



**INSTITUTO
FEDERAL**
Rio de Janeiro

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro

Campus Realengo

Curso de Farmácia

Laryssa de Oliveira Lopes

**Práticas Em Química Farmacêutica:
Ferramentas de Ensino e
Contextualização do Planejamento
Racional de Fármacos**

Rio de Janeiro
2023

LARYSSA DE OLIVEIRA LOPES

**PRÁTICAS EM QUÍMICA FARMACÊUTICA: FERRAMENTAS DE
ENSINO E CONTEXTUALIZAÇÃO DO PLANEJAMENTO
RACIONAL DE FÁRMACOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Instituto Federal do Rio de Janeiro, como
requisito parcial para a obtenção do grau de
Bacharel em Farmácia

Orientadores: Profa. Dra. Anne Caroline Cândido
Gomes e Prof. Dr. Rodolfo Goetze Fiorot

Rio de Janeiro
2023

LARYSSA DE OLIVEIRA LOPES

**PRÁTICAS EM QUÍMICA FARMACÊUTICA: FERRAMENTAS DE
ENSINO E CONTEXTUALIZAÇÃO DO PLANEJAMENTO
RACIONAL DE FÁRMACOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Instituto Federal do Rio de Janeiro, como
requisito parcial para a obtenção do grau de
Bacharel em Farmácia

Aprovado em: 18/12/2023

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Anne Caroline Cândido Gomes- (orientador)
Instituto Federal do Rio de Janeiro (IFRJ)

Prof. Dr. Rodolfo Goetze Fiorot (orientador)
Universidade Federal Fluminense (UFF)

Profa. Dra. Ana Carolina de Albuquerque - (membro externo)
Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)

Dr. Maicon Deladermina – (membro externo)
Cardiff University

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação Elaborada por Bibliotecária

CIP - Catalogação na Publicação
Bibliotecária: Karina Barbos dos Santos - 6212

L864p Lopes, Laryssa
Práticas em Química Farmacêutica : ferramentas de Ensino e
Contextualização do Planejamento Racional de Fármacos /
Laryssa Lopes - Rio de Janeiro, 2023.
57 f. : il.

Orientação: Anne Caroline Gomes.

Coorientação: Rodolfo Fiorot.

Trabalho de conclusão de curso (graduação), Bacharelado
em Farmácia, Instituto Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia do Rio de Janeiro, Campus Realengo, 2023.

1. Modelagem Molecular. 2. Planejamento de Fármacos. 3.
Química Medicinal. 4. Reconhecimento Molecular. I. Gomes,
Anne Caroline, orient. II. Fiorot, Rodolfo, coorient. III. Instituto
Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro.
IV. Título.

CDU 615

LOPES, Laryssa de Oliveira. Práticas em Química Farmacêutica: Ferramentas de Ensino e Contextualização do Planejamento Racional de Fármacos. 58p. Trabalho de Conclusão de Curso. Graduação em Farmácia, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), *Campus Realengo*, Rio de Janeiro, RJ, 2023.

RESUMO

A Química Farmacêutica abrange diversos aspectos relacionados às bases moleculares da atividade biológica dos fármacos, sendo a modelagem molecular uma ferramenta importante para a compreensão dos aspectos relacionados a essa atividade. A modelagem molecular pode ser compreendida como um conjunto de ferramentas utilizadas para a análise, na íntegra, de sistemas moleculares complexos, sendo útil para o planejamento racional de fármacos. Dentre os parâmetros avaliados na modelagem molecular, destaca-se o *docking* molecular ou ancoramento molecular. Através do *docking* molecular, é possível avaliar o perfil farmacodinâmico de determinada molécula, bem como sugerir alterações estruturais que modifiquem a interação fármaco-receptor, aperfeiçoando, assim, a resposta terapêutica. A Química Farmacêutica, enquanto disciplina de graduação em Farmácia, possui uma base essencialmente teórica, mas que é passível de ser complementada através de um eixo prático. A incorporação de aulas práticas neste domínio é uma perspectiva recente, a qual se encontra em ascensão atualmente e, ao mesmo tempo, tem revelado eficiência no processo ensino-aprendizagem. Nesse contexto, as aulas práticas de química farmacêutica — com foco em modelagem molecular — permitem que os alunos compreendam plenamente as bases moleculares das interações fármaco-receptor e se tornem capazes de planejar novos candidatos a fármacos, a partir de estratégias de modificação molecular. Uma opção viável para o sucesso do eixo prático dessa disciplina é o emprego de *softwares* gratuitos, cujos acessos aos programas sejam livres. Sendo assim, este trabalho tem por objetivo apresentar um roteiro, facilmente executável para a realização de aulas práticas de Química Farmacêutica, tendo como principal característica a manipulação de *softwares* gratuitos e acessíveis. Dessa forma, é possível criar medidas que contribuam para o ensino efetivo da disciplina, permitindo a ascensão de alunos e de trabalhadores com potencial diferenciado no mercado.

Palavras-chave: Modelagem Molecular; Planejamento de Fármacos; Química Medicinal; Reconhecimento Molecular.

LOPES, Laryssa de Oliveira. Practices in Pharmaceutical Chemistry: Teaching Tools and Contextualization of Rational Drug Planning. 58p. Undergraduate Thesis. Pharmacy Graduation, Federal Institute of Education, Science, and Technology of Rio de Janeiro (IFRJ), Realengo Campus, Rio de Janeiro, RJ, 2023.

ABSTRACT

Pharmaceutical Chemistry covers several aspects related to the molecular bases of the biological activity of drugs, being molecular modeling an important tool for understanding aspects related to this activity. Molecular modeling can be understood as a set of tools used for the complete analysis of complex molecular systems, being useful for the rational planning of drugs. Among the parameters evaluated in molecular modeling, molecular *docking* or molecular anchoring stands out. Through molecular docking it is possible to evaluate the pharmacodynamic profile of a determined molecule, as well as suggest structural changes that modify the drug-receptor interaction, thus improving the therapeutic response. Pharmaceutical Chemistry, as an undergraduate discipline in Pharmacy, has an essentially theoretical basis, but which can be complemented through a practical axis. The incorporation of practical classes in this domain is a recent perspective, which is on the rise nowadays and, at the same time, has revealed efficiency in the teaching-learning process. In this context, practical pharmaceutical chemistry classes — with a focus on molecular modeling — allow students to fully understand the molecular bases of drug-receptor interactions and become capable of planning new drug candidates, based on molecular alteration strategies. A viable option for the success of the practical axis of this discipline is the use of free software, whose access to the programs is free. Therefore, this work aims to present an easily executable script for carrying out practicals in Pharmaceuticals Chemistry classes, with the main characteristic being the manipulation of free and accessible softwares. In this way, it is possible orkerse measures that contribute to the effective teaching of the subject, allowing the rise of students and workers with differentiated potential in the market.

Keywords: Molecular Modeling; Medication Planning; Medicinal Chemistry; Molecular Recognition.

“O homem não teria alcançado o possível se, repetidas vezes, não tivesse tentado o impossível.”

Max Weber

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por ter me dado forças e ter permitido que eu chegasse até aqui. Sem Ele, nada disso teria sido possível.

Agradeço, também, à minha família, especialmente aos meus pais, Leandro e Mônica Lopes, que não mediram esforços para que eu pudesse estudar. Sempre me trouxeram palavras de ânimo e acreditaram no meu potencial.

Agradeço à minha irmã, Lyana Lopes, com quem sempre posso ser eu mesma. A conexão entre irmãos é algo inexplicável e eu sou grata por ter encontrado uma amiga e irmã na mesma pessoa.

Agradeço também ao meu parceiro de vida, Lucas Padilha, cuja natureza complementar à minha trouxe calma nos dias mais tempestuosos vividos ao longo dessa graduação.

Agradeço aos meus amigos Millena, Andrey, Bárbara, Warley. Com vocês, a caminhada é sempre mais leve, mais divertida e mais dinâmica. É incrível compartilhar a vida com vocês.

Por fim, agradeço ao corpo docente perfeitamente capacitado desta Instituição, cujos professores sempre se demonstraram solícitos para ensinar, não só aquilo que tange ao concretizar profissional, mas também conselhos para a vida. Com certeza, os ensinamentos até agora obtidos impactarão na futura profissional que serei.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diagrama de interações em 2D, gerado no <i>DS Visualizer</i>	16
Figura 2 - Estrutura do Ácido 7- aminocefalosporânico	28
Figura 3 - Estrutura do pró-fármaco axetilcefuroxima.....	29
Figura 4 - Conversão da Axetilcefuroxima em sua forma ativa, a Cefuroxima, pela ação das esterases	30
Figura 5 - Resultados obtidos para a molécula de Cefuroxima não esterificada.....	31
Figura 6 - Resultados obtidos para a molécula de Axetilcefuroxima.....	31
Figura 7 - Log P da Cefuroxima.....	33
Figura 8 - Log P da Axetilcefuroxima.....	33
Figura 9 - Predição fornecida pelo vNN-ADMET	34
Figura 10 - Ordem de reatividade dos sítios para o metabolismo da CYP3A4.....	35
Figura 11 - Gráfico Boiled Egg da Axetilcefuroxima	36
Figura 12 - Dimensões da Grid Box obtida para a molécula da Axetilcefuroxima.....	38
Figura 13 - Sobreposição do ligante redocado, em amarelo, comparado ao ligante original, colorido.....	39
Figura 14 - Diagrama de interações em 2D da Cefuroxima e sua molécula alvo	40
Figura 15 - Candidato I: substituição do furano pelo imidazol, o que constitui um bioisosterismo clássico entre anéis aromáticos.	41
Figura 16 - Candidato II: substituição função amida do carbono 7 da Cefuroxima por uma sulfonamida, que constitui um bioisosterismo não clássico	42
Figura 17 - Candidato III: simplificação molecular no grupo substituinte do carbono 3 da Cefuroxima	42
Figura 18 - Radar de biodisponibilidade do pró-fármaco do Candidato I.....	43
Figura 19 - Parâmetros de lipofilicidade, obtidos a partir do SwissADME para o Candidato I	44
Figura 20 - Parâmetros fornecidos pelo vNN-ADMET para o Candidato I.....	45
Figura 21 - Acomodação do Candidato I na Grid Box, com as dimensões do fármaco protótipo.....	46
Figura 22 - Comparação de valores fornecidos pelo Autodock vina para o ligante original e para o Candidato I, respectivamente.....	47
Figura 23 - O 9° confôrmero do candidato em comparação à estrutura do protótipo complexada à proteína	48
Figura 24 - Diagrama 2D gerado no DS visualizer para o Candidato I	49

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
1.1	FERRAMENTAS COMPUTACIONAIS UTILIZADAS PARA A ELABORAÇÃO DAS AULAS PRÁTICAS	13
1.1.1	MarvinSketch	13
1.1.2	Avogadro	13
1.1.3	SwissADME e vNN-ADMET	13
1.1.4	Protein Data Bank	14
1.1.5	Discovery Studio Visualizer	15
1.1.6	AutoDockTools e AutoDock Vina	16
1.1.7	SmartCyp	17
1.2	OBJETIVOS	17
1.2.1	Objetivo Geral	17
1.2.2	Objetivos específicos	18
2	DESENVOLVIMENTO	19
2.1	METODOLOGIA	19
2.1.1	Condução das Aulas Teóricas	20
2.1.1.1	Aspectos gerais de ação dos fármacos	20
2.1.1.2	Metabolismo de Fármacos	21
2.1.1.3	Planejamento racional de candidatos a fármacos a partir de estratégias de modificação molecular	22
2.1.2	Condução das Aulas Práticas	24
2.1.2.1	Utilização do MarvinSketch, Avogadro, SwissADME e vNN-ADMET	24
2.1.2.2	Utilização do SmartCyp	26
2.1.2.3	Utilização do Discovery Studio Visualizer, AutoDockTools e AutoDock Vina	26
2.2	RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
2.2.1	Interpretações Feitas Pelos Alunos: O Caso da Cefuroxima	28
2.2.2	Interpretações Acerca das Modificações Estruturais Realizadas na Cefuroxima	42
2.2.3	Apresentação dos Seminários	49
2.2.4	Estudos Extra-Acadêmicos	50
3	CONCLUSÃO	51
	REFERÊNCIAS	52

1 INTRODUÇÃO

A Química Farmacêutica ou Medicinal (QF) é uma disciplina baseada na química, que envolve aspectos das ciências biológicas, médicas e farmacêuticas. Ela está fundamentada na invenção, no descobrimento, no planejamento, na identificação e na preparação de compostos biologicamente ativos, além da interpretação de seu mecanismo de ação à nível molecular, da construção das relações estrutura-atividade e do estudo de sua farmacocinética (IUPAC, 1997). No contexto do planejamento racional de fármacos, tendo como intuito respostas terapêuticas mais satisfatórias somadas a um maior nível de segurança, os conhecimentos de Química Farmacêutica são de grande relevância.

De acordo com Amaral *et al* (2017), a Química Farmacêutica (ou Medicinal) tem evoluído positivamente no cenário brasileiro, permitindo que as pesquisas desenvolvidas no país tenham destaque em contexto nacional e internacional. Um dos pilares associados a esses trabalhos contempla a temática do ensino da disciplina, a qual é obrigatória na graduação em Farmácia do Brasil (Ministério da Educação, 2017).

O ensino de Química Farmacêutica, no Brasil, é fundamentalmente teórico e expositivo. Contudo, o emprego de novas metodologias didáticas e ativas para o ensino dessa disciplina vem resultando em melhorias no processo de ensino-aprendizagem dos cursos de Farmácia (RODRIGUES *et al*, 2021). Uma dessas novas metodologias é a realização de aulas práticas e experimentais em concomitância ao conteúdo teórico.

O ensino teórico de Química Farmacêutica explora recursos estritamente expositivos para viabilizar o ensino das interações do fármaco com seu biorreceptor, das propriedades físico-químicas, das farmacocinética e farmacodinâmica e das estratégias de modificação molecular. Por outro lado, o ensino prático emprega ferramentas tecnológicas e computacionais, com recursos de modelagem e visualização molecular, os quais permitem que o aluno aplique o conteúdo aprendido na teoria.

Para a condução das aulas práticas de Química Farmacêutica, é necessária a utilização de determinados *softwares* para cálculos de estrutura molecular e energia, fundamentados nas leis da mecânica molecular e da mecânica quântica. Este segundo, em particular, ramifica-se em métodos chamados de *ab initio*, semi-empírico, e da Teoria do Funcional da Densidade (DFT, do inglês *Density Functional Theory*).

O método de mecânica molecular é baseado na visão clássica da estrutura da molécula. Ele considera que os átomos se comportam como esferas unidas por molas, com constantes de forças características, as quais podem ser obtidas por dados espectroscópicos.

Para estabelecer o campo de força associado à molécula e sua respectiva energia, é preciso realizar o somatório das diferentes constantes de forças envolvidas nas posições de equilíbrio dos átomos nas moléculas, tais como distâncias e ângulos de ligação, interações eletrostáticas, ligações de hidrogênio, ângulos diedros, distâncias de van der Waals, dentre outras. É importante ressaltar que cada *software* possui seu próprio conjunto algébrico, ou seja, possui leis matemáticas próprias, para realizar o somatório dessas forças e, assim, fornecer a energia. Em geral, o método de mecânica molecular é útil para avaliar sistemas moleculares complexos. No entanto, este método não faz o tratamento explícito dos elétrons para a realização de seus cálculos, o que pode levar a resultados menos precisos em relação aos métodos de mecânica quântica (BARREIRO; RODRIGUES, 1996).

Já os métodos de mecânica quântica — dividido em *ab initio*, semi-empíricos e da Teoria do Funcional da Densidade (DFT) — consideram a interação específica internuclear, intereletrônica e núcleo-elétron para cálculos de estrutura molecular, eletrônica e de propriedades de interesse, utilizando as leis da mecânica quântica, como, por exemplo a equação de Schrödinger (RODRIGUES, C., 2001).

Os métodos *ab initio*, do latim "desde o princípio", utiliza as leis fundamentais da mecânica quântica para calcular as energias de sistemas moleculares, abrangendo desde moléculas orgânicas simples até substâncias moleculares complexas. Este método prescinde de premissas ou dados empíricos em seus cálculos, o que onera os computacionais e prolonga o tempo para a obtenção dos resultados. Por outro lado, métodos semi-empíricos partem de parâmetros empíricos, derivados de dados experimentais ou de valores teóricos muito precisos, para calcular a energia do sistema molecular, proporcionando uma redução no tempo necessário para obtenção dos dados. No entanto, sua precisão é inferior em comparação ao método *ab initio*, já que emprega aproximações experimentais para produzir os resultados. Finalmente, a Teoria do Funcional da Densidade, fundamentada no Teorema de Hohenberg e Kohn, estabelece que a energia total de uma molécula pode ser obtida por cálculos que operam sobre a densidade eletrônica do sistema. Conhecendo a densidade eletrônica associada ao seu menor estado de energia, é possível extrapolar esses dados para a equação de Schrödinger, simplificando, assim, sua resolução em relação aos cálculos *ab initio* (TANTILLO, D. J., 2018).

Na Química Computacional, os métodos de mecânica molecular e de mecânica quântica são aplicados para a otimização das geometrias das moléculas e para o cálculo de suas respectivas energias. Uma das aplicações dos programas que realizam tais cálculos de estrutura e energia é o *docking* molecular — ou ancoramento molecular. O *docking* molecular pode ser definido como um conjunto de técnicas computacionais utilizadas para a exploração dos

possíveis modos de ligação de um substrato a um determinado receptor, enzima, ou outro sítio de ligação (WERMUTH, 1998). Através do *docking* molecular, é possível identificar as interações intermoleculares estabelecidas entre os ligantes (que podem ser moléculas potencialmente ativas, ou substâncias em que haja interesse de avaliação da atividade biológica) e os resíduos de aminoácidos de seu receptor, ou seja, de seu alvo biomacromolecular. Além disso, a otimização da geometria da molécula, realizada na molécula antes de prosseguir com seu respectivo *docking* molecular, é crucial para determinar a conformação e orientação do ligante, bem como avaliar a afinidade de ligação, sendo essas variáveis úteis no planejamento de novas moléculas ativas (SILVA *et al*, 2023).

