



ISSN: 2230-9926

Available online at <http://www.journalijdr.com>

IJDR

International Journal of Development Research

Vol. 12, Issue, 12, pp. 60704-60709, December, 2022

<https://doi.org/10.37118/ijdr.25885.12.2022>



RESEARCH ARTICLE

OPEN ACCESS

INVESTIGAÇÃO DE FÁRMACOS ANTIOXIDANTES CANDIDATOS AO TRATAMENTO DE DOENÇAS RESPIRATÓRIAS VIRAIS

Tiago Oliveira do Vale*, Emilly Ingrid Santos Soares, Carlos André Lima Nascimento, Antônio Silva Machado, Ana Beatriz Franco da Silva, Caira Maciel Carvalho, Thais Nascimento Martins, Larissa Barroso Pessoa, Esdras Weleson Matias de Sousa and Antônio Carlos Melo Lima Filho

Department of Biomedicine, CEUMA University

ARTICLE INFO

Article History:

Received 19th September, 2022

Received in revised form

17th October, 2022

Accepted 27th November, 2022

Published online 25th December, 2022

Key Words:

Espécies reativas de oxigênio, infecção viral, in silico, NOX, inflamação.

*Corresponding author:

Tiago Oliveira do Vale,

ABSTRACT

O estresse oxidativo é formado em situações em que a produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) e nitrogênio (ERN) excede a atuação de enzimas antioxidantes endógenas. Sabe-se que o estresse oxidativo acontece em doenças respiratórias virais, devido o comprometimento de funções biológicas fisiológicas tais como alterações na membrana, proteínas e material genético celular. Este estudo teve como objetivo identificar fármacos que bloqueiem enzimas endógenas pró-oxidantes da família da família NADPH oxidase. Desta forma, trata-se de um estudo *in silico* no software Maestro com fármacos extraídos da plataforma DrugBank e estrutura das enzimas pró-oxidantes no ProteinBank. A capacidade de ligação às enzimas Dual oxigenase (DUOX) e NOX, ambas amplamente expressas no pulmão, foi comparada com padrões CHEMBL3827985, CHEMBL3828176 e CHEMBL50. Como resultado observou-se que dentre os mais de mil fármacos extraídos houve maior grau de ligação dos ligantes ZINC000096006023, ZINC00008214483, ZINC000001543475 e ZINC000026664090. Desta forma, conclui-se que agentes como ceftarolina, tenofovir, ampicacina e saquinavir possam ter uso promissor em infecções no trato respiratório, aliviando os sintomas por diminuir o estresse oxidativo *in silico*.

Copyright©2022, Tiago Oliveira do Vale et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

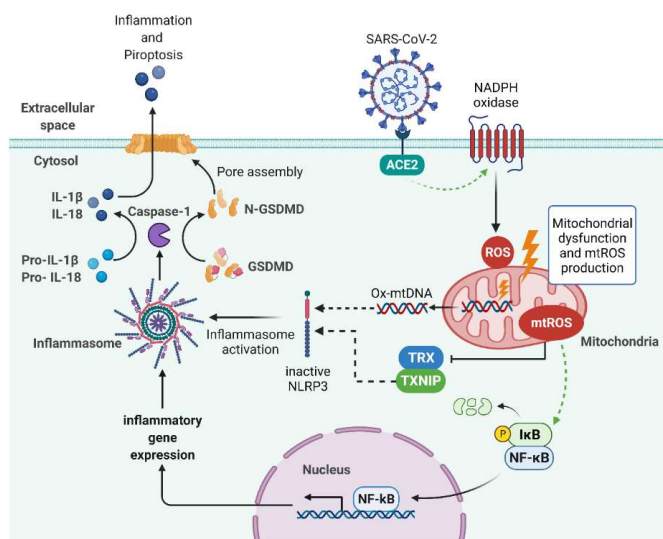
Citation: Tiago Oliveira do Vale, Emilly Ingrid Santos Soares, Carlos André Lima Nascimento, Antônio Silva Machado, Ana Beatriz Franco da Silva, Caira Maciel Carvalho, Thais Nascimento Martins, Larissa Barroso Pessoa, Esdras Weleson Matias de Sousa and Antônio Carlos Melo Lima Filho. "Investigação de fármacos antioxidantes candidatos ao tratamento de doenças respiratórias virais". *International Journal of Development Research*, 12, (12), 60704-60709.

INTRODUCTION

Entende-se que as espécies reativas de oxigênio (EROS) compreendem um conjunto de moléculas reativas derivadas do oxigênio molecular e incluem principalmente o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), oxigênio singlete (1O_2), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radicais hidroxila (OH^{\cdot}) (BAKADIA *et al.*, 2021). Elas são formadas através de reações redox ou por excitação eletrônica induzidas por fontes endógenas e exógenas. As EROS desempenham uma variedade de funções na biologia celular, sendo em sua maioria subprodutos do metabolismo celular normal (NATHAN e CUNNINGHAM-BUSSEL, 2013; SIES e JONES, 2020). No entanto, níveis elevados demonstram efeitos prejudiciais em diferentes biomoléculas intracelulares, tais como proteínas, lipídios e ácidos nucleicos (BAKADIA *et al.*, 2021; NATHAN e CUNNINGHAM-BUSSEL, 2013). O desequilíbrio na homeostase das EROS resulta na produção da mesma em níveis elevados, por muito tempo e em locais inadequados, escapando assim do catabolismo pelos agentes antioxidantes e dos sistemas de reparo (PIZZINO *et al.*, 2017). Este processo é um evento em comum nas diversas infecções virais que acometem o trato respiratório, podendo resultar na menor captação de

