



UNILAB

**UNIVERSIDADE DA INTEGRAÇÃO INTERNACIONAL DA LUSOFONIA
AFRO-BRASILEIRA**

**INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA – ICEN
LICENCIATURA EM QUÍMICA**

BERNARDINO JOAQUIM CALUACO

**INIBIDORES POTENCIAIS CONTRA M^{PRO} SARS-COV-2: ACOPLAMENTO
MOLECULAR, DINÂMICA MOLECULAR, RMSD, RMSF, H-BOND, SASA E
ABORDAGEM DE MMGBSA**

**REDENÇÃO – CE
2023**

BERNARDINO JOAQUIM CALUACO

INIBIDORES POTENCIAIS CONTRA M^{PRO} SARS-COV-2: ACOPLAMENTO MOLECULAR, DINÂMICA MOLECULAR, RMSD, RMSF, H-BOND, SASA E ABORDAGEM DE MMGBSA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Licenciatura em Química, do Instituto de Ciências Exatas e da Natureza da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, como requisito para a obtenção do Título de Licenciado em Química.

Orientador: Prof. Dr. Aluísio Marques da Fonseca

**REDENÇÃO – CE
2023**

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
Sistema de Bibliotecas da UNILAB
Catalogação de Publicação na Fonte.

Caluaco, Bernardino Joaquim.

C166i

Inibidores potenciais contra Mpro Sars-Cov-2: acoplamento molecular, dinâmica molecular, RMSD, RMSF, H-Bond, SASA e abordagem de MMGBSA / Bernardino Joaquim Caluaco. - Redenção, 2023.

55f: il.

Monografia - Curso de Química, Instituto de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Redenção, 2023.

Orientador: Prof. Dr. Alúcio Marques da Fonseca.

1. receptor. 2. ligante. 3. docking molecular. 4. coronavírus. 5. triagem molecular. I. Fonseca, Alúcio Marques da. II. Título.

CE/UF/BSCA

CDD 615.4

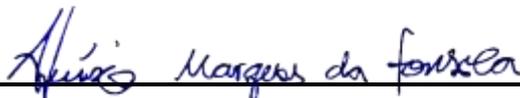
BERNARDINO JOAQUIM CALUACO

INIBIDORES POTENCIAIS CONTRA M^{PRO} SARS-COV-2: ACOPLAMENTO MOLECULAR, DINÂMICA MOLECULAR, RMSD, RMSF, H-BOND, SASA E ABORDAGEM DE MMGBSA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Licenciatura em Química, do Instituto de Ciências Exatas e da Natureza (ICEN) da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB), como requisito para a obtenção do Título de Licenciado em Química.

Aprovado em: 23 /01 /2023

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Aluísio Marques da Fonseca (orientador)

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB



Prof. Dra. Gabrielle Silva Marinho (avaliadora)

Universidade Estadual do Ceará UECE



Prof. Dr. Emmanuel Silva Marinho (avaliador)

Universidade Estadual do Ceará (UECE)

À minha amada esposa Hortência G. F. Caluaco, à minha
filha Otchaly K. F. Caluaco, à minha mãe Bernardeta
Bonguela, ao meu pai Francisco Caluaco, aos meus irmãos
e a todos os meus amigos e mestres, dedico este trabalho.

AGRADCIMENTOS

Uma vez li que a gratidão é um sentimento de amor que eleva o espírito e nos aproxima a Deus. Por ser verdade, estendo os meus sinceros votos de agradecimento a todos que comigo batalharam para a concretização deste trabalho. Primeiramente agradeço a Trindade Divina, pelas bênçãos que não podem ser medidas no plano material, pela salvação em Cristo Jesus, pela sabedoria, discernimento, força de vontade, determinação e muito mais.

Endereço os meus especiais agradecimentos aos meus pais, dona Bernardeta Bonguela e senhor Francisco Caluaco e aos meus irmãos, Hildebrando H. A. Caluaco, Hermenegilda M. A. Caluaco, Frederico G. J. Caluaco, António C. J. Caluaco e Esmeralda A. J. Caluaco pelo cuidado, pelo sustento de todas as ordens, por sempre terem apoiado e suporte na minha trajetória acadêmica e pessoal, pelos ensinamentos eficazes e apoios incondicionais. Agradeço também aos demais familiares e amigos que se encontram em Angola e a todos os meus irmãos em Cristo.

Agradeço profundamente à minha rainha, a minha esposa, Hortência G. F. Caluaco e a minha princesinha, minha filha, Otchaly K. F. Caluaco, pelo companheirismo, apoio direto na consolidação deste trabalho e acima de tudo, pelo seu amor e dedicação completa por mim. São a principal razão de minhas batalhas, minhas vitórias e fonte de ânimo nos tempos difíceis.

Agradeço aos amigos/irmãos do quarteto químico, nomeadamente Junilson M. K. Madureira, Sadrack Q. Cabongo e Pedro J. Samuel que ganhei nesta trajetória, pois não estiveram apenas envolvidos diretamente na construção deste trabalho, mas contribuem e têm contribuído imensuravelmente na minha trajetória acadêmica e pessoal. Agradeço de igual modo aos muitos outros amigos e colegas egressos e ativos do curso de licenciatura em química da Unilab, especialmente ao pessoal da minha turma 2018.1 e ao pessoal da Parada Química.

Ao meu grande mestre, professor e orientador Aluísio M. da Fonseca, o meu muitíssimo obrigado por tudo que dedicou em prol da minha formação, não apenas na orientação deste trabalho, mas também pelos muitos projetos em que trabalhamos, e principalmente pelos conhecimentos que pude absorver em suas aulas. São coisas difíceis de retribuir, por isso, mais uma vez, muitíssimo obrigado mestre. De igual modo agradeço a todos os professores que tive durante este trajeto da graduação. Os conhecimentos que me fizeram chegar até ao presente momento são frutos doces de vosso árduo trabalho.

*“Eis que o temor do Senhor é a sabedoria, e
apartar-se do mal é a inteligência”.*

Jó 28:28

RESUMO

A Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS) causada por um coronavírus (SARS-CoV-2) ainda é uma infecção viral recente. Não há evidências científicas e ensaios clínicos que indiquem que possíveis terapias tenham mostrado resultados em pacientes suspeitos ou confirmados. Diante do exposto, algumas drogas estão sendo utilizadas e estudadas para conter a propagação do vírus e os danos em toda a sociedade. Os medicamentos usados em tratamentos alternativos incluem antimaláricos, antimicrobianos, corticosteroides antivirais, anticoagulantes e soro convalescente. Portanto, a química medicinal tem contribuído de forma multidisciplinar. Este trabalho teve como objetivo realizar uma triagem de 2.108 medicamentos essenciais conhecidos e amplamente utilizados pela população de modos a avaliar uma possível capacidade inibitória do COVID-19, se ligando à protease principal M^{pro}. Para isso foi aplicada a química computacional usando o MolAiCalD com algoritmo de modelo Genético Lamarckiano (GA) combinado com a estimativa de energia baseada em grade em conformação rígida e flexível. Os ligantes escolhidos para realização da triagem virtual por docking molecular foram medicamentos registrados no FDA e disponíveis na biblioteca virtual. Além disso, estudos de dinâmica molecular também foram realizados para verificar a estabilidade no complexo receptor-ligante formado por meio de análises de RMSD, RMSF, H-Bond, SASA e MMGBSA. Em comparação com a energia de ligação da lixiviação sintética redocking (-6,8 kcal/mol/RMSD 1,34 Å), que foi bem acima, decidiu-se abordar os parâmetros de apenas três ligantes, ergotamina (-9,9 kcal/mol/ RMSD de 2,0 Å), diidroergotamina (-9,8 kcal/mol/RMSD de 1,46 Å) e olísio (-9,5 kcal/mol/RMSD 1,5 Å). Pode-se afirmar que a ergotamina apresentou as melhores interações com a protease M^{pro} do covid19 pelo estudo *in silico*, sendo um candidato promissor no tratamento do Covid19.

Palavras-chave: receptor; ligante; docking molecular; coronavírus; triagem virtual; covid19.

ABSTRACT

Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) caused by a coronavirus (SARS-CoV-2) is still a recent viral infection. There is no scientific evidence and clinical trials that indicate that possible therapies have shown results in suspicious or confirmed patients. Given the above, some drugs are being used and studied to contain the virus's spread and damage throughout society. Medications used in alternative treatments include antimalarials, antimicrobials, antiviral corticosteroids, anticoagulants, and convalescent serum. Therefore, medicinal chemistry has contributed in a multidisciplinary way. This work aimed to perform a screening of 2.108 known essential drugs widely used by the population and evaluate the possible inhibitory capacity of COVID-19 in M^{pro} protease as ligands. Computational chemistry using the MolAiCalD with Lamarckian genetic model algorithm (GA) combined with the estimation of grid-based energy in rigid and flexible conformation. The ligands chosen for virtual screening performance by molecular docking were drugs registered with the FDA and available in the virtual library. In addition, molecular dynamics studies were also carried out to verify the stability in the receptor-ligand complex formed through RMSD, RMSF, H-Bond, SASA, and MMGBSA analysis. Compared to the connecting energy of the synthetic redocking leach (-6.8 kcal/mol/RMSD 1.34 Å), which went well above, it was then decided to address the parameters of only three ligands, ergotamine (-9.9 kcal/mol/RMSD of 2.0 Å), dihydroergotamine (-9.8 kcal/mol/RMSD of 1.46 Å), and olisio (-9.5 kcal/mol/RMSD 1.5 Å). It can be affirmed that ergotamine presented the best interactions with the M^{pro} protease of covid19 by the *in-silico* study, being a promising candidate in the treatment Covid19.

Keywords: receptor; ligand; molecular docking; coronavirus; virtual screening; covid19.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Complexo proteína-ligantes feito no ChimeraX	23
Figura 2	Correlação entre o complexo gerado pela afinidade energética do acoplamento rígido/flexível e o MSD	24
Figura 3	Interação do ligante de referência (N3) com os resíduos da proteína, analisado no Discovery Studio 2020 client	26
Figura 4	Interação da ergotamina com os resíduos da proteína, analisado no Discovery Studio 2020 client	27
Figura 5	Interação da diidroergotamina com resíduos de proteína, analisado no Discovery Studio 2020 client	27
Figura 6	Interação do olísio com resíduos de proteína, analisados no Discovery Studio 2020 client	28
Figura 7	(a) Esqueleto estrutural da ergolina e (b) ergotamina	29
Figura 8	Desvio Quadrático Médio de Rotação (RMSD), relativo à configuração inicial do complexo enzima-ligante versus o tempo de simulação (ns) na etapa de produção das simulações com o ligante nativo, N3 (preto), Diidroergotamina (verde), Olísio (azul), e Ergotamina (vermelho)	31
Figura 9	Flutuação Quadrática Média de Rotação (RMSF), relativo à confirmação inicial do complexo Enzima-ligante versus o tempo de simulação (ns) na etapa de produção das simulações com o ligante nativo, N3 (preto), Diidroergotamina (verde), Olísio (azul) e Ergotamina (vermelho)	32
Figura 10	Pontes de hidrogênio formadas entre a proteína-ligantes durante as etapas de simulação	33
Figura 11	Área de superfície acessível ao solvente (SASA) da AChE em função do tempo das simulações de MD: MD com catequina, estabilizando íons monovalentes (linha preta), MD com Kampferide, estabilizando íons monovalentes (linha azul) e MD com GNT, estabilizando íons monovalentes (linha vermelha). As curvas estão executando médias de dados brutos com uma janela de 100 ns	34

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1	Metodologia de trabalho para triagem molecular	20
Esquema 2	Parâmetros necessários para a simulação de dinâmica molecular	22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Tabela comparativa de distâncias entre resíduos/ligante	25
Tabela 2	Dados estimados de energia livre de ligantes do FDA contra a M ^{pro}	36

LISTA SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

3D	Três dimensões
6LUS7	Código de identificação da protease M ^{Pro} no PDB
ΔE	Variação de energia
ΔE_{ele}	Energia eletrostática
$\Delta E_{interna}$	Energia de ligação
ΔE_{MM}	Energia MM da fase gasosa
ΔE_{vdw}	Energia de Van Der Waals
ΔG	Variação da energia livre de Gibbs
ΔG_{sol}	Energia livre de solvatação
ΔG_{GB}	Contribuição polar da energia livre de solvatação
ΔG_{SA}	Contribuição apolar da energia livre de solvatação
ΔH	Variação de Entalpia
Å	Angstrom (Unidade de medida de comprimento equivalente a 10^{-10} m)
Asn	Asparagina
Cys	Cisteína
CFR	Conselho Federal de Farmácia
FDA	Food and Drug Administration
Gln	Glutamina
Glu	Ácido Glutâmico
Gly	Glicina
GRACE	Graphing Advanced Computational and Exploration
H-Bond	Ligação de hidrogênio
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
His	Histidina
HTS	High Throughput Screening
LBDD	Design de drogas baseado no ligante
Leu	Leucina
MD	Dinâmica Molecular
Met	Metionina
MERS-Cov	Coronavírus da Síndrome Respiratória do Oriente

MM/GBSA	Mecânica Molecular combinada com Solvatação Contínua Generalizada de Born e Área de Superfície
M^{PRO}	Principal protease do SARS-Cov-2
ns	Nano segundo
PDB	Protein Data Bank
PDBQT	Protein Data Bank, Partial Charge (Q) & Atom Type (T)
Phe	Fenilalanina
PME	Particle Mesh Ewald
Pro	Prolina
PSF	Formato de ficheiro de definições de prova
RMSD	Desvio Médio Quadrático de Rotação (Root Mean Square Deviation)
RMSF	Flutuação Média Quadrática de Rotação (Root Mean Square Fluctuation)
SARS-Cov	Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave
SASA	Área de Superfície Acessível por Solvente
SBDD	Design de drogas baseado na estrutura
Ser	Serina
SPME	Solid Phase Microextractions
T	Temperatura
TΔS	Entropia conformacional
VMD	Visual Molecular Dynamics
VS	Triagem Virtual (do inglês: Virtual Screening)

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	14
2.	METODOLOGIA	18
2.1.	Obtenção e preparação dos ligantes	18
2.2.	Obtenção e preparação do receptor	18
2.3.	Docking Molecular em MolAiCal no modo virtual screening	18
2.3.1.	Condições de acoplamento	19
2.3.2.	Validação estatística e simulação	19
2.4.	Estabilidade do complexo	19
2.4.1.	Classificação da força das ligações de hidrogênio (H-bond)	19
2.4.2.	Visualização do Docking Molecular	20
2.5	Dinâmica Molecular	20
2.5.1.	Cálculo de MM/GBSA	21
3.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	23
3.1.	Comparação de encaixe com todos os ligantes da triagem	23
3.1.1.	Região I da proteína	24
3.1.2.	Interação com resíduos	24
3.1.3.	Os principais ligantes em comparação com o N3 co-cristalizado	25
3.1.3.1.	<i>Interações e forças intermoleculares</i>	25
3.2.	Dinâmica Molecular (MD)	29
3.2.1.	Análise do RMSD	30
3.2.2.	Análise da RMSF	31
3.2.3.	Análise das ligações de H (H-bond)	32
3.2.4.	Análise da SASA	34
3.2.5.	Cálculo de MM/GBSA	35
4.	CONCLUSÕES	37
5.	REFERÊNCIAS	38
	APÊNDICE	45

1. INTRODUÇÃO

O coronavírus é um vírus zoonótico pertencente à família *Coronaviridae* que causa infecções respiratórias em diversos animais, incluindo aves e mamíferos. Tendo sido isolado pela primeira vez em 1937, somente em 1965 recebeu esse nome devido ao perfil de uma coroa apresentado em análise micrópica (FEHR; PERLMAN, 2015; GUO et al., 2020; MARTINS-FILHO et al., 2020). Em humanos, o novo Coronavírus, denominado SARS-CoV-2, é o agente etiológico responsável pelo surto de pneumonia viral e um patógeno essencial por atacar principalmente o sistema respiratório humano causando a Síndrome Respiratória Aguda (SARS)-CoV e a Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS)-CoV, que caracterizam situações de saúde pública de grande preocupação devido ao potencial de surto da doença (BOGOCH et al., 2020; LU; STRATTON; TANG, 2020; ROTHAN; BYRAREDDY, 2020; ZHOU et al., 2020).