Outro ponto a ser destacado acerca da aplicação destes cálculos é simulação de reações químicas, as quais compõem as bases moleculares do metabolismo dos fármacos no organismo. Mariano *et al* (2008), utilizou da Química Computacional para descrever os mecanismos de reações orgânicas clássicas, avaliando os aspectos eletrônicos e conformacionais dos produtos, reagentes e solventes envolvidos. Tendo em vista os meios biológicos e os aspectos eletrônicos dos fármacos e das enzimas metabolizadoras - sobretudo as CYP - é possível verificar tridimensionalmente os metabólitos a serem formados por meio da modelagem molecular. Além disso, o trabalho de Mariano teve por objetivo relacionar estes aspectos ao ensino da disciplina química orgânica, verificando que a utilização destes *softwares* em sala de aula fomenta um aprendizado mais eficiente.

A Química Computacional é útil, também, na avaliação das propriedades físico-químicas do fármaco, sendo aplicado também em estudos de ADME (administração, distribuição, metabolização e excreção) da molécula. Através da análise crítica das características físico-químicas do ativo é possível prever sua forma de administração, o compartimento corpóreo em que este fármaco será mais absorvido, em qual órgão este fármaco estará ionizado, além de comparar dois medicamentos de mesma classe segundo sua natureza química (RODRIGUES, G. *et al*, 2021).

Finalmente, os métodos utilizados pela Química Computacional também se integram ao planejamento racional de fármacos, um dos pilares da Química Farmacêutica (GUIDO; ANDRICOPULO, 2008). A integração desses métodos ao trabalho químico e biológico experimental é um requisito essencial para a geração de novas moléculas bioativas qualificadas, com propriedades múltiplas otimizadas (HOLBROOK; SANSEAU, 2007). Por verificarem as bases moleculares das ações dos fármacos, a Química Computacional permite a identificação da interação entre um ligante (que pode ser um fármaco ou uma molécula a qual se deseja determinar a atividade biológica) e seu alvo biomacromolecular (ou seja, seu receptor), o que é

útil para determinar, qualitativa e quantitativamente a relação entre a estrutura química e a atividade biológica (LOPES *et al*, 2019).

A relação quantitativa e qualitativa, existentes entre a estrutura e a atividade biológica, permite a definição de alguns parâmetros utilizados na Farmacologia. As avaliações quantitativas estão associadas às forças de interação entre o ligante e seu alvo biomacromolecular e são úteis para estabelecer a curva dose e efeito. Nessa conjuntura, é possível determinar a potência de um fármaco, ou seja, a concentração mínima de substância ativa necessária para produzir 50% de seu efeito máximo, além de sua eficácia máxima, ou seja, o percentual de resposta farmacológica atingida (ZASTROW, 2016, p. 30).

Já as avaliações qualitativas envolvem os tipos de interação intermolecular existentes entre o ligante e seu receptor e nos efeitos de transdução de sinal que essas interações causam. Assim, quando um fármaco interage com determinado alvo molecular ativando sua resposta de forma direta, ele é dito agonista do receptor; por outro lado, se a interação interrompe os efeitos de transdução de sinal, o ligante é designado antagonista do receptor (ZASTROW, 2016, p. 15). Além disso, as avaliações qualitativas permitem definir quais os sítios da molécula são farmacofóricos e auxofóricos. Os grupamentos farmacofóricos são responsáveis por promover reconhecimento celular para promover o agonismo ou antagonismo do receptor, enquanto os auxofóricos são grupamentos capazes de apresentar sítios de interação com o biorreceptor, sendo capazes de se somarem ao reconhecimento primário do grupo farmacofórico, sem no entanto serem os responsáveis pela resposta observada (BARREIRO; BOLZANI, 2009).

Uma vez entendidas as aplicações dos cálculos realizados pelos *softwares* que regem a Química Computacional, é possível estabelecer uma correlação entre a utilização desses programas e a temática do ensino da Química Farmacêutica. Segundo Tavares *et al* (2015) o ensino convencional, de caráter expositivo, nem sempre é capaz de atingir o aluno com a mesma intensidade da vivência experimental. Dessa forma, o emprego de novas metodologias ativas de ensino, como a realização aulas práticas que utilizam ferramentas computacionais, pode ser útil em tornar o aprendizado de Química Farmacêutica mais eficiente. Nessa conjuntura, os *softwares* empregados permitem a plena compreensão do *docking* molecular, tornando os alunos aptos para sugerirem modificações estruturais em uma molécula, a fim de trazer melhorias em seus aspectos farmacocinéticos ou dinâmicos.

No contexto atual, existem diversas ferramentas computacionais cujos acessos são gratuitos, as quais são úteis para contextualizar o ensino de Química Farmacêutica, por meio de aulas experimentais. Elas são capazes de realizar os cálculos de energia e a otimização da molécula estudada, além de fornecer suas propriedades físico-químicas, o que traz

complementaridade ao entendimento do aspecto teórico da disciplina. A seguir, serão apresentados alguns *softwares*, bancos de dados e plataformas virtuais que foram empregados para o desenvolvimento deste trabalho.

1.1 FERRAMENTAS COMPUTACIONAIS UTILIZADAS PARA A ELABORAÇÃO DAS AULAS PRÁTICAS

1.1.1 MarvinSketch

O *MarvinSketch* é um editor molecular, criado pela empresa CHEMAXON, capaz de construir fórmulas moleculares e estruturais de acordo com os termos da IUPAC. Este *software* é capaz de fornecer fórmulas estruturais planas (bidimensionais) e tridimensionais, realizar cálculos de fórmula e massa molecular, prever o grau de ionização da molécula em pH específico, a partir de informações de pKa de grupos funcionais obtidas na literatura e da atribuição de uma força iônica ao meio analisado, além corrigir erros de ligação, dentre outras funções (CHEMAXON, 2014). Uma das vantagens desta ferramenta é a possibilidade de inserção do código SMILES da molécula no programa, reduzindo o tempo para desenhá-la.

1.1.2 Avogadro

O Avogadro é um *software* que utiliza métodos de mecânica molecular para a realização dos cálculos de energia da molécula. Ele também permite a criação de códigos input, os quais são utilizados por outros *softwares* para a realização de cálculos por meio dos métodos semi-empíricos, DFT e *ab initio*. Assim como o *Marvinsketch*, o Avogadro também permite a criação de estruturas tridimensionais. Dessa forma, ele é bastante utilizado nas áreas de Química Computacional, Modelagem Molecular, Bioinformática e áreas afins (AVOGADRO, 2008). Este *software* é capaz de otimizar uma estrutura tridimensional, fornecendo conformações estáveis.

1.1.3 SwissADME e vNN-ADMET

SwissADME (cujo acrônimo significa Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção) e vNN-ADMET (cujo acrônimo significa Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicologia) são sites de livre acesso, capazes de indicar importantes aspectos

acerca de propriedades físico-químicas e farmacocinéticas de fármacos ou candidatos. O SwissADME fornece descritores físico-químicos úteis na previsão dos parâmetros de absorção, distribuição, metabolização e excreção de fármacos, como por exemplo, solubilidade, peso molecular, violações da regra de Lipinski, dentre outros (SWISS INSTITUTE OF BIOINFORMATICS, 2022). Para essa previsão, esta plataforma utiliza treinamento de modelos, baseado nas técnicas de *fingerprint* molecular. Nessa técnica, uma sequência de bits padronizada codifica características estruturais e topológicas da molécula analisada. Posteriormente, a plataforma realiza comparações, para verificar a similaridade bidimensional entre a molécula analisada e aquelas presentes em seu banco de dados. Com base na similaridade observada, é possível realizar a previsão farmacocinética (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017).

De modo análogo ao SwissADME, o vNN-ADMET também evidencia os aspectos farmacocinéticos de fármacos, utilizando a mesma abordagem de similaridade bidimensional. No entanto, este apresenta a vantagem em relação ao primeiro pois aponta riscos de citotoxicidade, cardiotoxicidade, mutagenicidade, interações com enzimas metabolizadoras, dentre outros (SCHYMAN *et al*, 2017).

1.1.4 Protein Data Bank

Protein Data Bank (PDB) é um banco de dados que fornece dados moleculares estruturais de proteínas. Foi criado em 1971, sendo disponibilizadas, naquela época, apenas sete estruturas. Posteriormente, a cada ano, novas estruturas foram adicionadas à plataforma, sendo hoje disponibilizadas mais de 200.000, as quais contemplam moléculas biológicas como DNA, RNA e proteínas. Assim, esse banco de dados é uma peça essencial nas pesquisas e nas áreas educacionais, sobretudo aquelas que envolvem a biologia, a saúde, a energia e a biotecnologia (BURLEY *et al.*, 2022).

Das técnicas experimentais empregadas para elucidação estrutural dos alvos disponibilizados pela plataforma, destacam-se a cristalografia, espectroscopia por ressonância magnética nuclear (RMN) e microscopia eletrônica. A cristalografia de raios-X, além de fornecer resultados mais precisos, exhibe ainda a possibilidade de explicitar o sítio-ativo. Uma proteína, quando preparada para a análise, pode ser cristalizada juntamente a uma substância molecular, denominada ligante cristalográfico. Se essa estrutura for um agonista ou antagonista do alvo biomolecular, a localização espacial do sítio-ativo torna-se conhecida. Como bônus, a

base de dados PDB também provê a análise qualitativa das interações intermoleculares do ligante com os resíduos de aminoácidos que compõe o sítio-ativo, permitindo determinar blocos moleculares contidos no agonista/antagonista que desempenham papel fundamental na atividade biológica.

Através do PDB é possível fazer o download de arquivos contendo a informação para a estrutura tridimensional de determinada proteína, os quais podem ser abertos em *softwares* específicos que são úteis para sua respectiva avaliação tridimensional (VALLAT *et al.*, 2023).

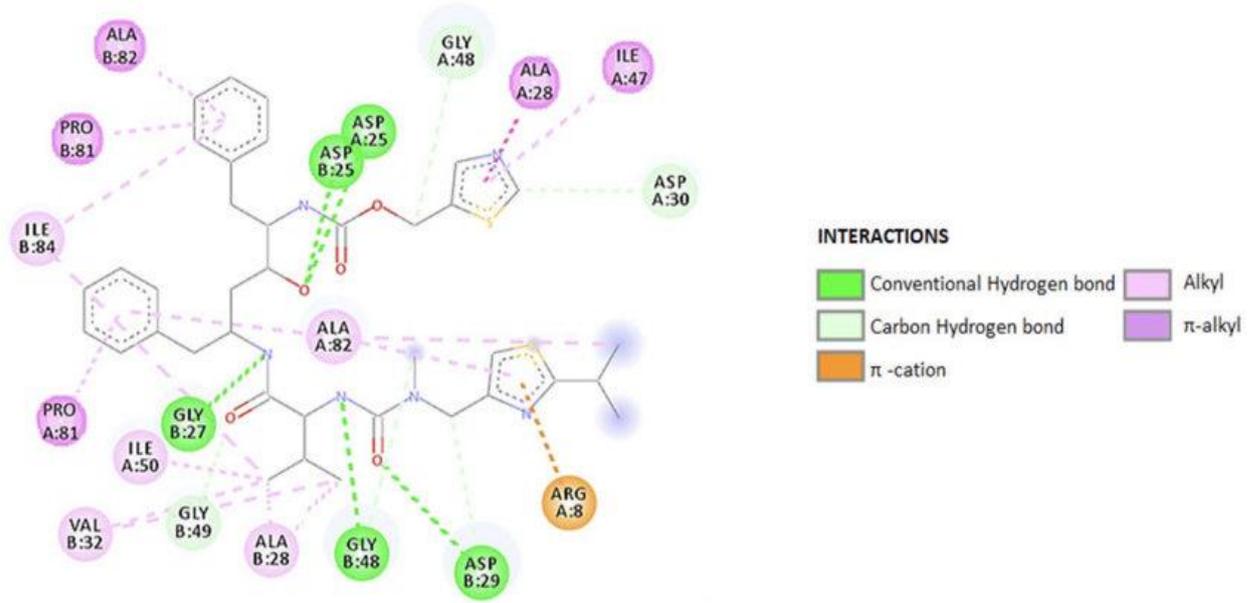
Um ponto importante a ser destacado, é que o PDB é referência em escala global enquanto banco de dados biológicos, sendo amplamente empregado por educadores, estudantes, cientistas, pesquisadores e profissionais da área médica de todos os continentes. Para que seu uso mundial se estabelecesse, foi criado o Worldwide PDB. Basicamente, representantes de banco de dados de cada parte do planeta, sobretudo PDBe (Europa), BMRB (América Central), EMDB (África), PDBj (Japão), se uniram para formar um único arquivo PDB para ser utilizado, gratuitamente, em escala mundial (VELANKAR *et al.*, 2021).

1.1.5 Discovery Studio Visualizer

Discovery Studio Visualizer (DSV) consiste num *software* que fornece a estrutura tridimensional de uma proteína, através da interpretação de seus dados moleculares (BIOVIA, 2023), os quais são obtidos a partir do PDB. Neste *software* é possível visualizar as interações intermoleculares entre xenobióticos, como fármacos e candidatos a fármacos, e suas respectivas macromoléculas alvo, tanto de forma bidimensional, quanto de forma tridimensional.

Nas informações bidimensionais fornecidas pelo aplicativo, pode-se ressaltar a criação de um diagrama em 2D, o qual disponibiliza as interações intermoleculares existentes entre o ligante e seu alvo, tais como ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas, *pi-stack*, dentre outras; essa representação bidimensional pode ser verificada através da figura 1. Além disso, o aplicativo apresenta os aminoácidos participantes de tais interações. No que tange às informações tridimensionais, o aplicativo fornece a estrutura da proteína e do ligante, sendo este último visualizado em conformação farmacofórica.

Figura 1 - Diagrama de interações em 2D, gerado no *DS Visualizer*.



Fonte: MARIN (2021, p. 15)

DS Visualizer também é uma ferramenta tecnológica que pode ser útil na validação do método de *docking* molecular. A validação do método de *docking* molecular é necessária para verificar se a (s) ferramenta (s) computacional (ais) são aptas e possuem acurária para a realização deste procedimento. Após os cálculos de energia serem feitos no processo de *docking* molecular, a molécula redocada é comparada, visualmente, ao ligante original, por meio do aplicativo. A análise crítica dessa visualização permite avaliar a eficiência do método de reancoramento empregado. Quanto maior a variação da estrutura conformacional da molécula em relação à estrutura do ligante original, menos eficiente foi o método.

1.1.6 AutoDockTools e AutoDock Vina

AutoDockTools é um *software* largamente utilizado no *docking* molecular, para a avaliação da interação entre ligante-receptor, o qual prepara a proteína e o ligante para a ancoramento molecular, analisando cargas e propriedades geométricas (NEHME *et al*, 2017). Já o *AutoDock Vina* utiliza a estrutura de ancoramento, com o *docking* molecular previamente realizado, para calcular a energia de afinidade de diferentes conformações do ligante na interação com a proteína. Similarmente à variação da energia livre de Gibbs, quanto mais negativa for essa energia de afinidade, melhor a interação entre o ligante e o receptor. Assim,

por meio do *AutoDock Vina* é possível prever, de modo significativamente preciso, a ligação entre o ligante e seu alvo (TROTT; OLSON; 2009)

1.1.7 SmartCyp

SmartCyp é uma plataforma on-line que faz a previsão *in silico* dos sítios moleculares mais suscetíveis às reações da fase 1 de metabolismo, mediadas pelas isoenzimas do citocromo P450, especialmente as isoformas 3A4, 2D6 e 2C9. A habilitação computacional deste modelo fundamenta-se em dados experimentais provenientes da interação entre 475 substratos, descritos na literatura e as isoenzimas do citocromo P450 (OLSEN *et al*, 2019). Utilizando essas informações, o programa estabelece padrões de metabolismo, os quais são extrapolados para a análise das características moleculares — como estrutura e grupos funcionais — de diferentes estruturas em 2D, as quais podem ser carregadas no site a partir do código SMILES, do desenho da estrutura por meio de ferramentas de construção molecular ou através de *upload* de arquivo.

Após as estruturas serem carregadas no site, o *SmartCyp* interpreta seus dados moleculares e realiza cálculos de energia — por meio da mecânica quântica, sobretudo pela DFT — a fim de determinar a energia de ativação de sítios específicos das moléculas. Nesse contexto, verifica-se que os sítios de menores energias de ativação são mais suscetíveis ao metabolismo das CYPs, os quais são indicados, visualmente, pela plataforma. Por não haver a necessidade de cálculos de energia de estruturas tridimensionais, os sítios de reatividade são mostrados num curto intervalo de tempo, o que torna o programa vantajoso (RYDBERG *et al*, 2010)

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

A autonomia no processo de aprendizagem é essencial para a construção de um ensino eficiente e libertador. Essa autonomia pode ser conquistada através do emprego de metodologias ativas, as quais permitem que os alunos superem a memorização mecânica e apreendam, de fato, o conhecimento real de determinado objeto de estudo (FREIRE, 2004, p.44). Nesse sentido, a realização de aulas experimentais de Química Farmacêutica possibilita que os estudantes sejam inseridos num contexto de aprendizado libertário.

Sendo assim, este trabalho tem por objetivo apresentar os desdobramentos da execução de um roteiro — cujas bases envolvem a aplicação de *softwares* gratuitos e sites de livre acesso — utilizado para a realização de aulas práticas de Química Farmacêutica no curso de Farmácia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), no campus de Realengo, as quais trouxeram complementariedade ao conteúdo teórico.

