezembro de 2019, a Covid-19 tornou-se rapidamente um problema de saúde pública mundial, sendo declarado pela OMS o estado de pandemia em março de 2020. Não somente na saúde, a pandemia da Covid-19 tem causado também fortes impactos na economia, desenvolvimento humano e social e no meio-ambiente.

Em Hubei, casos iniciais de uma pneumonia desconhecida começaram a ser relatados em dezembro de 2019; em comum, todos os infectados tiveram contato com um mercado local de frutos do mar. Algumas semanas depois, uma análise do vírus causador da então pneumonia desconhecida, apontou uma similaridade de 95% com

o coronavírus dos morcegos e de 75% com o coronavírus SARS-CoV-1. Em 11 de janeiro de 2020, foi descrito o primeiro caso fatal desta doença.

Os casos de Covid-19 se espalharam rapidamente com a transmissão comunitária entre os humanos. Em março de 2020, já com o estado de pandemia declarado, a doença registrava mais de 118 mil infectados e cerca de 4200 mortes; mais de um ano depois, em fevereiro de 2021, os casos somavam mais de 107 milhões e os mortos aproximadamente 2,3 milhões. Segundo dados da Universidade Johns Hopkins, em 22 de fevereiro de 2021 a taxa de letalidade mundial é de 2,2%, definida pela razão entre o número de mortos e o número total de infectados.

Cerca de 80% dos doentes não apresentam ou apresentam sintomas leves, mas a necessidade de hospitalização dos pacientes em quadros graves é ainda motivo de preocupação para os sistemas de saúde mundiais, uma vez que a capacidade do sistema não é suficiente para atender todos os casos em um curto intervalo, levando à superlotação de enfermarias e UTIs e esgotamento de recursos técnicos e humanos, tais como respiradores, insumos hospitalares, médicos e enfermeiros. Existem ainda condições clínicas que podem evoluir pacientes em quadros leves e estáveis a quadros graves e, geralmente, estão associadas à idade e problemas preexistentes. Diabetes, doenças cardiovasculares e respiratórias, imunossupressão, entre outros, são fatores de risco que podem agravar o desenvolvimento da doença, levando o infectado à necessidade de cuidados intensivos, mas também não raramente a óbito por complicações generalizadas.

O diagnóstico da Covid-19 não é tão simples de ser feito, uma vez que seus sintomas podem levar à confusão com outras doenças do trato respiratório, como a gripe comum. Outro fator que implica no diagnóstico é a discrepância dos sintomas entre as pessoas infectadas (WIKIPEDIA CONTRIBUTORS, 2021). Como já mencionado, algumas são até assintomáticas, enquanto outras apresentam 1 ou 2 manifestações, algumas vezes diferentes das comuns. A perda de olfato e/ou paladar, mesmo que de baixa intensidade, tem sido um dos principais sinais de alerta da manifestação da doença, mas também há registro de indivíduos que não apresentam esse quadro clínico.

O principal meio de diagnóstico e, conseqüentemente, medida para evitar a disseminação da doença, é a testagem daqueles que apresentam algum sintoma relacionado, identificado na anamnese médica, e potencializado pelo contato com alguém já infectado ou em suspeita. As estratégias de testagem em massa têm sido

adotadas por alguns países e se mostraram grandes aliadas no controle da pandemia, por identificar os casos precocemente, possibilitando o isolamento do paciente impedindo-o de ser um vetor de transmissão (MALAVÉ, 2021).

Existem dois principais tipos de testes para o diagnóstico da Covid-19: o RT-PCR, conhecido como teste molecular, e o sorológico, chamado de teste rápido. A principal diferença, além do tempo para obtenção do resultado, é a forma de como a análise é feita e o que de fato ela investiga (MALAVÉ, 2021).

Os testes moleculares do tipo RT-PCR procuram pelo material genético do vírus, no caso o RNA, nas amostras biológicas, normalmente um swab com fluidos obtidos das mucosas nasal e bucal de pacientes. A técnica, que em inglês significa *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction*, Transcrição Reversa de Reação em Cadeia da Polimerase, consiste na duplicação e síntese de moléculas de DNA a partir de um único fragmento. No caso do código genético do SARS-CoV-2, um fragmento da fita de RNA é convertido a DNA complementar (cDNA) pela ação da enzima transcriptase reversa e, em seguida, ocorre a replicação pela ação da enzima polimerase. Para a detecção, ocorre o uso de uma fonte fluorescente, emitindo um sinal diretamente proporcional à carga viral. Em média, os resultados são obtidos em 2 horas e demandam maior estrutura laboratorial para a execução (HASS e TORRES, 2016).

Os testes sorológicos, por sua vez, buscam por anticorpos nas amostras de sangue dos possíveis infectados. Trata-se de um teste bem mais rápido e de menor custo em comparação aos clássicos PCR, em geral o resultado é obtido em questão de minutos, e de relativa precisão, desde que as condições sejam seguidas, como no mínimo 1 semana de sintomas ou possível contato com pessoas infectadas (MALAVÉ, 2021). É justamente este período que faz com que os testes rápidos sejam utilizados com cautela, uma vez que é necessário o desenvolvimento de anticorpos contra o vírus para que o resultado seja obtido com maior confiabilidade. Devido a estas condições, os testes possuem uma determinada “janela de detecção”, isto é, o período entre a infecção e a detecção eficaz da testagem utilizada, podendo gerar más interpretações, principalmente nos casos em que o indivíduo está contaminado e o resultado é negativo. Estas situações facilitam a propagação da doença, visto que as medidas de isolamento não são devidamente tomadas.

As estratégias de testagem em massa têm se mostrado um fator eficiente, mas não único, no controle da pandemia (CHERIYEDATH, 2021). Por serem capazes de

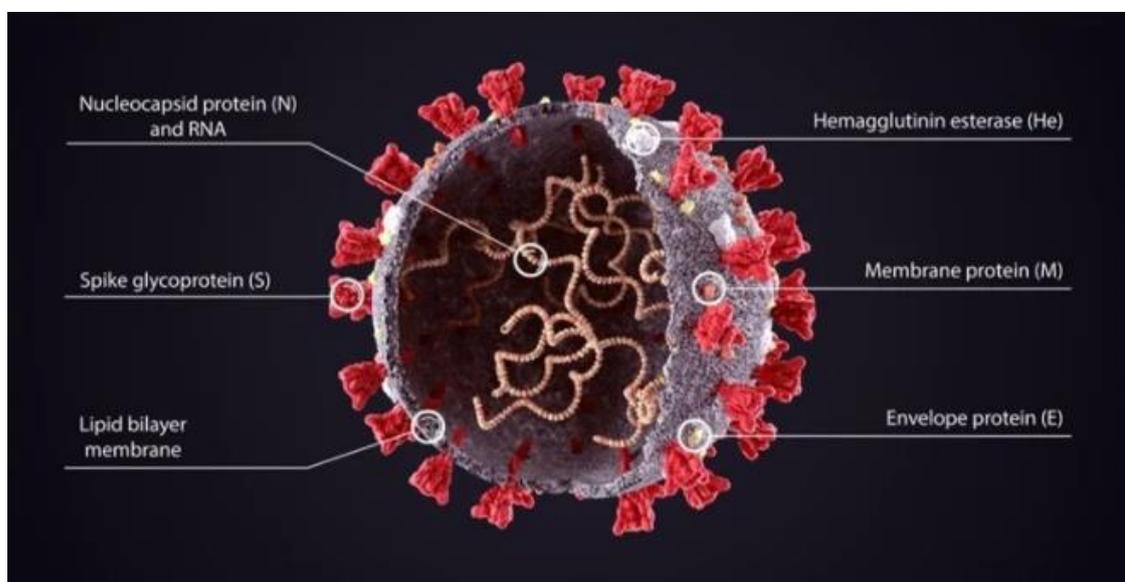
mensurar o número de indivíduos infectados em uma população, os testes mostram a disseminação do vírus e auxiliam na tomada de decisões para o combate da doença, como bloqueios parciais e até mesmo *lockdown*, no entanto não devem ser considerados como decisivos num plano de controle da pandemia.

### 2.1.3. Ciclo Viral de SARS-CoV-2

Para que possam se reproduzir e assim copiar seu código genético, os vírus necessitam utilizar todo o aparato existente nas células, pois fora do meio intracelular nem são capazes de sobreviver por muito tempo. Uma vez infectada, uma célula começa a replicar o material genético por meio de vários mecanismos, de acordo com as estruturas virais, como o tipo de ácido nucleico.

O SARS-CoV-2 é um vírus de RNA (seu ácido nucleico) de senso positivo com cerca de 30 mil bases, um dos maiores dessa classe, medindo entre 50 a 200 nanômetros de diâmetro (DÖMLING e GAO, 2020). É considerado uma mutação do SARS-CoV-1, vírus causador da SARS, ocorrida na China entre os anos 2002 e 2003. Sua estrutura, codificada por seu RNA genômico, compreende as poliproteínas não-estruturais (nsp) e proteínas estruturais, responsáveis pela proteção do genoma e pelos mecanismos de replicação, como a proteína Spike (S), nucleocapsídeo (N), envelope (E) e membrana (M) proteica (DÖMLING e GAO, 2020), dispostos figura 4.