Apesar da urgência, ainda não há vacina ou antiviral para tratar o novo coronavírus (WU et al., 2020). Assim, o tratamento tem ocorrido em pacientes sintomáticos graves com suporte e cuidados intensivos (ZUMLA et al., 2020). Outra abordagem foi testar retroviral já conhecido de forma eficiente contra vírus do mesmo gênero que o SARS-CoV-2 (WANG et al., 2020).

Portanto, deve-se enfatizar que atualmente não há terapia eficaz e especificamente direcionada para esta doença, conseqüentemente, os protocolos clínicos são focados no tratamento dos sintomas, no suporte à vida em complicações hemodinâmicas e respiratórias ou pesquisa clínica (BRASIL, 2020; FALAVIGNA et al., 2020). Entre as classes terapêuticas empregadas, com ou sem orientação médica, estão antimicrobianos, antivirais, corticosteróides, anticoagulantes, soro convalescente e antimaláricos (LEDFOORD, 2020).

O uso dos antimaláricos cloroquina e hidroxicloroquina tem causado muitas discussões no meio científico. Ainda não há estudos que comprovem sua eficácia, e seu uso pode estar associado a complicações cardiovasculares graves. Sem comprovação científica para seu uso rotineiro, esses medicamentos ainda carecem de mais investigação (MENEZES; SANCHES; CHEQUER, 2020; WANG et al., 2020).

Os cientistas estão tentando fazer um paralelo sobre a automedicação. No Brasil, cerca de 77% das pessoas com mais de 16 anos admitem tomar medicamentos sem prescrição médica ou farmacêutica, segundo estudo realizado pelo Conselho Federal de Farmácia (CFF) (DOURADO et al., 2016). Dor de cabeça, febre e resfriado figuram entre os sintomas que levam as pessoas a tomar medicamentos de forma independente e coincidente, e por serem sintomas semelhantes aos do novo coronavírus (CORREIA; TRINDADE; ALMEIDA, 2019).

Visando formulações únicas, novas indicações e a "redescoberta" de medicamentos já aprovados, surgiu a ideia de redefinir ou resgatar medicamentos antigos com reconhecidos registros de eficácia e segurança pelo FDA. Esse movimento tem crescido ultimamente e tem sido chamado de: "Velhas drogas são novas de novo" ou "velhas drogas, novos usos" (ARONSON, 2007; HAHN, 2011). Este "insight" sobre novos usos de estruturas já conhecidas pelo FDA baseia-se no fato de já se possuir razoável conhecimento sobre seus efeitos colaterais e toxicidade no corpo humano. Esse conhecimento prévio impacta diretamente nos custos de pesquisa e desenvolvimento de uma nova terapia a ser introduzida no mercado, pois reduz os riscos de graves efeitos indesejáveis durante as fases clínicas de ação, o que implicaria no abandono do candidato a um novo medicamento (CHONG; SULLIVAN, 2007).

Nesse contexto, os métodos de desenvolvimento de medicamentos auxiliados por computador têm se mostrado úteis nos estágios iniciais da pesquisa de novas terapias farmacológicas. Seja como ferramenta de prospecção de novos ligantes ou mesmo de novos usos para ligantes já conhecidos. O uso de técnicas de docking molecular, aplicadas a imensas bibliotecas de ligantes (como ZINC15 e ChEMBL, entre outras), permite a triagem virtual (VS) de ligantes e, assim, reduz a necessidade de síntese química e análise *in vitro* de cada análogo de um composto-protótipo de forma automatizada (HTS), o que implica em significativa redução de tempo e custos aos centros de pesquisa (SLIWOSKI ET AL, 2014).

Os estudos de Simulação de Anclagem *in silico* tiveram início na década de 1980 e tem contribuído para o processo de planejamento de fármacos pelos métodos ligand-based drug design (LBDD) e structure-based drug design (SBDD), que auxiliam na descoberta de moléculas bioativas e na otimização de compostos existentes (APAROY; KUMAR REDDY; REDDANNA, 2012).

Vários artifícios de software para docking molecular são aplicadas a vários sistemas operacionais com diferentes recursos (GUIDO; ANDRICOPULO, 2008). No entanto, o algoritmo de busca e a função de pontuação responsáveis por prever a orientação e afinidade no alvo molecular no momento do docking devem ser levados em consideração no software para minimizar erros nos cálculos (COUTINHO, 2013).

MolAICalD é um código derivado do Autodock Vina (TROTT; OLSON, 2010) e está no pacote computacional do MolAICal (BAI et al., 2021). Este código utiliza a mesma licença do Autodock Vina, APACHE 2.0 (FOUNDATION, 2012; VIEIRA; SOUSA, 2019), pode realizar o docking molecular, é considerado um software de acoplamento molecular de código aberto, estudado e aplicado na área de descoberta de fármacos. A validação é realizada pelos coeficientes de correlação de Pearson e Spearman, que estão relacionados entre a afinidade de

ligação experimental e a afinidade de ligação preditiva, ou seja, quando o ligante com menor Desvio Médio Quadrático de Rotação (RMSD) em cada complexo extraído possui valores menores que 2,0 Å (YUSUF et al., 2008). A nível de comparação, Autodock Vina tem uma taxa de precisão de acoplamento equivalente a 54,665%, e seus coeficientes de correlação de Pearson e Spearman são 0,5259 e 0,5421, respectivamente, com base na afinidade de ligação experimental. Por outro lado, MolAICaID em MolAICal, tem uma taxa de precisão de acoplamento de 54,888%, e coeficientes de correlação de Pearson e Spearman de 0,5335 e 0,5489, respectivamente. Indicando que o MolAICal tem um "encaixe" e um "poder de classificação" que podem ser comparados ao Autodock Vina e podem ser validados em simulações de docking molecular.

Dentre as aplicações, é fundamental destacar que diversos dockings realizados pelo MolAICaID, entre outros softwares, estão sendo utilizados na pesquisa de inibidores de doenças negligenciadas como Dengue, doença de Chagas, leishmaniose, entre outras, na busca de novos candidatos a fármacos baseado no conhecimento da química dos produtos naturais, e no conhecimento da estrutura de proteases (DIAS et al., 2013).

Para descobrir rapidamente a eficácia de novos medicamentos e levá-los para uso clínico, começou uma corrida contra o tempo em todo o mundo para descobrir inibidores eficazes contra a principal proteína do coronavírus, a protease principal (M^{pro}). A protease M^{pro} é uma enzima crucial para o SARS-CoV-2, pois desempenha um papel fundamental na mediação da replicação e transcrição viral, tornando-a um alvo atraente para esse vírus (CHEN et al., 2020; CUI; LI; SHI, 2019).

A estrutura cristalina do Sars-CoV-2 M^{pro} na forma apo mostra um dímero cristalográfico composto por dois monômeros de conformações idênticas. Cada protômero consiste em três domínios. O domínio I (resíduos 8–101) e o domínio II (resíduos 102–184) têm uma estrutura β -barril antiparalela. O domínio III (resíduos 201-303) contém cinco α -hélices dispostas em um aglomerado globular amplamente antiparalelo, e está conectado ao domínio II por uma longa região de loop (resíduos 185-200) (JIN et al., 2020). A interface do domínio I e do domínio II forma o sítio reativo da proteína, que é composta pela díade Cys 145-His 41 (FERREIRA et al., 2021). O domínio III exclusivamente globular está ligado ao domínio II através de uma região ligante considerada essencial para a atividade catalítica dessas proteases, semelhante à quimotripsina (DE ALMEIDA et al., 2020). Portanto, um alvo para estudos de simulação que deve ser apreciado.

A triagem ou screening virtual (VS) é um método computacional usado na descoberta de drogas para encontrar moléculas potenciais com probabilidade de se ligarem ao alvo da

droga, tipicamente uma proteína ou receptor de DNA, etc. A VS contém triagem virtual baseada em ligantes e estrutura (RESTER, 2008). O rastreamento virtual baseado em estrutura envolve acoplamento molecular que busca boas poses de ligação de ligantes na proteína-alvo, seguido por uma função de pontuação para estimar a capacidade de afinidade entre ligantes e receptores. O acoplamento molecular é provavelmente a teoria do modelo de chave e fechadura (ASHUTOSH; VYTAS, 2018).

Este trabalho teve como objetivo realizar uma VS de 2.108 medicamentos já conhecidos e geralmente utilizados para outros fins pela população, registrados no Food and Drug Administration (FDA), por meio da prospecção *in silico* de sua capacidade de ancoragem no sítio da protease. Assim, pretende-se selecionar ligantes promissores que possam inibir a ação da M^{pro}. No futuro eles podem ser submetidos a testes *in vitro* e *in vivo* para desenvolver novas terapias específicas no tratamento da Covid-19.

2. METODOLOGIA

2.1. Obtenção e preparação dos ligantes

Os 2.108 ligantes escolhidos para triagem virtual por performance de docking molecular eram medicamentos registrados no FDA, disponíveis na biblioteca virtual do ZINC15 (<https://zinc15.docking.org/>), e nos quais foram aplicados filtros de medicamentos com base na regra de 5 de Lipinski (BENET ET AL, 2016) (Ver Tabela 1S, em material suplementar). Algumas dessas drogas eram comumente utilizadas pela população em doenças respiratórias, presentes em protocolos clínicos, ou mesmo submetidas a ensaios clínicos para infecções virais (BEIGEL et al., 2020; DE RUYCK et al., 2016; HUANG et al., 2010; RUBA; AROOJ; NAZ, 2014). Em seguida, o dimensionamento e a otimização das estruturas foram realizados com o comando PREPARE_LIGAND4 do software AutoDock Tools (MORRIS et al., 2009), uma ferramenta gratuita para realizar o acoplamento múltiplo no conector do receptor. Para isso, foi realizada a geração de estrutura 3D, adição de hidrogênios, correção de cargas, mistura de hidrogênios polares e configuração de estruturas de torção.

2.2. Obtenção e preparação do receptor

Moléculas de água foram removidas como critério para preparar a estrutura da proteína, enquanto cargas de Gasteiger e átomos de hidrogênio essenciais foram adicionados (YAN et al., 2014). O receptor em estudo foi a estrutura da principal protease viral M^{PRO}, obtido no repositório Protein Data Bank (PDB) sob o código 6LU7, cuja estrutura cristalina foi obtida por difração complexa de raios-x para um inibidor sintético N3 (JIN et al., 2020; KUMAR; SINGHC; PATEL, 2020). Para possibilitar o encaixe molecular, os resíduos interferentes, as moléculas de água e o inibidor sintético (N3) co-cristalizados no arquivo original da estrutura 6LU7, foram removidos pelo software para clientes Discovery Studio 2020 (BIOVIA, 2015). Em seguida, os ligantes foram separados e à proteína foram adicionados hidrogênios polares. Posteriormente, foram salvos no formato PDBQT para serem executados.

2.3. Docking Molecular com MolAiCal no modo screening virtual

O Algoritmo Genético Lamarckiano foi escolhido para realizar as simulações de docking molecular implementadas no MolAiCAID. A caixa da grade foi centralizada para abranger todas as cadeias de proteínas para determinar o espaço de simulação. A caixa da grade foi centralizada nas coordenadas -10,711837, 12,411388 e 68,831286 para os eixos x, y e z,

respectivamente, e parâmetros de tamanho $20\text{\AA}(x)$, $20\text{\AA}(y)$ e $20\text{\AA}(z)$, com espaçamento = 0,642 e exaustividade = 8.

2.3.1. Condições de acoplamento

Para obter um conjunto de dados mais extenso, para todas as simulações (docking e redocking), foram realizadas 50 simulações independentes, sendo possível obter 20 poses por simulação. O critério de exaustividade igual a 64 foi utilizado para melhorar o refinamento parcial dos cálculos de acoplamento individual (MARINHO et al., 2020). A estrutura da proteína foi mantida rígida enquanto todas as ligações e torções dos ligantes foram ajustadas para girar (NGUYEN et al., 2017).

2.3.2. Validação estatística e de simulação

Procedimentos de redocking foram realizados para validação estatística das simulações, e os valores de RMSD (Root Mean Square Deviation) foram avaliados como parâmetro de escolha dos valores de Best Pose menores que 2\AA (YUSUF et al., 2008).

Para validar as simulações, a técnica de redocking foi realizado no ligante co-cristalizado, N-[(5-METHYLISOXAZOL-3-YL)CARBONYL]ALANYL-L-VALYL-N~1~--((1R,2Z)-4-(BENZYOXY)-4-OXO-1-[(3R)-2-OXOPYRROLIDIN-3-YL]METHYL}BUT-2-ENYL)-L-LEUCINAMIDE (N3).

2.4. Estabilidade do complexo

Para avaliar a estabilidade do complexo (proteínas/ligante) foi utilizado como parâmetro a energia de afinidade, que possui valores de parâmetros de idealidade abaixo de -6,0 kcal/mol. Ainda assim, foi decidido usar um padrão de maior energia de ligação, que foi estabelecido em -9,0 kcal/mol (HUANG et al., 2010; SHITYAKOV; FÖRSTER, 2014).

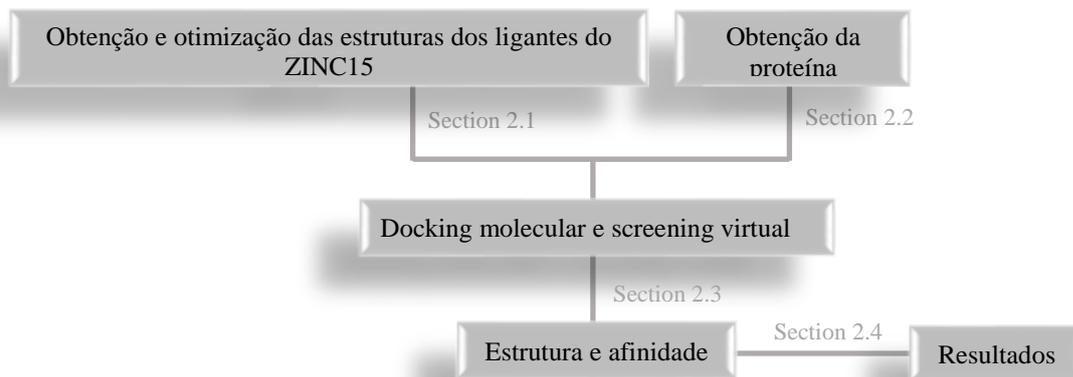
2.4.1. Classificação da força das ligações de hidrogênio (H-bond)

Para avaliar a força das ligações de Hidrogênio, foram utilizados os valores das distâncias entre os átomos doadores e receptores, sendo classificadas como Fortes, as interações que ficaram entre $2,5\text{\AA}$ e $3,1\text{\AA}$, Médias aquelas que ficaram entre $3,1\text{\AA}$ e $3,55\text{\AA}$, e Fracas aqueles com distância maior que $3,55\text{\AA}$ (IMBERTY et al., 1991).

2.4.2. Visualização do Docking Molecular

Os softwares usados para visualizar os complexos (ligante + proteína) obtidos após completar o docking molecular foram: Discovery Studio 2020 client (BIOVIA, 2015) e Maestro 12 (SCHRÖDINGER, 2010). O esquema 1 simplifica todas as seções descritas na metodologia.

Esquema 1 - Metodologia de trabalho para triagem molecular.