1.2.2 Objetivos específicos

- Descrever os procedimentos necessários para a utilização das ferramentas computacionais abordadas neste trabalho. Tais procedimentos estão descritos dispostos em um roteiro de aula que se encontra no material anexo.
- Demonstrar que, através da ministração de aulas práticas de Química Farmacêutica é possível reforçar o conteúdo teórico da disciplina.
- Permitir que o aluno, ou seja, o futuro profissional, alcance um aprendizado efetivo, tornando-se apto e diferenciado no competitivo mercado de trabalho.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 METODOLOGIA

A metodologia empregada na realização das aulas práticas de Química Farmacêutica no IFRJ - Realengo se baseou na execução de um roteiro (vide anexo), no qual estão contidas as descrições procedimentais necessárias para a utilização dos *softwares* e sites previamente mencionados. Esse roteiro está alicerçado em metodologias ativas de ensino, sendo caracterizado por ser de fácil reprodutibilidade e permitir que os alunos utilizassem as ferramentas computacionais com autonomia.

A disciplina de QF foi estruturada em dois eixos: teórico e prático, sendo as aulas práticas conduzidas após as teóricas. As aulas do eixo prático foram realizadas no Laboratório de Informática da Instituição de Ensino, sendo este equipado com computadores com acesso à internet. Além disso, os *softwares* utilizados em cada prática estavam previamente instalados, prontos para serem utilizados pelos alunos. No início do curso, foi informado aos alunos que alguns *softwares* e sites necessitavam de cadastros para serem utilizados - sobretudo o *MarvinSketch* e o vNN-ADMET. Assim, os educandos já iniciaram a disciplina com as contas nos aplicativos necessários, o que evitou os entraves na realização das práticas.

No início do curso, a turma foi dividida em grupos, cujo número de integrantes variava entre três e quatro. Cada grupo escolheu um fármaco, já disponível no mercado, para ser estudado ao longo da disciplina. Alguns exemplos dos fármacos escolhidos pelos alunos, nessa abordagem, são o Enalapril, a Cefuroxima, a Donepezila, o Haloperidol, o Olmesartan, dentre outros. Importante destacar que, a cada semestre do curso, novos fármacos são escolhidos para serem trabalhados na disciplina em questão: os fármacos aqui mencionados se constituem apenas como exemplos. Os dados moleculares do complexo ligante-proteína de cada fármaco escolhido estavam previamente depositados no PDB. Os códigos presentes no PDB dos fármacos aqui exemplificados são: 1UZE, para o Enalapril; 1QMF, para a cefuroxima; 4EY7, para a Donepezila; 6LUQ, para o Haloperidol; 4ZUD, para o Olmesartan. Uma vez que esses fármacos foram escolhidos, as aulas práticas foram conduzidas à medida em que o conteúdo teórico tivesse sido apresentado.

Os fármacos escolhidos tiveram suas propriedades estudadas ao longo da disciplina, por meio da utilização dos *softwares* e sites já abordados, sendo obtidos resultados próprios — característicos da proposta de cada programa — em cada aula. Esses resultados foram utilizados

para a construção de um seminário, o qual foi apresentado ao final do curso, como parte constitutiva dos processos avaliativos da matéria.

A proposta do seminário era que os conteúdos teóricos de QF, no contexto de planejamento racional de fármacos, fossem utilizados para promover modificações estruturais no fármaco escolhido no início da disciplina, a fim de trazer melhorias em seus parâmetros, como farmacocinéticos, farmacodinâmicos, toxicológicos ou toxicocinéticos, dentre outros. Esses parâmetros seriam aqueles apontados pelos *softwares* e sites utilizados em aula. Nesse contexto, o fármaco previamente escolhido por cada grupo recebeu o desígnio de “protótipo”, enquanto o fármaco modificado foi designado “candidato a fármaco”.

2.1.1 Condução das Aulas Teóricas

As aulas teóricas seguiram uma ordem que convergiu para uma construção sequencial de aprendizado, cujo reforço se deu com a execução das práticas. Cada aula teórica apresentava, em média, uma hora e quarenta minutos de duração (ou seja, dois tempos de aula de 50 min). Importante ressaltar que, dentro de cada eixo principal da disciplina, existem sub-eixos, os quais foram agrupados em diferentes aulas. Sendo assim, apesar da infinidade de assuntos inseridos no eixo principal, tendo por objetivo tornar a aula mais detalhada, eles foram agrupados e ensinados em aulas separadas, sequencialmente. Dentro do escopo da disciplina, os eixos teóricos são: os aspectos gerais de ação dos fármacos, o metabolismo de fármacos e as estratégias de modificação molecular de moléculas ativas, o qual envolve o planejamento racional de fármacos. Toda a disciplina tem por objetivo fornecer os fundamentos químicos responsáveis por elucidar a farmacologia. Sendo assim, o conteúdo programático objetiva-se caracterizar aspectos importantes acerca da farmacocinética e farmacodinâmica, e em como a modulação química da molécula ativa pode alterá-las.

2.1.1.1 Aspectos gerais de ação dos fármacos

Este tópico foi dividido em duas aulas, sendo uma teórica e outra prática, nas quais foram lembrados alguns conteúdos fundamentais aprendidos nas disciplinas de Química Orgânica do curso, sobretudo aspectos estruturais que interferem na acidez e basicidade de compostos orgânicos e seus graus de ionização, aspectos de hidrossolubilidade e lipossolubilidade, análise conformacional e estereoquímica. Esses aspectos são essenciais para determinar e prever o comportamento Farmacocinético e Farmacodinâmico do fármaco em

sistemas biológicos. Assim, nessas aulas, é possível promover a abordagem química da absorção, distribuição, metabolismo e excreção (sistema ADME), bem como do mecanismo de ação dos fármacos.

Na primeira aula, foram apresentadas as interações intermoleculares que podem ocorrer entre o fármaco e seu biorreceptor, como ligações de hidrogênio, iônica, π -stacking, dentre outras, o que está intimamente associado à afinidade química existente entre eles. Essa interação é importante para determinar atividade farmacológica, bem como a concentração de fármaco necessária para atingir o efeito desejável (ZASTROW, 2017, p. 19). Portanto, este conteúdo está intimamente associado à farmacodinâmica, subárea da farmacologia a qual determina o mecanismo de ação de substâncias ativas. Além disso, foram verificados aspectos associados à solubilidade dos compostos de interesse, sendo esse fator importante na determinação de seus coeficientes de partição e, conseqüentemente, sua absorção e excreção (LINARDI *et al*, 2016, p.6). Também, em consonância a esses aspectos cinéticos, foram abordadas as previsões de ionização de fármacos em determinado meio biológico, levando em consideração o pH específico daquele compartimento corporal e a natureza química da molécula. Por fim, o último tópico rememorado foi a estereoquímica e a análise conformacional de moléculas ativas. Estes são importantes fatores para determinar a relação estrutura-atividade, uma vez que a conformação estrutural da molécula e a exposição de seus sítios farmacofóricos regem a interação com seu biorreceptor, determinando, assim, a atividade farmacológica (ALMEIDA *et al*, 2010).

2.1.1.2 Metabolismo de Fármacos

As aulas de Metabolismo foram divididas em duas, com o intuito de abordar as reações metabólicas de Fase I e de Fase II, bem como os compartimentos corporais em que elas ocorrem. Em cada aula foram demonstrados, minuciosamente, os mecanismos referentes às reações químicas ensinadas.

As reações de Fase I são aquelas responsáveis por tornar a molécula do fármaco mais hidrossolúvel a fim de que esta tenha sua excreção facilitada, sendo elas mediadas por enzimas microsossomais do citocromo P450 de células hepáticas (LINARD *et al*, 2016, p.13). A esse respeito, nas aulas são abordadas as reações de oxidação, hidrólise, redução e desalquilação, mediadas pelas enzimas microsossomais do fígado. Além disso, também são abordadas as reações catalisadas por oxidoreduases mitocondriais ou citoplasmáticas, como MAO (monoaminoxidase), ADH (álcool desidrogenase) e ALDH (aldeído desidrogenase).

As reações de fase II — conhecidas, também, como reações de conjugação — consistem em reações nas quais enzimas, do gênero transferases, conjugam os metabólitos oriundos das reações de fase I, ou xenobióticos não metabolizados, mas que tenham originalmente em sua estrutura as funções -OH, NH₂, -SH, -COOH, a moléculas de elevada hidrossolubilidade, por exemplo, sulfato e ácido glicurônico, dando origem a um produto denominado conjugado, o qual adquire maior hidrofiliabilidade para ser excretado por via renal. (CORREIA, 2016, p. 53). Além disso, as reações de conjugação, sobretudo a conjugação à glutatona, apresentam papel chave na proteção celular, uma vez que são capazes de inativar metabólitos tóxicos, dentre eles os óxidos de areno, que apresentam potencial de causar toxicidade orgânica e carcinogênese (HUBER; ALMEIDA; FÁTIMA, 2008).

Tanto as reações de Fase I, quanto as de Fase II, são essenciais para a compreensão de aspectos toxicológicos. Quando algum desses mecanismos reacionais se encontram deficientes, seja por sobrecarga de vias reacionais, seja por desencadeamento genético, o fármaco terá seu metabolismo afetado, o que pode provocar lesões em estruturas biológicas. Por exemplo, o mecanismo de conjugação da glutatona é saturável e determinado pela concentração de glutatona presente no organismo. Assim, se muitos metabólitos eletrofílicos forem gerados a partir das reações de fase I, é possível que o organismo não tenha capacidade de prosseguir com as inativações de modo eficiente, o que pode levar ao comprometimento de estruturas corpóreas (CORREIA, 2016, p. 54).

2.1.1.3 Planejamento racional de candidatos a fármacos a partir de estratégias de modificação molecular

As aulas teóricas referentes ao planejamento racional de fármacos foram divididas em duas e tiveram por objetivo definir o conceito do planejamento racional de fármacos, bem como apresentar a abordagem fisiológica na qual este se fundamenta. Em seguida, foram ensinadas as principais estratégias de modificação molecular, utilizadas na atualidade para o desenho de novas moléculas ativas.

O planejamento racional de fármacos é alicerçado na Química Medicinal, no qual parâmetros que relacionam a estrutura química e a atividade farmacológica pelas origens moleculares são utilizados para o delineamento de novas moléculas ativas (GUIDO; ANDRICOPULO, 2008). No contexto atual, o planejamento racional de fármacos envolve uma abordagem fisiológica, a qual requer o conhecimento prévio do processo fisiopatológico de determinada doença. Conhecendo tal processo, é possível determinar corretamente o melhor

alvo terapêutico para o medicamento desenvolvido, além de estabelecer seu respectivo mecanismo de ação farmacológica (GUIDO; ANDRICOPULO; OLIVA, 2010).

O alvo terapêutico escolhido para o fármaco em desenvolvimento pode ser uma enzima ou um biorreceptor, cujas estruturas moleculares podem ser já elucidadas ou não. Quando a estrutura tridimensional do alvo molecular já é conhecida, é possível delinear fármacos que inibem ou ativam enzimas, bem como agonistas ou antagonistas de receptores. Isso se dá a partir de processos de complementaridade molecular planejada, na qual o conhecimento da estrutura química e tridimensional de um alvo molecular fundamenta estratégias de modelagem e permite a criação de uma molécula ativa de caráter específico (NAMBA; DA SILVA; DA SILVA, 2008).

Por outro lado, quando a estrutura tridimensional do alvo molecular não é conhecida, o planejamento do fármaco se baseia na estrutura da molécula endógena envolvida na fisiopatologia estudada. Nessa conjuntura, o substrato natural da enzima, ou o agonista natural do receptor escolhido como alvo terapêutico, servem como modelos moleculares para a estruturação de um novo análogo ativo (GUIDO; ANDRICOPULO; OLIVA, 2010).

Após a apresentação desses conceitos, foram ensinadas as principais estratégias de modificação molecular, as quais objetivam alterar a estrutura de uma molécula ativa, tendo por finalidade alcançar melhorias aspectos farmacocinéticos ou farmacodinâmicos específicos, sem comprometer seu efeito farmacológico, ou seja, preservando seus grupamentos farmacofóricos. As aulas abordaram as seguintes possibilidades de modificação: simplificação, hibridação e latenciação molecular, além do bioisosterismo e das alterações baseadas nas séries congêneres. Essas séries consistem em um sistema padronizado de moléculas, cujas semelhanças estruturais e propriedades associadas a efeitos estéricos e eletrostáticos acarretam em similaridade tridimensional, refletindo em atividades biológicas semelhantes (CORMANICH; NUNES; FREITAS, 2012).

Com esses conhecimentos, os alunos obtiveram os embasamentos teóricos necessários para sugerir alterações estruturais em moléculas ativas já presentes no mercado. Dessa forma, nas aulas práticas que se prosseguiram após as teóricas, os alunos foram desafiados a criar candidatos a fármaco com melhores propriedades farmacocinéticas e/ou farmacodinâmicas em relação ao fármaco protótipo, utilizando para isso as estratégias de modificação molecular abordadas em aula.

2.1.2 Condução das Aulas Práticas

As aulas práticas eram realizadas no terceiro tempo da disciplina, em complementação ao conteúdo teórico previamente exposto. O tempo de duração era, em média, de 50 minutos. No planejamento da disciplina, cinco aulas práticas foram separadas para que os professores ensinassem aos alunos como utilizar as ferramentas computacionais aqui abordadas. A primeira aula envolveu o manuseio do *MarvinSketch*, do *Avogadro*, do *SwissADME* e do *vNN-ADMET*. Já na segunda aula, foi explicado o uso do *SmartCyp*. Por fim, na terceira, na quarta e na quinta aulas, os alunos aprenderam a utilizar o *Discovery Studio Visualizer*, o *AutoDockTools* e o *AutoDock Vina*. Conforme abordado, esse ensino foi mediado através da execução de um roteiro (o qual está disponível no anexo deste trabalho) que continha os procedimentos necessários para a manipulação dos sites e dos *softwares* apresentados. Para fins de contextualização deste trabalho, serão apresentadas as metodologias e os resultados referentes ao fármaco Cefuroxima, estudado por um dos grupos no semestre de 2022.1, cujo código do complexo ligante-proteína depositado no PDB é “1 QMF”.

2.1.2.1 Utilização do *MarvinSketch*, *Avogadro*, *SwissADME* e *vNN-ADMET*

O *MarvinSketch* foi o programa responsável por inaugurar a sequência de aulas práticas do curso, estando no escopo da primeira aula prática, juntamente ao *Avogadro*, *SmartCyp*, *SwissADME* e *vNN-ADMET*. Esses programas e sites foram utilizados com o propósito de trazer o reforço do conteúdo teórico da aula de Aspectos Gerais de Ação dos Fármacos.

Inicialmente, o *MarvinSketch*, em sua versão 23.16, foi utilizado para que os alunos tivessem o primeiro contato com as ferramentas de desenho molecular disponibilizadas pelo *software*, o que permitiu que os estudantes visualizassem a estrutura bidimensional dos fármacos estudados. Além disso, por meio da utilização de alguns recursos disponibilizados pelo programa, verificou-se a ionização do fármaco em diversos compartimentos biológicos, os quais possuem diferentes potenciais hidrogeniônicos (pH) em seus meios. Assim, os fármacos estudados tiveram suas estruturas analisadas nos pHs estomacal, intestinal e sanguíneo. Portanto, nessa aproximação inicial, foi possível verificar o reforço das aulas teóricas em que foram abordados como os aspectos de acidez e basicidade afetam a ionização dos fármacos e, conseqüentemente, sua absorção e biodisponibilidade.

Também fazendo parte da primeira aula prática, o *Avogadro*, em sua versão 1.2.0, foi utilizado para que os alunos verificassem, de modo visual, os aspectos de análise

conformacional envolvidos na diminuição da energia de uma molécula para sua possível acomodação em um sítio de um alvo biomacromolecular. Mesmo levando em consideração os valores de comprimentos de ligação, ângulo e ângulo diedro fornecidos pela literatura, a construção de estruturas tridimensionais nos *softwares* de desenho e visualização dificilmente fornece uma estrutura química estável. Durante o processo de construção molecular, eventuais distorções na estrutura podem ocorrer. Sendo assim, com o intuito de encontrar conformações de menor energia, cada grupo utilizou o *software* Avogadro para otimizar a geometria do respectivo fármaco no método de mecânica molecular sob o campo de força UFF (do inglês *Universal Force Field*) (RAPPÉ *et al*, 1992). Vale ressaltar que para a otimização foi levada em consideração a ionização do fármaco em pH 7,4, conforme previsto no *MarvinSketch*.

Finalmente, o SwissADME e o vNN-ADMET foram utilizados para finalizar a primeira aula prática. Nestas plataformas, os alunos avaliaram propriedades físico-químicas e farmacocinéticas dos compostos estudados, com a diferença de que no vNN-ADMET foram disponibilizados alguns parâmetros de toxicidade. A prática que envolveu a utilização desses sites também se complementou ao reforço do conteúdo de aspectos gerais de ação dos fármacos.

O SwissADME é capaz de fornecer parâmetros associados à absorção (como o Log P, que consiste no coeficiente de partição óleo em água de dada substância, além da superfície polar total e seu peso molecular), metabolização (como inibição de CYPs) e excreção (como solubilidade em água, o que é preditivo para indicar eliminação por via renal) de determinada molécula. Além disso, a plataforma disponibiliza, em forma gráfica, um radar que indica biodisponibilidade oral de determinado fármaco, bem como sua capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica. Já a plataforma vNN-ADMET foi utilizada pelos alunos para fins comparativos, sobretudo em relação às informações sobre toxicidade, não dispostas no SwissADME.

Uma vez que os alunos tiveram acesso às propriedades elencadas por ambas as plataformas, eles preencheram as tabelas disponibilizadas pelos professores no material suplementar. O intuito do preenchimento dessas tabelas foi discutir como as propriedades físico-químicas impactam nos parâmetros de biodisponibilidade, de absorção e de toxicidade apresentados pelo fármaco. Por meio da avaliação minuciosa dessas propriedades, os alunos buscaram estabelecer uma relação entre o perfil químico da estrutura da molécula ativa e os padrões fornecidos pela ferramenta digital.

