



**Universidade Federal do Pará**

**INTERAÇÕES DE CARVÃO ATIVADO, FÁRMACOS E *LIBIDIBIA FERREA*  
CONTRA O VÍRUS SARS-COV-2**

**Herica Daniele Costa Araújo**

INTERAÇÕES DE CARVÃO ATIVADO, FÁRMACOS E *LIBIDIBIA FERREA*  
CONTRA O VÍRUS SARS-COV-2

Herica Daniele Costa Araújo

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Naturais da Amazônia, ITEC, da Universidade Federal do Pará, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutora em Engenharia de Recursos Naturais.

Orientador: Prof. D.Sc. Antonio Maia de Jesus Chaves Neto (PRODERNA – ITEC).


BELÉM  
AGOSTO DE 2021

**INTERAÇÕES DE CARVÃO ATIVADO, FÁRMACOS E LIBIDIBIA  
FERRACONTRA O VÍRUS SARS-COV-2**

**HERICA DANIELE COSTA ARAÚJO**

TESE DE DOUTORADO SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO PROGRAMA DE  
PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE RECURSOS NATURAIS DA  
AMAZÔNIA (PRODERNA/ITEC) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO  
GRAU DE DOUTORA EM ENGENHARIA DE RECURSOS NATURAIS.

Aprovada por: **BANCA EXAMINADORA**



---

Prof. Dr. Antonio Maia Jesus Chaves Neto  
(PRODERNA/ITEC/UFPA - Orientador)



---

Prof. Lênio José Guerreiro de Faria  
Membro Interno (PRODERNA/ITEC/UFPA, D.Eng.)



---

Prof. Fábio Luiz Paranhos Costa  
Membro Externo (UFG, D.Sc.)



---

Prof. Dr. Rodrigo do Monte Gester  
Membro Externo (UNIFESSPA, D.Sc.)



---

Prof. Fábio Luiz Paranhos Costa  
Membro Externo (UFG, D.Sc.)

**BELÉM, PA - BRASIL**

**AGOSTO DE 2021**

A658i Araújo, Herica Daniele Costa.  
INTERAÇÕES DE CARVÃO ATIVADO,  
FÁRMACOS E *LIBIDIBIA FERREA* CONTRA O  
VÍRUS SARS-COV-2 / Herica Daniele Costa Araújo. .  
— 2021.  
111 f. : il. color.

Orientador(a): Prof. Dr. Antonio Maia de Jesus  
Chaves Neto  
Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará,  
Instituto de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação  
em Engenharia de Recursos Naturais na Amazônia,  
Belém, 2021.

1. SARS-CoV-2. 2. Carvão ativado. 3. *Libidibia  
ferrea*. 4. Docagem molecular. 5. Dinâmica  
molecular. I. Título.

CDD 620.5

---

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho à Deus, que, sempre se mostra onisciente e onisciente em minha vida.

## **AGRADECIMENTO**

Ao Prof. Dr. Antonio Maia de Jesus Chaves Neto, pela orientação e por participar como membro desta banca do doutorado. Agradeço também por toda a orientação durante a graduação, pelos momentos, perdas e conquistas que me fizeram um profissional melhor.

Ao financiamento proveniente da UFPA, Campus de Salinas.

Aos Professores Dr. Lênio, Tarciso, Fabio Paranhos e Abel Neto por participarem da banca com observações e sugestões para a tese e pelo grande apoio.

Ao PRODERNA por todo o suporte e estrutura das quais me utilizei nestes quatro anos.

Ao professor Dr. Eduardo Braga, coordenador do PRODERNA pelo auxílio constante nos trâmites administrativos.

A senhora Syglea Rejane pelo auxílio em diversos trâmites.

A todos os integrantes e ex-integrantes do grupo do Laboratório de Preparação e Computação de Nanomateriais (LPCN) que me proporcionaram grandes aprendizados e debates sobre a ciência como um todo além de muitos momentos felizes em minha vida.

Ao Tiago Arouche, pela atenção e paciência dedicados nas práticas do LPCN que tornaram possível a realização deste trabalho.

Aos professores da banca convidados, por contribuírem com sugestões nesta proposta de tese.

A minha família pelo apoio emocional nos momentos difíceis, especialmente minha avó Ivone de Oliveira.

Resumo de tese de doutorado apresentado ao PRODERNA/UFPA como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Doutora em Engenharia de Recursos Naturais (D. Eng.)

## INTERAÇÕES DE CARVÃO ATIVADO, FÁRMACOS E *LIBIDIBIA FERREA* CONTRA O VÍRUS SARS-COV-2

Herica Daniele Costa Araújo

Agosto/2021

Orientador: Antonio Maia de Jesus Chaves Neto

Área de Concentração: Transformação de Recursos Naturais

As elevadas taxas de infecção e mortalidade da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS-CoV-2) ou infecção chamada COVID-19 tem causado severos impactos sócio-econômicos mundialmente. A transmissão ocorre basicamente pelo contato com fluidos corporais. Nas vias aéreas, por spray de gotículas e/ou aerossóis suspensos no ambiente e/ou depositados em superfícies. A eficácia do uso de máscaras eficientes na contenção do contágio é uma necessidade. O presente trabalho avaliou a capacidade de adsorção dos filtros contendo carvão ativado e carvão ativado modificado durante a nanofiltragem nas máscaras com maiores eficácias. As possíveis interações entre a proteína de pico e da membrana com o carvão ativado não modificado com oxigênio e o carvão ativado modificado com oxigênio foram avaliadas por docagem molecular e dinâmica molecular. Utilizou-se os softwares Autodock Vina 4.2.6 e AMBER 16 nas simulações. Resultados dos complexos formados entre ligante-receptor tiveram a energia de afinidade, o desvio quadrado médio da raiz (RMSD) e a energia livre de Gibbs de ligação avaliados. O carvão ativado modificado com oxigênio demonstrou maior espontaneidade nas interações proteicas. E, outra frente de combate ao coronavírus foi abordada neste trabalho: o tratamento dos infectados, pois avaliou-se a ação inibitória dos princípios ativos de retrovirais conhecidos pela literatura, bem como novos compostos da flora brasileira docados com as proteínas de pico (S-pro), membrana (M-pro) e envelope (E-pro). Três fármacos (Colchicina, Nafamostato e Selinexor) e três compostos originados da *Libidibia ferrea* ou *Caesalpinia ferrea* (Ácido Elágico, Pauferrol A e Sitosterol) interagiram como ligantes. E, após a docagem, demonstrou-se graficamente as energias de afinidade mais

favoráveis dos sítios ativos estabelecidos entre ligantes e receptores. A docagem foi realizada por meio do servidor SwissDock. As interações dos ligantes Pauferrol A e Colchicina com as proteínas contidas na superfície viral apresentaram destaque por estabelecerem melhores afinidades energéticas.

Palavras-chave: SARS-CoV-2, Carvão ativado, *Libidibia ferrea*, Docagem molecular, Dinâmica molecular.



Abstract of thesis presented to PRODERNA/UFPA as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Natural Resources Engineering (D.Eng.)

INTERACTIONS OF ACTIVATED CARBON, DRUGS AND *LIBIDIBIA FERREA*  
AGAINST SARS-COV-2 VIRUS

Herica Daniele Costa Araújo

Advisor: Antonio Maia de Jesus Chaves Neto

Research Area: Transformation of Natural Resources

The high rates of infection and mortality from Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS-CoV-2) or COVID-19 infection has caused severe socio-economic impacts worldwide. Transmission basically occurs through contact with bodily fluids. In the airways, by spraying droplets and/or aerosols suspended in the environment and/or deposited on surfaces. The effectiveness of using effective masks to contain contagion is a necessity. The present work evaluated the adsorption capacity of filters containing activated carbon and modified activated carbon during nanofiltration in masks with greater efficiency. The possible interactions between Spike (S) and membrane (M) proteins with activated carbon oxygen non-modified and activated carbon oxygen modified were evaluated by docking and molecular dynamics. Autodock Vina 4.2.6 and AMBER 16 software were used in the simulations. Results of the formed ligand-receptor complexes had the affinity energy, the root-mean-square deviation (RMSD) and the Gibbs free energy of binding evaluated. Activated carbon oxygen modified showed greater spontaneity in protein interactions. And, another front to combat the coronavirus was addressed in this work: the treatment of the infected, as evaluations of the inhibitory action of the active principles of retroviral drugs known in the literature, as well as new compounds from the Brazilian Amazon flora were docked with proteins S, M and envelope (E). Three drugs (Colchicine, Nafamostat and Selinexor) and three compounds originated from *Libidibia ferrea* or *Caesalpinia ferrea* (Elagic Acid, Pauferrol A and Sitosterol) interacted as ligands. And, after docking, the most favorable affinity energies of the active sites established between ligands and receptors were graphically demonstrated. The docking was carried out through the SwissDock server. The interactions of the ligands Pauferrol A and Colchicine on the proteins contained in the viral surface were highlighted.

Keywords: SARS-COV-2, Activated carbon, *Libidibia ferrea*, Molecular Docking, Molecular Dynamics.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 3.1: ESTRUTURA DO SARS-COV-2. ....	21
FIGURA 3.2: PROCESSO DE TRANSMISSÃO (I) - VIA ROMPIMENTO DA MEMBRANA CITOPLASMÁTICA.....	27
FIGURA 3.3: PROCESSO DE TRANSMISSÃO (II) – VIA FUSÃO COM MEMBRANAS ENDOSSÔMICAS. ....	28
FIGURA 3.4: ESQUEMA REPRESENTATIVO DAS FORÇAS SOBRE O SARS-COV-2 EM ESCALA DE PH A) ÁCIDO, B) NEUTRO E C) BÁSICO, RESPECTIVAMENTE.....	37
FIGURA 4.1: ESTRUTURA MOLECULAR EM 3-D: A) M-PRO E B) S-PRO. ....	47
FIGURA 4.2: ESTRUTURA MOLECULAR DO CARVÃO ATIVADO: A) NÃO-MODIFICADO COM OXIGÊNIO (CANMO) E B) MODIFICADO COM OXIGÊNIO (CAMO) .....	48
FIGURA 4.3: ESTRUTURAS DOS RECEPTORES: A) E-PRO, B) M-PRO E C) S-PRO.....	56
FIGURA 4.4: LIGANTES: (A) COLCHICINA, (B) ÁCIDO ELÁGICO, (C) NAFAMOSTATO, (D) PAUFERROL A, (E) SELINEXOR E (F) SITOSTEROL.....	57
FIGURA 5.1: CANMO INTERAGINDO COM M-PRO.....	60
FIGURA 5.2: CANMO INTERAGINDO COM S-PRO.....	61
FIGURA 5.3: CAMO INTERAGINDO COM M-PRO.....	62
FIGURA 5.4: CAMO INTERAGINDO COM S-PRO.....	62
FIGURA 5.5: RMSD VERSUS TEMPO PARA CANMO COM M-PRO.....	70
FIGURA 5.6: RMSD VERSUS TEMPO PARA CANMO COM S-PRO.....	70
FIGURA 5.7: RMSD VERSUS TEMPO DO CARVÃO CAMO COM M-PRO.....	71
FIGURA 5.8: RMSD VERSUS TEMPO DO CARVÃO CAMO COM S-PRO.....	71
FIGURA 5.9: DOCAGEM MOLECULAR ENTRE E-PRO E A COLCHICINA.....	75
FIGURA 5.10: DOCAGEM MOLECULAR ENTRE E-PRO E O ÁCIDO ELÁGICO.....	76
FIGURA 5.11: DOCAGEM MOLECULAR ENTRE E-PRO E NAFAMOSTATO.....	76
FIGURA 5.12: DOCAGEM MOLECULAR ENTRE E-PRO E O PAUFERROL A.....	77
FIGURA 5.13: DOCAGEM MOLECULAR ENTRE E-PRO E O SELINEXOR.....	77
FIGURA 5.14: DOCAGEM MOLECULAR ENTRE E-PRO E O SITOSTEROL.....	78
FIGURA 5.15: DOCAGEM MOLECULAR ENTRE M-PRO E A COLCHICINA.....	80

FIGURA 5.16: DOCAGEM MOLECULAR ENTRE M-PRO E O ÁCIDO ELÁGICO.....	80
FIGURA 5.17: DOCAGEM MOLECULAR ENTRE M-PRO E O NAFAMOSTATO. ....	81
FIGURA 5.18: DOCAGEM MOLECULAR ENTRE M-PRO E PAUFERROL A. ....	81
FIGURA 5.19: DOCAGEM MOLECULAR ENTRE M-PRO E SELINEXOR. ....	82
FIGURA 5.20: DOCAGEM MOLECULAR ENTRE M-PRO E SITOSTEROL. ....	82
FIGURA 5.21: DOCAGEM MOLECULAR ENTRE S-PRO E COLCHICINA. ....	85
FIGURA 5.22: DOCAGEM MOLECULAR ENTRE S-PRO E ÁCIDO ELÁGICO.....	85
FIGURA 5.23: DOCAGEM MOLECULAR ENTRE S-PRO E NAFAMOSTATO. ....	86
FIGURA 5.24: DOCAGEM MOLECULAR ENTRE S-PRO E PAUFERROL A.....	86
FIGURA 5.25: DOCAGEM MOLECULAR ENTRE S-PRO E SELINEXOR. ....	87
FIGURA 5.26: DOCAGEM MOLECULAR ENTRE S-PRO E SITOSTEROL.....	87
FIGURA 5.27: ENERGIA DE AFINIDADE DOS LIGANTES-RECEPTORES OBTIDA PELA DOCAGEM MOLECULAR .....	88

## LISTA DE TABELAS

TABELA 5.1: M-PRO COM CANMO. ....	64
TABELA 5.2: M-PRO COM CAMO. ....	65
TABELA 5.3: S-PRO COM CANMO. ....	66
TABELA 5.4: S-PRO COM CAMO. ....	67
TABELAS 5.5: ENERGIAS DE LIGAÇÃO LIVRE PARA PROTEASES DO SARS-COV-2 COM CANMO E CAMO PELO MÉTODO MM-PBGB/SA. ....	73

## LISTA DE ABREVIACES

ACE2	Angiotensina Convertase Enzima 2
CAMO	Carvão ativado modificado com oxigênio
CANMO	Carvão ativado não-modificado com oxigênio
DFT	Teoria do Funcional da Densidade
EA	Energia Afinidade
EEL	Campo de força eletrostático
E-pro	Proteína E
EVDW	Energia de Van Der Walls
GB	Generalized Born
HF	Método Hartree e Fock
MM	Mecânica Molecular
M-pro	Proteína Matriz ou proteína M
PB	Poisson - Boltzmann
PME	Malha de Partículas de Ewald
RMSD	Desvio Quadrado Médio da Raiz
SA	rea superficial
SARS-CoV-2	Síndrome Respiratória Aguda Grave
S-pro	Proteína de pico, ou Glicoproteína S ou proteína S

# Sumário

<b>1</b>	<b>Introdução.....</b>	<b>16</b>
<b>2</b>	<b>Objetivos .....</b>	<b>20</b>
2.1	Objetivo geral .....	20
2.2	Objetivo específicos .....	20
<b>3</b>	<b>Revisão da Literatura .....</b>	<b>21</b>
<b>3.1</b>	<b>SARS-CoV-2.....</b>	<b>21</b>
3.1.1	A Proteína de pico ou Glicoproteína de pico (S-pro).....	22
3.1.2	Proteína da membrana ou matriz (M-pro).....	23
3.1.3	Proteína Envelope (E-pro).....	24
3.1.4	Proteína nucleopósido (N-pro) .....	25
3.1.5	Mecanismo de transmissão do vírus.....	26
<b>3.2</b>	<b>Prevenção: uso de máscaras faciais/respiradores.....</b>	<b>29</b>
<b>3.3</b>	<b>Carvão ativado e adsorção .....</b>	<b>30</b>
<b>3.4</b>	<b>Adsorção do SARS-CoV-2 com superfícies.....</b>	<b>34</b>
<b>3.5</b>	<b>Tratamento: inibidores contra o SARS-CoV-2.....</b>	<b>39</b>
<b>3.6</b>	<b>Teoria do Funcional da Densidade (DFT) .....</b>	<b>40</b>
<b>3.7</b>	<b>Método de Hartree e Fock (HF) .....</b>	<b>41</b>
<b>3.8</b>	<b>Docagem molecular .....</b>	<b>41</b>
<b>3.9</b>	<b>Dinâmica molecular.....</b>	<b>42</b>
3.9.1	Propriedades termodinâmicas calculadas .....	45
<b>4</b>	<b>Metodologia da pesquisa.....</b>	<b>47</b>
4.1	Preparação para simulação: Interação entre proteínas do SARS-CoV-2 e carvão ativado .....	47
4.2	Docagem molecular: Interação entre proteínas do SARS-CoV-2 e carvão ativado	48
4.3	Dinâmica molecular: Interação entre proteínas do SARS-CoV-2 e carvão ativado .....	51
4.3.1	Desvio Quadrado Médio da Raiz (RMSD) .....	53
4.3.2	Energia Livre de Gibbs .....	54
4.4	Preparação para simulação: Interação entre proteínas do SARS-CoV-2 e fármacos e componentes da Libidibia ferrea .....	56

4.5 Docagem molecular: Interação entre proteases do SARS-CoV-2 e fármacos e componentes da Libidibia férrea.....	57
<b>5 Resultados e discussão .....</b>	<b>59</b>
5.1 Análise da docagem molecular: interação entre as proteínas do SARS-CoV-2 e o carvão ativado .....	59
5.2 Análise de dinâmica molecular e RMSD: interação entre as proteínas do SARS-CoV-2 e o carvão ativado .....	69
5.3 Análise de energia livre de Gibbs: interação entre as proteínas do SARS-CoV-2 com o carvão ativado .....	72
5.4 Docagem molecular: interação entre proteínas do SARS-CoV-2 com fármacos e componentes da Libidibia ferrea .....	74
5.4.1 Análise de docagem molecular para E-pro: interação entre proteínas do SARS-CoV-2 com fármacos e componentes da Libidibia ferrea .....	74
5.4.2 Análise de docagem molecular para M-pro: interação entre proteínas do SARS-CoV-2 com fármacos e componentes da Libidibia ferrea .....	78
5.4.3 Análise de docagem molecular para S-pro: interação entre proteínas do SARS-CoV-2 com fármacos e componentes da Libidibia ferrea .....	83
5.4.4 Energia de afinidade: interação entre proteínas do SARS-CoV-2 com fármacos e componentes da Libidibia ferrea .....	88
<b>6 Conclusões.....</b>	<b>89</b>
<b>Referências.....</b>	<b>91</b>

# 1 Introdução

A eclosão da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS-CoV-2), ou COVID-19 ou coronavírus em Wuhan, China, no final do ano de 2019, atingiu proporções globais muito rapidamente, e, segundo o site independente (<https://www.worldometers.info/coronavirus/#countries>) são aproximadamente 5,38 milhões de óbitos causados pelo novo vírus. A taxa de mortalidade no ápice da pandemia atingiu 4,01% (LI *et al.*, 2020), impactando sócio-economicamente o mundo também.

O primeiro surto de infecção por (SARS-CoV) em proporções consideráveis ocorreu em 2002. Desde então, ocorreu a síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV) em 2012, e, recentemente pelo novo coronavírus relacionado à SARS-CoV-2 em 2019 (MANFREDONIA *et al.*, 2020).

CUI *et al.* (2019) classificam, de acordo com o Comitê Internacional de Taxonomia, o Coronavírus como membro da subfamília *Corona virinae*, da família Coronaviridae, e da ordem dos *Nidovirales*. Esta subfamília consiste em quatro gêneros: alphacoronavirus, betacoronavirus, gammacoronavirus e deltacoronavirus. Os alfacoronavírus e betacoronavírus infectam apenas mamíferos. Já os gammacoronavírus e deltacoronavírus contaminam principalmente aves, podendo atingir mamíferos também.

Os alfacoronavírus e betacoronavírus geralmente causam síndromes respiratórias graves em humanos e gastroenterite em animais. Os humanos podem ser contaminados por outros quatro coronavírus (HCoV-NL63, HCoV-229E, HCoV-OC43 e HKU1) que são considerados endêmicos, e causam doenças respiratórias superiores leves em hospedeiros imunocompetentes (bebês, crianças pequenas e idosos), com risco de gravidade (CUI *et al.*, 2019, ZAKI *et al.*, 2012).

Animais domésticos e selvagens podem ser hospedeiros intermediários. Identificou-se a presença de SARS-CoV primeiramente em pangolins, cavalos e civetas, apontados como transmissores do vírus aos humanos, pois, esses animais seriam infectados por morcegos, que são os portadores naturais do SARS-CoV (CUI *et al.*, 2019). Dentre os animais hospedeiros intermediários, pode-se citar gatos, hamsters dourados e furões (SHI, *et al.*, 2020, SIA *et al.*, 2020).

O período de incubação médio é estimado por BACKER *et al.* (2020) em torno de 6,4 dias, embora possa variar de 2,1 a 15,5, o que justificaria a quarentena. Os dados



publicados por LAUER *et al.* (2020) indicam média de 5,1 dias, com oscilações entre 4,5 e 15,6, o que corrobora a referência anterior.

Durante o período de incubação, conforme TANG *et al.* (2020) afirmam que ocorre a replicação viral nas células vivas dos hospedeiros, e, também ocorre a transmissão entre humanos pelo contato (KILLINGLEY e NGUYEN, 2013) com fluidos corporais: saliva (ABE e INCHAUSPE, 1991), sêmen (TANG *et al.*, 2020), fluido vaginal (TANG *et al.*, 2020), muco anal (ROYCE *et al.*, 1997), aéreo (ISMAIL *et al.*, 2020), sangue de insetos hematófagos (LIU *et al.*, 2017), resíduos de comida contendo fluidos (ACHESON e FIORE, 2004), sangue (WARD *et al.*, 1988), mulheres grávidas aos seus filhos recém-nascidos (TANG *et al.*, 2020) ou até mesmo contato com superfícies (JOONAKI *et al.*, 2020) contendo biofluidos.

O vírus é eliminado por meio de biofluidos (saliva e urina), além das fezes. Esses meios bioativos quando expostos aos ambientes circundantes tornam o vírus adequado para se propagar pelo ar e pelas superfícies (ZHU *et al.*, 2020; PRADHAN *et al.*, 2020).

Não há necessidade de contato entre os corpos de forma tátil para ocorrer contágio, pois as vias aéreas são a forma mais comum. A disseminação do vírus se dá por dispersão de spray de gotículas contaminadas, que se propagam a curto alcance e/ou a distâncias mais elevadas, através dos aerossóis, denominada de transmissão aerotransportada (ISMAIL *et al.*, 2020).

Dessa forma, a transmissão pode ser retardada/interrompida por maiores cuidados preventivos. A base da prevenção é a principal atitude contra o espalhamento do vírus, iniciada com a prática rotineira de higienização das mãos, uso de equipamento de proteção pessoal (EPP), como máscara adequada, protetor ocular/facial, batas, luvas e etc., além da desinfecção de superfícies (PRADHAN *et al.*, 2020, TANG *et al.*, 2020 ).

A principal dificuldade de contenção da infecção aérea é controlar a propagação de gotículas e/ou aerossóis oriundos de tosse ou espirros (COWLING *et al.*, 2013). Dessa forma, a nanofiltragem surge como uma barreira físico-química indispensável para o isolamento do vírus.

As gotículas, apresentam tamanho médio de 5 a 10  $\mu\text{m}$  que são aspergidas e são capazes de se propagar pelo ar ou aderir às superfícies dos objetos inanimados ou sobre a pele das pessoas, e os aerossóis, são resultado da evaporação de parte do biofluido líquido, atingindo tamanho médio de 0,1 a 2,5  $\mu\text{m}$  (KOHANSKI *et al.*, 2020, NAZAROFF, 2004).

As máscaras classificadas com as melhores eficiências de filtragem, funcionam basicamente sob o princípio da adsorção durante a passagem das correntes de entrada de ar, e, no sentido contrário, ou seja, na saída do ar. Muitas máscaras com melhores eficiências utilizam filtros a base de carvão ativado.

Uma definição simplória sobre a adsorção é defini-la como um processo interativo fraco ou intenso, dependendo da intensidade das forças intermoleculares pertinentes durante a interação estabelecida entre adsorvente e adsorbato. E, nesse sentido, um dos principais escopos do presente trabalho, é avaliar a espontaneidade energética no ato da modelagem da adsorção *in silico* do carvão ativado com o vírus SARS-CoV-2, proposta no presente trabalho; e, uma modificação ao modelo do carvão ativado com ozônio descrita por LOTA *et al.* (2016) é, então apresentada.

A aplicação direta do ozônio é destacada por MORISSON *et al.* (2021) no tratamento de água para uso doméstico, no processamento de alimentos, na lavanderia, na odontologia e na medicina. No entanto, o mecanismo de inativação de vírus, e, especificamente, o COVID-19, ainda não tenha sido aprofundado pela literatura.

O atual quadro da pandemia de coronavírus exige que o protocolo de combate se estenda não apenas à profilaxia, mas ao tratamento com medicamentos, e, nesse sentido, os fármacos já utilizados para outros fins medicinais são adaptados contra o COVID-19. Além dessas drogas, o investimento em substâncias inovadoras derivadas da flora nacional também têm recebido atenção dos cientistas. E, a simulação aparece como uma saída de emergência na mitigação dos impactos causados pelo SARS-CoV-2.

Nesse sentido, a proposta de XU *et al.*, (2021) do uso de triagem dos medicamentos com ação sobre as proteínas virais ou hospedeiras envolvidas no ciclo de reprodução viral pode ser útil como uma abordagem rápida e eficaz para combater esta infecção letal. Essa estratégia de reaproveitamento oferece diversas vantagens sobre a descoberta de novos medicamentos, incluindo um processo de desenvolvimento menos demorado, custos e riscos reduzidos.

O presente trabalho testou *in silico* três fármacos já conhecidos: Colchicina, Nafamostato e Selinexor interagindo com as proteínas de pico (S-pro), Matriz (M-pro) e Envelope (E-pro) do SARS-CoV-2. Destacou-se o comportamento interativo dos complexos formados entre os mesmos, sendo abordados em função da energética de afinidade estabelecida nestes complexos. E, além da triagem descrita, três componentes de origem fitoterápica brasileira foram testados: Ácido Elágico, Pauferrol A e Sitosterol,

derivados da *Libidibia ferrea* ou *Ceasalpinia ferrea*, conhecida popularmente como “jucá”, interagiram com as mesmas proteínas do coronavírus que os testes realizados com fármacos .

## 2 Objetivos

### 2.1 Objetivo geral

Avaliar o potencial de interação do SARS-CoV-2 com o carvão ativado e carvão ativado modificado, fármacos e compostos extraídos da *Libidibia ferrea* (ou *Ceasalpinia ferrea*).

### 2.2 Objetivos específicos

- Determinar o sítio ativo de interação entre as proteínas S-pro e M-pro do SARS-CoV-2, ao interagirem com o carvão ativado não modificado com oxigênio (CANMO) e com o carvão ativado modificado com oxigênio (CAMO) através da docagem molecular, por meio do software Autodock Vina (MORRIS *et al.*, 2009).
- Aplicar dinâmica molecular aos quatro complexos formados após a docagem (proteína M-CANMO, proteína S-CANMO, proteína M-CAMO, proteína S-CAMO), por meio do Software AMBER16 (SALOMON-FERRER *et al.*, 2013, CASE *et al.*, 2005);
- Indicar por meio do RMSD e da Energia Livre de Gibbs da ligação o complexo (receptor/ligante) mais favorável ao processo de adsorção;
- Realizar docagem com o software SwissDock entre as S-pro, M-pro e E-pro do SARS-CoV-2, com três fármacos: Colchicina, Nafamostato e Selinexor, e três compostos da *Libidibia ferrea*: Ácido Elágico, Pauferrol A e Sitosterol;
- Determinar o sítio ativo e a energia de afinidade pela docagem interativa por meio do software SwissDock (GROSDIDIER *et al.*, 2009 GROSDIDIER *et al.*, 2011).

## 3 Revisão da Literatura

### 3.1 SARS-CoV-2

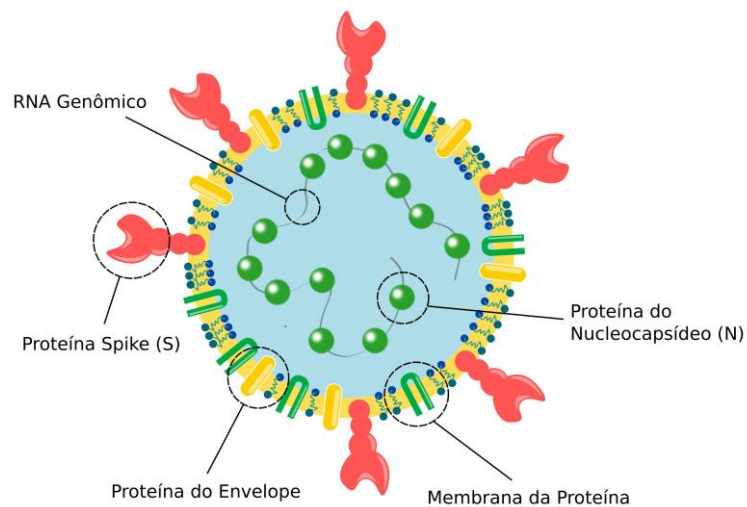
Robert Chanock, em 1965, identificou a cultura de vírus, e, com o decorrer do tempo, se identificou diferentes cepas do vírus como SARS-CoV em 2002-2003, H-CoV NL63 em 2004, HKU1 em 2005, MERS-CoV em 2012, e SARS-CoV-2 em 2019 (PRADHAN *et al.*, 2020).

O RNA do SARS-CoV-2 possui 96% de similaridade com o genoma do coronavírus de morcego (RaTG13), 76% com o SARS-CoV e cerca de 50% com o MERS-CoV; (RASTOGI *et al.*, 2020, HU *et al.*, 2021).

Dois terços do genoma do RNA viral são formados por ORF1a/b, é composta por duas poliproteínas: pp1a (Nsp1-Nsp11) e pp1ab (Nsp1-Nsp16) que codificam a maioria das proteínas não estruturais (nps). O restante do genoma age sobre as proteínas auxiliares e quatro proteínas essenciais estruturais: a S-pro, E-pro, M-pro e a nucleocapsídeo (N-pro). A S-pro, conjugada ao RNA viral e ao Nsp1-Nsp 16 da N-pro, favorecem a replicação do vírus nas células hospedeiras (KANG *et al.*, 2020, KHAN *et al.*, 2021, THOMAS, 2020). A figura 3.1 representa a estrutura proteica do SARS-CoV-2.

Quando este vírus é exposto a diferentes condições de temperatura, ocorrem interações iniciais da atmosfera com as proteínas estruturais (DE WIT *et al.* 2016, DUBEY *et al.* 2013).

Figura 3.1: Estrutura do SARS-CoV-2.



Fonte: Adaptado de TANG *et al.*, 2020, MARIANO *et al.*, 2020.

O tamanho do genoma, de acordo com WU *et al.* (2020) do SARS-CoV-2 é de 29,9 kb, assemelhando-se ao do SARS-CoV e do MERS-CoV, que conforme DE WIT *et al.* (2016) é de 27,9 kb e 30,1 kb respectivamente. O tamanho médio do SARS-CoV-2 varia entre 60 a 140 nm. Cada uma das proteínas desempenha funções específicas em relação a ligação com o receptor, montagem viral e liberação de seu genoma no hospedeiro (PREETI *et al.*, 2020).

A disponibilidade dessas proteases nas células-alvo determina em grande parte se os coronavírus entram nas células através da membrana plasmática (LUO *et al.*, 2018). Considerando também que a propagação da doença COVID-19 sem dúvida originou diversas pesquisas computacionais sobre estas estruturas, gerando a ausência de visão consensual sobre a flexibilidade real da estrutura e sobre o sítio ativo efetivo apoiadas em estudos de simulações independentes (SU, *et al.*, 2020).

A chamada protease principal (PILLAIYAR *et al.*, 2016) ou M-pro catalisa a maioria dos eventos de clivagem de maturação. Assim, o M-pro é uma enzima essencial para a replicação viral e é um dos alvos de drogas mais bem caracterizadas entre os coronavírus. A alta homologia mostrada por M-pro em diferentes coronavírus sugere que esta família de enzimas exibe propriedades bioquímicas e biofísicas quase idênticas (MIRZA *et al.*, 2020, REN, *et al.*, 2013).