oxigênio e disfunção respiratória, culminando no agravamento do quadro clínico do paciente (KHOMICH *et al.*, 2018). Assim, as EROS estão envolvidas na fisiopatologia da maior parte das infecções respiratórias virais, como as causadas pelos vírus Influenza (IV) (NG *et al.*, 2014), vírus sincicial respiratório humano (HRSV) (MARTÍNEZ *et al.*, 2016), rinovírus humano (HRV) (KAUL *et al.*, 2020) e SARS-CoV-2 (CHERNYAK *et al.*, 2020). Existem diferentes vias pelas quais as EROS são produzidas, incluindo fontes endógenas, em especial, as isoformas de NADPH oxidases (NOXs), Dual Oxidase (DUOX), a cadeia transportadora de elétrons mitocondrial (ETC), xantina oxidase, óxido nítrico sintases (iNOS), inflamação, e fontes exógenas como radiação UV, poluição, drogas e álcool (NATHAN e CUNNINGHAM-BUSSEL, 2013). Em condições patológicas, as EROS são capazes de modular positivamente a inflamação, pela regulação de fatores de transcrição, como o fator nuclear kappa B (NF- κ B), exemplificado pela contribuição de um fenótipo mais crítico da COVID-19 (SU *et al.*, 2021). Muitos radicais atuam por meio da fosforilação do inibidor de NF- κ B (I κ B), permitindo a sua degradação pelo proteossoma e a translocação de NF- κ B para o núcleo, resultando no aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias (Figura 1) (WANG *et al.*, 2019; SCHOONBROODT *et al.*, 2000; TAKADA *et al.*, 2003).

Além disso, a translocação nuclear de NF- κ B mediada por ROS amplifica a expressão de genes NLRP3 e de citocinas imaturas como pró-interleucina 1 beta (pró-IL-1 β) e 18 (pró-IL-18), resultando na ativação do inflamassoma NLRP3 e caspase-1. Por sua vez, a caspase-1 é responsável pela clivagem de pró-IL-1 β e pró-IL-18 em IL-1 β e IL-18, respectivamente. A montagem do inflamassoma NLRP3 associada a subsequente ativação de caspases, conduz a um modelo de morte celular altamente inflamatória, denominada piroptose (LI *et al.*, 2020; LIU *et al.*, 2017; BOARU *et al.*, 2015).



Fonte: Próprio autor.

Figura 1. Ativação do inflamassoma NLRP3 mediada por espécies reativas de oxigênio mitocondriais (mtROS). A regulação positiva de enzimas oxidantes como NADPH oxidases (NOX) pela infecção pelo vírus SARS-CoV-2, resulta na produção aumentada de espécies reativas de oxigênio (EROS), podendo causar disfunção mitocondrial ao danificar a cadeia transportadora de elétrons mitocondrial (ETC), resultando na produção de mtROS. As mtROS, atuam como sinalizadores pró-inflamatórios, ao mediar a ativação do inflamassoma NLRP3, seja pela oxidação do DNA mitocondrial (mtDNA), pelo aumento de NF- κ B nuclear ou pela liberação de TXNIP do seu inibidor (TRX). Todas as diferentes vias, levam a ativação e montagem do inflamassoma NLRP3 e consequentemente de caspase-1, induzindo a maturação de citocinas inflamatórias e proteínas formadoras de poros na membrana plasmática (GSDMD), conduzindo a liberação de citocinas maduras e a morte celular por piroptose.

De forma geral, ela é uma morte celular programada lítica rápida, ocorrendo mediante a ativação de caspase-1, que atua na clivagem da proteína gasdermina D (GSDMD), principal proteína responsável pela formação de poros da membrana plasmática (SHI *et al.*, 2015). Após ruptura da membrana, há liberação de citocinas maduras e diversos padrões moleculares associados ao dano celular (DAMPs) no meio extracelular, induzindo o recrutamento e ativação de mais células da imunidade inata, agravando o quadro inflamatório já exacerbado (FERREIRA *et al.*, 2021; SUN *et al.*, 2019; SWANSON *et al.*, 2019). Tendo como base a participação das EROS na complicação dos quadros de infecções respiratórias virais, este artigo teve como principal objetivo identificar possíveis fármacos já utilizados na prática clínica capazes de se ligar a componentes pró-oxidantes por meio de ferramentas computacionais.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de uma pesquisa em bancos de dados online e programas de avaliação *insilico*. Para a pesquisa de candidatos antioxidantes foi realizada uma pesquisa bibliográfica descritiva em bases de dados internacionais com termos-chave relacionados, seguida da aplicação de critérios de inclusão e exclusão pertinentes, elaboração de uma

planilha para registros das informações relevantes e descrição do mapeamento dos estudos identificados. Após a seleção, os candidatos foram avaliados quanto a semelhança estrutural com outros fármacos já conhecidos pelo efeito antioxidante, por meio de programas de docking específicos.

Obtenção dos ligantes: Foi utilizado um conjunto de aproximadamente 1615 ligantes em diferentes conformações após tratamento computacional, finalizando com cerca de 3 mil hits. Os mesmos foram obtidos por meio da plataforma DrugBank (WISHART *et al.*, 2017), contendo fármacos aprovados pelo FDA (Food and Drug Administration). Os padrões (CHEMBL3827985, CHEMBL3828176 e CHEMBL50) foram extraídos da ChEMBL Database (EMBL-EBI) (GAULTON *et al.*, 2017).