**Figura 4** – Ilustração tridimensional da estrutura do coronavírus SARS-CoV-2. Fonte: Orpheus FX / Shutterstock



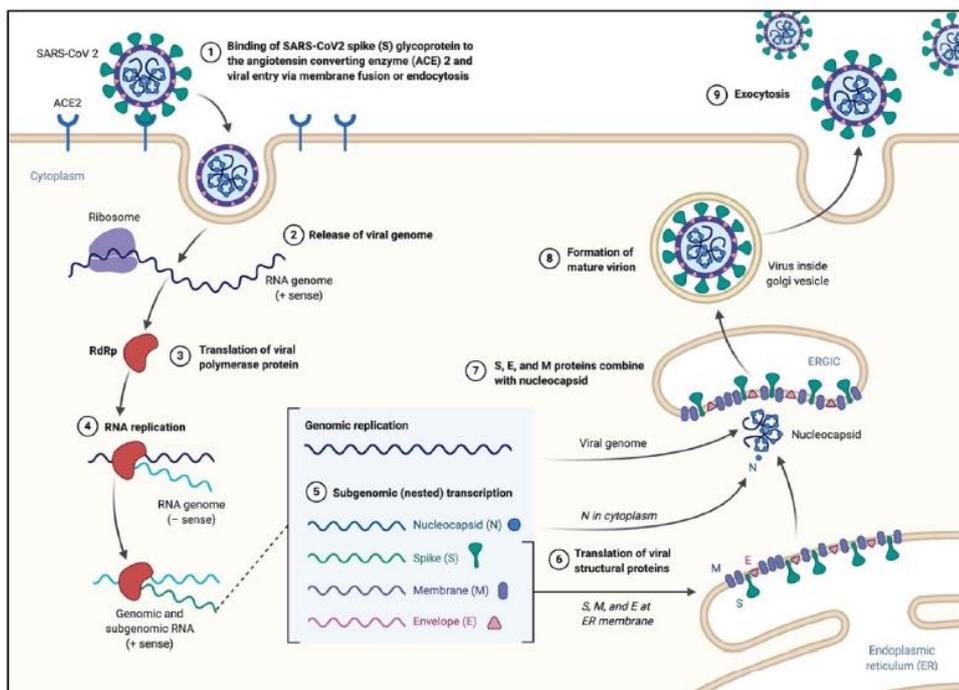
O mecanismo de replicação dos coronavírus, e aqui especificamente do SARS-CoV-2, é um processo complexo, que envolve diferentes etapas, iniciando-se desde a infecção do hospedeiro até a replicação e disseminação às outras células do organismo (CHANG, 2009). Parte desta complexidade existe como forma de prevenção de perdas, isto é, mecanismos para evitar que as informações do RNA se percam devido à defesa antiviral do organismo infectado.

O processo inicia-se com a interação entre a proteína que compõe a espícula da partícula viral (Spike, S) e o receptor de membrana ACE2 (Enzima Conversora de Angiotensina 2). Após a ocorrência desta ligação, o vírus entra no citoplasma por endocitose e então o genoma viral é exposto ao meio intracelular.

Segundo Lopes e colaboradores (2020), "*Seu RNA (+) genômico passa pelo processo de tradução levando a formação de cadeias de poliproteínas*". Estas poliproteínas, chamadas de PP1A E PP1AB, são originadas de proteínas replicase e processadas pelas cisteíno proteases (CPs) papain-like (PLpro) e 3C-like, 3-chymotrypsin-like, (3CLpro), muitas vezes denominada como main protease (Mpro).

Também de acordo com Lopes e colaboradores (2020), as poliproteínas são clivadas, com o auxílio das proteases, em 16 proteínas não estruturais (nsp), compondo o complexo replicada-transcriptase viral. Além disso, as próprias enzimas Mpro e PLpro também são originadas nesta etapa. A formação deste complexo faz com que novas fitas de RNA + genômico sejam geradas pela tradução de RNA mensageiro por replicação e síntese de novas proteínas estruturais. Dentro das células infectadas, as novas proteínas e o RNA genômico combinam-se na constituição de novos vírus que são posteriormente liberados por exocitose.

**Figura 5** – Ciclo viral do SARS-CoV-2. Fonte: ALANAGREH *et al.*



#### 2.1.4. Estratégias para tratamento da Covid-19

O tratamento mais comum para a Covid-19 é sintomático e, por isso, varia de acordo com as manifestações clínicas dos infectados. No entanto, o tratamento sintomático pode não ser eficiente, uma vez que o vírus pode se espalhar rapidamente pelo organismo e infectar outras células do corpo, agravando o quadro geral (LOPES *et al.* 2020).

Diversas opções são estudadas para a prevenção e controle da doença, embora a mais comum seja a vacina, antecipando a exposição do corpo ao vírus, possibilitando a produção de anticorpos. Apesar disso, muitas outras moléculas têm sido estudadas e consideradas como potenciais terapêuticos contra a Covid-19 em algum estágio após a infecção viral ou até mesmo se antecipando a ela.

Como já é sabido, o coronavírus causador da Covid-19 tem como principal alvo a enzima ACE2 que, entre outras células, expressa-se abundantemente nas células pulmonares causando, portanto, a síndrome respiratória grave. A relação entre o vírus e a célula inicia-se a partir da interação entre a enzima celular, que atua como receptor, e a proteína viral S, da espícula (ou Spike) (DAS *et al.* 2020). Portanto, uma das principais estratégias de tratamento baseia-se justamente na inibição da replicação viral do SARS-CoV-2, a partir da não ocorrência desta ligação, de forma

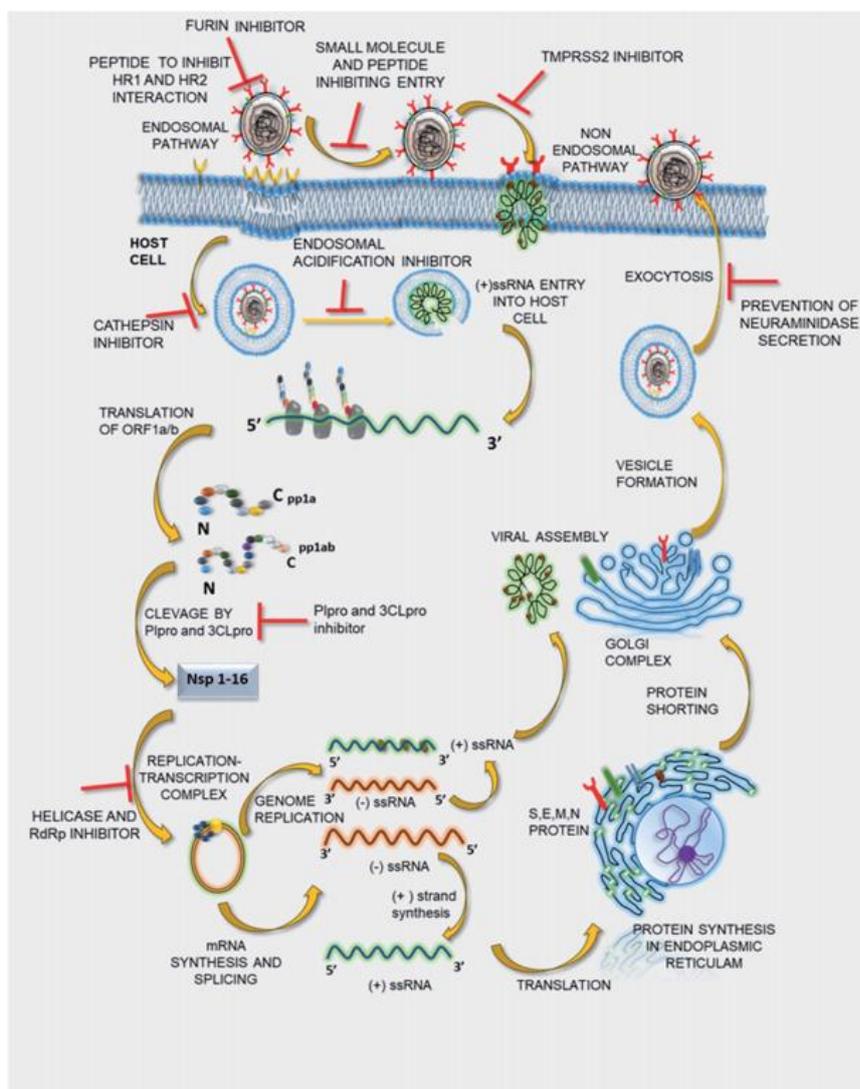
que o vírus não consiga entrar no meio celular e, conseqüentemente, não seja capaz de se replicar e se espalhar pelo organismo do indivíduo.

O processo de entrada viral nas células compreende algumas etapas, sendo possível a partir de proteases celulares. Dessa forma, o desenvolvimento de inibidores de serino proteases pode ser uma boa estratégia no tratamento, inclusive já utilizada para outras doenças. Nesta mesma abordagem, o desenvolvimento de inibidores de catepsinas também é uma estratégia coerente, pois a entrada do vírus na célula é dependente da atividade enzimática de catepsinas L (DAS *et al.* 2020).