Fonte: Autor (2022)

2.5. Dinâmica Molecular

Assim, para realizar o estudo de Dinâmica Molecular (MD), foi necessário obter as posições atômicas do complexo receptor-ligante após o docking molecular e os arquivos de topologia (extensão PSF). Ambos os arquivos foram obtidos usando o servidor CHARMM ([https:// www.charmm-gui.org/](https://www.charmm-gui.org/)). O complexo receptor-ligante foi inserido no topo de uma caixa de 40 Å bits cúbicos. Em seguida, o complexo foi simulado em meio aquoso. O campo de força TIP3P descreve as moléculas de água e adiciona íons para garantir a neutralidade do sistema (JORGENSEN et al., 1983). Condições de contorno periódicas foram usadas, e o algoritmo SHAKE informa a restrição de vibração em ligações covalentes envolvendo átomos de hidrogênio, ângulo HOH e distância de ligação OH (RYCKAERT; CICCOTTI; BERENDSEN, 1977). As etapas de integração de cada etapa foram iguais a 2 pés (FIELD et al., 2000); Houve o processo de corte de interação eletrostática de 9,0 Å em todas as etapas de simulação. Etapas sequenciais de minimização otimizam as geometrias. Em seguida, as geometrias foram submetidas a dois estágios de equilíbrio por 10 ns cada: o primeiro com temperatura constante (NVT) de 310 K e o segundo com pressão constante (NPT) a 1,0 atm para produção (entre 100-200 ns, dependendo da sua estabilização). Em contraste, o campo de força usado em ambos os equilíbrios foi o Particle Mesh Ewald (PME) com uma implementação

de interpolação cúbica, e o reajuste das ligações de hidrogênio foi realizado com a ajuda da técnica Linear Constraint Solver (LINCS) (CHEATHAM et al., 1995; HESS et al., 1997) com o software NAMD na versão 2.0 usando o campo de força CHARMM (Chemistry at Harvard Macromolecular Mechanics) (PHILLIPS et al., 2005). Com base no RMSD, o gráfico foi plotado usando Graphing Advanced Computation and Exploration (GRACE) (TURNER, 2005). As simulações de dinâmica molecular foram visualizadas usando Visual Molecular Dynamics (VMD) (HUMPHREY; DALKE; SCHULTEN, 1996). Finalmente, uma simulação de 100 ns foi realizada em todos os sistemas com um tamanho de passo de integração de 2 ps e executada em triplicata.

A qualidade das estruturas obtidas nas MDs foi avaliada usando os seguintes parâmetros:

- Energia Potencial (kcal/mol) (DIEZ et al., 2014);
- Energia de Interação Proteína-Ligante (kcal/mol);
- O desvio quadrático médio das posições atômicas de proteínas, ligantes e distâncias entre eles (RMSD, Å) e a flutuação quadrática média das posições atômicas de proteínas, ligantes e distâncias entre eles (RMSF, Å);
- As pontes de hidrogênio foram avaliadas com Visual Molecular Dynamics (VMD) (HUMPHREY; DALKE; SCHULTEN, 1996).
- A flutuação quadrática média das distâncias mínimas entre proteínas e ligantes foi observada na dinâmica molecular (RMSF, Å) (ARSHIA et al., 2021).

2.5.1. Cálculos de MM/GBSA

Com base no arquivo log de MDs do software NAMD (PHILLIPS et al., 2005), a mecânica molecular combinada com a solvatação contínua generalizada de Born e área de superfície (MM/GBSA) foi calculada por MolAICal (BAI et al., 2021). O MM/GBSA é estimado pelas equações 1-3.

$$\Delta G_{\text{lig}} = \Delta H - T\Delta S \approx \Delta E_{\text{MM}} + \Delta G_{\text{sol}} - T\Delta S \quad (\text{eq. 1})$$

$$\Delta E_{\text{MM}} = \Delta E_{\text{interna}} + \Delta E_{\text{ele}} + \Delta E_{\text{vdw}} \quad (\text{eq. 2})$$

$$\Delta G_{\text{sol}} = \Delta G_{\text{GB}} + \Delta G_{\text{SA}} \quad (\text{eq. 3})$$

Onde ΔE_{MM} , ΔG_{sol} , e $T\Delta S$ representam a energia MM da fase gasosa, energia livre de solvatação (soma da contribuição polar ΔG_{GB} e contribuição apolar ΔG_{SA}) e entropia conformacional, respectivamente (GOHLKE; CASE, 2004; GOHLKE; KIEL; CASE, 2003).

ΔE_{MM} contém energia de Van Der Waals ΔE_{vdw} , energia eletrostática ΔE_{ele} e energia de ligação $\Delta E_{interna}$, ângulo e diedro. Se não houver mudanças estruturais induzidas por ligação no processo de simulações na MD, o cálculo da entropia pode ser omitido (DASGUPTA; MANDALAPARTHY; JAYARAM, 2017).

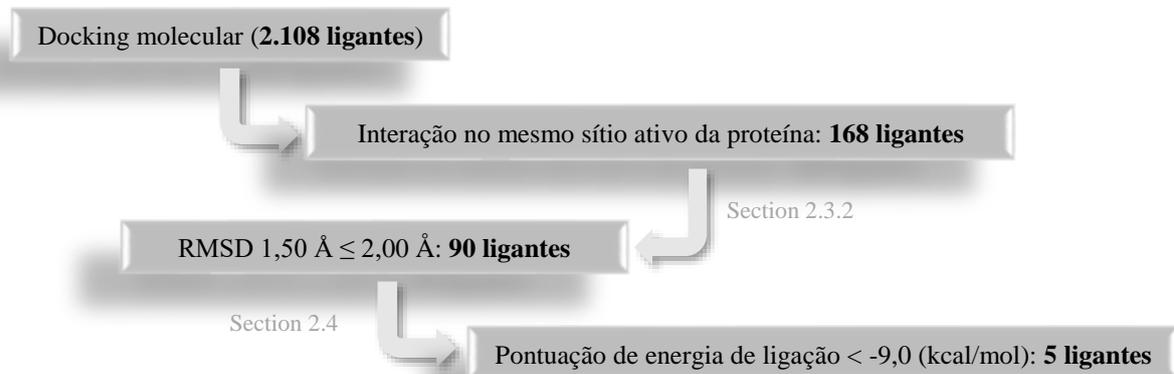
O método GB (com a, b e c definidos como 0,8, 0 e 2,91, respectivamente, e com os raios de Bondi padrão modificados) foi usado para calcular a energia de solvatação polar, e a energia de solvatação apolar foi calculada usando o solvente acessível de área superficial, de acordo com a equação 4.

$$\Delta G_{np} = \gamma \text{SASA} + b \quad (\text{eq. 4})$$

Com γ sendo 50,0227 kJ/mol/Å² e b 53,85 kJ/mol. A entropia foi calculada por uma análise média das frequências harmônicas calculadas no nível MM. Além da água, para aumentar a precisão do processo, se esbanja mais de 8 Å dos ligantes (GENHEDEN; RYDE, 2010).

No Esquema 2, consta a descrição metodológica do processo de seleção dos ligantes mais significativos para subsequente análise de MD.

Esquema 2. Parâmetros necessários para a simulação de dinâmica molecular.



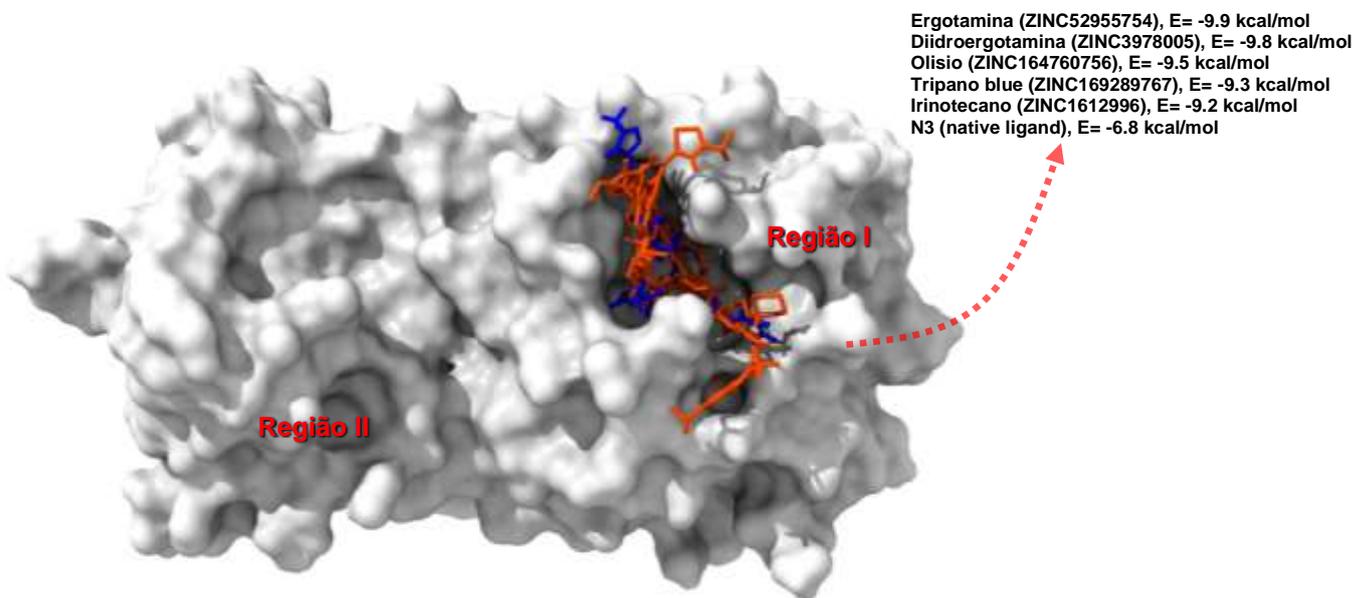
Fonte: Autor (2022)

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Comparação de encaixe com todos os ligantes da triagem

Após a realização do docking/redocking molecular, foi possível verificar a interação entre os ligantes e a protease M^{pro}, tanto a nível de energia como de aproximação; foram escolhidos os 5 melhores ligantes, com energia de ligação variando de -9,9 kcal/mol a -9,2 kcal/mol, conforme mostra a Figura 1.

Figura 1. Complexo proteína-ligantes feito no ChimeraX (PETTERSEN et al., 2021).

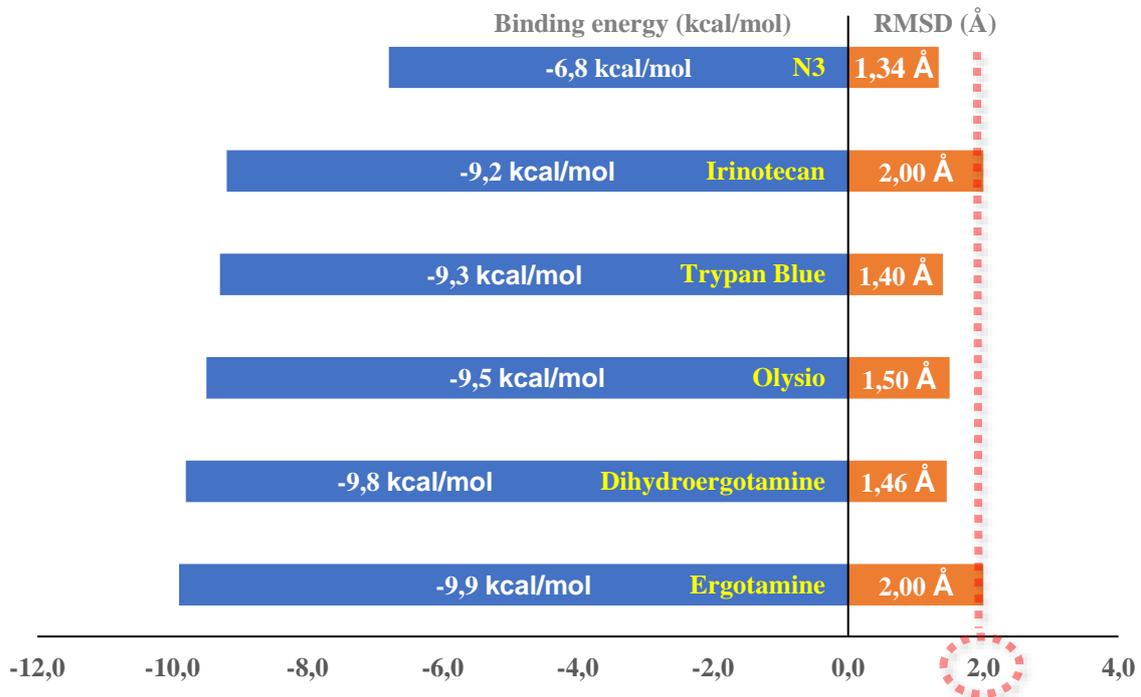


Fonte: Autor (2022)

De acordo com os sítios de ancoragem apresentados entre as drogas na triagem, o receptor foi dividido em duas regiões ativas (regiões I e II). Seguindo os parâmetros do esquema 2, atenção especial foi dada ao sítio específico do ligante sintético N3 (região I e provável sítio da proteína ativa com os domínios: S1', S1-S4), em sua estrutura co-cristalizada, onde os fármacos Ergotamina, Diidroergotamina, Olísio, Tripano Blue e Irinotecano também ancoraram.

O re-docking foi realizado para mostrar a eficácia do método no software utilizado. Assim, o foco de análise foi dado aos três principais fármacos que apresentaram melhores ligações ao alvo, conforme a Figura 2. O desvio entre o ligante e o receptor variou com RMSD de 1,4 a 2,0 Å. Os três ligantes também alcançaram um desvio padrão médio de interações próximo ao valor otimizado, pois o ideal deve estar entre 1,00 – 2,00 Å, dependendo do tamanho do ligante (HEVENER et al., 2009).

Figura 2. Correlação entre o complexo gerado pela afinidade energética do acoplamento rígido/flexível e o RMSD.



Fonte: Autor (2022)

3.1.1. Região I da Proteína

Três dos ligantes observados na região I apresentaram dados considerados pela literatura como otimizados e capazes de dar uma resposta biológica a partir das interações estabelecidas no sítio ativo da proteína. Estes ligantes foram: Ergotamina, Diidroergotamina e Olísio, conforme a Tabela 1.

3.1.2. Interações com resíduos

O ligante nativo N3 apresentou, na forma co-cristalizada, interações com nove resíduos, conforme a Tabela 1. Por outro lado, no redocking o N3 apresentou apenas sete interações com os mesmos fragmentos de aminoácidos. Os resíduos foram Pro168, Hist172, Hist163, Met49, His41 e Gly143.

Tabela 1. Tabela comparativa de distâncias entre resíduos/ligante.

Resíduos Protéicos da M ^{pro}	Domínio de Proteína (KUMAR; SINGHC; PATEL, 2020)		Resultados do Docking Molecular			
	Região	Domínio	Distância dos Ligantes (Å)			
			N3	Ergotamina	Diidroergotamina	Olísio
Ser27	S3	I	4,45(alquil)			
His41	S3		4,55(alquil)	2,94(carbon H-bond)	2,95(carbon H-bond)	-
Met49	S3		4,08(alquil) 4,74(pi-alquil) 5,16(alquil)	4,84(pi-alquil)	4,72(pi-alquil)	
Leu50	S3		-			4,40(alil)
Phe 140	S3	II	2,87(H-bond)			
Asn142	S3		-	3,33(carbon H-bond)	3,05(H-bond)	
Gly143	S1'		2,70(H-bond)	2,80(H-bond)	2,80(H-bond)	
Cys145	S1'		3,53(H-bond) 4,55(alquil)	3,37(H-bond)	3,46(H-bond) 4,84(alquil)	
Hist163	S1		-		4,89(alquil)	
Met165	S1		-		5,58(pi-sulfur) 3,41(carbon H-bond)	
Glu166	S2		3,40(H-bond)	1,94(H-bond)	1,95(H-bond)	
Pro168	S4		5,34(Pi-alquil)			3,62(carbon H-bond) 4,23(pi-alquil)
Hist172	S4		-			
Gln 189	S4		III	3,76(H-bond)	4,73(pi-sulfur)	4,65(pi-sulfur)

Fonte: Autor (2022)

Em comparação com a energia de ligação da lixiviação sintética do redocking (-6,8 kcal/mol), que foi bem acima, decidiu-se então abordar os parâmetros de apenas três ligantes, Ergotamina (-9,9 kcal/mol/RMSD de 2,0 Å), Diidroergotamina (-9,8 kcal/mol/ RMSD de 1,46 Å) e Olísio (-9,5 kcal/mol/RMSD 1,5 Å).