2.1.2.2 Utilização do SmartCyp

Esse site foi utilizado na realização da segunda aula prática, cujo principal objetivo foi reforçar as aulas teóricas de metabolismo dos fármacos. Como já fora abordado, o *SmartCyp* indica os sítios da molécula mais suscetíveis a sofrerem a ação das enzimas microsossomais de fase 1, CYP3A4, 2D6 e 2C9. Por meio da utilização do *SmartCyp*, os alunos foram incitados a exercitar os mecanismos de reação aprendidos na aula teórica, tendo como base os sítios indicados pela ferramenta on-line, sugerindo o tipo de reação a ocorrer, como seu mecanismo se prossegue e, por fim, qual o metabólito gerado a partir dela.

2.1.2.3 Utilização do Discovery Studio Visualizer, AutoDockTools e AutoDock Vina

As aulas práticas que envolveram o uso destes *softwares* tiveram por finalidade realizar o *docking* molecular, ou ancoramento molecular, do fármaco e dos candidatos propostos com a proteína alvo. Esses *softwares* fizeram parte do escopo da terceira, da quarta e da quinta aula prática do curso. Na terceira, foram utilizados apenas o PDB e o *Discovery Studio Visualizer*, em sua versão 3.0. Já na quarta e na quinta aula foram utilizados todos os programas elencados nesta seção, sendo o *Autodock Tools* empregado na versão 1.5.7 e o *Autodock Vina* na versão 1.1.2. Importante ressaltar que mesmo após terem aprendido a realização do *docking* molecular por meio dessas ferramentas, os alunos continuaram utilizando estes *softwares* para obterem os dados necessários para a realização do seminário.

Sob uma primeira análise, os alunos aprenderam a utilizar o banco de dados *Protein Data Bank*, PDB, pesquisando o complexo proteína-ligante cristalográfico. Após o download do complexo ligante-proteína, seus respectivos dados moleculares foram submetidos ao *software Discovery Studio Visualizer*, no qual os alunos puderam visualizar a estrutura tridimensional da proteína-alvo e da molécula do ligante cristalográfico, estando este ancorado no sítio ativo correspondente, levando em consideração as interações intermoleculares responsáveis pela formação desse complexo ligante-proteína. Com o intuito de realizar o reancoramento molecular para a validação da metodologia, analisar as propriedades geométricas (sobreposição com o ligante cristalográfico e interações com os resíduos de aminoácidos) e determinar a energia interação proteína-ligante, a proteína foi separada de seu ligante cristalográfico e ambos foram conduzidos ao *AutoDockTools*.

No *AutoDockTools*, a proteína e o ligante foram preparados para o *docking* molecular através da adição de cargas e análise das torções do ligante. Em seguida, foi criada a *Grid Box*, uma caixa tridimensional centralizada no ligante, que expressa as dimensões e coordenadas de

localização do sítio ativo. Essa *Grid Box* é o espaço de varredura em que o ligante possui sua estrutura alterada buscando interações com os resíduos de aminoácido do sítio ativo.

Tendo o conhecimento das dimensões e das coordenadas da *Grid Box*, foi possível utilizar o *software AutoDock Vina* para o reancoramento do ligante cristalográfico. O *software* realizou cálculos de energia para diferentes confôrmeros estruturais do ligante e ao fim do processo forneceu diferentes valores de energia de interação referente a cada conformação do ligante ancorado. A energia foi avaliada em parâmetros de energia de afinidade, a qual possui associação à energia livre de Gibbs: quanto mais negativa a energia envolvida na ligação, maior a afinidade pelo ligante.

Posteriormente, os diferentes confôrmeros do ligante obtidos após o procedimento de *docking* molecular, foram direcionados ao *Discovery Studio Visualizer* e inseridos no sítio ativo do complexo proteína-ligante cristalográfico, onde foi qualitativamente avaliada a sobreposição entre átomos e ligações de ligante reancorado-ligante cristalográfico.

A metodologia foi validada pela obtenção de um ligante reancorado e devidamente sobreposto ao ligante cristalográfico, nas dimensões e coordenadas do espaço de varredura para a ancoragem molecular (*Grid Box*) utilizada. Além da validação do método, foram observadas se as interações intermoleculares entre ligante redocado e proteína se assemelhavam às interações entre ligante cristalográfico e os aminoácidos presentes no sítio ativo.

Vale ressaltar que a mesma *Grid Box* foi utilizada nas etapas posteriores para ancoramento dos candidatos. Nessa conjuntura, os alunos puderam lembrar alguns assuntos verificados nas aulas de aspectos gerais de ação dos fármacos, sobretudo as interações intermoleculares responsáveis pela acomodação do fármaco no sítio ativo de sua proteína. As informações obtidas através dessa aula foram utilizadas nas aulas subsequentes, sobretudo nas aulas práticas que visavam à realização das estratégias de modificação molecular para a construção do candidato.

2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como já abordado, no início do curso os alunos escolheram um fármaco para ser estudado ao longo da disciplina, tendo por objetivo avaliar suas propriedades físico-químicas e estruturais através das ferramentas computacionais aqui elencadas. Posteriormente, os resultados desse estudo foram utilizados para a elaboração de um seminário, apresentado no final do período. Nesse sentido, para fins de contextualização, os resultados aqui apresentados

são referentes àqueles obtidos pelo grupo cujos alunos escolheram a Cefuroxima, cujo código depositado no PDB é 1QMF.

2.2.1 Interpretações Feitas Pelos Alunos: O Caso da Cefuroxima

A Cefuroxima é um antimicrobiano pertencente à classe das cefalosporinas de segunda geração, sendo amplamente prescrita para o tratamento de infecções do trato respiratório superior. Estruturalmente, as cefalosporinas são classificadas como beta-lactâmicos (Conforme indicado nos anéis A e B, demonstrados na figura 2) e são derivadas do ácido 7-aminocefalosporânico. O anel beta-lactâmico é o grupamento farmacofórico dessa classe de medicamentos, sendo responsável por mediar os efeitos terapêuticos (DECK; WINSTON, 2016).

Figura 2 - Estrutura do Ácido 7- aminocefalosporânico

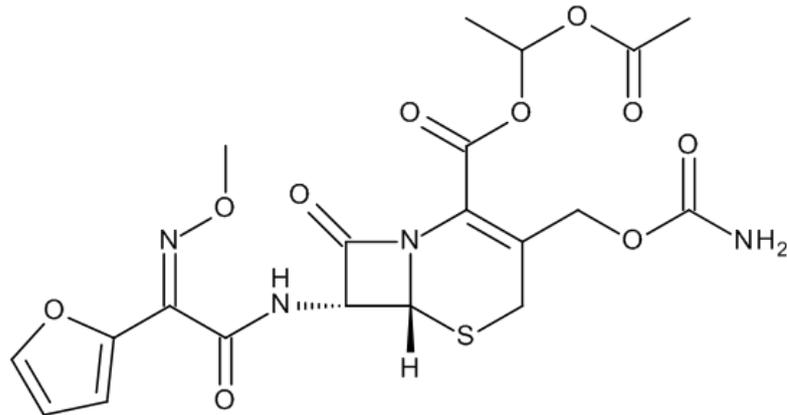


Fonte: KATZUNG (2016, p. 791).

A Cefuroxima é comercializada na forma de pró-fármaco. Estes se constituem como compostos farmacologicamente inativos que, ao serem metabolizados, produzem metabólitos com potente ação farmacológica (LINARDI *et al* 2016). Em geral, as cefalosporinas a partir da segunda geração apresentam elevada hidrossolubilidade, o que prejudica sua absorção gastrointestinal e torna a administração oral dificultada (PATRICK, 2005). Nesse sentido, foram sintetizados inúmeros pró-fármacos da classe das cefalosporinas, tendo como característica comum sua esterificação em ésteres duplos, conforme indicado na Axetilcefuroxima, na Cefpodoxima proxetil e no Cefetamet pivoxil (Fuchs, 2007). Em geral, essas esterificações trouxeram aumento de lipofilia para as moléculas, o que permitiu

otimização de sua biodisponibilidade por via de administração oral (PARISE *et al*, 2010). Para que a Cefuroxima fosse reestruturada na forma de pró-fármaco, o ácido carboxílico presente no anel A (vide figura 3), foi esterificado. A molécula esterificada é a Axetilcefuroxima.

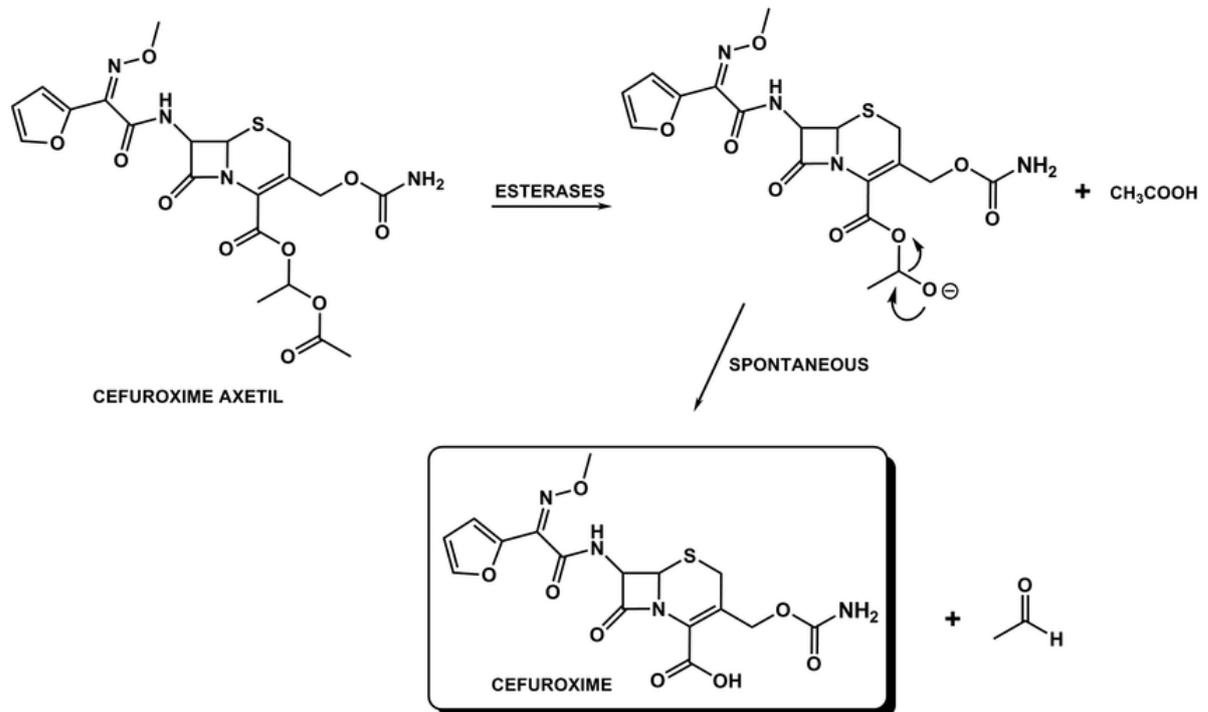
Figura 3 - Estrutura do pró-fármaco axetilcefuroxima



Fonte: LGC (2023).

Por se tratar de um pró-fármaco, para que a Axetilcefuroxima se converta em sua forma ativa, ela sofre a ação de enzimas denominadas esterases as quais podem estar presentes no intestino, no fígado e no sangue. Com a ação dessas esterases, a Axetilcefuroxima se converte em sua forma ativa, ou seja, a Cefuroxima (PARISE FILHO *et al*, 2010). Um dos mecanismos de ação sugeridos para a ação dessas esterases pode ser observado na figura 4.

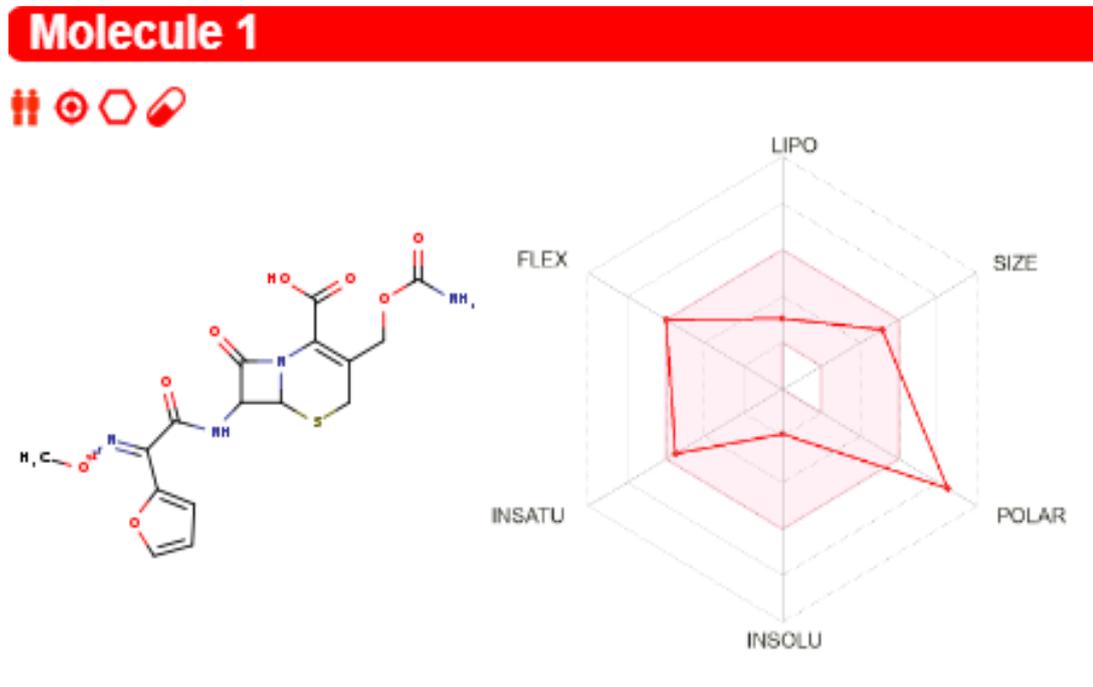
Figura 4 - Conversão da Axetilcefuroxima em sua forma ativa, a Cefuroxima, pela ação das esterases



Fonte: PARISE FILHO *et al.* (2010).

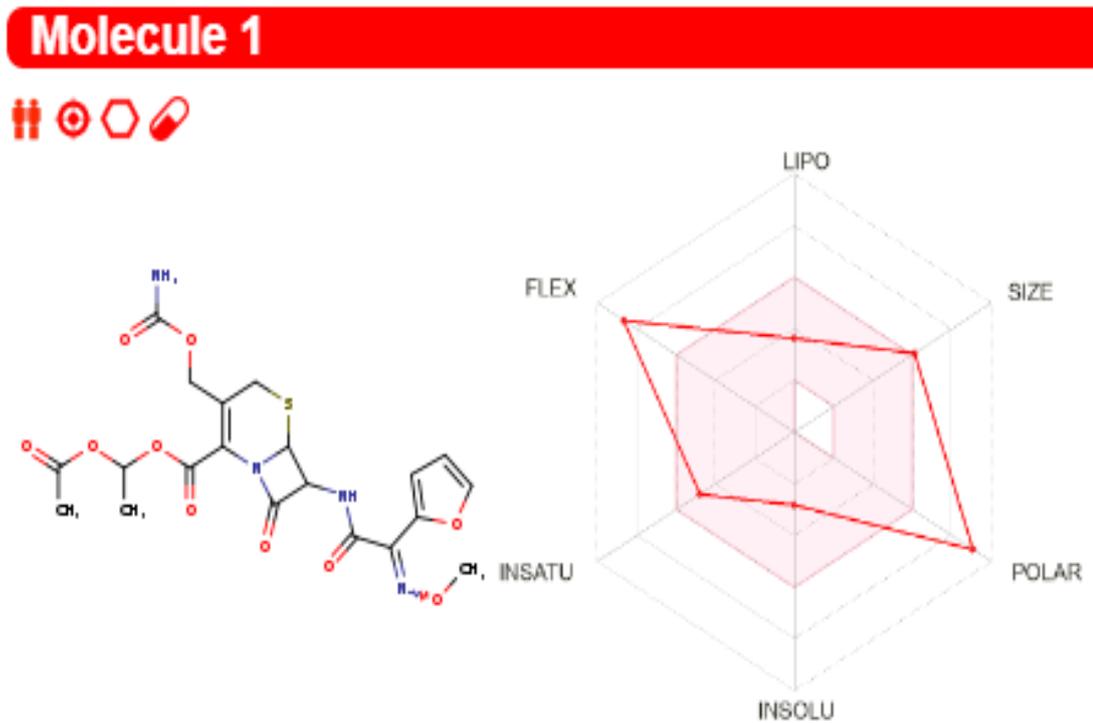
Durante a realização do estudo do fármaco protótipo, os alunos pertencentes ao grupo que escolheu a Cefuroxima decidiram investigar, se as informações trazidas pela literatura, no que diz respeito à esterificação com consequente biodisponibilidade desta molécula, se atrelam aos parâmetros fornecidos pelas ferramentas computacionais utilizadas em aula. Assim, os alunos submeteram as estruturas do fármaco e do pró-fármaco ao SwissADME e posteriormente compararam os resultados. Para isso, foram utilizados os códigos SMILES de ambas as estruturas, os quais estão disponíveis no PubChem. A primeira propriedade avaliada, por meio do SwissADME, foi a biodisponibilidade das moléculas, por meio do radar fornecido pela plataforma. Os resultados do radar obtido para a Cefuroxima e para Axetilcefuroxima estão demonstrados nas figuras 5 e 6, respectivamente.

Figura 5 - Resultados obtidos para a molécula de Cefuroxima não esterificada.



Fonte: A Autora (2023).

Figura 6 - Resultados obtidos para a molécula de Axetilcefuroxima.