### 3.1.1 A Proteína de Pico ou Glicoproteína de Pico (S-pro)

É uma estrutura grande, com comprimento em torno de 9 a 12 nm (FUENTES-ACOSTA, 2021; ZHU, 2020), está presente na superfície viral, ligada a membrana citoplasmática, com aspecto de trímero proeminente, sendo cada ectodomínio monomérico composto pelos domínios S1 e S2 (GIOIA *et al.*, 2020, GLOWACKA, *et al.*, 2011, FUENTES-ACOSTA, 2021; ZHU, 2020).

CHAMBERS *et al.* (2020) afirmam que a S-pro é formada por aproximadamente 1.300 aminoácidos, sendo o componente estrutural que proporciona aparência semelhante a uma coroa, de onde deriva o nome coronavirus. A organização funcional da S-pro é semelhante à proteínas de vírus como hemaglutinina da influenza, e a E-pro da imunodeficiência humana (HIV).

É a proteína com maior potencial de interação do vírus, constituída por dois domínios: S1 e S2. O domínio S1 facilita a ligação ou adesão primária às células do

receptor. O domínio S2 é responsável pela fusão da membrana viral à célula do hospedeiro (CHAMBERS *et al.*, 2020, MARIANO, *et al.*, 2020, ARUN *et al.*, 2020, CHOU, 2009, MOSHFEGH, 2021, BELOUZARD *et al.*, 2009, ELFIKY, 2020, SIMMONS, 2013).

MARIANO *et al.*, (2020) esclarecem que a S-pro tornou-se um alvo importante para o desenvolvimento de medicamentos e vacinas. Na verdade, desde a emergência repentina de SARS-CoV-2, numerosos estudos relataram a estrutura da S-pro em vários estados (pré-fusão, pós-fusão e / ou em complexo com ACE2).

MARIANO *et al.* (2020) atribuem a atividade das proteases da célula hospedeira, que clivam e ativam a S-pro do SARS-CoV, tornando a reação essencial para a infecciosidade viral. No entanto, as identidades das proteases envolvidas não sejam completamente esclarecidas. Estudos pioneiros identificaram catepsinas e proteases de serina transmembrana tipo II (TMPRSS2) como ativadores celulares de SARS-CoV e demonstraram que vários vírus emergentes podem explorar essas enzimas para promover sua disseminação.

### 3.1.2 Proteína da Membrana ou Matriz (M-pro)

MAHTARIN *et al.* (2020) definem a M-pro como sendo um importante componente, pois desempenha um papel destacável no tamanho, na forma e na manutenção do vírus. Auxilia na formação de outras estruturas proteicas: S-pro, E-pro e N-pro e participa do processo de brotação. O Coronavírus forma complexos, que apresentam um comportamento de vírus como partícula (VLP) através da interação de M-pro e E-pro ou M-pro e N-pro, e a combinação é obrigatória para organização do VLP, bem como seu transporte e liberação. Além disso, a interação M-pro e S-pro auxilia na fixação da S-pro ao vírus.

Além disso, a M-pro como outras proteínas virais, exibe autoassociação, bem como interação com outras proteínas não estruturais também. Essas interações proteína-proteína podem desempenhar um papel significativo no processamento, modificação e tráfego das proteínas estruturais virais para organização e saída de partículas virais. Então, o esquema estrutural interno crítico da proteína M-SARS-CoV-2 moldam a base da direção de desenvolvimento de drogas baseadas na atuação sob a estrutura desta proteína (MAHTARIN *et al.*, 2020).

THOMAS (2020) ressalta ainda, que a M-pro é a mais abundante dos coronavirus, a glicoproteína de dupla camada lipídica, com um domínio do terminal NH<sub>2</sub> curto fora do

vírus e um terminal COOH longo (domínio citoplasmático) dentro do vírus. A M-pro pode se ligar a todas outras estruturas proteicas. A relação entre a M-pro com a N-pro é auxiliar na estabilidade desta última, pois controla a montagem e estabilização do complexo de proteínas do N-RNA, dentro do vírus. Como a M-pro opera em conjunto com a S-pro, as mutações ocorridas na mesma podem influenciar a fixação da célula hospedeira e na entrada do vírus.

MARIANO *et al.* (2020) descrevem a importância da M-pro por esta compor a membrana do vírus, através de três transmembranas em formato helicoidal. Seu papel é conduzir a estruturação de novos vírus dentro das células hospedeiras. A M-pro do coronavírus se oligomeriza intermediariamente ao Complexo Intermediário do Retículo Endoplasmático de Golgi (ERGIC) e induz à apoptose. As S-pro, N-pro e E-pro são, então, recrutadas por meio da interação com a M-pro. Desse modo, considera-se que a M-pro atua como um estrutura de sustentação que organiza outras proteínas estruturais e promove a curvatura da membrana durante o brotamento do vírus.

REN *et al.*, 2020 apresentam que apoptose é um tipo predominante de morte celular programada, sendo um mecanismo de defesa do sistema imunológico do hospedeiro, pois controla a infecção viral e regula a resposta inflamatória. Após os resultados obtidos, observa-se que a proteína acessória codificada por SARS-CoV-2 ORF3a apresenta atividade pró-apoptótica.

### 3.1.3 Proteína Envelope (E-pro)

SCHOEMAN e FIELDING (2019) explicam que a E-pro é uma pequena proteína de membrana integral envolvida em vários aspectos do ciclo de vida do vírus: formação, brotamento, envelopamento e patogênese. A análise topográfica estrutural de superfície demonstrou que a mesma opera como um poro na membrana do vírus, canalizando íons e interagindo com as demais estruturas que compõem o vírus e as células hospedeiras. BIANCHI *et al.* (2020) concluem, ainda, que o SARS-CoV-2 apresenta 91% de identidade na sequência proteica com o SARS-CoV-1.

E, conforme MARIANO *et al.* (2020) que identifica que a proteína E apresenta em sua constituição uma transmembrana de domínio (TMD), capaz de oligomerizar outras proteínas, interagir com outras estruturas E, formando um canal iônico. Realiza interação por meio do terminal C com outra E-pro, além de interagir com a M-pro servindo de intermédio com o Retículo endoplasmático de Golgi, chamado de ERGIC,



iniciando assim o brotamento dos vírus nas células hospedeiras (SCHOEMAN e FIELDING, 2019).

A ação da E-pro, durante o ciclo de replicação viral, necessita que E-pro esteja presente em abundância no interior da célula do infectado, embora uma pequena porção é incorporada ao envelopamento do vírus. A maioria da proteína é encontrada no tráfego intracelular, por meio do ERGIC, onde participa da formação e do brotamento do vírus. Estudos demonstraram que quantidades reduzidas de E-pro nos vírus prejudica a maturação viral prejudicada, ou seja, impede o espalhamento viral, provando a importância de E na produção e maturação do vírus (SCHOEMAN e FIELDING, 2019).

A E-pro é uma proteína de membrana curta e integral de 76-109 aminoácidos, variando de 8,4 a 12 kDa de tamanho. A estrutura primária e secundária revela que E tem um terminal amino hidrofílico (terminal N), carregado negativamente, curto, constituído por 7 a 12 aminoácidos, seguido por um grande domínio transmembranar hidrofóbico (TMD) extremamente hidrofóbico, composto por 25 aminoácidos e uma segunda extremidade, formada por carboxila longa (terminal C), de carga variável, e característica hidrofílica/hidrofóbica, dependendo da carga momentânea, que compreende a maior parte da proteína (SCHOEMAN e FIELDING, 2019).

CABRERA-GARCIA *et al.* (2021) analisaram o comportamento da membrana plasmática da E-pro do SARS-CoV-2 na membrana citoplasmática, e, estimularam o transporte de cátions por meio de corrente elétrica, variando então o pH do meio. E, os resultados sugerem que a E-pro forma um canal iônico permeável à cátions monovalentes:  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cs}^+$  e  $\text{K}^+$ . O pH ao qual a E-pro foi exposta, variou devido a variação da corrente. E, observou-se que em pH variando entre 6,0 e 7,4, a E-pro se torna ativa, enquanto em pH entre 8,0 a 9,0, a atividade de E é reduzida. Dessa forma, fatores eletrofisiológicos, podem se comportar como inibidores da E-pro, *in vitro*, sendo potenciais no tratamento contra o SARS-CoV-2.

#### 3.1.4 Proteína Nucleopsídio (N-pro)

GAO *et al.* (2021) destacam que a N-pro do coronavírus é uma proteína estrutural do vírus importante, detectando-se em maior abundância nas células infectadas pelo vírus, além de interagir com as proteínas das células do hospedeiro, é provado ser uma proteína geneticamente estável, e conforme WU *et al.* (2020) apresenta 89,1% de similaridade com os nucleotídeos do SARS-CoV que possui histórico de recombinação genômica.

KANG *et al.* (2020) definem a N-pro como multifuncional e que possui ligação com o RNA viral, pois participa da formação de ribonucleoproteínas essenciais helicoidais, atuantes durante o empacotamento do genoma do RNA, regulando e ordenando a síntese de replicação/transcrição do RNA do vírus, interferindo no metabolismo das células hospedeiras e contribuindo para a apoptose.

As funções da N-pro são ressaltadas por GAO *et al.* (2021), como promotora do empacotamento do genoma encapsulado, favorecendo a replicação viral, atuando sobre o transporte intracelular de proteínas, interfere na decodificação do DNA do hospedeiro, causando degradação do mesmo e, segundo CUI *et al.* (2019) restringe as respostas do sistema imunológico do hospedeiro.

A sequência completa da N-pro é apresentada conforme GAO *et al.* (2021) como composta por 419 aminoácidos que apresentam similaridade de 91% com as proteínas SARS-CoV e de 49% com MERS-CoV; peso molecular de 45,6 kDa, carregado positivamente; concentrando-se em 69,6% no núcleo, além de se distribuir também nas subunidades: citoplasmática (21,7%), citoesquelético (4,3%) e vesículas do sistema secretor (4,3%).

A organização estrutural básica da N-pro do SARS-CoV, é proposta por CASCARINA e ROSS (2020) como consistindo em dois domínios principais estruturados: o NTD e o CTD, separados por um meio ligante, denominado SR, e as extremidades são formadas por estruturas desordenadas. O NTD é o principal responsável pela ligação ao RNA, embora todas as estruturas sejam capazes de se ligar ao RNA, elevando a afinidade com o RNA. A extremidade conectada ao NTD é o meio K, e o terminal C- é vinculado ao CTD.

O domínio do terminal-N de ligação (NTD) é responsável principalmente por realizar as ligações com o RNA, o Domínio de Terminal- C de dimerização (CTD) pela oligomerização e o meio central SER/ARG (SR) por fosforilação primária, respectivamente (KANG *et al.*, 2020).

### 3.1.5 Mecanismo de transmissão do vírus

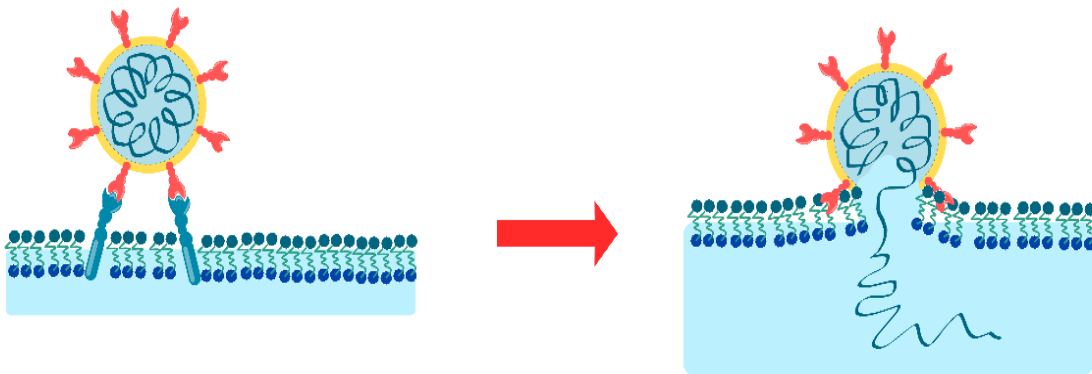
O principal ponto de entrada do vírus nas células é a Angiotensina Convertase Enzima 2 (ACE2). Ela está localizada na superfície das células da mucosa nasal, brônquio, pulmão, coração, esôfago, rim, estômago, bexiga e íleo, então todos esses

órgãos são suscetíveis ao SARS-CoV-2. ACE2 é a principal receptora da S-pro do SARS-CoV-2 (MOSHFEGH, 2021, FEKRAZAD, 2020).

O SARS-CoV-2 tem uma afinidade de 10 a 20 vezes maior ao receptor ACE2 do que o SARS-CoV, o que pode estar, em parte, relacionado à glicosilação de proteínas (SANDA *et al.*, 2021).

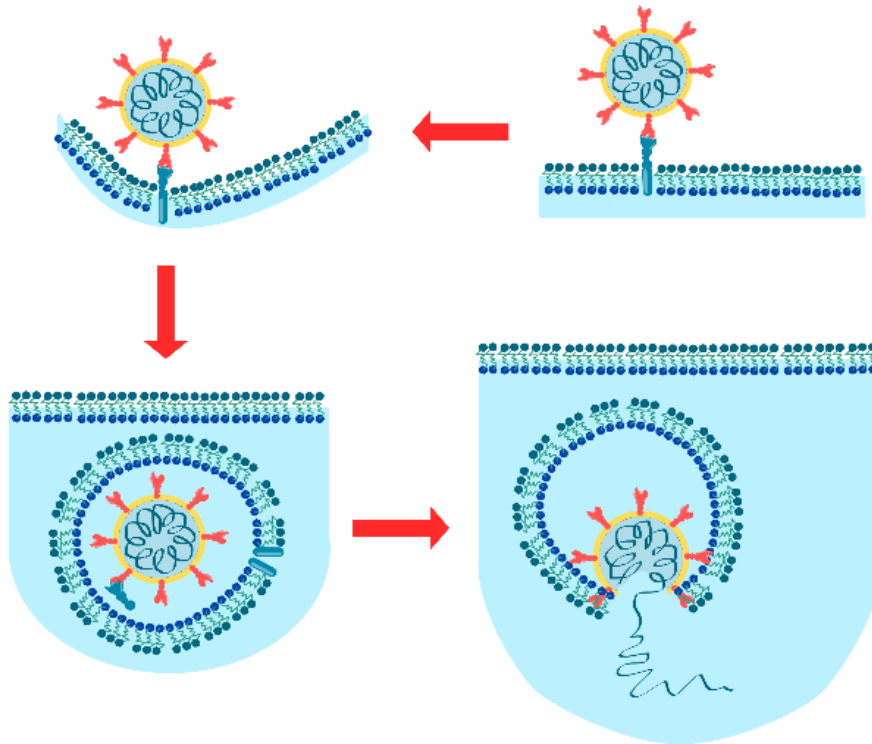
Após interação entre a S-pro e ACE2, estabelece-se a etapa de fusão viral à membrana citoplasmática celular do hospedeiro, podendo ocorrer por duas vias: (i) rompimento diretamente da membrana citoplasmática por agentes lisossomotrópicos ou (ii) via fusão com membranas endossômicas (SIMMONS, *et al.*, 2013). As figuras 3.2 e 3.3 representam os dois mecanismos de infecção possíveis.

Figura 3.2: Processo de transmissão (i)-Via rompimento da membrana citoplasmática.



Fonte: Adaptado de CHAMBERS *et al.*, 2020.

Figura 3.3: Processo de transmissão (ii) – Via fusão com membranas endossômicas.



Fonte: Adaptado de CHAMBERS *et al.*, 2020 e SIMMONS *et al.*, 2013.

O processo de fusão do SARS-CoV-2 mais comum e frequente, é aquele onde ocorre a clivagem proteolítica da proteína do vírus com as enzimas das células alvo, KLEIN *et al.* (2018) denominam a clivagem proteolítica ou proteólise como uma hidrólise enzimática e irreversível das ligações peptídicas estabelecidas entre os peptídeos ou proteínas (substratos) por um grupo de específico de enzimas (proteases).

A clivagem ocorre em duas etapas: A primeira ou inicialização e a segunda (ativação). CHAMBERS *et al* (2020) descrevem a etapa inicial como a combinação da protease furina polibásica sobre o sítio de clivagem S1/S2. Após esta etapa, surge a estrutura S1', após a abertura desse ponto, ocorre a segunda clivagem proteolítica, na região de S2', onde não é incomum ocorrerem vários locais e pontos de clivagem.

Dependendo de qual cepa de vírus e tipo de célula hospedeira combinadas, múltiplas proteinases, principalmente TMPRSS2 (serina protease transmembrana 2), furina, catepsinas, elastase e protease semelhantes a tripsina, presentes na via aérea humana foi descrita no processo de clivagem (CHAMBERS *et al.*, 2020).

A protease que atuará sobre a ativação é crucial para determinar o mecanismo de passagem do genoma viral através da membrana da célula alvo. Quando a ativação ocorre por TMPRSS2, presente na superfície celular hospedeira, ocorrerá a entrada direta, pelo rompimento da membrana citoplasmática da célula alvo. E, segundo MATSUYAMA *et al.* (2005) a fusão direta é favorecida de 100 a 1.000 vezes em relação a entrada endossômica.

A entrada endossômica requer atividade de catepsina L/B, e na sequência, ocorre a clivagem por furinas no rompimento da membrana viral dentro do citoplasma da célula hospedeira. Com temperatura acima de 4° C, somente após interação com ACE2. A ativação catepsina L depende do pH, podendo esta ser bloqueada por agentes lisossomotrópicos, como o cloreto de amônio, por exemplo (SIMMONS *et al.*, 2013).

A S-pro é um alvo primário para anticorpos neutralizantes que se ligam ao seu receptor e medeia a fusão entre a membrana e o vírus que entra no corpo humano (JIAO *et al.*, 2021). S-pro é uma proteína de fusão viral típica de classe I (LI *et al.*, 2005). Dependendo das cepas de vírus e dos tipos de células, essas proteínas CoVS podem ser clivadas por uma ou mais proteases do hospedeiro, incluindo furina (PENG *et al.*, 2011), tripsina (SONG *et al.*, 2018), catepsinas (ou protease humana semelhante à tripsina das vias aéreas) (YUAN *et al.*, 2017).

### **3.2 Prevenção: uso de máscaras faciais/respiradores**

As máscaras operam como uma barreira físico-química do contato entre biofluidos e os indivíduos, e, segundo (CHUA *et al.*, 2020), tem mostrado efeito tanto na inalação quanto na emissão de biofluidos. As máscaras de melhor eficácia devem ser capazes de mitigar a carga de infecção por COVID-19 e de restringir a dispersão de COVID-19 (PRADHAN *et al.*, 2020).

E, segundo (LI *et al.*, 2020), são classificadas em: máscaras respiratórias, máscaras cirúrgicas e máscaras faciais (descartáveis e de tecido). Sendo que as melhores eficiências ocorrem nos respiradores, com média de 94% para os respiradores N95, e cerca de 80% para máscaras cirúrgicas e de tecido (ANDRADE *et al.*, 2021).

Os denominados respiradores de filtragem facial (FFR), conforme o Instituto Nacional de Segurança e Saúde Ocupacional dos Estados Unidos (NIOSH), os classifica em nove categorias: por substâncias filtradas e eficiência atingida pela filtragem (em percentagem): N95, N99, N100, P95, P99, P100, R95, R99 e R100. A inicial N refer-se a

não resistente ao óleo, P a parcialmente resistente ao óleo e R a fortemente resistente ao óleo, enquanto os números 95, 99 e 100 correspondem a eficiência de filtração mínima do filtro: 95, 99, e 99,97%, respectivamente (PRADHAN *et al.*, 2020).

A norma europeia (EN 149: 2001), os categoriza como FFP1, FFP2 e FFP3 com eficiências de filtração mínimas de 80, 94 e 99%. Um dos parâmetros técnicos relevante para o uso como proteção contra o COVID-19 é a eficiência de filtração bacteriana, realizada em percentagem (%), já os respiradores com proteção devem apresentar três camadas: FFP1, FFP2 e FFP3 contra a infecção, pois eles filtram 99,9% de partículas de 0,3 microns (PRADHAN *et al.*, 2020).

Além disso, algumas das máscaras comerciais equipadas com uma camada de carvão ativado como um forte adsorvente. A capacidade de adsorção do carvão vegetal depende da fonte de origem do carvão sintetizado. E, o processo de adsorção, é avaliado tanto pelo poder de captura das partículas do vírus, como pela capacidade de inativação do vírus contidos nos ambientes úmidos contendo gotículas e/ou aerossóis (PRADHAN *et al.*, 2020).

### **3.3 Carvão ativado e adsorção**

O uso do carvão como adsorvente é bastante antigo, datado de 3750 A.C., pelos egípcios e sumarianos, que o utilizaram para retirar metais como cobre, zinco e minérios de estanho para a fabricação de bronze (DABROWSKI, 2001, MARSH e REINOSO, 2006).

Ao longo dos anos, o carvão ativado foi utilizado para adsorção em meios gasosos, e, por volta de 1793, fora aplicado para adsorver soluções aquosas em escala industrial. Alcançando o ápice de aplicabilidade durante a primeira primeira Guerra Mundial, como filtrante em máscaras contra gases venenosos lançados pelos alemães contra os franceses, britânicos e russos em diferentes frentes (INAGAKI e TASCÓN, 2006, MENÉNDEZ-DIAZ e MARTÍN-GULLÓN, 2006).

O carvão tem origem mineral, animal e vegetal. O carvão animal é produzido a partir de ossos (DABROWSKI, 2001). O carvão mineral é uma rocha sedimentar orgânica que consiste em uma mistura complexa de substâncias orgânicas e minerais, derivado de detritos vegetais, inclusive aquáticos, depositados onde se originou, depende da natureza dos vegetais, dos microorganismos, dos nutrientes, das condições climáticas, do nível do

lençol freático e do pH que determinarão o tipo de carvão gerado (MARSH e REINOSO, 2006).

É formado a partir de um processo denominado coalificação, no qual os detritos orgânicos (nas condições ambientais descritas) são enterrados (podendo ser próximos a superfície ou a quilômetros de distância) e preservados durante o processo. O processo pode ocorrer em milhões de anos, em vários estágios. Os carvões são estruturas não-gráficas, ou seja, nunca exibem linhas tridimensionais de raios X, mesmo após aquecimento superiores a 2000° C, são porosos e desordenados (embora nunca seja totalmente desagregado) (MARSH e REINOSO, 2006).

A superfície do carvão é essencialmente não polar, hidrofóbico e organofílica. Os átomos de carbono localizados nas arestas dos planos basais são insaturados; possuem um par de elétrons desemparelhados. E, são esses sítios que serão ocupados após a ativação térmica, além da ação das ligações com o adsorbato. A ativação é um tratamento físico/químico dado a uma estrutura carbonosa não-gráfica. É usada para criar mais poros e aumentar o tamanho dos poros que já existem, elevando assim a área superficial e conseqüentemente, a capacidade de adsorção. (INAGAKI e TASCÓN, 2006, MENÉNDEZ-DIAZ e MARTÍN-GULLÓN, 2006, RUTHVEN, 1984).

A ativação é definida por HAGEMANN *et al.* (2018) como um processo termoquímico que objetiva otimizar a capacidade de adsorção. Classifica-se em ativação direta (etapa única) e ativação pós pirólise (múltiplas etapas). A ativação modifica a natureza hidrofóbica do mesmo, por inserir heteroátomos na estrutura carbonosa. A presença de oxigênio, por exemplo, eleva a hidrofilicidade da estrutura após a ativação. Na adsorção física, inclui-se as forças de Van Der Walls e forças eletrostáticas (INAGAKI e TASCÓN, 2006, MENÉNDEZ-DIAZ e MARTÍN-GULLÓN, 2006).

A pirólise lenta (ou carbonização) é um processo que dura de minutos até dias, ocorrendo na ausência de oxigênio ou qualquer outro oxidante adicional. Embora a oxidação parcial possa acontecer, devido ao conteúdo inerente de oxigênio na biomassa ou falta de estanqueidade à temperaturas em torno de (300 a 900 °C) (HAGEMANN *et al.*, 2018).

A ativação química consiste em impregnar com soluções aquosas concentradas de um agente de ativação, geralmente ZnCl<sub>2</sub>, KOH e H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (em escala industrial). Assim, o grau de impregnação é determinante para a ativação, além da queima na ativação física. Contudo, a qualidade da ativação depende da seleção dos produtos agentes de ativação,

da proporção da mistura com o material carbonáceo, da temperatura e do tempo de duração da ativação subsequente. Em elevadas concentrações ou tempo de reação em excesso, o volume dos poros diminui devido ao colapso físico da estrutura carbonácea (HAGEMANN *et al.*, 2018).

A ativação física ou térmica é uma reação de oxidação parcial de um material carbonáceo precursor ou intermediário para aumentar sua porosidade. Em altas temperaturas (maiores que 750°C), H<sub>2</sub>O se torna um oxidante em materiais carbonosos. É aplicada como uma segunda etapa após a carbonização. A primeira etapa aumenta principalmente a área de superfície; a segunda etapa intensifica o aumento de área específica superficial, criando novos microporos ou criando novas interconexões entre os poros, alterando a estrutura química superficial (HAGEMANN *et al.*, 2018).

Esta alteração é possível por meio da geração de grupos funcionais oxidados, incluindo grupos fenólicos, cetônicos e carboxílicos na superfície aromática do material carbonáceo. O grau de ativação física pode ser caracterizado pela queima, ou seja, pela perda de massa durante a ativação. Em geral, quanto maior a queima, maior a porosidade do produto. Contudo, queima acima de 40-50% pode resultar em uma destruição líquida da porosidade (HAGEMANN *et al.*, 2018).

A porosidade do carvão ativado depende de múltiplos fatores: matéria-prima, temperatura, duração do processo de ativação e escolha do oxidante. Oxidação com CO<sub>2</sub> primeiro resulta na abertura de novos poros. A ativação com vapor, no entanto, aumenta a quantidade de microporos com rapidez. Além de H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub>, cloro, amônia, enxofre e dióxido de enxofre também são usados raramente como agentes de ativação física. A utilização de amônia ou dióxido de enxofre são tratados como agentes de modificação ou de funcionalização (HAGEMANN *et al.*, 2018).

A ativação térmica de biomassa é possível por dois meios: pela ativação térmica/física, que ocorre em duas etapas: a carbonização, em temperatura média (de 500° C) com ausência de oxigênio, seguida de ativação em alta temperatura (1000°C) na presença de vapor de água ou N<sub>2</sub> ou CO<sub>2</sub> como agente de ativação (DANISH *et al.*, 2014).

Por outro lado, na ativação química, o carvão é tratado com agentes de ativação desidratante, como H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, ZnCl<sub>2</sub>, KOH e NaOH, antes da pirólise. Na maioria dos casos relatados se obtém maior porosidade nos carvões ativados resultantes; sendo preferida, pois a ativação física gera rendimentos menores quando comparados os processos, devido



à oxidação da biomassa durante o processo de carbonização e ativação (DANISH *et al.*, 2014).

A aplicação do carvão ativado de origem vegetal, é apresentado por (ABDULLAH *et al.*, 2011) que sugere o uso do carvão ativado obtido a partir da casca de dendê para futuramente, ser aplicado em ar condicionado de automóveis, para purificar o ar, em duas etapas de adsorção, com carvão ativado. Por se tratar de uma tecnologia que visa controlar a poluição ambiental, também melhoram o coeficiente de rendimento do processo de refrigeração em sistemas que usam refrigerantes menos eficientes e não agressivos à camada de ozônio; reduziram, dessa forma, os gastos energéticos com a refrigeração.

UGWU e AGUNWAMBA (2020) propuseram a remoção do cobre (II), zinco (II) e cromo (VI) em águas residuais usando carvão ativado, demonstrando eficiência na adsorção. Entretanto, não é uma técnica econômica em grande escala. Direcionando a pesquisa a busca de soluções econômicas e fontes de biomassa vegetal para originar carvão ativado para ser empregado no sequestro de íons metálicos. O trabalho aponta a casca de amendoim e a espiga de milho por possuírem capacidades de adsorção elevada revelados nas isotérmicas e do pH do adsorvente.

A presença de grupos contendo oxigênio e hidrogênio na superfície do carvão afetam fortemente as propriedades de adsorção (MENZIES *et al.*, 1988, LUTFOR *et al.*, 2018). Os grupos oxigenados são os mais comuns. A origem desses grupos de superfície pode estar na própria matéria-prima original, ou por processos de ativação com a introdução desses grupos após a preparação e posterior tratamento (IQBAL e ASHIQ, 2007, COONEY, 1978).

Um método para modificar a estrutura do carvão é por meio da oxidação por exposição ao ozônio. O processo de ozonização leva a um aumento na concentração de grupos funcionais de oxigênio, melhorando o desempenho da adsorção (SUTHERLAND *et al.*, 1996, LOTA *et al.*, 2016).

O processo de adsorção, na fase líquida, gasosa ou mista ocorre devido a fixação da fase fluida na superfície do carvão ativado, devido ao estabelecimento de interações de natureza física (forças eletrostáticas e de dispersão) combinadas ou não às ligações químicas formadas entre o adsorvente e o adsorbato. Embora a área superficial seja importante, não supera a importância que os planos basais e as arestas presentes nestes planos (INAGAKI e TASCÓN, 2006, MENÉNDEZ-DIAZ e MARTÍN-GULLÓN, 2006).

A entalpia resultante da adsorção depende da força de interação entre o adsorbato e o adsorvente, mas a adsorção é um processo na qual a entropia é necessariamente negativa, sendo portanto, a energia livre uma consequência da entropia e da entalpia (RUTHVEN, 1984).

### 3.4 Adsorção do SARS-CoV-2 com superfícies

Genomas do RNA de coronavírus são comparativamente grandes em relação aos demais vírus. Para descrever a sistemática de ação do coronavírus, observa-se a importância que a S-pro desempenha no processo de infecção, pois a superfície externa do coronavírus, onde está localizada a S-pro, é alvo de atenção por desempenhar um papel crítico na adsorção de vírus nas superfícies sólidas sob várias condições ambientais (JOONAKI *et al.* 2020).

O estudo investigou a estabilidade do SARS-CoV-2 e do SARS-CoV-1 no ar e sobre diferentes superfícies sólidas, incluindo aço inoxidável, plástico, cobre e papelão. Demonstrando que o SARS-CoV-2 é mais estável em superfícies de plástico e aço inoxidável do que em pedaços de cobre e papelão, e a presença de vírus foi detectada até 72 h em certas superfícies sólidas. Nenhum SARS-CoV-2 foi detectado após 4h e 24 h em cobre e papelão, respectivamente. Após 3 h, o vírus ainda foi detectado em aerossóis (JOONAKI *et al.*, 2020).

Compreender as interações moleculares entre os vírus e as superfícies sólidas externas às proteínas são cruciais para controlar a transmissão ambiental e projetar processos de remoção e estratégias de tratamento. Determinar a capacidade do vírus de se adsorver a uma superfície é fundamental, pois o vírus e a superfície precisam ser bem caracterizados e as condições ambientais, tais como temperatura, umidade e pH irão influenciar na adsorção (JOONAKI *et al.*, 2020).

A quantidade de vírus adsorvido é influenciada por múltiplos fatores, incluindo características das proteínas do vírus e das superfícies externas: carga superficial, tamanho, estabilidade e conformação estérica (DIKA *et al.*, 2013).

Os vírus se adsorvem às superfícies por meio de dois mecanismos principais: Van Der Waals (principalmente superfícies minerais, conforme (FUHS *et al.*, 1985) e, interações eletrostáticas (superfícies carregadas na presença de íons em pH neutro ou não-neutro (GUTIERREZ *et al.* 2009, JOSHI, *et al.*, 2019, SHI e TARABARA, 2018).

Essas duas forças determinam a intensidade da adsorção do vírus às superfícies. Embora as forças de interação entre esses dois seja difícil de separar. Os vírus tendem a ser mais hidrofóbicos do que as proteínas, (HELDT *et al.*, 2017), portanto, eles são atraídos por superfícies de metal devido principalmente às interações de Van Der Waals, além dos efeitos hidrofóbicos (LANGLET, *et al.*, 2008).

A capacidade de infecção é influenciada pela umidade e temperatura, segundo (HOSSEINI, 2020), a energia superficial das moléculas de água desempenha um grande papel na interação entre uma partícula de vírus e uma superfície.

A adsorção é notável em superfícies de metal (como ouro, aço e aço inoxidável), além do grupo funcional hidroxila e substratos contendo oxigênio (por exemplo, madeira, algodão, papel e vidro), dependendo da estrutura química da superfície e das condições ambientais (como pH do fluido em volta, carga superficial, temperatura, etc.) (CASTAÑO *et al.*, 2020).