3.1.3. Os principais ligantes em comparação com o N3 co-cristalizado

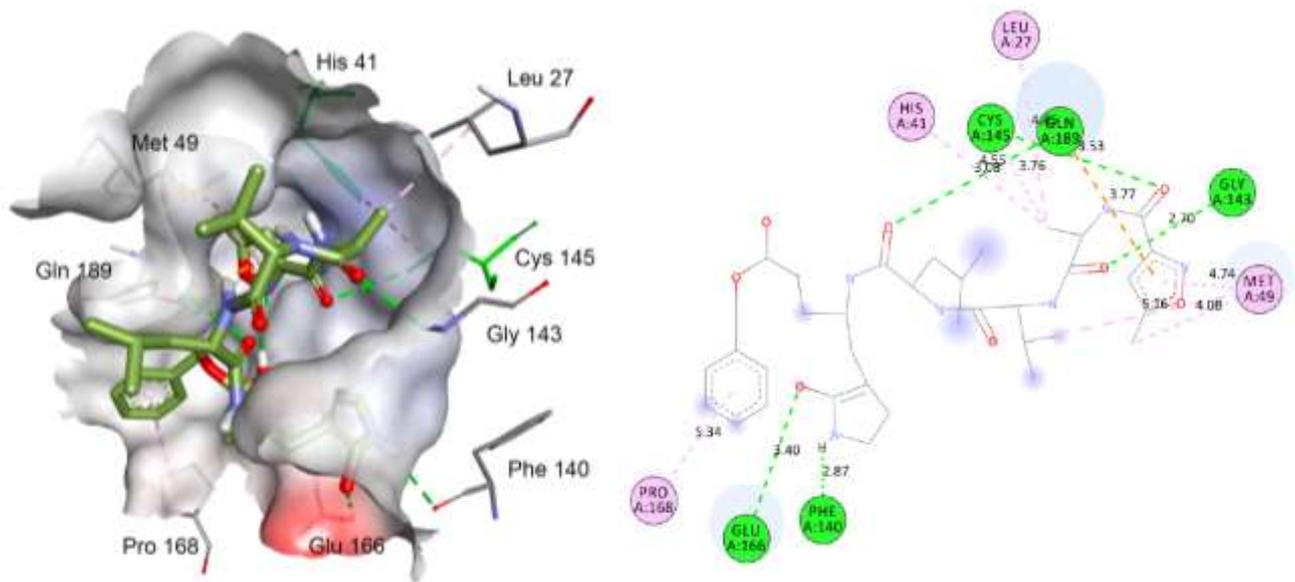
3.1.3.1. Interações e forças intermoleculares

A diidroergotamina é um alcalóide derivado da ergotamina utilizado no tratamento de enxaquecas, que apresentou grande afinidade no docking. Sua ação é semelhante aos triptanos, atuando como agonista dos receptores de serotonina e causando vasoconstrição dos vasos sanguíneos intracranianos, mas também interage centralmente com receptores dopaminérgicos e adrenérgicos. Pode ser usado para tratar a dor de cabeça intratável aguda (ANISZEWSKI, 2015).

Olísio é um medicamento usado em combinação com outros medicamentos (sofosbuvir ou ribavirina e α -peginterferon) no tratamento da hepatite C e também é usado em pessoas diagnosticadas com HIV (RULE, 2004). É usado especificamente no tratamento dos genótipos 1 e 4. A taxa de cura pode chegar a 90% (MAJUMDAR; KITSON; ROBERTS, 2016).

A Figura 3 mostra as principais interações do ligante nativo N3 com a proteína no procedimento de redocking. Todos os resíduos foram observados em pontes de hidrogênio convencionais nas regiões hidrofílicas do receptor: resíduos Phe 140, Gly 143, Cys 145, Glu166 e Gln 189, que correspondem aos sítios ativos das proteínas S2 e S3, respectivamente. Na parte hidrofílica do receptor, foi observada uma interação pi-alquil em Pro168 (sítio S4) e alquil com os resíduos Leu 27, His 41 e Met 49 no sítio S3.

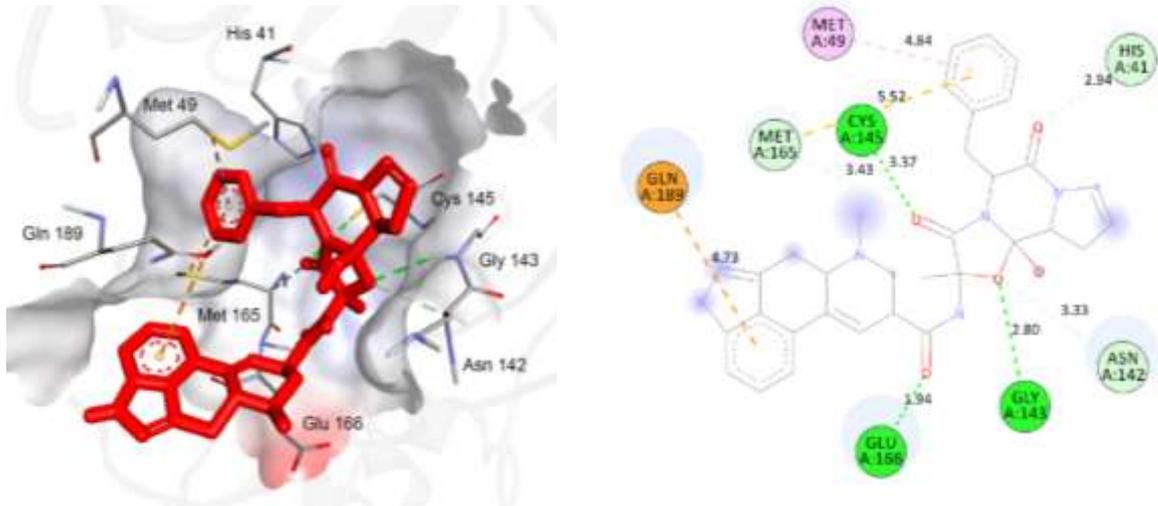
Figura 3. Interação do ligante de referência (N3) com os resíduos da proteína, analisado no Discovery Studio 2020 client (BIOVIA, 2015).



Fonte: Autor (2022)

As principais interações, mostradas na Figura 4, do fármaco ergotamina com a proteína, foram três ligações convencionais de hidrogênio e três convencionais de hidrogênio-carbono; na parte hidrofílica do receptor, destacam-se as seguintes interações essenciais: uma na porção amida do ligante, em C=O-Glu 166, no sítio S2, e a outra amida no sítio C=O-Cys 145, no sítio S1', que está encerrado no anel oxazolidínico interagindo com Gly 143, também no sítio S1'; e, finalmente, uma interação do tipo pi-S com o resíduo Gln 189.

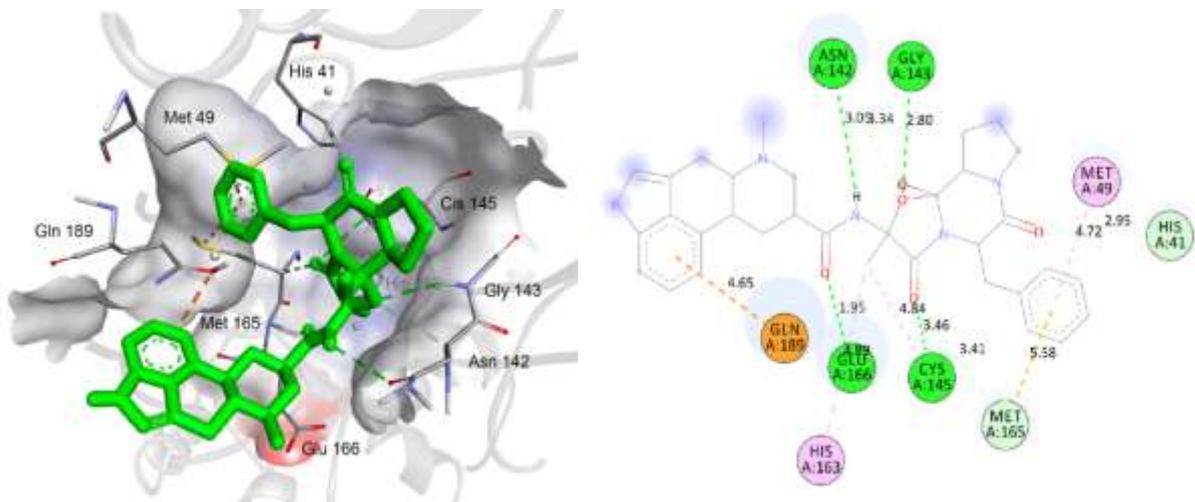
Figura 4. Interação da ergotamina com os resíduos da proteína, analisado no Discovery Studio 2020 client (BIOVIA, 2015).



Fonte: Autor (2022)

Na Figura 5, os resíduos que interagiram com o ligante diidroergotamina mais proeminente foram relacionados a quatro ligações de hidrogênio convencionais, três interações de hidrogênio carbono convencionais e uma interação Pi-S. As carbonilas de amida e anéis de oxazolina interagiram com os resíduos Cys 145, Glu 166 e Asn 142. Além disso, o grupo hidroxila interagiu com o Gly 143 por meio de interações de hidrogênio médias ou fortes, o que justifica os valores de energia de ligação à proteína spike. Outra interação que mereceu destaque foi a do pi-S com Gln 189, que levou à ligação do sítio S1' ao S4. Na região hidrofóbica, interação Pi-Alquil no anel pirrolidínico, com resíduos Met 49 e His 163.

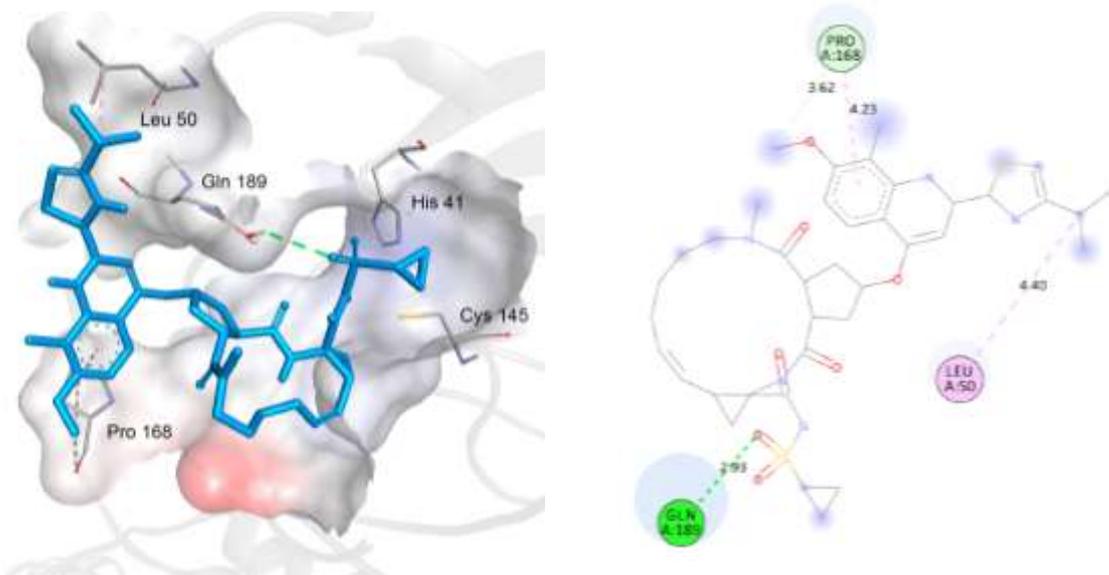
Figura 5. Interação da diidroergotamina com resíduos de proteína, analisado no Discovery Studio 2020 client (BIOVIA, 2015).



Fonte: Autor (2022)

Na Figura 6, os resíduos que interagiram com o ligante olísio na parte hidrofílica, foram apenas observadas uma forte ligação de hidrogênio do grupo sulfonil S=O-Gln 189 e uma interação de hidrogênio carbono com Pro 168. Na região hidrofóbica, foram observadas duas interações alquil no anel pirrolidínico, com resíduos Leu 50 e Pro 168.

Figura 6. Interação do olísio com resíduos de proteína, analisados no Discovery Studio 2020 client (BIOVIA, 2015).



Fonte: Autor (2022)

A droga ergotamina é um alcaloide do esqueleto da ergopeptina porque foi isolado pela primeira vez do fungo cravagem do centeio (*Claviceps purpurea*) por Arthur Stoll em Sandoz em 1918 (GIANNINI; SLABY, 1989). Seu aspectos estruturais e bioquímicos estão intimamente relacionados com a ergolina (ERNST, 2010). Além de possuir similaridade estrutural com vários neurotransmissores, tem comprovada atividade biológica como vasoconstritor (SI; SONG, 2018). É usado medicinalmente para tratar crises agudas de enxaqueca. Também tem sido usado para prevenir o sangramento pós-parto.

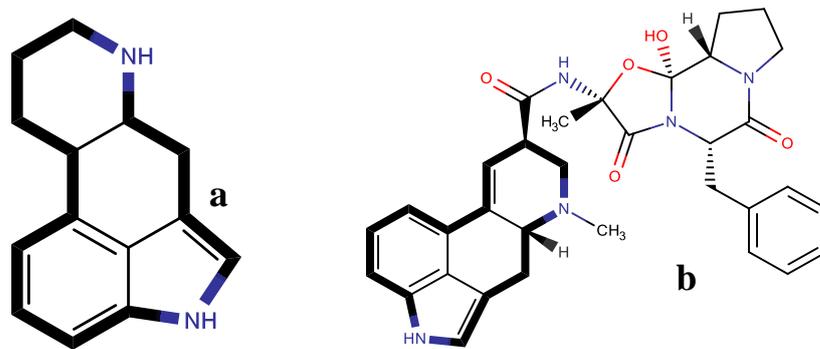
Nos Estados Unidos, a ergotamina usada para tratar a enxaqueca (DIENER et al., 2002) está disponível como um supositório, disponível sob a marca Migergot (proporção 2:100 ergotamina/cafeína) (SAYFAN, 2002). Na forma de comprimido sublingual, está disponível sob a marca Ergomar (contendo 2 mg de ergotamina). Outros medicamentos são combinados com cafeína, como Cafergot (proporção 1:100 ergotamina/ cafeína) (KANFER; SHARGEL, 2020).

Tanto a ergotamina quanto a diidroergotamina apresentaram energia de afinidade (de -9,9 a -9,6 kcal/mol), o que merece um estudo mais detalhado por apresentarem esqueletos de

ergolina. A ergolina (Figura 7a) é um composto químico cuja estrutura estrutural está contida em vários alcaloides denominados derivados da ergolina. Existem diferentes produtos clinicamente úteis para vasoconstrição, tratamento de enxaqueca e doença de Parkinson (como agonistas com seletividade para receptores D2). Potenciais medicamentos à base de ergolina incluem dopaminérgicos, antídotos minérgicos, serotoninérgicos e antiserotoninérgicos (SCHIFF, 2006).

Estudos recentes, realizados por análise computacional, indicam os antivirais Elbasvir, Ledipasvir, Paritaprevir, Velpatasvir e os alcaloides Antrafenina (droga derivada da fenilpiperazina) e Ergotamina (Figura 7b), sendo um dos precursores da diidroergotamina, como candidatos promissores no tratamento da Covid-19 (MEVADA et al., 2020).