Fonte: A Autora (2023).

O radar fornecido pelo SwissADME considera 6 parâmetros para fornecer a predição da biodisponibilidade, sendo eles: o tamanho, indicado por SIZE; a polaridade, indicada em POLAR; o número de ligações rotacionáveis, indicado em FLEX; a lipossolubilidade, indicada em LIPO; a solubilidade, indicada em INSOLU; e as ligações insaturadas, indicadas em INSATU. Com base nesses parâmetros, a plataforma constrói uma área rosa, a qual representa a predição de uma faixa ideal para que o fármaco possua biodisponibilidade adequada. O tamanho é avaliado em função do peso molecular, o qual deve variar entre 150 e 500g/mol. A polaridade é avaliada em função da área de superfície polar total, a qual deve variar entre 20 e 130 Å². A lipossolubilidade, dada em função dos valores de XLOGP3 deve estar entre -0,7 e +5,0. O número de ligações rotacionáveis não deve ultrapassar 9 e a solubilidade da molécula, expressa em termos de LogS, não deve ser maior que 6. Por fim, os valores de insaturação são expressos na fração de carbonos sp³ na molécula, os quais não devem ser inferiores a 0,25. A violação de algum desses valores confere a saída da área rosa do radar, o que prediz impactos negativos na biodisponibilidade da molécula avaliada (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017).

Conforme observado em seu respectivo radar da biodisponibilidade, a molécula da Cefuroxima viola a polaridade máxima permitida pelos parâmetros de predição do SwissADME, o que a faz sair da área do radar, indicando baixa biodisponibilidade por via oral. A molécula de Axetilcefuroxima também apresenta violações deste radar, mas por dois fatores: polaridade e número de ligações rotacionáveis, indicados em FLEX. Nesse sentido, de acordo com a indicação da plataforma, esperaria-se que a biodisponibilidade da molécula esterificada fosse menor. No entanto, a biodisponibilidade oral da Axetilcefuroxima é maior em relação ao seu composto de origem (LANG; MORELAND; DAVEY, 1990). Além disso, não existem evidências de que a Cefuroxima, não esterificada, possua absorção oral (FOORD, 1976). Nesse sentido, os alunos depreenderam que, por se tratar de uma ferramenta de predição, nem sempre é possível correlacionar seus resultados com aquilo verificado em estudos experimentais, uma vez que as predições utilizam cálculos e algoritmos baseados em modelos pré-estabelecidos.

Como o SwissADME não trouxe as respostas esperadas para os parâmetros de biodisponibilidade, os alunos decidiram avaliar os valores de lipossolubilidade fornecidos pela plataforma, uma vez que esta está atrelada à absorção, que por sua vez determina a biodisponibilidade do xenobiótico administrado, sobretudo em via oral (COZZOLINO, 1997). A esterificação culminou em diferentes valores de Log P para as moléculas analisadas, os quais estão indicados nas figuras 7 e 8, pertencentes à Cefuroxima e à Axetilcefuroxima, respectivamente. No caso da Axetilcefuroxima, houve um aumento do Log P, o que indica que houve aumento de sua lipofilicidade. Conforme visto nas aulas teóricas de aspectos gerais de

ação dos fármacos, a lipofilicidade é um importante fator nos processos absorptivos, uma vez que permite a solubilização do fármaco na camada lipídica e facilita a passagem pelas membranas celulares (LINARDI *et al*, 2016, p.6). Dessa forma, os alunos concluíram que a esterificação foi realizada para aumentar a lipossolubilidade da Cefuroxima, otimizando sua absorção intestinal.

Figura 7 - Log P da Cefuroxima

Lipophilicity	
Log $P_{o/w}$ (iLOGP) ?	2.04
Log $P_{o/w}$ (XLOGP3) ?	-0.16
Log $P_{o/w}$ (WLOGP) ?	-0.92
Log $P_{o/w}$ (MLOGP) ?	-1.27
Log $P_{o/w}$ (SILICOS-IT) ?	-0.97
Consensus Log $P_{o/w}$?	-0.25

Fonte: A Autora (2023).

Figura 8 - Log P da Axetilcefuroxima

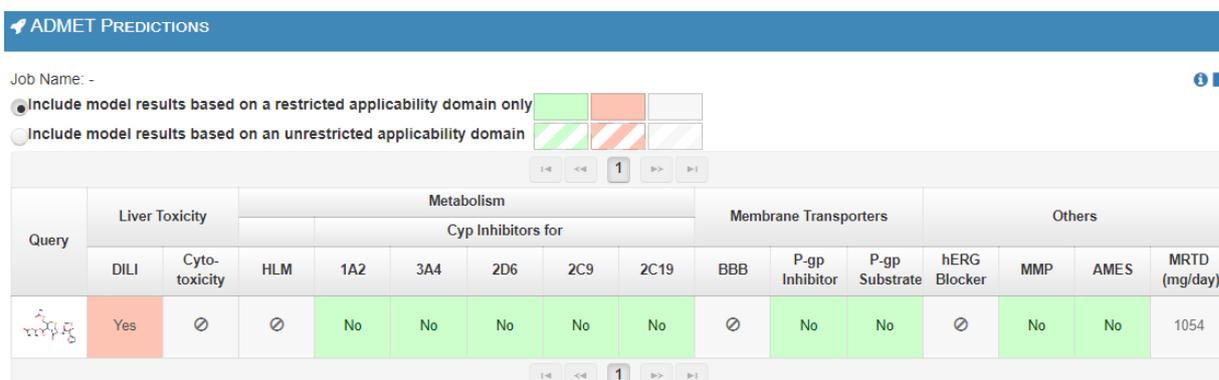
Lipophilicity	
Log $P_{o/w}$ (iLOGP) ?	2.77
Log $P_{o/w}$ (XLOGP3) ?	0.89
Log $P_{o/w}$ (WLOGP) ?	-0.55
Log $P_{o/w}$ (MLOGP) ?	-1.08
Log $P_{o/w}$ (SILICOS-IT) ?	-0.26
Consensus Log $P_{o/w}$?	0.35

Fonte: A Autora (2023).

Além das propriedades farmacocinéticas avaliadas no SwissADME, os alunos verificaram os parâmetros do fármaco protótipo fornecidos pelo vNN-ADMET e pelo

SmartCyp. No vNN- ADMET, foram fornecidos parâmetros associados a lesões hepáticas, inibição de enzimas microsossomais, interação com transportadores de membrana, dentre outros. Já no *SmartCyp*, foram indicados os sítios moleculares mais suscetíveis ao metabolismo das enzimas do citocromo P450. A Figura 9 mostra o resultado fornecido pelo vNN-ADMET para o fármaco protótipo Axetilcefuroxima.

Figura 9 - Predição fornecida pelo vNN-ADMET



Query	Liver Toxicity		Metabolism						Membrane Transporters			Others			
	DILI	Cytotoxicity	HLM	Cyp Inhibitors for					BBB	P-gp Inhibitor	P-gp Substrate	hERG Blocker	MMP	AMES	MRTD (mg/day)
				1A2	3A4	2D6	2C9	2C19							
	Yes	∅	∅	No	No	No	No	No	∅	No	No	∅	No	No	1054

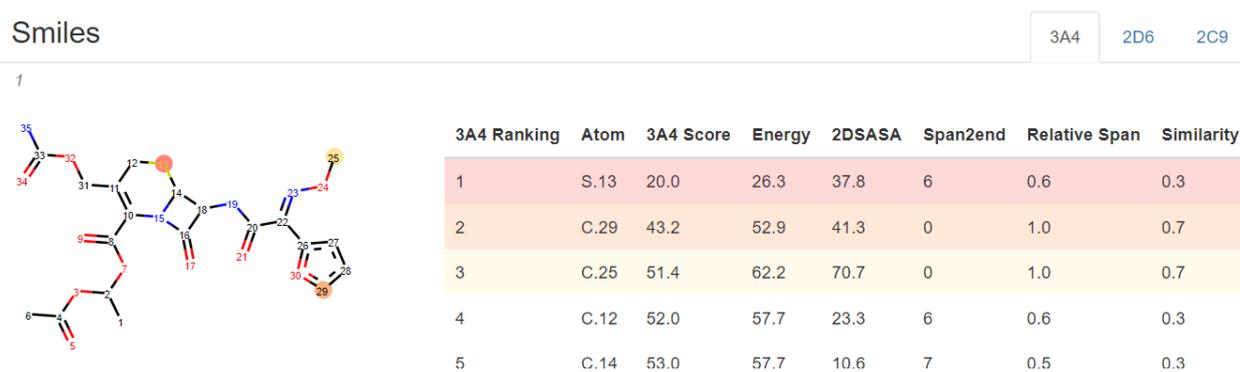
Fonte: A Autora (2023).

A predição fornecida pelo vNN-ADMET indicou que o protótipo apresenta possibilidade de causar danos hepáticos, conforme visto na cor vermelha e na palavra “yes”, que significa “sim”, indicada em DILI (do inglês *Drug-Induced Liver Injury*). Clinicamente, as Cefalosporinas de segunda geração têm sido associadas à recorrência de danos hepáticos, sendo comum o aparecimento desses efeitos após 3 semanas da exposição aos medicamentos da classe (SIPOS *et al*, 2021). Segundo Zhang *et al* (2013), a toxicidade das Cefalosporinas — como a Axetilcefuroxima — está associada aos grupos funcionais do Carbono 3 e 7 do ácido 7-aminocefalosporânico. Após analisarem a estrutura da molécula, os alunos verificaram a presença de um grupamento furano. Conforme elencado na aula de metabolismo dos fármacos, o furano pode sofrer reações de oxidação por meio das enzimas do citocromo P450, originando um composto aldeídico insaturado, o qual apresenta capacidade de causar danos hepáticos (GATES; PETERSON, 2012). Nesse sentido, os alunos associaram a hepatotoxicidade induzida ao caráter eletrofílico da molécula possivelmente formada a partir do metabolismo do furano. Apesar dessa associação realizada pelos estudantes, na literatura ainda não é descrito o mecanismo molecular responsável pelos danos hepáticos causados pela Axetilcefuroxima.

O *SmartCyp* foi utilizado para a previsão dos sítios moleculares do protótipo em que existem as maiores probabilidades de metabolização pelas CYPs 3A4, 2D6 e 2C9. Esse resultado pode ser observado na figura 10. Ao analisarem as probabilidades indicadas pelo site, os alunos notaram que os átomos com maiores chances de metabolização possuíam características favoráveis à oxidação. Isso foi observado na existência de heteroátomos em anéis, os quais apresentam pares de elétrons livres suscetíveis à oxidação. Além disso, um dos átomos evidenciados se encontrava na extremidade da molécula. Assim, houve a associação de que as características eletrônicas favoráveis e a redução do impedimento estérico nessas regiões facilitaria a interação entre a enzima metabolizadora e a molécula analisada.

Além disso, os estudantes também utilizaram esses resultados para exercitarem os mecanismos de ação das reações de metabolismo, aprendidos nas aulas teóricas. Com base no sítio indicado pelo *SmartCyp*, os alunos presumiram que o carbono 25, indicado pela cor amarela, poderia sofrer O-desalquilação. O carbono 29, em laranja, seria passível de sofrer uma oxidação e o enxofre, indicado na posição 13 em vermelho, poderia sofrer S-oxidação. Embora o *SmartCyp* descreva suscetibilidade de metabolização em determinados sítios da molécula, a Cefuroxima, originada a partir do pró-fármaco Axetilcefuroxima, é excretada de forma inalterada pela urina (*American Society of Health-System Pharmacists*, 2013).

Figura 10 - Ordem de reatividade dos sítios para o metabolismo da CYP3A4



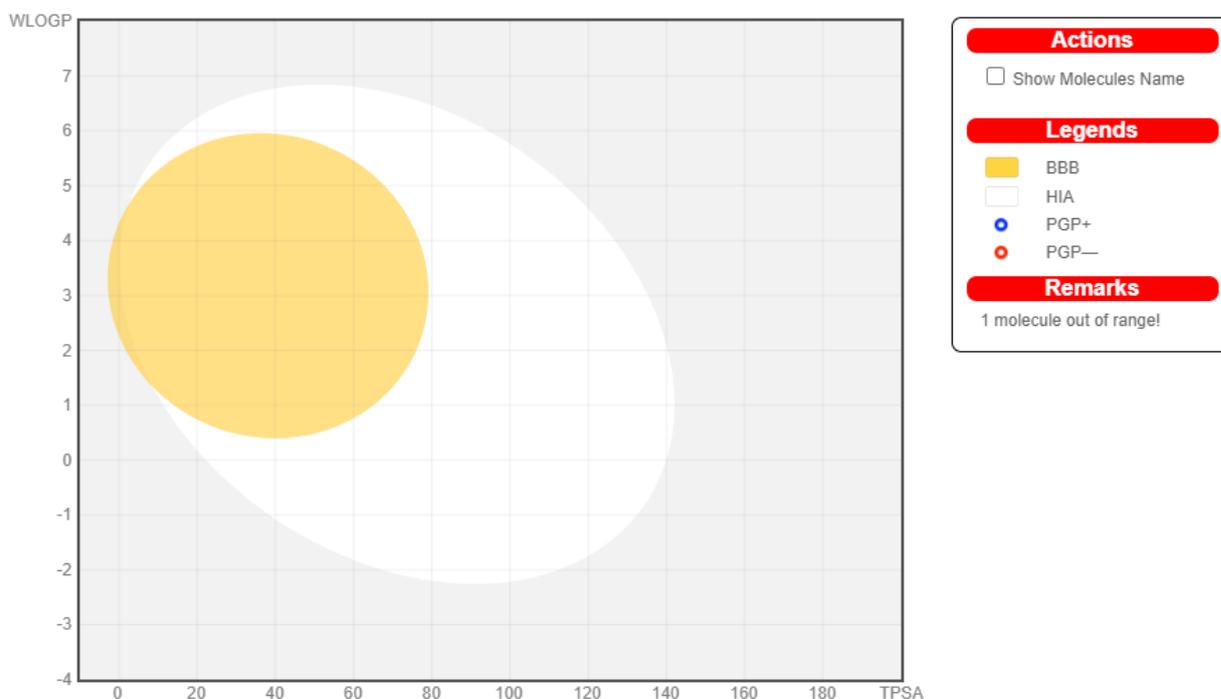
Legenda: Nessa imagem é possível verificar que, para essa isoforma da CYP, o enxofre é o átomo preferencial de metabolismo, seguido do C29 e do C25. **Fonte:** A Autora (2023).

Após a avaliação das propriedades do protótipo, os alunos iniciaram o delineamento das modificações estruturais a serem realizadas. Essas modificações foram realizadas tanto na molécula ativa, ou seja, a Cefuroxima, quanto na molécula esterificada, ou seja, a

Axetilcefuroxima. A Cefuroxima é a forma ativa do fármaco, responsável por interagir com a proteína e desempenhar a resposta farmacológica. Sendo assim, as modificações realizadas na molécula ativa visavam sua posterior comparação, em termos de ancoramento, com o ligante original (protótipo). Nesse contexto, a utilização da molécula esterificada traria interações intermoleculares que prejudicariam a análise dos aspectos que regem a farmacodinâmica. Apesar disso, em termos de avaliação farmacocinética, manter a esterificação foi importante, uma vez que esta esterificação tem um papel importante associado à biodisponibilidade do protótipo, propriedade a qual teve de ser extrapolada para o candidato.

Para as modificações realizadas, foi considerado, primeiramente, propriedades farmacocinéticas. Foi verificado que a molécula de partida, apesar de estar em sua forma esterificada, apresentava lipossolubilidade muito baixa, o que reduz sua biodisponibilidade. Isso é indicado em seu gráfico *Boiled Egg*, fornecido pelo *SmartCyp*, o qual está demonstrado na figura 11. Sendo assim, uma das alterações sugeridas pelos alunos envolveram o aumento da lipofilicidade da molécula, a qual poderia acarretar em melhorias nos padrões farmacocinéticos que se atrelam à absorção e à biodisponibilidade.

Figura 11 - Gráfico Boiled Egg da Axetilcefuroxima

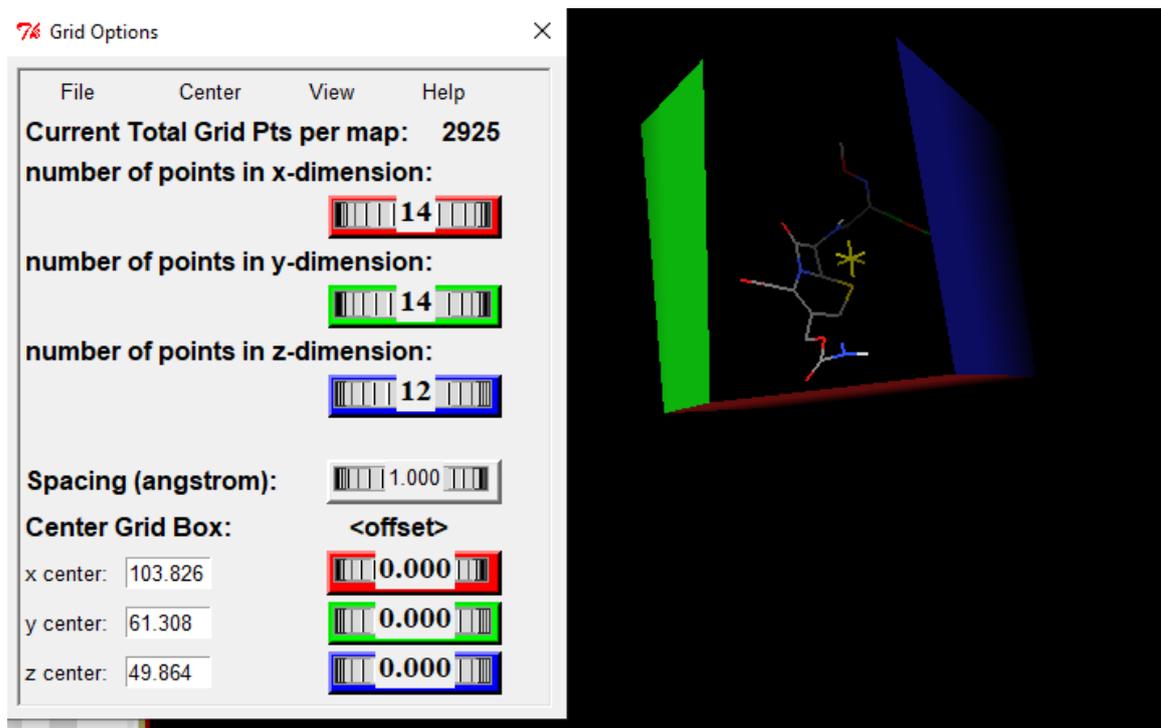


Legenda: Sua biodisponibilidade oral é ínfima ao ponto de não assumir valores mensuráveis pelas coordenadas deste gráfico, indicado pelo SwissADME. **Fonte:** A Autora (2023).