As ligações de hidrogênio desempenham um papel fundamental na adsorção de vírus às superfícies contendo hidroxila, devido a presença de uma camada de filme aquoso (CASTAÑO *et al.*, 2020), a intensidade da ligação à superfície seria mais elevada na presença de (OH<sup>-</sup>) se ligando a (-O) em ambientes de pH onde o ácido carboxílico do vírus é desprotonado (acima de pH 4) (COOKSON, 1969).

Em pH neutro, a maioria das partículas virais têm uma carga líquida negativa porque têm um ponto isoelétrico abaixo de 7 (MICHEN e GAULE, 2010). No entanto, devido ao grande tamanho das partículas de vírus e sua grande variedade de proteínas na superfície, ainda existem várias complementações, como de carga positiva e negativa na faixa de pH onde os vírus são estáveis (geralmente de pH 5 a 8) (SAKODA, *et al.*, 1997).

Portanto, os grupos -NH<sub>2</sub>, -NH<sub>3</sub><sup>+</sup>, -COOH e -COO<sup>-</sup> de aminoácidos da S-pro direcionam a adsorção com superfícies sólidas por meio de interações eletrostáticas duplas, entre superfície ionizada e as superfícies com carga oposta, bem como as ligações de hidrogênio com base nas características da superfície com valores de pH, neutro (JOONAKI *et al.*, 2020).

Os vírus carregados negativamente deveriam ser menos adsorvidos com superfícies de aço inoxidável por causa da repulsão eletrostática (ZERDA *et al.*, 1985) dado que tanto o vírus quanto a superfície do substrato têm cargas negativas., entretanto, com aumento da concentração de cátions, a repulsão seria diminuída, (ZHUANG e JIN, 2003) e a quantidade de vírus adsorvidos aumentaria.

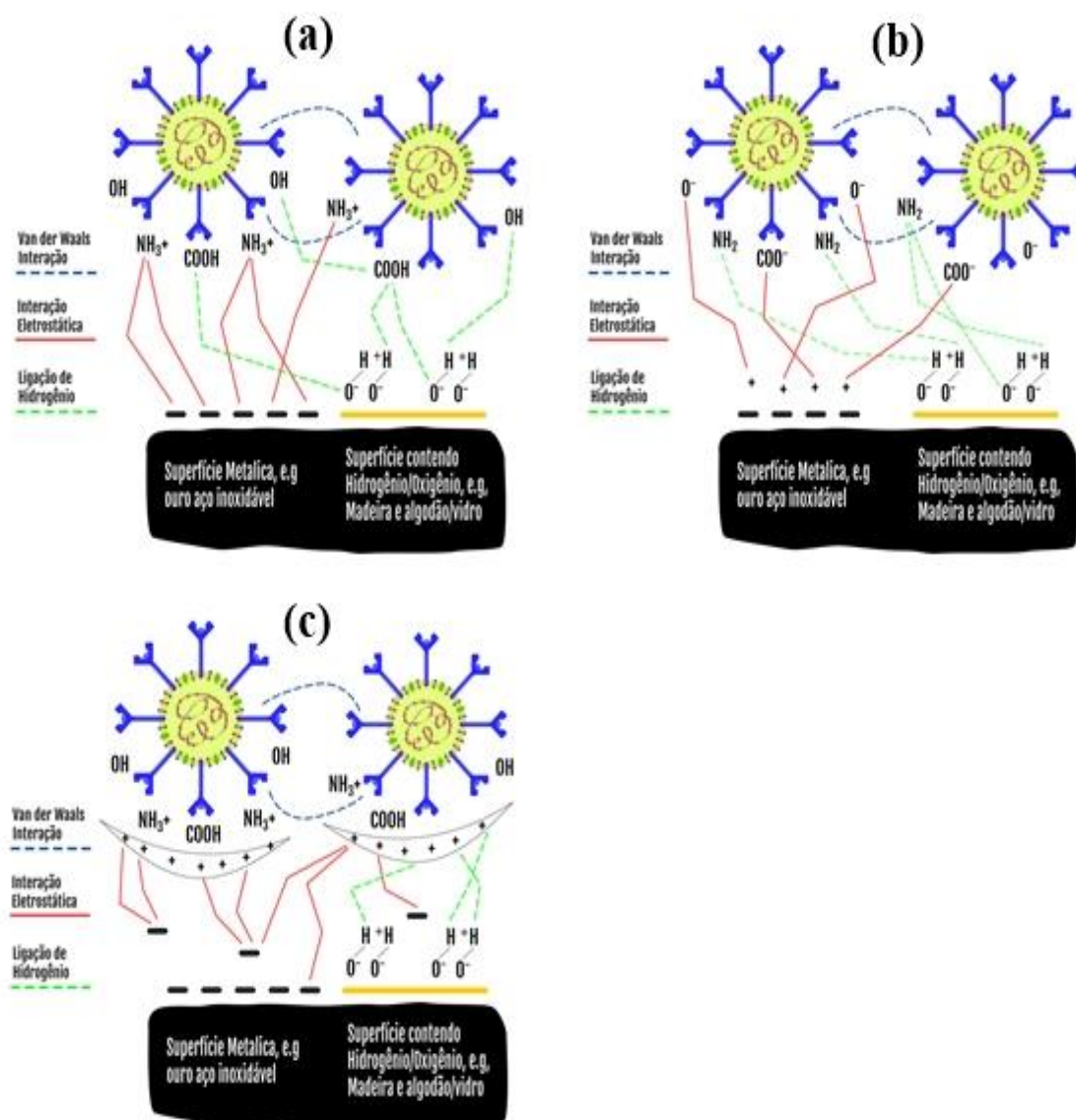
A figura 3.4 apresenta as potenciais interações moleculares entre as proteínas virais e superfícies sólidas em diferentes valores de pH e estrutura química dos fluidos circundante.

De acordo com a figura 3.4.a, em valores de pH abaixo do ponto isoelétrico, a carga geral do vírus pode ser positiva, dado que ambos os grupos carboxilato e amina na superfície externa são prótons ligados, e as pontes de hidrogênio seriam formadas em superfícies contendo hidroxila, tais como madeira, algodão ou papel. Em ambientes de pH acima do ponto isoelétrico (figura 3.4c), a superfície externa dos vírus seria desprotonada e, portanto, negativamente carregada e não pode ser adsorvida na superfície com a mesma carga. Então, em ambientes com pH mais altos a adsorção nas superfícies seria reduzida (JOONAKI *et al.*, 2020).

Ao contrário disso, eles podem interagir fortemente com cátions divalentes e/ou monovalentes (GUTIERREZ *et al.*, 2010) caso existam em uma solução de eletrólito salina. A carga e os contra-íons do eletrólito podem originar camada dupla mais fina e as forças de repulsão serão reduzidas, formando ligações de hidrogênio na superfície com a hidroxila (LIPSON e STOTZKY, 1983) elevando a adsorção do vírus.

Figura 3.4: Esquema representativo das forças sobre o SARS-CoV-2 em escala de pH:

a) ácido, b) neutro e c) básico.



Fonte: Adaptado de JOONAKI *et al.* 2020.

E, conforme XIE *et al.* (2020) concluem que a influência do pH sobre a adesão/adsorção do vírus é razoável afirmar que é notória a repulsão eletrostática, sendo intensificada com o aumento do pH, enfraquecendo a energia de adesão. E, além do pH outros fatores ambientais, como a temperatura e a umidade (JOONAKI *et al.*, 2020) afetam as interações intermoleculares dos coronavírus com as superfícies.

XIE *et al.* (2020) analisaram a elevação da temperatura de 23 para 37 °C, e observaram que praticamente não alterou a energia de adsorção de superfícies vítreas, já nas superfícies metálicas, o efeito foi elevar a intensidade de adesão. Dessa forma, o

aumento da temperatura eleva a atividade interativa entre metal e proteína viral, favorecendo aumentando assim a energética envolvida.

Analisando as relações entre temperature e a energética, compreende-se que a interação hidrofóbica é dependente da entropia. Pois, possivelmente, ocorre rearranjo conformacional na S-pro após aumento de entropia, elevando a capacidade da mesma de aderir à superfícies que estabelecem interações dessa natureza. E, dessa forma fatores ambientais contribuem para a capacidade de adsorção, sendo favorecidas em meios ácidos e em temperaturas mais altas (XIE *et al.*, 2020).

De acordo (XIE *et al.*, 2020)., as forças interativas de adesão proteica viral são muito fracas em superfícies inorgânicass hidrofílicas (por exemplo, vidro) devido à falta de ligações de hidrogênio, relativamente alto em superfícies de metal por causa das interações de eletrostáticas fortes e muito forte em polímeros hidrofóbicos (por exemplo, poliestireno (PS), politetrafluoroetileno (PTFE), plásticos e equipamento de proteção pessoal (EPP), atribuído à interação hidrofóbicas.

A transmissividade do coronavirus se baseia na funcionalidade proposta pelas células hospedeiras e das distintas condições ambientes citadas, como a umidade, que provoca diferentes cinéticas de ativação/inativação viral (CASANOVA *et al.*, 2010).

E, de acordo com (JOONAKI *et al.*, 2020) relacionar a umidade à estabilidade das interações superficiais é crucial. Moléculas de água na fase líquida condensadas a partir da fase vapor em várias superfícies (por exemplo, entre as partículas de vírus e substratos sólidos) são capazes de criar interações. A fase líquida origina uma curvatura, que está relacionada com a umidade relativa, expressa pela equação de Kelvin (ALONSO *et al.*, 2013):

$$r = \gamma \left[ \frac{V_m}{RT \ln(h)} \right] \quad (1)$$

Onde:

$\gamma$  é a tensão superficial da água,  $V_m$  é o volume molar da água,  $R$  é a constante universal dos gases,  $T$  é a temperatura ambiente em Kelvin,  $h$  é a espessura da película de água,  $r$  é o raio do círculo da água, que retém o virus, podendo tender pro infinito quando a umidade relativa é de 100%.

Nas superfícies hidratadas, as partículas de vírus estabelecem fortes interações com a superfície hidrofílica na presença de uma fina camada de água, principalmente através das ligações de hidrogênio entre a água e as moléculas da proteína viral. As

moléculas de água também podem preencher as lacunas entre as partículas de vírus que são espaçadas, aproximando-os, devido a umidade relativa. Em superfícies hidrofóbicas, r se expande menos. Portanto, uma película de água pode ser originada em torno do vírus, inclusive aproximando duas partículas de vírus, por ocupar o espaçamento entre ambos (JOONAKI *et al.*, 2020).

A presença de cátions monovalentes ou bivalentes na fase líquida (ligados pela formação de complexos catiônicos com os grupos hidroxila das superfícies sólidas) pode resultar na substituição da metade da interface de ligação de água em cátions mono ou bivalentes pela hidroxila e grupos funcionais carboxilatos da superfície viral, elevando a quantidade de vírus adsorvidos pela superfície catiônica (PHAM *et al.*, 2009).

### **3.5 Tratamento: inibidores contra o SARS-CoV-2**

As S-pro e M-pro (também chamada de 3CL-pro) são os dois locais principais para o desenvolvimento de medicamentos para SARS-CoV-2, pois a M-pro desempenha um papel fundamental na mediação para a replicação viral e na transcrição onde existem 11 locais de clivagem. Inibindo a atividade da enzima receptora humana, ocorreria o bloqueio direto da replicação viral (BADAVATH *et al.*, 2020).

A Colchicina se liga aos microtúbulos com pH de 6,7 a 6,8, apresentando fraca interação com microtúbulos com outros valores de pH. A Colchicina diminui o pH intracelular por um curto período, e, após a ligação aos microtúbulos, ocorre aumento do pH intracelular, e, a medida que o pH aumenta, a ligação da Colchicina ao microtúbulos diminui (CURE *et al.*, 2020).

DHAR e ROY (2020) realizaram a docagem da colchicina e outras drogas as proteínas M-pro e S-pro do SARS-CoV-2, mostrando os valores mais elevados de energia de afinidade com a M-pro do que com a S-pro, o que sugere melhor desempenho em interagir nos meios intracelulares.

A reutilização de medicamentos contra o COVID-19 exige que a afinidade de ligação e a estabilidade com TMPRSS2. No presente estudo, realizou-se a docagem molecular e a simulação com dinâmica molecular do Nafamostato, Leupeptina e Camostato. Resultados da docagem revelaram que a molécula de Leupeptina se liga mais fortemente à proteína TMPRSS2 do que as outras duas moléculas de drogas. Os valores RMSD e RMSF da simulação com dinâmica molecular confirmam que a leupeptina é

mais estável, embora o Nafamostato tenha revelado estabilidade intermediária (RAMAKRISHNAN *et al.*, 2021).

NELAKUDITI e SHRIVASTAVA (2021) realizaram simulações com diversas Drogas e as M-pro e S-pro do SARS-CoV 2, destacando-se o Selinexor, que respondeu positivamente como inibidor ao interagir com as proteínas citadas. A docagem foi realizada com Autodock Vina. E, concluíram que a próxima etapa devem ser testes *in vitro* sobre a eficácia do Selinexor e das demais drogas ao inibirem a ação de infecção por COVID-19.

Por outro lado, o uso de substâncias naturais antimicrobianas, antioxidantes e antiinflamatórias obtidas de matérias-primas vegetais podem ser utilizadas na cicatrização e na proteção de feridas contra agressões externas (SÜNTAR *et al.*, 2011). Conhecida popularmente como "jucá", a *Libidibia ferrea* ou *Caesalpinia ferrea* é uma planta da flora brasileira, bastante utilizada na Amazônia. Diversos estudos têm sido realizados para comprovar as propriedades medicinais atribuídas à planta (KOBAYASHI *et al.*, 2015).

Os princípios ativos da planta são extraídos com metanol, e os caracterizaram com ação antifúngica e antibacteriana (principalmente das vias orais) (SAMPAIO *et al.*, 2009). Outras pesquisas mostraram que o extrato aquoso bruto de plantas desta família tem efeito antiinflamatório e analgésico (BACCHI *et al.*, 1995).

### 3.6 Teoria do Funcional da Densidade (DFT)

O DFT é um dos métodos químicos quânticos, que permite calcular uma gama de propriedades por apresentar resultados teóricos próximos aos experimentais e muitas vezes permite compreender sobre a geometria, propriedades eletrônicas e espectroscópicas dos sistemas em análise, levando aos cálculos de propriedades moleculares (ORIO *et al.*, 2009).

O B3LYP, que é um funcional híbrido da DFT, com um sofisticado conjunto de bases 6-311++g(d,p) apresentando bom desempenho na obtenção de propriedades de moléculas formadas por carbono (C), nitrogênio (N), oxigênio (O) e hidrogênio (H), e foi utilizado por NETO (2018), para determinar as propriedades termodinâmicas do gás natural, com base na termodinâmica estatística, com o conjunto de bases 6-311++g (d,p), estimando então a Energia Interna, a Entalpia, a Energia livre de Gibbs e a Entropia.



A otimização de geometria das espécies em estudo é o primeiro passo na maioria dos estudos teóricos/computacionais, e a utilização do DFT para tal propósito, é confiável, pois há uma concordância com resultados obtidos experimentalmente (ORIO *et al.*, 2009).

Outra razão para a escolha é a capacidade de convergência, dependendo do tamanho do conjunto, o que torna a otimização de geometria bastante econômica. Exemplo, é o caso do grande número de proteínas é comum, e, por conta de protonação e hidratação é necessário otimizá-la por GGA/BP86 (ORIO *et al.*, 2009).

### 3.7 Método de Hartree e Fock (HF)

Hartree e Fock em 1920 (SZABO e OSTLUND, 1989) concentraram-se na solução da equação da onda, e devido a essa abordagem, originou-se inúmeras tentativas de fornecer soluções aproximadas à equação de Schrödinger, que é a equação fundamental de mecânica quântica para descrever qualquer resposta com base em sistemas químicos, tornando-o pioneiro nessa abordagem.

O método HF é então utilizado com ponto de partida ou *ab initio*, ou seja, é combinado a outros métodos de interação de configuração devido às limitações do HF puro, o que têm originado função de onda próximas da solução exata. Embora, Métodos de HF acoplado apresentem dificuldades em sua aplicação para sistemas bioinorgânicos e biológicos, pois o custo computacional se eleva com moléculas contendo mais de 20 átomos (ORIO *et al.*, 2009).

SANTOS *et al.* (2014) apresenta a metodologia adotada para melhorar esses custos: o uso de bases conjugadas ao método de HF tradicional, e as classifica em: (HF/3-21G\*, HF/3-21G\*\*, HF/6-31G, HF/6-31G\*, HF/6-31G\*\* e HF/6-311G), sendo empregado para otimizar a geometria com a determinação da energia e outras propriedades moleculares de um sistema, e, as bases se utilizam de cálculos mais sofisticados. A resposta da aplicação do método depende do conjunto de bases adotado, que deve deter o máximo de informações a respeito do sistema em estudo.

### 3.8 Docagem molecular

A docagem molecular é um método que faz uso de linguagem computacional para estimar comportamento molecular, tanto estruturalmente, quanto nas possibilidades de se estabelecer ligações, com base na afinidade de ligação, sendo esta energeticamente favorável. Dessa forma, é capaz de simular a interação molecular e prediz a forma de

ligação e a afinidade entre receptores e ligantes, denominando-se como acoplamento molecular. É uma técnica utilizada para simular a conformação ideal de acordo com a complementaridade e pré-organização, que poderia prever e obter a afinidade de ligação e o modo interativo entre o ligante e o receptor (MORRIS e LIM-WILBY, 2008, FAN *et al.*, 2019)

No entanto, o verdadeiro processo de acoplamento é tão flexível que os receptores e ligantes precisam mudar sua conformação para se encaixarem bem. Baseada na complementaridade geométrica, a complementaridade energética e a pré-organização garantem que receptores e ligantes obtenham a estrutura mais estável de forma a minimizar a energia livre (AUDIE e SCARLATA, 2007).

BADAVATH *et al.*, 2020 utilizaram (PDB-6LU7) da M-pro (também chamada de 3CL pro), do SARS-CoV-2 para determinar o sítio ativo da M-pro, capaz de inibir a ação do vírus, realizaram a docagem molecular para testar 118 compostos, contendo 16 compostos com base em oxidiazóis e porções de isatina, conhecidos por serem usados como anticâncer, antiparasitário e utilidade similares, além de 5 compostos naturais e 8 drogas já aplicadas. E, após a docagem, a interação entre os compostos e M-pro é realizada pela dinâmica molecular.

O sítio ativo da M-pro está localizado em uma lacuna entre uma díade catalítica histidina/cisteína. Em M-pro, Cys145 atua como um nucleófilo durante o primeiro estágio da reação de hidrólise assistida por His 41 como um catalisador básico (CONNOLLY, 1993).

### **3.9 Dinâmica molecular**

Propriedades macroscópicas mensuradas experimentalmente são médias sobre bilhões de moléculas, representadas por mecânica estatística. Esse cálculo tem profundas implicações teóricas, que são abordadas em grande detalhe pela literatura (ALLEN e TILDESLEY, 1989, FRENKEL e SMIT, 2001).

A simulação faz-se necessária na ausência do experimental. E, assim como o experimental, a simulação de comportamento de substâncias, é embasada em obtenção de dados dos sistemas, composto por indivíduos quando expandidos gerem um conjunto representativo do mesmo, considerando o equilíbrio termodinâmico, na leitura de parâmetros físicos, por se tratar de um sistema, e não trajetórias atômicas individuais (LINDAHL, 2008).

As metodologias consideradas confiáveis de se obter dados no equilíbrio são a docagem molecular e a dinâmica molecular; sendo que a última possui vantagem de reproduzir com precisão cinética as propriedades mesmo que não estejam em equilíbrio termodinâmico, como difusão ou dobramento. A simulação do equilíbrio é forçada pela aplicação de forças de intensidade elevada, sobre o sistema, quando necessário, para atingi-lo. Geralmente, é necessário a minimização de energia do sistema antes da simulação de dinâmica molecular (LINDAHL, 2008).

A simulação por meio de aproximações é mais ou menos empírica, pois utiliza os campos de força para calcular as interações e avaliar a energia potencial do sistema como uma função de coordenada atômica pontual. Um campo de força consiste de um conjunto de equações usadas para calcular a energia potencial e as forças atuantes nas coordenadas das partículas, bem como uma coleção de parâmetros usados nas equações (KAMINSKI *et al.*, 2001, MACKERELL, *et al.*, 1998, OOSTENBRINK *et al.*, 2004, WANG *et al.*, 2000).

As equações nas quais a dinâmica molecular se baseia são:

$$F_i = m_i a_i = m_i \frac{\partial^2 r_i}{\partial t^2} \quad (2)$$

$$F_i = - \frac{\partial V}{\partial r_i} \quad (3)$$

Onde :

$m_i$  é a massa,  $a_i$  é a aceleração,  $F_i$  é a força em que a partícula  $i$  está sujeita e  $r_i$  são as suas coordenadas,  $V$  é a energia potencial de interação e  $t$  é o tempo.

A dinâmica molecular observa a evolução temporal do sistema em estudo através da determinação do deslocamento das partículas que o compõem. O equilíbrio mecânico e o térmico são atingidos através das interações entre as partículas. E, caso ocorram perturbações externas o sistema pode atingir uma nova configuração de equilíbrio. Em dinâmica molecular, a trajetória das partículas do sistema é calculada por Newton-Hamilton (COSTA, 2015).

Inicia-se os cálculos com dados conhecidos das coordenadas e da velocidade em um dado tempo, então, com as soluções das equações clássicas do movimento para  $N$  partículas que interagem através do potencial conhecido podendo ser quântico, clássico ou misto (clássico e quântico), como em potenciais do tipo QM/MM, tornam possível conhecer todas as configurações para uma seqüência de tempos posteriores.

O Hamiltoniano do sistema é dado pela seguinte equação:

$$H(r_1, \dots, r_n, \dots, p_1, \dots, p_n) = \sum \frac{p_i^2}{2m_i} + U(r_1, \dots, r_n) \quad (4)$$

onde  $r$ ,  $P$  e  $m$ , são, respectivamente, a posição, momento e massa da partícula, e  $U$  é a energia potencial entre partículas.

A dinâmica molecular é baseada na integração numérica das equações do movimento. Desde que o sistema em estudo seja conservador, determina-se a força em cada partícula do sistema a partir da energia potencial, de acordo com a equação:

$$F_i = -\nabla U(r^N) \quad (5)$$

onde  $F_i$  e  $U(r^N)$  é a força e a energia potencial intermolecular de um sistema constituído de  $N$  partículas, respectivamente, e é dado pela seguinte equação.

$$U(r^N) = \sum_{j>i}^N u(r_{ij}) \quad (6)$$

onde  $u(r_{ij})$  é um potencial efetivo que inclui o efeito da contribuição média de  $N$  corpos. Um típico potencial efetivo para sistemas simples é o potencial de Lennard-Jones:

$$U(r) = 4\xi \left[ \left( \frac{\sigma}{r} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma}{r} \right)^6 \right] \quad (7)$$

onde  $\xi$  é a profundidade do potencial entre a barreira atrativa e repulsiva, e  $\sigma$  é aproximadamente o diâmetro molecular. Esse potencial pode também ser chamado potencial de Van Der Waals.

A aceleração  $a_i$  da partícula de massa  $m_i$  é determinada diretamente pela equação (2), por integração de  $a_i$ :

$$F_i(t) = m_i a_i \quad (8)$$

As integrações das equações do movimento são realizadas por meio de algoritmos, como o Verlet, *Velocity Verlet*, *Leap-Frog*, entre outros. Esses algoritmos geram a simulação de dinâmica molecular. A energia cinética  $E_c$  de um sistema de  $N$  partículas com massa  $m$  é dada pela equação:

$$E_c = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n \frac{P_i^2}{m_i} \quad (9)$$

### 3.9.1 Propriedades termodinâmicas calculadas

A primeira lei da termodinâmica estabelece que a energia total de um sistema é a soma das energias cinética e potencial que atuam sobre o mesmo, é a definição de energia mecânica. Se o sistema for conservativo, a energia mecânica total é conservada e definida como uma constante de movimento. A expressão que estabelece a relação entre energia mecânica, cinética e potencial é dada por:

$$E_T = E_{cin} + E_{pot} \quad (10)$$

A energia que um corpo em movimento possui devido, exclusivamente, à sua velocidade de deslocamento, denomina-se energia cinética e pode ser calculada por:

$$E_{cin} = \frac{mV^2}{2}. \quad (11)$$

E, esta pode também ser relacionada com a temperatura absoluta pela expressão:

$$E_{cin} = k_p T_{in\ situ} \quad (12)$$

Esta expressão mostra que a razão  $k_p$  tem valor característico de acordo com o sistema estudado ou simulado.  $E_{cin}$  representa a energia cinética do sistema e  $T_{in\ situ}$  é a temperatura local em que o sistema se encontra. A equação (12) mostra que a razão da energia cinética de um sistema pela temperatura local, em que o sistema apresenta aquela energia, dá como resultado uma constante.

Para o caso da entropia, tem-se que:

$$\Delta S = \frac{\Delta E_T}{T_{local}} \quad (13)$$

onde:

$T_{local}$  é a temperatura local do sistema e  $E_T$  é a energia total .

Todos os campos de força comuns subdividem funções potenciais em duas classes: As interações de ligação e as interações de não-ligação. As de ligação se referem a ligação covalente, flexão em ângulo, potenciais de torção, rotação e torção impropria fora do plano. As interações de não ligação abrangem repulsão Lennard-Jones e dispersão eletrostática Coulombiana (LINDAHL, 2008).

Para minimizar a energia, o algoritmo de *steepest descent* desloca cada átomo por uma curta distância na direção de diminuição de energia, enquanto a dinâmica molecular é realizada pela integração de equações de Newton do movimento (CHANDLER, 1987).

Simulações biomoleculares típicas usam condições de contorno periódicas para evitar falsa superfície, de modo que uma molécula de água que sai para a direita reaparece à esquerda. Se a caixa é suficientemente grande, as moléculas não interagirão significativamente com suas cópias periódicas. Isso está intimamente relacionada às interações não ligadas, que idealmente deveriam ser somadas a todos os vizinhos no sistema periódico infinito resultante (LINDAHL, 2008).

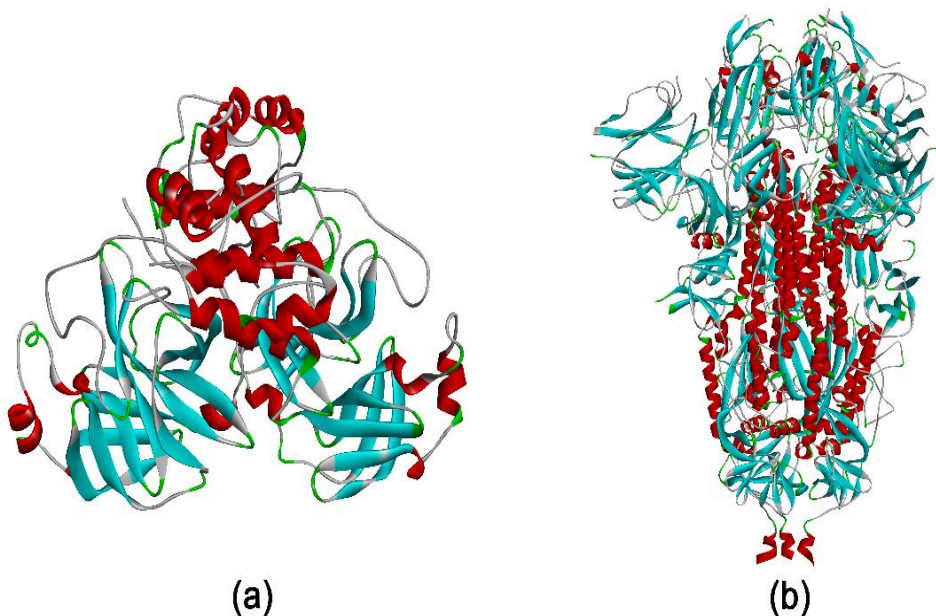
A malha de partículas de Ewald (PME) para calcular as interações eletrostáticas infinitas, dividindo a soma em curto e longo alcance em partes (ESSMAN *et al.*, 1995). Para PME, o corte determina apenas o equilíbrio entre as duas partes, e a parte de longo alcance é tratada atribuindo cargas a uma grade que é resolvida em espaço por meio das transformadas de Fourier.

## 4 Metodologia da pesquisa

### 4.1 Preparação para simulação: Interação entre proteínas do SARS-CoV-2 e carvão ativado

As estruturas modeladas M-pro e S-pro (PDB ID: 6lu7 e 6vxx) respectivamente (SU *et al.*, 2020, WALLS *et al.*, 2020), foram recuperadas do repositório Protein Data Bank (PDB) (BERMAN *et al.*, 2003). O tamanho da S-pro é de 12 nm e da M-pro é de 5 nm. Cada estrutura foi minimizada se utilizando do campo de força CHARMM36 e AMBERff14sb (WANG *et al.*, 2004). As estruturas das proteínas estão representadas na figura 4.1.

Figura 4.1: Estrutura Molecular em 3-D: a) M-pro e b) S-pro.

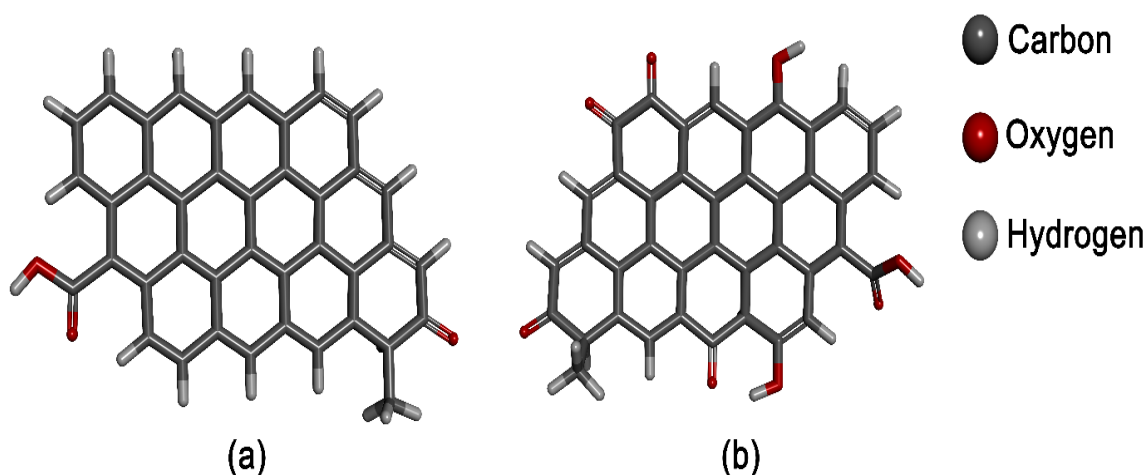


Fonte: Protein Data Bank.

As estruturas dos carvões ativados foram originadas no GaussView e submetidas a cálculos de otimização geométrica (BOFILL, 1985) usando o método de Hartree-Fock HF/6-311G (CRUZ *et al.*, 2018) no software Gaussian 09W (FRISCH *et al.*, 2009) seguindo o protocolo de Single Optimized Gaussian Basis (SINGS) (MACHADO *et al.*, 2009). Duas estruturas de carvão ativado foram obtidas: uma não modificada com

oxigênio (CANMO) e outra modificado com oxigênio (CAMO), com tamanhos em torno de 1,5 nm e 1,6 nm, respectivamente, conforme figuras (4.2.a) e (4.2.b).

Figura 4.2: Estrutura molecular do carvão ativado: (a) não – modificado com oxigênio (CANMO) e (b) modificado com oxigênio (CAMO).



#### 4.2 Docagem molecular: Interação entre proteínas do SARS-CoV-2 e carvão ativado

Após os processos de minimização do receptores e otimização dos ligantes, o acoplamento molecular foi realizado usando o pacote de software Autodock Vina 4.2.6 (ADV) (MORRIS *et al.*, 2009) e Autodock Tools (ADT) (HUEY *et al.*, 2007). O software é Autodock Vina 4.2.6 é um conjunto de ferramentas de docagem molecular automatizado. É projetado para prever como pequenas moléculas (ligantes) se ligam a um receptor de estruturas de biomacromoléculas-alvo, produzindo resultados com acurácia média nas previsões do modo de ligação, realizando interface gráfica com o Autodock Tools quase instantaneamente.

Os termos empíricos baseados na mecânica molecular são multiplicados por coeficientes que são determinados por análise de regressão linear dos complexos com estruturas em 3D e energias livres de ligação conhecidas.