Moléculas que possam atuar como inibidores de proteases também são alvo terapêuticos bastante estudados. As proteases estão envolvidas na clivagem das poliproteínas virais, sendo a PLpro e a 3CLpro as principais no SARS-CoV-2 – estas enzimas são necessárias para a replicação e transcrição viral. Uma estratégia para a inibição destas cisteíno proteases se dá pelo uso de inibidores irreversíveis que reagem com o enxofre do grupo tiolato da cisteíno catalítica destas enzimas, ocorrendo a interrupção da atividade catalítica e, conseqüentemente, o ciclo viral.

Ademais, como todo mecanismo de transcrição e replicação de RNA ou DNA, são necessárias enzimas polimerases que permitem a ocorrência deste processo. No caso do SARS-CoV-2, que é um vírus de RNA, as RNAs polimerases são as responsáveis pela replicação do material genético e possibilitam a continuidade da infecção viral. *“Semelhantemente às outras estratégias de inibição, fármacos têm sido testados como terapêuticos capazes de inibir estas polimerases, baseados em estruturas de nucleotídeos e não-nucleosídeos”* (LOPES *et al.* 2020). A exploração deste alvo para o desenvolvimento de antivirais tem potencial por ter mostrado eficácia contra outras doenças virais conhecidas, como a hepatite C, a influenza e o ebola.

**Figura 6** – Ciclo viral e possibilidades de inibição. Fonte: DAS *et al.*



## 2.2. Biotióis

Liu e colaboradores (2019) e mostram que biotióis são uma classe de aminoácidos redutores, contendo o grupo sulfidríla e oligopeptídeos, que sustentam um equilíbrio de oxirredução na homeostase biológica, além de outras funções. Glutathiona, homocisteína e cisteína são exemplos de biotióis responsáveis por muitos processos fisiológicos e funções celulares e, por isso, alterações nos níveis biológicos podem ser indicativo de diversas disfunções ou doenças, tais como câncer, Alzheimer e problemas cardiovasculares chegando até em doenças parasitárias (CAO *et al.* 2019).

A bioquímica apresentada por estes biotióis têm sido objeto de atenção para estratégias de combate ao vírus SARS-CoV-2. Entre as cisteíno proteases do vírus

da Covid-19, resíduos de aminoácidos contendo grupos tiol nas estruturas do sítio catalítico significam um caminho para a inibição de mecanismos que levam à reprodução viral. Não somente para os coronavírus, a reatividade de tióis já é pesquisada e dada como um meio de sustentar estratégias que impedem a progressão da infecção viral nos organismos infectados.

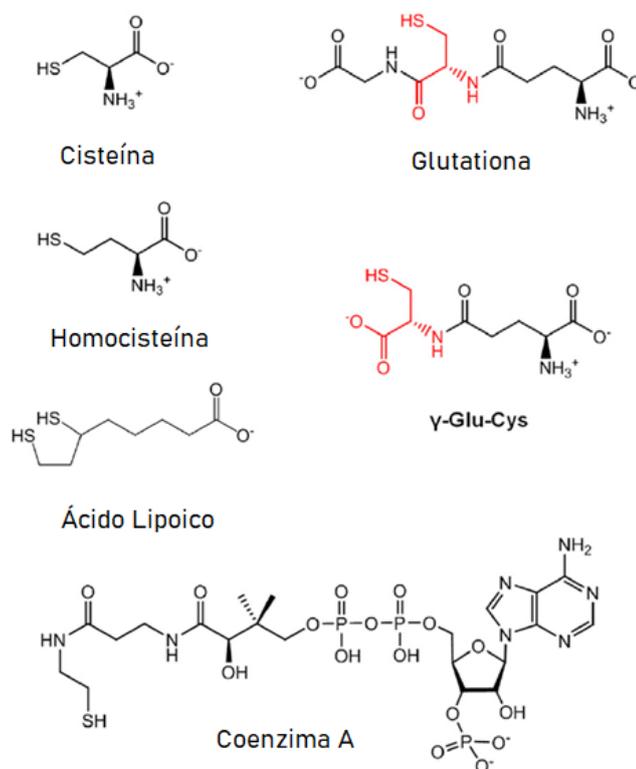
A cisteína é um dos biotióis mais importantes e de grande funcionalidade bioquímica, embora pouco abundante, quando comparada a outros aminoácidos. É considerado um aminoácido de grande contribuição na síntese proteica, desintoxicação e outras funções metabólicas pelo seu resíduo altamente conservado em locais funcionais. Estruturalmente, o grupo tiol existente em sua cadeia lateral confere grande versatilidade para a ocorrência de reações químicas, conforme figura 8, por sua reatividade resultante da nucleofilicidade do grupo SH, a alta afinidade para interações com metais, pela formação de pontes dissulfeto, em processos redox, além de permitir correto enovelamento para a funcionalização da proteína (POOLE, 2016).

Além da cisteína, a selenocisteína, embora bem menos comum que a cisteína, possui algumas características semelhantes, mas também outras únicas relacionadas à reatividade, justamente pelo comportamento apresentado pelo selênio, devido à maior estabilização da forma desprotonada em pH neutro.

POOLE (2016) descreve que os resíduos de cisteína são altamente polarizáveis e que, entre outras propriedades relevantes, faz com que a reatividade seja influenciada pela presença de grupos polarizados nos seus arredores na estrutura proteica.

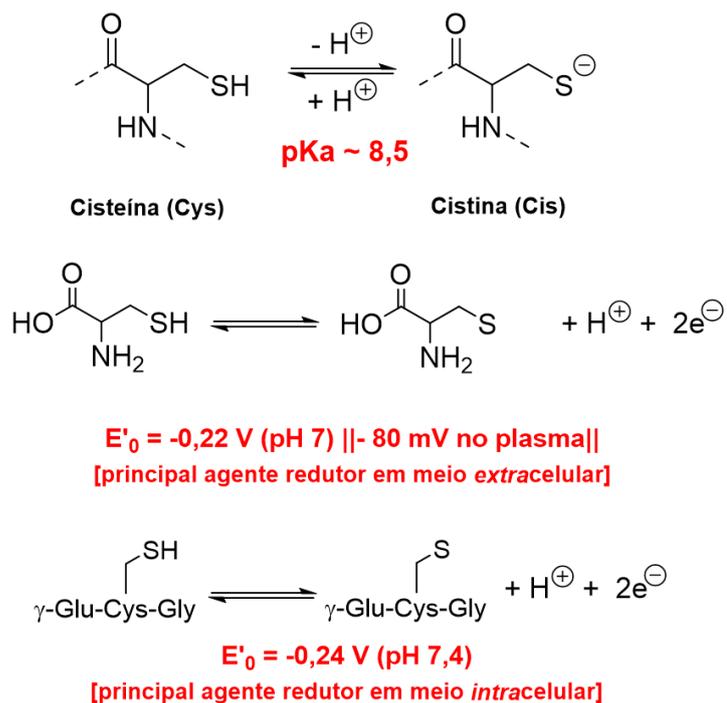
Ainda segundo Poole, tióis exibem alta reatividade para eletrófilos e oxidantes, além de afinidade para metais. Estas propriedades conferem aos tióis um papel diferenciado nos sistemas biológicos e nas estratégias contra patogenias, entre elas a Covid-19. A existência do equilíbrio tiol/tiolato nas estruturas onde estão contidos, mediado pelo pH do meio, tornam esses grupos excelentes nucleófilos.

**Figura 7** – Estrutura simplificada de tióis de importância biológica: A estrutura da cisteína em outras moléculas é destacada em vermelho. Fonte: POOLE



**Figura 8** – Versatilidade para ocorrência de reações da cisteína. O pKa no meio e o potencial padrão de redução são propriedades importantes nos processos biológicos. Fonte:

CUNHA *et al.*



### 2.3. Cisteíno Proteases (CPs)

Cisteíno proteases são enzimas hidrolíticas que processam proteínas, normalmente através de um mecanismo catalítico (catálise covalente e ácido básica) envolvendo o sítio ativo tiol existente em sua estrutura, fazendo com que também sejam conhecidas como tiol proteases. Pertencente a um grupo mais genérico de enzimas, as proteases, as cisteíno proteases caracterizam-se por uma díade catalítica composta pelo par cisteína e histidina (WIKIPEDIA CONTRIBUTORS, 2021).

Estas proteases desempenham importante papel biológico, sendo essencial às células e, conseqüentemente, aos seres vivos. As CPs, neste caso as catepsinas e caspases, estão envolvidas em processos celulares relevantes, como a degradação de proteínas terminais quando as células já estão em processo de apoptose, além de serem importante marcadores de algumas doenças e manifestações clínicas, tais como Alzheimer, inflamações e problemas imunológicos como consequência da disfunção destas enzimas no organismo humano (CREATIVE DIAGNOSTICS, 2021).