Embora as modificações estruturais na Axetilcefuroxima objetivassem melhorias em suas propriedades farmacocinéticas que envolvem a absorção e biodisponibilidade, elas deveriam ser realizadas sem impactar no comprometimento da atividade farmacodinâmica. Nesse sentido, os alunos tiveram de avaliar aspectos importantes que regem essa atividade, sobretudo em relação à forma ativa da Axetilcefuroxima: a Cefuroxima. Os aspectos analisados envolveram a acomodação do fármaco no biorreceptor e as interações intermoleculares de grupos farmacofóricos e auxofóricos com a proteína alvo. Para avaliarem essas propriedades através das ferramentas computacionais, os alunos tiveram de realizar, primeiramente, a validação do procedimento de *docking* molecular para molécula de Cefuroxima. A análise da atividade farmacológica da molécula ativa foi feita com base na *Grid Box* e no diagrama de interações em 2D gerado para a Cefuroxima a partir de seu *docking* molecular, disponibilizado pelo *DS Visualizer*.

Para iniciarem o procedimento, o complexo ligante-proteína da Cefuroxima, oriundo do PDB, foi alocado no *DS Visualizer* e em seguida o ligante foi separado da proteína. O ligante extraído foi submetido ao *Autodocktools*, para que se escolhesse a opção do ligante rígido, e posteriormente foi salvo em arquivo PDBqt. No mesmo programa, as dimensões do ligante foram avaliadas através da construção da *Grid Box*. Como esta caixa indica as dimensões do sítio da proteína responsável pela acomodação do ligante, o candidato à fármaco, desenhado pelos alunos a partir do protótipo, teve de manter volume adequado, para que coubesse no sítio da molécula alvo, uma vez que a não conformidade aos padrões da caixa indicariam que a molécula sugerida não se acomodaria ao biorreceptor. As dimensões da *Grid Box* construída para o ligante Cefuroxima podem ser observadas na figura 12.

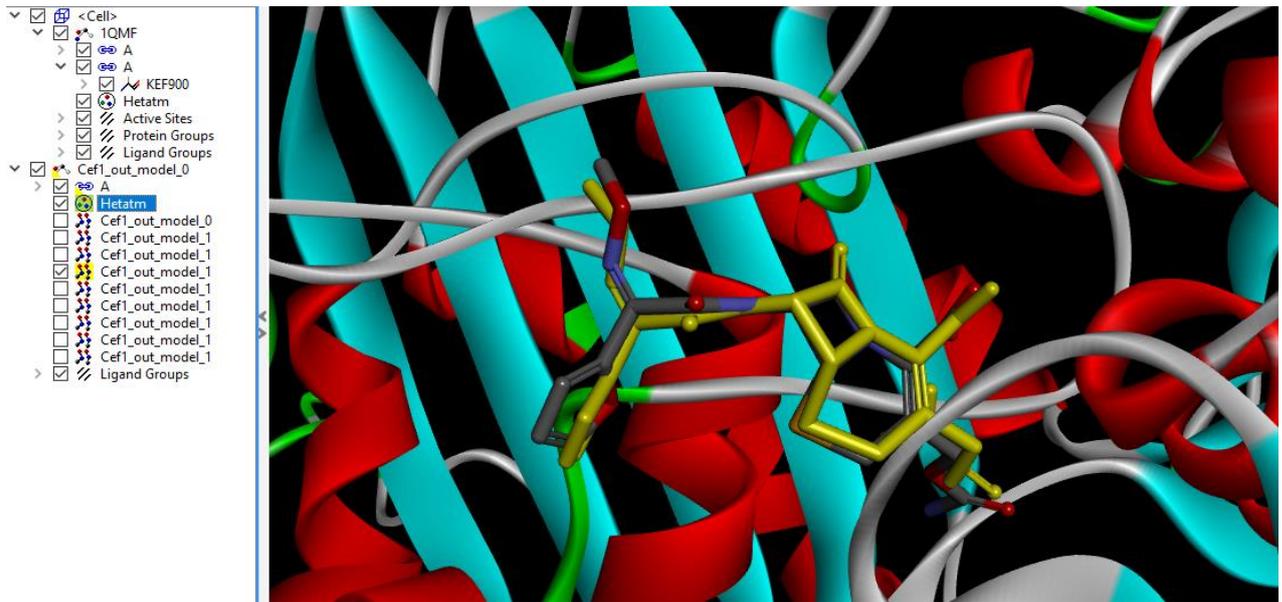
Figura 12 - Dimensões da Grid Box obtida para a molécula da Axetilcefuroxima



Fonte: A Autora (2023).

Uma vez obtidas as dimensões da *Grid Box*, os alunos realizaram os cálculos de energia do ligante através do *Autodock vina*. Esses cálculos geraram um arquivo de saída, em formato PDBqt, o qual foi convertido em formato PDB e, por fim, foi aberto no *Discovery Studio Visualizer*. Nesse programa, os alunos visualizaram se o procedimento de *docking* molecular foi bem sucedido, tendo em vista a sobreposição do ligante original ao ligante redocado. Na figura 13 pode ser observado o resultado do *docking* molecular para o ligante Cefuroxima. Nesse resultado, o ligante redocado que teve melhor sobreposição com o ligante original foi o quarto confôrmere fornecido pelo *Autodock vina*, marcado em amarelo no canto esquerdo da figura 13.

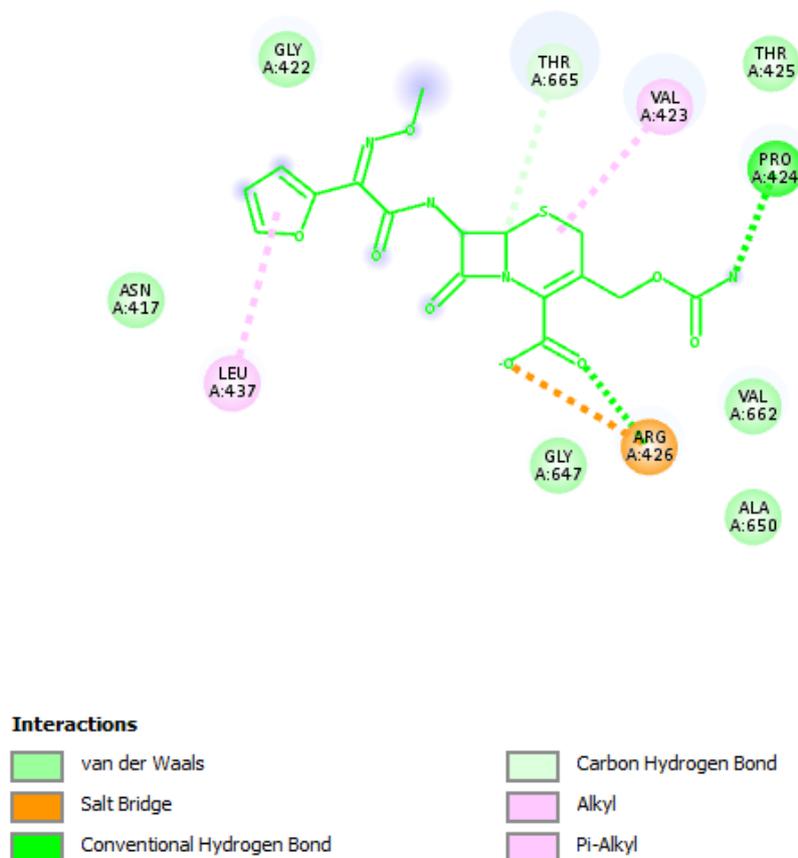
Figura 13 - Sobreposição do ligante redocado, em amarelo, comparado ao ligante original, colorido



Fonte: A Autora (2023).

Além da validação do procedimento de *docking* molecular, os alunos obtiveram, a partir do *DS Visualizer*, as informações que correspondem às interações intermoleculares responsáveis pela atividade farmacológica da Cefuroxima, bem como sua afinidade com o seu biorreceptor. Isso foi verificado através do diagrama de interações intermoleculares em 2D, gerado no aplicativo, o qual está expresso na figura 14. Segundo o Diagrama 2D gerado pelo *DS Visualizer*, o anel beta-lactâmico (grupo farmacofórico) da Cefuroxima interage com resíduos de valina (A:423), treonina (A:665) e arginina (A:426), através de interações π -alquil, alquil e ponte salina, respectivamente. Já os grupos auxofóricos incluem o furano, o qual interage com o aminoácido leucina (A437) por meio de uma interação pi-alquil, e a amida presente na extremidade, que interage com o aminoácido prolina (A:424) através de uma ligação de hidrogênio.

Figura 14 - Diagrama de interações em 2D da Cefuroxima e sua molécula alvo

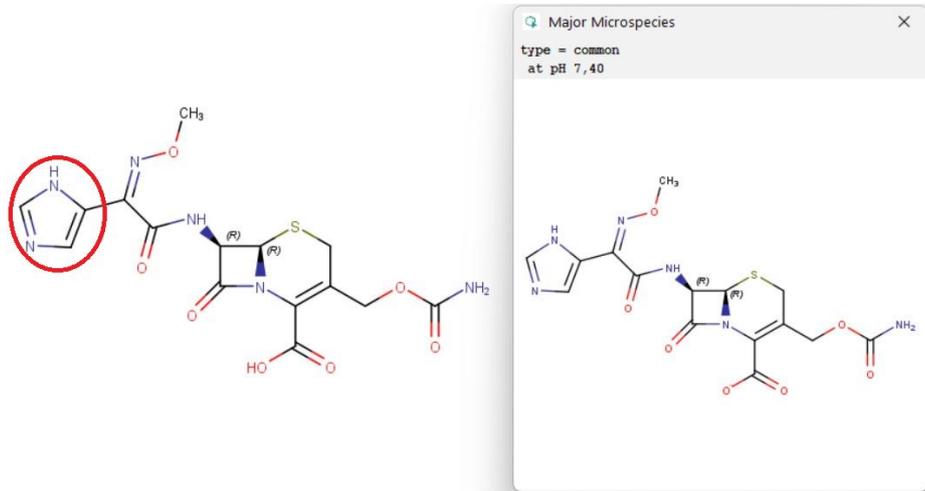


Fonte: A Autora (2023).

Após o entendimento das interações intermoleculares e os aspectos espaciais que regiam a farmacodinâmica envolvida no processo de interação da Cefuroxima com seu biorreceptor, além da compreensão dos padrões farmacocinéticos do fármaco protótipo, os alunos partiram para o exercício prático das modificações estruturais. Os professores sugeriram que os alunos criassem 3 candidatos, a partir das estratégias expostas nas aulas teóricas, como bioisosterismo clássico, não clássico, ou simplificação. As modificações estruturais sugeridas pelos alunos para a Cefuroxima envolveram: I - substituição do furano pelo imidazol, o que constitui um bioisosterismo clássico entre anéis aromáticos, obtendo-se o Candidato I; II - substituição função amida do carbono 7 da Cefuroxima por uma sulfonamida, que constitui um bioisosterismo não clássico, obtendo-se o Candidato II; III - substituição do grupamento amida da extremidade, do carbono 3 substituído, por uma metila, que constitui uma simplificação, obtendo-se o Candidato III. As duas primeiras modificações objetivaram otimizar a interação do fármaco com seu biorreceptor, uma vez que ambas as estruturas são grupamentos importantes para a interação do fármaco com seu alvo. Já a última modificação teve por objetivo

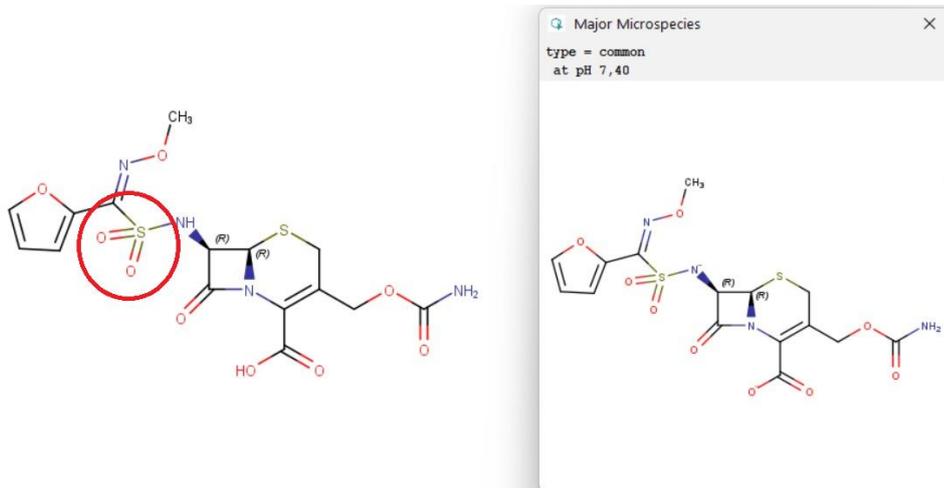
umentar a lipofilia da molécula. Nas figuras 15, 16 e 17 estão demonstradas as moléculas obtidas a partir do protótipo Cefuroxima.

Figura 15 - Candidato I: substituição do furano pelo imidazol, o que constitui um bioisosterismo clássico entre anéis aromáticos.



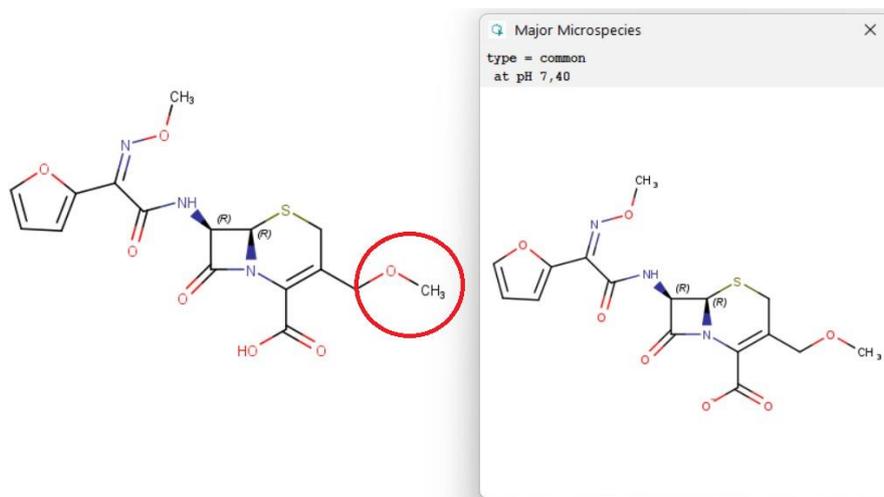
Fonte: A Autora (2023).

Figura 16 - Candidato II: substituição função amida do carbono 7 da Cefuroxima por uma sulfonamida, que constitui um bioisosterismo não clássico



Fonte: A Autora (2023).

Figura 17 - Candidato III: simplificação molecular no grupo substituinte do carbono 3 da Cefuroxima



Fonte: A Autora (2023).

2.2.2 Interpretações Acerca das Modificações Estruturais Realizadas na Cefuroxima

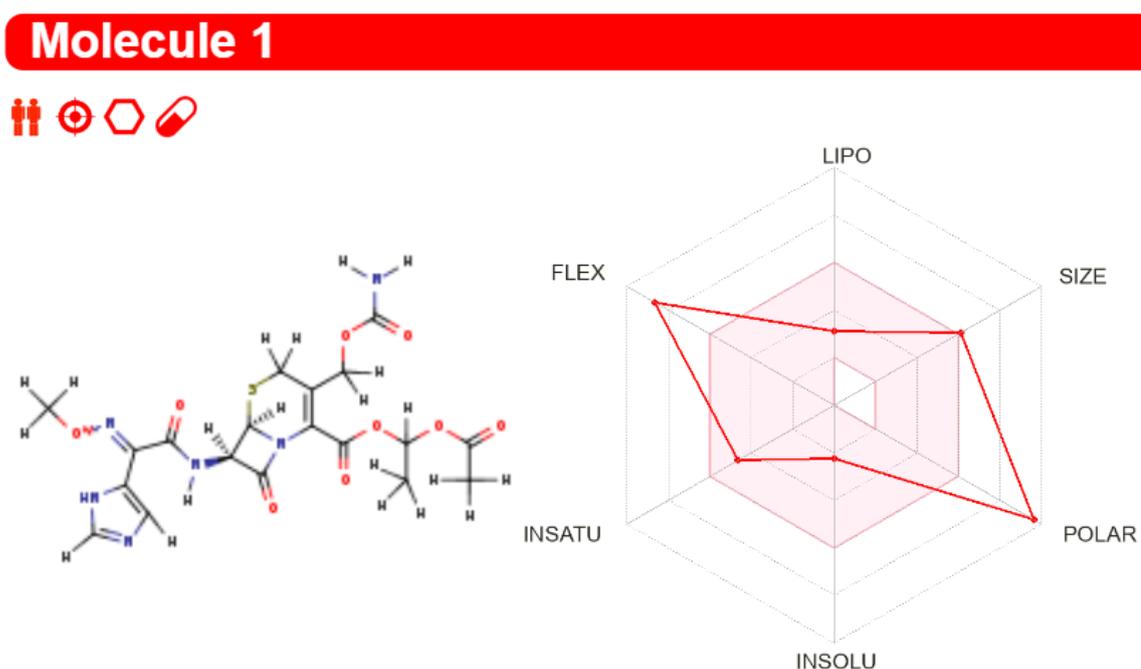
Para realizar as modificações estruturais, os alunos fizeram o uso do *software* de desenho molecular *MarvinSketch*. Nesse programa, os alunos desenharam a estrutura química do protótipo, ou seja, o fármaco escolhido por seu respectivo grupo e, em seguida, por meio das ferramentas disponibilizadas pelo *software*, realizaram as alterações estruturais, dando origem aos três candidatos, cujas estratégias de obtenção foram mencionadas na seção anterior. Após os candidatos serem obtidos, o *MarvinSketch* foi utilizado para a previsão da ionização das estruturas recém obtidas, considerando o pH plasmático, 7.4, sendo a estrutura do Candidato II a única a sofrer ionização no pH especificado.