Preparo da proteína para Modelo baseado em docking (SBDD): A estrutura da proteína Dual oxigenase 1 (DUOX1-DUOX1A1) foi extraída do Protein Data Bank (PDB ID: 7D3F, resolução: 2,60 Å). Em seguida, a estrutura da proteína foi importada para o programa Maestro v. 10.0 (Schrödinger, LLC, New York, NY, 2014) e preparada através da ferramenta Protein Preparation Wizard, conforme descrito a seguir: (i) átomos de hidrogênio foram adicionados (pH = 7,4 \pm 0,5) de acordo com o programa Epik v. 2.7; (ii) foram definidos os estados de protonação e tautomérico dos resíduos em pH 7,4; (iii) as moléculas de água que realizaram menos de 3 ligações de hidrogênio com o complexo proteína-ligante (águas não estruturais) foram removidas; (iv) a estrutura da enzima foi refinada através do campo de força OPLS-2005 (BANKS *et al.*, 2005; SHELLEY *et al.*, 2007). Ao final do preparo, a estrutura da proteína foi processada no servidor FTMap (KOZAKOV *et al.*, 2015), onde foram definidos os locais de maior druggability, auxiliando na tomada de decisão dos pontos de estabelecimento nas coordenadas de formação para realização do docking.

Preparo estrutural dos ligantes: Os hits, bem como os compostos utilizados como padrão (CHEMBL3827985, CHEMBL3828176 e CHEMBL50), foram importados na extensão Standard Database Format (SDF) ao programa Maestro v. 10.0, sendo preparados através da ferramenta LigPrep v.2.7 (Schrödinger, LLC, New York, NY, 2014). Todas os possíveis estados de ionização e tautomerização foram gerados (pH = 7,4 \pm 0,5), de acordo com o programa Epik v. 2.7 (Schrödinger, LLC, New York, NY, 2014). O conformer e tautômeros de menor energia foram mantidos como arquivo de entrada para os estudos de docking molecular.

Docking molecular: Uma vez a proteína preparada, a mesma foi processada na ferramenta Glide V.5.5 (Schrödinger, LLC, New York, NY, 2014), onde foi definida as coordenadas de docking (X: 107.2; Y: 70.06; Z: 129.88), gerando-se uma caixa (grid) com suas respectivas dimensões e volumes entorno do sítio ativo "A" de 20 Å. Em seguida as simulações de docking foram realizadas novamente na ferramenta Glide, usando a resolução High Throughput Virtual Screening (HTVS). As orientações dos ligantes no sítio ativo do modelo 3D da proteína DUOX1-DUOX1A1 foram analisados, e as conformações energeticamente favoráveis foram selecionadas por sua função GlideScore (ELDRIDGE *et al.*, 1997).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ainda permanecem desconhecidos todos os efeitos fisiopatológicos das EROS durante as infecções respiratórias virais, uma vez que esses produtos são formados em diferentes locais e situações, a sua ação pode ser benéfica ou deletéria, estando intimamente relacionada a sua concentração e localização. Durante infecções virais do trato respiratório, há um aumento da expressão e atividade de enzimas pró-oxidantes. Tendo em vista tais aspectos, o primeiro passo foi realizar das principais responsáveis pela produção de EROS, em especial as isoformas NOX 1-5 e DUOX 1-2 (Figuras 2), ambas da família NADPH oxidase (VLAHOS *et al.*, 2011; FINK *et al.*, 2008; SCHNEIDER *et al.*, 2010; HARPER *et al.*, 2005). A modulação positiva dessas enzimas resulta na desregulação da homeostasia

redox, levando a danos em diferentes macromoléculas e alterações na sinalização intracelular sensível a redox. Um exemplo relevante trata da ativação de neutrófilos durante a COVID-19, que resulta em danos oxidativos no grupo heme e nos lipídeos poli-insaturados da membrana das hemácias, prejudicando o transporte de gases e comprometimento da passagem dos eritrócitos pelos capilares, contribuindo para a insuficiência respiratória e o desenvolvimento de trombose (LAFORGE *et al.*, 2020).

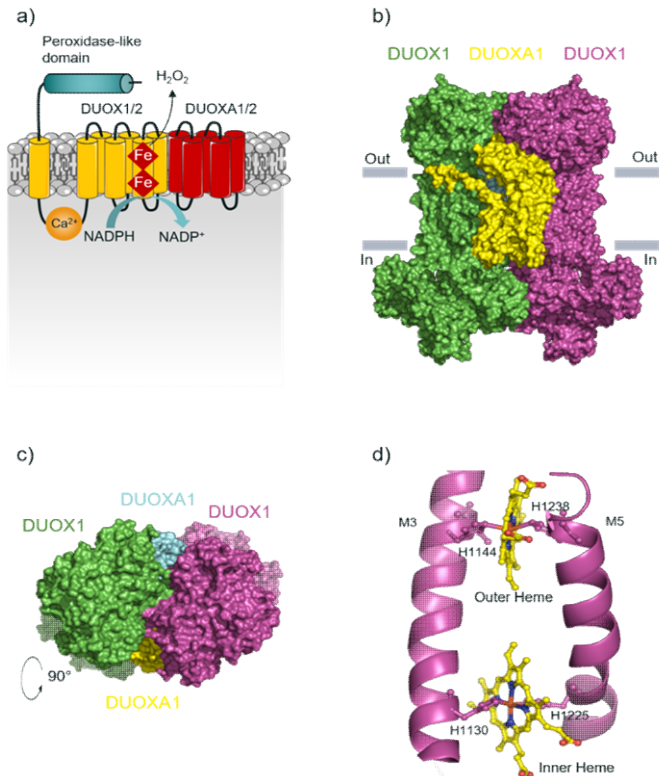


Figura 2. Estrutura tridimensional de Dual oxidase (DUOX). a) modelo esquemático de DUOX 1/2, apresentando em amarelo suas hélices transmembrana, em vermelho a subunidade reguladora DUOXA 1/2, um domínio extracelular de peroxidase e o sítio intracelular de ligação a NADPH. b) modelo 3D do complexo DUOX1 em estado de alto cálcio (PDB ID: 7D3F), membrana de fosfolípidios representada por linhas cinzas, subunidades de DUOX1 representada em verde e roxo, DUOXA1 em amarelo. c) DUOX1 a uma rotação de 90° comparado com b). d) domínio de ligação heme nas hélices 3 e 5, cada unidade DUOX1 apresenta um par de heme, um destes localizados intracelularmente e outro no meio extracelular.