Termo referente a Van Der Waals:

$$\Delta G_{vdw} = W_{vdw} \quad (14)$$



Termo referente a ligação de hidrogênio:

$$\Delta G_{\text{ligação-H}} = W_{\text{ligação-H}} \sum_{i,j} E(t) \left( \frac{C_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{D_{ij}}{r_{ij}^{10}} + E_{\text{ligação-H}} \right) \quad (15)$$

Termo referente à Lei de Coulomb (eletrostático):

$$\Delta G_{\text{elec}} = W_{\text{elec}} \sum_{i,j} \frac{q_i q_j}{\varepsilon(r_{ij}) r_{ij}} \quad (16)$$

Termo referente à torção:

$$\Delta G_{\text{tor}} = W_{\text{tor}} N_{\text{tor}} \quad (17)$$

onde:

$N_{\text{tor}}$  é o número de todas os ângulos de rotação, exceto ligações de guanidina e amido.

Termo referente à dessolvatação:

$$\Delta G_{\text{dessolv}} = W_{\text{dessolv}} \sum_{i,j} (S_i V_j + S_j V_i) e^{\frac{r_{ij}^2}{2\sigma^2}} \quad (18)$$

onde:

$$S_i = a_i + k|q_i| \quad (19)$$

E,

$$\Delta G_{\text{dessolv}} = W_{\text{dessolv}} \sum_{i,j} (a_i V_j + k|q_i| V_j + a_j V_i + k|q_j| V_i) e^{\frac{r_{ij}^2}{2\sigma^2}} \quad (20)$$

Da definição de dessolvatação:

$$\Delta G_{\text{dessolv}} = \Delta G_{\text{dessolv,precalc}} + \Delta G_{\text{dessolv,lig}} \quad (21)$$

Substituindo a eq. (20) na eq. (18):

$$\Delta G_{\text{dessolv,precalc}} = W_{\text{dessolv}} \sum_{i,j} (a_i V_j + a_j V_i + k|q_j| V_i) e^{\frac{r_{ij}^2}{2\sigma^2}} \quad (22)$$

Definindo-se:

$$\Delta G_{\text{dessolv,lig}} = W_{\text{dessolv}} k \sum_{i,j} (|q_i| V_j) e^{\frac{r_{ij}^2}{2\sigma^2}} \quad (23)$$

E,

$$\Delta G_{\text{dissolv,ligmap}} = W_{\text{dissolv}} \quad (24)$$

Substituindo a eq. (23) na eq. (24):

$$\Delta G_{\text{dissolv,lig}} = W_{\text{dissolv}} |q_i| \Delta G_{\text{dissolv,ligmap}} \quad (25)$$

A Energia livre de Gibbs total é dada por:

$$\Delta G = \Delta G_{VdW} + \Delta G_{\text{ligação-H}} + \Delta G_{\text{elec}} + \Delta G_{\text{tor}} + \Delta G_{\text{dissolv}} \quad (26)$$

onde os coeficientes da energia livre de Gibbs

$W_{VdW}$ ,  $W_{\text{ligação-H}}$ ,  $W_{\text{elec}}$ ,  $W_{\text{tor}}$  e  $W_{\text{dissolv}}$  são calculados pelo AutoDock 4.

Todos os ângulos de torção nos ligantes foram relaxados, permitindo a execução da docagem molecular flexível, enquanto os receptores permaneceram rígidos durante todo o processo. Com os hidrogênios polares adicionados aos receptores, o modelo de carga parcial dos átomos unidos de Kollman (BAYLY *et al.*, 1993), foi atribuído aos ligantes e receptores.

Aplicou-se a carga e selecionou-se de hidrogênios polares (CORSEUIL e WEBER, 1994) no receptor e ligantes onde consideramos ligações de hidrogênio usuais e incomuns (SILVERSTEIN *et al.*, 1998). Parametrizou-se a grade da caixa seguindo o potencial de Lennard-Jones (ASL *et al.*, 2012), com fatores eletrostáticos e fornecendo valores para todos os átomos do receptor. A grade da caixa para as simulações continha as seguintes dimensões: 60 Å × 48 Å × 43 Å, para M-pro e 62 Å × 56 Å × 49 Å para S-pro, para as direções x, y e z respectivamente no local de ligação de cada uma das duas biomacromoléculas.

Durante a docagem molecular, a probabilidade inicial de acoplar um receptor a um ligante é estimada por uma função de pontuação eficiente e os coeficientes de compatibilidade são atribuídos de acordo com a condição coexistente de duas ligações de hidrogênio (YANG *et al.*, 2015). Após o acoplamento da ligação de hidrogênio, a complementaridade geométrica dos sítios doadores e aceitadores durante a interação é levada em consideração para o deslocamento do ligante (SERGEY e BAIDAKOV, 2016).

A partir de então, ocorre a redução à um problema de otimização para calcular as matrizes ideais de translação e rotação que minimizam a raiz do desvio médio quadrático entre dois conjuntos de pontos. Além da interação de Van Der Waals, a contribuição das

ligações de hidrogênio intermoleculares (SERGEY e BAIDAKOV, 2016) em um complexo é incluída na função de pontuação para avaliar a qualidade do encaixe.

A função empírica de energia livre e o algoritmo genético Lamarckiano (LGA) foram utilizados para as simulações de docagem molecular adotando os parâmetros mais utilizados. A partir dos resultados obtidos da docagem molecular, 20 conformações principais foram selecionadas usando-se o software AutoDock Vina para cada sistema ligante-receptor. Para cada sistema molecular, selecionou-se a conformação de energia de afinidade (EA) com ligações quimicamente razoáveis (comprimentos adequados para ligações químicas).

Posteriormente, essas poses foram utilizadas como conformações iniciais em simulações no processo de dinâmica molecular. Além disso, uma visualização em 3D e resultados salvos no formato PDBQT foram obtidos usando o software Discovery Studio Visualizer 3.5 (BIOVIA, 2017).

#### **4.3 Dinâmica molecular: Interação entre proteínas do SARS-CoV-2 e carvão ativado**

Após o procedimento de docagem molecular, os arquivos de topologia dos complexos foram preparados para o Campo de Força AMBER ff14SB e o Campo de Força Geral Amber (GAFF) (MACHIREDDY *et al.*, 2017, CASE *et al.*, 2005). Nessa perspectiva, foram criadas três caixas octaédricas, com espaçamento de 10 Å entre o soluto com cada face do octaedro, com aproximadamente 16.188 moléculas de água TIP3P (MICHEAL *et al.*, 2014, MAO e ZHANG, 2012) solvatação dos sistemas. Então, para garantir a carga neutra dos sistemas, 8 íons Na<sup>+</sup> foram adicionados para neutralizar os terminais de aminoácidos.

Tal processo de solvatação também forneceu forças de Van Der Waals, bem como forças eletrostáticas iniciais para os sistemas. Condições de contorno periódicas usando o método da malha de partículas de Ewald (PME) (NETO *et al.*, 2013, DI PIERRO *et al.*, 2015) foram realizadas para garantir que o soluto (ligante-receptor) é imerso no solvente durante não apenas a minimização, mas também durante a dinâmica molecular.

A PME cria réplicas do sistema central em cada face do octaedro fazendo com que qualquer molécula que se mova no sistema da mesma forma seja replicada nas células, bem como se qualquer molécula cruzar os limites do octaedro, replicando-o retornará para o sistema central (ELFIKY e AZZAM, 2020, AMMAR *et al.*, 2020).

Como os resíduos adicionados não receberam inicialmente influência eletrostática do soluto, há grandes chances de ocorrerem lacunas, "espaços vazios", entre o soluto e o solvente, o que pode ser uma possível fonte de instabilidade nas etapas seguintes. Para reduzir a possibilidade de ocorrência de tais anomalias, é necessário proceder às duas fases de minimização antes do início da aplicação de dinâmica molecular.

Na primeira fase de minimização, foi utilizado o módulo PMEMD (CASE e CHEATHAM, 2005, LI *et al.*, 2018), que relaxa a estrutura movendo os átomos até que um gradiente médio suficientemente baixo seja obtido. Os sistemas são mantidos fixos com restrições de posição de  $209 \text{ kJ/mol.Å}^2$ , com um corte de  $10 \text{ Å}$  para truncar interações de Van Der Waals de longo alcance, com volume constante através do conjunto NVT, (KNYAZEV E LASHUK, 2008, MAHARAJ E SOLIMAN, 2013).

Assim, isso garante condições de contorno periódicas, e, apenas o solvente, assim como os íons, são otimizados para 20.000 ciclos, sendo 10.000 ciclos pelo algoritmo de descida mais íngreme e 10.000 ciclos pelo algoritmo do gradiente conjugado (KNYAZEV e LASHUK, 2008).

A segunda fase de otimização é minimizar todo o sistema usando uma combinação de métodos de descida mais íngremes e um gradiente conjugado. Neste caso, 30.000 ciclos de minimização foram realizados sem a restrição das posições atômicas do sistema devido à vibração molecular, dos quais 15.000 ciclos estão usando o algoritmo de descida mais íngreme e os 15.000 ciclos restantes usando o gradiente do algoritmo combinado com o resultante da energia do sistema como um todo, em kcal/mol.

As etapas de minimização são um procedimento que antecede a dinâmica molecular para fornecer um sistema soluto-solvente (complexos, íons e moléculas de água) com a energia global mínima necessária para a convergência na dinâmica molecular.

O sistema foi aquecido de 10K a 315K devido à temperatura média do corpo, com restrições vibracionais para o soluto (Complexo-ligante-íons) com uma força constante de  $83,60 \text{ kJ/mol.Å}^2$  e o solvente (moléculas de água) sem restrições (MAHARAJ e SOLIMAN, 2013). Os comprimentos de ligação dos átomos de hidrogênio foram restritos, com um corte de  $10 \text{ Å}$  para truncar as interações Van Der Walls. Posteriormente, os complexos foram submetidos ao equilíbrio do sistema, a uma temperatura constante de 300 K, por um tempo de 100 ps para que suas informações pudessem ser analisadas.

O sistema receptor-ligante foi construído com o módulo tLEaP (DEVANATHAN *et al.*, 2016). Todos os receptores foram descritos pelo campo de força ff14SB. Em seguida, na fase de equilíbrio do sistema, realizada em seis etapas, os sistemas foram submetidos a uma simulação com duração de 100 ps a uma pressão constante de 1 bar mantendo uma temperatura de 300K dentro do conjunto isotérmico (NPT) (SANTOS *et al.*, 2015).

O método PME foi aplicado para calcular as interações eletrostáticas e o algoritmo SHAKE para restringir ligações covalentes envolvendo hidrogênio. Utilizando a ferramenta CPPTRAJ (ZHEN *et al.*, 2017), foi possível extrair as informações necessárias para a criação de gráficos RMSD e tabelas de energia livre de Gibbs (CRUZ, *et al.*, 2018, JASZ *et al.*, 2017), tudo em função do tempo.

#### 4.3.1 Desvio Quadrado Médio da Raiz (RMSD)

O Desvio Quadrado Médio da Raiz(RMSD) indica o quanto a estrutura da proteína muda durante uma simulação, sendo a estrutura inicial, geralmente cristalográfica. Por meio do módulo do programa CPPTRAJ, foram extraídas as informações necessárias para a criação dos gráficos dos valores RMSD em função do tempo. Esses valores indicam os desvios das estruturas geradas durante a simulação em relação à estrutura inicial obtida através da docagem molecular, ou seja, a estabilidade e equilíbrio do sistema considerando a dimensão do tempo. A equação que o rege é:

$$\text{RMSD} = \sqrt{\frac{\sum_{i=0}^N [m_i(X_i - Y_i)^2]}{M}} \quad (27)$$

onde:

N é o número de átomos,  $m_i$  é a massa do átomo  $i$ ;

$X_i$  é o vetor coordenado para o átomo alvo  $i$ ;

$Y_i$  é o vetor coordenado para o átomo de referência  $i$  e  $M$  é a massa total do sistema.

Caso o RMSD não possua peso em massa, considera-se que todos  $m_i = 1$  e  $M = N$ .

O RMSD corresponde às conformações de um determinado conjunto de pontos já obtidos, fornecendo uma medida da diferença na posição inicial desses mesmos conjuntos. O objetivo deste cálculo é validar se as estruturas geradas com a dinâmica molecular estão em equilíbrio, fazendo uma comparação entre todas as estruturas obtidas durante o processo de dinâmica molecular, e suas posições em relação ao receptor.

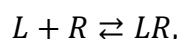
### 4.3.2 Energia Livre de Gibbs

A energia livre define as afinidades de ligação das interações proteína-proteína e proteína-ligante, e a eficiência das ligações possíveis também quantifica muitos outros processos importantes, como reações enzimáticas, transferência de elétrons (NOLL e HUGHES, 2018), transporte de íons através das membranas (GUIDELLI e BECUCCI, 2011) e a solvatação de pequenas moléculas (LINDLEY, 1967).

O método de MM/PBGBSA é utilizado para determinar a Energia livre de Gibbs, sendo resultado da combinação entre a metodologia de Mecânica Molecular de área superficial de Poisson-Boltzmann (MM-PBSA) com Mecânica Molecular de área superficial generalizada de Born (MM-GBSA), são usados tradicionalmente em simulações de biodinâmica em projetos de fármacos (KERRIGAN, 2013).

Usou-se os scripts MM/PBGBSA (LOZANO e FLEMING, 2006, VALERO *et al.*, 2012) incluídos no AmberTools 16.0 para executar automaticamente todas as etapas necessárias para estimar a energia de ligação livre do complexo usando tais métodos. No entanto, é geralmente aproximado que nenhuma mudança conformacional significativa ocorre após a conexão, de modo que instantâneos das três espécies podem ser obtidos a partir de uma única trajetória (RIFAI *et al.*, 2019).

As interações entre a estrutura de carvão (ligante) e as proteínas (S-pro e M-pro, receptor) podem ser representadas da seguinte forma por CAVALHEIRO *et al.* (2017):



onde:

Lé o ligante, R é o receptor, RL é ligação do complexo formado entre L e R.

A energia livre de Gibbs de ligação do complexo solvatado, pelo método MM-PB(SB)/SA é:

$$\Delta G_{\text{ligação,sol}}^0 = \Delta G_{\text{ligação,vacuó}}^0 + \Delta G_{\text{sol,complexo}}^0 - \Delta G_{\text{sol,ligante}}^0 - \Delta G_{\text{sol,receptor}}^0 \quad (28)$$

onde:

$\Delta G_{\text{ligação,sol}}^0$  é a energia livre de Gibbs da ligação do complexo solvatado;

$\Delta G_{\text{ligação,vacuó}}^0$  é a energia livre de Gibbs da ligação do complexo no vácuo;

$\Delta G_{\text{sol,complexo}}^0$  é a energia livre de solvatação do complexo;

$\Delta G_{\text{sol,ligante}}^0$  é a energia livre de solvatação do ligante;

$\Delta G_{\text{sol,receptor}}^0$  é a energia livre de solvatação do receptor.

E,

$$\Delta G_{\text{Ligação,vacuo}}^0 = \Delta E_{\text{MMolecular}}^0 - T \Delta S_{\text{analisenormal}}^0 \quad (29)$$

Sabe-se que:

$$\Delta E_{\text{MMolecular}}^0 = \Delta E_{\text{interna}} + \Delta E_{\text{eletrostaica}} + \Delta E_{\text{VDW}} \quad (30)$$

Por definição:

$$\Delta G_{\text{sol,complexo}}^0 - \Delta G_{\text{sol,ligante}}^0 - \Delta G_{\text{sol,receptor}}^0 \approx \Delta G_{\text{sol}}^0 \quad (31)$$

$$\Delta G_{\text{sol}}^0 = G_{\text{eletrostatica},\varepsilon=80}^0 - G_{\text{eletrostatica},\varepsilon=1}^0 + \Delta G_{\text{hidrofóbico}}^0 \quad (32)$$

Sabe-se que:

$G_{\text{eletrostatica},\varepsilon=80}^0 - G_{\text{eletrostatica},\varepsilon=1}^0$  é o componente polar,

E,

$\Delta G_{\text{hidrofóbico}}^0$  é o componente não polar;

Define-se:

$$\Delta G^{\text{PB/GB}} = G_{\text{eletrostatica},\varepsilon=80}^0 - G_{\text{eletrostatica},\varepsilon=1}^0 = G_{\text{PB(GB)}}(X) = \frac{1}{2} \sum_{i,j \in X} q_i q_j g_{ij}^{\text{PB/GB}} \quad (33)$$

E,

$$\Delta G_{\text{SA}} = \Delta G_{\text{hidrofóbico}}^0. \quad (34)$$

E, ao se substituir as eqs. (33) e eq. (34) na eq. (32):

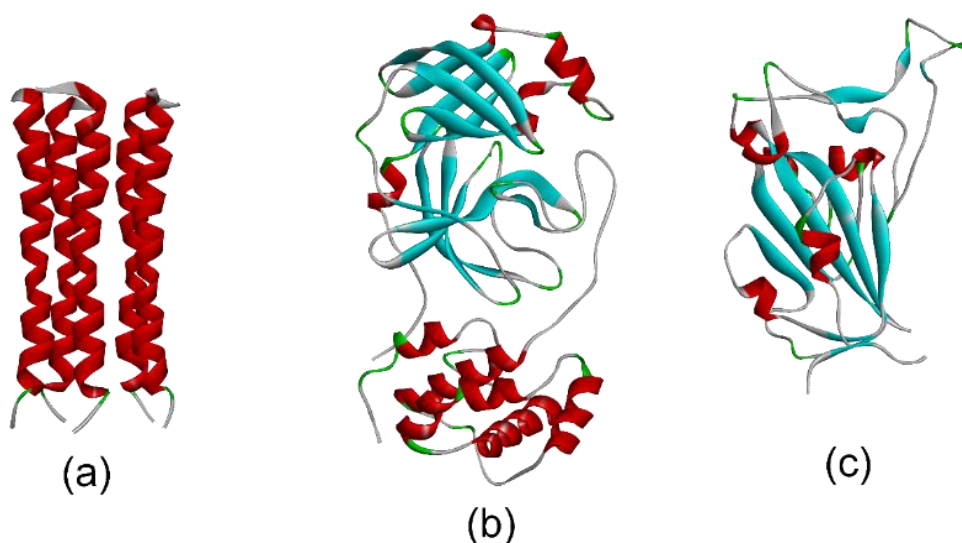
$$\Delta G_{\text{sol}}^0 = \Delta G^{\text{PB/GB}} + \Delta G_{\text{SA}} \quad (35)$$

#### 4.4 Preparação para simulação: Interação entre proteínas do SARS-CoV-2 e fármacos e componentes da *Libidibia ferrea*

As proteases E-pro, M-pro e S-pro respectivamente (PDB ID: 7K3G, 6LU7, 6VSB), foram recuperadas do repositório Protein Data Bank (PDB) (BERMAN *et al.*, 2003). As estruturas dos receptores foram otimizadas utilizando o software Chimera 1.15.6 (CHM) (YANG *et al.*, 2012). Usou-se o CHM como uma função de realização escalar com o propósito de otimizar para possibilitar múltiplos alvos. A figura 4.3 demonstra as estruturas usadas no presente trabalho.

O campo de força AMBERff14sb (MAIER *et al.*, 2015) foi aplicado, para se obter a melhor conformação com base no conjunto, onde também calculamos as cargas de potencial eletrostático restrito (RESP) (BAYLY *et al.*, 1993, WOODS e CHAPPELLE, 2000).

Figura 4.3: Estruturas dos receptores: a) E-pro, b) M-pro e c) S-pro.

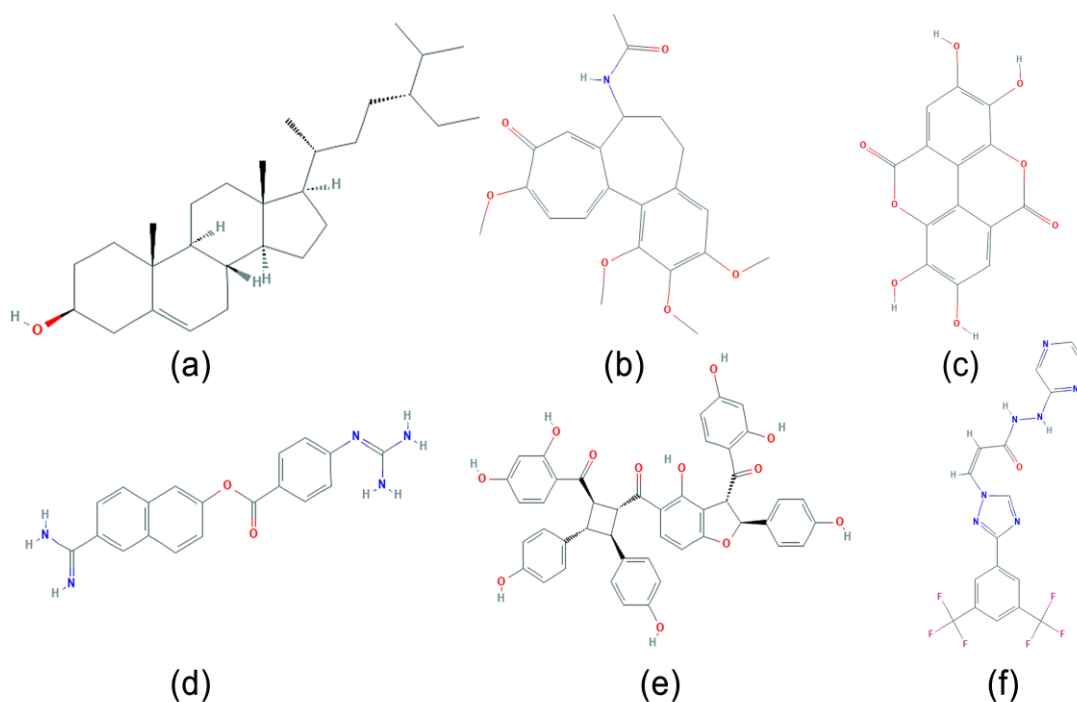


Fonte: Protein Data Bank.

Os seis ligantes foram selecionados do banco de dados PubChem, que foram otimizados por Gaussian 09W (FRISCH *et al.*, 2009) usando a Teoria Funcional da Densidade (DFT) (NETO *et al.*, 2013, MACHADO *et al.*, 2009) com B3LYP/6-311 ++ (d, p) (MARTINS *et al.*, 2021, AROUCHE *et al.*, 2021). A figura 4.4 apresenta as estruturas dos ligantes.



Figura 4.4: Ligantes: a) Colchicina, b) Ácido Elágico, c) Nafamostato, d) Pauferrol A, e) Selinexor e f) Sitosterol.



#### 4.5 Docagem molecular: Interação entre proteases do SARS-CoV-2 e fármacos e componentes da *Libidibia férrea*

A docagem molecular foi realizada usando o servidor SwissDock (SWD) (SANTOS, *et al.*, 2015). Nesse cálculo, os ligantes foram considerados flexíveis, enquanto os receptores foram tratados como uma estrutura rígida. Nessas interações, consideramos a mudança da energia de afinidade em kcal/mol.

Os seis ligantes investigados originaram 250 posições, que interagem com as macroestruturas por meio de algoritmo de docagem do SWD. A melhor posição para cada sistema ligante-receptor (sistema de menor energia) foi selecionada (GROSDIDIER *et al.*, 2009 GROSDIDIER *et al.*, 2011), analisando-se as conformações. O SWD avaliou a energia de afinidade da ligação estabelecida usando uma função com base no campo de força CHARMM22 (BROOKS *et al.*, 2009, MACKERELL *et al.*, 2000).

A energia potencial,  $U(R)$  é uma soma de termos que compõem as contribuições internas com as de não-ligações, em função das coordenadas atômicas, conforme mostrado na equação (36) (BROOKS *et al.*, 2009):

$$\begin{aligned}
U(R) = & \sum_{\text{ligação}} K_b(b - b_0)^2 + \sum_{\text{angular}} K_\theta(\theta - \theta_0)^2 + \sum_{\text{Urey-Bradley}} K_{UB}(S - S_0)^2 + \\
& + \sum_{\text{diedrais}} K_\varphi(1 + \cos(n\varphi - \delta)) + \sum_{\text{impróprios}} K_\omega(\omega - \omega_0)^2 + \\
& + \sum_{\text{parênão-ligado}} \varepsilon_{ij}^{\min} \left[ \left( \frac{R_{ij}^{\min}}{r_{ij}} \right)^{12} - 2 \left( \frac{R_{ij}^{\min}}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \frac{q_i q_j}{4\pi\varepsilon_0\varepsilon r_{ij}} + \sum_{\text{resíduos}} U_{CMAP}(\varphi, \psi)
\end{aligned} \tag{36}$$

## 5 Resultados e discussão

### 5.1 Análise da docagem molecular: interação entre as proteínas do SARS-CoV-2 e o carvão ativado

As duas estruturas moleculares do carvão ativado foram consideradas flexíveis e os receptores S-pro e M-pro foram tratados como corpos rígidos, e com isso, o espaço de busca torna-se limitado, considerando apenas três graus de liberdade de translação e três graus de rotação para o ligante. Nesse caso, a flexibilidade da ligação pode ser abordada usando um conjunto pré-calculado de conformações de ligação ou permitindo um grau de sobreposição átomo-átomo entre a proteína e o ligante.

As energias de ligação (BHATTACHARJEE *et al.*, 2015) entre essas moléculas demonstraram a formação de um complexo favorável uma vez que as energias de afinidade obtiveram valores relativamente baixos.

O estudo de docagem molecular é muito importante para prever as interações moleculares entre o ligante e o receptor, que podem prever a reativação das moléculas no ambiente enzimático. A investigação da docagem sugere que os ligantes têm potencial de intercalação para formar um complexo com os dois receptores, os compostos dentro de M-pro e S-pro formando complexos com EA negativas.

Assim, considerando tais interações, os resultados de docagem revelaram interações com o denominado sítio de protease ativo, onde existe uma maior chance de adesão aos alvos moleculares em questão. Analisando as distâncias das interações interatômicas e a partir dos resultados de EA, observa-se que o modo de interação predito pelas posições do CANMO e do CAMO pode indicar que possuem alta capacidade de adsorção.

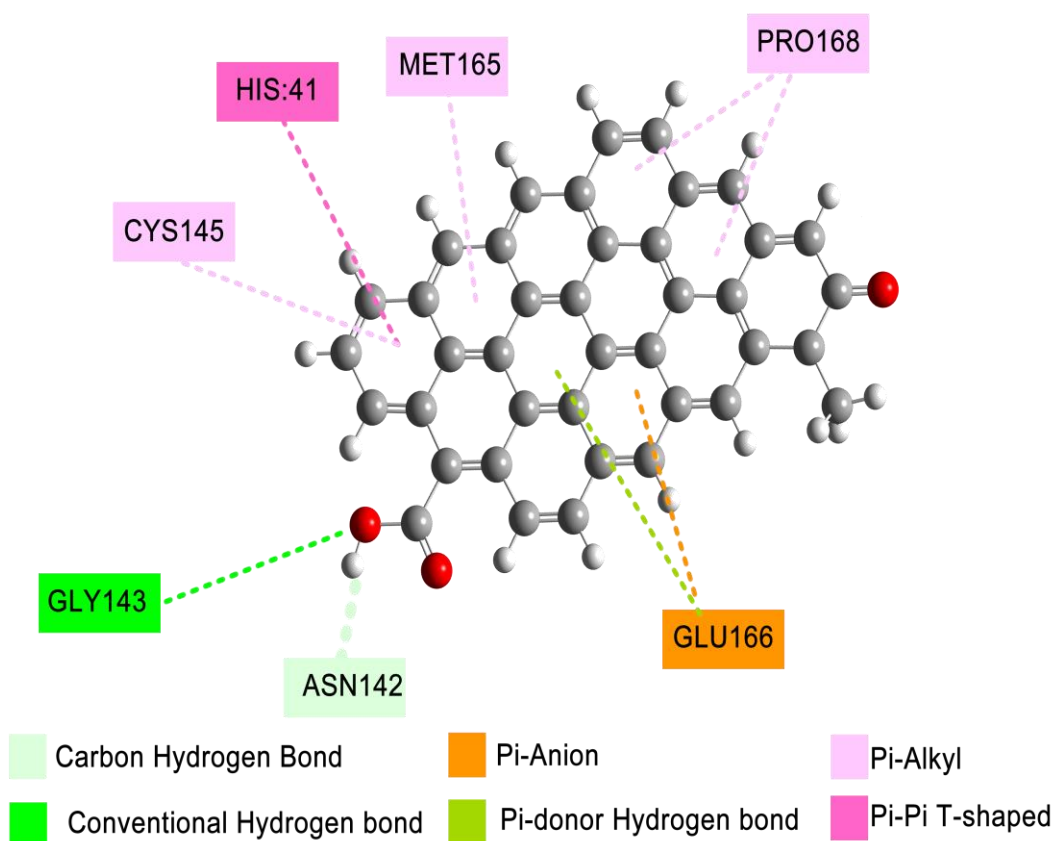
A posição final em cada sistema foi escolhida com base na localização da energia de afinidade mais favorável. Os valores obtidos para a EA originadas da estrutura do ligante CANMO com a M-pro foi de -42,68 kJ/mol e de -46,86 kJ/mol para a S-pro, respectivamente.

Dentre as 20 conformações obtidas, aquela com o menor valor de energia de ligação foi a conformação 1, na qual ocorreram interações com a protease M-pro e os resíduos CYS145, HIS41, MET165, PRO168, GLY143, ASN142 e GLU166.

Os principais resíduos de aminoácidos ligados a S-pro são GLU516, PHE155, PHE464, LYS462, PRO463, PRO426. Outro aspecto importante a ser observado é que o sítio catalítico do S-pro possui características hidrofóbicas.

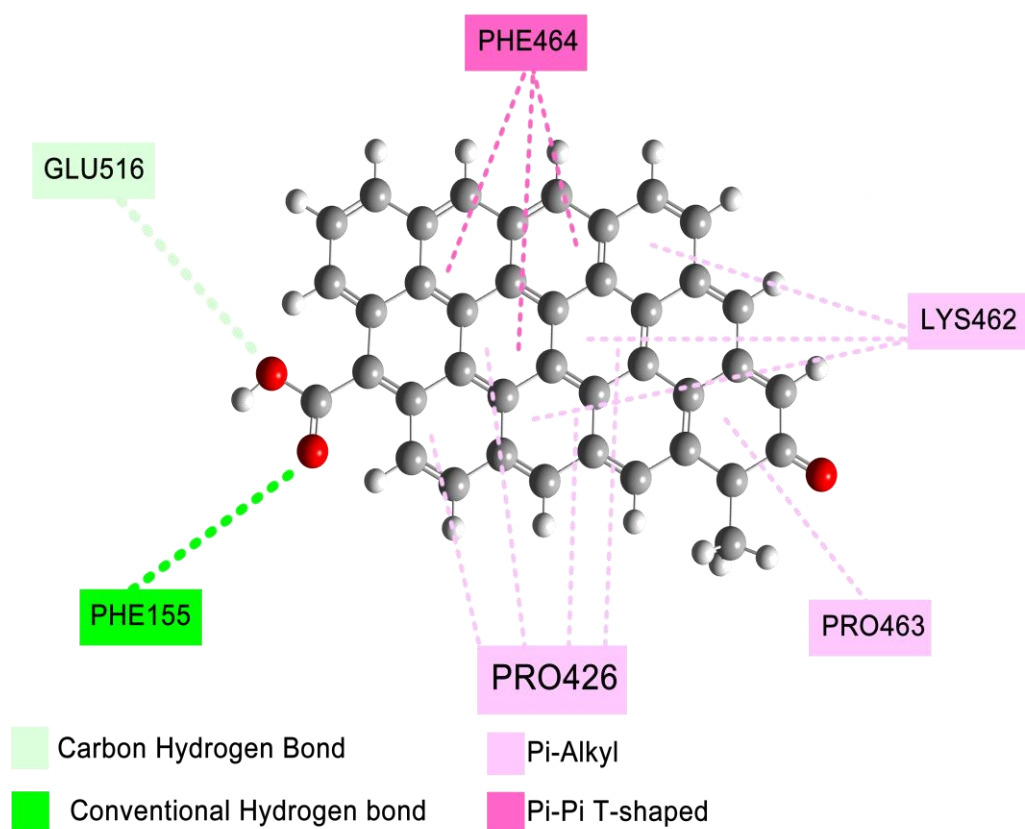
É possível se analisar as interações estabelecidas entre o CANMO e M-Pro por meio da figura 5.1.