Posteriormente, as estruturas dos candidatos, desenhadas no *Marvinsketch*, foram salvas em formato MDL molfile, considerando sua ionização em pH plasmático. Em seguida, os candidatos foram submetidos ao *software* Avogadro, para que suas estruturas fossem otimizadas. As estruturas dos candidatos também foram analisadas nos sites *SmartCyp*, *SwissADME* e *vNN-ADMET*, a fim de verificar se as alterações estruturais tiveram as melhorias pretendidas. Por fim, as estruturas dos candidatos foram submetidas aos *softwares* *Discovery Studio Visualizer*, *AutDockTools* e *AutoDock Vina*, de modo análogo à estrutura do fármaco protótipo, para a realização do *docking* molecular. Para prosseguir a apresentação dos resultados, serão demonstrados aqueles referentes à modificação estrutural I.

No SwissADME foram analisados aspectos importantes quanto à farmacocinética do Candidato I. Importante ressaltar que, para esta análise, o Candidato I teve de ser avaliado na forma esterificada, posto que essa esterificação também foi realizada no protótipo (a Cefuroxima) para obter-se uma molécula com maior lipofilicidade, que otimiza sua absorção pelo trato gastrointestinal. De modo análogo ao pró-fármaco da Cefuroxima — ou seja, a Axetilcefuroxima — presume-se que o pró-fármaco do Candidato I é metabolizável pelas esterases, originando a estrutura do Candidato I ativa.

O primeiro resultado avaliado pelo Swiss ADME para o pró-fármaco do candidato, está demonstrado na figura na figura 18. É possível notar uma similaridade entre os radares do pró-fármaco do Candidato I e da Axetilcefuroxima, uma vez que ambas as estruturas violam o radar a partir da polaridade e do número de ligações rotacionáveis.

Figura 18 - Radar de biodisponibilidade do pró-fármaco do Candidato I



Fonte: A Autora (2023).

Avaliando-se a lipofilicidade do pró-fármaco do Candidato I, também indicada pela plataforma, houve redução em seus valores de Log P, conforme observado na figura 19. Nessa conjuntura, os alunos interpretaram esse fato à presença dos dois átomos de nitrogênio no anel imidazólico, os quais elevam sua polaridade e permitem que estes realizem fortes interações intermoleculares por meio de ligações de hidrogênio (HOFMANN, 1953). Conforme descrito por Linardi *et al* (2016), a polaridade de uma molécula reduz sua lipossolubilidade, o que

interfere negativamente em sua passagem pelas membranas plasmáticas. Sendo assim, os alunos interpretaram que essa substituição poderia reduzir a biodisponibilidade do candidato em relação ao protótipo. Além disso, essa baixa lipossolubilidade se associa ao parâmetro de baixa absorção pelo trato gastrointestinal para o pró-fármaco do Candidato I, também indicado pela plataforma.

Figura 19 - Parâmetros de lipofilicidade, obtidos a partir do SwissADME para o Candidato I

Lipophilicity	
Log $P_{o/w}$ (iLOGP) ?	1.85
Log $P_{o/w}$ (XLOGP3) ?	-0.04
Log $P_{o/w}$ (WLOGP) ?	-1.42
Log $P_{o/w}$ (MLOGP) ?	-1.23
Log $P_{o/w}$ (SILICOS-IT) ?	-0.68
Consensus Log $P_{o/w}$?	-0.30

Fonte: A Autora (2023).

O pró-fármaco do Candidato I também foi submetido à análise pelo vNN-ADMET. Os parâmetros obtidos nesta plataforma estão demonstrados na figura 20. É possível notar, que de modo análogo à Axetilcefuroxima, o pró-fármaco do Candidato I também apresenta, segundo o site, capacidade de induzir lesões hepáticas, conforme indicado em vermelho na coluna “DILI”. Nesse sentido, os alunos reconheceram que a modificação do grupo furano pelo anel imidazólico não impactaria em ganhos que envolvem aspectos toxicológicos para fármaco modificado.

Figura 20 - Parâmetros fornecidos pelo vNN-ADMET para o Candidato I

ADMET PREDICTIONS

Job Name: -

Include model results based on a restricted applicability domain only
 Include model results based on an unrestricted applicability domain

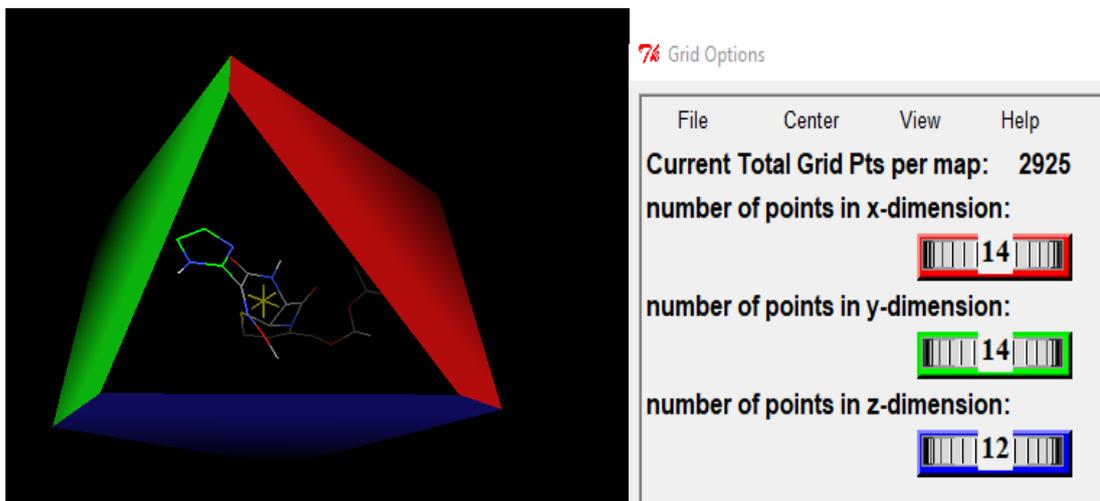
Query	Liver Toxicity		Metabolism						Membrane Transporters			Others			
	DILI	Cyto-toxicity	Cyp Inhibitors for						BBB	P-gp Inhibitor	P-gp Substrate	hERG Blocker	MMP	AMES	MRTD (mg/day)
			HLM	1A2	3A4	2D6	2C9	2C19							
	Yes	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	No	No	∅	No	∅	1118

Fonte: A Autora (2023).

Após avaliação de propriedades farmacocinéticas, o Candidato I também foi estudado em termos de propriedades farmacodinâmicas, as quais envolvem interações intermoleculares com seu alvo biológico e sua acomodação espacial no biorreceptor. Essa análise foi feita a partir da molécula ativa do Candidato I, ou seja, sua forma não esterificada. Para essa avaliação, após a molécula ter sido desenhada no *MarvinSketch* e sua estrutura ter sido otimizada no *Avogadro*, ou seja, obtendo-se os parâmetros adequados de comprimento e ângulos de ligação, a estrutura ativa do Candidato I foi submetida ao *Autodocktools*, *Autodock vina* e *DS Visualizer*.

No *AutodockTools*, foi verificado que o candidato apresentava as dimensões de ancoramento semelhantes às do protótipo, visto que foi possível sua acomodação na *Grid Box*. Nessa conjuntura, os alunos averiguaram que essa informação era um indício de que em meios biológicos, a molécula modificada apresentaria aspectos tridimensionais de acomodação no biorreceptor semelhante à molécula protótipo. A seguir, na figura 21, está representado um exemplo dessa acomodação.

Figura 21 - Acomodação do Candidato I na Grid Box, com as dimensões do fármaco protótipo



Fonte: A Autora (2023).

Posteriormente, os alunos utilizaram as dimensões da caixa, com o protocolo de *docking* molecular validado, para calcular possíveis poses da molécula no sítio ativo da proteína e suas respectivas interações com os resíduos de aminoácidos no *AutoDock vina*. Além disso, as energias relativas dessas interações também foram comparadas. Este é um parâmetro importante para seleção da pose de menor energia, visando comparação com as outras estruturas ancoradas. A figura 22 demonstra a comparação entre as energias obtidas pelo *vina* para o ligante original e para o Candidato I. É possível notar que para um mesmo confômero, em termos de numeração, a energia de afinidade do Candidato I é ligeiramente maior em relação ao protótipo.

Figura 22 - Comparação de valores fornecidos pelo Autodock vina para o ligante original e para o Candidato I, respectivamente

```

Output will be Cef1_out.pdbqt
Detected 4 CPUs
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: 1648297216
Performing search ...
0% 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100%
|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
*****
done.
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
| (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----+-----+-----+-----
1 | -6.5 | 0.000 | 0.000
2 | -6.5 | 3.950 | 5.817
3 | -6.2 | 2.038 | 8.343
4 | -6.2 | 1.104 | 2.527
5 | -6.0 | 3.229 | 8.152
6 | -6.0 | 3.808 | 7.748
7 | -6.0 | 3.682 | 6.686
8 | -5.9 | 4.180 | 6.838
9 | -5.9 | 1.965 | 3.112
Writing output ... done.

Output will be candi_out.pdbqt
Detected 4 CPUs
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: -1654834828
Performing search ...
0% 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100%
|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
*****
done.
Refining results ... done.

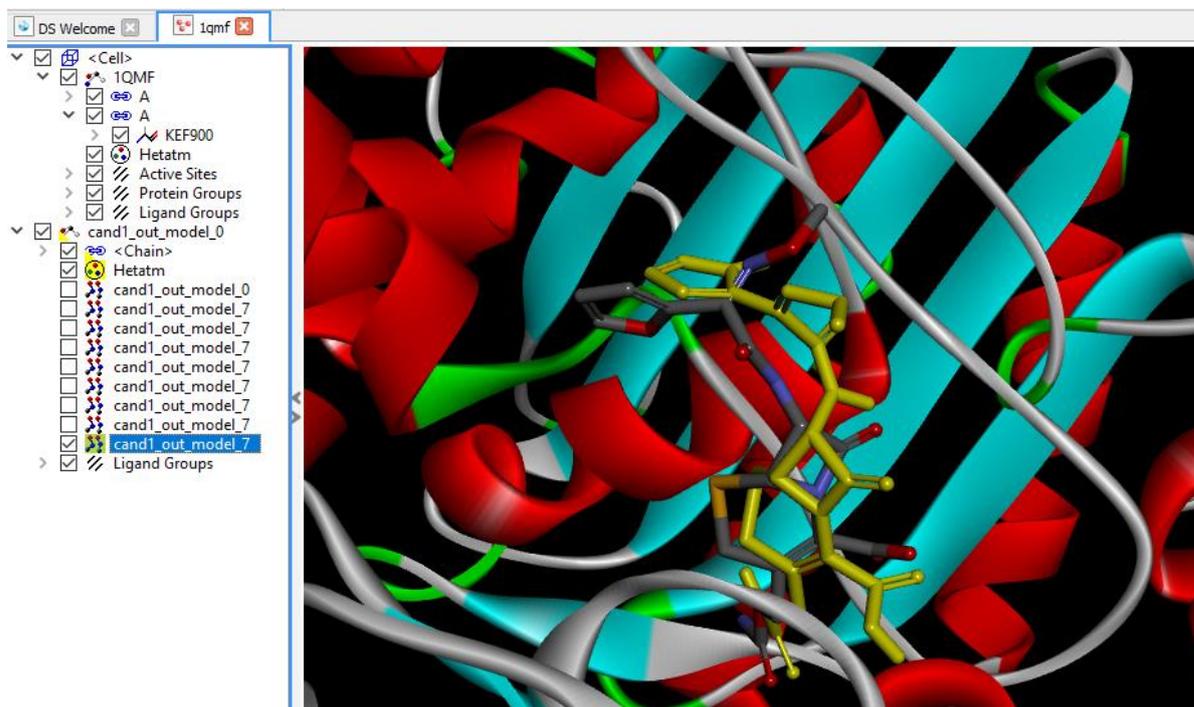
mode | affinity | dist from best mode
| (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----+-----+-----+-----
1 | -6.4 | 0.000 | 0.000
2 | -6.2 | 4.261 | 6.813
3 | -6.2 | 1.334 | 2.955
4 | -5.8 | 2.934 | 4.443
5 | -5.8 | 2.406 | 4.046
6 | -5.7 | 3.172 | 3.816
7 | -5.7 | 2.179 | 3.181
8 | -5.6 | 3.090 | 4.364
9 | -5.6 | 2.972 | 4.702
Writing output ... done.

```

Fonte: A Autora (2023).

Uma vez realizados os cálculos pelo *Autodock vina*, o arquivo de saída obtido foi convertido para o formato PDB, para posterior análise de sua sobreposição com o ligante original, bem como de suas interações intermoleculares com a proteína alvo. Embora os resultados para a acomodação tridimensional da molécula do candidato no sítio da molécula alvo tivessem sido satisfatórios, conforme indicado na *Grid Box*, os resultados apresentados pelo *DS Visualizer* não trouxeram boas sobreposições dos grupamentos farmacofóricos pretendida para nenhum dos conformeros gerados a partir do *Autodock vina*. O conformero com melhor sobreposição foi o de número 9, representado na figura 23, cuja energia fornecida pelo *Autodock vina* foi de -5,6 Kcal/mol. Nas demais conformações não houve sobreposição dos grupos farmacofóricos.

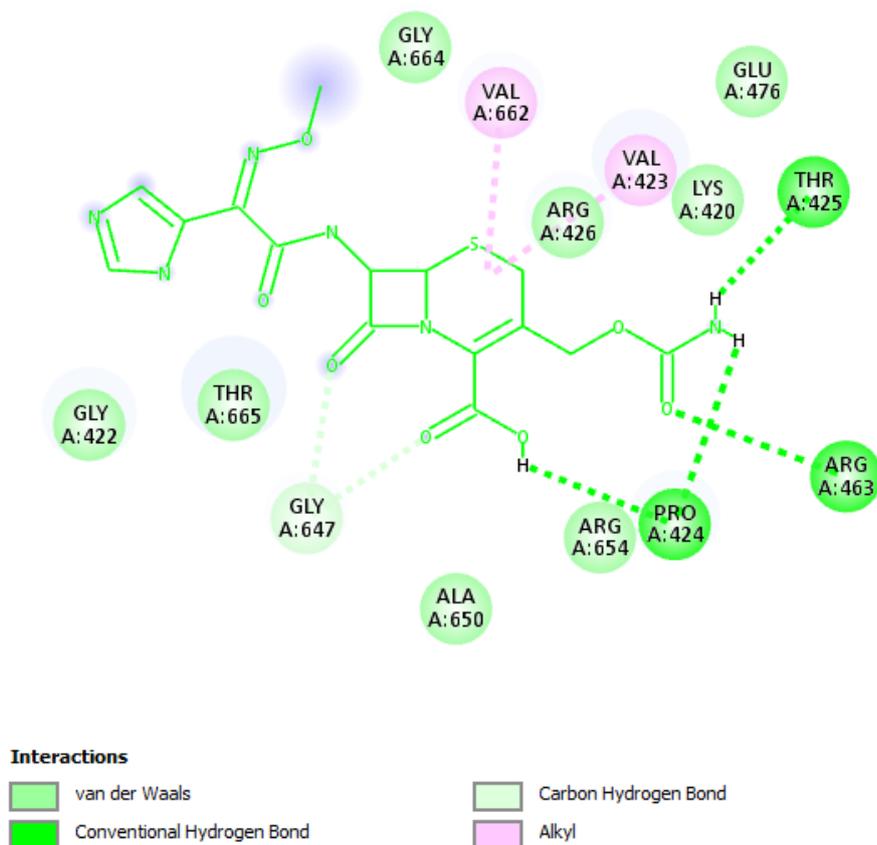
Figura 23 - O 9º confôrmero do candidato em comparação à estrutura do protótipo complexada à proteína



Fonte: A Autora (2023).

Quanto ao diagrama 2D gerado para o Candidato I, foi verificada a perda da interação do anel beta-lactâmico com os resíduos de treonina (A:665) e arginina (A:426). Apesar disso, a interação com a valina (A:423). Além disso, o anel beta-lactâmico adquiriu novas interações, sendo uma ligação de hidrogênio com um resíduo de prolina (A:424), uma interação com a glicina (A:467) e uma nova interação com outro resíduo de valina (A:662).. Quanto aos grupos auxofóricos, o anel imidazólico não apresentou interação com o aminoácido leucina (A:437), a qual existia no grupo furano a que substituiu. A amida presente na extremidade manteve sua interação com o aminoácido prolina (A: 424) e obteve uma nova interação com a arginina (A:463) e com a treonina (A:425). Nessa conjuntura, os alunos presumiram que a molécula apresentava uma conformação farmacofórica diferente da do ligante original, o que culminou em diferentes interações com a proteína alvo. Tendo em vista a mudança dessa conformação, foi discutido que isso poderia impactar na atividade farmacológica pretendida para o Candidato I. Outro ponto abordado pelos estudantes é que as novas interações auxofóricas poderiam trazer ganhos de afinidade para o Candidato I, se comparado ao protótipo. Na figura 24 é possível constatar as novas interações intermoleculares obtidas no *DS Visualizer* para o Candidato I. Apesar disso, a modificação do furano pelo anel imidazólico não trouxe ganhos em termos de interação intermolecular na região da molécula em que ambos os anéis estão situados.

