



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DE MATERIAIS



Estudo de Docking Molecular de Inibidores da Bcr-Abl Tirosina Quinase na Leucemia Mieloide Crônica (LMC): Imatinibe e seus Derivados

José Dorenildo Florencio de Oliveira

Mossoró, RN
Agosto de 2022

José Dorenildo Florêncio de Oliveira

**Estudo de Docking Molecular de Inibidores da
Bcr-Abl Tirosina Quinase na Leucemia Mieloide
Crônica (LMC): Imatinibe e seus Derivados**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (PPgCEM) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Campus Mossoró como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais.

Orientador(a): Profa. Dra. Eveline Matias Bezerra

Co-orientador(a): Prof. Dr. Roner Ferreira da Costa Co-orientador

Mossoró, RN
Agosto de 2022

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

048e Oliveira, José Dorenildo Florencio de.
 Estudo de docking molecular de inibidores da
 Bcr-Abl tirosina quinase na leucemia mieloide
 crônica (LMC): imatinibe e seus derivados / José
 Dorenildo Florencio de Oliveira. - 2022.
 113 f. : il.

 Orientador: Eveline Matias Bezerra.
 Coorientador: Roner Ferreira da Costa.
 Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal
 Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
 Ciência e Engenharia de Materiais, 2022.

 1. Leucemia mieloide crônica. 2. Bcr-Abl
 tirosina quinase. 3. Pirido[2,3-d]pirimidina. 4.
 Docking molecular. I. Bezerra, Eveline Matias,
 orient. II. Costa, Roner Ferreira da, co-orient.
 III. Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade
com AACR2 e os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência
Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva
CRB: 15/120

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

José Dorenildo Florencio de Oliveira

**Estudo de Docking Molecular de Inibidores da
Bcr-Abl Tirosina Quinase na Leucemia Mieloide
Crônica (LMC): Imatinibe e seus Derivados**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (PPgCEM) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Campus Mossoró como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais.

Aprovada em 31 de agosto de 2022 pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:



Prof. Dra. Eveline Matias Bezerra (orientadora)
Universidade Federal Rural do Semi-Árido, UFERSA



Prof. Dr. Roner Ferreira da Costa (co-orientador)
Universidade Federal Rural do Semi-Árido, UFERSA



Prof. Dr. Valder Nogueira Freire
Universidade Federal do Ceará, UFC

Agradecimentos

À minha orientadora professor (a) Eveline Matias Bezerra pelas consideráveis contribuições e por toda a credibilidade dedicados durante cada etapa deste trabalho.

Ao co-orientador professor Roner Ferreira da Costa pelos conhecimentos transmitidos, pela dedicação e por estar sempre disponível para contribuir durante todo o período do mestrado.

À minha querida companheira Camila Cibelle por compreender minha dedicação à pesquisa e pela paciência durante todo este período de dificuldades.

Aos colegas servidores da UFERSA Roniere Alves Moreira, Marcelo Nascimento de Moraes, Eduardo Araújo de Medeiros, Francisco Vinícius Lopes Costa, Cláudio de Souza Rocha e ao amigo Leandro (Bob) pelo apoio técnico e pela ajuda com a instalação de softwares.

Ao meu estimado irmão José Duvilardo Florencio de Oliveira pelo suporte fornecido com sua experiência nos conteúdos de farmácia e bioquímica para o desenvolvimento deste trabalho.

À Universidade Federal Rural do Semi-Árido por permitir que seus servidores estejam sempre à nossa disposição, pelos excelentes laboratórios e por toda estrutura de pesquisa na área de modelagem molecular.

Resumo

A leucemia mieloide crônica (LMC) é uma doença mieloproliferativa clonal caracterizada por esplenomegalia, leucocitose e pela presença do cromossomo Philadelphia, o que ocasiona a manifestação do gene híbrido denominado Bcr-Abl. Com a expressão do gene Bcr-Abl ocorre a produção da proteína Bcr-Abl tirosina quinase, a qual é responsável pela amplificação das vias de sinalização reguladoras do processo hematopoiético. Atualmente, o mesilato de imatinibe é considerado como o tratamento de primeira linha para a leucemia mieloide crônica, mas o desenvolvimento de resistência ao fármaco tem se tornado cada vez mais preocupante. Assim, se faz necessário a busca por novas moléculas para o tratamento da LMC. Análogos da classe das pirido[2,3-d]pirimidinas têm se apresentado como potentes inibidores da proteína Bcr-Abl tirosina quinase. Na pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos, devido aos altos custos econômicos dos métodos experimentais de pesquisa, os métodos computacionais tornaram-se um elemento fundamental. O método computacional de docking molecular é utilizado para prever a conformação e orientação do ligante dentro do sítio de ligação do receptor. Utilizando as ferramentas AutoDock Vina e DockThor, este trabalho realizou o docking molecular de dezenove compostos derivados da pirido[2,3-d]pirimidina e a proteína Bcr-Abl tirosina quinase com a finalidade de estimar a energia de ligação do complexo receptor-ligante, bem como as interações intermoleculares existentes no complexo. O estudo realizado a partir dos scores do docking sugere que os compostos M04, M08 e M17 obtiveram as melhores energias de interação intermolecular, indicando que são potenciais candidatos a medicamento para o tratamento da LMC. Logo, a escolha destes compostos está de acordo com os resultados de IC_{50} obtidos da literatura, que indicam a molécula M08 com a melhor potência de inibição entre os derivados de pirido [2,3-d] pirimidina-7-ona. Estes resultados podem servir como ponto de partida para estudos experimentais e/ou *in silico* baseado na relação estrutura atividade dessas moléculas e seus possíveis derivados.

Palavras-chave: leucemia mieloide crônica, Bcr-Abl tirosina quinase, pirido[2,3-d]pirimidina, docking molecular.

Abstract

The chronic myeloid leukemia (CML) is a clonal myeloproliferative disease characterized by splenomegaly, leukocytosis and by the presence of chromosome Philadelphia, this causes the manifestation of the hybrid gene denominated Bcr-Abl. With the expression of the Bcr-Abl gene, the production of the Bcr-Abl tyrosine kinase protein occurs, which is responsible for the amplification of the regulatory signaling pathways of the hematopoietic process. Currently, imatinib mesylate is considered to be the first-line treatment for chronic myeloid leukemia, but the development of drug resistance has become of increasing concern. Thus, it is necessary the search for new molecules to the treatment of CML. Analogs of the pyrido[2,3-d]pyrimidin class have been shown to be potent inhibitors of the Bcr-Abl protein tyrosine kinase. In the research and development of new drugs, due to the high economic costs of experimental research methods, computational methods have become a fundamental element. The computational method of molecular docking is used to predict the conformation and orientation of the ligand within the binding site of the receptor. Using the AutoDock Vina and DockThor tools, this work performed the molecular docking of nineteen compounds derived from pyrido[2,3-d]pyrimidin and the Bcr-Abl tyrosine kinase protein in order to estimate the binding energy of the receptor-ligand complex, as well as the intermolecular interactions existing in the complex. The study performed from the docking scores suggest that the components M04, M08 and M17 obtained the best intermolecular interaction energies, indicating that they are potential drug candidates for the treatment of CML. Therefore, the choice of these compounds is in accordance with the IC_{50} results obtained in the literature, which indicate the M08 molecule with the best inhibition potency among the derivatives of pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-one. These results can serve as a starting point for experimental and/or in silico studies based on the structure-activity relationship of these molecules and their possible derivatives.

Keywords: chronic myeloid leukemia, Bcr-Abl tyrosine kinase, pyrido[2,3-d] pyrimidin, molecular docking.

Sumário

Sumário	i
Lista de Figuras	iv
Lista de Tabelas	xi
1 Introdução	1
Lista de Símbolos e Abreviaturas	1
2 Referencial Teórico	3
2.1 Leucemia Mieloide Crônica	3
2.2 Inibidores de Tirosina Quinase	4
2.3 Modelagem Molecular	6
2.4 Docking molecular	7
2.4.1 Cálculo do RMSD	9
2.4.2 Algoritmos de busca	9
2.4.3 Funções de pontuação	11
2.4.4 AutoDock Vina	14
2.4.5 DockThor	14
3 Metodologia	16
3.1 Preparando o Arquivo do Ligante	16
3.2 Preparando o arquivo da proteína	18

3.3	Docking Molecular	26
3.3.1	AutoDock Vina	27
3.3.2	DockThor	29
4	Resultados e Discussão	31
4.1	Análise do RMSD	31
4.2	Análise da previsão de afinidade (score)	32
4.3	Análise das interações intermoleculares	35
4.3.1	Complexo com o ligante M01	35
4.3.2	Complexo com o ligante M02	36
4.3.3	Complexo com o ligante M03	38
4.3.4	Complexo com o ligante M04	40
4.3.5	Complexo com o ligante M05	42
4.3.6	Complexo com o ligante M06	44
4.3.7	Complexo com o ligante M07	46
4.3.8	Complexo com o ligante M08	48
4.3.9	Complexo com o ligante M09	50
4.3.10	Complexo com o ligante M10	52
4.3.11	Complexo com o ligante M11	54
4.3.12	Complexo com o ligante M12	56
4.3.13	Complexo com o ligante M13	58
4.3.14	Complexo com o ligante M14	60
4.3.15	Complexo com o ligante M15	62
4.3.16	Complexo com o ligante M16	64
4.3.17	Complexo com o ligante M17	68
4.3.18	Complexo com o ligante M18	69
4.3.19	Complexo com o ligante M19	71

4.3.20	Complexo com o ligante IMB	73
4.3.21	Complexo com o ligante DSB	75
4.3.22	Discutindo as interações hidrofóbicas	77
4.3.23	Discutindo as interações eletrostáticas com anéis aromáticos . . .	79
4.3.24	Discutindo as ligações de hidrogênio	79
5	Conclusões e Perspectivas	85
	Referências bibliográficas	87
A	ANEXOS	92
A.1	Interações intermoleculares obtidas no AutoDock Vina	92

Lista de Figuras

Figura 2.1 —	Translocação do cromossomo Philadelphia.	4
Figura 2.2 —	Representação do processo de docking molecular. (A) Estrutura 3D do ligante PD166326 (B) Estrutura 3D da proteína Bcr-Abl tirosina quinase. (C) Resultado do docking, com as poses obtidas do ligante, no local do sítio de ligação do receptor. (D) Interações intermoleculares da melhor pose do ligante, no local do sítio de ligação da proteína.	8
Figura 3.1 —	Fluxograma mostrando a metodologia utilizada neste trabalho para o docking molecular.	17
Figura 3.2 —	Estrutura química dos derivados de pirido [2,3-d] pirimidina-7-ona com a representação das posições do carbono 3 e carbono 4 na fração fenilamina.	17
Figura 3.3 —	Estrutura molecular bidimensional e estrutura otimizada dos seguintes compostos ligantes: de M01 até M04.	19
Figura 3.4 —	Estrutura molecular bidimensional e estrutura otimizada dos seguintes compostos ligantes: de M05 até M08.	20
Figura 3.5 —	Estrutura molecular bidimensional e estrutura otimizada dos seguintes compostos ligantes: de M09 até M12.	21
Figura 3.6 —	Estrutura molecular bidimensional e estrutura otimizada dos seguintes compostos ligantes: de M13 até M15.	22

Figura 3.7 —	Estrutura molecular bidimensional e estrutura otimizada dos compostos ligantes M16 e M17.	23
Figura 3.8 —	Estrutura molecular bidimensional e estrutura otimizada dos compostos ligantes M18 e M19.	24
Figura 3.9 —	Estrutura molecular bidimensional e estrutura otimizada dos compostos ligantes imatinibe e desatinibe.	25
Figura 3.10 —	Estrutura da proteína Bcr-Abl tirosina quinase com código PDB 1OPK, sem o ligante PD166326, após estar preparada para o docking.	26
Figura 3.11 —	Representação do complexo receptor-ligante (proteína com código PDB 1OPK e ligante PD166326) com sua grid box, para docking realizado com o AutoDock Vina.	28
Figura 3.12 —	Representação da grid box, para o docking calculado com o DockThor.	30
Figura 4.1 —	Representação do procedimento de redocking, com a molécula do ligante M01 co-cristalizado sobreposto ao ligante M01, calculado com o DockThor.	32
Figura 4.2 —	Representação das melhores poses obtidas por docking, de todos os complexos receptor-ligante calculados no DockThor. . .	33
Figura 4.3 —	Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M01 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	37
Figura 4.4 —	Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M02 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	39

Figura 4.5 –	Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M03 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	41
Figura 4.6 –	Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M04 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	43
Figura 4.7 –	Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M05 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	45
Figura 4.8 –	Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M06 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	47
Figura 4.9 –	Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M07 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	49
Figura 4.10 –	Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M08 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	51
Figura 4.11 –	Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M09 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	53
Figura 4.12 –	Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M10 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	55
Figura 4.13 –	Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M11 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	57

Figura 4.14 — Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M01 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	59
Figura 4.15 — Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M13 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	61
Figura 4.16 — Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M14 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	63
Figura 4.17 — Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M15 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	65
Figura 4.18 — Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M16 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	67
Figura 4.19 — Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M17 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	70
Figura 4.20 — Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M18 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	72
Figura 4.21 — Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M19 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	74
Figura 4.22 — Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante imatinibe em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	76

Figura 4.23 —	Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante desatinibe em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	78
Figura 4.24 —	Gráfico mostrando o comportamento dos valores de score e IC ₅₀ para todos os ligantes analisados.	81
Figura A.1 —	Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M01, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	95
Figura A.2 —	Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M02, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	96
Figura A.3 —	Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M03, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	97
Figura A.4 —	Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M04, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	98
Figura A.5 —	Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M05, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	99
Figura A.6 —	Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M06, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	100
Figura A.7 —	Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M07, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	101

Figura A.8 –	Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M08, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	102
Figura A.9 –	Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M09, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	103
Figura A.10 –	Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M10, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	104
Figura A.11 –	Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M11, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	105
Figura A.12 –	Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M12, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	106
Figura A.13 –	Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M13, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	107
Figura A.14 –	Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M14, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	108
Figura A.15 –	Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M15, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	109
Figura A.16 –	Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M16, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	110

Figura A.17 – Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M17, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	111
Figura A.18 – Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M18, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	112
Figura A.19 – Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M19, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	113
Figura A.20 – Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante imatinibe, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	114
Figura A.21 – Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante desatinibe, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.	115

Lista de Tabelas

Tabela 4.1 —	Descrição dos valores de IC_{50} , do RMSD, do score e das energias de interação intermolecular para cada ligante analisado por docking.	34
Tabela 4.2 —	Representação da quantidade por tipo de aminoácido, para cada ligante analisado por docking.	82
Tabela 4.3 —	Representação das ligações de hidrogênio, obtido com as melhores poses de docking no DockThor.	83
Tabela 4.4 —	Representação da quantidade de interações intermoleculares de cada ligante, obtido por docking no DockThor.	84

Capítulo 1

Introdução

A palavra câncer vem do grego *karkinos*, que significa caranguejo, e foi utilizada a primeira vez por Hipócrates, considerado o pai da Medicina. Câncer é um nome genérico dado a um conjunto de mais de 100 doenças que têm em comum o crescimento desordenado de células [1]. A essa forma de crescimento celular não controlado, em que existe uma proliferação anormal de tecido, que foge total ou parcialmente ao controle do organismo e tende à autonomia e à perpetuação, dá-se ao nome de neoplasia ou tumor [2].

De acordo com os dados da estimativa mundial, ano 2018, ocorreram no mundo 18 milhões de novos casos de câncer e 9,6 milhões de óbitos. Sendo o câncer de pulmão o mais incidente no mundo (2,1 milhões) seguido pelo câncer de mama (2,1 milhões), cólon e reto (1,8 milhões) e próstata (1,3 milhões). A incidência em homens (9,5 milhões) representa 53% dos novos casos, sendo um pouco maior que nas mulheres, com 8,6 milhões (47%). Sendo as taxas de incidência: 204 por 100 mil em homens e 175,6 por 100 mil em mulheres [3].

Caso o câncer tenha origem nas células da medula óssea, esta patologia denomina-se leucemia. O tipo de leucemia depende do tipo de célula sanguínea afetada que se torna cancerígena. As quatro principais formas de leucemia são: leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia mieloide crônica (LMC), leucemia linfocítica aguda (LLA) e leucemia linfocítica crônica (LLC) [4].

A estimativa mundial mostra que ocorreram 249 mil novos casos de leucemia, sendo

o décimo tumor mais incidente entre todos os cânceres. Com risco estimado de 6,5/100 mil entre homens e de 5,0/100 mil entre as mulheres [4].

Correspondendo a significativa parcela de 15 a 20% de todas as leucemias, a leucemia mieloide crônica (LMC) apresenta uma incidência mundial de um a dois casos em cada 100 mil indivíduos [5]. Foram estimados em 2017, nos Estados Unidos, 8950 novos diagnósticos e cerca de 1080 mortes relacionadas à doença. No Brasil, estima-se para o triênio 2020 – 2022, a incidência de 10810 novos casos diagnosticados de leucemias por ano e, deduzindo de dados históricos anuais do SUS, a LMC deve representar um valor de 10% destes casos [6].

A LMC é uma neoplasia hematológica caracterizada por uma expansão clonal de uma célula tronco pluripotente com capacidade de se diferenciar em células de linhagens mieloide, linfocítica, monocítica e megacariocítica. Apresentando maior frequência em adultos (faixa etária de 40 a 60 anos), principalmente no sexo masculino. O principal fator de risco para desenvolvimento da LMC é a exposição à radioatividade. Existe uma forte associação entre a expressão do cromossomo Philadelphia e o desenvolvimento de LMC, podendo chegar a aproximadamente 90 a 95% dos casos [5].

Capítulo 2

Referencial Teórico

2.1 Leucemia Mieloide Crônica

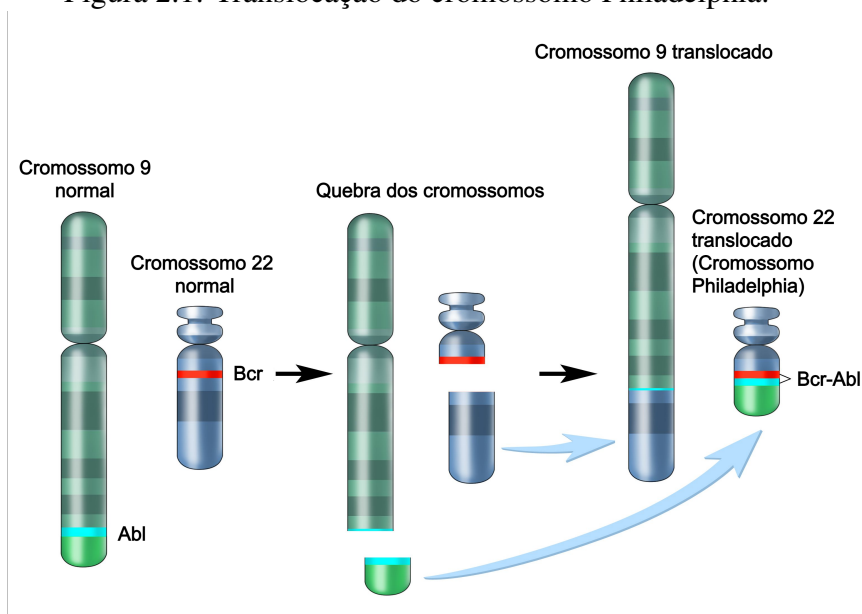
A leucemia mieloide crônica (LMC) é uma doença mieloproliferativa clonal, caracterizada por esplenomegalia, leucocitose e pela presença do cromossomo Philadelphia [7]. Ela foi a primeira neoplasia descrita que demonstrava uma relação específica entre uma anormalidade cromossômica [8].

A leucemia mieloide crônica surge como consequência da transformação neoplásica de uma célula tronco hematopoiética. Portanto, ela é caracterizada pela presença de uma anormalidade genética conhecida como cromossomo Philadelphia, resultante da translocação entre os cromossomos 9 e 22, $t(9;22)(q34;q11)$, ver figura 2.1. Consequentemente, o gene de fusão Bcr-Abl é gerado à partir dessa translocação genética [9].

Cerca de 95% dos casos de LMC é decorrente da translocação recíproca entre os cromossomos 9 e 22 resultando no cromossomo Philadelphia (Ph), em que ocorre a expressão de um gene híbrido denominado gene Bcr-Abl, devido a junção do gene Bcr vindo do cromossomo 22 e do gene Abl do cromossomo 9. A expressão do gene Bcr-Abl produz uma proteína quimérica com atividade de tirosina-quinase anormal (proteína Bcr-Abl tirosina quinase), o que ocasiona a amplificação das vias de sinalização reguladoras do processo hematopoiético, induzindo a medula óssea a proliferar excessivamente clones da linhagem mieloide [7].

As proteínas tirosina quinase são responsáveis pela transferência do grupo fosfato do

Figura 2.1: Translocação do cromossomo Philadelphia.



Fonte: Adaptado de [10].

ATP para os resíduos de tirosina de substratos proteicos, sendo portanto fundamentais para o processo de transdução de sinal [11]. Portanto, várias vias de sinal podem ser estimuladas por essa proteína, podendo levar à proliferação celular descontrolada e supressão da apoptose. Com todas essas descobertas, a Bcr-Abl tirosina quinase torna-se o alvo principal para o planejamento de novos fármacos para o tratamento da LMC [12].

2.2 Inibidores de Tirosina Quinase

Atualmente, o mesilato de imatinibe é considerado o tratamento de primeira linha para a LMC. Ele age como inibidor seletivo da proteína Bcr-Abl, através da competição pelo sítio de ligação de ATP da tirosina-quinase, bloqueando a fosforilação de substratos relacionados à regulação do ciclo celular, reativando o mecanismo da morte celular [5]. Entretanto, o desenvolvimento de resistência ao fármaco tem se tornado cada vez mais preocupante. A resistência ao imatinibe pode ocorrer através dos mecanismos de mutações na região do sítio catalítico da proteína no gene Bcr-Abl, incapacidade de manter

concentrações adequadas de fármaco na célula e/ou duplicação do cromossomo Philadelphia [13, 5].

O esquema terapêutico preconizado no Brasil para LMC utiliza o mesilato de imatinibe (Gleevec, $C_{29}H_{31}N_7O$, DrugBank DB00619) como primeira linha. Em caso de falha terapêutica ou toxicidade importante a este tratamento, preconiza-se, como segunda linha terapêutica, o dasatinibe (Sprycel, $C_{22}H_{26}ClN_7O_2S$, DrugBank DB01254) ou o nilotinibe (Tasigna, $C_{28}H_{22}F_3N_7O$, DrugBank DB04868), fármacos inibidores de tirosina-quinase (ITQ) de segunda geração. No caso de falha terapêutica ou toxicidade insuperável deste segundo esquema, deve-se levar em consideração o ITQ de segunda linha utilizado e o perfil de resistência observado ou considerar o transplante de células tronco hematopoéticas alogênico, preferencialmente o transplante de medula óssea (BRASIL, PCDT LMC, 2021).

Embora uma resposta inicial e importante possa ser alcançada com o uso do fármaco imatinibe, alguns casos de resistência podem ser desenvolvidos em fases avançadas da LMC principalmente por causa do aparecimento de mutações no gene Bcr-Abl, resultando em falhas terapêuticas. Desta forma, novos agentes capazes de superar a resistência ao imatinibe, bem como a outros inibidores da Bcr-Abl, se tornam necessários para um efetivo tratamento da LMC [14].

Assim como o grupo das 2-fenilaminopirimidinas, que têm como principal exemplo o inibidor da proteína tirosina-quinase, imatinibe, substâncias da classe das pirido[2,3-d]pirimidinas têm se mostrado como potentes inibidores da Bcr-Abl tirosina-quinase [15].

Em estudo comparativo de potência farmacológica *in vitro* entre seis substâncias análogas das pirido[2,3-d]pirimidinas, observou-se que o composto PD166326 foi o mais potente inibidor da proteína Bcr-Abl tirosina-quinase [16, 17]. Em estudo *in vivo*, utilizando camundongos, verificou-se que o composto PD166326 apresentou atividade anti-leucêmica superior ao imatinibe [15].

Considerando que o composto PD166326 e outros derivados das pirido[2,3-d] pirimi-

dinas têm demonstrado atividade antileucêmica e atividade inibitória da proteína Bcr-Abl tirosina-quinase, decidiu-se por estudar a relação estrutura-atividade dos derivados de 2-(fenilamino)pirido[2,3-d]primidina-7-ona, conhecidos como análogos do PD166326. Antczak e colaboradores [14] obtiveram, através de modelagem molecular, síntese e relação estrutura atividade, uma biblioteca com 19 análogos do composto PD166326. O estudo revelou que substituições nas posições 3 e 4 da porção fenilamino levam a aumento de potência e seletividade na terapia direcionada ao tratamento da LMC.

2.3 Modelagem Molecular

A modelagem da estrutura molecular por simulação computacional surgiu como uma alternativa aos métodos experimentais, devido aos avanços tecnológicos, à diminuição dos custos computacionais e principalmente após o desenvolvimento de algoritmos que apresentam um equilíbrio adequado entre velocidade e precisão [18, 19].

As pesquisas na indústria farmacêutica se aproximam cada vez mais das simulações computacionais na química medicinal moderna, utilizando as ferramentas da modelagem molecular no estudo das relações estrutura-atividade [20]. Os métodos utilizados nos estudos de modelagem molecular são classificados em métodos clássicos, que compreendem a mecânica molecular e a dinâmica molecular, e métodos quânticos, os quais são composto pelos cálculos *ab initio* e semi-empírico [21].