Figura 7. (a) Esqueleto estrutural da ergolina e (b) ergotamina.



Fonte: Autor (2022)

3.2. Dinâmica Molecular (MD)

Um complexo proteína-ligante-solvente é um sistema termodinâmico composto pelo soluto e pelo solvente (ARCON et al., 2017). Nesse sistema, ocorrem interações complexas e trocas de calor entre essas substâncias; a relação entre essas substâncias e como a transferência de calor está relacionada a várias mudanças de energia são ditadas pelas leis da termodinâmica (BERETTA, 2020; CHINAKA, 2021; STRUCHTRUP, 2020). Como resultado, foram realizadas simulações de dinâmica molecular com os complexos proteína-ligante através do NAMD para avaliar possíveis alterações conformacionais globais, a estabilidade da proteína após cada conformação e obter informações sobre o mecanismo de interação dos complexos em nível molecular (BYLÉHN et al., 2021; DU et al., 2016).

3.2.1. Análise do RMSD

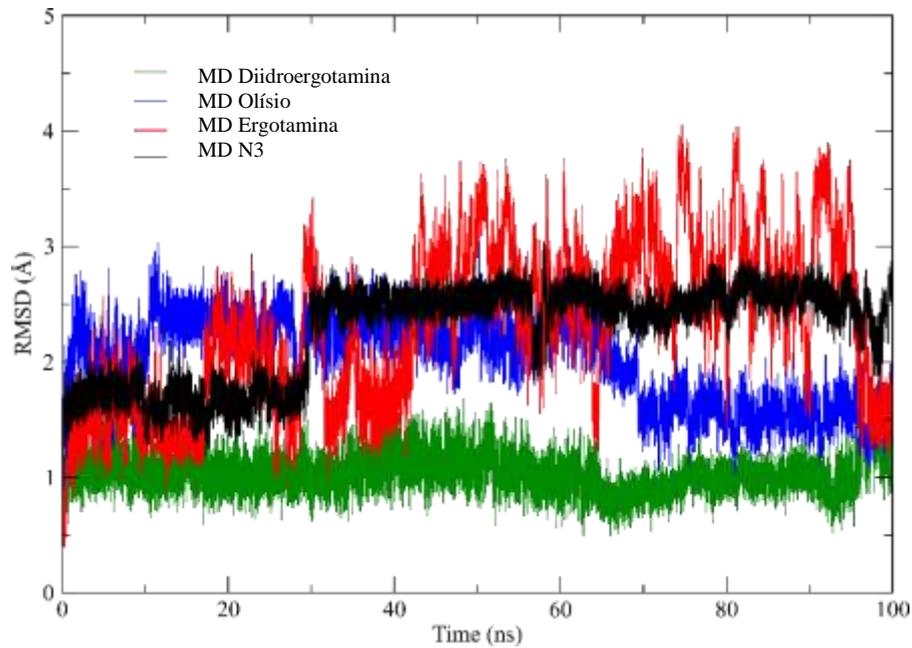
Dos estudos de acoplamento, os três ligantes selecionados com melhor energia de ligação, Ergotamina, Diidroergotamina e Olísio, contra a droga utilizada como padrão positivo (N3) apresentaram uma boa interação, de acordo com o sítio catalítico da M^{pro} (Figura 8). Observou-se que os valores médios de RMSD para todas as simulações de 100 ns nas etapas de produção ficaram em torno de 1,52 Å. No entanto, a dinâmica molecular da Diidroergotamina/M^{pro} apresentou estabilidade praticamente em toda sua trajetória, não ultrapassando o valor médio de 1,0 Å; isso é justificado em estudos anteriores como o de Cavallari et al. (2006), que realizaram simulações de dinâmica molecular para verificar a estabilidade da enzima protease do HIV-1 em uma solução aquosa com diferentes ligantes contendo diferentes teores de hélice α e folhas β . Portanto, essas interações de longo alcance foram calculadas usando o procedimento SPME e um banho termal *Langevin* a 310 K (MIYAMOTO et al., 2014).

As mudanças conformacionais da proteína observadas durante as simulações de MD foram descritas através dos desvios quadráticos médios (RMSD) na equação 5. Onde $r_i(t)$ and $r_i(0)$ são as coordenadas do i -ésimo átomo no tempo t e 0, respectivamente, e N é o número de átomos no domínio de interesse.

$$RMSD = \left[\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N [r_i(t) - r_i(0)]^2 \right]^{1/2} \quad (\text{eq. 5})$$

Além disso, o MD do Olísio/M^{pro} apresentou estabilidade a partir da trajetória de 70 ns, onde seu RMSD variou entre 2,1 a 1,54 Å durante toda a simulação. O MD da Ergotamina/M^{pro} foi o sistema que apresentou mais instabilidade, pois seus valores de RMSD oscilaram consideravelmente, desde o início da simulação de 1-17ns com valores de 1,5 Å; entre intervalos de 18-42 ns, o valor de RMSD mudou para 2,1 Å; na faixa de 43-96 ns, o RMSD médio foi de 2,8 Å e finalmente só passou a ter mais estabilidade após esse tempo. Para concluir esta discussão, o complexo formado entre N3/M^{pro} apresentou um RMSD médio de 2,5 Å após os primeiros 25 ns.

Figura 8. Desvio médio quadrático de rotação (RMSD), relativo à configuração inicial do complexo enzima-ligante versus o tempo de simulação (ns) na etapa de produção das simulações com o ligante nativo, N3 (preto), Diidroergotamina (verde), Olísio (azul), e Ergotamina (vermelho).



Fonte: Autor (2022)

3.2.2. Análise da RMSF

Visando também as mudanças conformacionais da proteína observadas durante as simulações de MD, foram estudadas as flutuações da estrutura média da proteína, expressas em termos de flutuações dos desvios atômicos quadráticos médios (RMFS), calculadas de acordo com a equação 6. Onde \bar{r}_i são as coordenadas dos i -ésimo átomos no intervalo de tempo j , \bar{r}_i , suas posições médias e I é o tempo das simulações, expresso como o número total de etapas de tempos coletados.

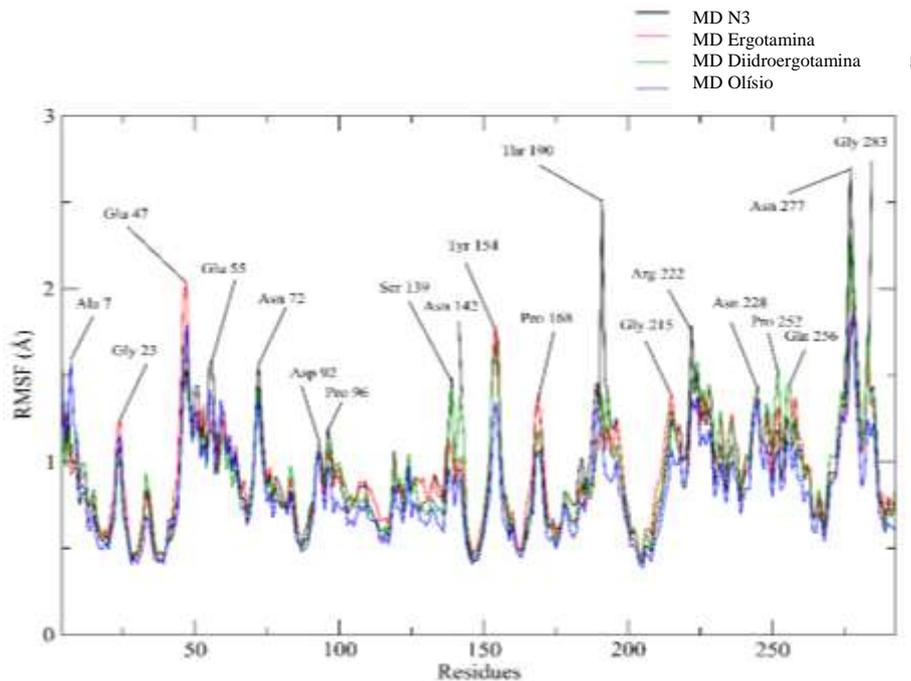
$$RMSF_i = \left[\frac{1}{I} \sum_{j=0}^I [\bar{r}_i(j) - \bar{r}_i]^2 \right]^{1/2} \quad (\text{eq. 6})$$

Como o RMSF de cada sistema foi realizado para entender o deslocamento e a estabilidade de cada resíduo na trajetória de simulação, a Figura 9 sobrepõe as principais interações. Assim, pode-se concluir que houve alterações conformacionais significativas dos complexos Ligantes- M^{pro} durante os tempos de simulação. Esses resultados sugerem que as trajetórias das simulações de dinâmica molecular para todos os complexos após as etapas de produção apresentaram oscilações suaves com correlações significativas com resíduos críticos

na replicação (QIN; ZHONG; WANG, 2021; ROE; BROOKS, 2020). Os complexos formados entre os ligantes e a M^{pro} apresentaram valores superiores a 2,5 Å nos resíduos Glu 47, Tyr 190 e Asn 227. Assim, isso não tem comprometido com a díade catalítica formada pelos resíduos Cys 145 e His 41, que estão relacionados com sua ativação.

Os resultados mostraram boa estabilidade das estruturas em solução aquosa. Além disso, as conformações obtidas nas simulações de MD para a protease foram complexadas com vários ligantes por meio de técnicas de docking, gerando informações importantes sobre os modos de ligação de pequenas moléculas nos diferentes estados de enovelamento (dobramento) da enzima.

Figura 9. Flutuação média quadrática de rotação (RMSF), relativo à confirmação inicial do complexo Enzima-ligante versus o tempo de simulação (ns) na etapa de produção das simulações com o ligante nativo, N3 (preto), Diidroergotamina (verde), Olísio (azul) e Ergotamina (vermelho).



Fonte: Autor (2022)

3.2.3. Análise das Ligações de H (H-Bond)

O número de pontes de hidrogênio intermoleculares é essencial para a estabilidade de um complexo proteico (MASCOLI et al., 2021; RAGUNATHAN; MALATHI; ANBARASU, 2018). É possível ver as pontes de hidrogênio formadas entre a M^{pro} e os ligantes nas longas etapas de produção da dinâmica molecular na Figura 10.

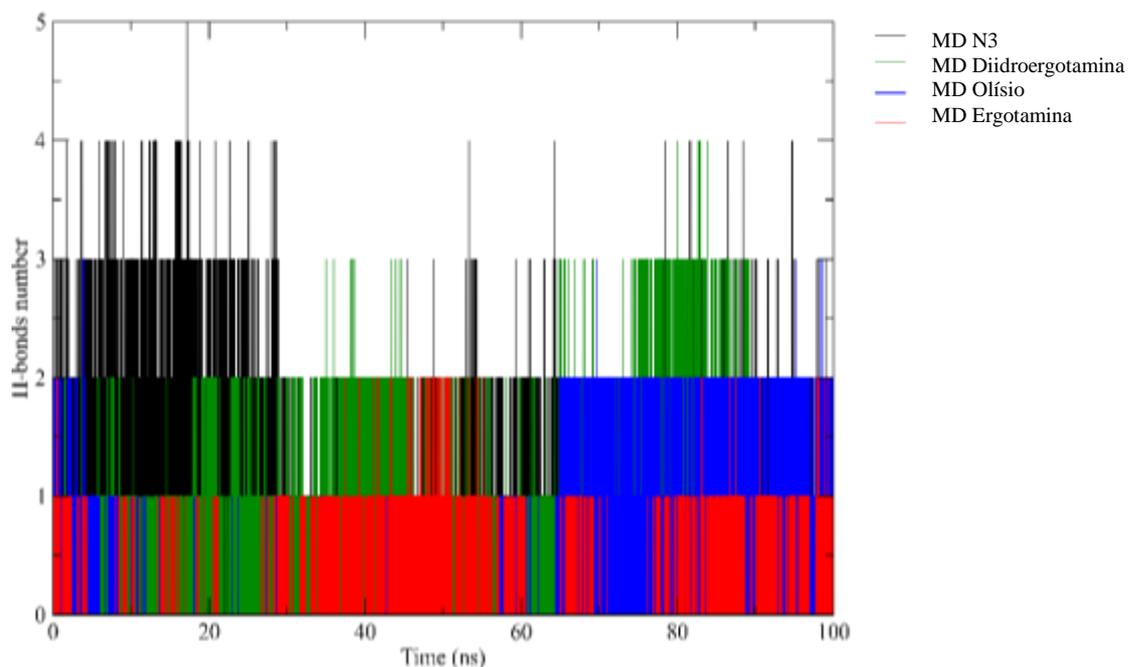
Durante a simulação, houve mudanças nas redes de ligações de hidrogênio, e o número de interações flutuou entre 2 e 5. No complexo M^{pro} -N3, as ligações de hidrogênio isoladas e o

número médio moderado de ligações de hidrogênio por período (até 5 ligações) sugeriram que as redes de ligações de hidrogênio eram relativamente fortes. Portanto, os resíduos Gly 143, Cys 145, Glu 166 e Gln 189 foram registrados, formando fortes conexões durante sua trajetória. Esse comportamento se repetiu na simulação de MD do complexo M^{pro}-diidroergotamina que demonstrou ter as mesmas interações ao longo do curso (5 ligações), mas sugeriu outra rede de ligação de hidrogênio, com a formação nos resíduos centrais Asn 142, Gly 143, Cys 145 e Glu 166.

A simulação de MD do complexo M^{pro}-ergotamina mostrou até três pontes de hidrogênio com os resíduos Asn 142, Gly 143, Cys 145 e Glu 166. Finalmente, a simulação de MD do complexo M^{pro}-olísio MD não foi muito eficaz como os exemplos anteriores, que apesar de fortemente característicos, apenas uma ligação de hidrogênio com o resíduo Gln 189 foi apresentada. O momento em que essas ligações estiveram muito presentes sugere que essa interação manteve a estabilidade do complexo além do tamanho dos compostos e suas funcionalidades (QIN; ZHONG; WANG, 2021).

Ao comparar as ligações de hidrogênio formadas na dinâmica molecular (MD) com aquelas obtidas anteriormente no processo de docking, podem ser observadas correlações complementares, indicando a convergência de um método estático com um processo de sistema contínuo.

Figura 10. Pontes de hidrogênio formadas entre a proteína-ligantes durante as etapas de simulação.

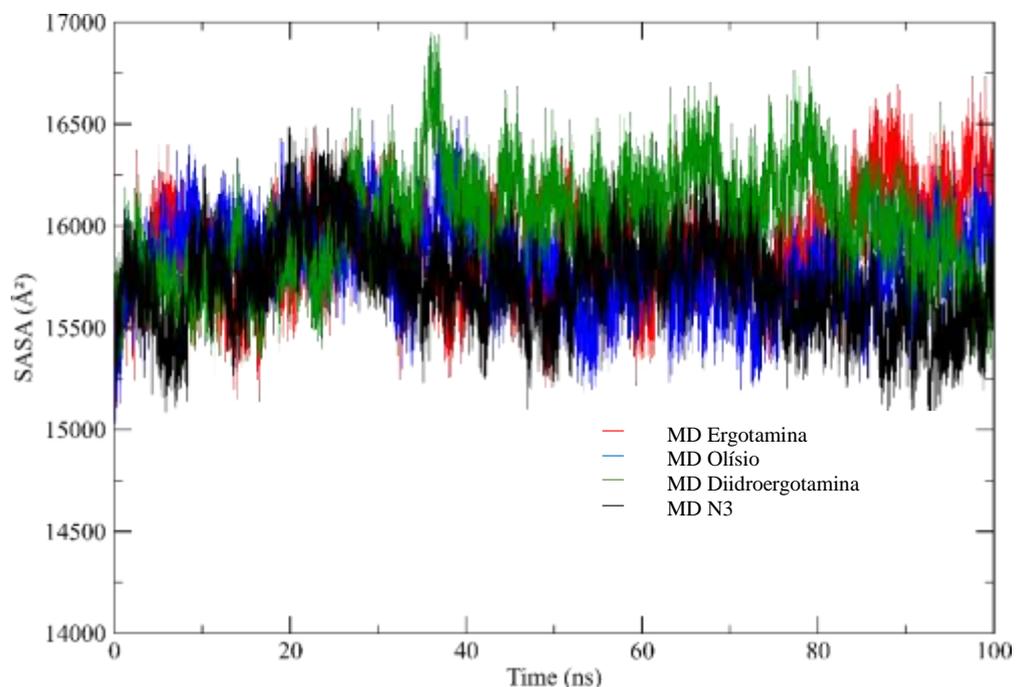


3.2.4. Análise da SASA

A Área de Superfície Acessível por Solvente (SASA) é a área de superfície de uma proteína que interage com suas moléculas de solvente (MAZOLA et al., 2015). Os valores médios de SASA para N3 livre, ergotamina, diidroergotamina e complexos de olísio foram monitorados durante as simulações de MD de 100 ns. Os traços para a SASA na Figura 11, mostram um aumento acentuado em 20 ns, indicando relaxamento estrutural.

