

**Universidade de São Paulo  
Instituto de Física de São Carlos**

**XII Semana Integrada do Instituto de  
Física de São Carlos**

**Livro de Resumos**

**São Carlos  
2022**

# Semana Integrada do Instituto de Física de São Carlos

SIFSC 12

## Coordenadores

Prof. Dr. Osvaldo Novais de Oliveira Junior

Diretor do Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo

Prof. Dr. Javier Alcides Ellena

Presidente da Comissão de Pós Graduação do Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo

Profa. Dra. Tereza Cristina da Rocha Mendes

Presidente da Comissão de Graduação do Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo

## Comissão Organizadora

Adonai Hilario

Arthur Deponte Zutião

Elisa Goettems

Gabriel dos Santos Araujo Pinto

Henrique Castro Rodrigues

Jefter Santiago Mares

João Victor Pimenta

Julia Martins Simão

Letícia Martinelli

Lorany Vitoria dos Santos Barbosa

Lucas Rafael Oliveira Santos Eugênio

Natasha Mezzacappo

Paulina Ferreira

Vinícius Pereira Pinto

Willian dos Santos Ribela

## Normalização e revisão – SBI/IFSC

Ana Mara Marques da Cunha Prado

Maria Cristina Cavarette Dziabas

Maria Neusa de Aguiar Azevedo

Sabrina di Salvo Mastrandiono

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço de Informação do IFSC

Semana Integrada do Instituto de Física de São Carlos

(12: 10 out. - 14 out. : 2022: São Carlos, SP.)

Livro de resumos da XII Semana Integrada do Instituto de Física de São Carlos/ Organizado por Adonai Hilario [et al.]. São Carlos: IFSC, 2022.

446 p.

Texto em português.

1. Física. I. Hilario, Adonai, org. II. Titulo

ISBN: 978-65-993449-5-4

CDD: 530

## PG48

### Bases estruturais do perfil de resistência dos compostos nirmatrelvir e ensitrelvir contra polimorfismos em circulação da enzima Main Protease (Mpro) do vírus SARS-CoV-2

NOSKE, Gabriela Dias; GODOY, Andre de; OLIVA, Glaucius; DOLCI, Isabela; SILVA, Ellen Sousa; GODOY, Mariana Ortiz de; FERNANDES, Rafaela; GUIDO, Rafael

gabriela.noske@usp.br

O vírus SARS-CoV-2 é o agente causador da COVID-19, uma doença infecciosa altamente contagiosa responsável pela pandemia que teve início em março de 2020. (1) O genoma viral contém uma ORF (ORF1ab), que codifica duas poliproteínas (pp1a e pp1ab) contendo proteínas não-estruturais do vírus, essenciais para sua replicação. Uma das proteínas não estruturais, a enzima nsp5 Mpro é pertencente à família das cisteíno proteases, possui estrutura dimérica e é responsável pela clivagem das poliproteínas virais em 11 sítios, auxiliando na liberação das proteínas virais maduras.(1) Dada sua importância no ciclo de replicação, é evidente que ela representa um importante alvo no planejamento de potenciais candidatos antivirais, já possuindo diversos inibidores com eficácia antiviral. Dentre eles, destacamos o nirmatrelvir, desenvolvido pela Pfizer, e o ensitrelvir, da farmacêutica Shionogi. (1-2) O uso de antivirais é frequentemente associado ao surgimento de resistência viral, como observado para diversos vírus, incluindo HCV e HIV. Desta forma, o objetivo principal deste projeto foi caracterizar 14 polimorfismos virais em circulação e avaliar a eficácia dos inibidores nirmatrelvir e ensitrelvir contra a enzima Main Protease. A fim de predizer a resistência aos compostos, selecionamos polimorfismos da enzima Mpro de SARS-CoV-2 naturalmente observados. Para isto, utilizamos o banco de dados de sequências virais GISAID hCOV-19/SARS-COV-2 para a proteína Mpro e selecionamos todos os mutantes com distância menor que 7 Å do sítio ativo e frequência maior de 10. Clonagem, expressão e purificação foram realizadas como descritas previamente (3), utilizando a construção da enzima que possui a sequência de auto-clivagem na região N-terminal. Os mutantes foram obtidos através de mutagênese sítio-dirigida, tendo como molde para a PCR-inversa o plasmídeo contendo a sequência codificante da enzima. Ambos os mutantes foram purificados através de precipitação por sulfato de amônia, seguida de cromatografia de troca aniônica. Para caracterização dos mutantes e sua resistência contra os inibidores, determinamos a potência inibitória (IC<sub>50</sub>) dos compostos utilizando ensaio enzimático baseado em FRET. Além disso, realizamos a caracterização estrutural, a partir da obtenção de suas estruturas cristalográficas, incluindo da enzima WT, em complexo com nirmatrelvir e ensitrelvir. A coleta de dados foi realizada na linha MANACA, no SIRIUS e a resolução da estrutura feita utilizando o método de substituição molecular. Nirmatrelvir manteve sua inibição na faixa de nanomolar para grande parte dos polimorfismos, exceto para os mutantes G143S e Q189K que foram associados a uma maior resistência. Para o ensitrelvir, a maior resistência foi observada para os mutantes M49I, G143S e R188K, porém não para Q189K, o que sugere um perfil de resistência distinto para os compostos. As estruturas cristalográficas dos polimorfismos selecionados mostraram a base estrutural responsável pela geração de resistência. Desta forma, nossos dados podem auxiliar no monitoramento da emergência de potenciais linhagens virais resistentes aos inibidores em questão, sugerindo que o desenvolvimento de terapia combinada de fármacos pode evitar o surgimento de resistência, assim como a caracterização destes polimorfismos, pode auxiliar no desenvolvimento de novos inibidores da enzima Mpro.

**Palavras-chave:** SARS-CoV-2. Main-Protease. Nirmatrelvir.

**Agência de fomento:** FAPESP (2018/25600-4)

**Referências:**

- 1 OWEN, D.R. *et al.* An oral SARS-CoV-2 Mpro inhibitor clinical candidate for the treatment of COVID-19. **Science**, v. 374, p. 1586-1593, 2021.
- 2 UNOH, Y. *et al.* Discovery of S-217622, a noncovalent Oral SARS-CoV-2 3CL protease inhibitor clinical candidate for treating COVID-19. **Journal Medical Chemistry**, v. 65, n.9,p. 423 6499–6512, 2022.
- 3 NOSKE, G. D. *et al.* A Crystallographic Ssnapshot of SARS-CoV-2 main protease maturation process. **Journal Molecular Biology**, v.433,n.18, p. 167118, Sept.2021.