Desta forma, são crescentes os estudos que visam as EROS como alvos terapêuticos, no intuito de restaurar a homeostase redox nos sistemas biológicos, dentre as estratégias terapêuticas em desenvolvimento atualmente, destaca-se a eliminação direta de EROS por antioxidantes exógenos, a inibição farmacológica de enzimas oxidantes e o aumento das defesas antioxidantes endógenas e seus substratos (FORMAN *et al.*, 2021). Devido este fato, foram avaliadas 1615 estruturas, resultando em cerca de 3 mil hits de docagem com a NOX1. Dentre elas, destacaram-se 11 moléculas (Tabela 1) com score de ligação acima dos ligantes padrões para a mesma (CHEMBL3827985, CHEMBL3828176 e CHEMBL50), conforme (GAULTON *et al.*, 2017). Embora os candidatos selecionados apresentem semelhança estrutural com fármacos antioxidantes já usados na prática clínica, os mesmos nunca foram utilizados anteriormente para regulação da homeostasia redox. Portanto, trata-se de moléculas aprovadas e empregadas na rotina com fins terapêuticos distintos do proposto por este estudo. Além disso, uma parcela dos candidatos selecionados é amplamente utilizada como agentes antibacterianos, tal como ZINC000096006023 (Ceftarolinafosamil), ZINC00008214483 (Amicacina) e ZINC00009164421 (Ceftolozano).

Tabela 1. Fármacos candidatos selecionados após docking molecular com a NADPH oxidase 1 (NOX 1). Os ligantes foram classificados conforme sua pontuação na função Glide Score em ordem decrescente. Assim, ZINC000096006023 (Ceftarolinafosamil) e ZINC00003812863 (Lisinopril), apresentaram a melhor e pior pontuação, respectivamente, em relação ao padrão estabelecido

Código ZINC dos ligantes	Docking Score com NOX1
chembl3827985 (padrão)	-5.259
chembl3828176 (padrão)	-7.361
chembl50 (padrão)	-5.259
ZINC000096006023	-8.798
ZINC000001543475	-8.523
ZINC000008214483	-8.28
ZINC000026664090	-8.258
ZINC000003989268	-8.205
ZINC000085537017	-7.86
ZINC000029416466	-7.832
ZINC000008035395	-7.804
ZINC000009164421	-7.786
ZINC000003812863	-7.73

Desta forma, aceftarolinafosamil é um antibiótico cefalosporínico empregada no tratamento de infecções bacterianas agudas na pele e seus anexos, além de tratar pneumonia bacteriana adquirida na comunidade (MacGowan *et al.*, 2013). A amicacina é um composto derivado da canamicina e pertence à classe dos aminoglicosídeos, sendo indicada para tratar infecções causadas por cepas resistentes de bactérias gram-negativas e algumas gram-positivas (Ramirez *et al.*, 2017). Por sua vez o ceftolozano, também é um antibiótico cefalosporínico, usado no tratamento de infecções intra-abdominais e do trato urinário e mais recentemente contra pneumonia hospitalar (Giacobbe *et al.*, 2018). Algumas das moléculas potenciais também apresentam ação antirretroviral, sendo usadas no tratamento de infecções pelo vírus da Imunodeficiência adquirida (HIV), como o ZINC000001543475 (Tenofovir) e ZINC000026664090 (Saquinavir). O tenofovir é um inibidor da transcriptase reversa análogo de nucleotídeo (nRTIs), sendo utilizado em conjunto com outros medicamentos para o controle da infecção pelo HIV-1 e no tratamento da hepatite B (Duwal *et al.*, 2012). Já o saquinavir atua como um inibidor da enzima protease do HIV-1, uma enzima fundamental para o ciclo de vida viral do HIV e sua inibição resulta na liberação de partículas virais imaturas, e portanto, não infecciosas (De Clercq., 2009). Diferentemente dos compostos anteriores, o ZINC000008035395 (Ioversol) não é empregado no tratamento de infecções por microrganismos, por outro lado, sendo utilizado como agente de contraste em diversos procedimentos de imagem, como angiografia, urografia e tomografia computadorizada (Morimoto *et al.*, 1990). De forma semelhante, ZINC000085537017 (cangrelor) possui ação anticoagulante, atuando como antagonista reversível do receptor de plaquetas P2Y12, assim inibindo a agregação plaquetária, sendo útil durante a intervenção coronária percutânea, a fim de reduzir o risco de trombose de *stent*, revascularização coronária repetida e infarto do miocárdio periprocedimento (Keating G. M., 2015).

Além disso, ZINC00003812863 (lisinopril), é um inibidor da enzima conversora de angiotensina (ECA), assim impedindo a conversão da angiotensina I em angiotensina II, responsável pela contração vascular e aumento da pressão sanguínea, dessa forma, lisinopril é indicado para o tratamento de hipertensão, infarto agudo do miocárdio e insuficiência cardíaca (Laurent Stephane., 2017). Os candidatos foram classificados conforme seus resultados na função GlideScore, um método matemático empírico aplicado para prever a afinidade entre proteína-ligante, pela estimativa de energia livre de ligação do ligante. Assim, o GlideScore é utilizado na separação de moléculas com forte capacidade de ligação daquelas que apresentam baixa ou nenhuma força de ligação. Uma vez que simula a energia livre de ligação, valores de score mais negativos representam ligantes mais unidos a sua proteína alvo, e logo possuem maior força de ligação, de forma que, valores mais positivos representam ligações

mais fracas ou inexistentes. Como apresentado na Figura 4, apresentaram-se os resultados obtidos na docagem molecular dos compostos ceftarolinafosamil, tenofovir e ampicacina em 7D3F, visando explorar as interações entre tais ligantes com a enzima DUOX1. Assim, foi observado que alguns dos principais resíduos de aminoácidos do sítio catalítico interagem com os compostos por meio de ligações de hidrogênio, pontes salinas e interações do tipo Pi-cation.