Os valores médios da SASA para ergotamina livre, diidroergotamina, olísio e complexos N3 foram de 16,121 Å², 16,234 Å², 15,786 Å² e 15,551 Å², respectivamente. Nenhuma mudança significativa foi observada nos valores de SASA devido à ligação dos ligantes. Após esse tempo, os valores flutuam em torno de um valor constante. Assim, assumiu-se que os tempos de simulação de 100 ns eram suficientes para a amostragem de sistemas equilibrados. A SASA mais alta é encontrado para as moléculas de AChE com os íons monovalentes estabilizadores.

Figura 11. Área de superfície acessível ao solvente (SASA) da AChE em função do tempo das simulações de MD: MD com catequina, estabilizando íons monovalentes (linha preta), MD com Kampferide, estabilizando íons monovalentes (linha azul) e MD com GNT, estabilizando íons monovalentes (linha vermelha). As curvas estão executando médias de dados brutos com uma janela de 100 ns.



Fonte: Autor (2022)

3.2.5. Cálculos de MM/GBSA

As energias MM/GBSA são consideradas uma forma de estimar a energia livre para estudos *in silico* de ligantes em complexos proteicos (GENHEDEN; RYDE, 2015). Eles são tipicamente baseados em simulações de MD e trazem precisão entre pontuação empírica e perturbação alquímica estrita (CHEN et al., 2018). No entanto, como na entropia conformacional, é difícil obter um valor concorrente. Portanto, se os ligantes não tiverem nenhuma mudança estrutural induzida por ligação em simulações de MD, a entropia conformacional é geralmente ignorada para os cálculos pela análise de modo padrão (WANG et al., 2018).

MolAICal forneceu uma maneira rápida de avaliar a energia livre de ligação sem entropia do ligante baseado na abordagem de três trajetórias. Onde o complexo Diidroergotamina/M^{Pro} se mostrou ser o melhor resultado, baseado na sua energia livre com -38,37 kcal/mol, em comparação com outros ligantes em estudo, como Ergotamina/M^{Pro}, e Olyso/M^{Pro} que apresentaram energia livre de -31,66 kcal/mol e -28,97 kcal/mol, respectivamente, ambos baseados no ligante de referência N3, que continuou sendo o mais estável do sistema em estudo, com energia livre de -38,37 kcal/mol. O termo variação de entropia diz respeito à perda de graus de liberdade resultante da formação de uma ou mais interações, pois antes havia apenas duas moléculas (ligante e proteína), que podiam acessar quaisquer graus de liberdade rotacional, translacional ou vibracional, agora há um complexo onde o movimento das moléculas é muito mais limitado (BEN-TAL et al., 2000; WRIGHT et al., 2014).

Esta estimativa pode ser obtida a partir dos cálculos dos modos padrão para os dois sistemas. Assim, para um complexo macromolecular com um alvo e um ligante, a energia de interação pode ser estimada de acordo com as equações 7, 8 e 9 (EMIRIK, 2022; ŠPONER; HOBZA; LESZCZYNSKI, 1999).

$$\Delta A_{interaction}^{(vac)} = (E_{complex}^{MM} - E_{target}^{MM}) - (E_{complex}^{MM} - E_{ligand}^{MM}) + T\Delta S_{NORMODS} \quad (\text{eq. 7})$$

$$\Delta A_{interaction}^{(vac)} = E_{complex}^{MM} - E_{target}^{MM} - E_{complex}^{MM} + E_{ligand}^{MM} + T\Delta S_{NORMODS} \quad (\text{eq. 8})$$

$$\Delta A_{interaction}^{(vac)} = E_{ligand}^{MM} - E_{target}^{MM} + T\Delta S_{NORMODS} \quad (\text{eq. 9})$$

Tabela 2. Dados estimados de energia livre de ligantes do FDA contra a M^{pro}.

Complexo	$\Delta E_{\text{ele}} + \Delta G_{\text{sol}}$ (kcal/mol)	ΔE_{vdw} (kcal/mol)	ΔG_{lig} (kcal/mol)	Devio padrão
Ergotamina/M ^{pro}	21,40	-53,06	-31,66	+/- 0,0270
Diidroergotamina/M ^{pro}	20,60	-52,36	-31,76	+/- 0,0253
Olísio/M ^{pro}	27,84	-56,81	-28,97	+/- 0,0299
N3/M ^{pro}	20,79	-59,16	-38,37	+/- 0,0405

Fonte: Autor (2022)

4. CONCLUSÕES

Com base no screening (triagem) realizado com os 2.108 medicamentos da população, pode-se afirmar que a ergotamina, a diidroergotamina e o olísio apresentaram as melhores interações com a protease M^{Pro} do COVID-19 pelo estudo *in silico* com o MolAiCAID usando algoritmo de modelo genético Lamarckiano (GA) combinado com a estimativa de energia baseada em grade e em conformação rígida e flexível. Além disso, estudos de dinâmica molecular também foram realizados para verificar a estabilidade do complexo receptor-ligante formado por meio de análises de RMSD, RMSF, H-Bond, SASA e MM/GBSA. Os ligantes escolhidos para realização da triagem virtual por docking molecular foram medicamentos registrados no FDA e disponíveis na biblioteca virtual.

Neste sentido, obtivemos resultados suficientemente satisfatórios para atestar que a ergotamina, a diidroergotamina e o olísio são promissores para o cumprimento do objetivo estabelecido na presente pesquisa. Testes experimentais *in vitro* e *in vivo* devem ser realizados para que essas hipóteses sejam comprovadas e assim, drogas já conhecidas tenham novas aplicações como inibidores do Sars-Cov-2.

5. REFERÊNCIAS

- ANISZEWSKI, T. Alkaloid chemistry. In: **Alkaloids**. [s.l.] Elsevier, 2015. p. 99–193.
- APAROY, P.; KUMAR REDDY, K.; REDDANNA, P. Structure and Ligand Based Drug Design Strategies in the Development of Novel 5- LOX Inhibitors. **Current Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 22, p. 3763–3778, 2012.
- ARCON, J. P. et al. Molecular Dynamics in Mixed Solvents Reveals Protein-Ligand Interactions, Improves Docking, and Allows Accurate Binding Free Energy Predictions. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 57, n. 4, p. 846–863, 2017.
- ARONSON, J. K. Old drugs - New uses. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 64, n. 5, p. 563–565, 2007.
- ARSHIA, A. H. et al. De novo design of novel protease inhibitor candidates in the treatment of SARS-CoV-2 using deep learning, docking, and molecular dynamic simulations. **Computers in Biology and Medicine**, v. 139, 2021.
- ASHUTOSH, T.; VYTAS, A. B. Molecular Docking: From Lock and Key to Combination Lock. **Journal of Molecular Medicine and Clinical Applications**, v. 2, n. 1, p. 1–9, 2018.
- BAI, Q. et al. MolAICal: a soft tool for 3D drug design of protein targets by artificial intelligence and classical algorithm. **Briefings in bioinformatics**, v. 22, n. 3, p. 1–12, 2021.
- BEIGEL, J. H. et al. Remdesivir for the Treatment of Covid-19 — Preliminary Report. **New England Journal of Medicine**, v. 1, n. 1, p. 1–12, 2020.
- BEN-TAL, N. et al. Association entropy in adsorption processes. **Biophysical Journal**, v. 79, n. 3, p. 1180–1187, 2000.
- BENET ET AL. BDDCS, the Rule of 5 and Drugability. **Adv Drug Deliv Rev**, p. 89–98, 2016.
- BERETTA, G. P. The fourth law of thermodynamics: Steepest entropy ascent. **Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, v. 378, n. 2170, p. 1–17, 2020.
- BIOVIA. **Dassault Systemes BIOVIA, Discovery Studio Modelling Environment, Release 4.5 Accelrys Software Inc.** San Diego, 2015.
- BOGOCH, I. I. et al. Pneumonia of unknown aetiology in Wuhan, China: Potential for international spread via commercial air travel. **Journal of Travel Medicine**, v. 27, n. 2, p. 1–3, 2020.
- BRASIL. Coordenação de gestão de protocolos clínicos e diretrizes terapêuticas (CPCDT). In: **Diretrizes para diagnóstico e tratamento da COVID-19**. Version 2 ed. Brasília-DF: Ministério da Saúde, 2020.
- BYLÉHN, F. et al. Modeling the Binding Mechanism of Remdesivir, Favilavir, and Ribavirin

to SARS-CoV-2 RNA-Dependent RNA Polymerase. **ACS Central Science**, v. 7, n. 1, p. 164–174, 2021.

CAVALLARI, M. et al. Partially folded states of HIV-1 protease: Molecular dynamics simulations and ligand binding. **Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**, v. 769, n. 1–3, p. 111–121, 2006.

CHEATHAM, T. E. et al. **Molecular Dynamics Simulations on Solvated Biomolecular Systems: The Particle Mesh Ewald Method Leads to Stable Trajectories of DNA, RNA, and Proteins** *Journal of the American Chemical Society*, 1995.

CHEN, F. et al. Assessing the performance of MM/PBSA and MM/GBSA methods. 8. Predicting binding free energies and poses of protein-RNA complexes. **RNA**, v. 24, n. 9, p. 1183–1194, 2018.

CHEN, N. et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. **The Lancet**, v. 395, n. 10223, p. 507–513, 2020.

CHINAKA, T. W. **Introducing the second law of thermodynamics using Legitimation Code Theory among first year chemistry students** *Cypriot Journal of Educational Sciences*, 2021.

CHONG, C. R.; SULLIVAN, D. J. New uses for old drugs. **Nature**, v. 448, p. 645–646, 2007.

CORREIA, B. DE C.; TRINDADE, J. K.; ALMEIDA, A. B. Fatores Correlacionados À Automedicação Entre Os Jovens E Adultos- Uma Revisão Integrativa Da Literatura. **Revista de Iniciação Científica e Extensão**, v. 2, n. 1, p. 57–61, 2019.

COUTINHO, J. P. Busca De Novos Fármacos Para O Tratamento Da Malária Humana Através De Diferentes Abordagens. **Journal of Chemical Information and Modeling**, 2013.

CUI, J.; LI, F.; SHI, Z. L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. **Nature Reviews Microbiology**, v. 17, p. 181–192, 2019.

DASGUPTA, D.; MANDALAPARTHY, V.; JAYARAM, B. A component analysis of the free energies of folding of 35 proteins: A consensus view on the thermodynamics of folding at the molecular level. **Journal of Computational Chemistry**, v. 38, n. 32, p. 2791–2801, 2017.

DE ALMEIDA, J. O. et al. COVID-19: Physiopathology and Targets for Therapeutic Intervention [COVID-19: Fisiopatologia e Alvos para Intervenção Terapêutica]. **Revista Virtual de Química**, v. 12, n. 6, 2020.

DE RUYCK, J. et al. Molecular docking as a popular tool in drug design, an in silico travel. **Advances and Applications in Bioinformatics and Chemistry**, v. 9, p. 1–11, 2016.

DIAS, L. C. et al. Doenças tropicais negligenciadas: uma nova era de desafios e oportunidades. **Química Nova**, v. 36, n. 10, p. 1552–1556, 2013.

DIENER, H. C. et al. Efficacy, tolerability and safety of oral eletriptan and ergotamine plus

caffeine (Cafergot®) in the acute treatment of migraine: A multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled comparison. **European Neurology**, v. 47, n. 2, p. 99–107, 2002.

DIEZ, M. et al. Insights into mechanism kinematics for protein motion simulation. **BMC Bioinformatics**, v. 15, n. 1, 2014.

DOURADO, P. et al. Prevalence of self-medication in Brazil and associated factors. **Revista de Saúde Pública**, v. 50, n. suppl 2, p. 1s-11s, 2016.

DU, X. et al. Insights into protein–ligand interactions: Mechanisms, models, and methods. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 2, p. 1–34, 2016.

EMIRIK, M. Potential therapeutic effect of turmeric contents against SARS-CoV-2 compared with experimental COVID-19 therapies: in silico study. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 40, n. 5, p. 2024–2037, 2022.

ERNST, E. Index Nominum 2000. International Drug Director. **Focus on Alternative and Complementary Therapies**, v. 5, n. 3, p. 233–233, 2010.

FALAVIGNA, M. et al. Diretrizes para o tratamento farmacológico da COVID-19. **Rev Bras Ter Intensiva**, v. 32, n. 2, p. 166–196, 2020.

FEHR, A. R.; PERLMAN, S. Coronaviruses: An overview of their replication and pathogenesis. In: **Coronaviruses: Methods and Protocols**. 1. ed. New York: Springer, 2015. p. 1–23.

FERREIRA, J. C. et al. Catalytic Dyad Residues His41 and Cys145 Impact the Catalytic Activity and Overall Conformational Fold of the Main SARS-CoV-2 Protease 3-Chymotrypsin-Like Protease. **Frontiers in Chemistry**, v. 9, p. 1–11, 2021.

FIELD, M. J. et al. The Dynamo Library for Molecular Simulations Using Hybrid Quantum Mechanical and Molecular Mechanical Potentials. **Journal of Computational Chemistry**, v. 21, n. 12, p. 1088–1100, 2000.

FOUNDATION, T. A. S. **Apache Cordova**The Apache Software Foundation, , 2012.

GENHEDEN, S.; RYDE, U. **The MM/PBSA and MM/GBSA methods to estimate ligand-binding affinities**Expert Opinion on Drug Discovery, 2015.

GENHEDEN, S.; RYDE, U. L. F. How to obtain statistically converged MM/GBSA results. **Journal of Computational Chemistry**, v. 31, n. 4, p. 837–846, 2010.

GIANNINI, A. J.; SLABY, A. E. **Drugs of abuse**. XIII ed. New Jersey: Medical Economics Books, 1989.

GOHLKE, H.; CASE, D. A. Converging Free Energy Estimates: MM-PB(GB)SA Studies on the Protein-Protein Complex Ras-Raf. **Journal of Computational Chemistry**, v. 25, n. 2, p. 238–250, 2004.

GOHLKE, H.; KIEL, C.; CASE, D. A. Insights into protein-protein binding by binding free

energy calculation and free energy decomposition for the Ras-Raf and Ras-RalGDS complexes. **Journal of molecular biology**, v. 330, n. 4, p. 891–913, 2003.

GUIDO, R. V. C.; ANDRICOPULO, A. D. Modelagem Molecular de Fármacos. **Revista Processos Químicos**, v. 2, n. 4, p. 24–36, 2008.

GUO, Y. R. et al. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak- A n update on the status. **Military Medical Research**, v. 7, p. 1–10, 2020.

HAHN, K. L. Old drugs are new again. **Pharmacy Times**, v. 77, n. 6, p. 159–166, 2011.

HESS, B. et al. LINCS: A Linear Constraint Solver for molecular simulations. **Journal of Computational Chemistry**, v. 18, n. 12, p. 1463–1472, 1997.