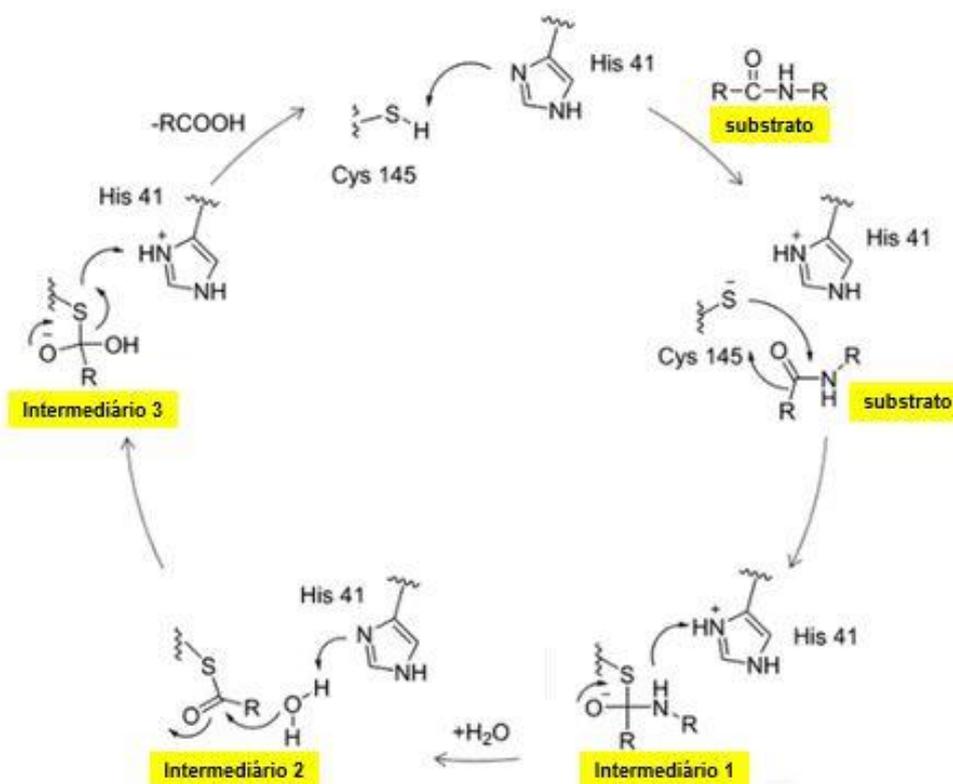
A base de dados para peptidases MEROPS lista 14 superfamílias, além de outras não mais atribuídas, para as cisteíno proteases. Para cada superfamília há uma tríade catalítica, onde coordenam-se 3 aminoácidos existentes no sítio ativos das enzimas. As CPs envolvidas na replicação viral do SARS-CoV-2 pertencem à superfamília CA e à família C16 (CREATIVE DIAGNOSTICS, 2021).

De acordo com Verma e colaboradores (2016), a especificidade de ligação e processamento de substrato das cisteíno proteases, refletidas pela composição de aminoácidos e sua disposição espacial em seus sítios ativos, é uma estratégia para que se regule a hidrólise de sequências peptídicas específicas – isso significa que o processamento promovido por proteases apresenta regulação quanto à esta *especificidade*. O desenvolvimento de inibidores baseia-se em características que os levem a interagir fortemente com as proteases em competição com os substratos, mas que pela sua especificidade podem ser modulados. As estratégias e mecanismos inibitórios das cisteíno proteases podem ser atuantes tanto sobre as CPs de entrada, quanto aquelas do meio intracelular, que estão envolvidas em outros processos como a maturação de proteínas virais.

### 2.3.1. Mecanismo de catálise

O mecanismo de catálise das cisteíno proteases envolve o tiol na estrutura da cisteína atuando como nucleófilo em uma díade catalítica. O resíduo de histidina promove a desprotonação do tiol, levando ao tiolato mais nucleofílico que promove a adição nucleofílica ao carbono carbonílico da ligação peptídica. Nesta etapa, a porção C-terminal do peptídeo é liberado com uma amina terminal e o resíduo de histidina, que estava na forma do ácido conjugado do imidazol, é regenerado à histidina ao transferir um próton para o nitrogênio da ligação peptídica. A porção N-terminal do substrato, ligada à protease na forma de tio éster é finalmente hidrolisada, gerando o ácido carboxílico nesta porção e a cisteíno protease é, enfim, regenerada com o tiol pronto para ser desprotonado pelo imidazol da Histidina (CREATIVE DIAGNOSTICS, 2021).

**Figura 9** – Mecanismo de catálise das cisteíno proteases. Fonte: ACS



### 2.3.2. CPs de coronavírus

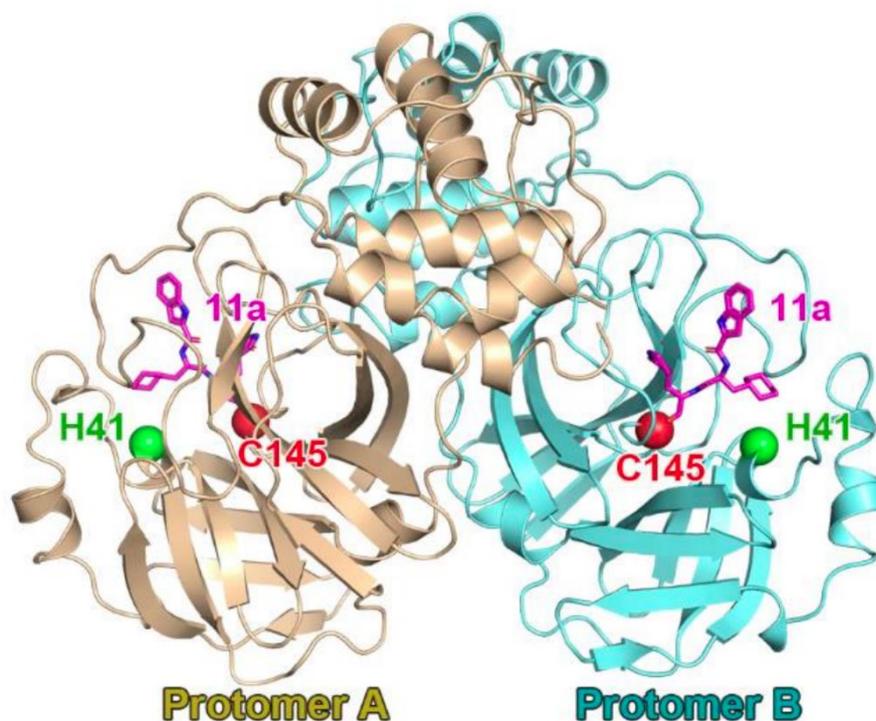
O SARS-CoV-2 sintetiza duas principais cisteíno proteases, a Papain-like (PLpro) e 3-chymotrypsin-like (3CLpro), muitas vezes mencionada como *Main Protease* (Mpro) - responsáveis pela ocorrência de vários processos hidrolíticos cruciais no ciclo de replicação viral (BAEZ-SANTOS *et al.* 2015).

Além das duas CPs principais, que estão estritamente relacionadas com a maturação das proteínas virais, outras cisteíno proteases estão envolvidas no processo de entrada do vírus da Covid-19, responsáveis pela interação da partícula viral com a célula hospedeira, levando à fusão das membranas, permitindo que o genoma viral seja exposto ao meio intracelular. A catepsina L, encontrada também em outras células do hospedeiro, e a serino protease TMPRSS 2, são as proteases envolvidas neste processo, além disso a furina é a única enzima do hospedeiro que atua no processamento da poliproteína viral (VERMA *et al.* 2016).

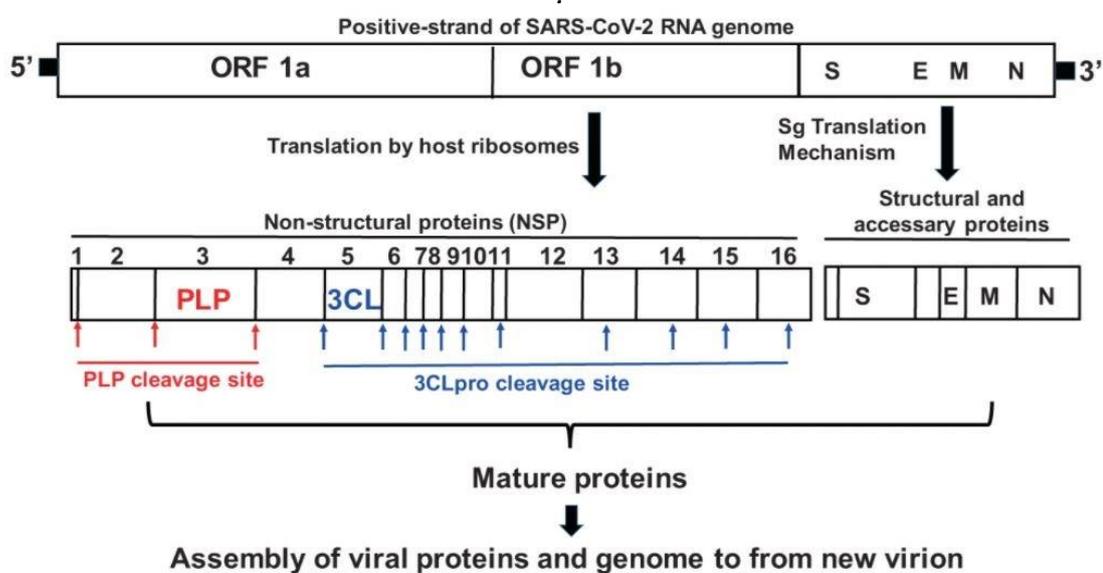
As CPs do SARS-CoV-2 são codificadas a partir de duas principais poliproteínas virais principais, PP1A e PP1AB, que por sua vez provêm de 2 Fases de Leitura Aberta (*Open Reading Frame* - ORF). Estas fases são uma sequência de leitura e sequenciamento de DNA entre o códon inicial e um códon de parada; para o novo coronavírus são 11 ORFs, sendo as CPs originadas dos ORF1a e ORF1b. Elas compõem as chamadas proteínas não estruturais (nsp), uma vez que outros ORFs dão origem às proteínas estruturais, constituindo membrana, envelope, nucleocapsídeo e proteína spike.