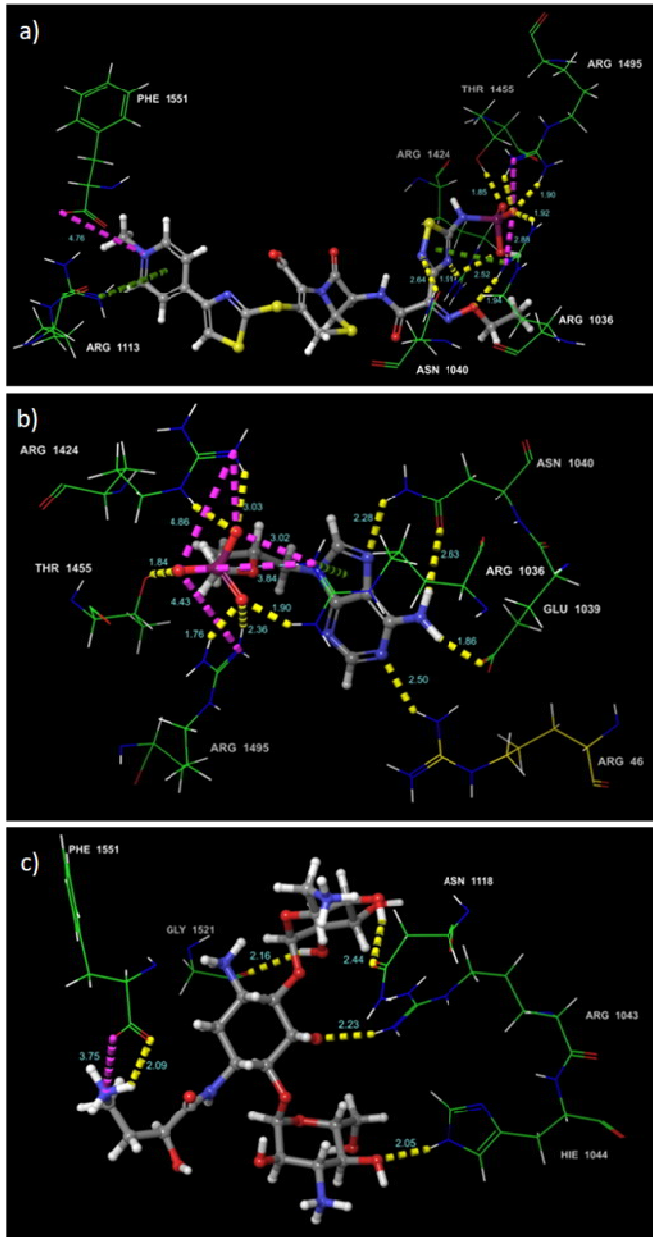


Figura 3. Docagem molecular dos compostos (a) Ceftarolinafosamil, (b) Tenofovir e (c) ampicacina na estrutura cristalográfica DUOX1 (7D3F). Ligações de hidrogênio apresentam-se como linhas tracejadas amarelas; interações do tipo Pi-cation estão representadas por linhas tracejadas verdes e interações do tipo ponte salina estão representadas por linhas tracejadas roxas

Em relação ao composto ceftarolinafosamil, observou-se que os seguintes átomos realizaram ligações de hidrogênio: os átomos de nitrogênio nas posições 2 e 4 do tiadiazol com os resíduos de aminoácidos Asn1040 e Arg1424 a uma distância de 2,64 Å e 1,91 Å respectivamente, o átomo de oxigênio da imina com o resíduo de aminoácido Arg1036 a uma distância de 1,94 Å, a hidroxila do grupo fosfato com o resíduo Arg1424 a 2,52 Å de distância e o átomo de oxigênio com dupla ligação ao fosforo com o resíduo Thr1455 a uma distância de 1,85 Å. Além disso, os átomos de nitrogênio da cadeia lateral dos resíduos Arg1113 e Arg1036 formaram interações do tipo

Pi-cation com a piridina e tiadiazol, respectivamente. E por fim, os seguintes átomos formaram interações do tipo ponte salina: a átomo de nitrogênio da piridina com o resíduo Phe1551 a 4,76 Å de distância e o átomo de oxigênio do grupo fosfato com o resíduo Arg1036 a uma distância de 2,88 Å.