Em sistemas muito grandes, como macromoléculas, que têm sua estrutura determinada pelas interações não covalentes, o método computacional mais utilizado é a mecânica molecular. Apesar da mecânica molecular proporcionar uma descrição bastante confiável da estrutura e energia desses sistemas, esse método é limitado pelo fato de não envolver os efeitos quânticos, como a transferência de elétrons e a formação de uma ligação covalente [22]. Dessa forma, todas essas limitações da mecânica molecular são resolvidas pelos métodos da mecânica quântica, que demandam um maior custo compu-

tacional, limitando-se, portanto, ao cálculo de sistemas com centenas de átomos [22].

Os métodos semi-empíricos conseguem um equilíbrio adequado entre precisão e custo computacional, podendo ser aplicados em sistemas com milhares de átomos, como as proteínas [22], por exemplo. Apesar dos métodos semi-empíricos serem considerados uma poderosa ferramenta para os cálculos de qualquer sistema biomolecular, eles apresentam várias limitações quanto à descrição das interações não covalentes [23]. Dessa forma, a escolha do método que deve ser aplicado depende das propriedades que se pretende avaliar, da precisão desejada e do custo computacional disponível para executar o cálculo [21].

2.4 Docking molecular

Com o desenvolvimento dos primeiros algoritmos na década de 80, o docking molecular tornou-se uma das principais ferramentas no processo de descoberta de novos fármacos [24]. O termo docking molecular, ou apenas docking, é usado para descrever um método computacional que tenta encontrar a melhor conformação existente entre a molécula de um receptor com um ligante [25]. Dessa forma, é um dos métodos baseados em estrutura mais utilizados devido sua capacidade de previsão da conformação de pequenos ligantes dentro do sítio ativo do receptor [26].

O docking molecular é um procedimento de simulação computacional que serve para prever a estrutura de um complexo receptor-ligante, onde o receptor pode ser uma proteína ou um ácido nucleico, por exemplo, enquanto o ligante pode ser uma molécula pequena ou até mesmo outra proteína [27]. O docking molecular realiza uma previsão da afinidade de ligação de uma pequena molécula dentro do sítio de ligação do receptor [28], conforme mostrado na figura 2.2.

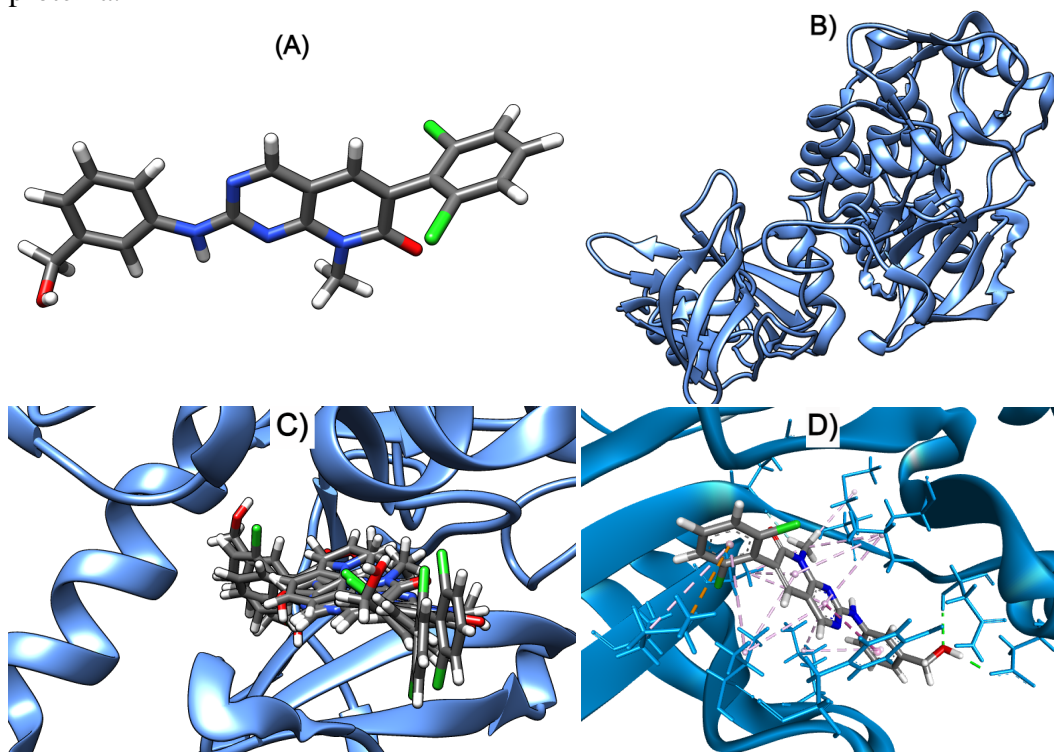
Considerando a flexibilidade do ligante ou do receptor, os algoritmos de docking são classificados em docking de corpo rígido e docking flexível. O docking de corpo rígido

despreza tanto a flexibilidade da molécula do ligante quanto a do receptor, sendo consideradas basicamente as conexões geométricas entre as duas moléculas, diminuindo dessa forma a precisão dos resultados [27].

O método de docking flexível permite que se obtenham várias conformações possíveis para a molécula do ligante ou para o receptor, como também para ambas as moléculas ao mesmo tempo, possuindo uma demanda de maior custo computacional [27].

O docking molecular também é utilizado para reproduzir poses obtidas experimentalmente, por meio de algoritmos de validação de docking, onde os complexos proteína-ligante obtidos por cálculo de docking são comparados com as estruturas obtidas por cristalografia de raio-X [27].

Figura 2.2: Representação do processo de docking molecular. (A) Estrutura 3D do ligante PD166326 (B) Estrutura 3D da proteína Bcr-Abl tirosina quinase. (C) Resultado do docking, com as poses obtidas do ligante, no local do sítio de ligação do receptor. (D) Interações intermoleculares da melhor pose do ligante, no local do sítio de ligação da proteína.



Fonte: Autoria própria, 2022.

2.4.1 Cálculo do RMSD

As melhores poses que foram obtidas pelo docking devem ser sobrepostas com as poses que foram obtidas da estrutura cristalizada, para fazer uma avaliação do cálculo do docking através da medida do RMSD [27]. O RMSD (desvio médio quadrático) é utilizado para medir a qualidade de reprodução da pose de ligação obtida experimentalmente, comparando uma pose obtida por docking com a pose do ligante co-cristalizado [29].

O cálculo do RMSD é realizado entre dois agrupamentos de coordenadas atômicas, um deles utiliza as coordenadas atômicas da estrutura que foi obtida por docking e o outro utiliza as coordenadas atômicas da estrutura cristalizada [27]. A comparação entre os dois grupos de coordenadas atômicas é realizada pelo cálculo do RMSD (desvio médio quadrático) entre eles, conforme descrito pela equação (2.1):

$$\text{RMSD} = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_{ai} - x_{bi})^2 + (y_{ai} - y_{bi})^2 + (z_{ai} - z_{bi})^2} \quad (2.1)$$

onde N é o número total de pares de átomos, (x_a, y_a, z_a) são as coordenadas atômicas da estrutura co-cristalizada e (x_b, y_b, z_b) são as coordenadas atômicas obtidas pelo cálculo do docking. Estudos obtidos da literatura para o RMSD entre as poses obtidas por docking e sua conformação co-cristalizada consideram que $2,0 \text{ \AA}$ é o valor limite para uma solução de encaixe correta [30, 31].

2.4.2 Algoritmos de busca

As duas principais operações utilizadas no cálculo do docking molecular são o algoritmo de busca e a função de pontuação [32].

Os algoritmos de busca procuram encontrar a melhor conformação para o complexo receptor-ligante, com o propósito de obter a energia de afinidade mínima do complexo [33]. Os algoritmos utilizados para tratar a flexibilidade do ligante podem ser classificados em três grupos: métodos sistemáticos, métodos aleatórios ou estocásticos e métodos de

simulação [33].

Os algoritmos de busca sistemática percorrem todas as conformações possíveis, explorando todos os graus de liberdade do ligante. O número de combinações possíveis aumenta exponencialmente, conforme aumentam os graus de liberdade do ligante [34]. Devido à busca por todas as conformações possíveis do ligante, esses algoritmos acabam enfrentando o problema da explosão combinatória [35].

Os métodos estocásticos realizam a busca conformacional através de modificações aleatórias produzidas na estrutura do ligante [36]. Essas modificações aleatórias podem ser aceitas ou rejeitadas, de acordo com o critério probabilístico utilizado [37]. Este método evita que a solução fique presa em um mínimo de energia local e aumenta a probabilidade de conseguir um mínimo global [34]. Entre os principais métodos estocásticos, destacam-se os métodos de Monte Carlo, os algoritmos evolutivos, os métodos de busca Tabu e os métodos de otimização swarm [37].

Os algoritmos evolutivos são métodos estocásticos baseados no processo de evolução dos sistemas biológicos que buscam a melhor conformação do ligante, tendo os algoritmos genéticos como os mais populares desse grupo [37]. Esses algoritmos utilizam a ideia de simular a evolução das espécies através dos processos de seleção natural, mutação e reprodução, dependendo do desempenho do indivíduo (conformação) dentro de um ambiente [38].

Os algoritmos evolutivos adotam aproximações computacionais (operadores genéticos) de processos naturais para aplicar numa simulação da permanência das características mais favoráveis [27]. Em um espaço amostral, onde existe uma rotina de busca com uma variedade de possíveis soluções, somente as soluções com melhor classificação permanecem para o ciclo seguinte de cálculo. Este processo se repete até que seja encontrada uma solução ótima [27].

Entre os métodos de simulação conhecidos atualmente, a dinâmica molecular é o procedimento mais utilizado. Essas simulações, na maioria das vezes, não conseguem ultra-

passar barreiras de alta energia dentro de períodos de simulação prováveis, acomodando os ligantes somente nos mínimos locais de energia [33]. Portanto, existem várias tentativas de simulação das diversas partes de um sistema receptor-ligante com diferentes temperaturas [39]. Além disso, outro procedimento para solucionar o problema dos mínimos locais é iniciar os cálculos de dinâmica molecular baseado nas diferentes posições do ligante [35].

2.4.3 Funções de pontuação

A função de pontuação faz uma avaliação da energia de afinidade entre o receptor e o ligante, classificando as melhores poses do complexo [40]. Além de classificar as posições do ligante na molécula alvo, a etapa de pontuação também faz o cálculo da energia de ligação do ligante ao receptor, obtendo uma medida da afinidade de ligação [41].

A previsão da energia de afinidade é realizada através da análise dos parâmetros físico-químicos mais importantes para o reconhecimento entre receptor e ligante, como as interações intermoleculares, os efeitos de solvatação e os efeitos entrópicos [42]. Dessa forma, quanto maior a quantidade de parâmetros físico-químicos avaliados, maior a precisão da função de pontuação. Entretanto, o custo computacional também aumenta proporcionalmente ao número de parâmetros envolvidos na função [34].

As interações intermoleculares envolvidas no reconhecimento do complexo receptor-ligante compreendem: interações iônicas, interações de Van der Waals, ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas, interações do tipo cátion- π , interações com anéis aromáticos do tipo π - π e do tipo empilhamento-T [43].

Considerando as coordenadas atômicas de um complexo receptor-ligante, as funções de pontuação podem fazer uma estimativa da energia livre de ligação ou da constante de ligação, utilizando uma variedade de técnicas [27]. A energia livre de ligação é represen-

tada pela equação de Gibbs-Helmholtz, conforme descrita pela equação (2.2):

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (2.2)$$

onde ΔG é a energia livre de ligação, ΔH é a entalpia, ΔS é a entropia e T é a temperatura em Kelvin. A relação da constante K_i com a energia livre de ligação ΔG é mostrada na equação (2.3):

$$\Delta G = -RT \ln K_i \quad (2.3)$$

onde K_i é a constante de ligação.

As funções de pontuação são divididas em funções de pontuação empíricas, funções de pontuação baseadas em campo de força e funções de pontuação baseadas em conhecimento [44].

Os campos de força da mecânica molecular normalmente calculam a soma da energia de interação receptor-ligante com a energia interna do ligante [35]. A maioria das funções baseadas em campo de força consideram somente uma conformação do receptor, sendo desnecessário calcular sua energia interna, o que simplifica muito essa função de pontuação. [35].

As funções baseadas em campo de força possuem grandes limitações com relação à previsão das contribuições entrópicas e de solvatação, devido à falta de um modelo físico razoável para descrever esses fenômenos [34].

As interações entre receptor e ligante são frequentemente representadas pelos termos de energia de Van der Waals e de energia eletrostática [35]. O termo de energia de Van der Waals é dado pelo potencial de Lennard-Jones [35], como está descrito na equação (2.4):

$$E_{vdW}(r) = \sum_{j=1}^N \sum_{i=1}^N 4\epsilon \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \quad (2.4)$$

onde ϵ é o poço de potencial, r_{ij} é a distância entre os átomos do receptor e do ligante e σ_{ij} é a distância (finita) em que o potencial interpartícula é zero. Os termos de energia eletrostática são representados pela formulação Coulombiana, com uma função dielétrica dependente da distância [35], como descrito na equação (2.5):

$$E_{coul}(r) = \sum_{i=1}^{N_A} \sum_{j=1}^{N_B} \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \quad (2.5)$$

onde q_i e q_j são as cargas atômicas, ϵ_0 é uma constante dielétrica e r_{ij} é a distância entre os átomos do receptor e do ligante.

As funções de pontuação empíricas são fundamentadas na reprodução de dados experimentais, através da soma de várias funções parametrizadas. Elas baseiam-se na ideia de que as energias de ligação conseguem se aproximar da soma dos termos individuais não correlacionados [35].

Nesse sentido, elas utilizam cada termo da função para descrever um fenômeno físico envolvido na formação do complexo receptor-ligante, como as ligações de hidrogênio, as interações iônicas, as interações apolares, além dos efeitos entrópicos e de solvatação [45]. Dessa forma, as funções de pontuação empíricas utilizam dados de afinidade de ligação de conhecimento experimental numa análise de regressão linear, para obter os coeficientes relacionados aos termos das funções [28].

As funções de pontuação baseadas em conhecimento são baseadas na reprodução de estruturas obtidas experimentalmente, em vez da reprodução das energias de ligação [35]. Assim, essas funções realizam uma análise estatística da interação entre pares de átomos de complexos receptor-ligante, obtidos a partir de bancos de dados estruturais [28]. Os dados dos pares de átomos são convertidos em um pseudopotencial, conhecido como potencial de força média, que reproduz as conformações preferidas dos pares de átomos do complexo [28].

Da mesma forma, essas funções de pontuação também conseguem armazenar impli-

citamente os efeitos de vinculação que são difíceis de modelar explicitamente [35]. A grande vantagem da função de pontuação baseada em conhecimento é sua simplicidade computacional, pois permite uma triagem eficiente de grandes bancos de dados compostos [35].

2.4.4 AutoDock Vina

O AutoDock Vina é uma ferramenta para docking molecular e triagem virtual, que foi projetado para ser compatível com o mesmo formato de arquivo do AutoDock, utilizando a extensão PDBQT. Além disso, esse formato também é compatível com outras ferramentas auxiliares, como o AutoDock Tools, que tem a função de preparar os arquivos, escolher o espaço de pesquisa e visualizar os resultados [46].

A função de pontuação utilizada no AutoDock Vina combina algumas vantagens da pontuação baseada em conhecimento com a função de pontuação empírica, obtendo informações empíricas tanto das escolhas conformacionais do complexo quanto dos dados de afinidade obtidos experimentalmente [46].

No desenvolvimento do AutoDock Vina, foram testados vários métodos de otimização global como GA, PSO e SA, no entanto, o AutoDock Vina definiu como algoritmo de busca o Iterated Local Search (Busca Local Repetida). Este algoritmo utiliza uma sucessão de passos que compreendem uma mutação e uma otimização local, onde cada passo é aceito de acordo com o critério Metropolis [46].

2.4.5 DockThor

O programa DockThor utiliza um formato de arquivo específico para o ligante e para o receptor, que contém os tipos de átomos e cargas parciais utilizados no campo de força MMFF94S. Com isso, tanto o ligante quanto o receptor são trabalhados com o mesmo campo de força durante o docking molecular [47].

A função de pontuação utilizada pelo DockThor é baseada na energia total, definida como a soma dos termos do campo de força MMFF94S. Esses termos compreendem a energia de interação intermolecular (soma dos potenciais de Van der Waals com os potenciais eletrostáticos), energia de interação intramolecular (soma dos potenciais de Van der Waals e eletrostáticos) e termo de torção do ligante [47].

O método de busca adotado pelo DockThor utiliza um algoritmo genético de estado estacionário de solução múltipla, baseado em aglomeração fenotípica. Dessa forma, a substituição parental utiliza o Seleção de Torneio Restrito Modificado Dinamicamente (DMRTS), que realiza a identificação de múltiplas soluções de mínimos em uma única corrida, mantendo a diversidade populacional das estruturas geradas [47].

Capítulo 3

Metodologia

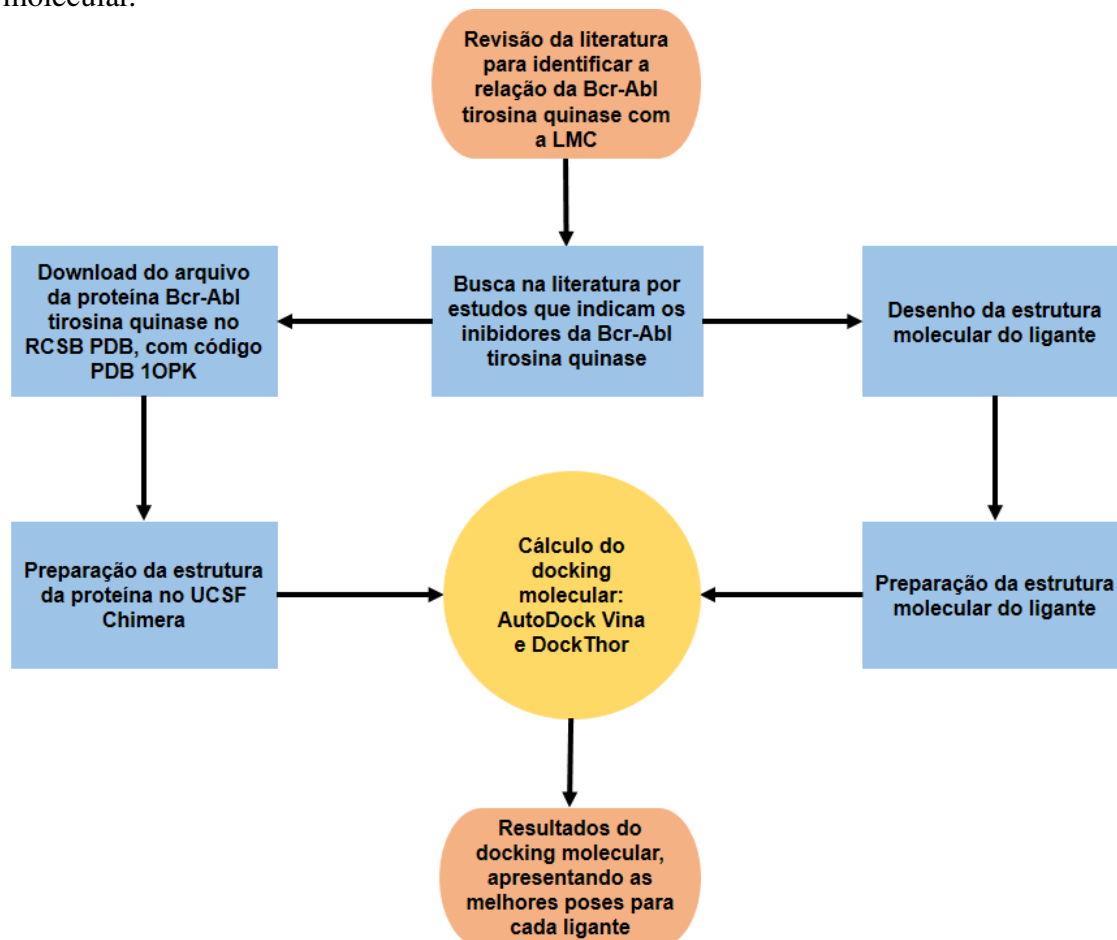
A metodologia utilizada neste trabalho foi fundamentada no estudo do método de docking molecular, utilizando as ferramentas AutoDock Vina [46] e DockThor [47] para a obtenção dos cálculos de docking. Primeiramente, a estrutura molecular dos ligantes foi desenhada no software ACD/ChemSketch [48], para ser otimizada, em seguida, com o programa Avogadro [49].

Após a preparação do ligante, o arquivo da proteína foi baixado no banco de dados RCSB PDB [50] para ser preparado, na sequência, com o programa UCSF Chimera [51]. Com a preparação dos arquivos do ligante e do receptor, o próximo passo foi a realização do docking molecular, que foi obtido a partir das ferramentas AutoDock Vina e DockThor. A Figura 3.1 mostra um fluxograma com a metodologia que foi utilizada neste trabalho.

3.1 Preparando o Arquivo do Ligante

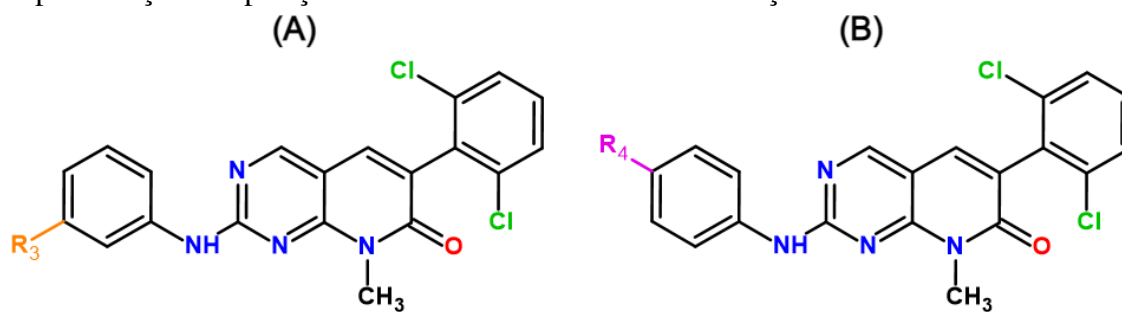
A escolha da estrutura molecular de todos os ligantes utilizados neste trabalho foi fundamentada em estudo da literatura [14], onde foram sintetizados os 19 compostos derivados de pirido[2,3-d]pirimidina-7-ona que seriam estudados. Cada composto molecular possui um grupo substituinte na posição do carbono 3 (Figura 3.2 A) ou carbono 4 (Figura 3.2 B) da fração fenilamina, resultando em compostos com maior potência e seletividade para o tratamento da leucemia mieloide crônica [14].

Figura 3.1: Fluxograma mostrando a metodologia utilizada neste trabalho para o docking molecular.



Fonte: Autoria própria, 2022.

Figura 3.2: Estrutura química dos derivados de pirido [2,3-d] pirimidina-7-ona com a representação das posições do carbono 3 e carbono 4 na fração fenilamina.



Fonte: Autoria própria, 2022.

Após a escolha da molécula dos ligantes que seriam estudados, a estrutura molecular bidimensional de todos esses compostos foi desenhada utilizando a ferramenta para construção de estruturas ChemSketch, como mostram as Figuras 3.3 à 3.9. Dessa forma, o código SMILES dessas estruturas foi encontrado para, em seguida, obter sua estrutura tridimensional utilizando o banco de dados de moléculas PubChem [52].

Em seguida, a geometria dessas moléculas foi otimizada utilizando o programa de dinâmica molecular Avogadro [49]. Essa geometria foi otimizada com o campo de força da mecânica molecular MMFF94 (mais adequado para moléculas orgânicas), obtendo-se, portanto, uma conformação com o mínimo de energia adequado para cada ligante. Com isso, a molécula dos ligantes estava preparada para o docking molecular, conforme é mostrado pelas Figuras 3.3 à 3.9.