Segundo CHANG (2009), a 3CLpro é considerada a principal protease encontrada nos coronavírus, não somente no SARS-CoV-2. Também denominada formalmente como C30 Endopeptidase, corresponde à proteína não-estrutural 5 (nsp5) e tem como principal função a atividade catalítica sobre as poliproteínas virais nsp4 a nsp16, clivando ligações peptídicas, permitindo a replicação do vírus no organismo infectado. A clivagem ocorre através da díade catalítica cisteíno-histidina, existente em seu sítio ativo, que atua sobre a ligação da glutamina com algum outro aminoácido, podendo ser serina, alanina ou glicina, gerando 11 sítios conservados. Para que seja biologicamente ativa, a Mpro deve estar sob a forma de dímero, embora apenas um sítio ativo esteja envolvendo no mecanismo catalítico.

**Figura 10** – Estrutura tridimensional cristalina do dímero Mpro. Em verde e vermelho, resíduos de aminoácidos catalíticos. Fonte: Wikipedia

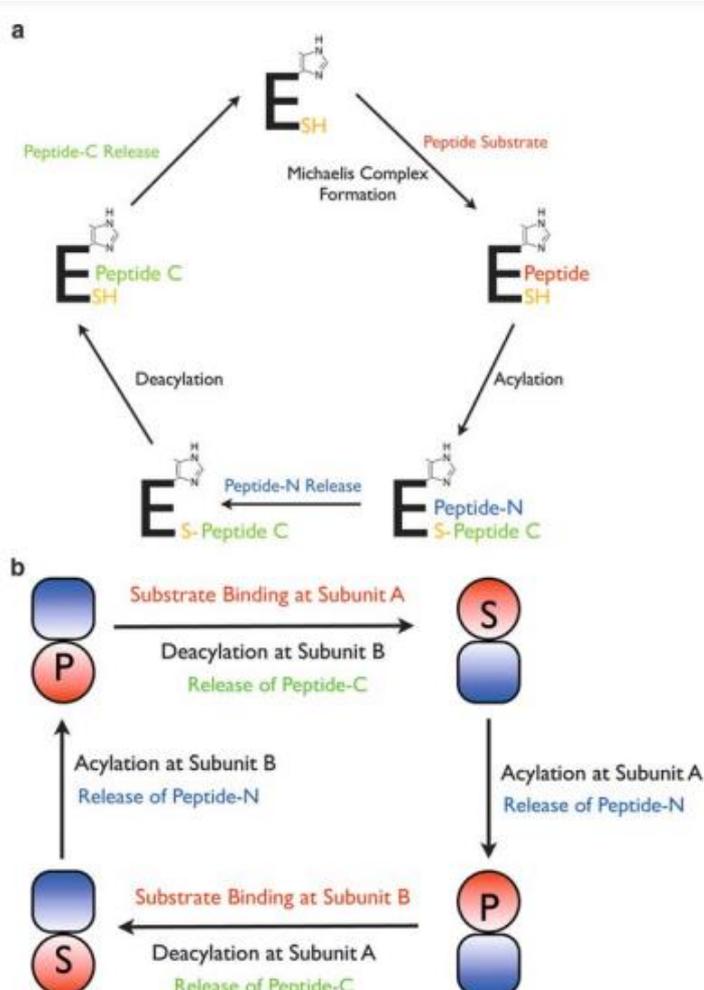


**Figura 11** – Organização do genoma do SARS-CoV-2 e sítios de clivagem pelas proteases. Fonte: MODY *et al.*



O mecanismo de catálise da 3CLpro envolve a formação do complexo enzima-substrato, conhecido como complexo de Michaelis. A reação é iniciada pela interação eletrostática entre o resíduo Cys145 e a ligação peptídica, gerando a acilação tiol catalítico, como explicado anteriormente. No caso da Mpro, ao contrário das cisteíno proteases mais comuns que apresentam a díade catalítica Cys-His, há uma tríade catalítica, mais comum em serina proteases como a quimotripsina, que possui a trinca composta por Cys-His e um resíduo de ácido aspártico (Asp) - daí a outra designação da Mpro, 3CLpro, *chymotrypsin-like protease* (CHANG, 2009).

**Figura 12** – Mecanismo catalítico simplificado da Mpro. Fonte: CHANG



De forma análoga à Mpro, a PLpro, proteína não-estrutural 3 (nsp3), também é responsável pelo complexo replicase que permite a replicação e espalhamento viral, no entanto difere em seus alvos para processamento hidrolítico. A PLpro age sobre

as nsp1 a nsp3, clivando a ligação peptídica em 3 locais possíveis: Leu–(Lys/Asn)–Gly–Gly–↓–(Ala/Lys), sempre após uma dupla de glicinas, por meio de seu mecanismo direcionado pela tríade catalítica Cys112–His273–Asp287 (BAEZ-SANTOS *et al.* 2015).

Entre seus domínios estruturais, a PLpro possui o domínio de desubiquitinação. A ubiquitina é uma proteína de células eucarióticas que tem como finalidade a marcação biológica de proteínas que devem ser degradadas por hidrólise pelo proteossoma. De acordo com Capasso e colaboradores (2020), geralmente proteínas que assumem conformações inativas, com estruturas secundárias dispostas de modo muito distinto àquelas da estrutura biologicamente ativa, são um dos motivos para marcação e destruição. O fato da presença do vírus no interior da célula torna as proteínas virais do SARS-CoV-2 também seriam alvos de degradação através de ubiquitinação. A estratégia do vírus para evadir deste caminho de degradação proteica consiste em na desubiquitinação promovida pela PLpro que impede o direcionamento de proteínas virais para degradação pelo proteossoma; trata-se de uma resposta do vírus contra a defesa inata do organismo, preservando as proteínas virais.

No mecanismo catalítico da PLpro, a Cys112 atua como nucleófilo, enquanto a histidina age como ácido-base e o ácido aspártico alinha-se a His para a promoção da desprotonação da cisteína. Assim como o mecanismo da Mpro, inicialmente ocorre a formação do complexo enzima-substrato, seguido pelo ataque do tiolato da cisteína ao carbono da carbonila da ligação peptídica, formando um intermediário tetraédrico negativamente carregado. “*O oxianion do intermediário é estabilizado por um oxianion adjacente existente no sítio ativo da protease, onde também existe um resíduo de triptofano importante para a função enzimática da PLpro*” (BAEZ-SANTOS *et al.* 2015). A eliminação da amina com C-terminal cliva a ligação peptídica, formando um intermediário tioéster que sofre uma adição nucleofílica na carbonila pela água, formando um segundo intermediário. Deste intermediário, ocorre a eliminação da cisteína e a formação de um ácido carboxílico N-terminal, estabilizado por uma ligação de hidrogênio entre o ácido formado e o anel indol do triptofano. O ciclo catalítico é completado com a eliminação do substrato peptídico com N-terminal, regenerando a enzima livre (BAEZ-SANTOS *et al.* 2015).



### 2.3.3. Inibidores de CPs

A inibição das cisteíno proteases têm sido vista como um grande potencial no combate à pandemia da Covid-19. Devido ao papel que desempenham no ciclo viral do SARS-Cov-2, clivando as poliproteínas e maturando as proteínas para a replicação do vírus, a inibição foca no impedimento destas proteases em exercer sua atividade na promoção do ciclo viral.

Diversos compostos têm sido testados como potenciais inibidores da 3CLpro e da PLpro. De maneira geral, todos atuam no estabelecimento de interações alternativas, impedindo que haja ligação e formação do complexo enzima-substrato e, dessa forma, toda a sequência de transcrição e replicação seja afetada, impedindo o desenvolvimento do RNA viral para a formação de novos vírus, suprimindo ou minimizando a infecção. O desenvolvimento destes inibidores tem base em antivirais já utilizados em outras infecções como a AIDS e a Hepatite e até mesmo em outras síndromes respiratórias causadas por outros coronavírus (SARS-CoV e MERS-CoV). A homologia do genoma entre SARS-CoV-2 e SARS-CoV é de aproximadamente 89%, o que acelera a translação de compostos com atividade antiviral conhecida para SARS-CoV para o novo coronavírus.

Inibidores de 3CLpro têm como uma estratégia o uso de compostos reativos para tióis cuja modificação covalente impede sua ação hidrolítica. Assim, eletrófilos capazes de reagir com o tiolato nucleofílico atuam como inibidores desta enzima, estes compostos podem ser aceptores de Michael, cetonas, aldeídos e até mesmo compostos organoelementos, como o Ebselen. Por outro lado, outros inibidores de proteases, disponíveis na clínica para o tratamento da Hepatite C, como o Boceprevir e Telaprevir também mostraram atividade antiviral.