Figura 5.1: CANMO interagindo com M-pro.



A interação do CANMO com a S-pro é observada na figura 5.2. Assim, considerando as distâncias dessas interações, os resultados da docagem demonstraram quatro tipos de ligações com o sítio ativo da S-pro, onde pode haver maior afinidade de interação. As ligações de hidrogênio podem induzir mudanças na estrutura do S-pro. As principais interações moleculares e EA calculados são os fatores utilizados para avaliar a confiabilidade do complexo previsto, e o processo de docagem identificou uma conformação mais favorável.

Figura 5.2: CANMO interagindo com S-pro.



Por outro lado, a energia de ligação mais favorável para CAMO para os dois receptores foi de -43,93 kJ/mol interagindo com M-pro e de -45,60 kJ/mol com S-pro, respectivamente. A molécula de CAMO possui certo grau de liberdade translacional, vibracional e rotacional, e, a docagem acoplou esses parâmetros ao sítio ativo dos receptores estudados. Portanto, as interações são capazes de produzir alterações na conformação do ligante com a presença de interações do tipo pi-ânion.

Assim, essa característica pode estar relacionada ao fato do CAMO possuí-la, o que favorece dipolos elétricos em sua estrutura, devido à presença de O<sub>3</sub>. Nas figuras 5.3 e 5.4, é possível visualizar as interações estabelecidas entre o CAMO e resíduos das proteases.

Figura 5.3: CAMO interagindo com M-pro.

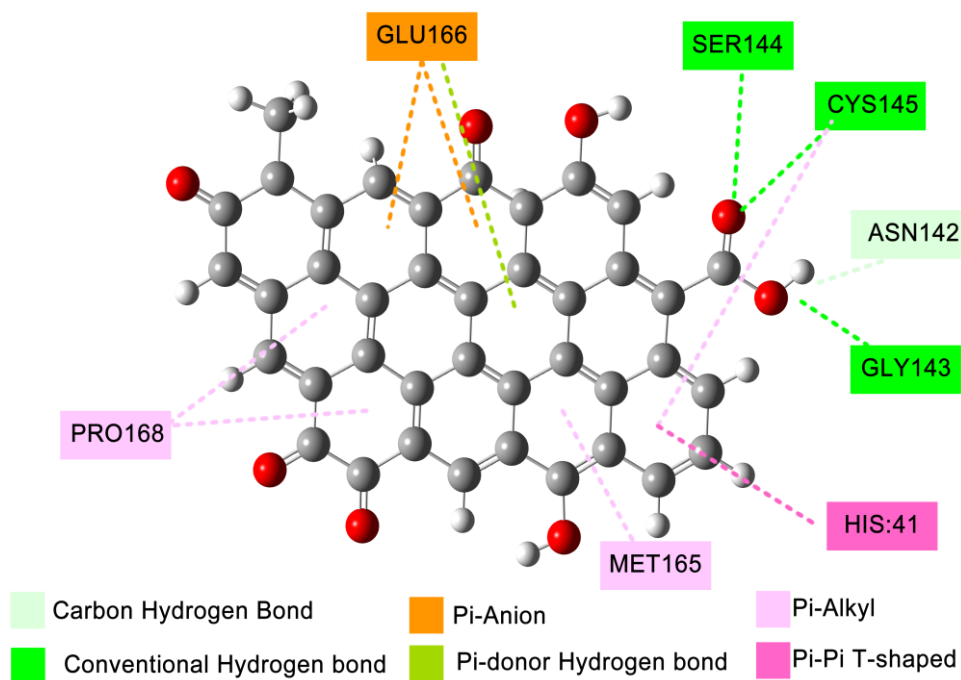
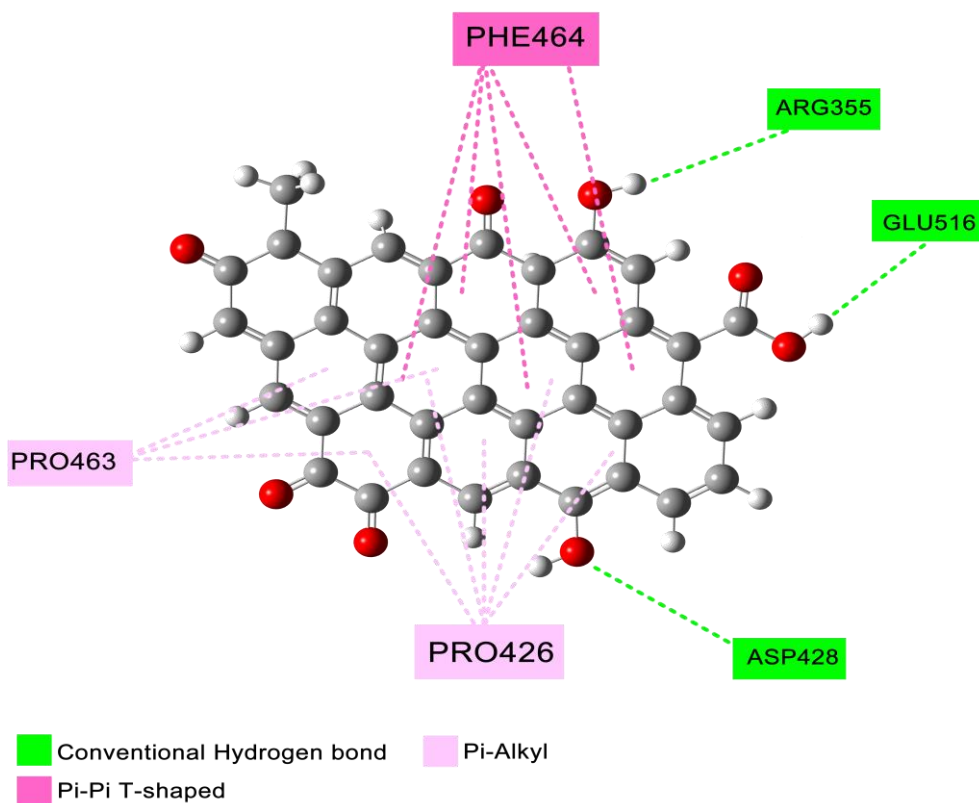


Figura 5.4: CAMO interagindo com S-pro.



Analisando as interações obtidas após aplicação da metodologia, observa-se que o modo de interação previsto com as posições dos compostos selecionados desempenha um papel crucial sobre o CAMO, principalmente a interação com a S-pro, visto que é importante ressaltar que o sítio catalítico de S-pro tem características hidrofóbicas, e o modo de ligação previsto pelo cálculo de docagem para esta protease sugere CAMO como um candidato potencial para adsorver esta protease. O valor da EA indica que esta interação pode ser mais fácil de agregar.

Os resultados da docagem demonstraram que as forças das ligações de hidrogênio com os resíduos de aminoácidos ARG355, GLU516, ASP428 e as forças de Van Der Waals podem fortalecer a interação. O CAMO se liga a oito aminoácidos do M-pro, formando ligações de hidrogênio, interações eletrostáticas e hidrofóbicas e com S-pro, ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas. O CAMO pode se ligar aos sítios ativos da interface da proteína, desempenhando um papel crucial na interação.

As tabelas 5.1 e 5.2 apresentam as características das interações como a natureza das ligações interatômicas e a distância de interação das M-pro com os carvões ativados do tipo CANMO e CAMO respectivamente. As tabelas 5.3 e 5.4 demonstram as interações das ligações interatômicas e a distância de interação das S- com os carvões ativados do tipo CANMO e CAMO.

O processo de adsorção envolve diferentes mecanismos: interações de Van Der Waals, ligações de hidrogênio, interações eletrostáticas e interações hidrofóbicas, e, depende da natureza do complexo formado entre ligante e receptor. Os grupos polares dos receptores tendem a interagir com os grupos polares na superfície do carvão ativado usando hidrogênio, dipolo permanente e ligações dipolo-dipolo induzidas, que são processos dirigidos por entalpia, enquanto as porções não polares das moléculas são adsorvidas na superfície basal do carvão ativado por meio de interações hidrofóbicas, como pode ser visto nas tabelas a seguir.

Segundo CERMAKOVA *et al.* (2017) apontam que a adsorção de resíduos das proteínas ao interagirem com o carvão ativado ocorre de forma complexa, com muitos fatores que devem ser considerados. Observaram interações hidrofóbicas, interações eletrostáticas e ligações de hidrogênio. O pH do meio é apontado como responsável por afetar as cargas do adsorbato e do adsorvente, determinando qual das forças interatômicas controla o processo. Meio básico são adsorvidos por cargas negativas de carbono

controlados pelas interações eletrostáticas. E, as interações hidrofóbicas controlam a adsorção independentemente do pH.

No presente trabalho as interações abordadas são as ligações de hidrogênio, interações eletrostáticas e interações hidrofóbicas. E, varia de acordo com o conjugado formado entre proteína e adsorvente.

As moléculas que possuem o tipo de interação hidrofóbica estão intimamente justapostas. Isso é, energeticamente desfavorável e resulta na associação máxima de moléculas hidrofóbicas em um solvente aquoso, ou seja, na formação de interações hidrofóbicas. A energia da formação de interações hidrofóbicas transforma aminoácidos de cadeias laterais hidrofóbicas em proteínas, na maioria dos casos; este é um componente muito importante do dobramento adequado de proteínas.

Tabela 5.1: M-pro com CANMO.

Resíduo proteico	Cor	Distância (Å)	Forças intermoleculares	Descrição da ligação
GLY143		1,320	Ligação de hidrogênio	Ligação convencional de hidrogênio
ASN142		1,321	Ligação de hidrogênio	Ligação de hidrogênio com carbono
GLU166		2,851	Eletrostática	Pi -ânion
GLU166		2,115	Ligação de hidrogênio	Ligação de hidrogênio do tipo Pi -doador
HIS41		3,201	Hidrofóbica	Pi – Pi em formato T
PRO168		2,403	Hidrofóbica	Pi -alquil
PRO168		2,927	Hidrofóbica	Pi -alquil
MET165		3,207	Hidrofóbica	Pi -alquil
CYS145		3,425	Hidrofóbica	Pi -alquil

Ao se analisar as forças intermoleculares atuantes sobre as interações do complexo proteína-ligante, comparando-se os resultados obtidos para o CANMO (tabela 5.1) aos do



CAMO (tabela 5.2), é possível identificar um aumento na quantidade ligação de hidrogênio e de interações eletrostáticas, além da diminuição das interações hidrofóbicas. Atribui-se ao fato do aumento de grupos oxigenados favorecerem ligações com hidrogênio.

Tabela 5.2: M-pro com CAMO.

Resíduo Proteico	Cor	Distância (Å)	Forças intermoleculares	Descrição da a ligação
GLY143		1,107	Ligação de hidrogênio	Ligação convencional de hidrogênio
SER144		1,903	Ligação de hidrogênio	Ligação convencional de hidrogênio
CYS145		2,131	Ligação de hidrogênio	Ligação convencional de hidrogênio
ASN142		2,409	Ligação de hidrogênio	Ligação convencional de hidrogênio
GLU166		2,107	Eletrostática	Pi -Anion
GLU166		2,305	Eletrostática	Pi -Anion
GLU166		2,183	Ligação de hidrogênio	Ligação de hidrogênio do tipo Pi -doador
HIS41		2,003	Hidrofóbica	Pi – Pi em formato T
PRO168		2,532	Hidrofóbica	Pi -alquil
PRO168		1,047	Hidrofóbica	Pi -alquil
MET165		2,150	Hidrofóbica	Pi -alquil

Nesse sentido, podemos observar que a interação do tipo ligação de hidrogênio são geradas com o CAMO, em ambos os sítios catalíticos dos receptores, contribuindo parcialmente à análise de desempenho adsorptivo e a distâncias de ligação. Por outro lado, a superfície do carvão ativado é heterogênea, composta por regiões hidrofóbicas e hidrofílicas, com uma variedade de grupos funcionais que são principalmente oxigenados.

As tabelas 5.3 e 5.4 apresentam a natureza das forças intermoleculares, a descrição das mesmas e a distância de ligação estabelecida entre a S-pro e os ligantes CANMO e o CAMO respectivamente.

Tabela 5.3: S-pro com CANMO.

<b>Resíduo Proteico</b>	<b>Cor</b>	<b>Distância (Å)</b>	<b>Forças intermoleculares</b>	<b>Descrição da ligação</b>
PHE515		1,069	Ligação de hidrogênio	Ligação convencional de hidrogênio
GLU516		2,495	Ligação de hidrogênio	Ligação de hidrogênio com carbono
PHE464		3,970	Hidrofóbica	Pi – Pi em formato T
PHE464		3.101	Hidrofóbica	Pi – Pi em formato T
PHE464		3,951	Hidrofóbica	Pi – Pi em formato T
LYS462		3,363	Hidrofóbica	Pi -alquil
PRO463		3,994	Hidrofóbica	Pi -alquil
PRO426		3,393	Hidrofóbica	Pi -alquil
PRO463		2,833	Hidrofóbica	Pi -Alquil
PRO463		2,410	Hidrofóbica	Pi -alquil
PRO426		2,284	Hidrofóbica	Pi -alquil
PRO463		3,419	Hidrofóbica	Pi -alquil
PRO426		3,142	Hidrofóbica	Pi -alquil
PRO426		2,076	Hidrofóbica	Pi -alquil

Tabela 5.4: S-pro com CAMO.

Resíduo de Proteínas	Cor	Distância (Å)	Forças intermoleculares	Descrição da ligação
ARG355		2,072	Ligação de hidrogênio	Ligação convencional de hidrogênio
ASP428		1,536	Ligação de hidrogênio	Ligação convencional de hidrogênio
GLU516		1,790	Ligação de hidrogênio	Ligação convencional de hidrogênio
PHE464		2,184	Hidrofóbica	Pi – Pi em formato T
PHE464		3,090	Hidrofóbica	Pi – Pi em formato T
PHE464		2,283	Hidrofóbica	Pi – Pi em formato T
PHE464		2,205	Hidrofóbica	Pi – Pi em formato T
PHE464		1,397	Hidrofóbica	Pi – Pi em formato T
PRO463		2,107	Hidrofóbica	Pi -alquil
PRO426		2,406	Hidrofóbica	Pi -alquil
PRO463		1,045	Hidrofóbica	Pi -alquil
PRO426		2,923	Hidrofóbica	Pi -alquil
PRO463		1,198	Hidrofóbica	Pi -alquil
PRO426		2,136	Hidrofóbica	Pi -alquil
PRO426		1,225	Hidrofóbica	Pi -alquil
PRO426		1,999	Hidrofóbica	Pi -alquil

Analisando as tabelas 5.3 e 5.4 pode-se notar que as interações do complexo formado entre receptor e ligante é estabelecida na ausência de interações eletrostáticas, e,

com destaque a hidrofobicidade presente, mesmo se obtendo maior número de hidrogênio na adsorção com o CAMO.

Este comportamento é relatado por XIE *et al.* (2020) ao observar que o principal mecanismo de interação entre a S-pro e diversas superfícies em meio aquoso é considerada basicamente como interação do tipo hidrofóbica. Embora, na ausência de solução aquosa, ou seja, em ar apenas, poderia ocorrer o controle do mecanismo através de interações eletrostáticas.

Os resultados obtidos nas tabelas 5.3 e 5.4 estão intimamente ligados ao local da ligação do receptor. Neste estudo, eles podem ser aplicados para otimizar as capacidades de adsorção do carvão modificado com ozônio. A superfície do CAMO influenciou fortemente a capacidade geral de adsorção do carvão, uma vez que ambos os carvões possuem redes porosas idênticas, mas com diferentes funcionalidades de oxigênio, exibiram distâncias médias de ligação mais curtas nas simulações.

A presença da modificação com oxigênio diminuiu a extensão das interações dispersivas devido à natureza de aceitação de elétrons dos grupos de superfície. Conseqüentemente, o caráter hidrofóbico/hidrofílico do adsorvente é importante, uma vez que controla o processo de adsorção.

A influência da estrutura química do adsorvente é notada ainda na existência do tipo de ligação estabelecida, pois as interações do tipo pi são dominantes nas especificações das interações.

E, segundo TEHRANI e KIM (2016) definem os sistemas do tipo pi são interações de natureza atrativa e não covalente que surgem devido a nuvem eletrônica criada pelo spin do tipo pi existente em compostos aromáticos e proteínas, por exemplo, estabelecendo-se ligações não-covalentes com diversos sistemas moleculares. Vários tipos de interações do tipo pi incluem hidrogênio-pi, pi-cátion, pi - pi e pi - ânion, dentre outras interações. Nas últimas décadas, as interações pi foram extensivamente estudadas devido à aplicação em complexos de proteínas, embalagem de cristal, nanomateriais e dispositivos eletrônicos, dentre outros.

TOOR *et al.* (2021) identificaram as interações pertinentes entre a S-pro (SARS CoV-2) e o ligante ACE2 como predominantemente do tipo interação de hidrogênio, e, as interações do tipo pi ocorrem em menor quantidade, formando interações entre o receptor e ligante mais afastados. O que justificaria a estabilidade formada entre o complexo S-

ACE2, pois as ligações do tipo pi são mais fracas, pois estabelecem-se a maiores distâncias.

## **5.2 Análise de dinâmica molecular e RMSD: interação entre as proteínas do SARS-CoV-2 e o carvão ativado**

As simulações em dinâmica molecular descritas permitem que os átomos do sistema atinjam velocidades compatíveis com o equilíbrio térmico. Além disso, a restrição da posição dos átomos dos receptores e ligantes permite que as moléculas de água se organizem de maneira ideal ao longo da superfície do complexo. As simulações de foram concluídas quando o tempo de simulação atingiu 100 ns.

Os resultados obtidos da variação de RMSD, são demonstrados nas figuras 5.5, 5.6, 5.7 e 5.8, gerados pelo programa Xmgrace. Ao observar essa figura, podemos ver as posições dos complexos (receptor com ligante) durante 100 ns das quatro simulações, que durante o tempo de simulação não variaram acima de 3,5 Å. Em geral, os ligantes também apresentaram comportamento diferente quando comparados os valores de RMSD.

Nas figuras 5.5, 5.6, 5.7 e 5.8, houve muitas mudanças significativas nas posições dos carvões, dadas pela diferença em suas estruturas. Houve uma tendência maior de estabilização para o CAMO no M-pro (figura 5.7), onde se nota a tendência de estabilidade, diferente da figura 5.5. Para o S-pro, o comportamento é semelhante ao do crescimento RMSD para carvão sem ativação, e uma tendência para estabilidade e valores RMSD mais baixos ao usar CAMO com alguns desvios.

O ligante foi posicionado no local ativo dos receptores na maior parte do tempo de simulação. Podemos relacionar esse comportamento aos diversos hidrogênios e às interações hidrofóbicas que ocorreram entre o ligante e os aminoácidos da protease. As figuras 5.5, 5.6, 5.7 e 5.8 mostram o RMSD em função do tempo sobre a estrutura inicial de todos os complexos.

Os complexos apresentaram tendência de desvio semelhante até o final da simulação. A interação eletrostática desempenha um papel importante na estabilidade dinâmica do complexo proteína-ligante. Variações no RMSD das estruturas foram usadas para ilustrar a flutuação da conformação em torno da média e são uma ferramenta poderosa para estudar a estabilidade de proteínas na simulação de dinâmica molecular.

Figura 5.5: RMSD versus tempo para CANMO com M-pro.

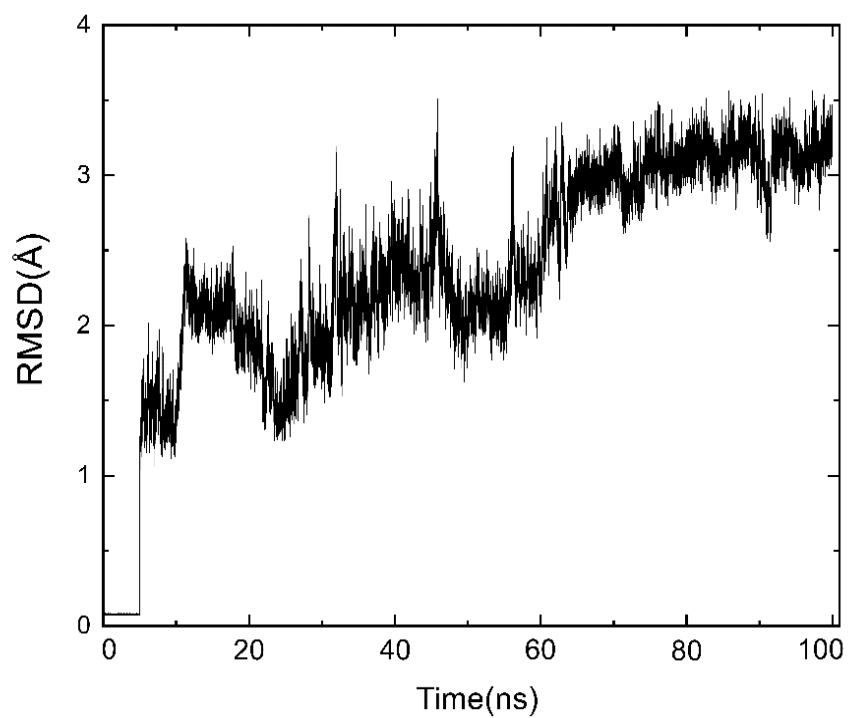


Figura 5.6: RMSD versus tempo para CANMO com S-pro.

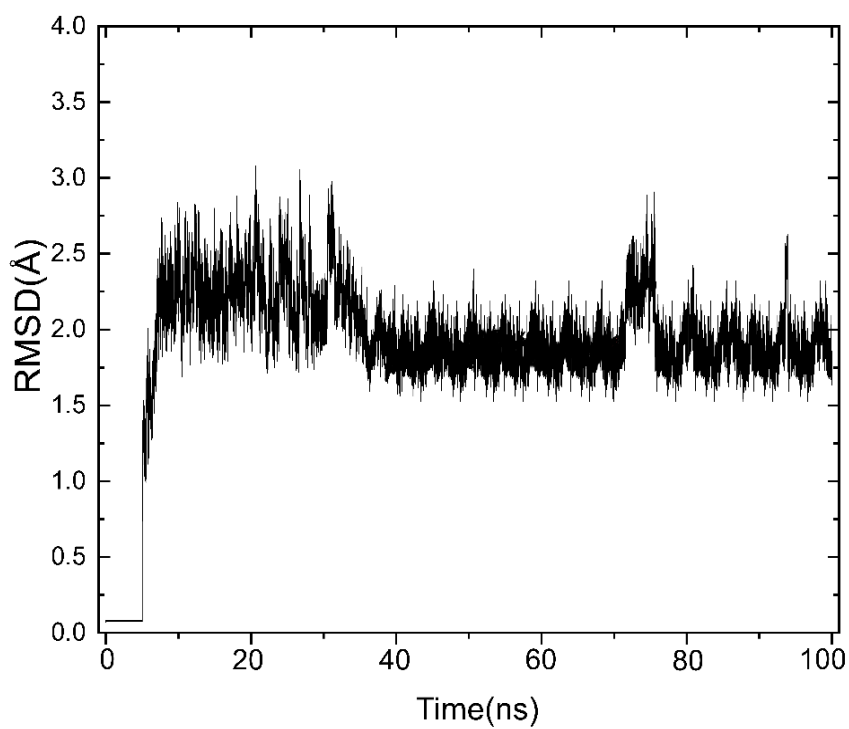


Figura 5.7: RMSD versus tempo do carvão CAMO com M-pro.

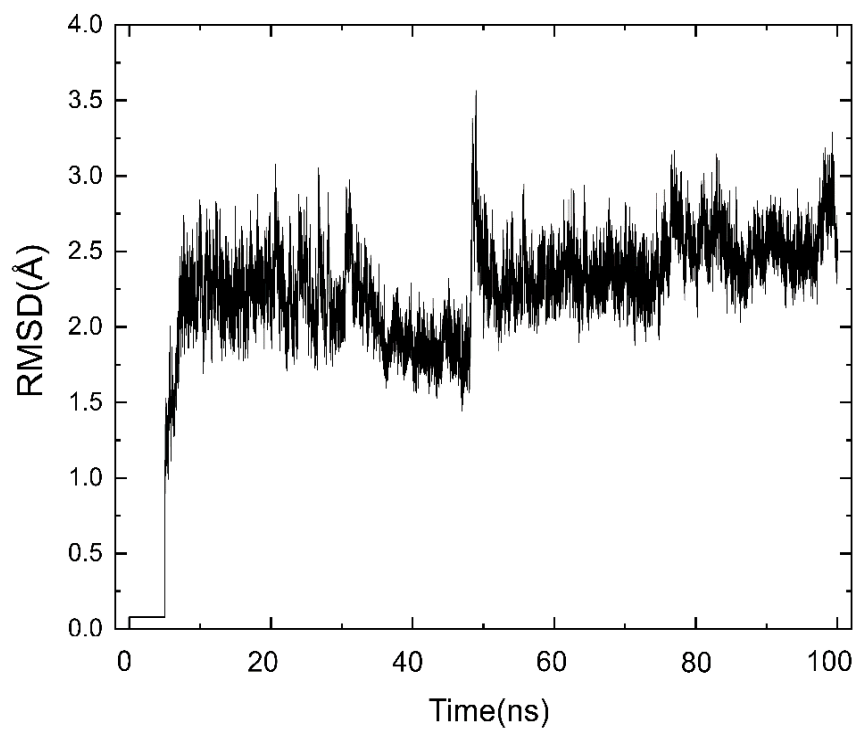
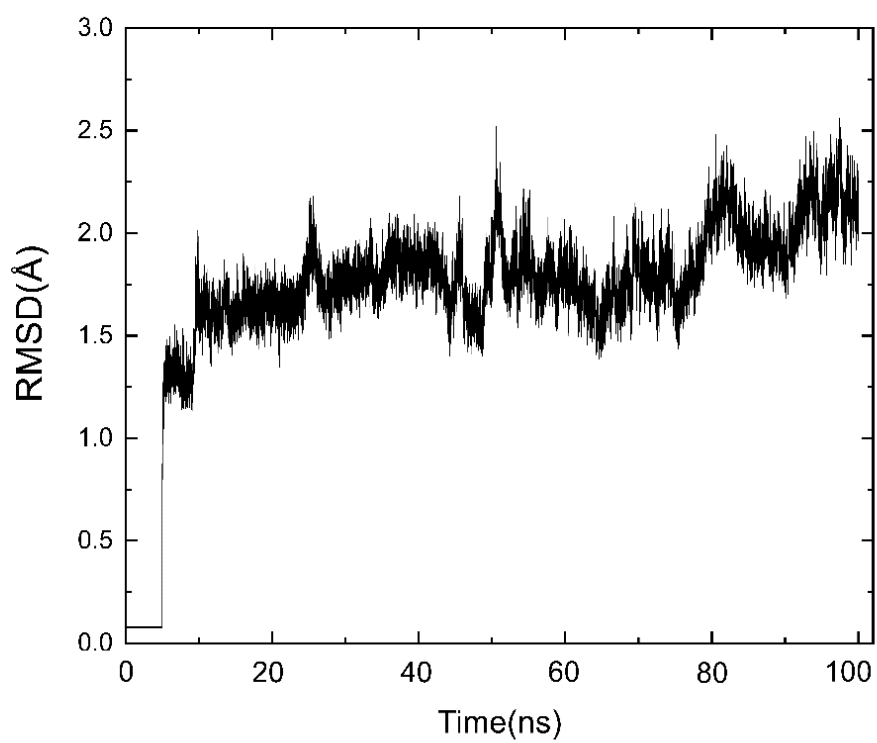


Figura 5.8: RMSD versus tempo do carvão CAMO com S-pro.



### 5.3 Análise de energia livre de Gibbs: interação entre as proteínas do SARS-CoV-2 com o carvão ativado

A energia livre de formação de Gibbs da ligação ( $\Delta G_{\text{ligação}}^0$ ) de cada complexo foi calculada pela simulação de dinâmica molecular usando parâmetros previamente determinados do software AMBER16. As trajetórias da dinâmica dos complexos hídricos explícitos foram tratadas usando os cálculos MMPBSA e MMGBSA. Verificou-se que os valores de entalpia de formação de CANMO e do CAMO pela dinâmica são apresentados na Tabela 5.5.

A contribuição de Van Der Walls, a energia eletrostática calculada por um campo de força (EEL), representam a contribuição eletrostática para a energia livre de Gibbs de solvatação  $\Delta G_{\text{ligação,solv}}^0$  calculada por (PB e GB)/SA e a energia livre de Gibbs de ligação calculada estimada ( $\Delta G_{\text{ligação}}^0$ ) são relatadas pela literatura em kcal/mol, com dados de simulação no solvente explícito, em conjunto com MMPBSA. Dados originados na presente pesquisa demonstram que o método de dinâmica molecular fornece uma previsão surpreendentemente boa da estabilidade da interação.

Avaliando as vantagens e limitações dos cálculos *in silico*, também seria interessante analisar a correlação dos valores obtidos experimentalmente com os calculados pela simulação de dinâmica molecular. Os valores de ( $\Delta G_{\text{ligação}}^0$ ) negativo destaca a espontaneidade da reação em meio aquoso. A partir da energia livre de Gibbs de ligação negativa, vemos que as simulações do CAMO com o S-pro e o M-pro são complexos proteína-ligante com menor ( $\Delta G_{\text{ligação}}^0$ ) quando comparadas às simulações com o CANMO. Este último sistema indica desfavorecimento às interações, já que o carvão ativado modificado pela passagem de correntes de ozônio (O<sub>3</sub>) potencializada as interações com a água pura, e seus valores de  $\Delta G_{\text{ligação}}^0$  o representam.

A técnica de ( $\Delta G_{\text{ligação,solv}}^0$ ) fornece um pouco menos a energia de ligação, mas ainda sugere que este é um estado de ligação favorável. As energias livre de Gibbs de solvatação foram favoráveis em todos os casos. O algoritmo genético foi usado para ajustar os valores iniciais para reproduzir as energias livres de carga medidas a partir de simulações explícitas de ligante e receptor.

A Tabela 5.5 apresenta os resultados da energia Van Der Walls, potencial eletrostático, dentre as demais contribuições para o complexo, receptor-ligante e a soma



de todos os termos, gerando ( $\Delta G_{\text{ligação}}^0$ ). Os resultados mostram todos os valores calculados de cada componente das energias de livres de Gibbs de solvatação molecular e as forças atômicas com os conjuntos comumente usados como parâmetros contínuos, em kJ/mol.

O maior valor absoluto de ( $\Delta G_{\text{ligação}}^0$ ) foi para o sistema M-Pro + CAMO, em tal sistema existem interações intermoleculares e trocas de calor complexas, e a relação entre essas substâncias e a transferência de calor está relacionada a várias mudanças energéticas ditadas por leis termodinâmicas.

Tabela 5.5: Energias livre de Gibbs de ligação para proteases do SARS-CoV-2 com CANMO e CAMO pelo método MM-PBGB/SA.

<b>Interação</b>	<b>EVDW (kJ/mol)</b>	<b>EEL (kJ/mol)</b>	<b>E(PB/GB) (kJ/mol)</b>	<b>(<math>\Delta G_{\text{ligação}}^0</math>) kJ/mol)</b>
M-Pro +CANMO	-2,4745	-524,7363	438,3189	-86,4674
S-Pro + CANMO	-268,5650	-1145,0023	1149,6170	-75,7248
M-Pro + CAMO	-0,2859	-595,7461	517,8811	-202,8554
S-Pro + CAMO	-240,5924	-810,8113	827,7570	-162,5267

Como resultado, as forças motrizes que ditam a associação entre a proteína e os ligantes são um resultado sintético de várias interações e trocas de energia entre a proteína, o ligante, a água e os íons. O ( $\Delta G_{\text{ligação}}^0$ ) negativo determina a estabilidade de qualquer um dos complexos carvão-proteína ou a afinidade de ligação de um ligante e um receptor em questão. Deve-se notar que a energia livre de Gibbs é função dos estados de um sistema e, portanto, o ( $\Delta G_{\text{ligação}}^0$ ) é definido apenas pelos estados termodinâmicos final e inicial, independente do caminho que conecta esses dois estados.

Somente quando a mudança na energia livre de Gibbs do sistema (ligação) é negativa, a ligação proteína-ligante pode ocorrer espontaneamente. Em relação aos mecanismos físico-químicos, a diminuição da energia livre total de Gibbs do sistema

proteína-ligante-solvente demonstra que a ocorrência de ligação/interação é menor quanto mais positivo for o valor de ( $\Delta G_{\text{ligação}}^0$ ).