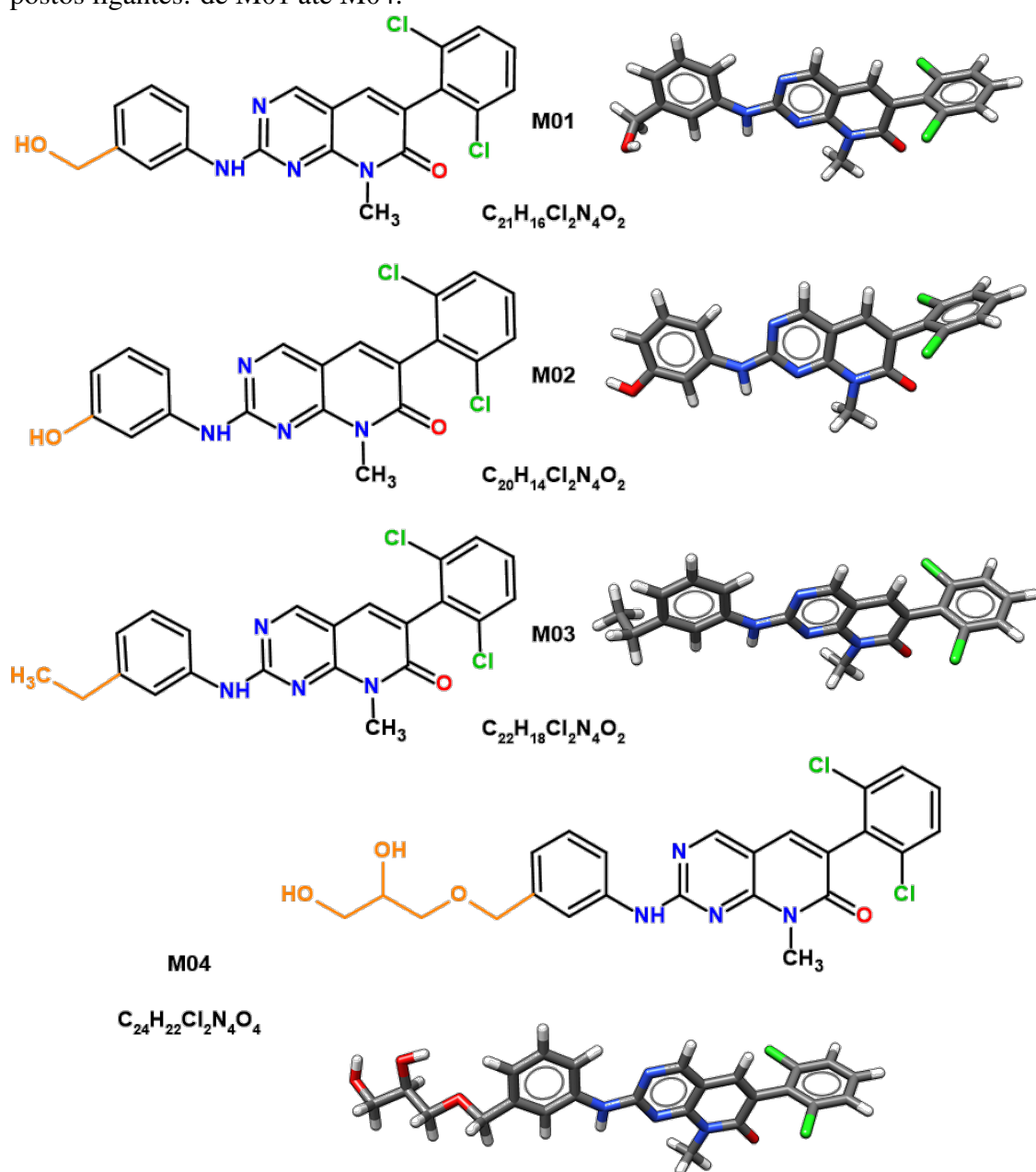
3.2 Preparando o arquivo da proteína

O arquivo da proteína alvo que foi utilizada neste trabalho foi baixado no site de banco de dados RCSB PDB (Protein Data Bank). Primeiramente, buscou-se uma macromolécula de Bcr-Abl tirosina quinase que estivesse complexada com o ligante escolhido (PD166326), dando preferência para o co-cristal que estivesse com melhor resolução.

A macromolécula escolhida para este trabalho corresponde à estrutura da proteína Bcr-Abl tirosina quinase (E.C. 2.7.1.112), com código PDB 1OPK [53] e resolução de 1,80 Å. Essa escolha se deu devido ao seu estado co-cristalizado com a molécula do inibidor em estudo 6-(2,6-diclorofenil)-2-[3-(hidroximetil)anilino]-8-metilpirido [2,3-d] pirimidina-7(8H)-ona.

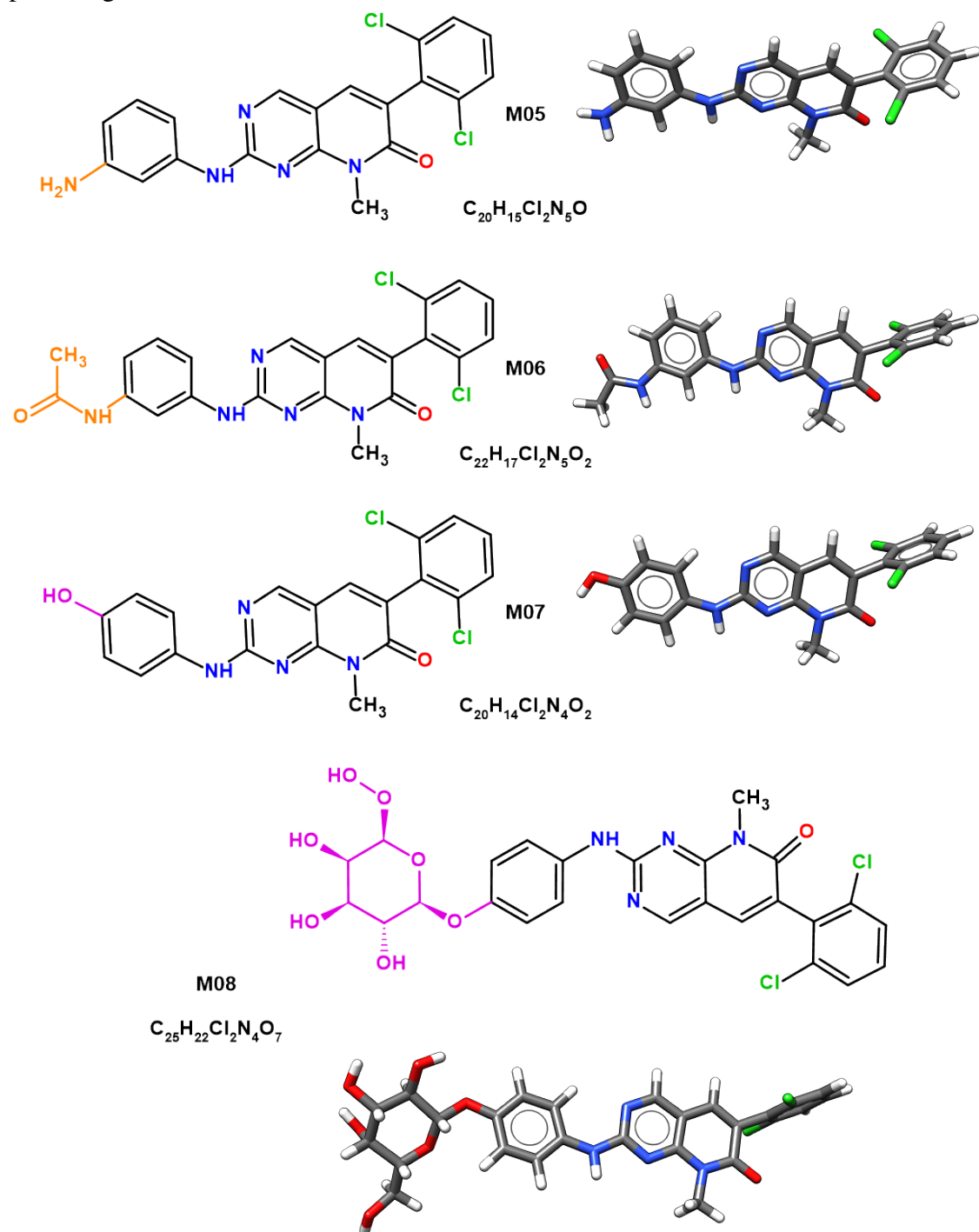
Para preparar a proteína alvo para o docking, foi utilizado o programa UCSF Chimera [51]. Primeiramente, foram removidas todas as moléculas de água e demais ligantes co-cristalizados, pois a presença de moléculas de água na região do sítio de ligação pode interferir no docking. Em seguida, foram adicionados hidrogênios polares à estrutura da

Figura 3.3: Estrutura molecular bidimensional e estrutura otimizada dos seguintes compostos ligantes: de M01 até M04.



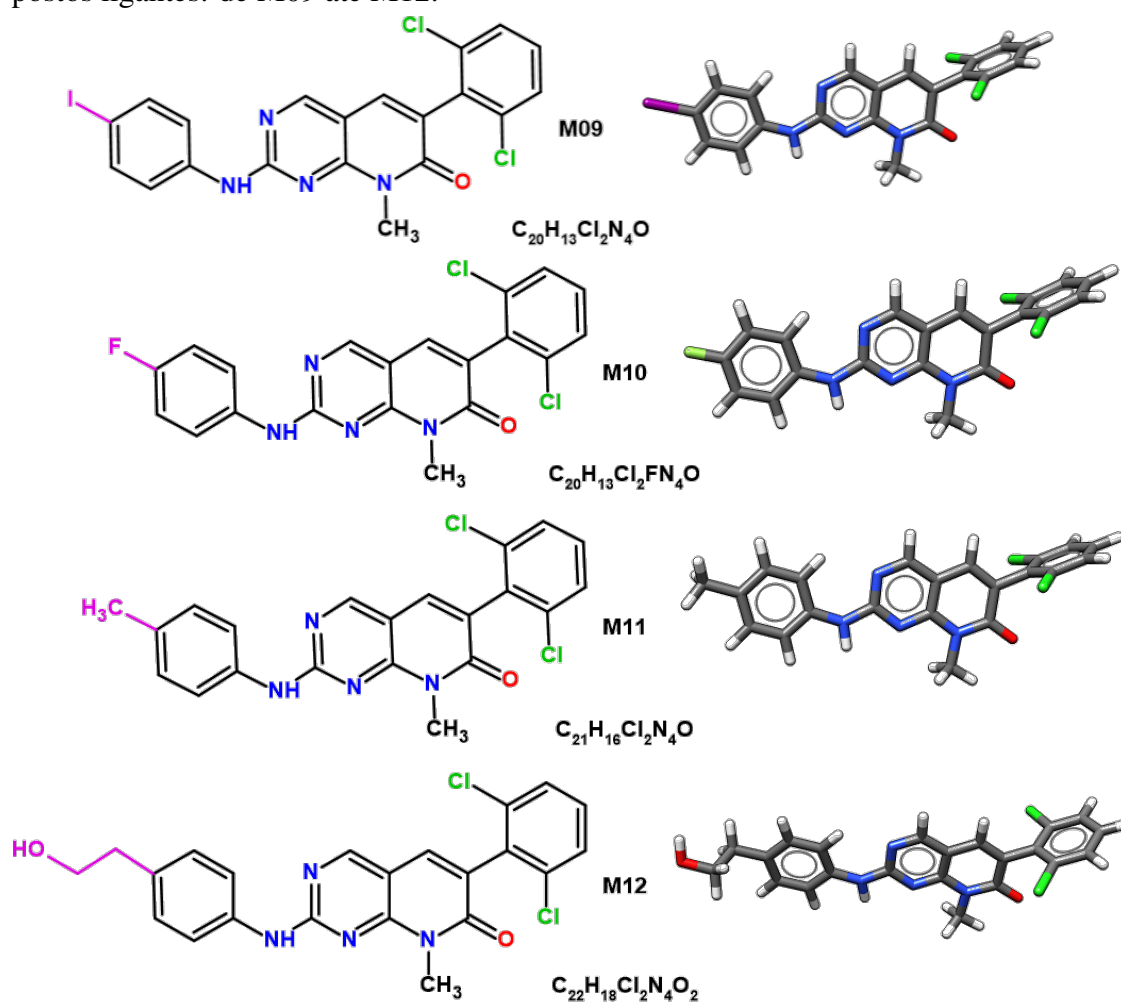
Fonte: Autoria própria, 2022.

Figura 3.4: Estrutura molecular bidimensional e estrutura otimizada dos seguintes compostos ligantes: de M05 até M08.



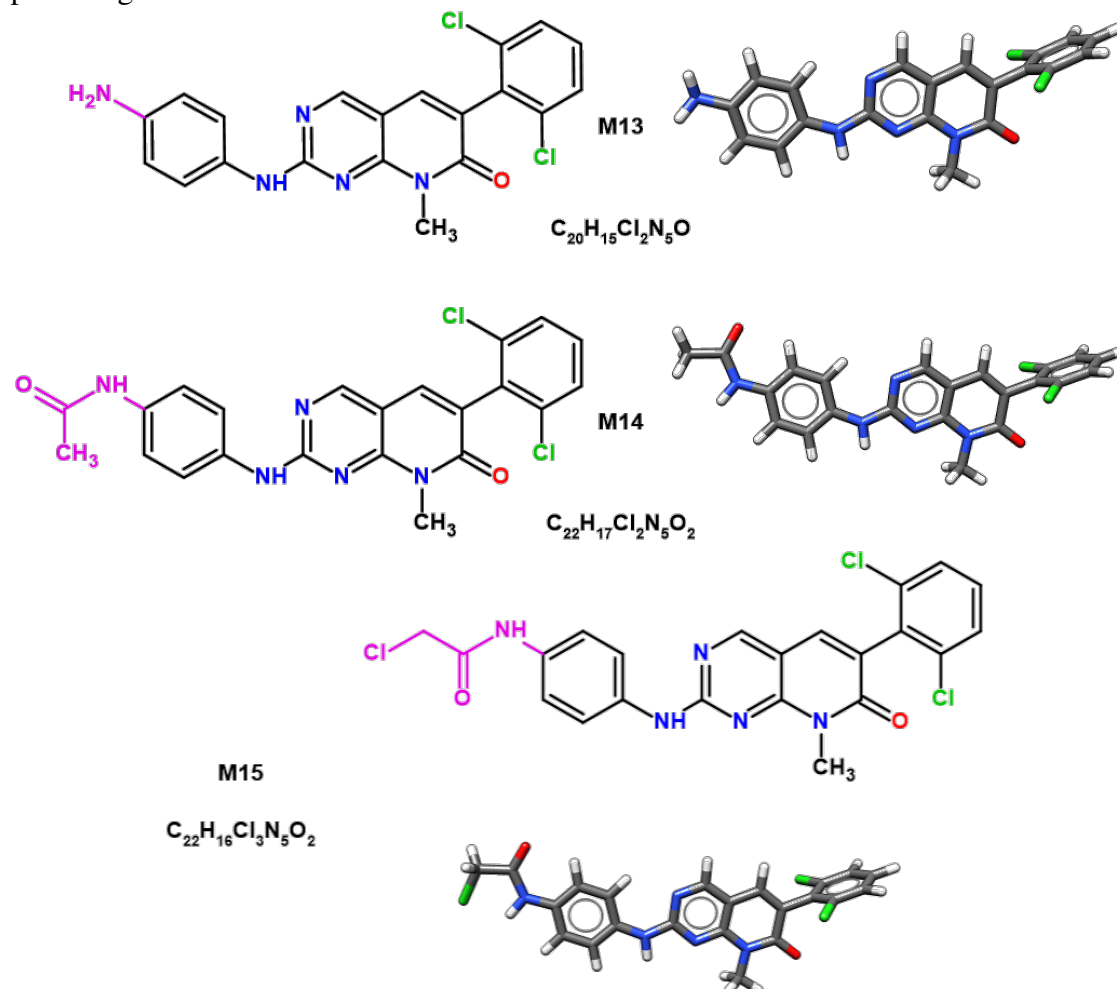
Fonte: Autoria própria, 2022.

Figura 3.5: Estrutura molecular bidimensional e estrutura otimizada dos seguintes compostos ligantes: de M09 até M12.



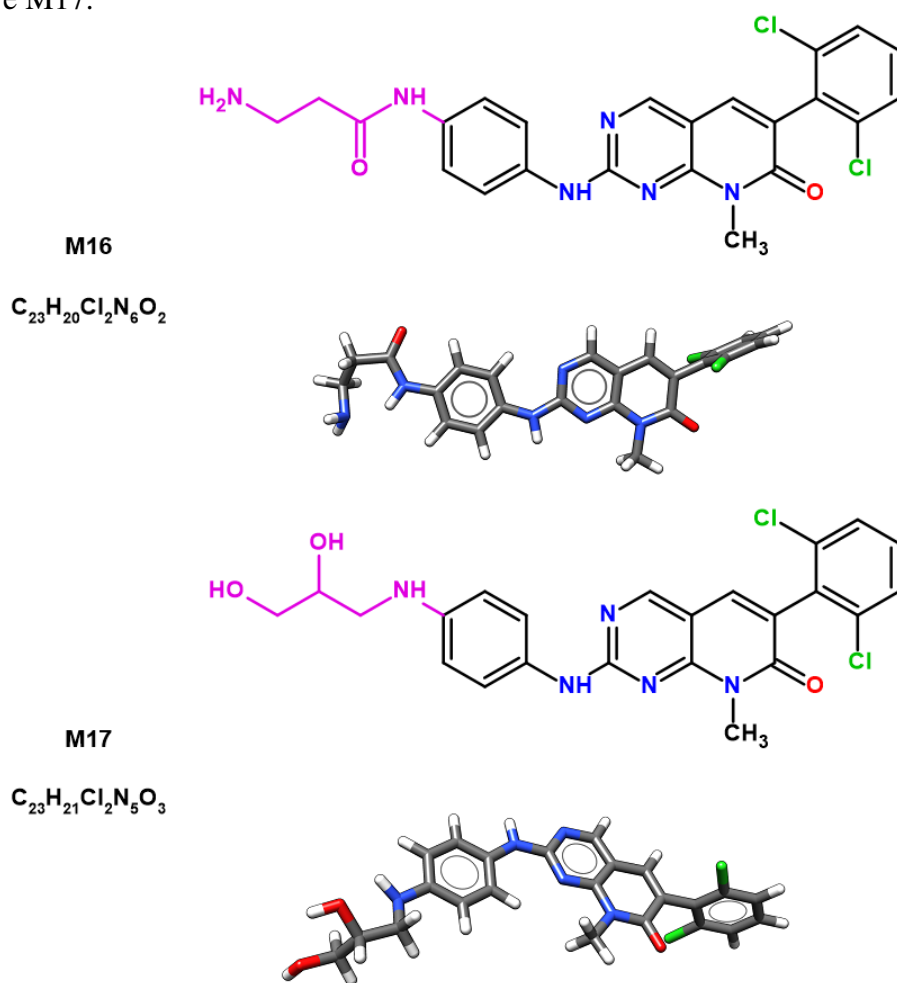
Fonte: Autoria própria, 2022.

Figura 3.6: Estrutura molecular bidimensional e estrutura otimizada dos seguintes compostos ligantes: de M13 até M15.



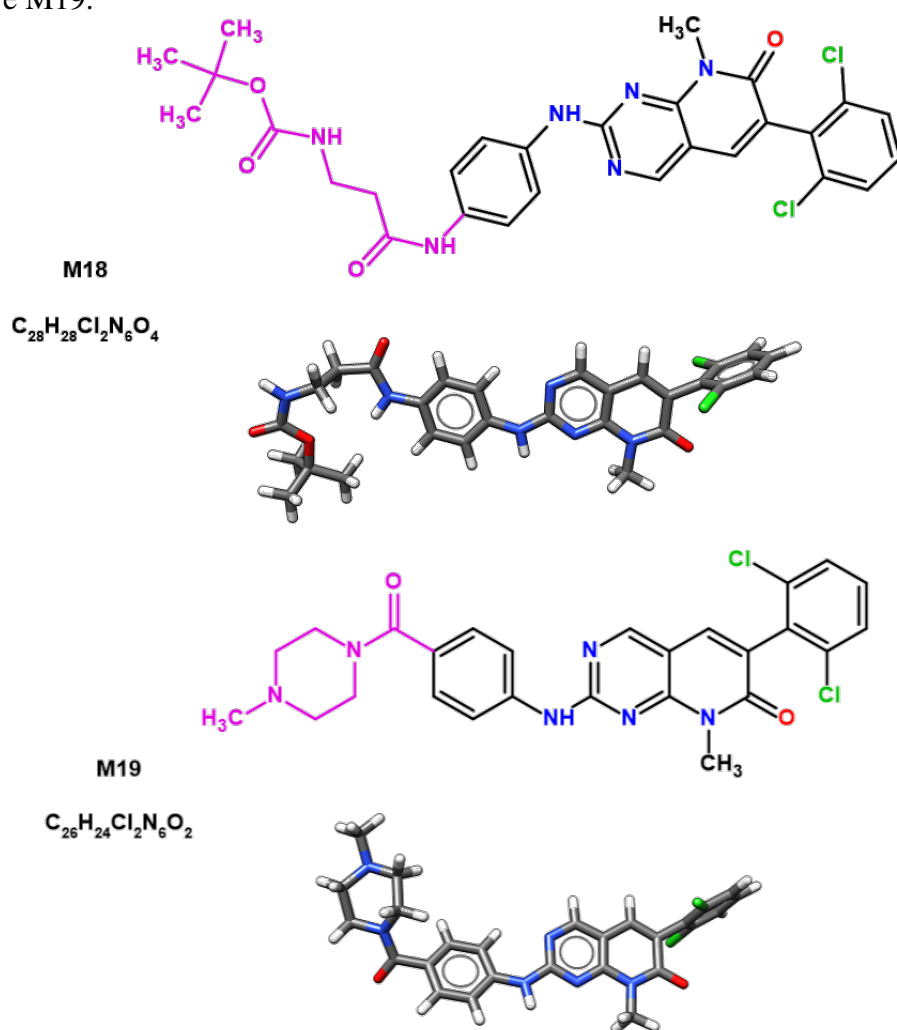
Fonte: Autoria própria, 2022.

Figura 3.7: Estrutura molecular bidimensional e estrutura otimizada dos compostos ligantes M16 e M17.



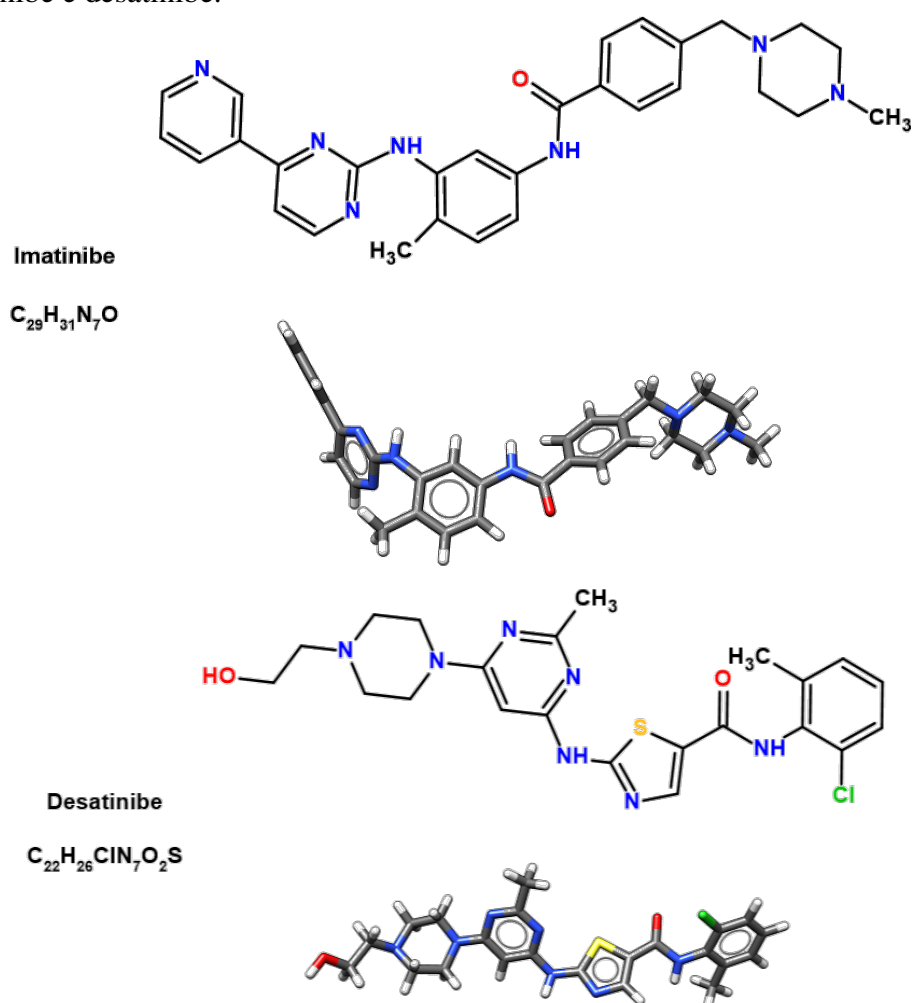
Fonte: Autoria própria, 2022.

Figura 3.8: Estrutura molecular bidimensional e estrutura otimizada dos compostos ligantes M18 e M19.



Fonte: Autoria própria, 2022.

Figura 3.9: Estrutura molecular bidimensional e estrutura otimizada dos compostos ligantes imatinibe e desatinibe.

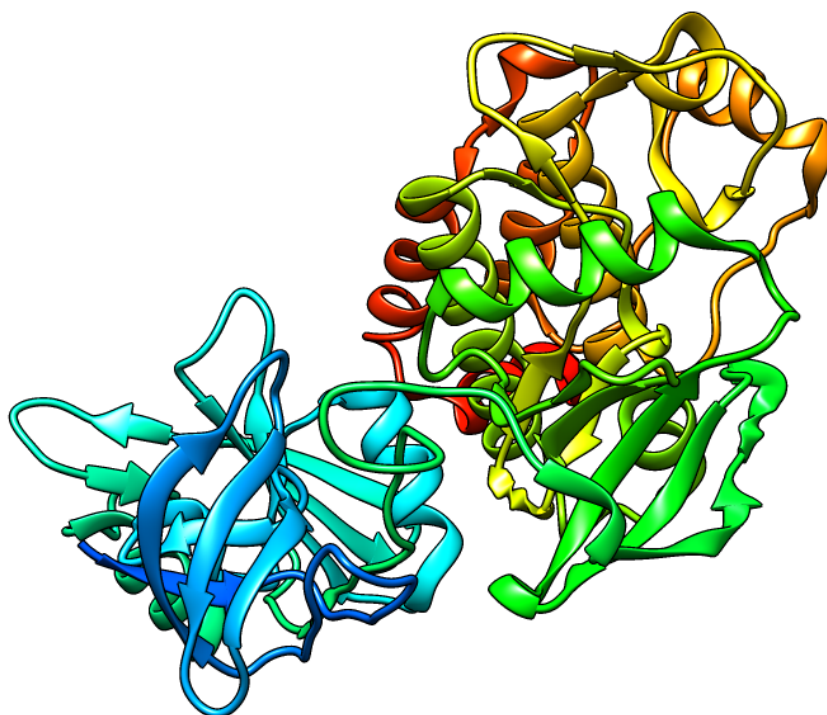


Fonte: Autoria própria, 2022.

proteína, pois as proteínas obtidas por cristalografia de raio-X, geralmente não possuem esses hidrogênios em sua estrutura.