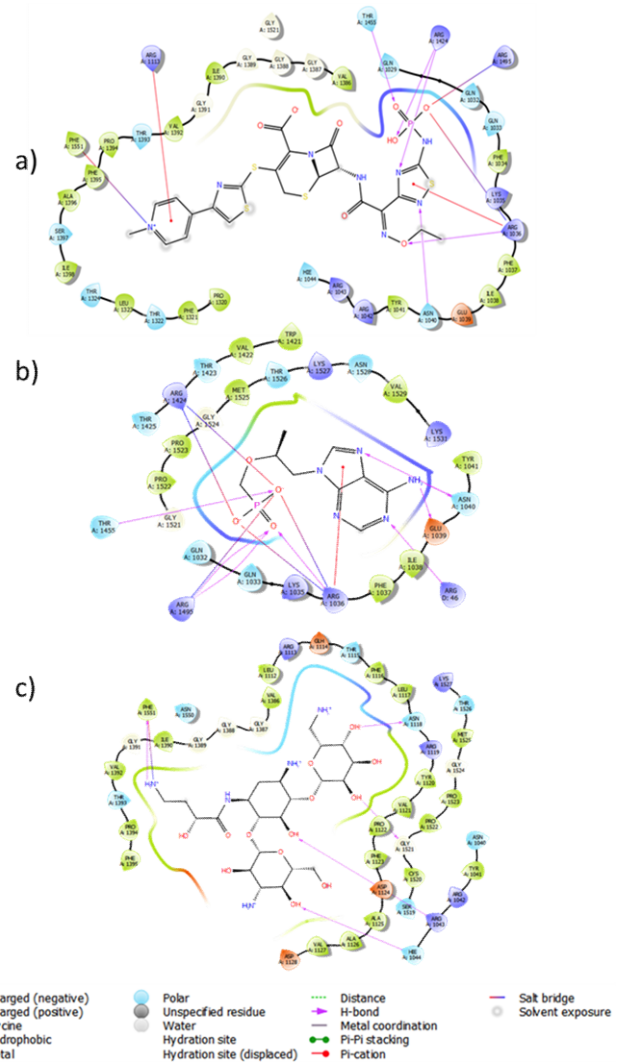


Figura 4. Diagrama 2D de interação dos ligantes (a) ceftarolinafosamil, (b) tenofovir e (c) ampicacina com os resíduos de aminoácidos da enzima Dual oxigenase 1 (DUOX1) no sítio 7D3F

Analisando as interações do composto tenofovir, o mesmo formou ligação de hidrogênio com os seguintes resíduos de aminoácidos do sítio catalítico: o grupo amina do anel purínico com os resíduos Asn1040 e Glu1039 a uma distância de 2,63 Å e 1,86 Å respectivamente, o átomo de oxigênio com dupla ligação ao fosforo realiza duas ligações de hidrogênio com o resíduo Arg1495 a 1,76 Å e 2,36 Å de distância e uma ligação de hidrogênio com o resíduo Arg1036 a uma distância de 1,90 Å, o átomo de oxigênio do grupo fosfato com o resíduo Thr1455 a 1,84 Å, o resíduo Arg46 da cadeia proteica D, formou uma ligação de hidrogênio com o átomo de nitrogênio na posição 1 da purina a 2,50 Å, além disso, o átomo de nitrogênio na posição 7 da purina com o resíduo Asn1040 a uma distância de 2,28 Å. Ademais, o átomo de nitrogênio da cadeia lateral do resíduo Arg1036, forma uma interação do tipo Pi-cation com o anel purínico. Já as interações do tipo ponte salina ocorreram entre estes átomos: o resíduo Arg1495 com o átomo de oxigênio do grupo fosfato a 4,43 Å, os resíduos Arg1036 e Arg1424 formaram duas interações com dois diferentes átomos de oxigênio ligados ao fosforo,

as interações com o resíduo Arg1036 apresentaram distância de 3,84 Å e 3,02 Å, enquanto as de Arg1424 havia 4,86 Å e 3,03 Å.

Por sua vez, o composto amicacina, diferentemente dos ligantes anteriores, não apresentou interações do tipo Pi-cation. No entanto, foi observado a formação de ligações de hidrogênio com os seguintes resíduos de aminoácidos: o resíduo Hie1044 com a hidroxila na posição 3 do anel tetrahidropirano à 2,05 Å, o resíduo Arg1043 na hidroxila do anel ciclohexano à 2,23 Å, os resíduos Asn1118 e Gly1521 com as hidroxilas nas posições 2 e 4 do segundo anel tetrahidropirano à 2,44 Å e 2,16 Å, respectivamente, e em conclusão, o resíduo Phe1551 com o átomo de nitrogênio do grupo hidroxibutanamida à 2,09 Å, notou-se ainda, que o mesmo resíduo formou uma interação do tipo ponte salina com o mesmo átomo à 3,75 Å de distância. Por meio do diagrama de interação do ligante (Figura 5), pode-se explorar as características das interações ligante-proteína e as semelhanças no modo de interação entre os mesmos e compostos já estabelecidos na literatura, como a quercetina. Desta forma, foi possível observar, que os compostos selecionados apresentaram alguns resíduos em comum no seu modo de interação. Como é o caso da ceftarolinafosamil, onde o resíduo Phe1551 também forma ponte salina com a amicacina. Além disso, os resíduos: Arg1424, Asn1040, Arg1036, Thr1455 e Arg1495, também mostraram interagir com o tenofovir, diferindo apenas o tipo de interação como é o caso da Arg1424, que forma ponte salina com o tenofovir e ligações de hidrogênio com ceftarolinafosamil.

Além disso, estes ligantes compartilham alguns resíduos em comum com os compostos utilizados neste estudo como padrão para os resultados de docking molecular (Tabela 1). Como exemplo, o padrão chembl3827985 também formou uma ligação de hidrogênio com o resíduo Arg1424, assim como a ceftarolinafosamil. Já o padrão com melhor docking score, chembl3828176 (-7.361), formou uma interação do tipo Pi-cation com Arg1113, semelhante à ceftarolinafosamil, além disso, apresentou interações com os resíduos Gly1521 e Arg1043, como a amicacina. Com relação a quercetina, observou-se que a mesma realiza ligação de hidrogênio com o resíduo Phe1551, semelhante aos compostos ceftarolinafosamil e a amicacina, no entanto, difere-se da ceftarolina pelo tipo de interação, já que a quercetina formou ponte salina com o resíduo. Visando o papel-chave do estresse oxidativo em infecções respiratórias virais, e o potencial antioxidante de moléculas que antes não haviam sido empregadas na regulação redox, espera-se que essa abordagem contribua para o desenvolvimento e reposicionamento de fármacos a partir de moléculas já utilizadas na prática clínica, de forma mais ágil e segura.