Figura 24 - Diagrama 2D gerado no DS *visualizer* para o Candidato I



Fonte: A Autora (2023).

2.2.3 Apresentação dos Seminários

Todas as informações obtidas através dos *softwares* e sites abordados foram utilizadas para a construção de um seminário, conforme já mencionado neste trabalho. Apesar dos resultados obtidos não terem sido o almejado para o Candidato I, uma vez que não foi constatada melhoria na interação entre o anel imidazólico com o alvo, quando comparado ao furano, as interpretações realizadas durante o estudo para a construção da apresentação demonstraram que os alunos possuíam o embasamento teórico necessário para compreenderem as informações transmitidas pelas ferramentas computacionais. Nesse sentido, é possível estabelecer uma correlação teórico-prática no processo de aprendizagem dessa disciplina. Essa relação foi observada na sugestão de modificação realizada pelos alunos, ensinada nas aulas de estratégias de modificação molecular.

Os professores realizaram a avaliação do seminário com base nos argumentos — de embasamento teórico — utilizados pelos alunos para justificar as alterações moleculares realizadas na prática. Tendo em vista as justificativas apresentadas neste trabalho, foi possível

notar o amadurecimento dos estudantes na disciplina. Além disso, os alunos foram co-partícipes no processo de ensino-aprendizagem, uma vez que houve protagonismo tanto na escolha dos protótipos, quanto nas modificações estruturais realizadas. Dessa forma, foi possível verificar que os conteúdos teórico e prático se complementaram para a construção de um ensino efetivo.

2.2.4 Estudos Extra-Acadêmicos

A disciplina de QF, assim como todas as disciplinas de graduação, envolvem estudos constantes, realizados pelos alunos além do horário de aula. Tendo em vista o estudo para a realização das avaliações, como as provas e o próprio seminário, os alunos tiveram de dar continuidade ao uso das ferramentas computacionais aqui elencadas para além do ambiente acadêmico. Assim, o roteiro disponibilizado em aula foi executado — com autonomia, por parte dos alunos — fora do horário de aula.

Essa facilidade em executar os roteiros para além da Instituição de Ensino está associada a uma descrição clara das práticas exemplificadas no material didático. Além disso, essa facilidade demonstra que os alunos são capazes de utilizar as ferramentas digitais de modo independente, o que está associado à superação de um aprendizado passivo. Neste contexto, o aluno se demonstrou co-partícipe na construção de seu conhecimento prático de modo efetivo.

Esse conhecimento libertário traz ao aluno, e conseqüentemente, ao profissional formado, habilitação para manipular ferramentas de modelagem molecular em seu respectivo exercício laboral. Através de um prisma estritamente capitalista, na qual grandes indústrias farmacêuticas investem em pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos, aquele que possui esse diferencial se adequa à demanda do mercado vigente (IQVIA, 2023).

3 CONCLUSÃO

Frente às adversidades no processo de construção de um aprendizado verdadeiro de Química Farmacêutica e Medicinal, as metodologias ativas verificadas nas aulas experimentais associadas às teóricas, se demonstraram bastante eficientes em combatê-las. Isso é manifesto na criticidade com que os alunos sugeriram os novos candidatos a fármacos, tendo em vista suas respectivas interpretações lógicas das informações obtidas através dos aplicativos e a correlação desses dados à criação de uma molécula aprimorada.

Ademais, a autonomia com que os alunos executaram os roteiros, para além do ambiente estudantil revelam, que o conhecimento oriundo das aulas experimentais permitiu que os alunos superassem uma estrutura passiva de obtenção de conhecimento, por meio da vivência prática. Essa perspectiva pode se expandir para o contexto laboral, sobretudo em setores de Pesquisa de Desenvolvimento de novos fármacos, uma vez que o aluno que experienciou estas modalidades de ensino será habilitado para manipular as ferramentas de modo ativo em qualquer ambiente. Assim, essa capacitação diferenciada proporcionará a valorização do profissional formado, sendo isso bastante pertinente no modelo capitalista contemporâneo.

Com base nos aspectos elencados pelos alunos durante os seminários — desde o estudo de delineamento das modificações estruturais, até a avaliação das propriedades do fármaco após as alterações — foi verificado que os conhecimentos teóricos da disciplina foram utilizados como fundamentos para a construção de novas moléculas. Isso demonstra que o conteúdo teórico foi reforçado durante as execuções da parte experimental da disciplina, não só no contexto acadêmico, mas também para além da Instituição de Ensino.

Portanto, é evidente que os aspectos experimentais da Disciplina de Química Farmacêutica contribuem para a construção de um aprendizado mais efetivo, sendo os *softwares* livres de extrema importância na democratização do ensino.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, V. L. DE *et al.* Estudos de relações estrutura-atividade quantitativas (QSAR) de bis-benzamidinas com atividade antifúngica. **Química Nova**, v. 33, n. 7, p. 1482–1489, 2010.
- AMARAL, A. T. . *et al.* A evolução da Química Medicinal no Brasil: avanços nos 40 anos da Sociedade Brasileira de Química. **Química Nova**, v. 8, n. 6, p. 694 - 700, maio 2017. Disponível em:<http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170075>. Acesso em: 30 mar. 2023
- American Society of Health-System Pharmacists 2013; **Drug Information 2013**. Bethesda, MD. 2013, p. 74
- ANDRADE, C. H.; TROSSINI, G.H.G.; FERREIRA, E. I.. Modelagem Molecular no Ensino de Química Farmacêutica. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 7, n.1, p. 1 - 23, 2010. Disponível em :<https://revistas.ufg.br/REF/article/view/9603/6647>. Acesso em: 30 de mar. 2023.
- AVOGADRO, Avogadro: an open-source molecular builder and visualization tool, version 1.2.0,. <http://avogadro.cc/>, 2008.
- AXETIL CEFUROXIMA: Comprimidos revestidos. Responsável técnica Gabriela Mallmann. São Paulo - SP: Aché Laboratórios Farmacêuticos S.A., 2020. Disponível em: <https://www.ache.com.br/arquivos/bula-profissional-de-saude-mefex.pdf>. Acesso em: 8 dez. 2023.
- BANK, R. P. D. RCSB PDB: **About RCSB PDB: Enabling Breakthroughs in Scientific and Biomedical Research and Education**. Disponível em: <<https://www.rcsb.org/pages/about-us/index>>. Acesso em: 25 de Nov. de 2023.
- BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. DA S. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 679–688, 2009.
- BARREIRO, E. J.; RODRIGUES, C. R. Modelagem Molecular: uma ferramenta para o Planejamento Racional de Fármacos em Química Medicinal. **Química nova**, v. 20, n. 3, p. 300 - 310, 1997. Disponível em: http://static.sites.sbq.org.br/quimicanova.s bq.org.br/pdf/Vol20No3_300_v20_n3_10.pdf. Acesso em: 30 mar. 2023.
- BENIGNI, R. Carcinogenicity of the aromatic amines: from structure–activity relationships to mechanisms of action and risk assessment. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 511, n. 3, p. 191–206, jul. 2002.
- BIOVIA, Dassault Systemes, Discovery Studio Visualizer, San Diego: Dassault Systemes, 2023.
- BURLEY, S. K. *et al.* RCSB Protein Data Bank (RCSB.org): delivery of experimentally-determined PDB structures alongside one million computed structure models of proteins from artificial intelligence/machine learning. **Nucleic Acids Research**, v. 51, n. D1, p. D488–D508, 24 nov. 2022.

CHEMAXON, MarvinSketch version 6.2.3. ChemAxon Ltd, Budapeste, Hungria, www.chemaxon.com , 2014.

CLAYDEN, J. *et al.* **Organic chemistry**. New York: Oxford University Press, 2004.

CORMANICH, R. A.; NUNES, C. A.; FREITAS, M. P. Desenhos de estruturas químicas correlacionam-se com propriedades biológicas: MIA-QSAR. **Química Nova**, v. 35, n. 6, p. 1157–1163, 2012.

CORREIA, A.M. Biotransformação de Fármacos. *In*: KATZUNG, B. G.; TREVOR, A. J.. **Farmacologia básica e clínica**. Porto Alegre: McGraw-Hill, 2017. p.53-58.

COZZOLINO, S. M. F. Biodisponibilidade de minerais. **Revista de Nutrição**, v. 10, n. 2, p. 87–98, jun. 1997.

DAINA, A.; MICHIELIN, O.; ZOETE, V. SwissADME: a Free web Tool to Evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and Medicinal Chemistry Friendliness of Small Molecules. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, 3 mar. 2017.

DECK, D.H.; WINSTON, L.. Antibióticos beta-lactâmicos e outros antibióticos ativos na parede e membrana celular. *In*: KATZUNG, B. G.; TREVOR, A. J.. **Farmacologia básica e clínica**. Porto Alegre: McGraw-Hill, 2017. p.790-808.

FOORD, R. D. Cefuroxime: Human Pharmacokinetics. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 9, n. 5, p. 741–747, maio 1976.

FREIRE, Paulo. **Pedagogia da autonomia**: saberes necessários à prática educativa. São Paulo: Paz e Terra, 2004.

FUCHS, T. Case Study – Cefditoren Pivoxil: An oral prodrug of Cefditoren. *In*: PARISE FILHO, R. *et al.* **Prodrugs available on the Brazilian pharmaceutical market and their corresponding bioactivation pathways**. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 46, n. 3, p. 393–420, set. 2010.

GATES, L. A.; LU, D.; PETERSON, L. A. Trapping of cis-2-Butene-1,4-dial to Measure Furan Metabolism in Human Liver Microsomes by Cytochrome P450 Enzymes. **Drug Metabolism and Disposition**. v. 40(3), p. 596-601, 2012

GUIDO, R. VC; ANDRICOPULO, A. D. Modelagem molecular de fármacos. **Revista Processos Químicos**, v. 2, n. 4, p. 24-36, 2008.

GUIDO, R. V. C.; ANDRICOPULO, A. D.; OLIVA, G. Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas. **Estudos Avançados**, São Paulo, v. 24, n. 70, 2010

HOFMANN, K. *Imidazole and its derivatives*. **Interscience Publishers**, New York, 1953.

HOLBROOK, J. D.; SANSEAU, P. Drug discovery and computational evolutionary analysis. **Drug Discovery Today**, v. 12, n. 19-20, p. 826–832, out. 2007.

HUBER, P. C.; ALMEIDA, W. P.; FÁTIMA, Â. DE. Glutathione e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1170–1179, 2008.

IUPAC. *Compendium of Chemical Terminology*. **Blackwell Scientific Publications**, 1997.

IQVIA Institute. **Global Trends in R&D in 2023: Activity, Productivity and Enablers**, 2023. Disponível em: <https://www.iqvia.com/insights/the-iqvia-institute/reports-and-publications/reports/global-trends-in-r-and-d-2023>. Acesso em: 02 de dez. de 2023.

LANG, C. C.; MORELAND, T. A.; DAVEY, P. G. Bioavailability of cefuroxime axetil: comparison of standard and abbreviated methods. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 25, n. 4, p. 645–650, 1990.

LINARDI, Alessandra *et al.* **Farmacologia Essencial**. 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016. 439 p. ISBN 978-85-277-2715-0.

LOPES, R. *et al.* **Determinação de Parâmetros Físico-Químicos de derivados Triazólicos da Vanilina com potencial atividade farmacológica**. [s.l: s.n]. Disponível em: <https://www.ifmg.edu.br/sic/edicoes-antiores/resumos-2019/determinacao-de-parametros-fisico-quimicos-de-derivados-triazolicos-da-vanilina-com-potencial-atividade-farmacologica.pdf>. Acesso em 28 Nov. 2023

MARIANO, A. *et al.* O ensino de reações orgânicas utilizando química computacional: I. reações de adição eletrofílica a alcenos. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1243 - 1249, 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/VB47hFhRYDYDftGFvnWHd4q/?lang=pt>. Acesso em: 30 de mar. 2023.

MEC. Ministério da Educação. Resolução da Diretoria Colegiada - **RDC nº 6**, de 19 de Outubro de 2017, Institui as Diretrizes Curriculares Nacionais do Curso de Graduação em Farmácia e dá outras providências. Disponível em: <http://portal.mec.gov.br/docman/outubro-2017-pdf/74371-rces006-17-pdf/file>. Acesso em: 23 de nov. de 2023.

OLSEN, L. *et al.* SMARTCyp 3.0: enhanced cytochrome P450 site-of-metabolism prediction server. **Bioinformatics**, v. 35, n. 17, p. 3174–3175, 18 jan. 2019. Disponível em: <https://sci-hub.se/10.1093/bioinformatics/btz037>. Acesso em 27 nov. 2023.

PARISE FILHO, R. *et al.* Prodrugs available on the Brazilian pharmaceutical market and their corresponding bioactivation pathways. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 46, n. 3, p. 393–420, set. 2010.

PATRICK, G. L. **An Introduction to Medicinal Chemistry**. 3.ed. New York: Oxford University Press, 2005. p.713.

RODRIGUES, C.R.. Processos Modernos no Desenvolvimento de Fármacos: modelagem molecular. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, n 3: Química de Fármacos, p. 43 - 49, maio 2001. Disponível em: <http://qnesc.sbq.org.br/online/cadernos/03/modelag.pdf>. Acesso em: 30 mar. 2023.

RODRIGUES, G. S. *et al.* O uso de *softwares* livres em aula prática sobre filtros moleculares de biodisponibilidade oral de fármacos. **Química Nova**, v. 44, n. 8, p. 1036 - 1044.

Disponível em: [https://s3.sa-east-](https://s3.sa-east-1.amazonaws.com/static.sites.s bq.org.br/quimicanova.s bq.org.br/pdf/v44n8a12.pdf)

1.amazonaws.com/static.sites.s bq.org.br/quimicanova.s bq.org.br/pdf/v44n8a12.pdf. Acesso em: 30 mar. 2023.

RYDBERG, P. *et al.* *SmartCyp: a 2D method for Prediction of Cytochrome P-450-Mediated Drug Metabolism*. **ACS Med Chem Lett**, vol 1, n 3, p: 96 - 103. 2010.

SULLIVAN, K. P *et al.* *Economic Impacts of the Research Collaboratory for Structural Bioinformatics (RCSB) Protein Data Bank*. **Rutgers Office of Research Analytics**, 2017.

Disponível em: [https://cdn.rcsb.org/rcsb-](https://cdn.rcsb.org/rcsb-pdb/general_information/about_pdb/Economic%20Impacts%20of%20the%20PDB.pdf)

pdb/general_information/about_pdb/Economic%20Impacts%20of%20the%20PDB.pdf.

Acesso em: 16 de nov. 2023.

NEHME *et al.* *AutoDock and AutoDockTools for Protein-Ligand Docking: Beta-Site Amyloid Precursor Protein Cleaving Enzyme 1(BACE1) as a Case Study*, **Methods in molecular biology**, vol 1598, p - 391 - 403, 2017. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28508374/>. Acesso em: 29 abr. 2023.

RAPPÉ, A. K. *et al.* Uff, a full periodic table force field for molecular mechanics and molecular dynamics simulations. **Journal of the American chemical society**, ACS Publications, v. 114, n. 25, p. 10024–10035, 1992. 19, 25, 32

SWISS INSTITUTE OF BIOINFORMATICS, SwissADME, 2023. Disponível em: <http://www.swissadme.ch/index.php>, acesso em: 29 abr. 2023.

SCHYMAN, P., R. *et al.* vNN web server for ADMET predictions. **Frontiers in Pharmacology**, v.8, n 889, 2017. Disponível em:

https://bhsai.org/pubs/Schyman_2017_vNN_Web_Server_for_ADMET.pdf, acesso em 29 abr. 2023.

SILVA, R. *et al.* Planejamento de Fármacos contra COVID 19: uma experiência de ensino remoto de Química Farmacêutica.. **Química Nova**, 2023.

TANTILLO DEAN J. **Applied Theoretical Organic Chemistry**. [s.l.] *World Scientific*, 2018.

TAVARES, M. T. *et al.* INTERAÇÕES FÁRMACO-RECEPTOR: APLICAÇÕES DE TÉCNICAS COMPUTACIONAIS EM AULA PRÁTICA SOBRE A EVOLUÇÃO DOS INIBIDORES DA ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA. **Química Nova**, v. 38, p. 1117–1124, 1 set. 2015.

TROTT, O.; OLSON, A. J. *AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading*. **Journal of Computational Chemistry**, v. 31, n. 2, p. NA-NA, 2009.

VALLAT, B. *et al.* ModelCIF: An Extension of PDBx/mmCIF Data Representation for Computed Structure Models. **Journal of Molecular Biology**, v. 435, n. 14, p. 168021–168021, 1 jul. 2023.

VELANKAR, S. *et al.* *The Protein Data Bank Archive*. **Methods in molecular biology**, p. 3–21, 1 jan. 2021.

WERMUTH, C.G. *et al.* *Glossary of terms used in medicinal chemistry*. **IUPAC recommendations**, vol 70, n 5, p : 1129 - 1143, 1998.

ZASTROW, M.V.. *In*: KATZUNG, B. G.; TREVOR, A. J.. **Farmacologia básica e clínica**. Porto Alegre: McGraw-Hill, 2017. p.16-35.

ZHANG, J. *et al.* Toxic Effects of Cephalosporins with Specific Functional Groups as Indicated by Zebrafish Embryo Toxicity Testing. **Chemical Research in Toxicology**, v. 26, n. 8, p. 1168–1181, 30 jul. 2013.