Posteriormente, também houveram adição de cargas à estrutura da proteína que estava sendo preparada. Dessa forma, o tratamento de cargas mais adequado para ser utilizado em proteínas com o programa UCSF Chimera são as cargas do tipo AM1-BCC, semi-empírico (AM1) com correção de carga de ligação (BCC). Logo, a proteína com código PDB 1OPK estava preparada para o docking, como é mostrado na Figura 3.10.

Figura 3.10: Estrutura da proteína Bcr-Abl tirosina quinase com código PDB 1OPK, sem o ligante PD166326, após estar preparada para o docking.



Fonte: Autoria própria, 2022.

3.3 Docking Molecular

Após a preparação das estruturas do ligante e do alvo molecular, na etapa seguinte foram ajustados os parâmetros para o cálculo do docking. As ferramentas que foram

utilizadas neste trabalho para realizar o docking molecular entre alvo e ligante foram o programa AutoDock Vina e o servidor DockThor.

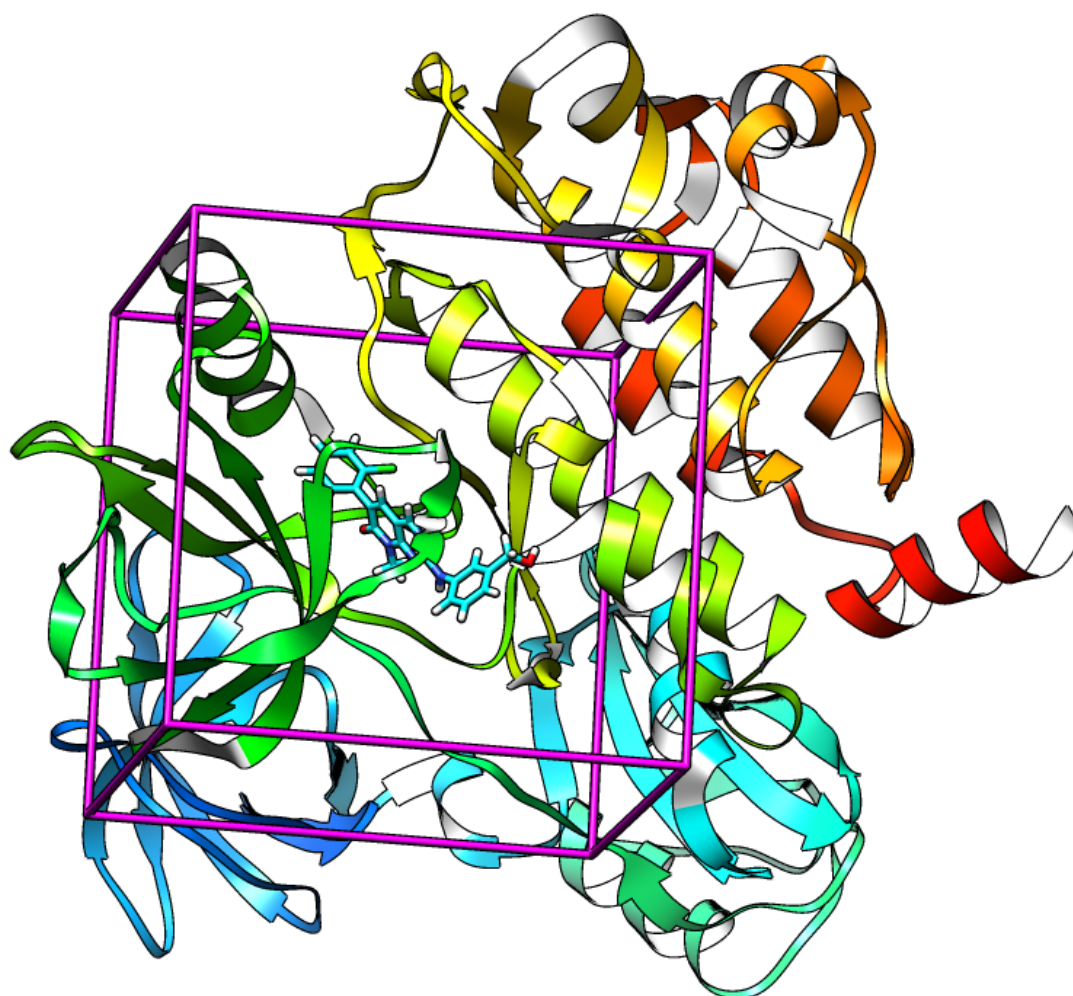
3.3.1 AutoDock Vina

Para realizar o docking molecular com o AutoDock Vina, os arquivos PDB do receptor e do ligante foram primeiramente abertos como modelos separados dentro do UCSF Chimera. Os comandos do AutoDock Vina também foram executados dentro do UCSF Chimera durante o processo de docking.

No docking molecular com o Autodock Vina, o sítio de ligação para o possível ligante é definido como um grid box, localizado dentro do espaço da macromolécula. A localização do centro do grid box foi baseada nas coordenadas do centro de massa do ligante co-cristalizado, obtido do arquivo PDB 1OPK, com as seguintes coordenadas cartesianas: $X = 46,34$; $Y = 18,25$ e $Z = 18,13$. No ajuste do tamanho do grid box, foi definido um comprimento de 30 Å para as arestas da grade.

Após a criação da grid box, o complexo receptor-ligante estava preparado para o cálculo do docking, que foi executado logo em seguida pelo Autodock Vina, como é mostrado na Figura 3.11. Com relação a flexibilidade do ligante, o AutoDock Vina permite que ocorram rotações nos ângulos diedros e ângulos de deformações do ligante, mas o receptor permanece rígido durante o docking. Os arquivos de entrada em formato PDB do complexo foram convertidos para o formato utilizado pelo AutoDock Vina, com arquivo de saída na extensão PDBQT. Com a conclusão do cálculo do docking, o AutoDock Vina apresenta um resultado com as melhores poses para cada ligante que está sendo trabalhado.

Figura 3.11: Representação do complexo receptor-ligante (proteína com código PDB 1OPK e ligante PD166326) com sua grid box, para docking realizado com o AutoDock Vina.



Fonte: Autoria própria, 2022.

3.3.2 DockThor

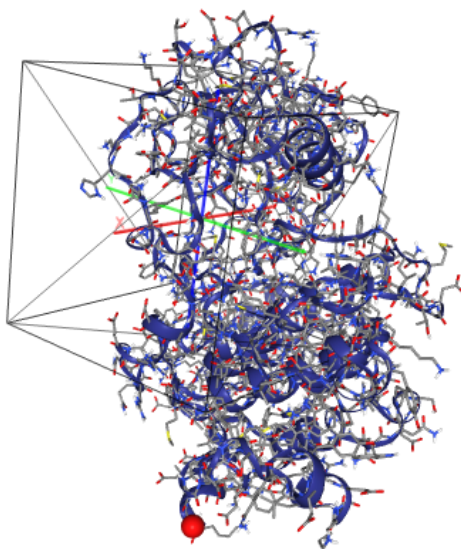
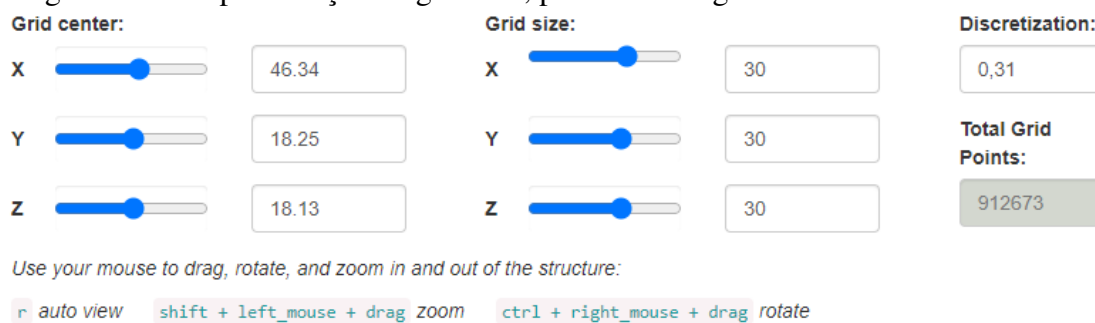
O docking molecular entre receptor e ligante com o DockThor teve início com o arquivo PDB do receptor sendo adicionado no espaço específico das proteínas, para ser carregado em seguida no sistema. O DockThor permite que os estados de protonação da proteína sejam selecionados para correção, antes de ser enviada para o cálculo. Como a proteína já havia sido preparada anteriormente no programa UCSF Chimera, não foi necessário corrigir seus estados de protonação novamente.

Após o envio do arquivo da proteína para o DockThor, o sistema também permite que se adicione um arquivo PDB de cofatores (para casos específicos em que a proteína necessita de um cofator no sítio ativo do docking), mas não foi necessário para o caso da proteína com código PDB 1OPK.

Em seguida, o arquivo PDB do ligante também foi adicionado na interface para ser carregado no sistema. Além disso, o DockThor também permite que se adicionem hidrogênios à molécula do ligante, mas os mesmos já foram adicionados durante a preparação do ligante. Na sequência, as rotações nos ângulos diedros e ângulos de deformação do ligante foram habilitadas, permitindo a flexibilidade do ligante durante o docking.

O sítio de ligação para o complexo receptor-ligante no DockThor também é definido como uma grid box, onde foram determinados o centro e o tamanho da caixa. O centro da caixa foi definido com base nas coordenadas do centro de massa do ligante co-cristalizado com a proteína, obtido a partir do arquivo PDB 1OPK. O tamanho da caixa foi definido como 30 Å para todas as três dimensões (como mostrado na Figura 3.12), com uma discretização de 0,31. Após essas definições, o cálculo do docking foi executado, com seus resultados sendo enviados, em seguida, para um e-mail cadastrado.

Figura 3.12: Representação da grid box, para o docking calculado com o DockThor.



Fonte: Autoria própria, 2022.

Capítulo 4

Resultados e Discussão

O docking molecular dos ligantes com a proteína Bcr-Abl tirosina quinase, com código PDB 1OPK, teve como objetivo determinar o potencial de inibição de análogos do pirido[2,3-d]pirimidinas na leucemia mieloide crônica. A primeira parte apresenta um comparativo entre a previsão das energias de ligação com os valores de IC_{50} obtidos da literatura, enquanto a segunda parte descreve como as interações intermoleculares foram estabelecidas no local do sítio de ligação.

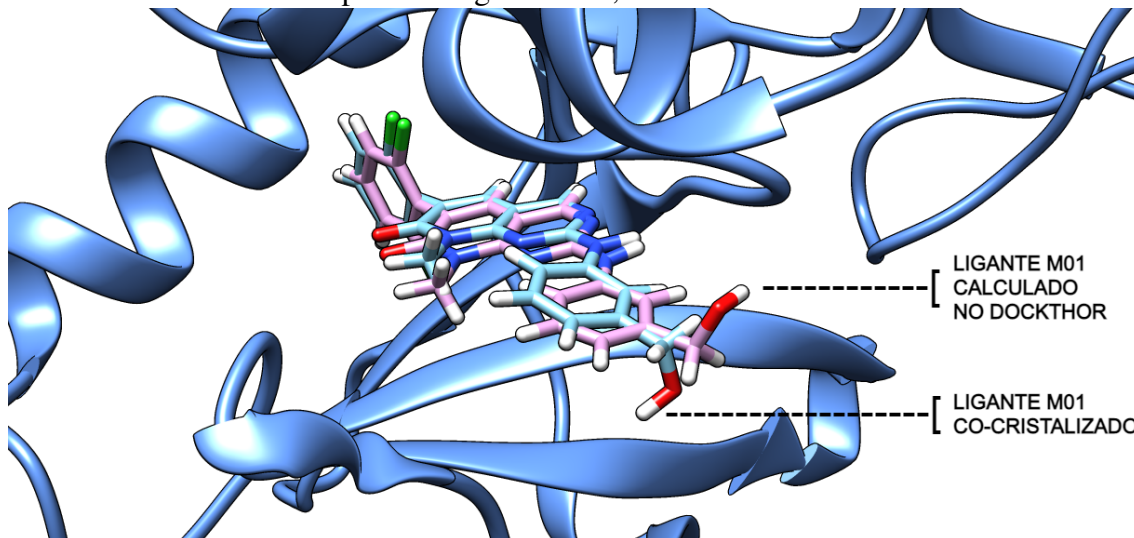
4.1 Análise do RMSD

A validação dos parâmetros do docking com os programas AutoDock Vina e DockThor, foi realizada com base na análise do RMSD, através do método de redocking. O redocking avalia a similaridade entre a pose do ligante co-cristalizado (obtido experimentalmente) com a pose de melhor classificação do ligante (obtida por docking). Como o ligante M01 era o único (deste trabalho) que tinha estrutura co-cristalizada com a proteína de código PDB 1OPK, somente sua molécula foi analisada por redocking.

De acordo com a Tabela 4.1, o valor do RMSD para o ligante M01, no DockThor, com relação à estrutura co-cristalizada (redocking) foi de 0,863 Å. Dessa forma, o docking molecular com o DockThor para o ligante M01 foi validado por redocking, conforme é mostrado na Figura 4.1. Enquanto isso, o valor do RMSD para o ligante M01 (no Auto-

Dock Vina), com relação à estrutura experimental foi de 1,794 Å e, portanto, foi validado por redocking. Logo, o DockThor conseguiu reproduzir a conformação experimental com um nível de similaridade melhor que o AutoDock Vina, para o ligante M01.

Figura 4.1: Representação do procedimento de redocking, com a molécula do ligante M01 co-cristalizado sobreposto ao ligante M01, calculado com o DockThor.



Fonte: Autoria própria, 2022.

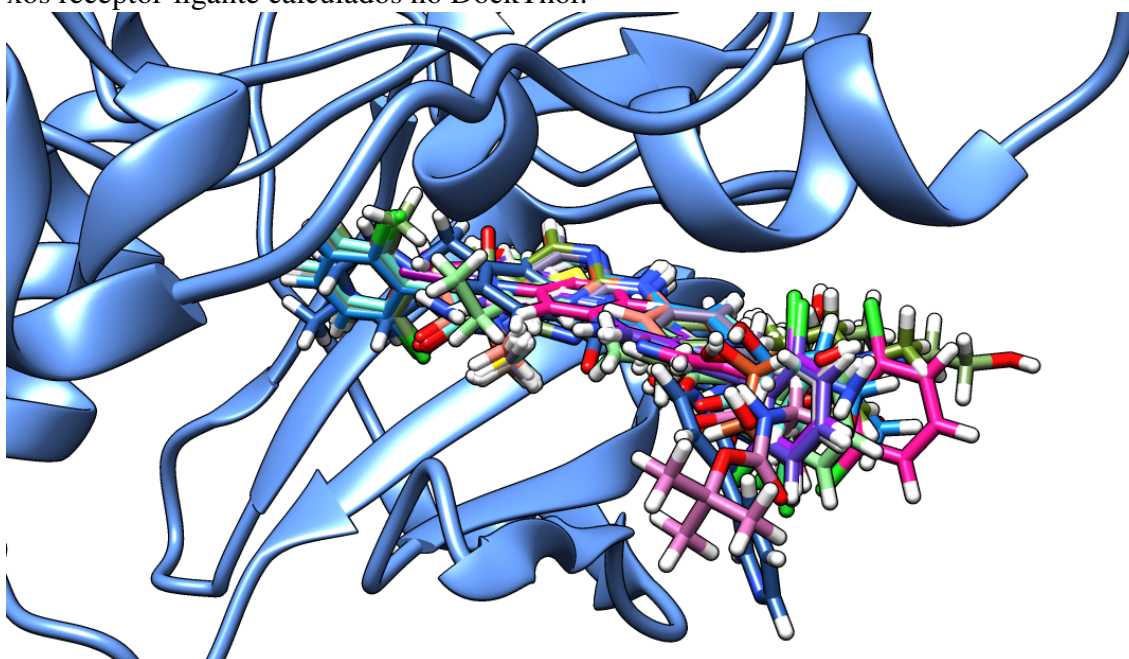
Como o DockThor foi melhor que o AutoDock Vina na reprodução da pose obtida experimentalmente, o DockThor foi escolhido para realizar os cálculos de docking molecular deste trabalho, enquanto os resultados obtidos com o AutoDock Vina estão anexados no apêndice.

4.2 Análise da previsão de afinidade (score)

Os resultados obtidos através do docking molecular utilizando a ferramenta DockThor, apresentaram várias conformações para cada ligante derivado do pirido[2,3-d]pirimidina. Como a função de pontuação utilizada pelo DockThor é baseada na energia total, os complexos receptor-ligante com previsão de afinidade (score) mais favoráveis (menor valor), devem obter os melhores encaixes no local do sítio ativo da Bcr-Abl tirosina quinase.

A Tabela 4.1 apresenta as energias de ligação do complexo-receptor ligante obtidas por docking, os valores de IC_{50} de seus respectivos ligantes obtidos da literatura, assim como os valores do RMSD que foram calculados. Enquanto as melhores poses obtidas por docking, de todos os complexos receptor-ligante deste trabalho são mostradas na Figura 4.2.

Figura 4.2: Representação das melhores poses obtidas por docking, de todos os complexos receptor-ligante calculados no DockThor.



Fonte: Autoria própria, 2022.

Considerando a previsão das energias de ligação (score) calculadas no DockThor, os resultados sugerem que os complexos obtidos com os ligantes M04, M08, M17, M18 e M19 apresentaram previsão de afinidade mais favoráveis (menor valor), enquanto os complexos com os ligantes M03, M05, M06, M09, M10 e DSB obtiveram energia de ligação menos favoráveis (maior valor). Portanto, os ligantes com previsão da energia de ligação (score) mais favoráveis, encaixam melhor no local do sítio ativo da proteína.

A função de pontuação utilizada pelo DockThor é baseada na soma dos termos do campo de força MMFF94S, que compreendem a energia de interação intermolecular,

energia de interação intramolecular e termo de torção do ligante [47]. Portanto, a escolha dos compostos moleculares com melhor potência de inibição da Bcr-Abl tirosina quinase foi baseada na análise das interações intermoleculares, associado com os resultados obtidos das energias de interação intermoleculares fornecidos pelo DockThor.

Tabela 4.1: Descrição dos valores de IC₅₀, do RMSD, do score e das energias de interação intermolecular para cada ligante analisado por docking.

Ligante	IC ₅₀ (nM)	RMSD (Å)	Score (Autodock Vina)	Score (DockThor)	I. Energy / DockThor (kcal mol ⁻¹)
M01	2,8	0,863	-12,1	-10,43	-52,11
M02	2,6	—	-12,1	-10,36	-47,72
M03	22	—	-11,7	-9,19	-30,15
M04	4,9	—	-11,2	-10,67	-63,20
M05	2,5	—	-12,0	-8,73	-33,70
M06	5	—	-11,8	-8,58	-31,89
M07	5,3	—	-11,9	-10,37	-47,79
M08	1,4	—	-11,3	-10,70	-62,84
M09	13	—	-12,3	-9,22	-36,45
M10	21	—	-12,2	-8,66	-32,32
M11	30	—	-11,9	-10,45	-47,96
M12	8,2	—	-11,4	-10,37	-53,83
M13	2,3	—	-11,8	-10,35	-47,47
M14	4,8	—	-9,9	-10,39	-50,88
M15	7,6	—	-12,0	-10,44	-51,66
M16	4,7	—	-11,3	-10,45	-51,34
M17	2,3	—	-11,5	-10,50	-64,65
M18	12	—	-10,9	-10,81	-57,77
M19	3,6	—	-12,9	-10,70	-53,48
IMB	—	—	-9,8	-10,10	-43,20
DSB	—	—	-9,6	-9,70	-41,93

IMB = imatinibe; DSB = desatinibe.

4.3 Análise das interações intermoleculares

O estudo das interações a nível molecular no local do sítio ativo da proteína foi desenvolvido no programa Discovery Studio, baseando-se na descrição dos diversos tipos de interações intermoleculares e nos resíduos de proteína que estão envolvidos. A partir desse estudo foi possível observar como acontece o reconhecimento molecular para cada ligante analisado, para compreender como ocorre a seletividade entre estes ligantes.

4.3.1 Complexo com o ligante M01

O resultado do docking realizado no DockThor para o complexo com o ligante M01, no local do sítio ativo da proteína, apresentou quatro ligações de hidrogênio, uma interação cátion-pi, quatro interações sigma-pi, duas interações alquila e seis interações alquila-pi, como é mostrado na Figura 4.3. O comprimento das ligações de hidrogênio, com cada resíduo de proteína (no DockThor) é mostrado na Tabela 4.3.

- Uma ligação de hidrogênio convencional (2,13 Å) entre um nitrogênio do anel pirimidina com o hidrogênio do resíduo MET337;
- Uma ligação de hidrogênio convencional (1,79 Å) entre o hidrogênio da hidroxila (R_3) com um oxigênio do resíduo THR338;
- Uma ligação de hidrogênio convencional (1,85 Å) entre o hidrogênio do grupo amina com um oxigênio do resíduo MET337;
- Uma ligação do tipo hidrogênio-carbono (2,77 Å) entre o hidrogênio do anel pirimidina com um oxigênio do resíduo GLU335;
- Uma interação do tipo cátion-pi (4,91 Å) entre o anel diclorofenil com um nitrogênio do resíduo LYS290;
- Quatro interações do tipo sigma-pi (anel pirimidina com resíduos LEU267 e LEU389, anel piridina com resíduos VAL275 e LEU389);
- Duas interações do tipo alquila (grupo metila com os resíduos LEU267 e VAL275);

- Seis interações do tipo alquila-pi (grupo metila com resíduo TYR272, anel benzeno com resíduo LEU267, resíduo ALA288 com os anéis pirimidina e piridina, anel diclorofenil com os resíduos LYS290 e VAL318).

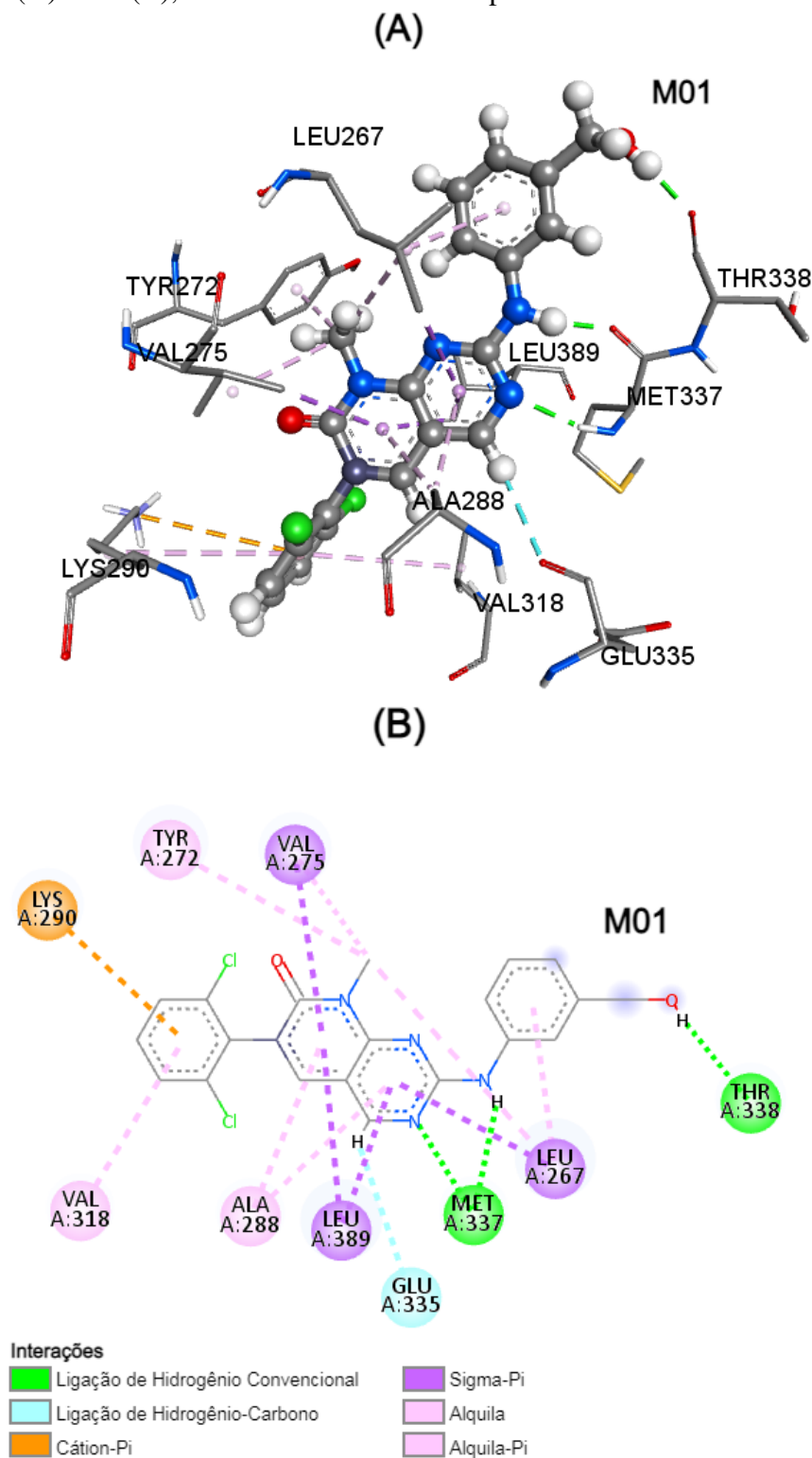
Com a substituição do grupo metanol na posição R_3 , este substituinte apresentou uma ligação de hidrogênio forte com o resíduo THR338, pois o metanol possui uma extremidade polarizada na hidroxila. Visto que o complexo apresentou três ligações de hidrogênio fortes e uma ligação de hidrogênio fraca, ele obteve uma energia de interação intermolecular de $-52,11 \text{ kcal mol}^{-1}$. Por outro lado, este complexo apresentou um valor de IC_{50} obtido da literatura de 2,8 nM.

