

CB. ATIVIDADE ANTIVIRAL DO BIOCONJUGADO AG-HECATE CONTRA O ZIKA VÍRUS E SUA ATIVIDADE INIBITÓRIA NA PROTEASE NS2B-NS3

JOÃO CALDANA ELIAS DE CAMPOS FARIA¹, EDUARDO MAFFUD CILLI², PAULO RICARDO DA SILVA SANCHES¹, 1. FCF, 2. IQ, Câmpus de Araraquara, UNESP.

INTRODUÇÃO: Peptídeos são vantajosos devido ao seu design racional, diversidade estrutural e ampla atividade biológica. O Zika (ZIKV) é um vírus de RNA, envelopado, que codifica uma poliproteína precursora que é modificada por enzimas virais e hospedeiras, essenciais para sua replicação. A proteína NS2B-NS3 é um alvo promissor para terapia antiviral, especialmente em flavivírus, com extensiva pesquisa em busca de inibidores específicos. Neste trabalho, demonstramos que o bioconjugado AG-Hecate reduziu o número de cópias de RNA do ZIKV em diferentes etapas do ciclo viral *in vitro*, exibindo alto potencial antiviral e inibindo a protease NS2B-NS3 do ZIKV e do vírus febre amarela (YFV), apontando para o desenvolvimento de novos antivirais com amplo espectro de ação.

OBJETIVOS: Avaliação da atividade antiviral do bioconjugado AG-Hecate em diferentes etapas da replicação do ZIKV e avaliação de sua atividade frente a protease viral NS2B-NS3.

METODOLOGIA: O processo de síntese de peptídeos em fase sólida (SPPS) foi utilizado para a síntese de peptídeos usando o protocolo Fmoc (9-fluorenilmetiloxycarbonila) padrão, e a purificação foi realizada por HPLC. Todos os ensaios antivirais foram realizados utilizando a linhagem PE243 do ZIKV e foram analisados por PCR quantitativo em tempo real (RT-qPCR). Uma curva padrão com 7 pontos (107 a 100) foi utilizada para quantificar o vírus em cada ensaio. Os ensaios com a protease NS2B-NS3 foram conduzidos conforme descrito por Li e colaboradores, onde a proteína foi clonada e sua atividade analisada por DSF (Differential Scanning Fluorimetry).

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Os resultados de RT-qPCR mostraram que o AG-Hecate reduz o número de cópias de RNA do ZIKV nos ensaios virucida, pré-tratamento e pós-entrada, exibindo de 5 a 6 vezes menos cópias de RNA na concentração não tóxica mais elevada em células Vero (HNTC: 10 μ M) em comparação com o controle. Ensaio enzimáticos e cinéticos indicaram que o AG-Hecate atua como inibidor competitivo da protease NS2B-NS3 do ZIKV, com IC₅₀ de 32 nM, além de mostrar atividade contra a protease do YFV. Os resultados destacam o potencial antiviral de amplo espectro do AG-Hecate, atuando em diferentes etapas do ciclo de replicação do ZIKV e interagindo com a protease NS2B-NS3 tanto do ZIKV quanto do YFV, abrindo portas para o desenvolvimento de novos antivirais de amplo espectro.

CONCLUSÃO: AG-Hecate demonstrou um significativo potencial como agente antiviral ao inibir a multiplicação do HCV e agora a infecção do ZIKV tanto nas fases de entrada quanto pós-entrada. A atividade sobre a protease NS2B-NS3 indica um mecanismo competitivo, sugerindo que a inibição da protease afeta a replicação viral no citoplasma, um processo crítico regulado por essa proteína codificada pelo RNA viral. Além disso, investigações sobre o domínio helicase revelaram variações de temperatura na presença do AG-Hecate, embora não tenha sido observada inibição notável na função de ATPase. Assim, este estudo propõe que o bioconjugado estudado apresenta-se como potencial candidato a medicamento antiviral contra o ZIKV e, possivelmente, outros flavivírus.

PALAVRAS CHAVE: bioconjugados, ZIKV, protease viral

APOIO FINANCEIRO: FAPESP (processo 2022/11644-5)