HEVENER, K. E. et al. Validation of molecular docking programs for virtual screening against dihydropteroate synthase. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 49, n. 2, p. 444–460, 2009.

HUANG, H. J. et al. Current developments of computer-aided drug design. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 41, n. 6, p. 623–635, 2010.

HUMPHREY, W.; DALKE, A.; SCHULTEN, K. VMD: Visual molecular dynamics. **Journal of Molecular Graphics**, v. 14, n. 1, p. 33–38, 1996.

IMBERTY, A. et al. Molecular modelling of protein-carbohydrate interactions. Docking of monosaccharides in the binding site of concanavalin A. **Glycobiology**, v. 1, n. 6, p. 631–642, 1991.

JIN, Z. et al. Structure of Mpro from SARS-CoV-2 and discovery of its inhibitors. **Nature**, v. 582, n. 7811, p. 289–293, 2020.

JORGENSEN, W. L. et al. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. **The Journal of Chemical Physics**, v. 79, n. 2, p. 926–935, 1983.

KANFER, I.; SHARGEL, L. Approved Drug Products with Therapeutic Equivalence Evaluations (The Orange Book). In: **Generic Drug Product Development**. [s.l: s.n.]. p. 36–51.

KUMAR, Y.; SINGHC, H.; PATEL, C. N. In silico prediction of potential inhibitors for the Main protease of SARS-CoV-2 using molecular. **Journal of Infection and Public Health**, n. JIPH-1385, p. 1–14, 2020.

LEDFORD, H. Dozens of coronavirus drugs are in development - what happens next? **Nature**, v. 581, p. 247–248, 2020.

LU, H.; STRATTON, C. W.; TANG, Y. W. Outbreak of pneumonia of unknown etiology in Wuhan, China: The mystery and the miracle. **Journal of Medical Virology**, v. 92, p. 401–402, 2020.

MAJUMDAR, A.; KITSON, M. T.; ROBERTS, S. K. Systematic review: Current concepts and challenges for the direct-acting antiviral era in hepatitis C cirrhosis. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v. 43, n. 12, p. 1276–1292, 2016.

MARINHO, E. M. et al. Virtual screening based on molecular docking of possible inhibitors of Covid-19 main protease. **Microbial Pathogenesis**, v. 148, p. 104365, nov. 2020.

MARTINS-FILHO et al. Recommendations for a safety dental care management during SARS-CoV-2 pandemic. **Pan American Journal of Public Health**, v. 44, p. 1–3, 2020.

MASCOLI, V. et al. Uncovering the interactions driving carotenoid binding in light-harvesting complexes. **Chemical Science**, v. 12, n. 14, p. 5113–5122, 2021.

MAZOLA, Y. et al. A comparative molecular dynamics study of thermophilic and mesophilic β -fructosidase enzymes. **Journal of Molecular Modeling**, v. 21, n. 9, p. 1–15, 2015.

MENEZES, C. R.; SANCHES, C.; CHEQUER, F. M. D. Efetividade e toxicidade da cloroquina e da hidroxicloroquina associada (ou não) à azitromicina para tratamento da COVID-19. O que sabemos até o momento? **Journal of Health & Biological Sciences**, v. 8, n. 1, p. 1–9, 2020.

MEVADA, V. et al. Drug Repurposing of Approved Drugs Elbasvir, Ledipasvir, Paritaprevir, Velpatasvir, Antrafenine and Ergotamine for Combating COVID19. **ChemRxiv**, p. 1–15, 2020.

MIYAMOTO, Y. et al. Langevin description of gauged scalar fields in a thermal bath. **Physical Review D - Particles, Fields, Gravitation and Cosmology**, v. 89, n. 8, 2014.

MORRIS, G. M. et al. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. **Journal of computational chemistry**, v. 30, n. 16, p. 2785–91, dez. 2009.

NGUYEN, D. D. et al. Rigidity Strengthening: A Mechanism for Protein-Ligand Binding. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 57, n. 7, p. 1715–1721, 2017.

PETTERSEN, E. F. et al. UCSF ChimeraX: Structure visualization for researchers, educators, and developers. **Protein Science**, v. 30, n. 1, p. 70–82, 2021.

PHILLIPS, J. C. et al. Scalable molecular dynamics with NAMD. **Journal of Computational Chemistry**, v. 26, n. 16, p. 1781–1802, 2005.

QIN, X.; ZHONG, J.; WANG, Y. A mutant T1 lipase homology modeling, and its molecular docking and molecular dynamics simulation with fatty acids. **Journal of Biotechnology**, v. 337, n. February, p. 24–34, ago. 2021.

RAGUNATHAN, A.; MALATHI, K.; ANBARASU, A. MurB as a target in an alternative approach to tackle the *Vibrio cholerae* resistance using molecular docking and simulation study. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 119, n. 2, p. 1726–1732, fev. 2018.

RESTER, U. **From virtuality to reality - Virtual screening in lead discovery and lead optimization: A medicinal chemistry perspective** *Current Opinion in Drug Discovery and Development*, 2008.

ROE, D. R.; BROOKS, B. R. A protocol for preparing explicitly solvated systems for stable molecular dynamics simulations. **Journal of Chemical Physics**, v. 153, n. 5, p. 1–9, 2020.

ROTHAN, H. A.; BYRAREDDY, S. N. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. **Journal of Autoimmunity**, v. 109, n. 102433, p. 1–4, 2020.

RUBA, S.; AROOJ, M.; NAZ, D. G. In Silico Molecular Docking Studies and Design of Dengue Virus Inhibitors. **IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences**, v. 9, n. 2, p. 15–23, 2014.

RULE, A. M. American Society of Health-System Pharmacists' Pain Management Network. **Journal of Pain and Palliative Care Pharmacotherapy**, v. 18, n. 3, 2004.

RYCKAERT, J. P.; CICCOTTI, G.; BERENDSEN, H. J. C. Numerical integration of the cartesian equations of motion of a system with constraints: molecular dynamics of n-alkanes. **Journal of Computational Physics**, v. 23, n. 3, p. 327–341, 1977.

SAYFAN, J. Ergotamine-induced anorectal strictures: Report of five cases. **Diseases of the Colon and Rectum**, v. 45, n. 2, p. 271–272, 2002.

SCHIFF, P. L. Ergot and its alkaloids. **American Journal of Pharmaceutical Education**, v. 70, n. 5, p. 1–10, 2006.

SCHRÖDINGER, L. Maestro, version 9.1. **New York, NY.**, 2010.

SHITYAKOV, S.; FÖRSTER, C. In silico predictive model to determine vector-mediated transport properties for the blood-brain barrier choline transporter. **Advances and Applications in Bioinformatics and Chemistry**, 2014.

SI, B.; SONG, E. Recent advances in the detection of neurotransmitters. **Chemosensors**, v. 6, n. 1, p. 1–24, 2018.

SLIWOSKI ET AL. Computational Methods in Drug Discovery. **Pharmacol Rev**, v. 66, p. 334–395, 2014.

ŠPONER, J.; HOBZA, P.; LESZCZYNSKI, J. Chapter 3 Computational approaches to the studies of the interactions of nucleic acid bases. In: **Theoretical and Computational Chemistry**. [s.l: s.n.]. v. 8p. 85–117.

STRUCHTRUP, H. Entropy and the second law of thermodynamics-The nonequilibrium perspective. **Entropy**, v. 22, n. 7, p. 1–61, 2020.

TROTT, O.; OLSON, A. J. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. **Journal of Computational Chemistry**, v. 31, n. 2, p. 455–461, 2010.

TURNER, P. XMGRACE, Version 5.1. 19. **Center for Coastal and Land-Margin Research, Oregon Graduate Institute of Science and Technology, Beaverton**, 2005.

VIEIRA, T. F.; SOUSA, S. F. Comparing AutoDock and Vina in ligand/decoy discrimination

for virtual screening. **Applied Sciences (Switzerland)**, v. 9, n. 21, p. 1–18, 2019.

WANG, C. et al. **Recent developments and applications of the MMPBSA method** **Frontiers in Molecular Biosciences**, 2018.

WANG, M. et al. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. **Cell Research**, v. 30, p. 269–271, 2020.

WRIGHT, D. W. et al. Computing clinically relevant binding free energies of HIV-1 protease inhibitors. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 10, n. 3, p. 1228–1241, 2014.

WU, D. et al. The SARS-CoV-2 outbreak: What we know. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 94, p. 44–48, 2020.

YAN, J. et al. α -Glucosidase inhibition by luteolin: Kinetics, interaction and molecular docking. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 64, p. 213–223, 2014.

YUSUF, D. et al. An alternative method for the evaluation of docking performance: RSR vs RMSD. **Journal of Chemical Information and Modeling**, 2008.

ZHOU, T. et al. Preliminary prediction of the basic reproduction number of the Wuhan novel coronavirus 2019-nCoV. **Journal of Evidence-Based Medicine**, v. 13, n. 1, p. 3–7, 2020.

ZUMLA, A. et al. Reducing mortality from 2019-nCoV: host-directed therapies should be an option. **The Lancet**, v. 395, n. 10224, p. 22–28, 2020.

6. APÊNDICE

Apêndice 1: Comprovante de submissão do artigo

**Submission received for Journal of Biomolecular Structure and Dynamics
(Submission ID: 220381605)**
1 mensagem

rpsupport@tandf.co.uk <rpsupport@tandf.co.uk> 3 de janeiro de 2023 às 19:21
Para: helciodossantos@gmail.com

 Taylor & Francis
Taylor & Francis Group

Dear Helcio Silva Dos Santos,

Thank you for your submission.

Submission ID	220381605
Manuscript Title	Potential inhibitors against Mpro Sars-Cov-2: molecular Docking, molecular Dynamics, RMSD, RMSF, H-Bond, SASA and MMGBSA approach
Journal	Journal of Biomolecular Structure and Dynamics

You can check the progress of your submission, and make any requested revisions, on the Author Portal.

Thank you for submitting your work to our journal.
If you have any queries, please get in touch with TBSD-peerreview@journals.tandf.co.uk.

Kind Regards,
Journal of Biomolecular Structure and Dynamics Editorial Office

Taylor & Francis is a trading name of Informa UK Limited, registered in England under no. 1072954.
Registered office: [5 Howick Place, London, SW1P 1W](#).

Apêndice 2: Declaração de atuação como bolsista de iniciação científica PIBIC/CNPq

 UNILAB Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira	Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação Coordenação de Pesquisa	PROPPG Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação 
DECLARAÇÃO		
<p>Declaramos, para os devidos fins, que BERNARDINO JOAQUIM CALUACO, CPF 093.537.501-56, atuou como Bolsista em Iniciação Científica desta Universidade, cumprindo a carga horária de 12 horas semanais, no período entre 01/10/2021 e 30/09/2022 (624 horas). Neste período, o(a) aluno(a) integrou a equipe de execução do projeto intitulado Screening virtual de drogas aprovadas pela FDA frente a protease principal Mpro do COVID-19, coordenado por Aluisio Marques da Fonseca. Tal projeto foi aprovado por esta Pró-Reitoria sob o número de processo PVN1489 no edital PROPPG 04/2021 PIBIC UNILAB/CNPq, com data de execução entre 01/10/2021 e 30/09/2022.</p>		
Redenção-CE, 12 de novembro de 2022.		
<p>Este documento pode ser validado em: https://proppg.unilab.edu.br/forms/sistemas/declaracoes/validar_declaracao com o código [11a1f865]</p>		
<p>Campus Liberdade, Avenida da Abolição, 3 - Centro CEP: 62.790-000 Redenção - Ceará - Brasil Site: http://proppg.unilab.edu.br E-mail: proppg@unilab.edu.br Fone: +055 (85) 3332-6197</p>		

Apêndice 3: Declaração de atuação como voluntário de iniciação científica PIBIC



Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Coordenação de Pesquisa



DECLARAÇÃO

Declaramos, para os devidos fins, que **BERNARDINO JOAQUIM CALUACO**, CPF 093.537.501-56, atuou como Voluntário em Iniciação Científica desta Universidade, cumprindo a carga horária de 12 horas semanais, no período entre 20/04/2020 e 30/09/2020 (276 horas). Neste período, o(a) aluno(a) integrou a equipe de execução do projeto intitulado **Potencialidades do uso das Tecnologias de Informação e Comunicação para o Ensino de Química/Ciências nas escolas do Maciço do Baturité**, coordenado por Viviane Gomes Pereira Ribeiro. Tal projeto foi aprovado por esta Pró-Reitoria sob o número de processo 008 no edital PROPPG 03/2019 Fluxo Contínuo, com data de execução entre 18/10/2019 e 30/12/2020.

Redenção-CE, 12 de novembro de 2022.

Este documento pode ser validado em: https://proppg.unilab.edu.br/forms/sistemas/declaracoes/validar_declaracao com o código [56f9769]

Apêndice 4: Certificado de atuação como bolsista do Programa Residência Pedagógica RP/CAPES

	<p>Ministério da Educação - MEC Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES Setor Bancário Norte, Quadra 2, Bloco L, Lote 06 CEP 70.040-031 - Brasília, DF</p>
<p>CERTIDÃO</p>	
<p>Declaro, para os devidos fins, que o(a) Sr(a). BERNARDINO JOAQUIM CALUACO, CPF nº 093.537.501-56, atuou no RESIDÊNCIA PEDAGÓGICA (RESIDENCIA), na modalidade Residente, da Universidade/Instituto UNIVERSIDADE DA INTEGRAÇÃO INTERNACIONAL DA LUSOFONIA AFRO-BRASILEIRA, vinculado ao projeto/subprojeto UNILAB - Química - 13231 no período de Novembro de 2020 a Setembro de 2021.</p>	
<p>As bolsas do RESIDÊNCIA PEDAGÓGICA são isentas de imposto de renda de acordo com a legislação vigente (Lei nº 9.250, de 26 de dezembro de 1995, art. 26; Decreto nº 3.000, de 26 de março de 1999 - Regulamento do Imposto sobre a Renda (RIR/1999), art. 39, inciso VII; Instrução Normativa SRF nº 15, de 2001, art. 5º, inciso XVII), não caracterizando vínculo empregatício e não cabendo recolhimento de contribuição previdenciária.</p>	
<p>Brasília, 12 de Novembro de 2022.</p>	
<p>Para fins de validação e autenticação deste documento, por favor acesse http://validadocumentos.capes.gov.br/ e informe o seguinte código: 2-PSHqj02N4+</p>	
<p>- 1 / 1</p>	

Apêndice 5: Relatório final de bolsista do Programa de Monitoria PBM/UNILAB

	UNIVERSIDADE DA INTEGRAÇÃO INTERNACIONAL DA LUSOFONIA AFRO-BRASILEIRA PRÓ-REITORIA GRADUAÇÃO COORDENAÇÃO DE PROJETOS E ACOMPANHAMENTO CURRICULAR PROGRAMA DE BOLSA DE MONITORIA	
---	--	---

RELATÓRIO FINAL DE ATIVIDADES DO PROGRAMA DE BOLSA DE MONITORIA

Nome do(a) Monitor(a): **Bernardino Joaquim Caluaco**
 Nome do(a) Professor(a) Orientador(a): **Daniele Alves Ferreira**
 Instituto: **Instituto de Ciências Exatas e da Natureza – ICEN**
 Curso: **Licenciatura em Química**
 Disciplina: **Química Geral Experimental I**
 Edital nº: **19/2019**
 Modalidade da Bolsa: Remunerada Voluntária

1) Nos itens abaixo o(a) monitor(a) deve refletir e autoavaliar o Programa de Bolsa de Monitoria. Também pode apresentar sugestões, caso julgue pertinente, acerca do Programa de Bolsa de Monitoria.

a) Reflexão do(a) Monitor(a) acerca da importância de sua participação no Programa de Bolsa de Monitoria para sua formação pessoal e/ou acadêmica.