4.3.2 Complexo com o ligante M02

O complexo com o ligante M02 calculado com o DockThor, no local do sítio ativo da proteína, apresentou três ligações de hidrogênio, uma interação do tipo cátion-pi, duas interações do tipo sigma-pi e seis interações do tipo alquila-pi, como é mostrado na Figura 4.4.

- Uma ligação de hidrogênio convencional ($2,14 \text{ \AA}$) entre um nitrogênio do anel pirimidina com o hidrogênio do resíduo MET337;
- Uma ligação de hidrogênio convencional ($1,89 \text{ \AA}$) entre o hidrogênio do grupo amina com um oxigênio do resíduo MET337;
- Uma ligação do tipo hidrogênio-carbono ($2,79 \text{ \AA}$) entre o hidrogênio do anel pirimidina com um oxigênio do resíduo GLU335;
- Uma interação do tipo cátion-pi ($4,86 \text{ \AA}$) entre o anel diclorofenil com um nitrogênio do resíduo LYS290;
- Duas interações do tipo sigma-pi (anel piridina com resíduo VAL275, anel pirimidina com resíduo LEU389);
- Seis interações do tipo alquila-pi (anel piridina com os resíduos ALA288 e LEU389,

Figura 4.3: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M01 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



Fonte: Autoria própria, 2022.

anel pirimidina com os resíduos LEU267 e ALA288, anel diclorofenil com o resíduo LYS290, anel benzeno com resíduo LEU267).

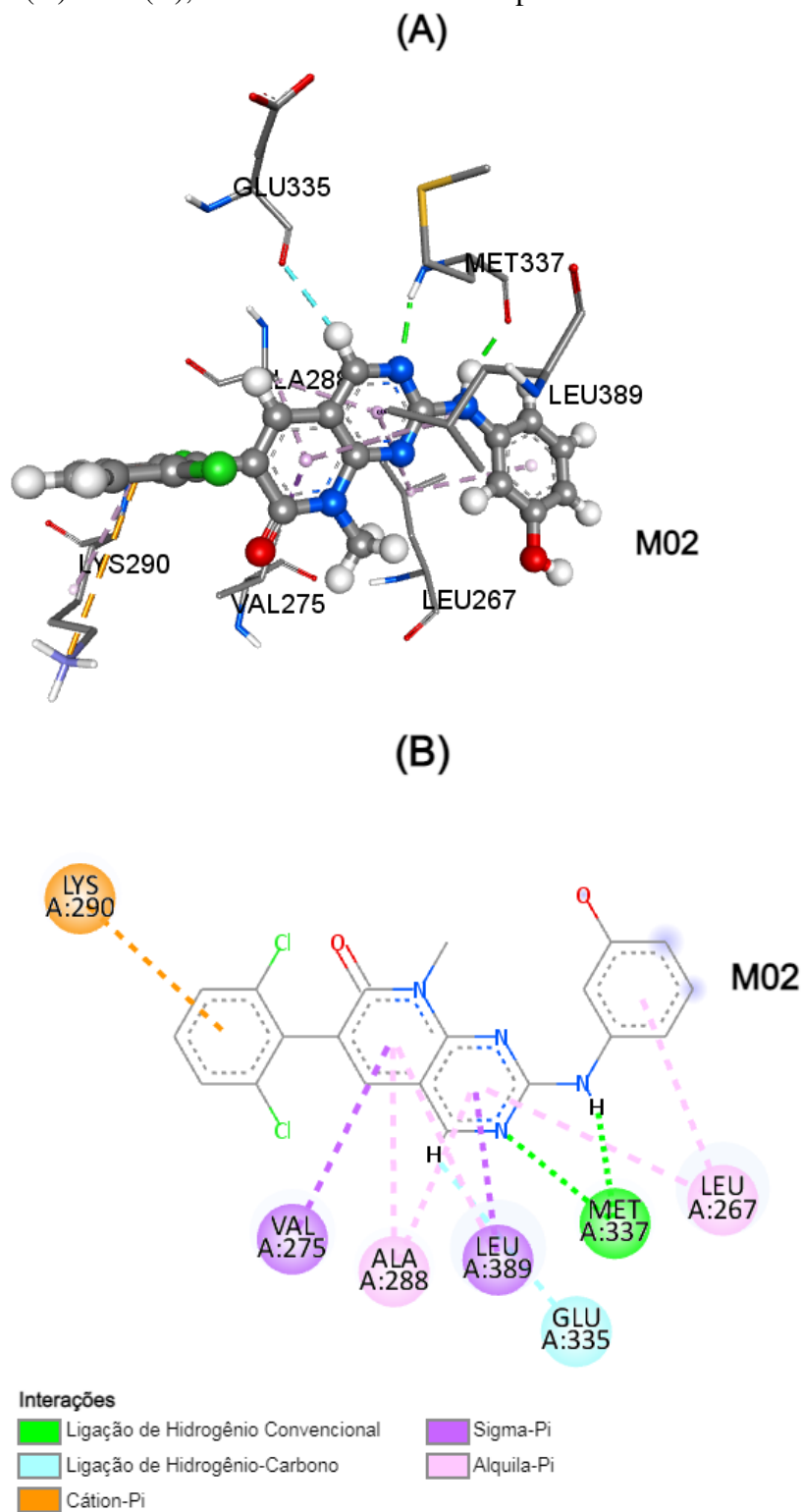
Com a substituição do grupo hidroxila na posição R_3 , este grupo não apresentou qualquer ligação de hidrogênio com os resíduos de proteína, apesar da hidroxila ser uma extremidade polarizada. Visto que o complexo apresentou duas ligações de hidrogênio fortes e uma ligação de hidrogênio fraca, ele obteve uma energia de interação intermolecular de $-47,72 \text{ kcal mol}^{-1}$. Por outro lado, este complexo apresentou um valor de IC_{50} obtido da literatura de 2,6 nM.

4.3.3 Complexo com o ligante M03

O complexo com o ligante M03 calculado com o DockThor, no local do sítio ativo da proteína, apresentou duas ligações de hidrogênio, uma interação ânion- π , uma interação sigma- π , duas interações alquila e cinco interações alquila- π , como é mostrado na Figura 4.5.

- Uma ligação de hidrogênio convencional (2,66 Å) entre o hidrogênio do grupo amina com um oxigênio do resíduo MET337;
- Uma ligação do tipo hidrogênio-carbono (3,59 Å) entre o oxigênio do anel piridina com um carbono do resíduo GLY268;
- Uma interação do tipo ânion- π (4,72 Å) entre o anel diclorofenil com um oxigênio do resíduo ASP344;
- Uma interação do tipo sigma- π (anel benzeno com o resíduo LEU389);
- Duas interações do tipo alquila (metila do grupo R_3 com os resíduos VAL275 e LEU389);
- Cinco interações do tipo alquila- π (metila do grupo R_3 com resíduo TYR272, resíduo LEU267 com anéis piridina, pirimidina e benzeno, resíduo ALA288 com anel benzeno).

Figura 4.4: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M02 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



Fonte: Autoria própria, 2022.

Com a substituição do grupo metila na posição R_3 , este grupo não apresentou qualquer ligação de hidrogênio com os resíduos de proteína, pois a metila não é polarizada. Por outro lado, a metila de R_3 apresentou interações hidrofóbicas do tipo alquila e alquila-pi, devido a sua característica apolar.

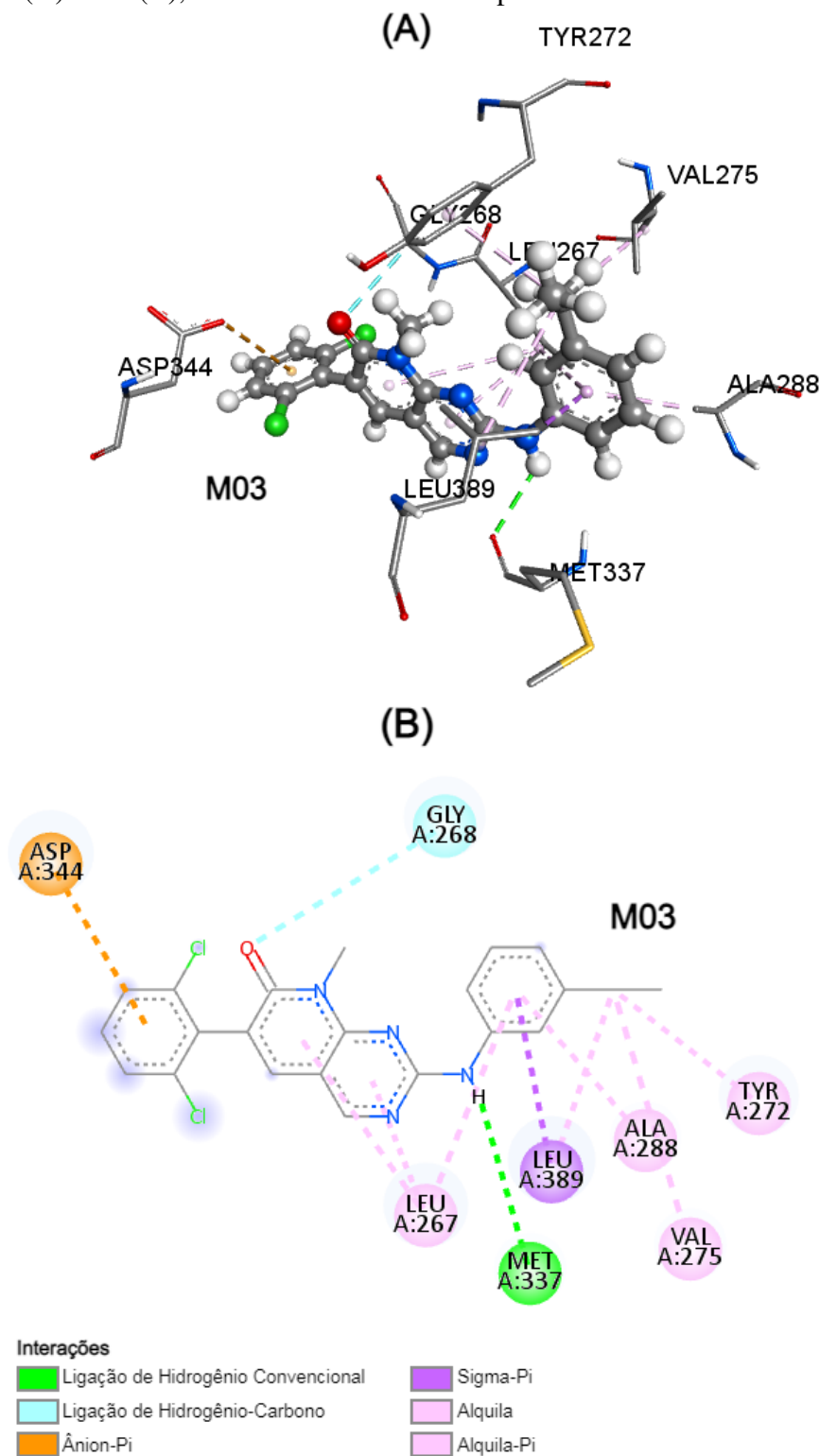
Uma vez que o complexo apresentou apenas uma ligação de hidrogênio forte e uma ligação de hidrogênio fraca, ele obteve uma energia de interação intermolecular no valor de $-30,15 \text{ kcal mol}^{-1}$ (sendo considerado desfavorável com relação ao complexo M01). Consequentemente, este complexo apresentou um valor de IC_{50} obtido da literatura de 22 nM, também sendo considerado desfavorável com relação ao complexo M01.

4.3.4 Complexo com o ligante M04

O complexo com o ligante M04 calculado com o DockThor, no local do sítio ativo da proteína, apresentou seis ligações de hidrogênio, uma interação do tipo cátion-pi, três interações do tipo sigma-pi, duas interações do tipo alquila e seis interações do tipo alquila-pi, como é mostrado na Figura 4.6.

- Uma ligação de hidrogênio convencional ($2,17 \text{ \AA}$) entre um nitrogênio do anel pirimidina com o hidrogênio do resíduo MET337;
- Uma ligação de hidrogênio convencional ($1,89 \text{ \AA}$) entre o hidrogênio do grupo amina com um oxigênio do resíduo MET337;
- Uma ligação de hidrogênio convencional ($1,77 \text{ \AA}$) entre o hidrogênio da hidroxila (R_3) com um oxigênio do resíduo GLU277;
- Uma ligação de hidrogênio convencional ($1,61 \text{ \AA}$) entre o hidrogênio da outra hidroxila (R_3) com um oxigênio do resíduo GLU277;
- Uma ligação do tipo hidrogênio-carbono ($2,63 \text{ \AA}$) entre o hidrogênio do anel pirimidina com um oxigênio do resíduo GLU335;
- Uma ligação do tipo hidrogênio-carbono ($2,81 \text{ \AA}$) entre o hidrogênio da metila (R_3)

Figura 4.5: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M03 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



Fonte: Autoria própria, 2022.

com um oxigênio do resíduo GLU277;

- Uma interação do tipo cátion-pi (4,85 Å) entre o anel diclorofenil com um nitrogênio do resíduo LYS290;
- Três interações do tipo sigma-pi (anel pirimidina com resíduo LEU389 e anel piridina com resíduos VAL275 e LEU389);
- Duas interações do tipo alquila (grupo metila com resíduos LEU267 e VAL275);
- Seis interações do tipo alquila-pi (grupo metila com resíduo TYR272, anel diclorofenil com resíduo LYS290, resíduo ALA288 com anéis piridina e pirimidina, resíduo LEU267 com anéis pirimidina e benzeno).

Com a mudança do grupo substituinte na posição R_3 , foram apresentadas duas ligações de hidrogênio fortes e uma ligação de hidrogênio fraca neste grupo, devido ao grupo substituinte possuir três pontas polarizadas.

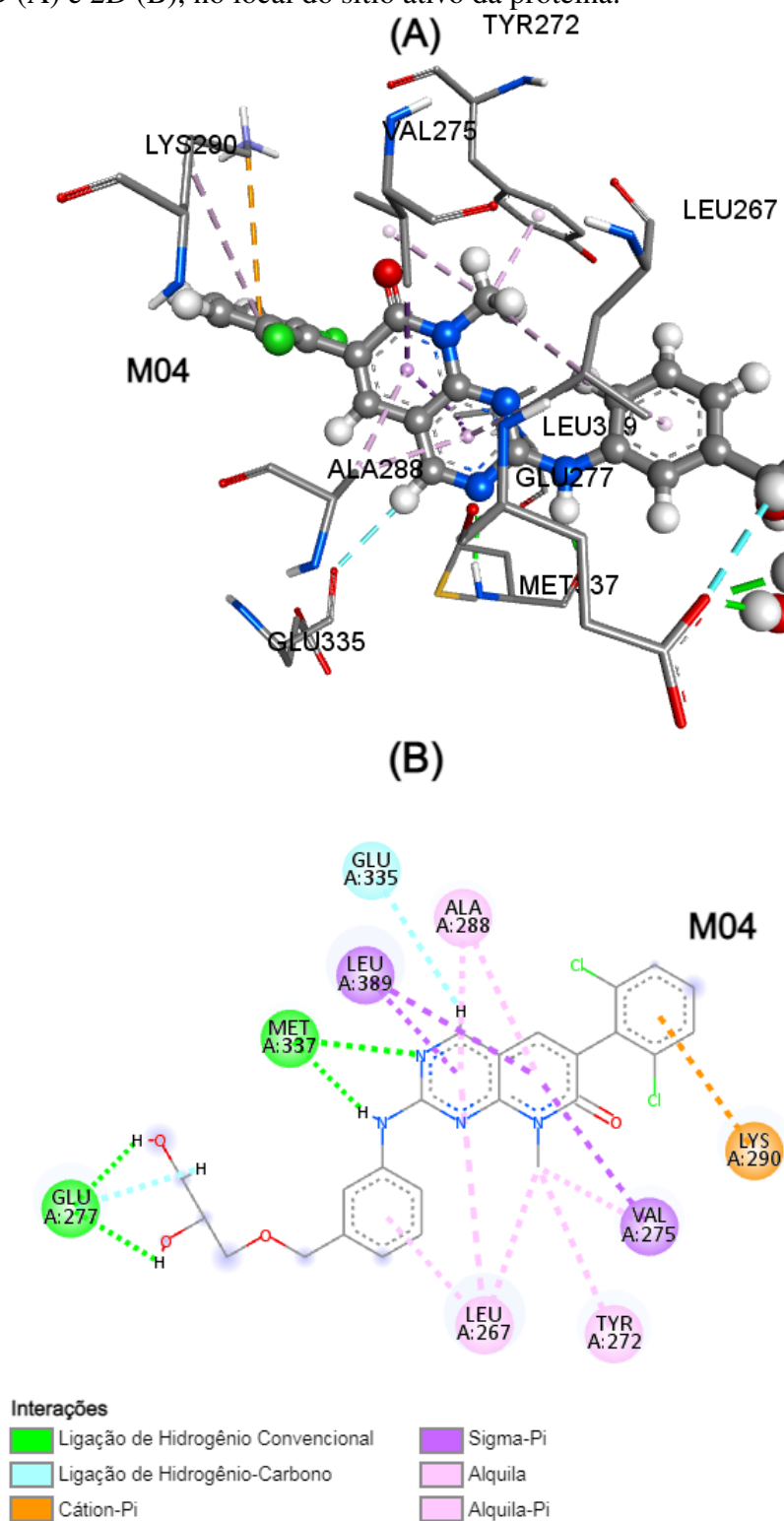
Uma vez que o complexo apresentou quatro ligações de hidrogênio fortes e duas ligações de hidrogênio fracas, ele obteve uma energia de interação intermolecular bastante favorável no valor de $-63,20 \text{ kcal mol}^{-1}$. Por outro lado, este complexo apresentou um valor de IC_{50} obtido da literatura de 4,9 nM.

4.3.5 Complexo com o ligante M05

O complexo com o ligante M05 calculado com o DockThor, no local do sítio ativo da proteína, apresentou uma ligação de hidrogênio, uma interação ânion-pi, duas interações sigma-pi, uma interação alquila e cinco interações alquila-pi, como é mostrado na Figura 4.7.

- Uma ligação do tipo hidrogênio-carbono (2,89 Å) entre um hidrogênio do grupo metila com um oxigênio do resíduo THR338;
- Uma interação do tipo ânion-pi (3,87 Å) entre o anel diclorofenil com um oxigênio do resíduo ASP344;

Figura 4.6: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M04 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



Fonte: Autoria própria, 2022.

- Duas interações do tipo sigma-pi (anel pirimidina com resíduo GLY340 e anel benzeno com resíduo LEU389);
- Uma interação do tipo alquila (grupo metila com resíduo LEU267);
- Cinco interações do tipo alquila-pi (grupo metila com resíduo PHE336, resíduo LEU267 com anéis piridina e pirimidina, anel benzeno com resíduos VAL275 e ALA288).

Com a substituição da amina na posição R_3 , este grupo não apresentou qualquer ligação de hidrogênio com os resíduos de proteína, apesar do grupo amina ser uma extremidade polarizado.

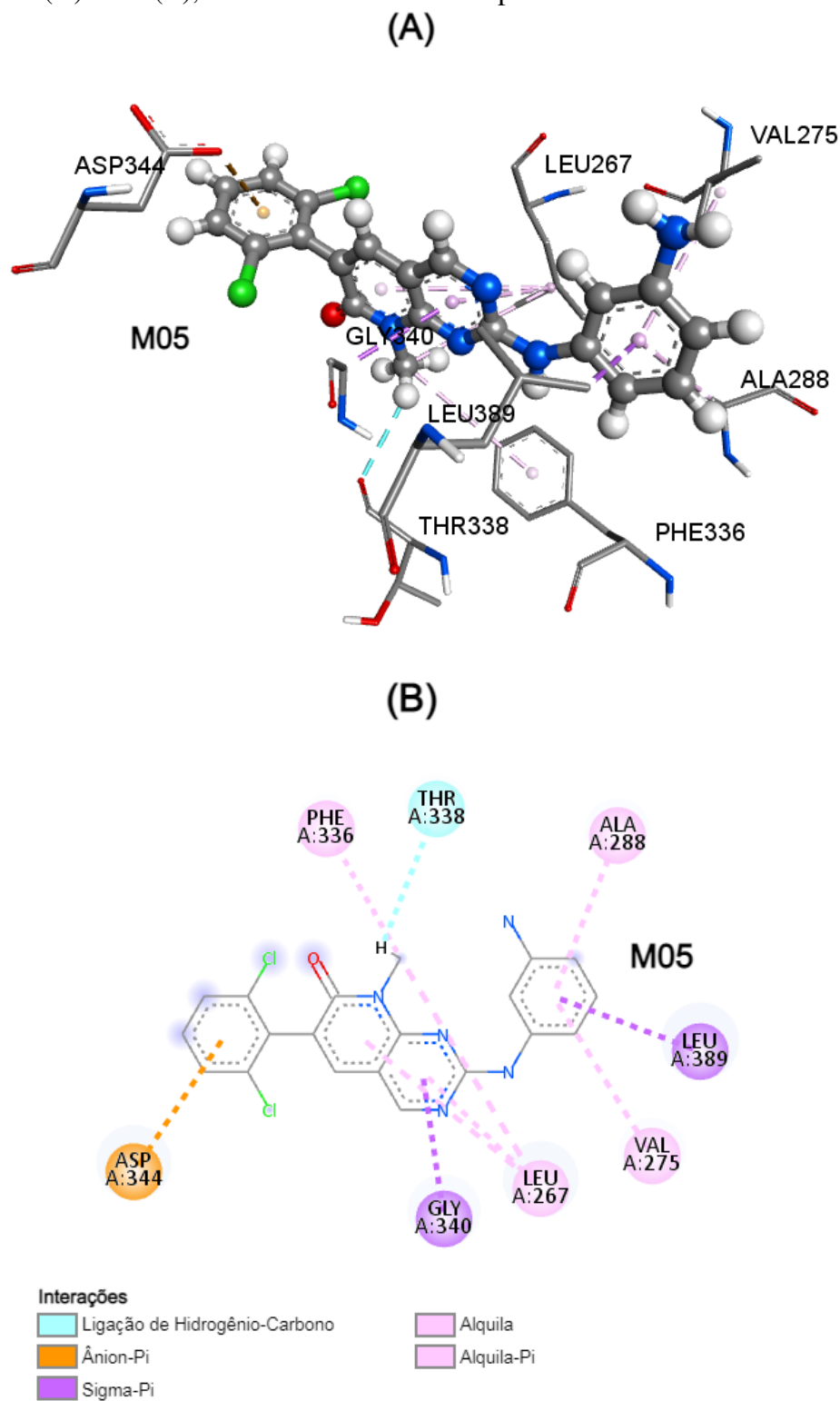
Visto que o complexo apresentou apenas uma ligação de hidrogênio fraca, ele obteve uma energia de interação intermolecular no valor de $-33,70 \text{ kcal mol}^{-1}$ (sendo considerada desfavorável com relação ao complexo M01). Apesar disso, o complexo apresentou um valor de IC_{50} obtido da literatura de 2,5 nM, sendo considerado favorável com relação ao complexo M01.

4.3.6 Complexo com o ligante M06

O complexo com o ligante M06 calculado com o DockThor, no local do sítio ativo da proteína, apresentou duas ligações de hidrogênio, uma interação ânion-pi, três interações sigma-pi, uma interação empilhamento pi-pi, uma interação empilhamento-T e uma interação alquila-pi, como é mostrado na Figura 4.8.

- Uma ligação de hidrogênio convencional ($2,95 \text{ \AA}$) entre o oxigênio do grupo acetamida (R_3) com um hidrogênio do resíduo THR334;
- Uma ligação do tipo hidrogênio-carbono ($2,82 \text{ \AA}$) entre o hidrogênio do anel pirimidina com um oxigênio do resíduo ASP344;
- Uma interação do tipo ânion-pi ($4,78 \text{ \AA}$) entre o anel diclorofenil com um oxigênio do resíduo GLU348;

Figura 4.7: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M05 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



Fonte: Autoria própria, 2022.

- Três interações do tipo sigma-pi (anel benzeno com os resíduos LEU267, LEU389 e LEU389);
- Uma interação do tipo empilhamento pi-pi (anel benzeno com resíduo PHE336);
- Uma interação do tipo empilhamento-T (anel benzeno com resíduo TYR272);
- Uma interação do tipo alquila-pi (anel benzeno com resíduo ALA288).

Com a substituição do grupo acetamida na posição R_3 , este substituinte apresentou apenas uma ligação de hidrogênio forte com o resíduo THR334, devido à polaridade presente nos grupos cetona e amina deste substituinte.