Já os inibidores de PLpro têm como estratégia a ligação aos sítios ativos não-enzimático. A inibição pelas mesmas vias que a Mpro é mais incomum, por isso uma abordagem mais interessante para a PLpro consiste na competição com a atividade da desubitiquinase, impedindo que a resposta imune inata do hospedeiro seja interrompida.

Devido a uma série de fatores biomoleculares, a melhor estratégia para a inibição tem sido a utilização de inibidores altamente biodisponíveis e seletivos, para que haja condições de competir de fato com os substratos preferenciais antes que ocorra a ligação e o início do processo de replicação. Por isso, um grande desafio consiste em

buscar seletividade destes inibidores, que podem acabar atuando em outras vias celulares, não atuando exclusivamente no sítio ativo das cisteíno proteases virais.

## **2.4. Agentes antivirais baseados na inibição da Mpro e PLpro**

### **2.4.1. Compostos organoelemento: Selênio e Telúrio**

O Ebselen é um composto orgânico de selênio sintético, de baixa toxicidade, com reconhecida atividade anti-inflamatória e antioxidante, sendo alvo de pesquisas para utilização em patologias como transtorno bipolar, perda auditiva e algumas infecções por fungos e bactérias (TOMCZAK *et al.* 2020). Sua atuação imita e induz a atividade da glutathione peroxidase, o que explica as suas propriedades e indica um grande potencial no combate a outras manifestações do Sistema Nervoso Central (SNC) e doenças como a Covid-19.

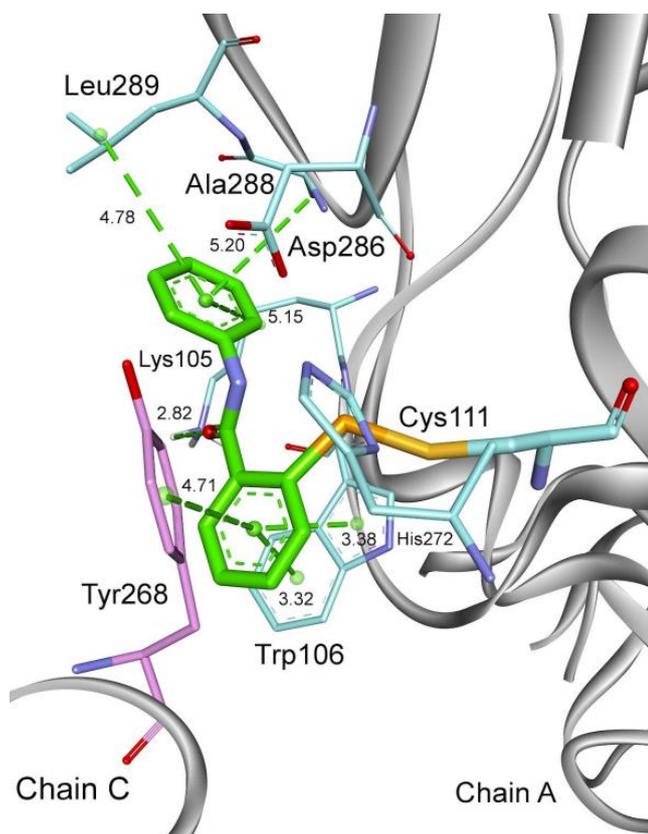
Os estudos acerca do Ebselen como um potencial terapêutico contra a Covid-19 mostram que a molécula se liga covalentemente ao tiol da cisteíno do sítio ativo da CP, neste caso a Mpro, formando um selenossulfeto levando à inibição da protease. Este mecanismo inibitório também é descrito para ligações não-covalentes do Ebselen, assim como outras drogas que possam atuar como agentes antivirais.

De forma análoga, o Ebselen tem exibido interessante potencial terapêutico através da inibição da outra cisteíno protease de importância no SARS-CoV-2: a PLpro. A ação aqui se dá pela modificação do grupo sulfidríla no sítio ativo da PLpro, também formando uma ligação covalente em um mecanismo catalítico irreversível. Tomczak e colaboradores (2020) mostraram que a molécula de Ebselen ocupa uma intersecção entre a tríade catalítica da PLpro e um resíduo de triptofano; o anel *N-fenílico* estaria em interação com o anel do triptofano, assim como o átomo de oxigênio interagindo com a amina de um resíduo de lisina existente. Pelo modelo adotado, estas seriam as condições termodinâmicas mais favoráveis, inclusive pela conformação tomada pela molécula ligada à protease.

A figura 16 traz a determinação de parâmetros referentes à inibição da 3CLpro e da atividade antiviral do Ebselen. Tais valores são definidos pelos parâmetros EC50 e IC50 que, respectivamente, definem a concentração do composto que induz a 50%

do efeito máximo observado na curva de dose-resposta e a dose que leva à inibição de 50%, *in vitro*, de uma espécie bioquímica, como as enzimas.

**Figura 15** – Complexo formado entre Ebselen e a PLpro: A molécula Ebselen está destacada em verde na figura, com a ligação dissulfeto em amarelo. Fonte: Tomczak *et al.*



**Figura 16** – Gráficos de determinação de parâmetros IC<sub>50</sub> e EC<sub>50</sub> do Ebselen. Fonte: CUNHA *et al.*



Assim como os orgânicos selenilados, compostos orgânicos funcionalizados com telúrio também apresentam atividade inibitória em cisteíno proteases, como as catepsinas e caspases. Esta atividade deve-se, principalmente, à reatividade de compostos de telúrio hipervalentes frente a tióis reativos, existentes na estrutura das CPs, como mostra a figura 17.

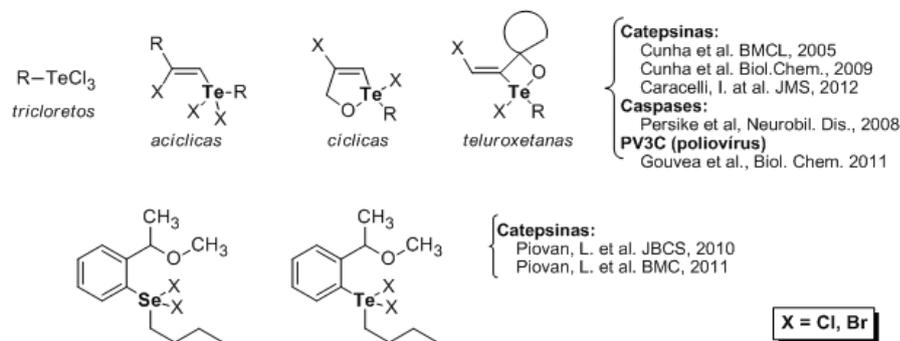
**Figura 17** - Reação de troca entre telurana e tiol proteico. Fonte: CUNHA *et al.*



Compostos orgânicos de telúrio hipervalente (organoteluranas) não apresentam somente atividade inibitória em cisteíno proteases, mas também relevante atividade em modelos celulares de melanoma, malária, doenças de chagas, entre outros. Em comum, essas patologias possuem envolvimento de enzimas proteolíticas para a sua progressão, representando uma importante perspectiva para o uso de teluranas na inibição das CPs do SARS-CoV-2, isto é, como agente antiviral.

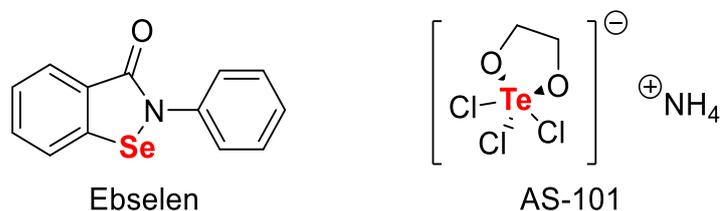
Cunha e colaboradores (2020) mostraram que as teluranas e selenuranas utilizadas na inibição de proteases possuem estruturas derivadas de compostos aromáticos ou alifáticos, principalmente alcanos e alcenos. *“Apesar de não se assemelharem estruturalmente aos substratos naturais das proteases, estes compostos exibem potência de inibição comparável à de inibidores irreversíveis peptídicos funcionalizados com outros grupos reativos alquilantes, também denominados como diazometilcetonas,  $\alpha$ -halocetonas e acilóxi-metil cetonas.”* (CUNHA *et al.* 2020).

**Figura 18** – Estrutura básica de organocalcogenuranas estudadas como inibidoras de proteases. Fonte: CUNHA *et al.*



Ainda que a atividade antiviral dos compostos selenilados, como o ebselen, e de telúrio, como o AS101, não seja muito investigada e conhecida, estes organoelementos têm sido alvo de pesquisa e, baseado nos modelos descritos nas aplicações já empregadas, possuem boas perspectivas para tal fim.

**Figura 19** – O composto selenilado Ebselen e a telurana AS101. Fonte: CUNHA *et al.*



Em particular, o AS101, tricloro (dioxoetileno-O,O') telurato de amônio, composto hipervalente de telúrio (telurana) com reconhecida atividade imunomoduladora e efetividade contra patologias como AIDS, câncer, alopecia, lúpus eritematoso e psoríase, mostra-se como um seletivo inibidor de cisteína protease em testes *in vitro*.