#### **5.4 Docagem molecular: interação entre proteínas do SARS-CoV-2 com fármacos e componentes da *Libidibia ferrea***

O estudo visa realizar a análise de docagem molecular como inibidores de estruturas de superfície SARS-CoV-2, sequenciado pelo estudo de interação molecular, para identificar quaisquer sítios de ligação, interações e energias de afinidade. Além de fornecer aos pesquisadores informações sobre esses potenciais inibidores.

Os resultados originados por docagem demonstraram a interação de seis ligantes com três estruturas de superfície das proteínas dos sítios ativos do SARS-CoV-2: M-pro, E-pro e S-pro. As estruturas dos medicamentos utilizadas foram retiradas do banco de dados DrugBank pelo método de triagem virtual para ligantes. A docagem foi realizada através do servidor SwissDock (SWD) onde é possível identificar os ligantes com a melhor energia de afinidade (EA) ao interagirem com as estruturas receptoras.

##### **5.4.1 Análise de docagem molecular para E-pro: interação entre proteínas do SARS-CoV-2 com fármacos e componentes da *Libidibia ferrea***

As figuras 5.9 a 5.14 mostram que a docagem molecular ocorreu no sítio catalítico da E-pro, as interações sendo restritas aos aminoácidos. A interação da E-pro com a Colchicina obteve seis interações do tipo pi-Alquil onde há uma interação da nuvem de elétrons sobre um grupo aromático e um conjunto de elétrons de qualquer grupo funcional Alquila gerando ligações do tipo hidrofóbicas. Além de uma interação de carbono e hidrogênio, que é uma ligação covalente, o que significa que o carbono compartilha seus elétrons de valência externos. Isso completa ambas as camadas externas, tornando o acoplamento estável.

O Ácido Elágico interagiu apenas com dois aminoácidos e apresentou apenas ligações pi-alquila. Nafamostatato mostrou 3 interações pi-Alquil. A interação com o Pauferrol A obteve seis interações do tipo pi-Alquila e três do tipo pi-cátion, essas interações moleculares não covalentes entre a face de um sistema pi, abundante de

elétrons, origina energias de ligação que são significativas, com os valores da fase de solução na mesma ordem de magnitude das ligações.

Semelhante a essas outras ligações não covalentes, as interações do tipo pi-cátion desempenham um papel importante na natureza, particularmente na estrutura das proteínas, na recodificação molecular e na catálise enzimática. Com a estrutura Selinexor, obtivemos três interações do tipo halogênio (flúor) que ocorrem quando há evidência de uma interação atrativa líquida entre uma região eletrofílica associada a um átomo de halogênio com estrutura molecular e uma região nucleofílica em outra, ou a mesma entidade molecular .

Obtivemos, também seis interações pi-Alquila e uma interação de metal receptor que envolve a interação do metal e a face de um sistema pi, neste caso, o metal, pode ser um cátion (conhecido como interação pi-cátion) ou neutro. O Sitosterol apresentou oito interações do tipo pi-Alquila. Para todas as interações com E-pro, tais conexões exibiram valores de energia mais favoráveis. Isso porque esses grupos se adaptam melhor ao sítio ativo da proteína, facilitando a interação com os aminoácidos presentes. Assim, esses seis ligantes apresentaram os menores valores de energia de afinidade.

Figura 5.9: Docagem molecular entre E-pro e a Colchicina.

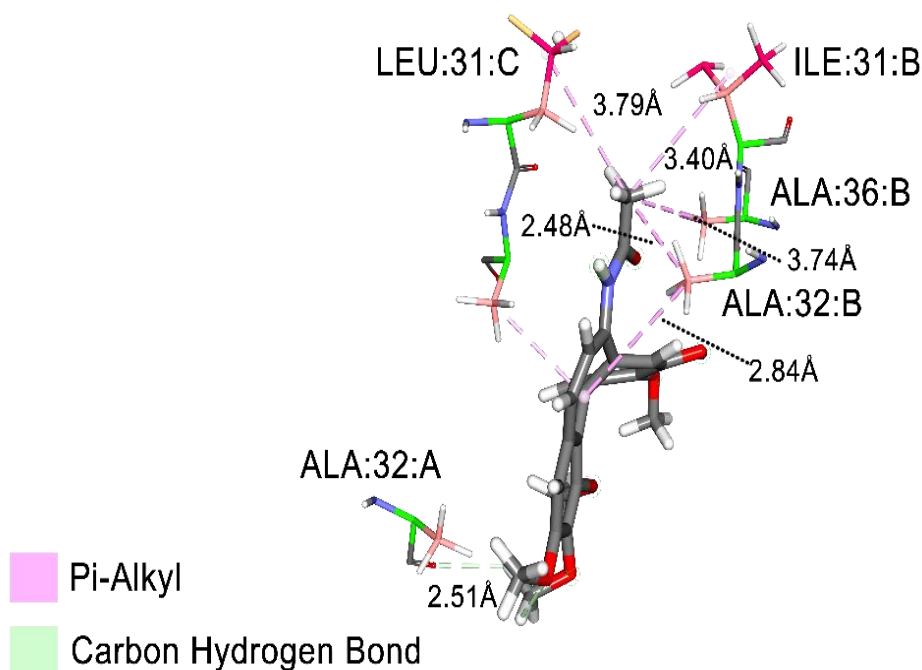


Figura 5.10: Docagem molecular entre E-pro e o Ácido Elágico.

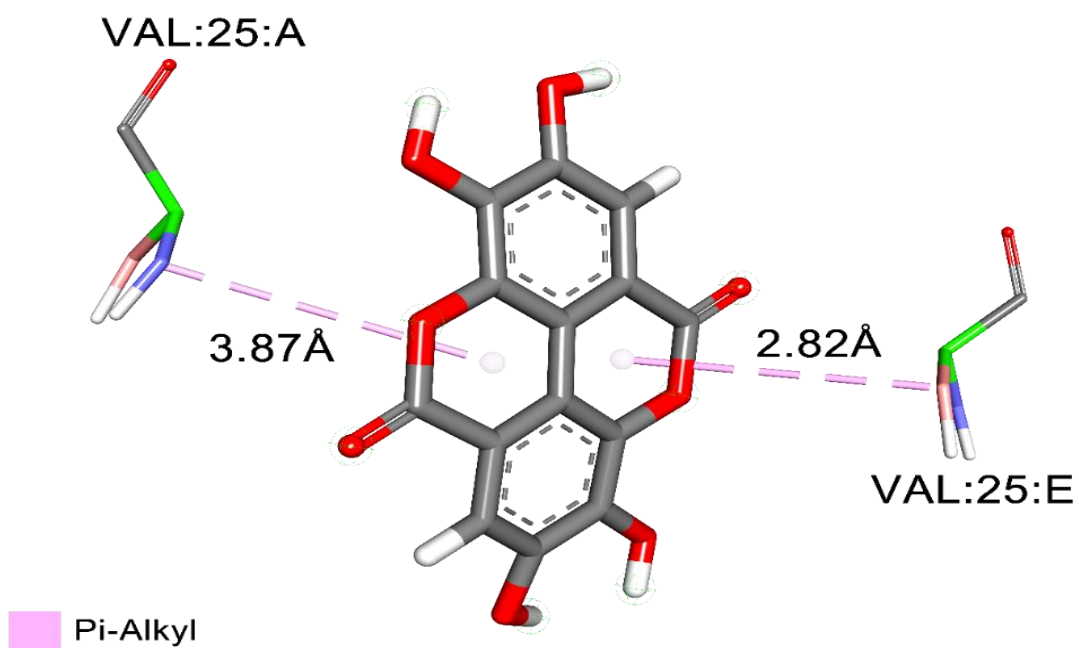


Figura 5.11: Docagem molecular entre E-pro e Nafamostato.

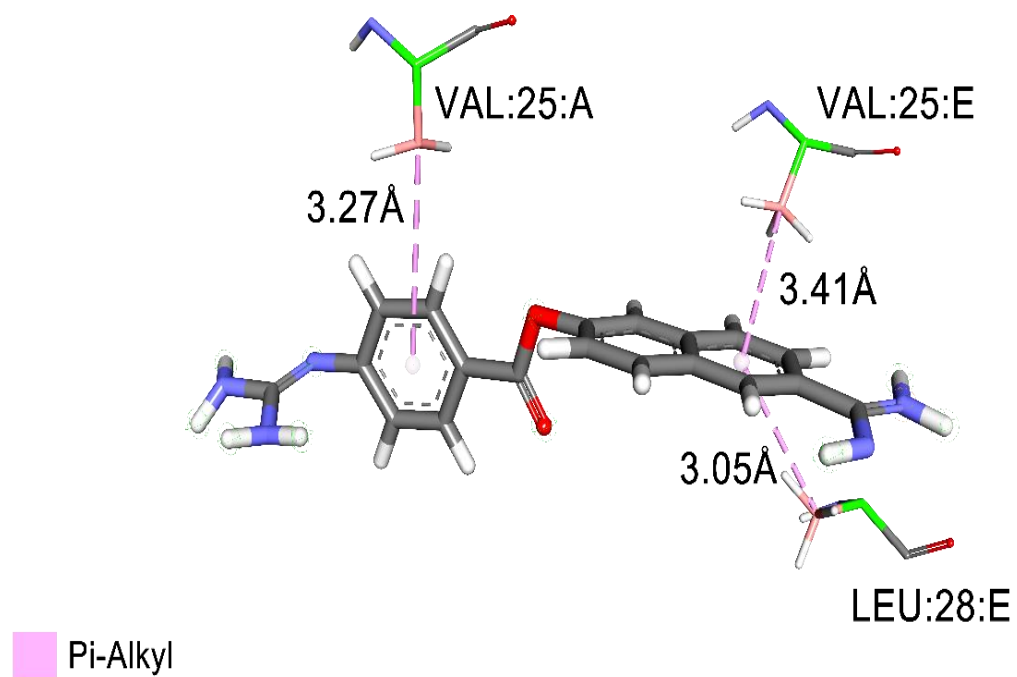


Figura 5.12: Docagem molecular entre E-pro e o Pauferrol A.

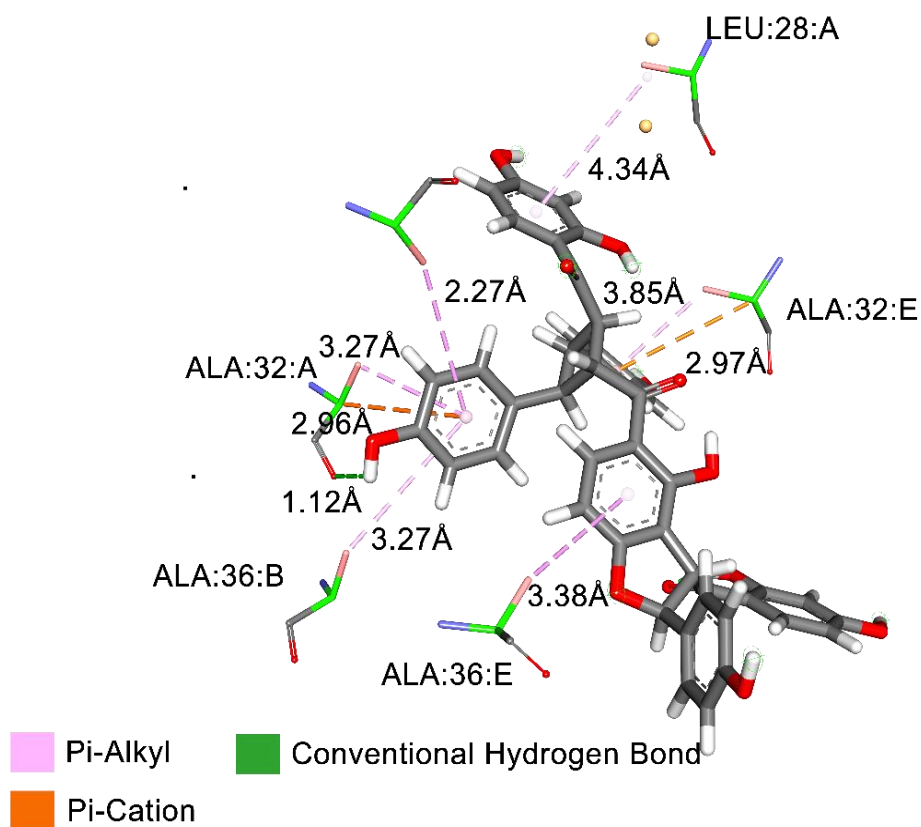


Figura 5.13: Docagem molecular entre E-pro e o Selinexor.

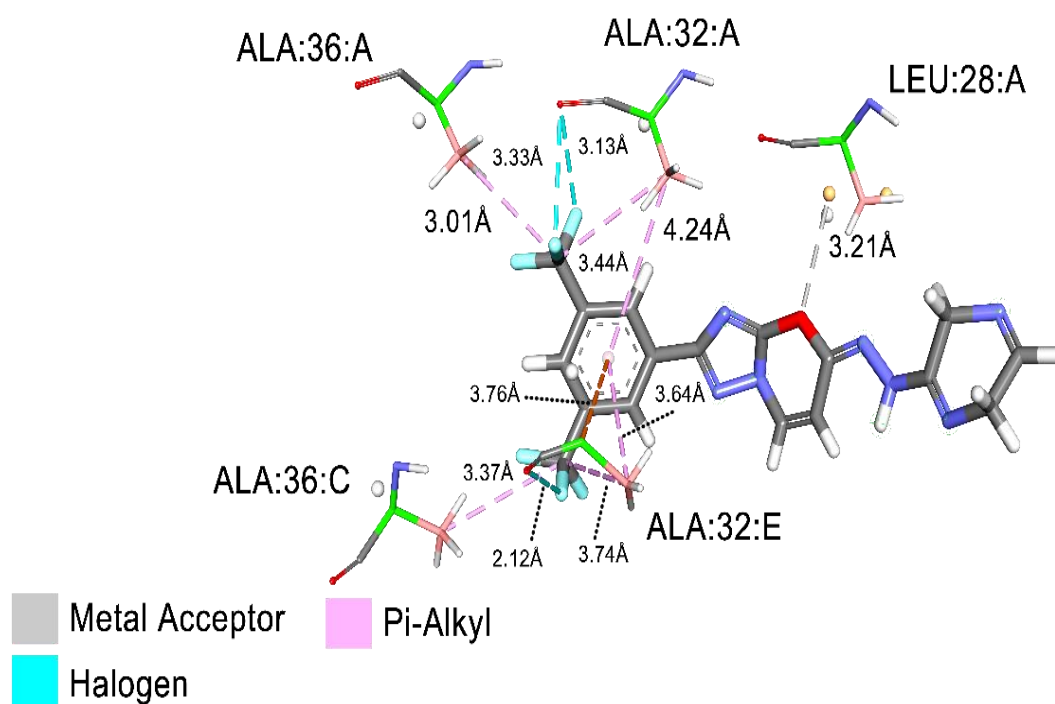
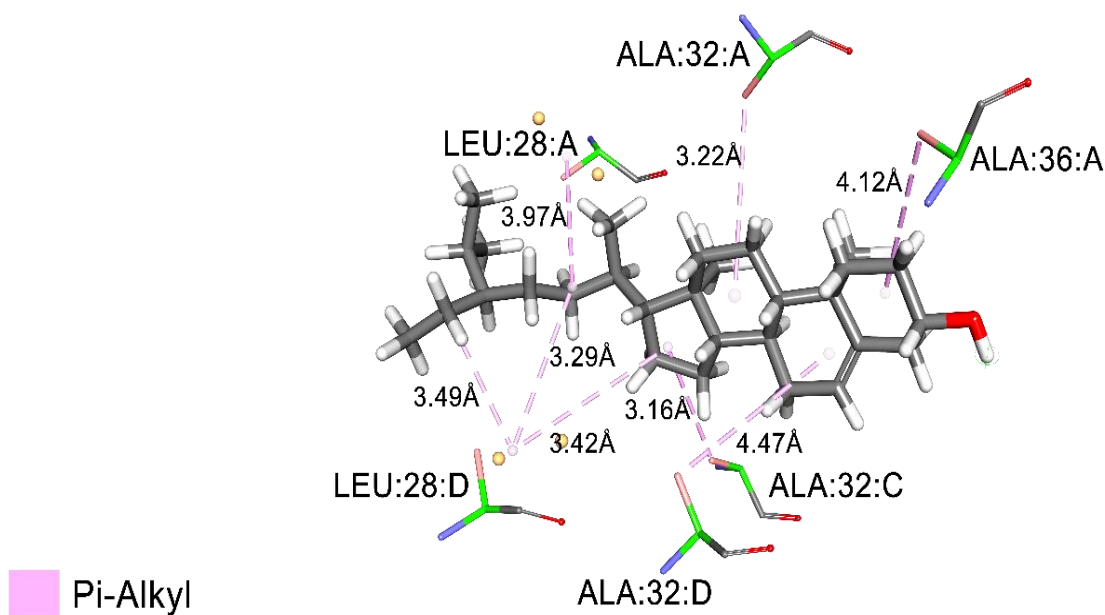


Figura 5.14: Docagem molecular entre E-pro e o Sitosterol.



#### 5.4.2 Análise de docagem molecular para M-pro: interação entre proteínas do SARS-CoV-2 com fármacos e componentes da *Libidibia ferrea*

Colchicina, Ácido Elágico, Nafamostato, Pauferrol A, Selinexor, Sitosterol exibiram boas propriedades de bioatividade, como mostrado nas figuras 5.15 a 5.20. A melhor posição de docagem molecular foi identificada para revelar os resíduos mais interativos com os sítios ativos de M-pro. Essas interações também podem estar associadas a mudanças irreversíveis na estrutura do vírus e redução da infecção. Portanto, realizamos estudos de docagem para identificar e compreender a interação e afinidade de ligação com M-pro. Em contraste, as interações de M-pro com a Colchicina envolveram a formação de duas ligações, sendo carbono-hidrogênio e pi-cátion, todas com o aminoácido GLU: 166.

A interação do Ácido Elágico com a M-pro foi observada uma interação pi-alkyl, três interações convencionais de hidrogênio, duas interações pi-catiônicas e uma interação pi – pi em forma T onde houve uma interação entre a nuvem de elétrons com dois grupos aromáticos, mas em forma de T, ou seja, nuvem de elétrons laterais com um anel e eixo principal na nuvem de elétrons de outro anel. O Nafamostato obteve duas ligações de

hidrogênio convencionais com os aminoácidos GLU166 e ASP187 presentes no sítio catalítico da protease.

A interação com o Pauferrol-A teve o maior número de interações, cinco interações eletrostáticas pi-cátions demonstrando a possibilidade de uma reação com o Pauferrol-A, uma ligação de hidrogênio convencional e uma ligação pi-amida empilhada cujas interações são eletrostaticamente sintonizáveis, com anéis aromáticos ricos em elétrons proporcionando interações mais favoráveis. Isso demonstra a possibilidade de interação e tendências para um projeto terapêutico.

O ligante Selinexor mostrou interação com os aminoácidos CYS145, HSD41, HSD164, GLU166 e MET65 no sítio catalítico da protease, tais interações foram pi-alquil, pi-cátion, receptor de metal, ligação de hidrogênio convencional e, novamente, ligações do tipo halogênio que têm grupos de remoção e grupos de receptores de elétrons. Além do estudo da influência dos grupos retiradores de elétrons, outros aspectos também foram analisados.

Embora átomos de halogênio freqüentemente interajam com moléculas de eletrólito devido à carga negativa parcial do halogênio, ligações entre halogênios e moléculas carregadas negativamente também podem se formar. Nossos resultados computacionais apóiam essas afirmações e mostram que os halogênios são quase eletrófilos. Na interação do Sitosterol com HSD41, HSD164 e MET65 existe um elo com o HIS164, com presença do grupo NH, e, ao se investigar essas interações, notamos a influência da eletronegatividade do átomo ligado ao hidrogênio.

As figuras 5.15 a 5.20 apresentam a interação entre a M-pro com os fármacos e com os componentes da *Libidibia ferrea* ou *Caesalpinia ferrea*.

Figura 5.15: Docagem molecular entre M-pro e a Colchicina.

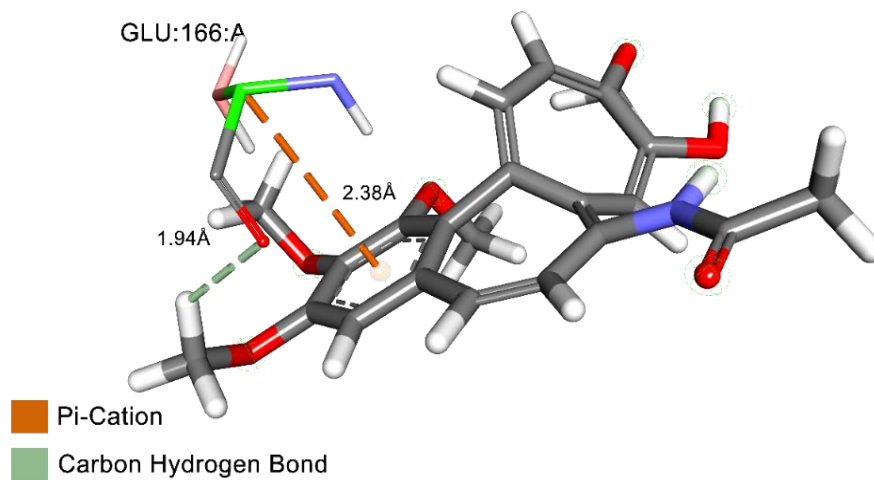


Figura 5.16: Docagem molecular entre M-pro e o Ácido Eláxico.

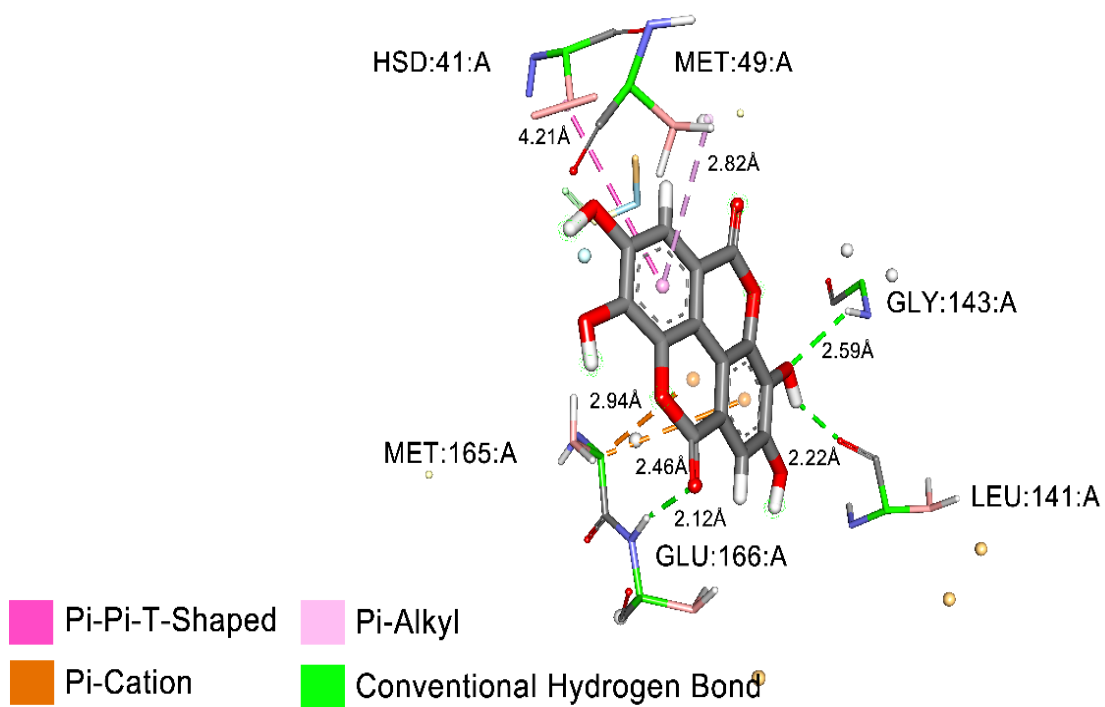




Figura 5.17: Docagem molecular entre M-pro e o Nafamostato.

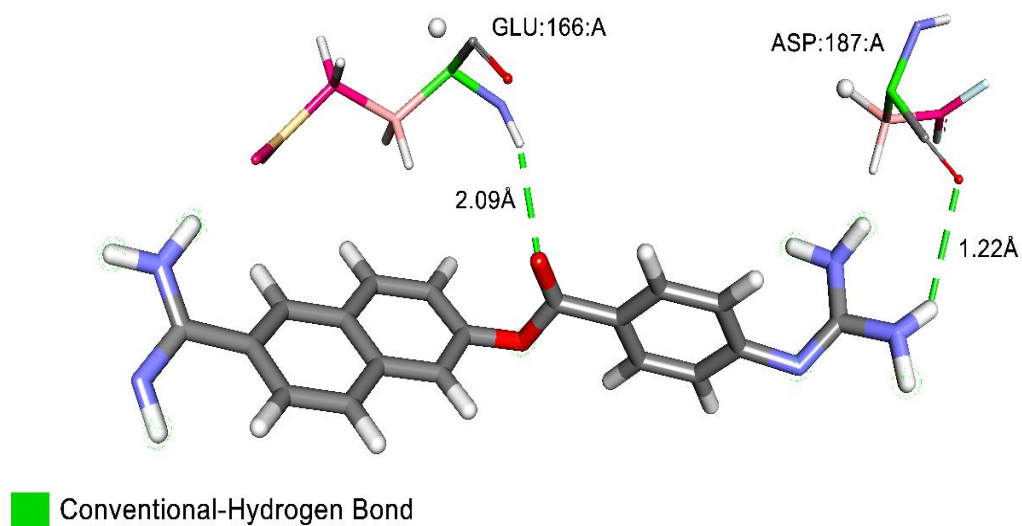


Figura 5.18: Docagem molecular entre M-pro e Pauperol A.

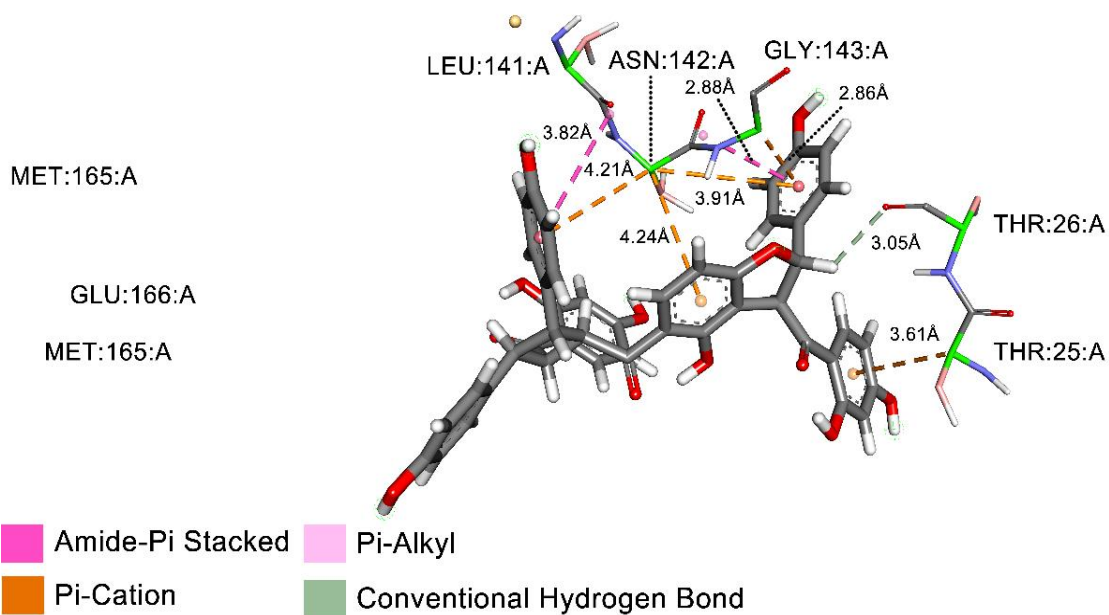


Figura 5.19: Docagem molecular entre M-pro e Selinexor.

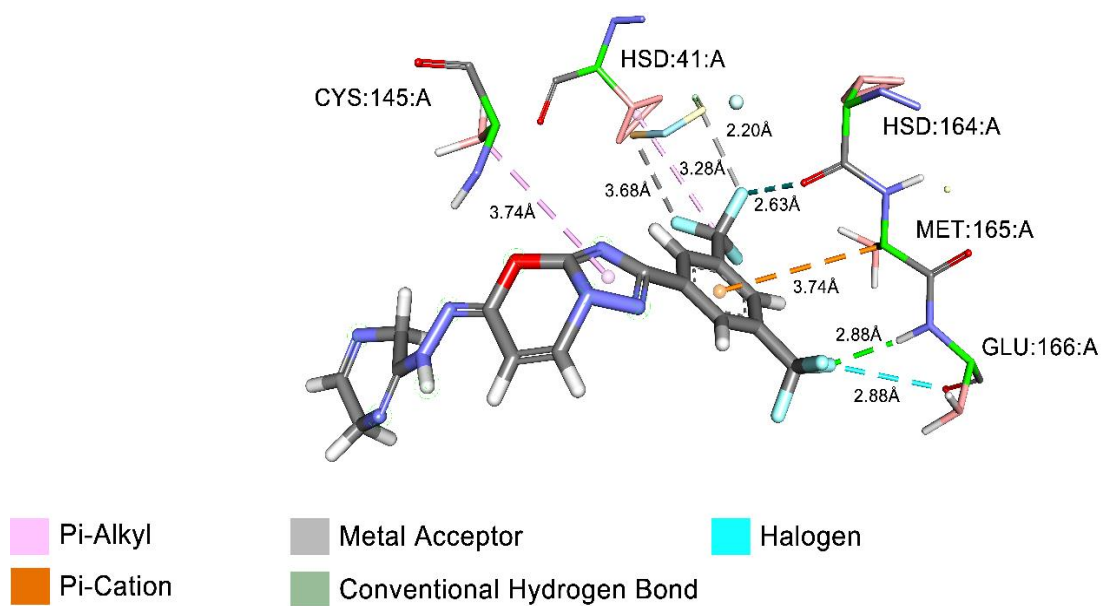
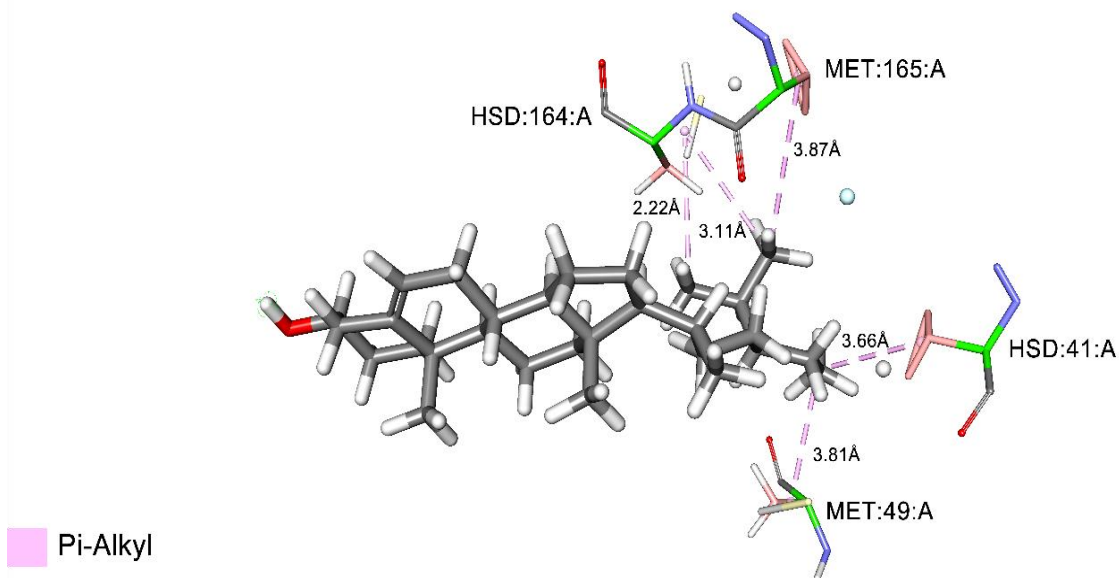


Figura 5.20: Docagem molecular entre M-pro e Sitosterol.