CONCLUSÃO

Embora ainda não esteja elucidado todos os mecanismos patogênicos das doenças respiratórias virais, sabe-se que o estresse oxidativo é um fator comum a grande parte das infecções virais do trato respiratório. Por este motivo, a inibição farmacológica das isoformas de NADPH oxidase é uma estratégia antioxidante complementar válida para o controle do estresse oxidativo e a resposta inflamatória associada. Diversos agentes como ceftarolina, tenofovir, amicacina e saquinavir demonstraram efeitos promissores na inibição de DUOX1. No entanto, pesquisas futuras ainda são necessárias para melhor caracterizar o mecanismo de ação e a especificidade celular desses compostos, com a finalidade de aplicar esses agentes na prática clínica e facilitar o desenvolvimento de novos inibidores específicos.

REFERÊNCIAS

- BAKADIA, B. M., Boni, B., Ahmed, A., Yang, G. (2021). The impact of oxidative stress damage induced by the environmental stressors on COVID-19. *Life sciences*, 264, 118653. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118653>
- BANKS, J. L. *et al.* Integrated Modeling Program, Applied Chemical Theory (IMPACT). *Journal of Computational Chemistry*, 2005.
- BOARU, S. G., Borkham-Kamphorst, E., Van de Leur, E., Lehnen, E., Liedtke, C., & Weiskirchen, R. (2015). NLRP3 inflammasome expression is driven by NF-κB in cultured hepatocytes. *Biochemical and biophysical research communications*, 458(3), 700–706. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.02.029>
- CHERNYAK, B. V., Popova, E. N., Prikhodko, A. S., Grebenchikov, O. A., Zinovkina, L. A., Zinovkin, R. A. (2020). COVID-19 and Oxidative Stress. *Biochemistry. Biokhimiia*, 85(12), 1543–1553. <https://doi.org/10.1134/S0006297920120068>
- DE CLERCQ E. (2009). The history of antiretrovirals: key discoveries over the past 25 years. *Reviews in medical virology*, 19(5), 287–299. <https://doi.org/10.1002/rmv.624>
- DUWAL, S., Schütte, C., & von Kleist, M. (2012). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the reverse transcriptase inhibitor tenofovir and prophylactic efficacy against HIV-1 infection. *PLoS one*, 7(7), e40382. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040382>
- ELDRIDGE MD, Murray CW, Auton TR, Paolini GV, Mee RP. Empirical scoring functions: I. The development of a fast empirical scoring function to estimate the binding affinity of ligands in receptor complexes. *J ComputAided Mol Des*. 1997; 11(5): 425-45.
- FERREIRA, A.C., Soares, V.C., de Azevedo-Quintanilha, I.G. *et al.* (2021) SARS-CoV-2 engages inflammasome and pyroptosis in human primary monocytes. *Cell Death Discov*. 7, 43. <https://doi.org/10.1038/s41420-021-00428-w>
- FINK, K., Duval, A., Martel, A., Soucy-Faulkner, A., Grandvaux, N. (2008). Dual role of NOX2 in respiratory syncytial virus- and sendai virus-induced activation of NF-κB in airway epithelial cells. *Journal of immunology* (Baltimore, Md. : 1950), 180(10), 6911–6922. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.180.10.6911>
- FORMAN, H.J., Zhang, H. Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. *Nat Rev Drug Discov* 20, 689–709 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41573-021-00233-1>
- GAULTON A, Hersey A, Nowotka M, Bento AP, Chambers J, Mendez D, Motow P, Atkinson F, Bellis LJ, Cibrián-Uhalte E, Davies M, Dedman N, Karlsson A, Magariños MP, Overington JP, Papadatos G, Smit I, Leach AR. (2017) 'The ChEMBL database in 2017.' *Nucleic Acids Res.*, 45(D1) D945-D954. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1074>
- GIACOBBE, D. R., Bassetti, M., De Rosa, F. G., Del Bono, V., Grossi, P. A., Menichetti, F., Pea, F., Rossolini, G. M., Tumbarello, M., Viale, P., Viscoli, C., & ISGRI-SITA (Italian Study Group on Resistant Infections of the Società Italiana Terapia Antinfettiva) (2018). Cefotolozane/tazobactam: place in therapy. *Expert review of anti-infective therapy*, 16(4), 307–320. <https://doi.org/10.1080/14787210.2018.1447381>
- HARPER, R. W., Xu, C., Eiserich, J. P., Chen, Y., Kao, C. Y., Thai, P., Setiadi, H., & Wu, R. (2005). Differential regulation of dual NADPH oxidases/peroxidases, Duox1 and Duox2, by Th1 and Th2 cytokines in respiratory tract epithelium. *FEBS letters*, 579(21), 4911–4917. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2005.08.002>
- KAUL, P., Biagioli, M. C., Singh, I., Turner, R. B. (2000). Rhinovirus-induced oxidative stress and interleukin-8 elaboration involves p47-phox but is independent of attachment to intercellular adhesion molecule-1 and viral replication. *The Journal of infectious diseases*, 181(6), 1885–1890. <https://doi.org/10.1086/315504>
- KEATING G. M. (2015). Cangrelor: A Review in Percutaneous Coronary Intervention. *Drugs*, 75(12), 1425–1434. <https://doi.org/10.1007/s40265-015-0445-3>
- KHOMICHO, O. A., Kochetkov, S. N., Bartosch, B., & Ivanov, A. V. (2018). Redox Biology of Respiratory Viral Infections. *Viruses*, 10(8), 392. <https://doi.org/10.3390/v10080392>
- KOZAKOV D, Grove LE, Hall DR, Bohnuud T, Mottarella SE, Luo L, Xia B, Beglov D, Vajda S. The FTMap family of web servers for determining and characterizing ligand-binding hot spots of proteins. *Nat Protoc*. 2015 May;10(5):733-55. doi: 10.1038/nprot.2015.043.
- LAFORGE, M., Elbim, C., Frère, C. *et al.* (2020) Tissue damage from neutrophil-induced oxidative stress in COVID-19. *Nat Rev Immunol* 20, 515–516. <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0407-1>