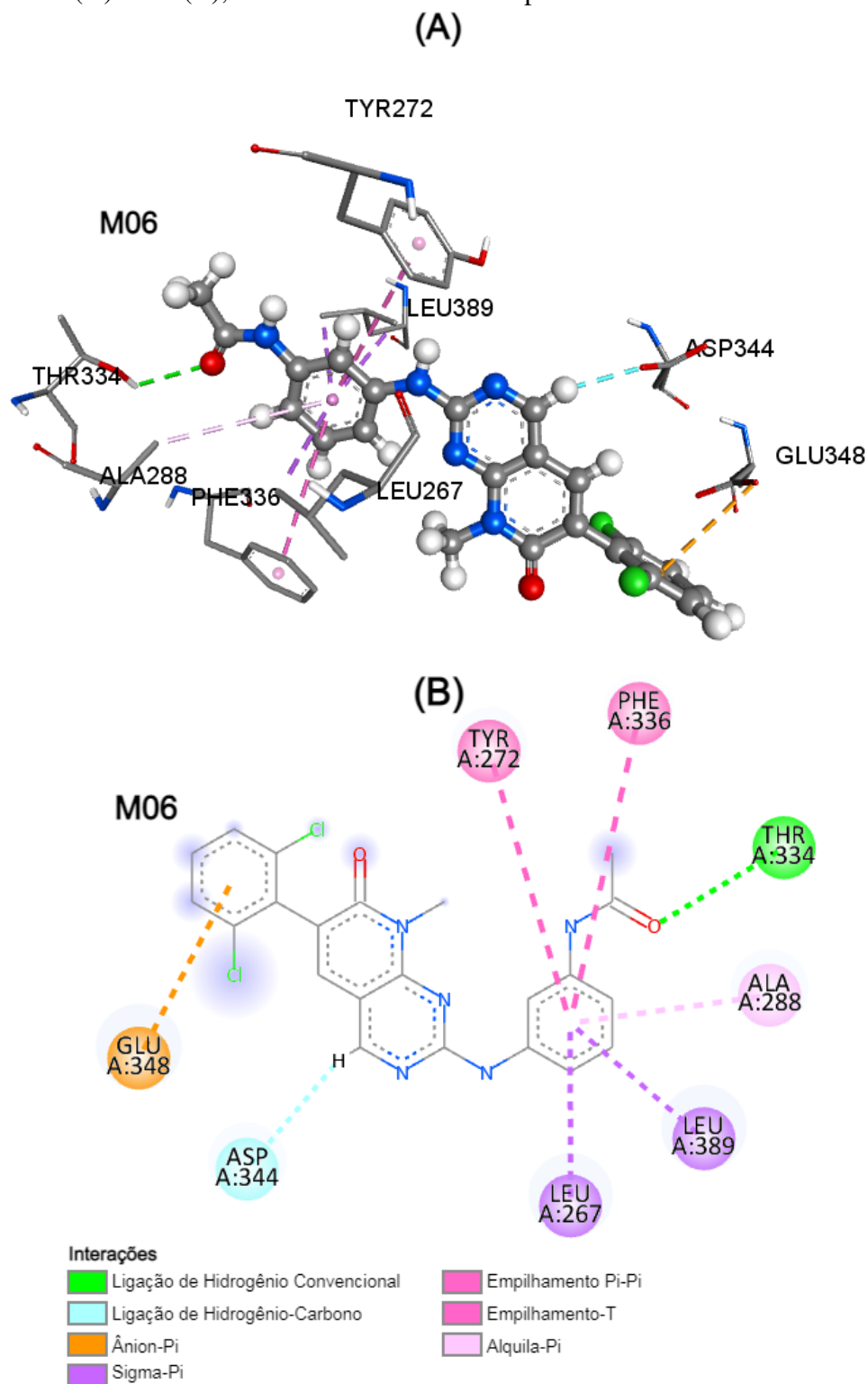
Visto que o complexo apresentou apenas uma ligação de hidrogênio forte e uma ligação de hidrogênio fraca, ele obteve uma energia de interação intermolecular considerada desfavorável no valor de $-31,89 \text{ kcal mol}^{-1}$. Consequentemente, o complexo apresentou um valor de IC_{50} obtido da literatura de 5,0 nM.

4.3.7 Complexo com o ligante M07

O complexo com o ligante M07 calculado com o DockThor, no local do sítio ativo da proteína, apresentou três ligações de hidrogênio, uma interação cátion-pi, quatro interações sigma-pi, duas interações alquila e seis interações alquila-pi, como é mostrado na Figura 4.9.

- Uma ligação de hidrogênio convencional ($2,14 \text{ \AA}$) entre um nitrogênio do anel pirimidina com o hidrogênio do resíduo MET337;
- Uma ligação de hidrogênio convencional ($1,88 \text{ \AA}$) entre o hidrogênio do grupo amina com um oxigênio do resíduo MET337;
- Uma ligação do tipo hidrogênio-carbono ($2,69 \text{ \AA}$) entre o hidrogênio do anel pirimidina com um oxigênio do resíduo GLU335;
- Uma interação do tipo cátion-pi ($4,90 \text{ \AA}$) entre o anel diclorofenil com um nitrogênio do resíduo LYS290;

Figura 4.8: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M06 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



Fonte: Autoria própria, 2022.

- Quatro interações do tipo sigma-pi (resíduo LEU267 com os anéis pirimidina e benzeno, resíduo VAL275 com anel piridina e resíduo LEU389 com anel pirimidina);
- Duas interação do tipo alquila (grupo metila com os resíduos LEU267 e VAL275);
- Seis interações do tipo alquila-pi (grupo metila com resíduo TYR272, anel piridina com os resíduos ALA288 e LEU389, anel pirimidina com o resíduo ALA288, anel diclorofenil com os resíduos LYS290 e VAL318).

Com a substituição do grupo hidroxila na posição R_4 , este substituinte não apresentou qualquer ligação de hidrogênio com os resíduos de proteína, apesar da hidroxila ser uma extremidade polar.

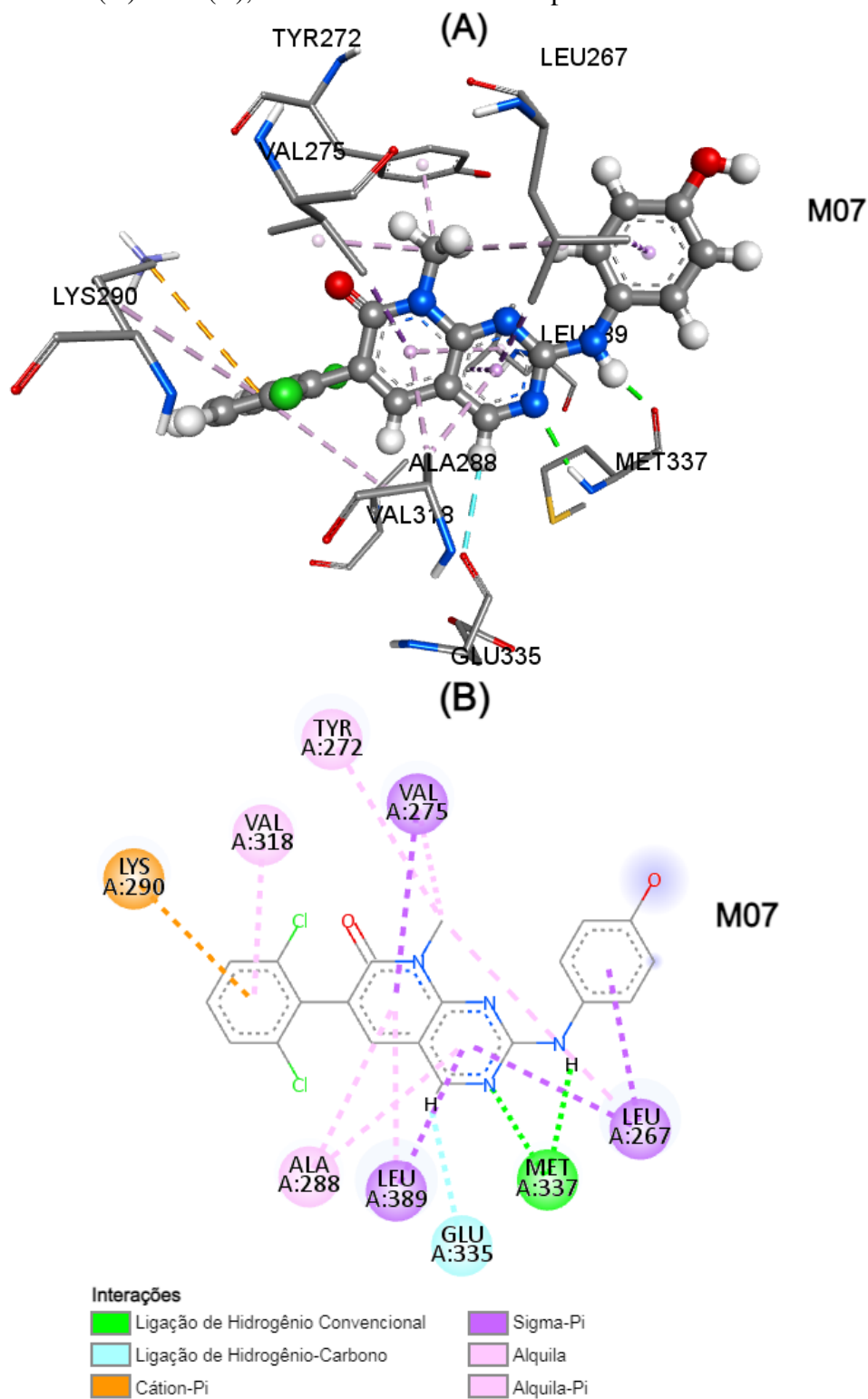
Uma vez que o complexo apresentou duas ligações de hidrogênio fortes e uma ligação de hidrogênio fraca, ele obteve uma energia de interação intermolecular de $-47,79 \text{ kcal mol}^{-1}$ (aproximadamente igual ao valor do substituinte hidroxila na posição R_3 , do complexo M02). Por outro lado, este complexo apresentou um valor de IC_{50} obtido da literatura de 5,3 nM.

4.3.8 Complexo com o ligante M08

O complexo com o ligante M08 calculado com o DockThor, no local do sítio ativo da proteína, apresentou seis ligações de hidrogênio, uma interação cátion-pi, duas interações sigma-pi e seis interações alquila-pi, como é mostrado na Figura 4.10.

- Uma ligação de hidrogênio convencional ($2,07 \text{ \AA}$) entre um nitrogênio do anel pirimidina com o hidrogênio do resíduo MET337;
- Uma ligação de hidrogênio convencional ($2,81 \text{ \AA}$) entre uma hidroxila da galactose (R_4) com um hidrogênio do resíduo ASN341;
- Uma ligação de hidrogênio convencional ($2,57 \text{ \AA}$) entre outra hidroxila da galactose (R_4) com um oxigênio do resíduo GLU348;
- Uma ligação de hidrogênio convencional ($1,76 \text{ \AA}$) entre uma hidroxila da galactose

Figura 4.9: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M07 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



Fonte: Autoria própria, 2022.

(R_4) com um oxigênio do resíduo ASP344;

- Uma ligação de hidrogênio convencional (1,93 Å) entre o hidrogênio do grupo amina com um oxigênio do resíduo MET337;
- Uma ligação do tipo hidrogênio-carbono (2,64 Å) entre o hidrogênio do anel pirimidina com um oxigênio do resíduo GLU335;
- Uma interação do tipo cátion-pi (4,70 Å) entre o anel diclorofenil com um nitrogênio do resíduo LYS290;
- Duas interações do tipo sigma-pi (resíduo VAL275 com anel piridina e resíduo LEU389 com anel pirimidina);
- Seis interações do tipo alquila-pi (LEU389 com anel piridina, anel diclorofenil com resíduo LYS290, resíduo ALA288 com anéis piridina e pirimidina, resíduo LEU267 com anéis pirimidina e benzeno).

Com a substituição da galactose na posição R_4 , este grupo apresentou três ligações de hidrogênio fortes, pois a galactose possui seis extremidades com hidroxilas e oxigênios polarizados.

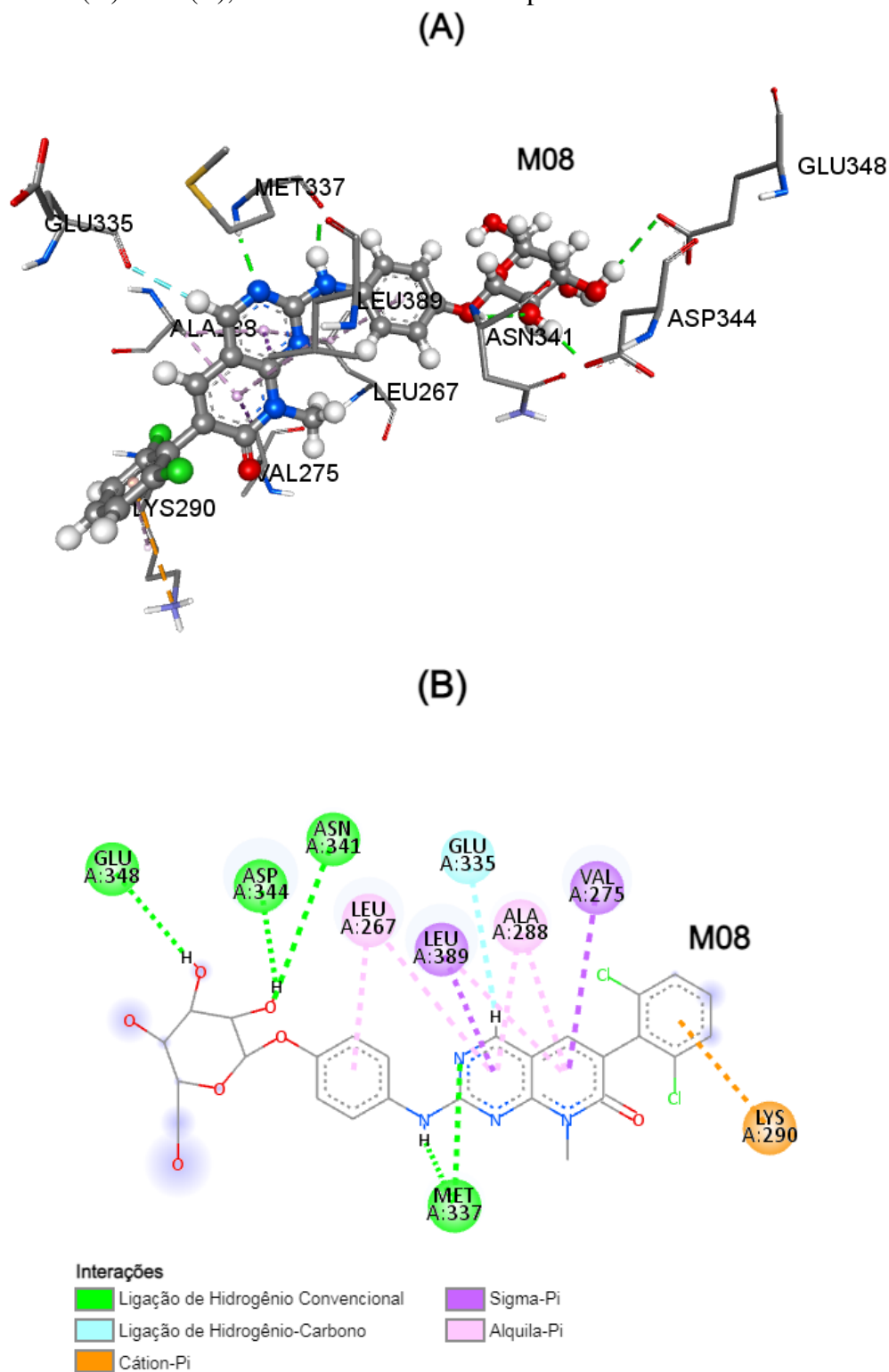
Uma vez que o complexo apresentou cinco ligações de hidrogênio fortes e uma ligação de hidrogênio fraca, ele obteve uma energia de interação intermolecular bastante favorável no valor de $-62,84 \text{ kcal mol}^{-1}$. Da mesma forma, este complexo apresentou um valor de IC_{50} obtido da literatura bastante favorável no valor de 1,4 nM.

4.3.9 Complexo com o ligante M09

O complexo com o ligante M09 calculado com o DockThor, no local do sítio ativo da proteína, apresentou uma interação ânion-pi, duas interações sigma-pi, uma interação empilhamento-T, uma interação alquila e cinco interações alquila-pi, como é mostrado na Figura 4.11.

- Uma interação do tipo ânion-pi (3,74 Å) entre o anel diclorofenil com um oxigênio

Figura 4.10: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M08 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



Fonte: Autoria própria, 2022.

do resíduo ASP344;

- Duas interações do tipo sigma-pi (anel pirimidina com resíduo GLY340 e anel benzeno com resíduo LEU389);
- Uma interação do tipo empilhamento-T (anel benzeno com resíduo TYR272);
- Uma interação do tipo alquila (grupo metila com resíduo LEU267);
- Cinco interações do tipo alquila-pi (grupo metila com resíduo PHE336, anel pirimidina com resíduos LEU267 e LEU389, anel benzeno com resíduos VAL275 e ALA288).

Com a substituição do iodo na posição R_4 , este grupo não apresentou qualquer ligação de hidrogênio com os resíduos de proteína, pois ele possui uma característica apolar.

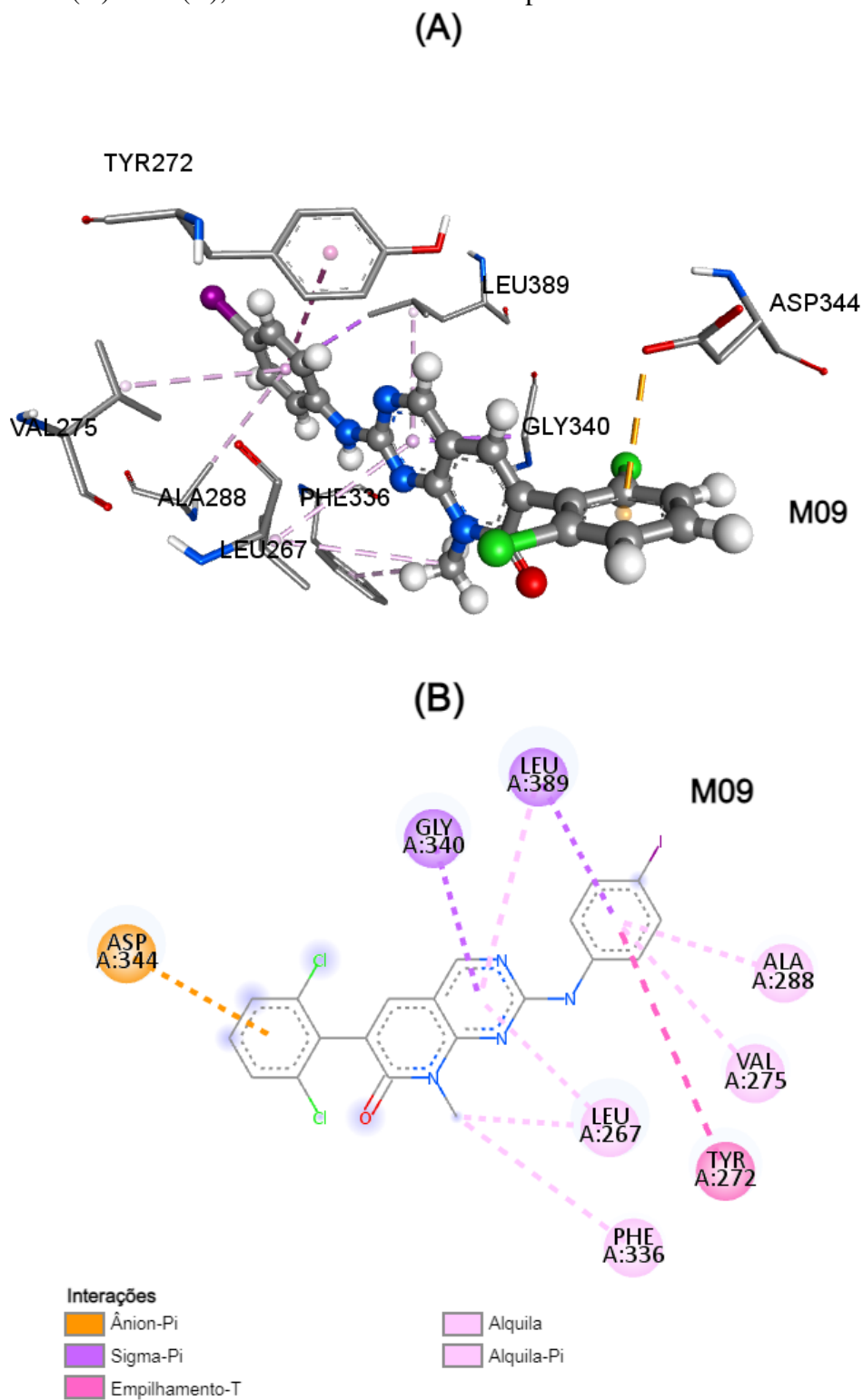
Uma vez que o complexo não apresentou qualquer ligação de hidrogênio, ele obteve uma energia de interação intermolecular desfavorável no valor de $-36,45 \text{ kcal mol}^{-1}$. Da mesma forma, o complexo apresentou um valor de IC_{50} obtido da literatura de 13 nM, obtendo assim uma baixa potência de inibição.

4.3.10 Complexo com o ligante M10

O complexo com o ligante M10 calculado com o DockThor, no local do sítio ativo da proteína, apresentou uma interação ânion-pi, uma interação sigma-pi, uma interação empilhamento-T, uma interação alquila e cinco interações alquila-pi, como é mostrado na Figura 4.12.

- Uma interação do tipo ânion-pi ($3,72 \text{ \AA}$) entre o anel diclorofenil com um oxigênio do resíduo ASP344;
- Uma interação do tipo sigma-pi (anel benzeno com resíduo LEU389);
- Uma interação do tipo empilhamento-T (anel benzeno com resíduo TYR272);
- Uma interação do tipo alquila (grupo metila com resíduo LEU267);
- Cinco interações do tipo alquila-pi (grupo metila com resíduo PHE336, anel pi-

Figura 4.11: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M09 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



Fonte: Autoria própria, 2022.

rimidina com resíduo LEU267, anel benzeno com resíduos LEU267, VAL275 e ALA288).

Com a substituição do flúor na posição R_4 , este grupo não apresentou qualquer ligação de hidrogênio com os resíduos de proteína, pois ele possui uma característica apolar.

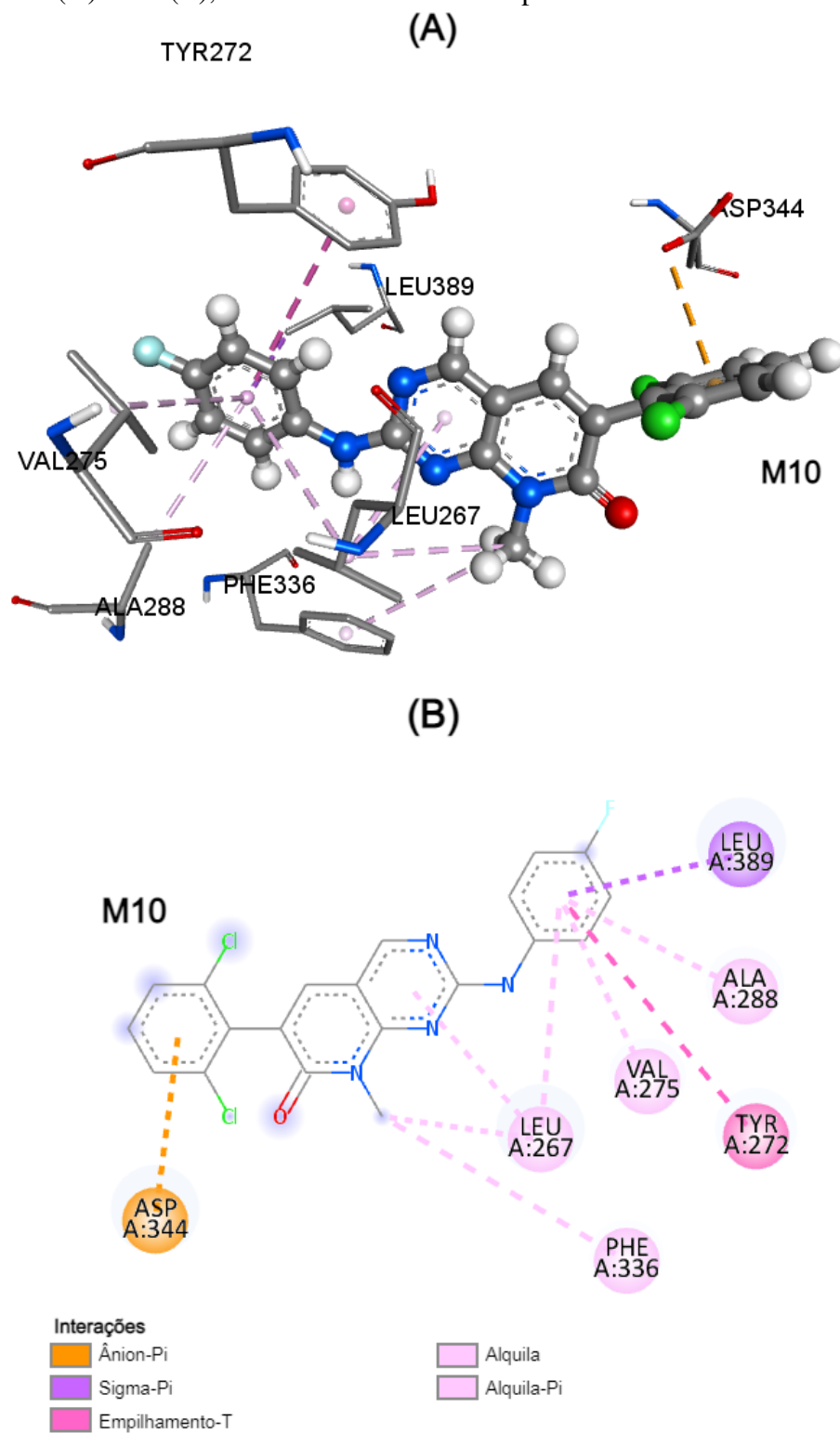
Uma vez que o complexo não apresentou qualquer ligação de hidrogênio, ele obteve uma energia de interação intermolecular desfavorável no valor de $-32,33 \text{ kcal mol}^{-1}$. Da mesma forma, o complexo obteve uma baixa potência de inibição, com um valor de IC_{50} obtido da literatura de 21 nM.