#### 5.4.3 Análise de docagem molecular para S-pro: interação entre proteínas do SARS-CoV-2 com fármacos e componentes da *Libidibia ferrea*

Devido ao papel crucial da S-pro no processo de infecção do SARS-CoV-2, este componente estrutural pode representar um alvo para neutralização mediada por anticorpos ou pequenas moléculas, sendo que a caracterização da estrutura de pré-fusão S permite a obtenção de informações essenciais a partir do nível atômico para orientar o projeto e o desenvolvimento de novas moléculas terapêuticas.

Os aminoácidos essenciais do sítio ativo de S-pro foram comparados com os estudos de docagem molecular para validar a seleção do grupo de ligações corretas. As estruturas dos seis ligantes mostram que a região de ligação do complexo S1-RBD SARS-CoV-2 é cercada pelos resíduos de aminoácidos ARG346, THR345, ALA344, GLU340, THR430, ASP438, GLU516, LEU518, ALA348, ASN460, LYS485, GLN474, ARG355, ARG346, VAL341, GLU340, ASN354, GLY476 e LYS458.

As figuras 5.21 a 5.26 mostram as interações entre os ligantes e a S-pro. Com a Colchicina, a qual teve interações dos tipos pi-alquil, pi-cátion e ligações de hidrogênio convencionais. Da interação entre o receptor e os ligantes, levando em consideração tais interações, os resultados da docagem molecular revelaram interações com o chamado sítio ativo da S-pro, onde há uma maior chance de ligação anexada aos alvos moleculares em questão.

Analisando as distâncias das interações interatômicas, e a partir dos resultados da EA, observa-se que o modo de interação predito pelas posições pode indicar que possui alta capacidade de interação. O Ácido Elágico apresentou três ligações pi-catiônicas, duas ligações de hidrogênio convencionais e duas ligações metal receptor, tais ligações podem induzir alterações no S-pro.

O Nafamostato gerou três ligações pi-alquil e uma ligação pi-cátion. O Pauferrol A, estabeleceu pi-alquil e ligações de hidrogênio, entre todas as moléculas testadas no M-pro, Selinexor teve a maior quantidade de ligações, como hidrogênio, tipo pi-alquila e metal receptor, hidrogênio e halogênio. O Sitosterol teve interações pi-alquil e hidrogênio.

As principais interações de ligação molecular e a energia de afinidade calculada foram usadas para avaliar a confiabilidade do complexo previsto, o processo de docagem foi capaz de identificar uma conformação promissora. Algum dos aminoácidos entre os

resíduos foram destacados como principais, tais como: GLU516, PHE155, PHE464, LYS462, PRO463 e PRO426.

Outro aspecto importante a ser observado é que o sítio catalítico S-pro possui características hidrofóbicas. O Pauferrol A possui grupos doadores de elétrons, o que também pode estar relacionado à formação de forças de London nesta posição. A formação da ligação pi-pi em forma T, uma interação entre o anel aromático e LEU287 foi observada, tornando esta interação importante na organização de moléculas e acoplamentos de ligantes, como dobramento de proteínas e reconhecimento molecular.

Uma descrição detalhada das ligações pi e de hidrogênio está de acordo com a análise de acoplamento, verificou-se que existe afinidade da ligação, o que pode indicar um grau de influência deste tipo de interação para a energia de afinidade. A formação de ligações de hidrogênio em quase todas as interações, exceto o Nafasostato com S-pro, foi observada em todos os ligantes, embora as forças de London são formadas com grupos alifáticos.

Como as ligações são muito próximas e possuem características atrativas, eles, portanto, podem relacionar que tais interações com estruturas macromoleculares que contribuíram para a formação de melhores associações, explorando as diferenças de eletronegatividade entre os átomos.

As posições assumidas pelos ligantes no sítio ativo permitem interações com os aminoácidos presentes. Cada posição tomada pode levar a associações com diferentes aminoácidos locais. Quanto melhores forem as energias de ligação, mais fortes serão as interações que ocorrem entre as moléculas do ligante e os aminoácidos. Dentre as posições testadas, as melhores energias de ligação provavelmente serão também as posições assumidas no ambiente biológico. A seguir, será apresentada a imagem com as posições da melhor energia de interação obtida para os ligantes além da melhor posição.

Figura 5.21: Docagem molecular entre S-pro e Colchicina.

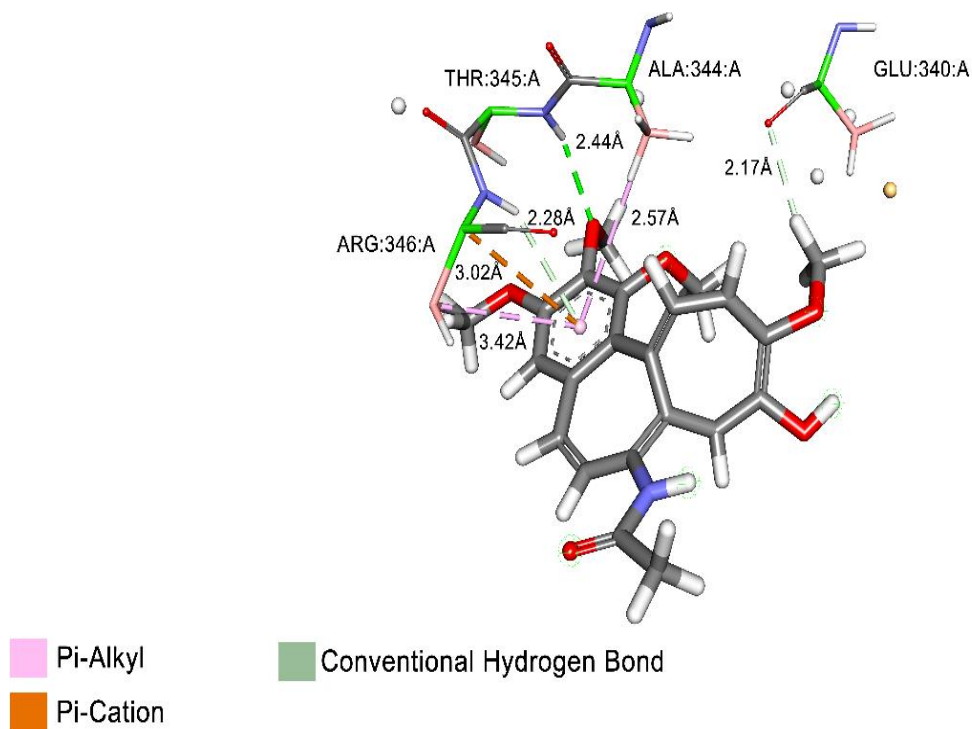


Figura 5.22: Docagem molecular entre S-pro e Ácido Elágico.

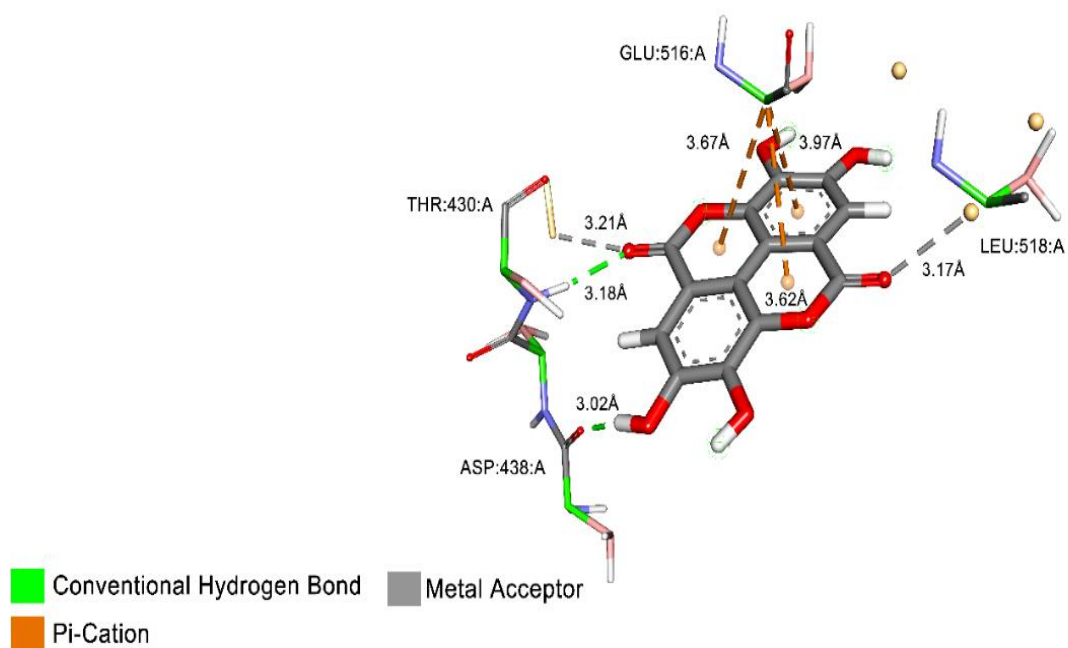


Figura 5.23: Docagem molecular entre S-pro e Nafamostato.

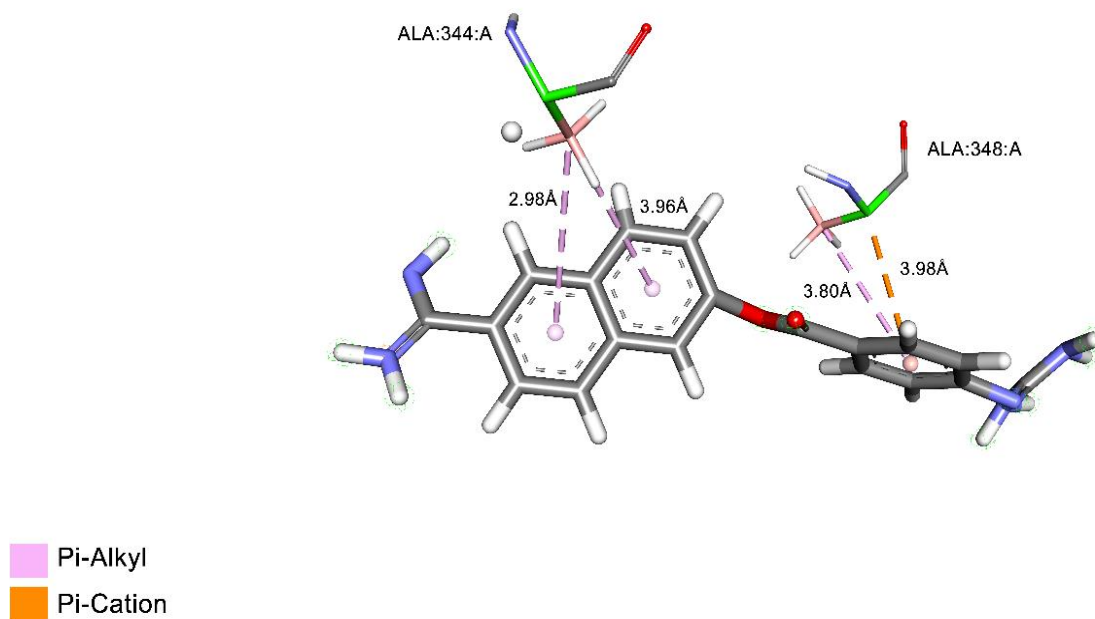


Figura 5.24: Docagem molecular entre S-pro e Pauferrol A.

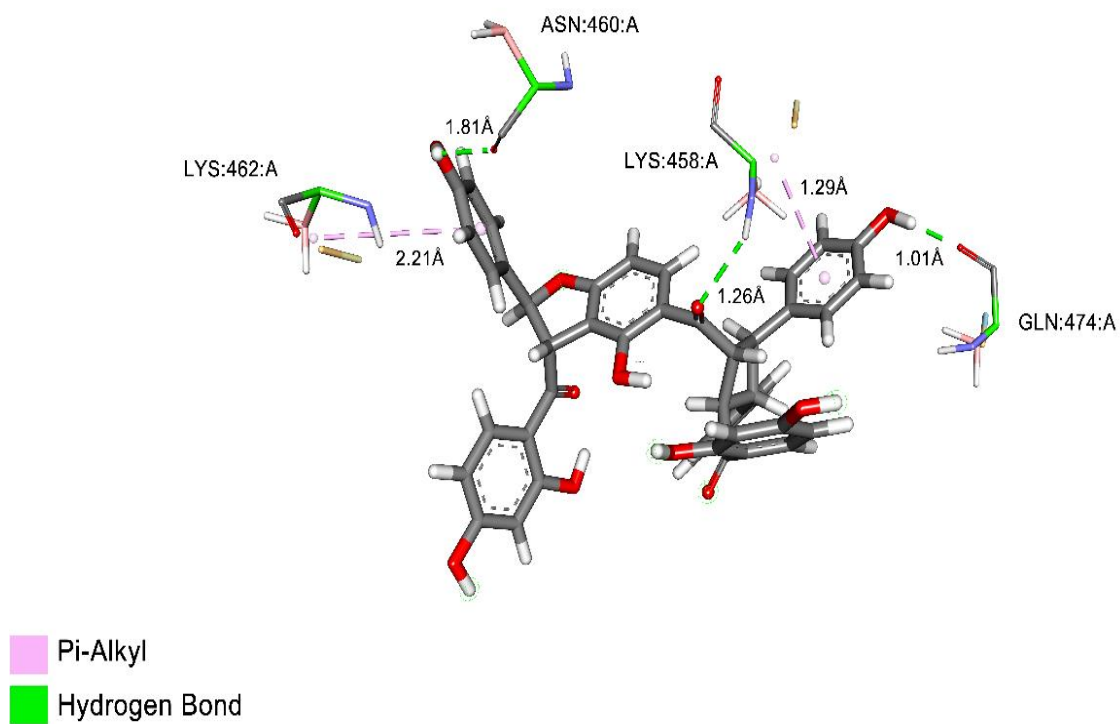


Figura 5.25: Docagem molecular entre S-pro e Selinexor.

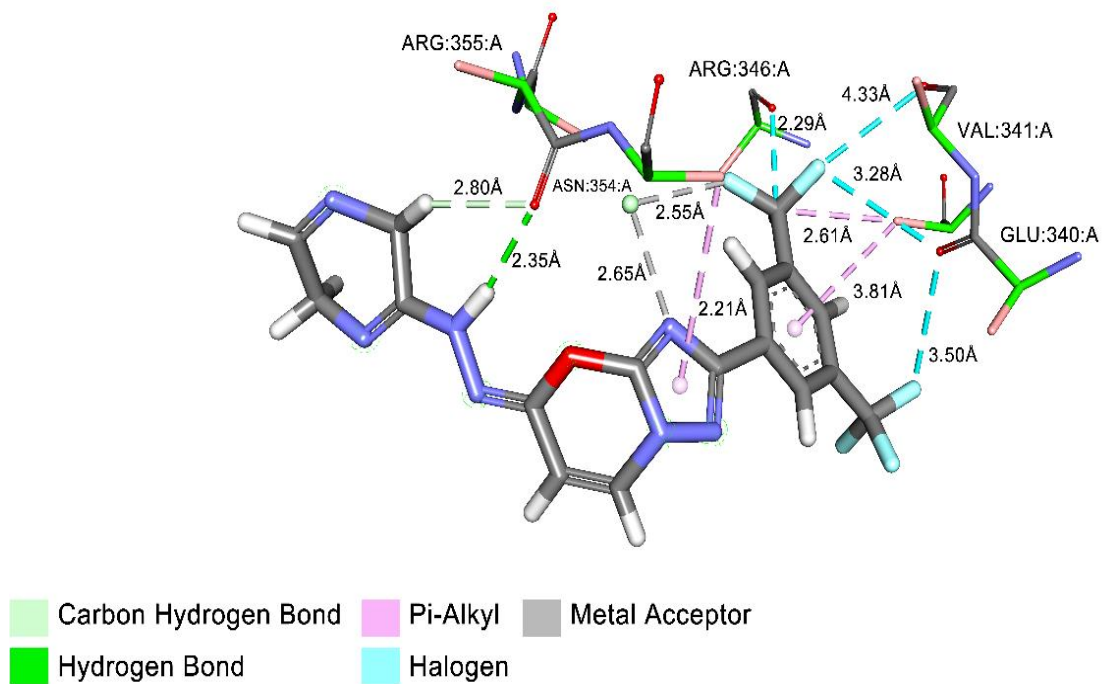
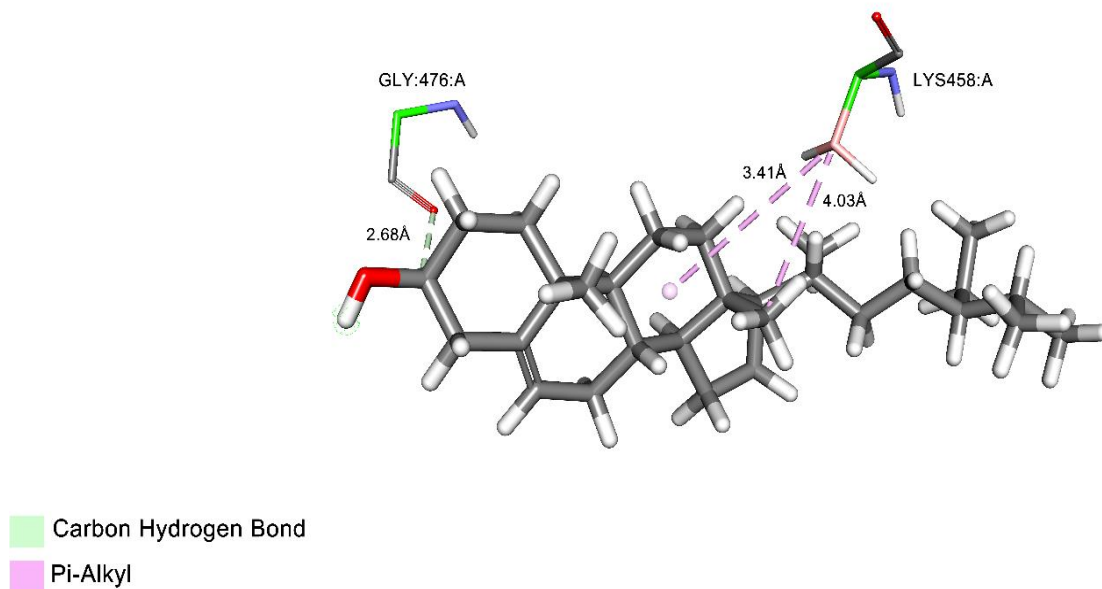


Figura 5.26: Docagem molecular entre S-pro e Sitosterol.

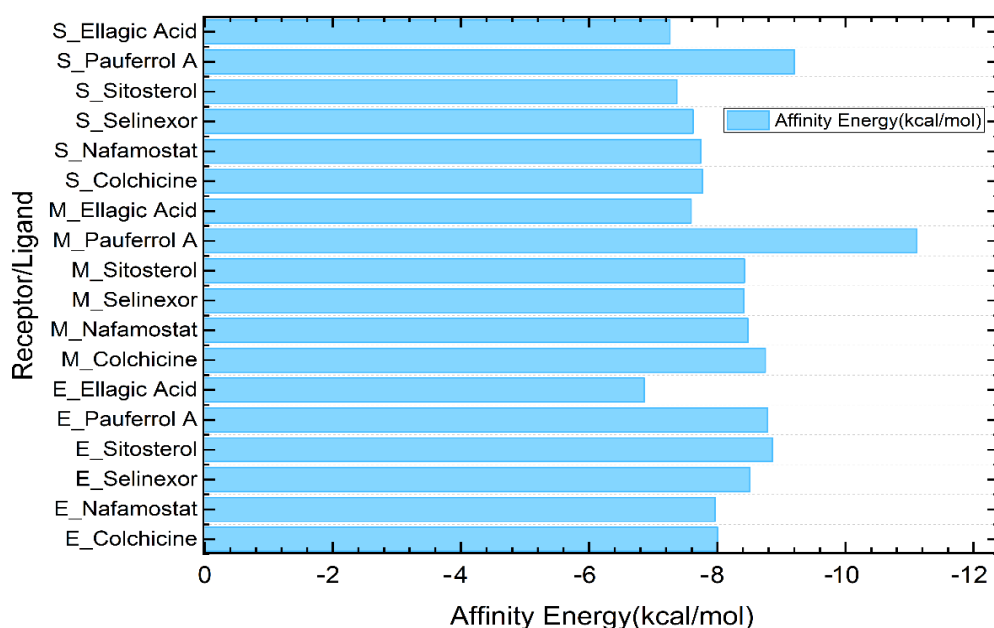


#### 5.4.4 Energia de afinidade: interação entre proteínas do SARS-CoV-2 com fármacos e componentes da *Libidibia ferrea*

A figura 5.27 apresenta os resultados das moléculas consideradas como ligantes foram acopladas a M-pro, E-pro, S-pro. Os valores da energia de afinidade calculadas foram obtidas por meio da ferramenta de ajuste, que representam os valores de energia de afinidade de ligação relativa. Entre as simulações com os antivirais Colchicina, Nafamostato e Selinexor, o fármaco que apresentou melhor favorecimento à docagem molecular foi a Colchicina, que interagiu destacando-se com E-pro e M-pro.

Por outro lado, o que melhor interagiu com S-pro foi o Selinexor, originando o menor valor de energia de afinidade. Este resultado sugere que esses compostos têm uma estrutura de conexão mais estável em comparação com outros candidatos a fármacos. Pode-se observar na figura 5.27 que dentre as estruturas do *Libidibia ferrea* ou *Caesalpinia ferrea*, a que se destacou foi o Pauferrol A, obtendo valores consideráveis de energia de afinidade para todas as macroestruturas testadas.

Figura 5.27: Energia de afinidade dos ligantes-receptores obtida por docagem molecular.





## 6 Conclusões

O objetivo do trabalho foi avaliar a capacidade preventiva e a posologia dos protocolos existentes na ação de combate contra o SARS-CoV-2. Realizou-se testes interativos na eficiência das máscaras compostas por filtros de carvão ativado. As partículas do vírus foram tomadas como adsorbato e as estruturas de carvão ativado assumiram o papel de nanoadorventes (CANMO e CAMO). Em uma outra perspectiva, abordou-se neste trabalho ainda, a capacidade de inibir por interação entre as S-pro, M-pro e E-pro com três fármacos (Colchicina, Nafamostato e Selinexor) e três compostos (Ácido Elágico, Pauferrol A e Sitosterol) retirados da *Libidibia ferrea* or *Caesalpinia ferrea*.

Realizou-se, durante o processo de nanoadsorção, a docagem molecular e a dinâmica molecular entre os adsorbatos M-pro e S-pro e os adsorventes carvão ativado não modificado com oxigênio (CANMO) e o carvão ativado modificado (CAMO). A docagem revelou que a interação entre a M-pro e o CAMO é mais favorável por apresentar melhor valor da energia de afinidade resultante. Por outro lado, a S-pro originou maior afinidade pelo CANMO. Embora a natureza hidrofílica do CAMO justifique a menor interação com a S-pro (fortemente hidrofóbica), o mesmo não se aplica na interação com a M-pro.

Dessa forma, existe a necessidade de realização da dinâmica molecular para complementar o comportamento em questão. Pois a dinâmica molecular avalia a estabilidade e espontaneidade da interação por meio do RMSD e da Energia livre de Gibbs de formação das ligações estabelecidas. Dados obtidos da dinâmica molecular quantificam que os valores de RMSD estão dentro do limite de estabilidade, exceto na interação M-pro com o CANMO. Sugere-se então, a realização de simulações futuras com tempo de dinâmica molecular superior a 100 ns. Os valores da Energia livre de Gibbs de formação das ligações calculadas indicam forte tendência de interações entre o CAMO e as M-pro e S-pro.

O ativos extraídos da *Libidibia ferrea* tiveram a ação inibitória antival comparada por meio da estimativa das energias de afinidade de cada composto inibidor com as proteínas que integram o coronavírus. Resultados foram demonstrados graficamente, e os valores observados indicam que o Pauferrol-A e a Colchicina apresentaram melhor desempenho por afinidade energética. Sugere-se então novas simulações com o uso da

dinâmica molecular.

A utilização do carvão ativado modificado com oxigênio, de acordo com resultados obtidos por dinâmica molecular o caracterizam como nanoadsorvente eficaz na retenção de particulados de biofluidos contendo coronavírus. A aplicação de docagem causou discordância entre os resultados originados por CANMO e por CAMO, pois a metodologia adotada avaliou a Energia de Afinidade dos sítios ativos estabelecidos com maior estabilidade por não considerar a contribuição temporal.

Dessa forma, este trabalho revisou três aspectos relevantes da ligação proteína-ligante: mecanismos, modelos e métodos, que dependem do tempo de interação realizada.

## Referências

- ABE, K., INCHAUSPE, G., 1991, “Transmission of hepatitis C by saliva”, *The Lancet*, v. 337, pp. 248.
- ACHESON, D., FIORE, A. E., 2004, “Hepatitis A transmitted by food”, *Clinical Infectious Diseases*, v.38, n. 5, pp. 705–715.
- ALLEN, M.P., TILDESLEY, D.J., *Computer Simulation of Liquids*. 1<sup>st</sup> ed., New York, NY, Oxford Universidade Press Press, 1987.
- ALONSO, J.M., TATTI, F., CHUVILIN, A. *et al.*, 2013, “The condensation of water on adsorbed viroses”, *Langmuir*, v. 29, n. 47, pp.14580–14587.
- AMMAR, D. E., ANAS, A. O., ALP, T. S., *et al.*, 2020, “Reorientation of the drug by coronavirus (COVID-19): in silico screening for known drugs against coronavirus 3CL hydrolase and protease enzymes”, *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, v.39, n.8, pp. 2980-2992.
- ANDRADE, T. DE A. *et al.*, 2021 “Technological Scenario for Masks in Patent Database During COVID-19 Pandemic”, *American Association of Pharmaceutical Scientists*, n.72, pp.1-22.
- AROUCHE, T. DA S.; MARTINS, A. Y., RAMALHO, T. DE C. *et al.*, 2021, “Molecular Docking of Azithromycin, Ritonavir, Lopinavir, Oseltamivir, Ivermectin and Heparin Interacting with Coronavirus Disease 2019 Main and Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 3C-Like Proteases”, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, v. 21, pp. 2075-2089.
- ARUN, K. G., SHARANYA, C. S, ABHITHAJ, J., *et al.*,2020, “Drug repurposing against SARS-CoV-2 using E-pharmacophore based virtual screening, molecular docking and molecular dynamics with main protease as the target”, *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*”, *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, pp. 1-12.

ASL, N. R., EBADI, A., EDRAKI, N., *et al.*, 2012, “Response surface methodology in docking study of small molecule BACE-1 inhibitors”, *Journal of Molecular Modeling*, v. 18, n.10, pp. 4567–4576.

AUDIE, J., SCARLATA, S., 2007, “A novel empirical free energy function that explains and predicts protein-protein binding affinities”, *Biophysical Chemistry*, v.129, n. 2-3, pp. 198-211.

BACCHI, E. M., SERTIÉ, J. A., VILLA, N. *et al.*, 1995, “Antiulcer action and toxicity of *Styrax camporum* and *Caesalpinia ferrea*”, *Planta medica*, v.61, n.3, pp. 204–207.

BACKER, J. A., KLINKENBERG, D., WALLINGA, J., 2020, “Incubation period of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infections among travellers from Wuhan, China, 20–28 January 2020”, *Eurosurveillance*, v. 25, n. 5, pp. 1-6.

BADAVATH, V. N., KUMAR, A., SAMANTA, P. K. *et al.*, 2020, “Determination of potential inhibitors based on isatin derivatives against SARS-CoV-2 main protease (m<sup>pro</sup>): a molecular docking, molecular dynamics and structure-activity relationship studies”, *Journal of Biomolecular Structure And Dynamics*, pp. 1-19.

BAYLY, C. I., CIEPLAK, P., CORNELL, W. *et al.*, 1993, “A well-behaved electrostatic potential based method using charge restraints for deriving atomic charges: the RESP model”, *Journal of Physical Chemistry*, v. 97, n.40, pp. 10269-10280.

BELOUZARD, S., CHU, V. C., WHITTAKER, G. R., 2009, “Activation of the SARS coronavirus spike protein via sequential proteolytic cleavage at two distinct site”, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of the America*, v. 106, n. 14, pp. 5871–5876.

BERMAN, H.M., HENRICK, K., NAKAMURA, H., 2003, “Announcing the worldwide Protein Data Bank”, *Nature Structural e Molecular Biology* , v.10, n. 12, pp. 980.

BHATTACHARJEE, R., DEVI, A., MISHRA, S., 2015, “Molecular docking and molecular dynamics studies reveal structural basis of inhibition and selectivity of inhibitors EGCG and OSU-03012 toward glucose regulated protein-78 (GRP78) overexpressed in glioblastoma”, *Journal of Molecular Modeling*, v.21, n.10, pp. 255-272.

BIANCHI, M., BENVENUTO, D., GIOVANETTI, M., 2020, “Sars-CoV-2 Envelope and Membrane Proteins: Structural Differences Linked to Virus Characteristics?”, *BioMed Research International*, v. 2020, pp. 1-6.

BIOVIA, D.S., 2017. “Discovery Studio modeling environment. San Diego, Dassault Systemes”, Launch, 4.

BOFILL, J. M., 1985, “A Conjugate Gradient Algorithm with a Trust Region for Molecular Geometry Optimization”, *Journal Molecular Modeling Annual*, v.1, pp.11–17.

BROOKS, B. R., BROOKS, C. L. 3RD, MACKERELL, A. D. Jr. *et al.*, 2009, “CHARMM: the biomolecular simulation program”, *Journal of Computational Chemistry*”, v.30, n.10, pp. 1545-1614.

CABRERA-GARCIA, D., BEKDASH, R., ABBOTT, G. W. *et al.*, 2021, “The envelope protein of SARS-CoV-2 increases intra-Golgi pH and forms a cation channel that is regulated by pH”, *The Journal of the Physiology*, v.599, n.11, pp. 2851-2868.

CASANOVA, L.M., JEON, S., RUTALA, W.A. *et al.*, 2010, “Effects of air temperature and relative humidity on coronavirus survival on surfaces”, *Applied and Environmental Microbiology*, v.76, n. 9, pp. 2712–2717.

CASCARINA, S. M, ROSS, E. D., 2020, “A proposed role for the SARS-CoV-2 nucleocapsid protein in the formation and regulation of biomolecular condensates”, *The FASEB Journal*, v.34, n.8, pp. 9832–9842.

CASE, D. A., CHEATHAM, T. E., 3RD, DARDEN, T., *et al.*, 2005, “The Amber biomolecular simulation programs”, *Journal Computational Chemistry*, v.26, n.16, pp. 1668-1688.

CASTAÑO, N., CORDTS, S., JALIL, M.K. *et al.*, 2021, “Fomite transmission and disinfection strategies for SARS-CoV-2 and related viruses”, *ACS Omega*, v.6, n.10, pp - 6509–6527.

CAVALHEIRO, J. P DO V. H., PIRES, N. M. M., DONG, T., 2017, “MM-PBSA: Challenges and Opportunities”, *10<sup>th</sup> International Congress on Image and Signal Processing, BioMedical Engineering and Informatics*, Shanghai, China, 14-16 October.

CERMAKOVA, L., KOPECKA, I., PIVOKONSKY, M., 2017, “Removal of cyanobacterial amino acids in water treatment by activated carbon adsorption”, *Separation and Purification Technology*, v. 173, pp. 330-338.

CHAMBERS, J. P., YU, J., VALDES, J. J. *et al.*, 2020, “SARS-CoV-2, Early Entry Events”, *Journal of Pathogens*, v. 2020, pp. 1-11.

CHANDLER, D., 1987, *Introduction to Modern Statistical Mechanics*. New York, NY, Oxford University Press.

CHOU, KUO-CHEN, WEI, DONG-QING., DU, QI-SHI *et al.*, 2009, “Study of inhibitors against SARS coronavirus by computational approaches”, *Viral Proteases and Antiviral Protease Inhibitor Therapy*, v.8, pp. 1–23.

CHUA, MING-HUI, CHENG, W., GOH, S. S., 2020, “Face Masks in the New COVID-19 Normal: Materials, Testing, and Perspectives”, *AAAS Research*, v.2020. pp. 1-40.

CONNOLLY, M. L., 1993, “The molecular surface packages”, *Journal of Molecular Graphics*, v.11, n.2, pp. 139–141.

COOKSON, J.T., JR., 1969, "Mechanism of virus adsorption on activated carbon" *Journal American Water Works Association*, v.61, pp. 52–56.

COONEY D. O., 1978, "*In vitro* evidence for ipecac inactivation by activated charcoal", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.67, pp. 427-7.