- LAURENT S. (2017). Antihypertensive drugs. *Pharmacological research*, 124, 116–125. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2017.07.026>
- LI, X., Jiao, F., Hong, J. *et al.* (2020) SENP7 knockdown inhibited pyroptosis and NF- κ B/NLRP3 inflammasome pathway activation in Raw 264.7 cells. *Sci Rep* 10, 16265. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73400-w>
- LIU, Z., Wang, X., Wang, Y., & Zhao, M. (2017). NLRP3 inflammasome activation regulated by NF- κ B and DAPK contributed to paraquat-induced acute kidney injury. *Immunologic research*, 65(3), 687–698. <https://doi.org/10.1007/s12026-017-8901-7>
- MACGOWAN, A. P., Noel, A. R., Tomaselli, S., & Bowker, K. E. (2013). Pharmacodynamics of ceftaroline against *Staphylococcus aureus* studied in an in vitro pharmacokinetic model of infection. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 57(6), 2451–2456. <https://doi.org/10.1128/AAC.01386-12>
- MARTINEZ, I., García-Carpizo, V., Guijarro, T., García-Gomez, A., Navarro, D., Aranda, A., Zambrano, A. (2016). Induction of DNA double-strand breaks and cellular senescence by human respiratory syncytial virus. *Virulence*, 7(4), 427–442. <https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1144001>
- MORIMOTO, S., Kozuka, T., Takamiya, M., Kimura, K., Matsuyama, S., Kuribayashi, S., Shigeta, A., Umemura, J., Harada, J., & Yamada, T. (1990). *Nihon IgakuHoshasen Gakkai zasshi*. *Nippon acta radiologica*, 50(9), 1087–1101.
- NATHAN, C., Cunningham-Bussel, A. (2013). Beyond oxidative stress: an immunologist's guide to reactive oxygen species. *Nature reviews. Immunology*, 13(5), 349–361. <https://doi.org/10.1038/nri3423>
- NG, M. P., Lee, J. C., Loke, W. M., Yeo, L. L., Quek, A. M., Lim, E. C., Halliwell, B., Seet, R. C. (2014). Does influenza A infection increase oxidative damage?. *Antioxidants & redox signaling*, 21(7), 1025–1031. <https://doi.org/10.1089/ars.2014.5907>
- PIZZINO, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017, 8416763. <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>
- RAMIREZ, M. S., & Tolmasky, M. E. (2017). Amikacin: Uses, Resistance, and Prospects for Inhibition. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 22(12), 2267. <https://doi.org/10.3390/molecules22122267>
- SCHNEIDER, D., Ganesan, S., Comstock, A. T., Meldrum, C. A., Mahidhara, R., Goldsmith, A. M., Curtis, J. L., Martinez, F. J., Hershenson, M. B., & Sajjan, U. (2010). Increased cytokine response of rhinovirus-infected airway epithelial cells in chronic obstructive pulmonary disease. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 182(3), 332–340. <https://doi.org/10.1164/rccm.200911-1673OC>
- SCHOONBROODT, S., Ferreira, V., Best-Belpomme, M., Boelaert, J. R., Legrand-Poels, S., Korner, M., Piette, J. (2000). Crucial role of the amino-terminal tyrosine residue 42 and the carboxyl-terminal PEST domain of I kappa B alpha in NF-kappa B activation by an oxidative stress. *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 164(8), 4292–4300. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.164.8.4292>
- SHELLEY, J. C. *et al.* Epik: a software program for pK(a) prediction and protonation state generation for drug-like molecules. *Journal of computer-aided molecular design*, v. 21, n. 12, p. 681–691, 2007.
- SHI, J., Zhao, Y., Wang, K. *et al.* (2015) Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death. *Nature* 526, 660–665. <https://doi.org/10.1038/nature15514>
- SIES, H., Jones, D. P. (2020). Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 21(7), 363–383. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0230-3>
- SU, CM., Wang, L.; Yoo, D. Activation of NF- κ B and induction of proinflammatory cytokine expressions mediated by ORF7a protein of SARS-CoV-2. *Sci Rep* 11, 13464 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92941-2>
- SUN, L., Ma, W., Gao, W. *et al.* (2019) Propofol directly induces caspase-1-dependent macrophage pyroptosis through the NLRP3-ASC inflammasome. *Cell Death Dis* 10, 542. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-1761-4>
- SWANSON, K.V., Deng, M. & Ting, J.P.Y. (2019) The NLRP3 inflammasome: molecular activation and regulation to therapeutics. *Nat Rev Immunol* 19, 477–489. <https://doi.org/10.1038/s41577-019-0165-0>
- TAKADA, Y., Mukhopadhyay, A., Kundu, G. C., Mahabeleshwar, G. H., Singh, S., Aggarwal, B. B. (2003). Hydrogen peroxide activates NF-kappa B through tyrosine phosphorylation of I kappa B alpha and serine phosphorylation of p65: evidence for the involvement of I kappa B alpha kinase and Syk protein-tyrosine kinase. *The Journal of biological chemistry*, 278(26), 24233–24241. <https://doi.org/10.1074/jbc.M212389200>
- VLAHOS, R., Stambas, J., Bozinovski, S., Broughton, B. R., Drummond, G. R., & Selemidis, S. (2011). Inhibition of Nox2 oxidase activity ameliorates influenza A virus-induced lung inflammation. *PLoS pathogens*, 7(2), e1001271. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1001271>
- WANG, L; Xie, Y.; Yang, W.; Yang, Z.; Jiang, S.; Zhang, C.; Zhang, G.. (2019) Alfalfa polysaccharide prevents H2O2-induced oxidative damage in MEFs by activating MAPK/Nrf2 signaling pathways and suppressing NF- κ B signaling pathways. *Sci Rep* 9, 1782. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-38466-7>