4.3.11 Complexo com o ligante M11

O complexo com o ligante M11 calculado com o DockThor, no local do sítio ativo da proteína, apresentou três ligações de hidrogênio, uma interação cátion-pi, três interações sigma-pi, duas interações alquila e sete interações alquila-pi, como é mostrado na Figura 4.13.

- Uma ligação de hidrogênio convencional ($2,15 \text{ \AA}$) entre um nitrogênio do anel pirimidina com o hidrogênio do resíduo MET337;
- Uma ligação de hidrogênio convencional ($1,89 \text{ \AA}$) entre o hidrogênio do grupo amina com um oxigênio do resíduo MET337;
- Uma ligação do tipo hidrogênio-carbono ($2,72 \text{ \AA}$) entre o hidrogênio do anel pirimidina com um oxigênio do resíduo GLU335;
- Uma interação do tipo cátion-pi ($4,89 \text{ \AA}$) entre o anel diclorofenil com um nitrogênio do resíduo LYS290;
- Três interações do tipo sigma-pi (anel piridina com resíduo VAL275, anel pirimidina com resíduos LEU267 e LEU389);
- Duas interações do tipo alquila (grupo metila com resíduos LEU267 e VAL275);
- Sete interações do tipo alquila-pi (grupo metila com resíduo TYR272, anel pirimi-

Figura 4.12: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M10 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



Fonte: Autoria própria, 2022.

dina com resíduo ALA288, anel piridina com resíduos ALA288 e LEU389, anel diclorofenil com resíduos LYS290 e VAL318, anel benzeno com resíduo LEU267).

Com a substituição do grupo metila na posição R_4 , este grupo não apresentou qualquer ligação de hidrogênio com os resíduos de proteína, devido à condição apolar da metila.

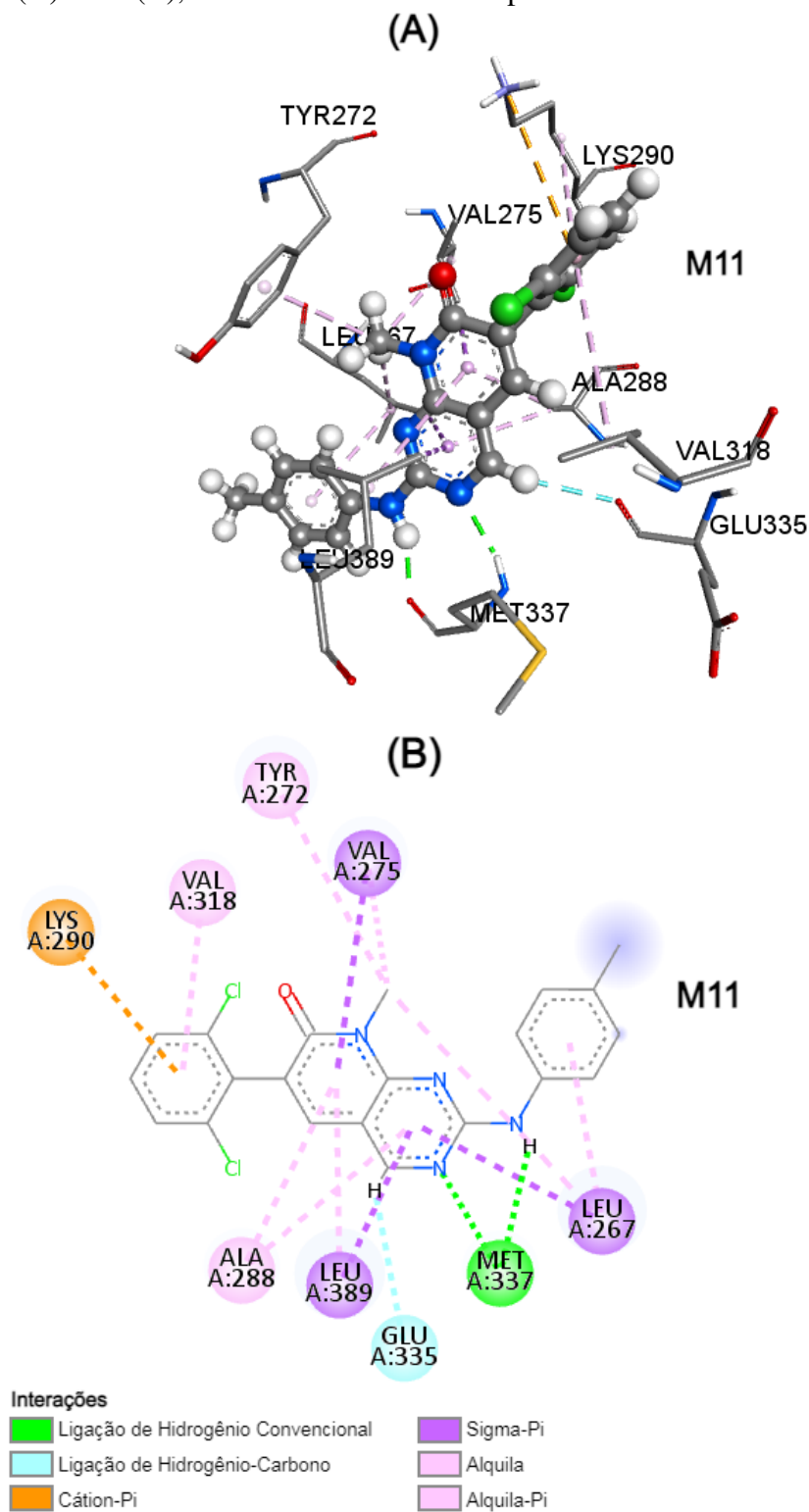
Visto que o complexo apresentou duas ligações de hidrogênio fortes e uma ligação de hidrogênio fraca, ele obteve uma energia de interação intermolecular de $-47,96 \text{ kcal mol}^{-1}$ (sendo portanto mais favorável que o valor do substituinte metila na posição R_3 , do complexo M03). Por outro lado, o complexo apresentou um valor de IC_{50} obtido da literatura menos potente no valor de 30 nM.

4.3.12 Complexo com o ligante M12

O complexo com o ligante M12 calculado com o DockThor, no local do sítio ativo da proteína, apresentou três ligações de hidrogênio, uma interação cátion-pi, quatro interações sigma-pi, uma interação empilhamento-T, duas interações alquila e sete interações alquila-pi, como é mostrado na Figura 4.14.

- Uma ligação de hidrogênio convencional ($2,25 \text{ \AA}$) entre um nitrogênio do anel pirimidina com o hidrogênio do resíduo MET337;
- Uma ligação de hidrogênio convencional ($1,99 \text{ \AA}$) entre o hidrogênio do grupo amina com um oxigênio do resíduo MET337;
- Uma ligação de hidrogênio convencional ($2,01 \text{ \AA}$) entre a hidroxila do grupo etanol (R_4) com um oxigênio do resíduo ASP344;
- Uma interação do tipo cátion-pi ($4,97 \text{ \AA}$) entre o anel diclorofenil com um nitrogênio do resíduo LYS290;
- Quatro interações do tipo sigma-pi (anel piridina com resíduo VAL275, anel diclorofenil com resíduo THR334, anel pirimidina com resíduos LEU267 e LEU389);
- Uma interação do tipo Empilhamento-T (anel piridina com resíduo TYR272);

Figura 4.13: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M11 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



Fonte: Autoria própria, 2022.

- Duas interações do tipo alquila (grupo metila com resíduos LEU267 e VAL275);
- Sete interações do tipo alquila-pi (grupo metila com resíduo TYR272, anel pirimidina com resíduo ALA288, anel piridina com resíduos ALA288 e LEU389, anel diclorofenil com resíduos LYS290 e VAL318, anel benzeno com resíduo LEU267).

Com a substituição do grupo etanol na posição R_4 , este substituinte apresentou uma ligação de hidrogênio com o resíduo ASP344, pois o etanol possui sua extremidade polarizada na hidroxila.

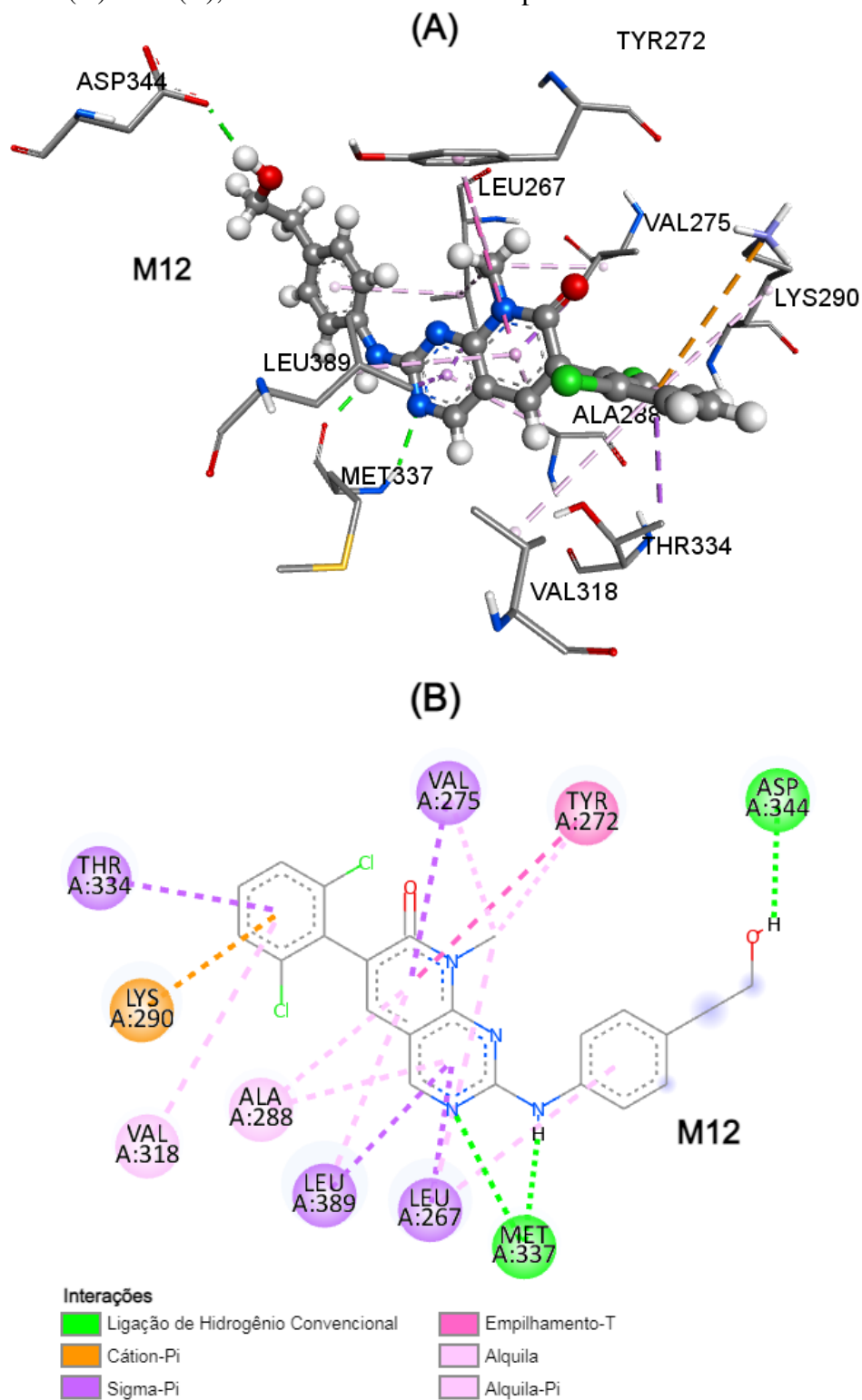
Uma vez que o complexo apresentou três ligações de hidrogênio fortes, ele obteve uma energia de interação intermolecular de $-53,84 \text{ kcal mol}^{-1}$ (aproximadamente igual ao valor do substituinte metanol na posição R_3 , do complexo M01). Por outro lado, este complexo apresentou um valor de IC_{50} obtido da literatura de 8,2 nM.

4.3.13 Complexo com o ligante M13

O complexo com o ligante M13 calculado com o DockThor, no local do sítio ativo da proteína, apresentou três ligações de hidrogênio, uma interação cátion-pi, duas interações sigma-pi, duas interações alquila e sete interações alquila-pi, como é mostrado na Figura 4.15.

- Uma ligação de hidrogênio convencional ($2,13 \text{ \AA}$) entre um nitrogênio do anel pirimidina com o hidrogênio do resíduo MET337;
- Uma ligação de hidrogênio convencional ($1,88 \text{ \AA}$) entre o hidrogênio do grupo amina com um oxigênio do resíduo MET337;
- Uma ligação do tipo hidrogênio-carbono ($2,72 \text{ \AA}$) entre o hidrogênio do anel pirimidina com um oxigênio do resíduo GLU335;
- Uma interação do tipo cátion-pi ($4,87 \text{ \AA}$) entre o anel diclorofenil com um nitrogênio do resíduo LYS290;
- Duas interações do tipo sigma-pi (resíduo VAL275 com anel piridina e resíduo

Figura 4.14: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M01 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



Fonte: Autoria própria, 2022.

LEU389 com anel pirimidina);

- Duas interação do tipo alquila (grupo metila com os resíduos LEU267 e VAL275);
- Sete interações do tipo alquila-pi (grupo metila com resíduo TYR272, anel piridina com os resíduos ALA288 e LEU389, anel pirimidina com os resíduos LEU267 e ALA288, anel diclorofenil com o resíduo LYS290, anel benzeno com o resíduo LEU267).

Com a substituição da amina na posição R_4 , este grupo não apresentou qualquer ligação de hidrogênio com os resíduos de proteína, apesar da natureza polar do grupo amina.

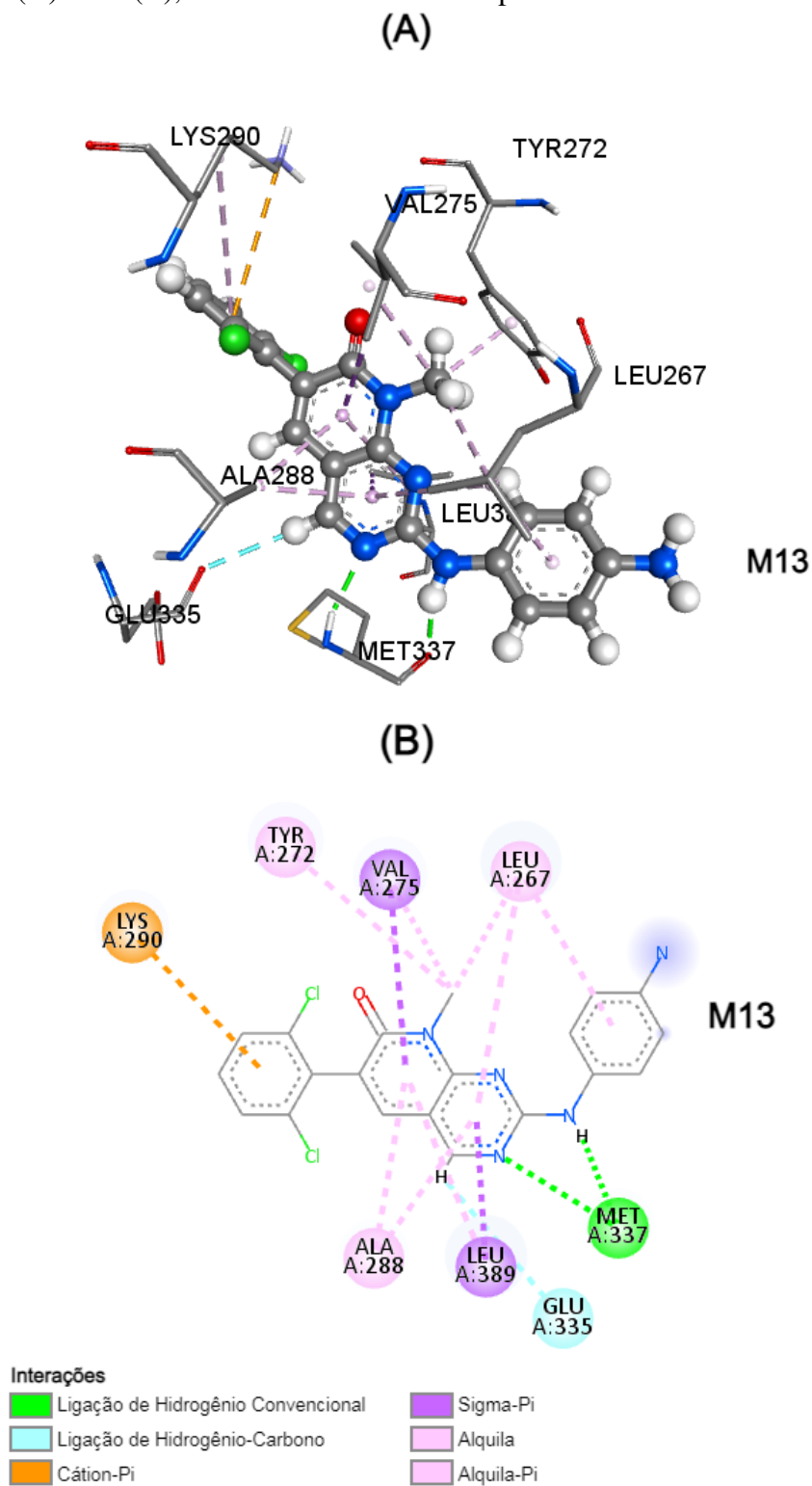
Uma vez que o complexo apresentou duas ligações de hidrogênio fortes e uma ligação de hidrogênio fraca, ele obteve uma energia de interação intermolecular no valor de $-47,47 \text{ kcal mol}^{-1}$ (sendo mais favorável que o valor do substituinte amina na posição R_3 , do complexo M05). Consequentemente, o complexo obteve uma boa potência de inibição, apresentando um valor de IC_{50} obtido da literatura de 2,3 nM.

4.3.14 Complexo com o ligante M14

O complexo com o ligante M14 calculado com o DockThor, no local do sítio ativo da proteína, apresentou quatro ligações de hidrogênio, uma interação cátion-pi, três interações sigma-pi, duas interações alquila e seis interações alquila-pi, como é mostrado na Figura 4.16.

- Uma ligação de hidrogênio convencional ($2,51 \text{ \AA}$) entre o oxigênio do grupo acetamida (R_4) com o hidrogênio do resíduo GLY268;
- Uma ligação de hidrogênio convencional ($2,14 \text{ \AA}$) entre um nitrogênio do anel pirimidina com o hidrogênio do resíduo MET337;
- Uma ligação de hidrogênio convencional ($1,88 \text{ \AA}$) entre o hidrogênio do grupo amina com um oxigênio do resíduo MET337;

Figura 4.15: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M13 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



Fonte: Autoria própria, 2022.

- Uma ligação do tipo hidrogênio-carbono ($2,72 \text{ \AA}$) entre o hidrogênio do anel pirimidina com um oxigênio do resíduo GLU335;
- Uma interação do tipo cátion-pi ($4,86 \text{ \AA}$) entre o anel diclorofenil com um nitrogênio do resíduo LYS290;
- Três interações do tipo sigma-pi (anel piridina com resíduo VAL275, anel pirimidina com resíduos LEU267 e LEU389);
- Duas interação do tipo alquila (grupo metila com os resíduos LEU267 e VAL275);
- Seis interações do tipo alquila-pi (grupo metila com resíduo TYR272, anel piridina com os resíduos ALA288 e LEU389, anel pirimidina com o resíduo ALA288, anel diclorofenil com o resíduo LYS290, anel benzeno com o resíduo LEU267).

Com a substituição do grupo acetamida na posição R_4 , este substituinte apresentou uma ligação de hidrogênio com o resíduo GLY268, pois este grupo possui uma extremidade polarizada na cetona.

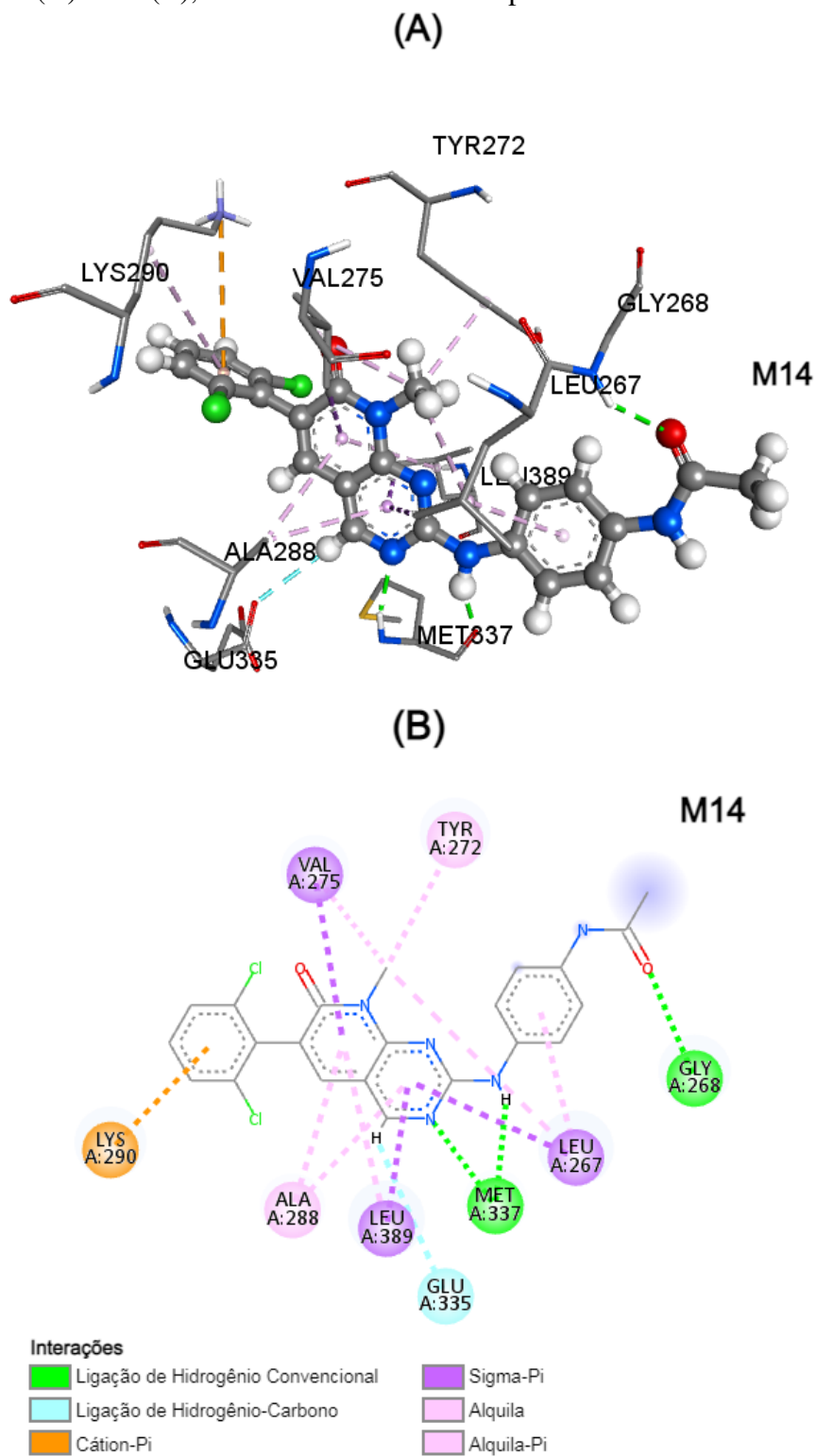
Uma vez que o complexo apresentou três ligações de hidrogênio fortes e uma ligação de hidrogênio fraca, ele obteve uma energia de interação intermolecular de $-50,88 \text{ kcal mol}^{-1}$ (sendo mais favorável que o valor do substituinte acetamida na posição R_3 , do complexo M06). Consequentemente, este complexo apresentou um valor de IC_{50} obtido da literatura de $4,8 \text{ nM}$.

4.3.15 Complexo com o ligante M15

O complexo com o ligante M15 calculado com o DockThor, no local do sítio ativo da proteína, apresentou quatro ligações de hidrogênio, uma interação cátion-pi, duas interações sigma-pi, duas interações alquila e oito interações alquila-pi, como é mostrado na Figura 4.17.

- Uma ligação de hidrogênio convencional ($2,51 \text{ \AA}$) entre o oxigênio do grupo cloroacetamida (R_4) com o hidrogênio do resíduo GLY268;

Figura 4.16: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M14 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



Fonte: Autoria própria, 2022.