Albeck e colaboradores (1998) relatam diversos compostos de telúrio com diferentes atividades biológicas, mas com certa reatividade para tiol, envolvendo a formação de adutos entre os tióis e a telurana, formados por reações de troca de ligantes da telurana com o tiol. “Assim, as evidências acumuladas sugerem que muitas das atividades biológicas de compostos organotelúricos estão diretamente relacionadas às suas interações químicas específicas com tióis endógenos” (ALBECK *et al.* 1998).

Compostos hipervalentes de telúrio, como o AS101, interagem com diversos nucleófilos, mas com particular reatividade para tióis. As proteases têm seus mecanismos catalíticos baseados nos resíduos existentes em suas cadeias e as cisteíno proteases possuem um tiol nucleófilo no sítio ativo, tornando-as mais suscetíveis às reações com teluranas por reações de troca de ligantes.

Em seus experimentos, Albeck e colaboradores (1998) mostraram que compostos hipervalentes de telúrio quando em seu estado de oxidação +4, entre eles o AS101, apresenta atividade inibitória das cisteíno proteases e isso foi demonstrado para papaína e catepsina B. A inibição destas proteases mostraram ser dependentes de tempo e da concentração dos compostos, indicando uma inibição irreversível e covalente devido à oxidação do tiol.

O estudo ainda mostra que compostos de telúrio com estado +6 (perteluranas) não foram capazes de inibir as cisteíno proteases, indicando que as reações de troca de ligantes, em condições fisiológicas são mais favoráveis para as teluranas. Sob o ponto de vista mecanístico, a impossibilidade da inibição é resultado da incapacidade do telúrio em acomodar um sétimo ligante em um processo associativo ou de perder um ligante em um caminho dissociativo na interação com o tiol reativo da protease.

Apesar de haver poucos estudos referentes à inibição específica de cisteíno proteases do SARS-CoV-2, estes resultados e alguns outros exibem um grande potencial a ser explorado para o desenvolvimento de mecanismos inibitórios da Mpro e PLpro, principalmente devido à reatividade dos tióis envolvidos.

#### **2.4.2. Outros elementos de interesse**

Assim como selênio e telúrio, que exibem uma bioquímica de interessante reatividade frente a tióis que resultam na inibição das cisteíno proteases relacionadas com processos patológicos diversos e, ainda, de outros tióis de interesse biológico, alguns compostos de outros elementos mostram-se como potenciais terapêuticos na inibição de proteases e, conseqüentemente, potencial para exercer ação antiviral frente ao SARS-CoV-2.

Muitos compostos organometálicos exibem propriedades terapêuticas e de interesse biológico, como a inibição de proteases. Um dos grupos da tabela periódica, os metaloides compreendem os elementos Boro, Silício, Germânio, Arsênio,

Antimônio e Telúrio, que possuem propriedades tanto dos metais quanto dos não-metais. O tratamento de diversas patologias pode ser abordado a partir da inibição de proteases, como aquelas relacionadas à replicação viral. Compostos baseados em boro e silício tiveram suas atividades pesquisadas e exibiram ação de inibição sobre proteases, embora não necessariamente sobre as cisteíno proteases do SARS-CoV-2.

Complexos de ouro já são utilizados medicinalmente como antirreumáticos e anticancerígenos e foram avaliados por Gil-Moles e colaboradores (2020) quanto à sua atividade de inibição em duas importantes cisteíno proteases do SARS-Cov-2, a Spike Protein (S) e a Papain-Like protease (PLpro). Auranofina e compostos relacionados (Au-1 a Au-5), foram investigadas e tiveram bons resultados, além disso, as auranofinas 1, 2 e 5 exibiram ótimos resultados em comparação ao fármaco Dissulfiram como referência, enquanto Au-3 e Au-4 foram menos eficientes para a inibição de PLpro. A coordenação do ouro o tiol catalítico da PLpro é apontado como provável modo de interação entre a protease e esses inibidor metalofármaco.

Outro mecanismo de interesse para a inibição é a ejeção do íon  $Zn^{2+}$  do *finger domain* da PLpro. As auranofinas, por terem atividade semelhante ao Dissulfiram, que foi demonstrado como eficiente na remoção do  $Zn^{2+}$ , foram testadas também quanto à eficiência na remoção. Apenas Au-1, Au-2 e Au-5 foram efetivas na ejeção do zinco, caracterizando-se, portanto, com dupla atividade inibitória da PLpro. Au-3 e Au-4, como já esperado, demonstrou inatividade para o SARS-CoV-2. Apesar dos bons resultados, a citotoxicidade das auranofinas ainda é um ponto a ser trabalhado para o seu uso como potencial antiviral. FRICKER (2009) também demonstrou que alguns organometálicos como complexos de Paládio, Rênio e novamente Ouro, possuem atividade contra catepsinas e caspases. Ainda que as principais proteases do SARS-CoV-2 não tenham sido estudadas, tais compostos mostram-se como potenciais objetos de estudo.

Pesquisas também têm mostrado o potencial uso de inibidores de cisteíno proteases como fármacos. Em desenvolvimentos recentes, a farmacêutica estadunidense Pfizer anunciou o encaminhamento de ensaios clínicos para teste de um inibidor ativo, de administração oral, em pessoas saudáveis. Em pesquisa desde o ano de 2020, o uso de moléculas inibitórias de cisteíno proteases tem se mostrado uma potencial estratégia no combate ao SARS-CoV-2 e outros tipos de coronavírus.

O desenvolvimento de um fármaco inibidor de CP por administração oral, assim como outras estratégias, como reposicionamento de fármacos já existentes, reflete a necessidade de diferentes abordagens no combate aos coronavírus, impedindo a evolução de doenças a quadros de epidemias e pandemias.

### 3. PERSPECTIVAS E CONCLUSÃO

Justificada pelo contexto e proporções que a pandemia tomou, a busca por potenciais terapêuticos contra a Covid-19 é incessante desde os primeiros casos da doença. Cientistas do mundo todo unem seus conhecimentos, estabelecendo uma espécie de sinergia em prol de objetivos comuns na luta contra o novo coronavírus.

A aplicação de compostos funcionalizados com elementos distintos daqueles mais usuais nos contextos da Química Orgânica e da Química Medicinal (C, H, O, N, S e halogênios), é mais restrita mesmo com casos notórios como o da cisplatina e outros derivados de platina na terapêutica do câncer. Como apontado brevemente neste texto, a reatividade para tióis que diversos compostos organoelemento e organometálicos apresentam pode ser explorada para o desenvolvimento de inibidores das cisteíno proteases de SARS-CoV-2 e de outros coronavírus. Por outro lado, o fato de que btióis reativos têm um papel em vários processos fisiológicos, efeitos tóxicos também podem ser esperados ao mesmo tempo dos efeitos terapêuticos, impactando na janela terapêutica de aplicação destes compostos. Mesmo assim, alguns destes compostos apresentam significativos efeitos terapêuticos em modelos experimentais de algumas doenças, isto é, modelos experimentais animais.

A química dos selenilados e teluranas já é pesquisada como possibilidade contra diversas patologias. Estudos recentes demonstram grande potencial no combate à Covid-19, através do mecanismo inibitório das cisteíno proteases. Entre muitos compostos em estudo, o selenilado Ebselen e a telurana AS101, apresentam bons resultados de inibição das proteases, significando um bom potencial terapêutico. Da mesma maneira, auranofinas, também têm exibido resultados interessantes de inibição e são vistos como potenciais contra o SARS-CoV-2.

Ao passo que a crise da pandemia da covid-19 impactou na realização de novo trabalho experimental para complementar a temática aqui apresentada, uma coleção de 92 compostos de Selênio e Telúrio está sendo avaliada em ensaios fenotípicos de alta capacidade em modelo de infecção de SARS-CoV-2 de isolado clínico brasileiro em células VERO-2. Esperamos dispor de informações que indiquem se e quais compostos apresentem maior potencial como antivirais para SARS-CoV-2 e, ainda, se existem estruturas privilegiadas que resultem em citotoxicidades adequadas e a máxima atividade antiviral.

A revisão feita por este trabalho leva à conclusão de que os compostos organoelemento e organometálico relatados aqui apresentam, de fato, potencial antiviral e terapêutico, ainda que seja necessário mais tempo de pesquisa e desenvolvimento, principalmente no que diz respeito ao uso *in vivo*, toxicidade e à viabilização destes compostos como fármacos.

#### 4. REFERÊNCIAS

ALANAGREH, Lo'ai; ALZOUGHLOO, Foad; ATOUM, Manar. The Human Coronavirus Disease COVID-19: its origin, characteristics, and insights into potential drugs and its mechanisms. **Pathogens**, [S.L.], v. 9, n. 5, p. 331, 29 abr. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/pathogens9050331>.

ALBECK, Amnon; WEITMAN, Hana; SREDN, Benjamin; ALBECK, Michael. Tellurium Compounds: Selective Inhibition of Cysteine Proteases and Model Reaction with Thiols. **Inorganic Chemistry**, Ramat Gan, v. 8, n. 37, p. 1704-1712, nov. 1997.