CORSEUIL, H. X. I; WEBER JR., W. J., 1994, "Potential biomass limitations on rates of degradation of monoaromatic hydro carbons by indigenous microbes in subsurface soils", *Water Research*, v. 28, n. 6, pp. 1415-1423.

COSTA, J. F DA S., 2018, *Modelagem molecular: espectrometria de canabinóides e termodinâmica de poli (amido amina) depositada em um nanotubo de carbono*. Tese D.Sc., PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM FÍSICA/UFPA, Belém, PA, Brasil.

COWLING, B. J., IP, D. K.M., FANG, V.J., *et al.*, 2013, "Aerosol transmission is an important mode of influenza A virus spread", *Nature Communications*, v.4, n.1935 , pp. 1-6.

CRUZ, J. N., COSTA, J. F. S., KHAYAT, A. S. *et al.* 2018, "Molecular dynamics simulation and binding free energy studies of novel leads belonging to the benzofuran class inhibitors of Mycobacterium tuberculosis Polyketide Synthase 13", *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, v. 37, n.6, pp.1–12.

CUI, J., LI, F., SHI, ZHENG-LI. *et al.*, 2019, "Origin and evolution of pathogenic coronaviruses", *Nature Reviews Microbiology*, v.17, pp. 181–192.

CURE, M. C., KUCUK, A., CURE, K., 2020, "Colchicine may not be effective in COVID-19 infection; it may even be harmful?", *Clinical Rheumatology*, v.7, pp. 1-2.

DABROWSKI, A., 2001, "Adsorption - from theory to practice", *Advances in Colloid and Interface Science*, v.93, pp. 135-224.

DANISH M., HASHIM R., IBRAHIM M. N. M. *et al.*, 2014, "Optimization study for preparation of activated carbon from *Acacia mangium* wood using phosphoric acid", *Wood Science and Technology*, v.48, pp.1069 -1083.

DE WIT, E., VAN DOREMALEN, N., FALZARANO, D. *et al.*, 2016, "SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses", *Nature Reviews Microbiology*, v.14, pp. 523-534.

DEVANATHAN, R., CHASE-WOODS, D., SHIN, Y. *et al.*, 2016, "Molecular Dynamics Simulations Reveal that Water Diffusion between Graphene Oxide Layers is Slow", *Scientific Reports*, v.6, n. 29484, pp. 1-8.

DHAR, P., ROY, P., 2020, "Molecular Docking Unmasks Potent Phytoligands against SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein, Main Protease, Papain-like Protease, and RNA-dependent RNA Polymerase", *Defence Life Science Journal*, v. 5, n. 4, pp. 255-267.

DI PIERRO, M., ELBER, R., LEIMKUHNER, B., 2015, "A Stochastic Algorithm for the Isobaric-Isothermal Ensemble with Ewald Summations for all Long Range Forces.", *Journal of Chemical Theory and Computation*, v.11, n.12, pp. 5624–5637.

DIKA, C.;L., CHATAIN, M.H., FRANCIUS, G. *et al.*, 2013, "Non-DLVO adhesion of F-specific RNA bacteriophages to abiotic surfaces: importance of surface", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 455, pp. 178-187.

DUBEY, K. D., TIWARI, R. K., OJHA, R. P., 2013, "Recent advances in protein-ligand interactions: Molecular dynamics simulations and binding free energy", *Current Computer-Aided Drug Design*, v. 9, n.4, pp. 518–531.

ELFIKY, A. A., 2020, "SARS-CoV-2 RNA dependent RNA polymerase (RdRp) targeting: An in-silico perspective", *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, v.1, n.2, pp.1–15.



ELFIKY, A. A., AZZAM, E. B., 2020, “New guanosine derivatives against MERS CoV polymerase: an in-silico perspective”, *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, v.39, n. 8, pp. 1-12.

ESSMAN, U., PERERA, L., BERKOWITZ, M. *et al.*, 1995, “A smooth particle mesh Ewald method”, *Journal of Chemical Physics* , v. 103, n.19, pp 8577–8593.

FAN, J, FU, A., ZHANG, L., 2019, “Progress in molecular docking”, *Quantitative Biology*, v.7, n.2, pp. 83–89.

FEKRAZAD, R., 2020, “Photobiomodulation and Antiviral Photodynamic Therapy as a Possible Novel Approach in COVID-19 Management”, *Photobiomodulation, Photomedicine, and Laser Surgery*, v.38, n.5, pp.255-257.

FRENKEL, D., SMIT, B., 2001, *Understanding molecular simulation: from algorithms to applications*. New York, NY, USA, Academic Press.

FRISCH, M. J.; TRUCKS, G. W.; SCHLEGEL, H. B. *et al.*, Gaussian, Inc., Wallingford C.T., Gaussian 09 Revision E.01, 2009.

FUENTES-ACOSTA, M. A., MULIA-RODRÍGUEZ, J., OSORIO-GONZÁLEZ, D. *et al.*, 2021, “Use of Bioinformatics Technologies and Databases to Teach Analysis of Genetic Sequences to Undergraduate Students in Physics, Biotechnology, and Biology: The Specific Case of the SARS-CoV-2 Spike Protein”, *Creative Education*, v. 12, pp.193-202.

FUHS, G.W., CHEN, M., STURMAN, L.S. *et al.*, 1985, “Virus adsorption to mineral surfaces is reduced by microbial overgrowth and organic coatings”, *Microbial Ecology*, v.11, pp. 25–39.

GAO, T., GAO, Y., LIU, X. *et al.*, 2021, “Identification and functional analysis of the SARS-COV-2 nucleocapsid protein”, *BMC Microbiology*, v. 21, n.58, pp 1-10.

GIOIA, M., CIACCIO, C., CALLIGARI, P. *et al.*, 2020, “Role of proteolytic enzymes in the COVID-19 infection and promising therapeutic approaches”, *Biochemical Pharmacology*, v.182, pp. 1-80.

GLOWACKA, I., BERTRAM, S., MÜLLER, M. A. *et al.*, 2011, “Evidence that TMPRSS2 activates the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein for membrane fusion and reduces viral control by the humoral immune response”, *Journal of Virology*, v.85, n.9, pp. 4122–4134.

GROSDIDIER, A., ZOETE, V., MICHELIN, O., 2009, “Blind docking of 260 protein-ligand complexes with EADock 2.0”, *Journal of Computational Chemistry*, v. 30, n.13, pp. 2021–2030.

GROSDIDIER, A., ZOETE, V., MICHELIN, O., 2011, “SwissDock, a protein-small molecule docking web service based on EADock DSS”, *Nucleic acids research*, v.39, pp 1-8.

GUIDELLI, R., BECUCCI, L., 2011, “Ion transport across biomembranes and model membranes”, *Journal Solid State Electrochem*, v.15, n. 5, pp. 1459–1470.

GUTIERREZ, L., LI, X., WANG, J. *et al.*, 2009, “Adsorption of rotavirus and bacteriophage MS2 using glass fiber coated with hematite nanoparticles”, *Water Research*, v. 43, pp. 5198–5208.

GUTIERREZ, L., MYLON, S.E., NASH, B. *et al.*, 2010, “Deposition and aggregation kinetics of rotavirus in divalent cation solutions”, *Environmental Science & Technology*, v.44, pp.4552–4557.

HAGEMANN, N, KURT SPOKAS, K., SCHMIDT, HANS-PETER *et al.*, 2008, “Activated Carbon, Biochar and Charcoal: Linkages and Synergies across Pyrogenic Carbon’s ABCs”, *Water*, v. 10, n. 182; pp. 1-19.

HELDT, C.L., ZAHID, A., VIJAYARAGAVAN, K.S. *et al.*, 2017, “Experimental and computational surface hydrophobicity analysis of a non-enveloped virus and proteins”, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 153, pp.77–84.

HOSSEINI, V., 2020, “SARS-CoV-2 Virulence: Interplay of Floating Virus-Laden Particles, Climate, and Humans”, *Advanced Biosystems*, v.4, pp. 1-3.

HUEY, R., MORRIS, G. M., OLSON, A. J. *et al.*, 2007. “A Semiempirical Free Energy Force Field with Charge-Based Desolvation”, *Journal of Computational Chemistry*, v. 28, n.6, pp. 1145-1652.

INAGAKI, M., TASCÓN, J. M. D., 2006, “Pore formation and control in carbon materials”. In: Bandosz, T. J., *Activated Carbon Surfaces in Environmental Remediation*, chapter 2, New York, USA, Ed. Elsevier.

IQBAL, M. J., ASHIQ, M. N., 2007, “Adsorption of dyes from aqueous solutions on activated charcoal”, *Journal of Hazardous Materials*, v.139, n.1, pp. 57-66.

ISMAIL M., VERMA, A. K., ABDULKADIR, A. *et al.*, 2020, “Possible Mechanical Transmission of SARS-CoV-2 Causing COVID-19 by Insects: Infection, Prevention, Implications, and Control”, *Open Journal of Medical Microbiology*, v.10, pp. 89-101.

JASZ, A., RAK, A., CSEREY, G. , 2017, “ Energy calculation of MMFF94 force field on GPU: Special session on array computing systems and applications”, *European Conference on Circuit Theory and Design (ECCTD)*, v. 21, n. 5, pp. 1-4.

JIAO, X., JIN, X., MA, Y. *et al.*, 2021, “A Comprehensive Application: Molecular Docking and Network Pharmacology for the Prediction of Bioactive Constituents and Elucidation of Mechanisms of Action in Component-based Chinese Medicine”, *Computational Biology and Chemistry*, v.90, n. 107402, pp. 1-8.

JOONAKI, E., HASSANPOURYOUBAND, A., HELDT, C. L. *et al.*, 2020, “Surface Chemistry Can Unlock Drivers of Surface Stability of SARS-CoV-2 in a Variety of Environmental Conditions”, *Chemical Hazards Emergency Medical Management*, v.6, pp. 2135-2146.

JOSHI, P.U., TURPEINEN, D.G., WEISS, M. *et al.*, 2019, “Tie line framework to optimize non-enveloped virus recovery in aqueous two-phase systems”, *Journal of Chromatography B*, v. 1126–1127, pp. 1-10.

KAMINSKI, G.A., FRIESNER, R.A., TIRADO-RIVES, J. *et al.*, 2001, “Evaluation and reparametrization of the OPLS-AA force field for proteins via comparison with accurate quantum chemical calculations on peptides”, *Journal of Physical Chemistry B*, v.105, pp.6474–6487.

KERRIGAN, J. E., 2013, “In Silico Models for Drug Discovery: Molecular Dynamics Simulations in Drug Design”. In: *Methods in Molecular Biology*, Springer Link, v. 993, pp 95-113.

KILLINGLEY, B., NGUYEN-VAN-TAM, J., 2013, “Routes of influenza transmission. Influenza”, *Stream 2: Review*, pp. 42–51.

KLEIN, T., ECKHARD, U., DUFOUR, A. *et al.*, 2018, “Proteolytic Cleavage-Mechanisms, Function, and “Omic” Approaches for a Near-Ubiquitous Posttranslational Modification”, *Chemical Reviews*, v. 118, n. 3, pp. 1137–1168.

KNYAZEV, A. V., LASHUK, I., 2008. "Steepest Descent and Conjugate Gradient Methods with Variable Preconditioning", *SIAM Journal on Matrix Analysis and Applications*, v. 29, n. 4, pp. 1267-1272.

KOBAYASHI, Y. T. DA S., ALMEIDA, V. T. DE, BANDEIRA, T. *et al.*, 2015, “Phytochemical evaluation and wound healing potential of the fruit extract ethanolic of Jucá (*Libidibia ferrea*) in Wistar rats”, *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 52, n.1, pp. 34-40.

KOHANSKI, M. A. *et al.*, 2020, “Review of indoor aerosol generation transport and control in the context of COVID”, *International Forum of Allergy & Rhinology*, v.110, n. 10, pp.1173 – 1179.

LANGLET, J., GABORIAUD, F., DUVAL, J.F.L. *et al.*, 2008, “Aggregation and surface properties of F-specific RNA phages: implication for membrane filtration processes”, *Water Research*, v. 42, pp. 2769–2777.

LAUER, S. A., GRANTZ, K. H., BI, Q. *et al.*, 2020, “The Incubation Period of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) from Publicly Reported Confirmed Cases: Estimation and Application”, *Annals of Internal Medicine*, v.172, pp.577-582.

LI H, LIU, SHANG-MING, YU, XIAO-HUA, *et al*, 2020, “Coronavirus disease 2019 (COVID- 19):current status and future perspectives”, *International Journal of Antimicrobial Agents.Elsevier*, v.55, n. 5, pp. 1-8.

LI, F., LI, W., FARZAN, M., HARRISON, S. C., 2005, “Structure of SARS coronavirus Spike protein receptor-binding domain complexed with receptor”, *Science*, v. 309, n. 5742, pp.1864–1868.

LI, T., CUI, Y., WU, B., 2018, “Molecular dynamics investigations of structural and functional changes in Bcl-2 induced by the novel antagonist BDA-366”, *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, v.37, n.10, pp. 2527-2537.

LINDAHL, E. R., 2008, “Molecular Dynamics Simulations”, *Molecular Dynamics Simulations, Molecular Modeling of Proteins*, v.443, pp. 3-23.

LINDLEY, B. D., 1967, “Membrane solvation as a basis for ionic selectivity”, *Journal of Theoretical Biology*, v.17, n.2, pp. 213–228.

LIPSON, S.M., STOTZKY, G., 1983, “Adsorption of reovirus to clay minerals: effects of cation- exchange capacity, cation saturation, and surface area”, *Applied and environmental microbiology*, v. 46, n. 3, pp. 673–682.

LIU, Y., LIU, J., DU, S. *et al.*, 2017, “Evolutionary enhancement of Zika virus infectivity in *Aedes Aegypti* mosquitoes”, *Nature*, v. 545, pp.482–486.

LOTA, G., KRAWCZYK, P. KATARZYNA, L, *et al.*, 2016, “The application of activated carbon modified by ozone treatment for energy storage”, *Journal of Solid State, Electrochemistry*, v.20, pp.2857–2864.

LOZANO, H. R., MARTÍNEZ, F., 2006. “Thermodynamics of partitioning and solvation of ketoprofen in some organic solvent: buffer and liposome systems”, *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 42, n. 4, pp. 601-613.

LUO, Y., LI, B., JIANG, REN-DI. *et al.*, 2018, “Longitudinal Surveillance of Betacoronaviruses in Fruit Bats in Yunnan Province, China During 2009-2016”, *Virologica Sinica*, v. 33, pp. 87-95.

LUTFOR, A. B, SAHA, R, M. AKTER, M., 2018, “Changes in Five Years among Pathogens in Wound Infection and Their Susceptibility to Antimicrobials”. *American Journal of Infectious Diseases and Microbiology*, v.6, n.1, pp.1-8.

MACHADO, S. F., CAMILETTI, G. G., NETO, A.C. *et al.*, 2009, “Gaussian basis set of triple zeta valence quality for the atoms from K to Kr: Application in DFT and CCSD(T) calculations of molecular properties”, *Molecular Physics*, v. 107, n. 6, pp. 1713-1727.

MACHIREDDY, B, G. KALRA,G, S., JONNALAGADDA, S. *et al.*, 2017, “Probing the Binding Pathway of BRACO19 to a Parallel-Stranded Human Telomeric G-Quadruplex Using Molecular Dynamics Binding Simulation with AMBER DNA OL15 and Ligand GAFF2 Force Fields”, *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, v. 57, n.11, pp. 2846–2864.

MACKERELL, A. D., JR, BANAVALI, N., FOLOPPE, N., 2000, "Development and current status of the CHARMM force field for nucleic acids", *Biopolymers*, v.56, n.4, pp. 257–265.

MACKERELL, A.D. JR, BASHFORD, D., BELLOTT, M., *et al.*, 1998, "All-atom empirical potential for molecular modeling and dynamics Studies of proteins", *Journal of Physical Chemistry B*, v.102, 3586–3616.

MAHARAJ, Y., SOLIMAN, M. E. S., 2013. "Identification of Novel Gyrase B Inhibitors as Potential Anti-TB drugs: Homology Modelling, Hybrid Virtual Screening and Molecular Dynamics Simulations", *Chemical Biology & Drug Design*, v. 82, n.2, pp. 205–215.

MAHTARIN, R., ISLAM, S., ISLAM, MD. J. *et al.*, 2020, "Structure and dynamics of membrane protein in SARS-CoV-2", *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*", *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, pp. 1-14.

MAIER, J. A., MARTINEZ, C., KASAVAJHALA, K. *et al.*, 2015, "ff14SB: Improving the Accuracy of Protein Side Chain and Backbone Parameters from ff99SB", *Journal of Chemical Theory and Computation*, v.11, n.8, pp. 3696–3713.

MANFREDONIA, I., NITHIN, C., PONCE-SALVATIERRA, A. *et al.*, 2020, "Genome-wide mapping of SARS-CoV-2 RNA structures identifies therapeutically-relevant elements", *Nucleic Acids Research*, V. 48, n. 22, pp. 12436–12452.

MAO, Y., ZHANG Y., 2012, "Thermal conductivity, shear viscosity and specific heat of rigid water models". *Chemical Physics Letters*, v.542, pp. 37–41.

MARIANO, G., FARTHING, R. J., LALE-FARJA, S. L.M. *et al.*, 2020, "Structural Characterization of SARS-CoV-2: Where We Are, and Where We Need to Be", *Frontiers in Molecular Bioscience*, v. 7, pp. 1-28.

MARSH, H.; REINOSO, F. R., 2006, *Activated Carbon*. London, UK, Elsevier Science & Technology Books.

MARTINS, M. G., AROUCHE, T.; NETO, A. F. G *et al.*, 2021, “Density functional theory for the thermodynamic gas-phase investigation of butanol biofuel and its isomers mixed with gasoline and ethanol”, *Journal of Molecular Modeling (Online)*, v. 27, n. 80, 2021.

MENÉNDEZ-DIAZ, J. A., MARTÍN-GULLÓN, I., 2006, “Types of carbon adsorbents and their production”. In: Bandosz, T. J., *Activated Carbon Surfaces in Environmental Remediation*, chapter 1, New York, USA, Ed. Elsevier.

MENZIES D.G, BUSUTTIL A, PRESCOTT L.F., 1988, “Fatal pulmonary aspiration of oral activated charcoal”, *British Medical Journal*, v. 297, pp. 459-460.

MICHEAL, F., HARRACHA, D., BARBARA, D., 2014, “Structure and dynamics of TIP3P, TIP4P, and TIP5P water near smooth and atomistic walls of different hydroaffinity”, *Journal of Chemical Physics*, v.140, n.17, pp. 174501-1745016.

MICHEN, B., GRAULE, T., 2010, “Isoelectric points of viruses”, *Journal of Applied Microbiology IS*, v .109, pp. 388–397.

MIRZA, M. U., AHMAD, S., ABDULLAH, I., *et al.*, 2020, “Identification of novel human USP2 inhibitor and its putative role in treatment of COVID-19 by inhibiting SARS-CoV-2 papain-like (PLpro) protease”, *Computational Biology and Chemistry*, v.89, 107376.

MORRIS, G. M., HUEY, R., LINDSTROM, W. *et al.*, 2009, “Autodock4 and AutoDock-Tools4: automated docking with selective receptor flexibility”, *Journal of Computational Chemistry*, v.30, n. 16, pp. 2785-2791.

MORRIS, G. M., LIM-WILBY, M., 2008, “Molecular Modeling of Proteins”. In: *Methods in Molecular Biology*, chapter 19, v. 443, Totowa, NJ, USA, Elsevier.



MOSHFEGH, F., EZZATI, A., EZZATI, A. *et al.*, 2021, “Therapeutic and Diagnostic Approaches for SARS-CoV-2” *Voice of the Publisher*, v. 7, pp. 63-79.

NAZAROFF, W.W., 2004, “Indoor particle dynamics”, *Indoor Air*”, v.14, n. 7, pp. 1-15.

NELAKUDITI, B., SHRIVASTAVA, A., 2021, “Drug Repurposing 57 well-known drugs for three COVID-19 targets: Mpro, Spike, RdRp”, *Chem Rxiv*, pp. 1-26.

NETO, A. F. G., 2018, *Teoria do Funcional de Densidade e Ensemble Canônico para Análise Termodinâmica Do Gás Natural, Gás De Síntese e de suas Misturas*. Tese de D.Eng., ITEC/UFGA, Belém, PA, Brasil.

NETO, A. M. J. C., NETO, A. F. G., MOTA, G. V. S. *et al.*, 2013, “A Molecular Dynamics Study of a Flagellum Inside of a Carbon Nanotube”, *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience*. v.10, n.11, pp.2555-2558.

NOLL, R. J., HUGHES., J. M., 2018, “Heat Evolution and Electrical Work of Batteries as a Function of Discharge Rate: Spontaneous and Reversible Processes and Maximum Work”, *Journal of Chemical Education*, v.95, n.5, pp. 852-857.

OOSTENBRINK, C., VILLA, A., MARK, A. E., *et al.*, 2004, “A biomolecular force field based on the free enthalpy of hydration and solvation: the GROMOS force-field parameter sets 53A5 and 53A6”, *Journal Computational Chemistry*, v. 25, n.13, pp. 1656–1676.

PENG, G., SUN, D., RAJASHANKAR K. R., *et al.*, 2011, “Crystal structure of mouse coronavirus receptor-binding domain complexed with its murine receptor” *Proceedings of the National Academy Sciences of the United States America*, v. 108, n.26, pp. 10696 - 10701.

PHAM, M., MINTZ, E. A., NGUYEN, T. H., 2009, “Deposition kinetics of bacteriophage MS2 to natural organic matter: Role of divalent cations”, *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 338 ,n. 1, pp. 1-9.

PILLAIYAR, T., MANICKAM, M., NAMASIVAYAM, V., *et al*, 2016, “An overview of severe acute respiratory syndrome-coronavirus (SARS-CoV) 3CL protease inhibitors: peptidomimetics and small molecule chemotherapy”, *Journal of Medicinal Chemistry*, v.59, n.14, pp. 6595–6628.

PRADHAN, D., 2020, “A Review of Current Interventions for COVID-19 Prevention”, *Archives of Medical Research*, v.51 ,n.5, pp. 363-374.

PREETI, P., JITENDRA, S. R., ARONI C, *et al.*, 2020, “Targeting SARS-CoV-2 Spike protein of COVID-19 with naturally occurring phytochemicals: an *in silico* study for drug development”, *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, pp. 1-11.

RAMAKRISHNAN, J., SARAVANAN, K., IRUTHAYARAJ, A. *et al.*, 2021, “Strong Binding of Leupeptin with TMPRSS2 Protease May Be an Alternative to Camostat and Nafamostat for SARS-CoV-2 Repurposed Drug: Evaluation from Molecular Docking and Molecular Dynamics Simulations”, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v.193, pp. 1909–1923.

REN, Y., SHU, T., WU, D. *et al.*, 2020, “The ORF3a protein of SARS-CoV-2 induces apoptosis in cells”, *Cellular & Molecular Immunology*, v. 17, pp. 881 – 883.

REN, Z., YAN, GUO, Y., *et al.* , 2013, “The newly emerged SARS-like coronavirus HCoV-EMC also has an "Achilles' heel": current effective inhibitor targeting a 3C-like protease”, *Protein & Cell*, v. 4, n. 4, pp. 248-250.

RIFAI, E. A., VAN DIJK, M., VERMEULEN, N. P. E. *et al.*, 2019 “A Comparative Linear Interaction Energy and MM/PBSA Study on SIRT1–Ligand Binding Free Energy Calculation” *Journal of Chemical Information and Modeling*, v.59, n.9, pp. 4018-4033.

ROYCE, R. A., SENA, A., CATES, W. JR. *et al.*, 1997, “Sexual transmission of HIV”, *The New England Journal of Medicine*, v. 336, n. 15, pp.1072-1078.

RUTHVEN, D.M., 1984, *Principle of Adsorption and Adsorption Processes*. New York, NY, USA, John Wiley & Sons.

SAKODA, A., SAKAI, Y., HAYAKAWA, K. *et al.*, 1997, “Adsorption of viruses in water environment onto solid surfaces”, *Water Science and Technology*, v. 35, pp.107–114.

SAMPAIO, F. C., PEREIRA, M., DIAS, C. S. *et al.*, 2009, “*In vitro* antimicrobial activity of *Caesalpinia ferrea* Martius fruits against oral pathogens”, *Journal of Ethnopharmacology*, v. 124, n.2, pp. 289–294.

SANDA, M., MORRISON, L., GOLDMAN, R., 2021, “N- and O-Glycosylation of the SARS-CoV-2 Spike Protein”, *Analytical Chemistry*, v.93, n. 4, pp. 2003-2009.

SANTOS, C. B. R., LOBATO, C. C., BRAGA, F. S., 2014, “Application of Hartree-Fock Method for Modeling of Bioactive Molecules Using SAR and QSPR”, *Computational Molecular Bioscience*, v.4, pp. 1-24.

SANTOS, E. C., NETO, A. F. G., MANESCHY, C., *et al.* 2015. “A Molecular Dynamics of Cold Neutral Atoms Captured by Carbon Nanotube Under Electric Field and Thermal Effect as a Selective Atoms Sensor”, *Journal of Nanoscience And Nanotechnology*, v.15, n.5, pp. 3677-3680.

SCHOEMAN, D., FIELDING, B. C., 2019, “Coronavirus envelope protein: current knowledge”, *Virology Journal* , v.16, n. 69, pp. 1-22.

SERGEY, P. P., BAIDAKOV, V.G., 2016, "Binary Lennard-Jones mixtures with highly asymmetric interactions of the components. 1. Effect of the energy parameters on phase equilibria and properties of liquid-gas interfaces", *Fluid Phase Equilibria*, v. 429, pp. 242–253.

SHI, H., TARABARA, V. V., 2018, “Charge, size distribution and hydrophobicity of viruses: Effect of propagation and purification methods”, *Journal Virology Methods*, v.256, pp. 123–132.

SHI, J., WEN, Z., ZHONG, G. *et al.*, 2020, “Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS–coronavirus 2”, *Science*, v.368, pp. 1-10.

SIA, S. F., LI-MENG, Y., CHIN, A. W. H. *et al.*, 2020, “Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in golden hamsters”, *Nature*, v.583, pp. 834–838.

SILVERSTEIN, K. A. T., HAYMET, A. D. J., DILL, K. A., 1998, “Simple Model of Water and the Hydrophobic Effect”, *Journal of the American Chemical Society*, v. 120, n.13, pp. 3166–3175.

SIMMONS, G, ZMORA, P., GIERER, S. *et al.*, 2013, “Proteolytic activation of the SARS-coronavirus spike protein: Cutting enzymes at the cutting edge of antiviral research”, *Antiviral Research*, v.100, pp. 605–614.

SONG, W., GUI, M., WANG X. *et al.*, 2018, “Cryo-EM structure of the SARS coronavirus Spike glycoprotein in complex with its host cell receptor ACE2”, *PLoS Pathogens*, pp.1-19.

SU, HAI-XIA, YAO, S., ZHAO, WENG-FENG *et al.*, 2020, “Anti-SARS-CoV-2 activities *in vitro* of Shuanghuanglian preparations and bioactive ingredients” *Acta Pharmacologica Sinica*, v. 41, pp. 1167–1177.

SÜNTAR, I. P., KOCA, U., AKKOL, E. K., 2011, “Assessment of Wound Healing Activity of the Aqueous Extracts of *Colutea cilicica* Boiss. & Bal. Fruits and Leaves”, *Evidence-based complementary and alternative medicine*, v. 2011, pp. 1-7.

SUTHERLAND, I., SHENG, E., BRADLEY R.H. *et al.*, 1996, “Effects of ozone oxidation on carbon charcoal black surface”, *Journal of Material Science*, v.31, pp. 5651–5655.

SZABO, A., OSTLUND, N. S., 1989, *Modern Quantum Chemistry: Introduction to Advanced Electronic Structure Theory*. New York., NY, USA, McGraw-Hill,

TANG, Z., KONG, N., ZHANG, X. *et al.*, 2020, “A materials-science perspective on tackling COVID-19”, *Nature Reviews Materials*, v.5, pp. 847-860.

TEHRANI, Z. A., KIM, K. S., 2016, “Functional Molecules and Materials by p-Interaction Based Quantum Theoretical Design“, *International Journal of Quantum Chemistry*, v.116, pp. 622–633.

THOMAS, S., 2020, “The Structure of the Membrane Protein of SARS-CoV-2 Resembles the Sugar Transporter SemiSWEET”, *Pathogens and Immunity*, v. 5, n. 1, pp. 342-363.

TOOR, H. G., BANERJEE, D. I., RATH, S. L. *et al.*, 2021, “Computational drug repurposing targeting the spike glycoprotein of SARS-CoV-2 as an effective strategy to neutralize COVID-19”, *European Journal of Pharmacology*, v.890, n.173720, pp. 1-79.

VALERO, A., VALERO, A., VIEILLARD, P., 2012, “The thermodynamic properties of the upper continental crust: Exergy, Gibbs free energy and enthalpy”, *Energy*, v. 41, n. 1, pp. 121–127.

WALLS, A. C., PARK, Y.-J., TORTORICI, M. A. *et al.*, 2020, “Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein”, *Cell*, v. 181, n. 2, pp. 281-292.

WANG, J., CIEPLAK, P., KOLLMAN, P. A., 2000, “How well does a restrained electrostatic potential (RESP) model perform in calculating conformational energies of organic and biological molecules?“, *Journal of Computational Chemistry*, v.21, n.12, 1049–1074.

WANG, J., WOLF, R. M., CALDWELL, J. W., *et al.*, 2004, “Development and testing of a general amber force field”, *Computational Chemical*, v. 25, n. 9, pp. 1157-1174.

WARD, J. W., HOLMBERG, S. D., ALLEN *et al.*, 1988, “Transmission of human immunodeficiency virus (HIV) by blood transfusions screened as negative for HIV antibody”, *The New England Journal of Medicine*, v. 318, pp. 473–478.

WOODS, R. E CHAPPELLE, R., 2000, “Restrained electrostatic potential atomic partial charges for condensed-phase simulations of carbohydrates”, *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, v. 527, n. 2000, pp. 149-156.

WORLDOMETER-real time world statistics, 2021, Disponível em:<<https://www.worldometers.info/coronavirus/>>. Acesso em: 01 jul. 2021, 16;38:55.

WU, F., ZHAO, S., YU, B. *et al.*, 2020, “A new coronavirus associated with human respiratory disease in China”, *Nature*, v.579, pp.265-269.

XIE, L., FENGLIN, L., LIU, J., 2020, “A Nanomechanical Study on Deciphering the Stickiness of SARS-CoV-2 on Inanimate Surfaces“, *ACS Applied Materials & Interfaces*, v. 2, n. 52, pp. 58360-58368.

XU, J.,XUE, Y., ZHOU, R, 2021, “Drug repurposing approach to combating coronavirus: Potential drugs and drug targets”, *Medicinal Research Reviews*, v. 4, n. 3, pp.1-52. 1375-1426

YANG, Z., LASKER, K., SCHNEIDMAN-DUHOVNY, D. *et al.*, 2012, “UCSF Chimera, MODELLER, and IMP: an integrated modeling system”, *Journal of Structural Biology*, v. 179, n.3, pp. 269–278.

YANG, Z., LIU, Y., CHEN, Z. *et al.*, 2015, “A quantum mechanics-based halogen bonding scoring function for protein-ligand interactions”, *Journal of Molecular Modeling*, v. 21, n. 138, pp.1-21.

YUAN, Y., CAO, D., ZHANG, Y. *et al.*, 2017, “Cryo-EM structures of MERS-CoV and SARS-CoV Spike glycoproteins reveal the dynamic receptor binding domains”, *Nature Communications*, v.8, n. 15092, pp. 1-9.

ZERDA, K.S., GERBA, C.P., HOU, K.C. *et al.*, 1985, “Adsorption of viruses to charge-modified silica”, *Applied Environment Microbiology*, v.49, pp.91-95.

ZHEN, J., WEI, X., SHI, W., *et al.*, 2017, “Cooperativity effect involving drug–DNA/RNA intermolecular interaction: A B3LYP-D3 and MP2 theoretical investigation on ketoprofen cytosine H<sub>2</sub>O system”, *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, v.36, n.14, pp. 3587-3606.

ZHU, N., ZHANG, D., WANG, W., *et al.*, 2019, “A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China”, *The New England Journal of Medicine*, pp. 1-7.

ZHUANG, J., JIN, Y., 2003, “Virus retention and transport through Al-oxide coated sand columns: effects of ionic strength and composition”, *Journal of Contaminant Hydrology*, v.60, pp. 193-20