Participar do Programa de Bolsa de monitoria foi uma experiência inigualável, pois, tive a oportunidade de ter um contato mais intenso com os estudantes que ingressaram no nosso curso. Particularmente a disciplina aonde atuei como monitor possibilitou essa aproximação, pois muitos alunos nunca estiveram em um laboratório antes de ingressarem na Unilab, então foi bom ter ajudado estes estudantes a se inserirem neste novo ambiente. Pelo fato de estar num curso de formação docente, a minha participação neste programa enriqueceu a experiência de ensinar, e ajudou-me a organizar o meu calendário de estudos.

b) Autoavaliação do (a) Monitor (a) em relação ao seu desempenho no Programa de Bolsa de Monitoria.

No programa de bolsa de monitoria (PBM), foi possível levar a cabo a maioria das atividades planejadas no início do programa. Estive presente em todas as aulas da disciplina, e consegui aumentar de certa forma a minha experiência em prática laboratorial. Foi eficiente e prático na execução das atividades planejadas, obviamente que com a ajuda da professora e das técnicas do laboratório. Certamente, tornei-me útil na inserção e adaptação dos estudantes na realidade de um laboratório de química, especialmente para aqueles que nunca tiveram contato com um.

c) Sugestões para o aprimoramento do Programa de Bolsa de Monitoria.

O PBM é um programa cuja finalidade faz-se indispensável e extremamente necessária na universidade. Por este fato, com vista a aprimorá-lo, sugiro que o processo de seleção dos monitores a atuarem em cada semestre seja feito antecipadamente, ou seja, até pelo menos o primeiro mês do semestre. Pois assim, os estudantes desfrutarão da ajuda dos monitores mais cedo e num maior intervalo de tempo.

2) A seguir descreva as atividades desenvolvidas. Caso haja mais de 3 atividades, o quadro abaixo pode ser reproduzido (copiado) a fim de contemplá-las.

<p>Nome da Atividade: Acompanhar o professor durante as aulas.</p> <p>Período da atividade (Mês/Ano): Junho/2019, Julho/2019 e agosto/2019.</p> <p>Descrever o desenvolvimento da atividade: Esta atividade possui um horário fixo de efetivação: Quintas-feiras das 08h às 12h. Nesta atividade fazia-me presente no laboratório para auxiliar as duas professoras, distribuídas em distintos períodos, no ato de explicar e acompanhar as experiências feitas pelos estudantes. Embora a turma era dividida em dois grupos, um entrava no laboratório no período das 8:00h-10:00h com supervisão da profa. Dra. Mônica Regina Silva de Araújo, e o outro no período subsequente, 10:00h-12:00h, supervisionados pela profa. Dra. Daniele Alves Ferreira, ambos realizavam as mesmas experiências, rotuladas no manual guia de experiências. Em primeira instância as professoras explicavam a prática, passo a passo como orientado no rótulo, logo em seguida eu entrava em ação para auxiliar e tirar dúvidas aos estudantes ao longo da realização da prática. No final de cada prática sempre se faziam considerações finais, para que os estudantes saibam como tem sido o seu desempenho.</p>
--

Apêndice 6: Outras produções científicas do autor



**SEMANA
UNIVERSITÁRIA**

ISSN: 2447-6161



DETERMINAÇÃO DO CARÁTER ÁCIDO-BASE DE SUBSTÂNCIAS COMERCIAIS USANDO INDICADORES NATURAIS PROPOSTOS PELOS DISCENTES DE QUÍMICA GERAL EXPERIMENTAL I NO CURSO DE QUÍMICA

Bernardino Joaquim Caluaco ¹, Camila Peixoto do Valle ², Mônica Regina Silva de Araújo ³, Daniele Alves Ferreira ⁴

RESUMO

Em sua versão moderna, a teoria ácido-base de Arrhenius define um ácido como qualquer substância que pode aumentar a concentração de íons hidrônio/hidrogênio, H_3O^+ , em solução aquosa. Por outro lado, uma base é uma substância que aumenta a concentração de íons hidróxidos, OH^- , em água. A partir desta teoria, considera-se uma solução ácida aquela na qual a concentração de íons hidrogênio/hidrônio é maior do que a de íons hidróxido, e vice-versa. Para determinar o caráter ácido-base de soluções se tem a disposição dois métodos: Utilização de um instrumento denominado medidor de pH, pHmetro (potenciômetro), cujo funcionamento se baseia na condução de corrente elétrica pelos íons hidrogênio em solução; o outro método é através do uso de corantes com propriedades halocrômicas, ou seja, com capacidade de mudar de coloração em função do pH do meio, denominados indicadores ácido-base. O presente trabalho traz como abordagem o uso de indicadores naturais preparados a partir do extrato de repolho roxo e da flor papoula (*Hibiscus SP.*) para determinar o caráter ácido-base de soluções comuns no cotidiano. A substância que confere propriedade de indicador ao pigmento do repolho roxo e da flor papoula é a antocianina, solúvel em água e de cor intensa, responsável pela coloração azulada, violeta, vermelha e rosa de muitas espécies do reino vegetal. Esta substância pertence ao grupo dos flavonóides, compostos fenólicos que apresentam no seu núcleo básico, o cátion *flavilium* (cátion 2-fenilbenzopirílio). O uso destes vegetais como indicadores, é um meio alternativo para diminuir as dificuldades que se verificam em muitas pesquisas, pois os indicadores sintéticos não são de baixo custo de aquisição, muito menos o pHmetro. Os resultados obtidos foram satisfatórios, pois, através das colorações que as soluções apresentavam quando se adicionou os indicadores, observou-se a mesma variação ou bem mais próxima à evidenciada na literatura, tendo determinado assim o caráter das soluções analisadas.

PALAVRAS-CHAVE

Ácido-base. Indicadores naturais. Antocianina.

Apêndice 7: Outras produções científicas do autor



VIII SEMANA UNIVERSITÁRIA

A Universidade pós-isolamento social: desafios, expectativas e perspectivas



SCREENING VIRTUAL DE DROGAS APROVADAS PELA FDA FRENTE A PROTEASE PRINCIPAL MPRO DA COVID-19

Bernardino Joaquim Caluço*
Aluírio Marques Da Fonseca*

RESUMO

A Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS) causada pelo coronavírus (SARS-CoV-2) é uma infecção viral recente com demanda de pesquisas. Mesmo não tendo havido muitas evidências científicas e ensaios clínicos que indicassem possíveis terapias com resultados em pacientes suspeitos ou confirmados, algumas drogas (antimaláricos, antimicrobianos, corticosteroides antivirais, anticoagulantes e soro convalescente) foram usadas e estudadas durante a pandemia do Covid-19 para conter a propagação do vírus e sintomas. Neste sentido, estabeleceu-se esse projeto objetivando a realização de uma triagem virtual de 2108 medicamentos essenciais conhecidos amplamente e utilizados pela população a fim de avaliar a sua possível capacidade inibitória frente à protease principal (Mpro) do Covid-19. Os ligantes usados no screening virtual por acoplamento molecular foram todas as drogas (até a data da seleção) registradas pela FDA (Food and Drug Administration), disponíveis no repositório da biblioteca virtual (ZINC15). O screening foi realizado em associação do pacote computacional AutoDock tools, aplicando uma sequência de diferentes filtros, como da similaridade, regra de 5 de Lipinski, farmacofóricos e acoplamento, por meio do Raccoon e AutoDock Vina, com seu algoritmo de modelo genético lamarkiano (GA), combinado com a estimativa de energia baseada em grade, em conformação rígida e flexível. Cumprida a metodologia proposta, chegou-se aos resultados de energias de interação (Energia Livre de Gibbs) e aos valores de desvio médio quadrado de rotação (RMSD, "Root Mean Square Deviation") das 2108 drogas. Dentre todas, cinco drogas se mostraram promissoras para os objetivos deste projeto: Ergotamina (-9,9 Kcal.mol⁻¹/RMSD de 2,00Å), diidroergotamina (-9,8 Kcal.mol⁻¹/RMSD de 1,46Å), olisio (-9,5 Kcal.mol⁻¹/RMSD de 1,50Å), tripano blue (-9,3 Kcal.mol⁻¹/RMSD de 1,40Å), irinotecano (-9,2 Kcal.mol⁻¹/RMSD de 2,00Å). Com base nestes resultados, se pode afirmar que a Ergotamina apresentou as melhores interações com a Mpro protease da Covid-19 pelo estudo in-silico, sendo uma candidata promissora no tratamento da Covid-19.

Palavras-chave: receptor; ligante; acoplamento molecular; triagem virtual; coronavírus; covid-19.

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira - UNILAB, Instituto de Ciências Exatas e da Natureza - ICEN, Dicosita, bernardojcaluoco@aluno.unilab.edu.br
 Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira - UNILAB, Mestrado Acadêmico em Sociobiodiversidades e Tecnologias Sustentáveis - MASTS, Dicosita, aluiromf@unilab.edu.br



Oral (resumo expandido) - X ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA - 2022
ISSN: 2447-6161

Apêndice 8: Outras produções científicas do autor



VII SEMANA UNIVERSITÁRIA
CEARA - BAHIA

**DESAFIOS DA UNIVERSIDADE
EM TEMPOS DE ISOLAMENTO SOCIAL**

**MEMÓRIAS DE FORMAÇÃO: UM OLHAR SOBRE A CONSTRUÇÃO DA
IDENTIDADE PROFISSIONAL DOS DOCENTES DO ICEN/UNILAB**

**Bernardino Joaquim Caluaco¹, Sadrack Queque Cabongo², Silvério Ferreira da Silva Filho³,
Regilany Paulo Colares⁴**

Resumo: O estudo do tema proposto no presente trabalho surgiu da necessidade de reacender nos subprojetos do Programa Residência Pedagógica (PRP) as discussões sobre memórias de formação e saberes da experiência. Objetivou-se identificar aspectos da vida e da trajetória que contribuíram para formação da identidade profissional dos docentes investigados. O estudo foi desenvolvido numa abordagem qualitativa, através da revisão da literatura sobre a temática e análise dos relatos autobiográficos de três docentes do Instituto de Ciências Exatas e da Natureza - ICEN/UNILAB, compreendendo as áreas: Química, Física e pedagógicas. Após o estudo, verificou-se que aspectos da vida dos professores do ICEN como o nível de identificação/afinidade com a profissão docente desde muito cedo, os saberes da experiência adquiridos em outros contextos da vida (não apenas acadêmico), dificuldades e facilidades encontradas na relação formação-trabalho-vida, os desafios da profissão e a constante busca pela experiência, têm influenciado diretamente na construção das suas identidades profissionais.

Palavras-chave: Memórias de formação. Saberes da experiência. Identidade docente.

¹ Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Instituto de Ciências Exatas e da Natureza, e-mail: bernardinocaluaco@aluno.unilab.edu.br
² Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Instituto de Ciências Exatas e da Natureza, e-mail: kekecabongo@gmail.com
³ Escola Estadual de Ensino Profissionalizante Adolfo Ferreira de Sousa, e-mail: silverio_f.dasilvafilho@hotmail.com
⁴ Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Instituto de Ciências Exatas e da Natureza, e-mail: regilany@unilab.edu.br





Apêndice 9: Outras produções científicas do autor



ELABORAÇÃO DE UMA VÍDEO-AULA RESOLVENDO EXERCÍCIOS DE TERMOQUÍMICA: UM RELATO DE EXPERIÊNCIA

Bernardino Joaquim Caluaco¹
 Sadrack Queque Cabongo²
 Silvério Ferreira da Silva Filho³
 Regilany Paulo Colares⁴

RESUMO

O presente relato é fruto de uma atividade enquadrada na segunda unidade do módulo II do Ambiente Virtual de Aprendizagem (AVA). A atividade consistia no planejamento, produção e aplicação de uma vídeo-aula de resolução e explicação dos exercícios aplicados como prova trimestral de química da segunda série na escola campo, EEEP Adolfo Ferreira de Sousa – Redenção/CE, com o tema termoquímica. Também envolvia a elaboração e aplicação de um formulário de avaliação contendo exercícios sobre o tema trabalhado na prova e na vídeo-aula. A escolha por relatar essa experiência deve-se ao fato de ter sido uma das mais marcantes do programa, pois, é uma das poucas que envolveu contato direto (virtualmente) dos residentes com os alunos através de uma regência. Desse modo, traçou-se como objetivo relatar a experiência, apontando as principais dificuldades, os aprendizados e refletir sobre o seu papel na consolidação do aprendizado dos alunos, para assim se estabelecer parâmetros de avaliação da atuação do subprojeto de Química do PRP/Unilab na escola-campo. A dupla de residentes resolveu e explicou as questões pares (três no total) da prova, mais uma questão extra que trabalha o aspecto da contextualização do ensino. Essa atividade despertou a reflexão de muitas questões pertinentes no processo de formação de professores, como é a questão da necessidade dos professores se familiarizarem de forma efetiva com as TDICs, a questão da contextualização no ensino e a aplicação de uma abordagem pedagógica voltada para o aluno, incentivando-o a participar de forma ativa e autônoma no seu processo formativo.

Palavras-chave: Formação de professores. Ensino contextualizado. Ensino aprendizagem. Recursos tecnológicos.

¹ Graduando do Curso de Licenciatura em Química da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – CE, bernardinocaluaco@gmail.com;

² Graduando do Curso de Licenciatura em Química na Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – CE, kekecabongo@gmail.com;

³ Mestre pelo Curso de Ciências dos Materiais da Universidade Federal do Maranhão – MA, silverio_f.dasilvafilho@hotmail.com;

⁴ Doutora pelo Curso de Química da Universidade Federal do Ceará – CE, regilany@unilab.edu.br;

Apêndice 10: Outras produções científicas do autor



Congresso Internacional de Ensino e Formação Docente

A FORMAÇÃO DO PROFESSOR DE QUÍMICA E O USO DAS TICs EM SALA DE AULA

Adriano Lourenço Mendes; Bernardino Joaquim Caluaco; Izequiel Orlando Nanque; Vanderson da Silva Freire
 Estudantes do Curso de Licenciatura em Química (UNILAB)
 E-mail: adrianmendi1992@gmail.com; bernardinocaluaco@gmail.com; nizequiel@gmail.com; vanderson.silva.freire@gmail.com

Viviane Gomes Pereira Ribeiro (orientadora)
 Professora de Química do Instituto de Ciências Exatas e da Natureza-ICEN (UNILAB)
 E-mail: vivianegpribeiro@unilab.edu.br

Resumo

A disseminação das Tecnologias de Informação e Comunicação (TICs) na sociedade atual impõe ao ambiente escolar e ao trabalho docente uma reformulação das suas práticas pedagógicas atuais. Para o professor de química os desafios são ainda maiores, tendo em vista a falta de interesse dos alunos da educação básica e a dificuldade de compreensão dos conceitos científicos. Frente a isso, um dos caminhos para essa reformulação do ensino passa pela formação inicial do professor. Assim, o presente trabalho buscou investigar acerca do uso das TICs por estudantes do curso de Licenciatura em Química da UNILAB durante a realização do estágio supervisionado. Para isso, foi aplicado um questionário aberto para coletar as impressões e experiências dos alunos quanto ao uso das TICs em sala de aula. Os resultados apontaram que todos consideram importante utilizar as TICs no ensino de química/ciências na educação básica, tanto para facilitar a compreensão quanto para chamar a atenção dos alunos e diversificar as aulas. Além disso, foi observado que a maioria fez uso das TICs nas atividades na escola, por exemplo, com programas de modelagem molecular e formulários online. Por fim, observou-se que os principais desafios a serem superados são a escola oferecer os recursos necessários, bem como o professor saber lidar com as ferramentas digitais. Portanto, evidenciou-se nesta pesquisa que os futuros professores, apesar das dificuldades encontradas, já estão fazendo uso das TICs em suas aulas, apontando para novas perspectivas no processo de ensino-aprendizagem da área.

Palavras-chave: Tecnologias de informação e comunicação (TICs). Ensino de Química. Formação do professor.