BÁEZ-SANTOS, Yahira M.; JOHN, Sarah E. St.; MESECAR, Andrew D.. The SARS-coronavirus papain-like protease: structure, function and inhibition by designed antiviral compounds. **Antiviral Research**, [S.L.], v. 115, p. 21-38, mar. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2014.12.015>

BRODSKY, Miri; YOSEF, Sigal; GALIT, Rushkin; ALBECK, Michael; LONGO, Dan L.; ALBECK, Amnon; SREDNI, Benjamin. The Synthetic Tellurium Compound, AS101, Is a Novel Inhibitor of IL-1 $\beta$ Converting Enzyme. **Journal Of Interferon & Cytokine Research**, [S.L.], v. 27, n. 6, p. 453-462, jun. 2007. Mary Ann Liebert Inc. <http://dx.doi.org/10.1089/jir.2007.0168>

BURRELL, Christopher J.; HOWARD, Colin R.; MURPHY, Frederick A.. Coronaviruses. **Fenner And White'S Medical Virology**, [S.L.], p. 437-446, 2017. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-375156-0.00031-x>.

CAPASSO, Clemente; NOCENTINI, Alessio; SUPURAN, Claudiu T. Protease inhibitors targeting the main protease and papain-like protease of coronaviruses. **Expert Opinion On Therapeutic Patents**, [S.L.], p. 1-16, 12 dez. 2020. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/13543776.2021.1857726>.

CAO, Jing; JIANG, Xiaoxue; FU, Nanyan. A sensitive fluorescent probe for imaging biothiol in zebrafish. **Dyes And Pigments**, [S.L.], v. 174, p. 107978, mar. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.dyepig.2019.107978>

CHANG, Gu-Gang. Quaternary Structure of the SARS Coronavirus Main Protease. **Molecular Biology Of The Sars-Coronavirus**, [S.L.], p. 115-128, 24 out. 2009. Springer Berlin Heidelberg. [http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-03683-5\\_8](http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-03683-5_8).

CHERIYEDATH, Susha. **Mass testing is not a 'silver bullet' for managing SARS-CoV-2 transmission, say researchers**. Disponível em: <https://www.news-medical.net/news/20201216/Mass-testing-is-not-a-silver-bullet-for-managing-SARS-CoV-2-transmission-say-researchers.aspx>. Acesso em: 17 fev. 2021.

CONTRIBUTORS, Wikipedia. **3C-like protease**. Disponível em: [https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=3C-like\\_protease&oldid=993862450](https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=3C-like_protease&oldid=993862450). Acesso em: 28 fev. 2021.

CONTRIBUTORS, Wikipedia. **Protease**. Disponível em: <https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Protease&oldid=998446456>. Acesso em: 01 mar. 2021.

CONTRIBUTORS, Wikipedia. **Cysteine protease**. Disponível em: [https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Cysteine\\_protease&oldid=992011653](https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Cysteine_protease&oldid=992011653). Acesso em: 02 mar. 2021.

CONTRIBUTORS, Wikipedia. **Coronavirus**. Disponível em: <https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Coronavirus&oldid=1014703110>. Acesso em: 07 mar. 2021.

CONTRIBUTORS, Wikipedia. **COVID-19**. Disponível em: <https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=COVID-19&oldid=1024508994>. Acesso em: 04 mar. 2021.

CUNHA, Rodrigo Luiz Oliveira Rodrigues *et al.* **Potenciais terapêuticos de selenilados e teluranas**. Santo André, 2020.

DAS, Gaurav; GHOSH, Surojit; GARG, Shubham; GHOSH, Satyajit; JANA, Aniket; SAMAT, Ramkamal; MUKHERJEE, Nabanita; ROY, Rajsekhar; GHOSH, Surajit. An

overview of key potential therapeutic strategies for combat in the COVID-19 battle. **Rsc Advances**, [S.L.], v. 10, n. 47, p. 28243-28266, 2020. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/d0ra05434h>.

DIAGNOSTICS, Creative. **Cysteine Proteases and Regulators**. Disponível em: <https://www.creative-diagnostics.com/cysteine-proteases-and-regulators.htm>. Acesso em: 15 mar. 2021.

DÖMLING, Alexander; GAO, Li. Chemistry and Biology of SARS-CoV-2. **Chem**, [S.L.], v. 6, n. 6, p. 1283-1295, jun. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chempr.2020.04.023>.

FRICKER, Simon P.. Cysteine proteases as targets for metal-based drugs. **Metalomics**, [S.L.], v. 2, n. 6, p. 366, 2010. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1039/b924677k>

GAO, Xiaopan; QIN, Bo; CHEN, Pu; ZHU, Kaixiang; HOU, Pengjiao; WOJDYLA, Justyna Aleksandra; WANG, Meitian; CUI, Sheng. Crystal structure of SARS-CoV-2 papain-like protease. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 237-245, jan. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsb.2020.08.014>.

GIL-MOLES, Maria; BASU, Uttara; BÜSSING, Rolf; HOFFMEISTER, Henrik; TÜRCK, Sebastian; VARCHMIN, Agnieszka; OTT, Ingo. Gold Metallodrugs to Target Coronavirus Proteins: inhibitory effects on the spike :ace2 interaction and on plpro protease activity by auranofin and gold organometallics\*\*. **Chemistry – A European Journal**, [S.L.], v. 26, n. 66, p. 15140-15144, 19 out. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/chem.202004112>.

HAAS, Dionei Joaquim; TORRES, Ana Caroline Doyle. APLICAÇÕES DAS TÉCNICAS DE PCR NO DIAGNÓSTICO DE DOENÇAS INFECCIOSAS DOS ANIMAIS. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, Belo Horizonte, v. 26, n. 14, p. 23-27, jan. 2016.

HØIBY, Niels. Pandemics: past, present, future. **Apmis**, Copenhagen, v. 5, n. 2, p. 327-345, mar. 2021. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/apm.13098>.

LIU, Li; LV, Rui-Jie; LEUNG, Jong-Kai; ZOU, Qian; WANG, Yue; LI, Fei; LIANG, Wang; FENG, Shun; WU, Ming-Yu. A near-infrared biothiolspecific fluorescent probe for cancer cell recognition. **The Analyst**, [S.L.], v. 144, n. 16, p. 4750-4756, 2019. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c9an00795d>.

LOPES, Juliana Romano; IMPERADOR, Carlos Henrique L; CHIN, Chung Man; SANTOS, Jean Leandro dos. Desenvolvimento de fármacos para tratamento da COVID-19. **Ulakes Journal Of Medicine**, S.l., v. 2, n. 1, p. 118-124, nov. 2020.

MALAVÉ, Mayra Malavé. **Testes para a Covid-19: como são e quando devem ser feitos**. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/noticia/testes-para-covid-19-como-sao-e-quando-devem-ser-feitos>. Acesso em: 15 fev. 2021.

MIRZA, Agha Zeeshan; SHAMSHAD, Hina; OSRA, Faisal Abdulrhman; HABEEBULLAH, Turki M.; MORAD, Moataz. An overview of viruses discovered over the last decades and drug development for the current pandemic. **European Journal Of Pharmacology**, [S.L.], v. 890, p. 173746, jan. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173746>.

POOLE, Leslie B.. The basics of thiols and cysteines in redox biology and chemistry. **Free Radical Biology And Medicine**, [S.L.], v. 80, p. 148-157, mar. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.11.013>.

QAMAR, Muhammad Tahir Ul; ALQAHTANI, Safar M.; ALAMRI, Mubarak A.; CHEN, Ling-Ling. Structural basis of SARS-CoV-2 3CLpro and anti-COVID-19 drug discovery from medicinal plants. **Journal Of Pharmaceutical Analysis**, [S.L.], v. 10, n. 4, p. 313-319, ago. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpha.2020.03.009>.

SHIN, Donghyuk; MUKHERJEE, Rukmini; GREWE, Diana; BOJKOVA, Denisa; BAEK, Kheewoong; BHATTACHARYA, Anshu; SCHULZ, Laura; WIDERA, Marek; MEHDIPOUR, Ahmad Reza; TASCHER, Georg. Papain-like protease regulates SARS-CoV-2 viral spread and innate immunity. **Nature**, [S.L.], v. 587, n. 7835, p. 657-662, 29 jul. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2601-5>

SINGHAL, Tanu. A Review of Coronavirus Disease-2019 (COVID-19). **The Indian Journal Of Pediatrics**, [S.L.], v. 87, n. 4, p. 281-286, 13 mar. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12098-020-03263-6>.

THOMAS, Liji. **Are SARS-CoV-2 protease inhibitors effective antivirals in treating COVID-19?** Disponível em: <https://www.news-medical.net/news/20201130/Are-SARS-CoV-2-protease-inhibitors-effective-antivirals-in-treating-COVID-19.aspx>.

Acesso em: 17 fev. 2021.

VERMA, Sonia; DIXIT, Rajnikant; PANDEY, Kailash C.. Cysteine Proteases: modes of activation and future prospects as pharmacological targets. **Frontiers In Pharmacology**, [S.L.], v. 7, n. 8, p. 327-345, 25 abr. 2016. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2016.00107>.

WęGLARZ-TOMCZAK, Ewelina; TOMCZAK, Jakub M.; TALMA, Michał; BRUL, Stanley. Ebselen as a highly active inhibitor of PLProCoV2. **Biorxiv**, [S.L.], v. 5, n. 8, p. 322-329, 17 maio 2020. Cold Spring Harbor Laboratory. <http://dx.doi.org/10.1101/2020.05.17.100768>.