- Uma ligação de hidrogênio convencional (2,14 Å) entre um nitrogênio do anel pirimidina com o hidrogênio do resíduo MET337;
- Uma ligação de hidrogênio convencional (1,86 Å) entre o hidrogênio do grupo amina com um oxigênio do resíduo MET337;
- Uma ligação do tipo hidrogênio-carbono (2,74 Å) entre o hidrogênio do anel pirimidina com um oxigênio do resíduo GLU335;
- Uma interação do tipo cátion-pi (4,88 Å) entre o anel diclorofenil com um nitrogênio do resíduo LYS290;
- Duas interações do tipo sigma-pi (anel piridina com resíduo VAL275, anel pirimidina com resíduo LEU389);
- Duas interação do tipo alquila (grupo metila com os resíduos LEU267 e VAL275);
- Oito interações do tipo alquila-pi (grupo metila com resíduo TYR272, anel piridina com os resíduos ALA288 e LEU389, anel pirimidina com os resíduos LEU267 e ALA288, anel diclorofenil com os resíduos LYS290 e VAL318, anel benzeno com o resíduo LEU267).

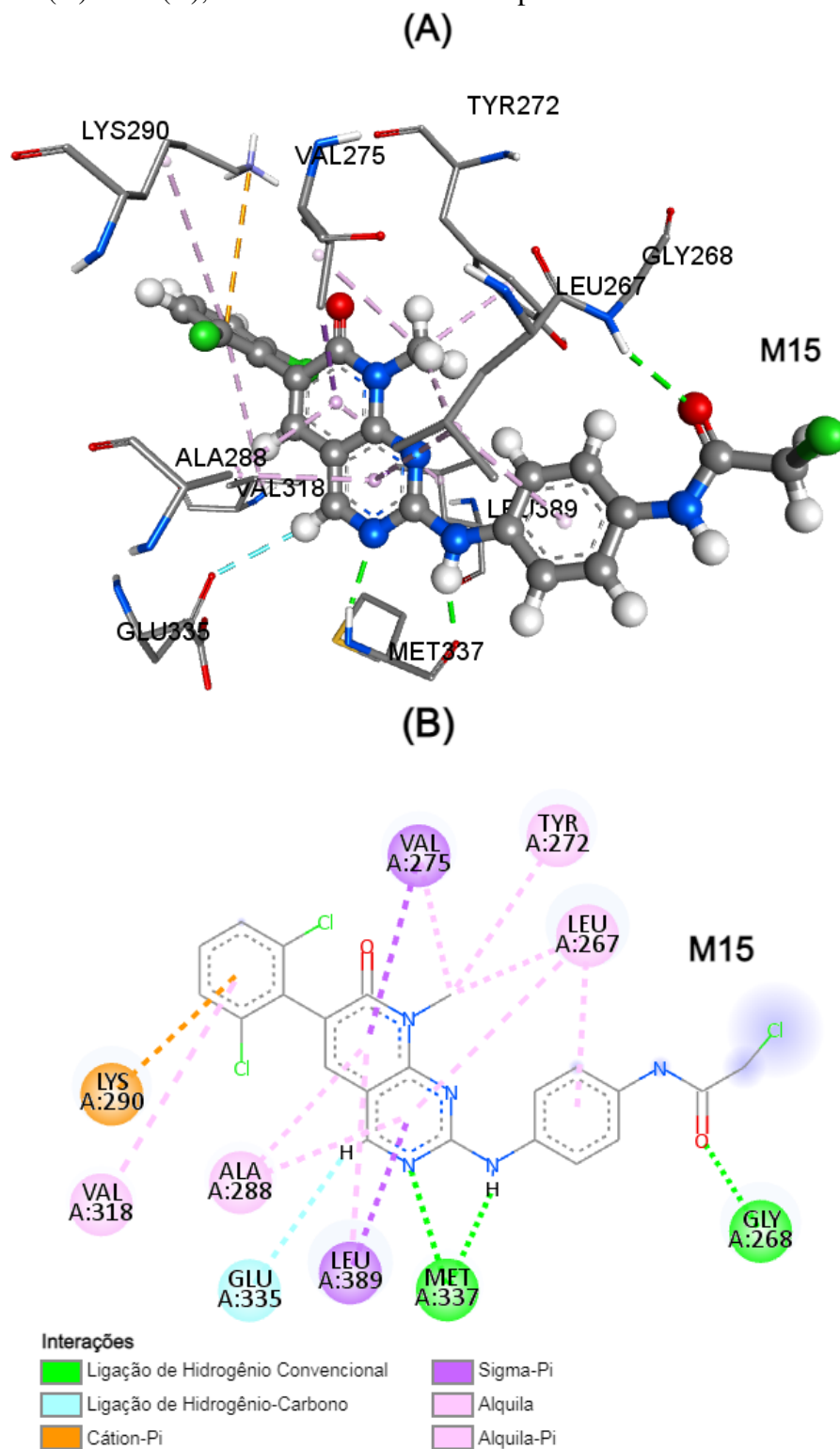
Com a substituição da cloroacetamida na posição R_4 , este substituinte apresentou uma ligação de hidrogênio com o resíduo GLY268, pois este grupo possui uma extremidade polarizada na cetona.

Uma vez que o complexo apresentou três ligações de hidrogênio fortes e uma ligação de hidrogênio fraca, ele obteve uma energia de interação intermolecular de $-51,66 \text{ kcal mol}^{-1}$ (próximo ao valor do substituinte acetamida, do complexo M14). Por outro lado, este complexo apresentou um valor de IC_{50} obtido da literatura de 7,6 nM.

4.3.16 Complexo com o ligante M16

O complexo com o ligante M16 calculado com o DockThor, no local do sítio ativo da proteína, apresentou quatro ligações de hidrogênio, uma interação cátion-pi, quatro

Figura 4.17: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M15 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



Fonte: Autoria própria, 2022.

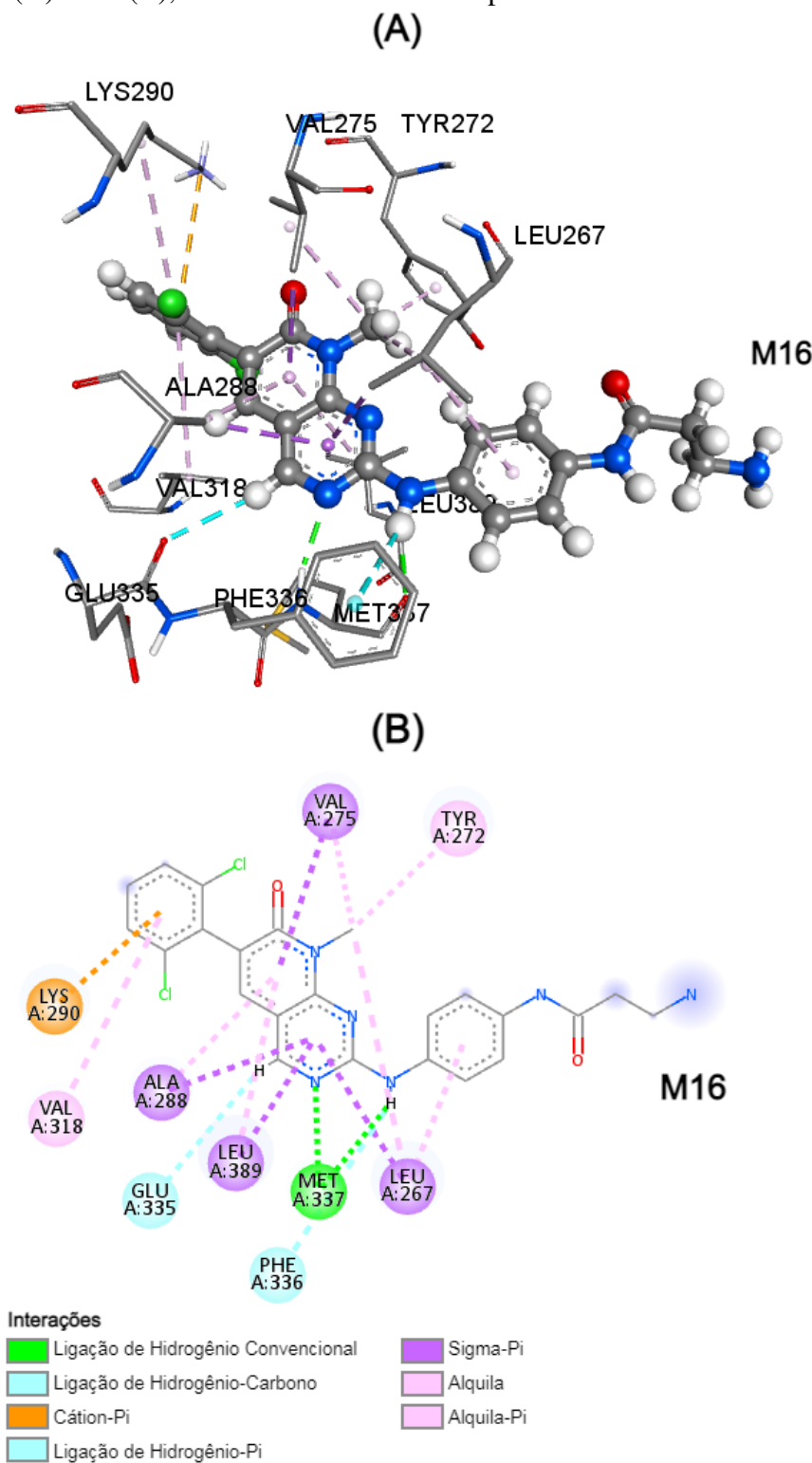
interações sigma-pi, duas interações alquila e seis interações alquila-pi, como é mostrado na Figura 4.18.

- Uma ligação de hidrogênio convencional (2,20 Å) entre um nitrogênio do anel pirimidina com o hidrogênio do resíduo MET337;
- Uma ligação de hidrogênio convencional (2,16 Å) entre o hidrogênio do grupo amina com um oxigênio do resíduo MET337;
- Uma ligação do tipo hidrogênio-carbono (2,74 Å) entre o hidrogênio do anel pirimidina com um oxigênio do resíduo GLU335;
- Uma ligação do tipo hidrogênio-pi (3,33 Å) entre o hidrogênio do grupo amina com o resíduo PHE336;
- Uma interação do tipo cátion-pi (4,92 Å) entre o anel diclorofenil com um nitrogênio do resíduo LYS290;
- Quatro interações do tipo sigma-pi (anel piridina com resíduo VAL275, anel pirimidina com resíduos LEU267, ALA288 e LEU389);
- Duas interação do tipo alquila (grupo metila com os resíduos LEU267 e VAL275);
- Seis interações do tipo alquila-pi (grupo metila com resíduo TYR272, anel piridina com os resíduos ALA288 e LEU389, anel diclorofenil com os resíduos LYS290 e VAL318, anel benzeno com o resíduo LEU267).

Com a substituição de 3-aminopropanamida na posição R_4 , este grupo não apresentou qualquer ligação de hidrogênio com os resíduos de proteína, apesar deste substituinte possuir extremidades polarizadas.

Uma vez que o complexo apresentou duas ligações de hidrogênio fortes e duas ligações de hidrogênio fracas, ele obteve uma energia de interação intermolecular no valor de $-51,34 \text{ kcal mol}^{-1}$ (próximo ao valor dos substituintes derivados de amida na posição R_4). Consequentemente, o complexo apresentou um valor de IC_{50} obtido da literatura de 4,7 nM.

Figura 4.18: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M16 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



Fonte: Autoria própria, 2022.

4.3.17 Complexo com o ligante M17

O complexo com o ligante M17 calculado com o DockThor, no local do sítio ativo da proteína, apresentou seis ligações de hidrogênio, uma interação cátion-pi, três interações sigma-pi e seis interações alquila-pi, como é mostrado na Figura 4.19.

- Uma ligação de hidrogênio convencional (2,22 Å) entre um nitrogênio do anel pirimidina com o hidrogênio do resíduo MET337;
- Uma ligação de hidrogênio convencional (2,80 Å) entre uma hidroxila do grupo 3-aminopropano-1,2-diol (R_4) com um hidrogênio do resíduo ASN341;
- Uma ligação de hidrogênio convencional (1,97 Å) entre o hidrogênio do grupo amina com um oxigênio do resíduo MET337;
- Uma ligação de hidrogênio convencional (1,74 Å) entre uma hidroxila do grupo 3-aminopropano-1,2-diol (R_4) com um oxigênio do resíduo ASP344;
- Uma ligação de hidrogênio convencional (1,70 Å) entre outra hidroxila do grupo 3-aminopropano-1,2-diol (R_4) com um oxigênio do resíduo ASP344;
- Uma ligação do tipo hidrogênio-carbono (2,69 Å) entre o hidrogênio do anel pirimidina com um oxigênio do resíduo GLU335;
- Uma interação do tipo cátion-pi (4,84 Å) entre o anel diclorofenil com um nitrogênio do resíduo LYS290;
- Três interações do tipo sigma-pi (anel piridina com resíduo VAL275, anel diclorofenil com resíduo THR334, anel pirimidina com resíduo LEU389);
- Seis interações do tipo alquila-pi (anel piridina com os resíduos ALA288 e LEU389, anel pirimidina com os resíduos LEU267 e ALA288, anel diclorofenil com o resíduo LYS290, anel benzeno com o resíduo LEU267).

Com a substituição de 3-aminopropano-1,2-diol na posição R_4 , este grupo apresentou três ligações de hidrogênio fortes, pois este substituinte possui duas extremidades polarizadas nas hidroxilas.

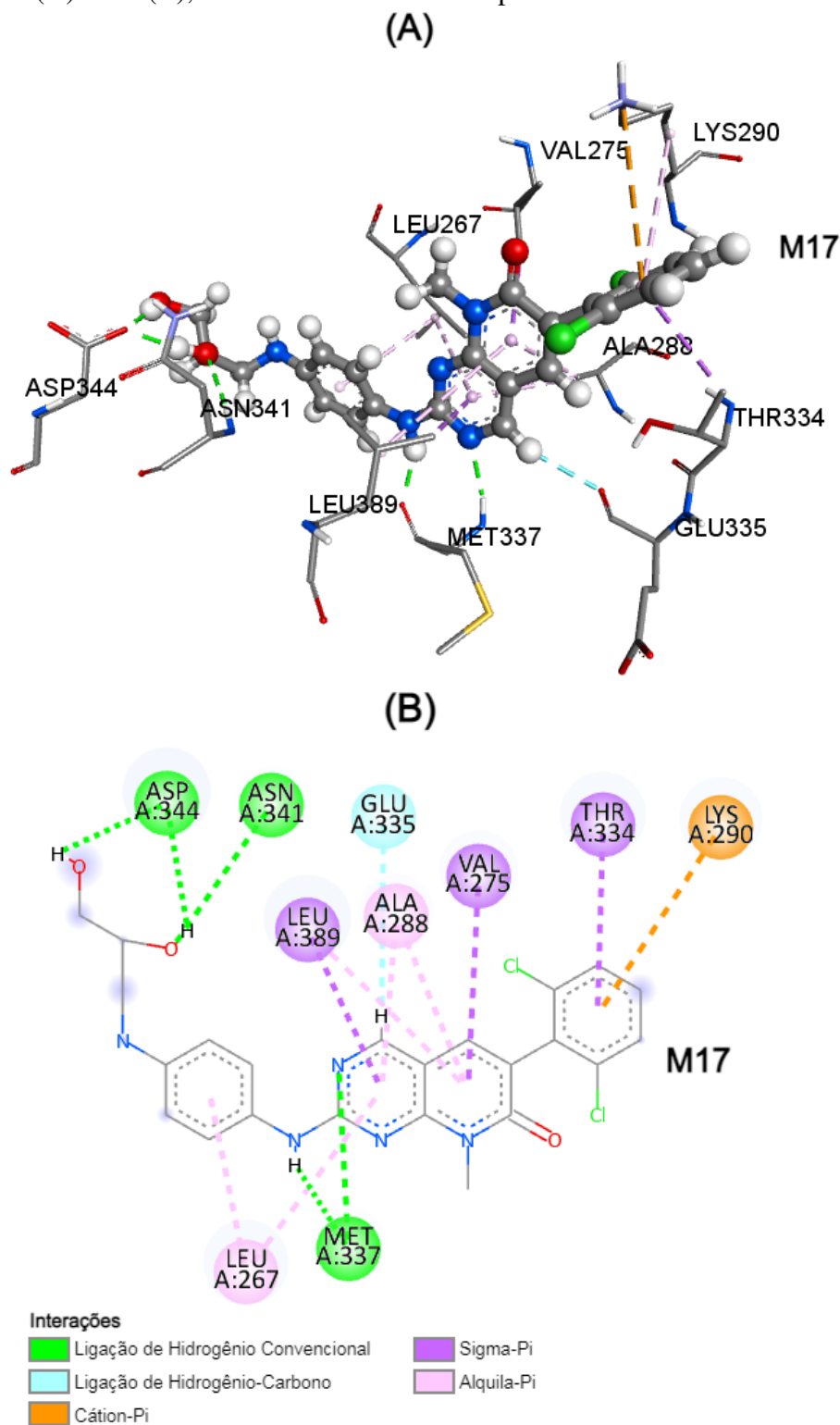
Uma vez que o complexo apresentou cinco ligações de hidrogênio fortes e uma ligação de hidrogênio fraca, ele obteve uma energia de interação intermolecular bastante favorável no valor de $-64,65 \text{ kcal mol}^{-1}$. Da mesma forma, este complexo apresentou um valor de IC_{50} obtido da literatura no valor de 2,3 nM, resultando num potencial de inibição bastante favorável.

4.3.18 Complexo com o ligante M18

O complexo com o ligante M18 calculado com o DockThor, no local do sítio ativo da proteína, apresentou cinco ligações de hidrogênio, uma interação cátion-pi, duas interações sigma-pi, duas interações alquila e oito interações alquila-pi, como é mostrado na Figura 4.20.

- Uma ligação de hidrogênio convencional (2,89 Å) entre um metanal do grupo R_4 com o hidrogênio do resíduo GLY268;
- Uma ligação de hidrogênio convencional (2,16 Å) entre um nitrogênio do anel pirimidina com o hidrogênio do resíduo MET337;
- Uma ligação de hidrogênio convencional (2,01 Å) entre uma amina do grupo R_4 com um oxigênio do resíduo ASP344;
- Uma ligação de hidrogênio convencional (1,95 Å) entre o hidrogênio do grupo amina com um oxigênio do resíduo MET337;
- Uma ligação do tipo hidrogênio-carbono (2,73 Å) entre o hidrogênio do anel pirimidina com um oxigênio do resíduo GLU335;
- Uma interação do tipo cátion-pi (4,89 Å) entre o anel diclorofenil com um nitrogênio do resíduo LYS290;
- Duas interações do tipo sigma-pi (anel piridina com resíduo VAL275, anel pirimidina com resíduo LEU389);
- Duas interação do tipo alquila (grupo metila com os resíduos LEU267 e VAL275);

Figura 4.19: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M17 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



Fonte: Autoria própria, 2022.

- Oito interações do tipo alquila-pi (grupo metila com resíduo TYR272, anel piridina com os resíduos ALA288 e LEU389, anel pirimidina com os resíduos LEU267 e ALA288, anel diclorofenil com os resíduos LYS290 e VAL318, anel benzeno com o resíduo LEU267).

Com a mudança de grupo substituinte na posição R_4 , este substituinte apresentou duas ligações de hidrogênio fortes, devido às extremidades polarizadas presentes neste grupo.

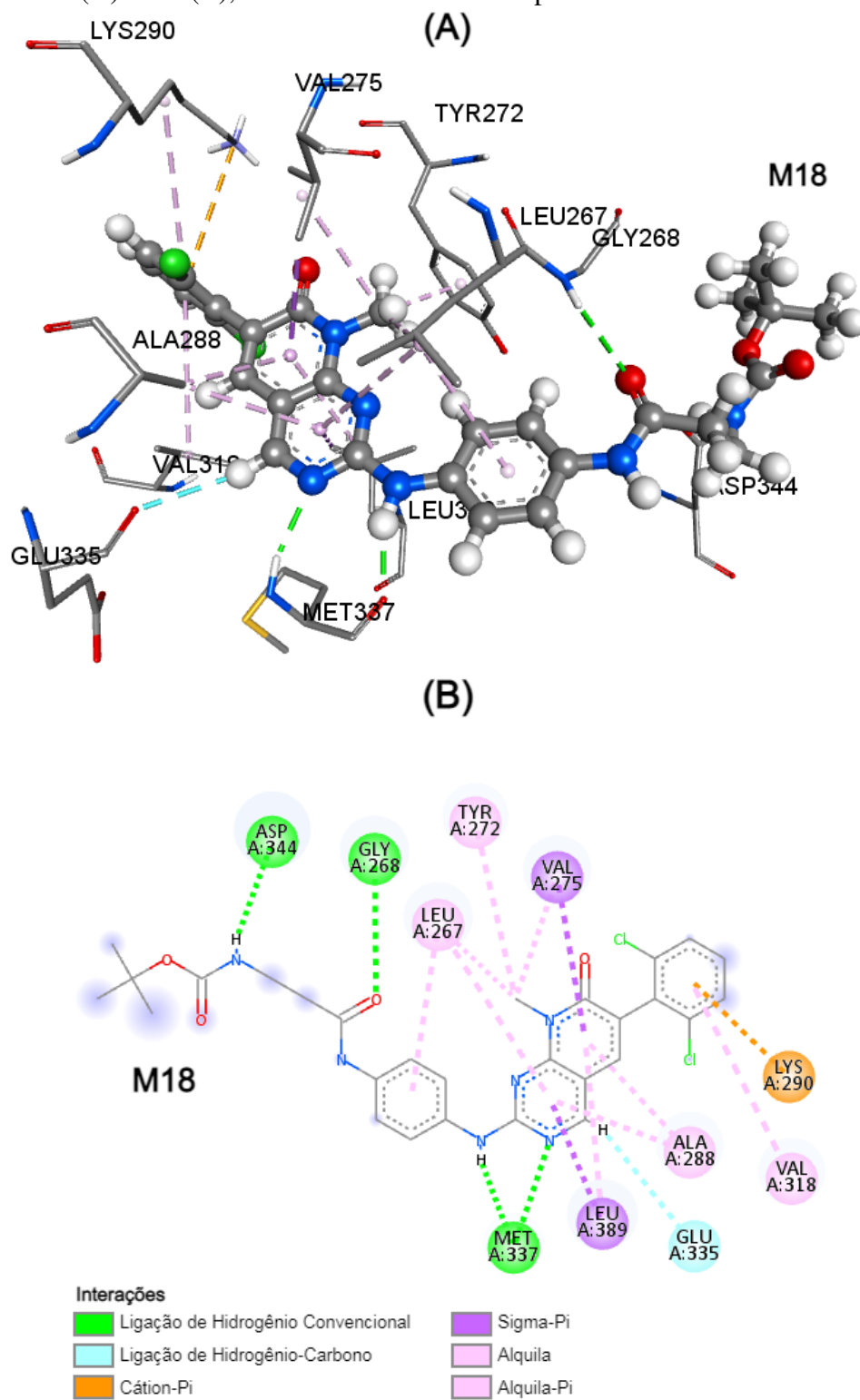
Visto que o complexo apresentou quatro ligações de hidrogênio fortes e uma ligação de hidrogênio fraca, ele obteve uma energia de interação intermolecular favorável no valor de $-57,77 \text{ kcal mol}^{-1}$. Por outro lado, este complexo apresentou um valor de IC_{50} obtido da literatura no valor de 12 nM, indicando num baixo potencial de inibição, com relação ao complexo M01.

4.3.19 Complexo com o ligante M19

O complexo com o ligante M19 calculado com o DockThor, no local do sítio ativo da proteína, apresentou seis ligações de hidrogênio, uma interação cátion-pi, quatro interações sigma-pi, duas interações alquila e seis interações alquila-pi, como é mostrado na Figura 4.21.

- Uma ligação de hidrogênio convencional ($2,54 \text{ \AA}$) entre o metanal do grupo R_4 com o hidrogênio do resíduo GLY268;
- Uma ligação de hidrogênio convencional ($2,19 \text{ \AA}$) entre um nitrogênio do anel pirimidina com o hidrogênio do resíduo MET337;
- Uma ligação de hidrogênio convencional ($1,93 \text{ \AA}$) entre o hidrogênio do grupo amina com um oxigênio do resíduo MET337;
- Uma ligação do tipo hidrogênio-carbono ($2,93 \text{ \AA}$) entre um hidrogênio do anel piperazina (R_4) com um oxigênio do resíduo TYR339;
- Uma ligação do tipo hidrogênio-carbono ($2,76 \text{ \AA}$) entre a metila do anel piperazina

Figura 4.20: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M18 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



Fonte: Autoria própria, 2022.

(R_4) com um oxigênio do resíduo GLU348;

- Uma ligação do tipo hidrogênio-carbono (2,79 Å) entre o hidrogênio do anel pirimidina com um oxigênio do resíduo GLU335;
- Uma interação do tipo cátion-pi (4,89 Å) entre o anel diclorofenil com um nitrogênio do resíduo LYS290;
- Quatro interações do tipo sigma-pi (anel benzeno com resíduo LEU267, anel piridina com resíduo VAL275, anel diclorofenil com resíduo THR334, anel pirimidina com resíduo LEU389);
- Duas interação do tipo alquila (grupo metila com os resíduos LEU267 e VAL275);
- Seis interações do tipo alquila-pi (grupo metila com resíduo TYR272, anel piridina com os resíduos ALA288 e LEU389, anel pirimidina com os resíduos LEU267 e ALA288, anel diclorofenil com o resíduo LYS290).

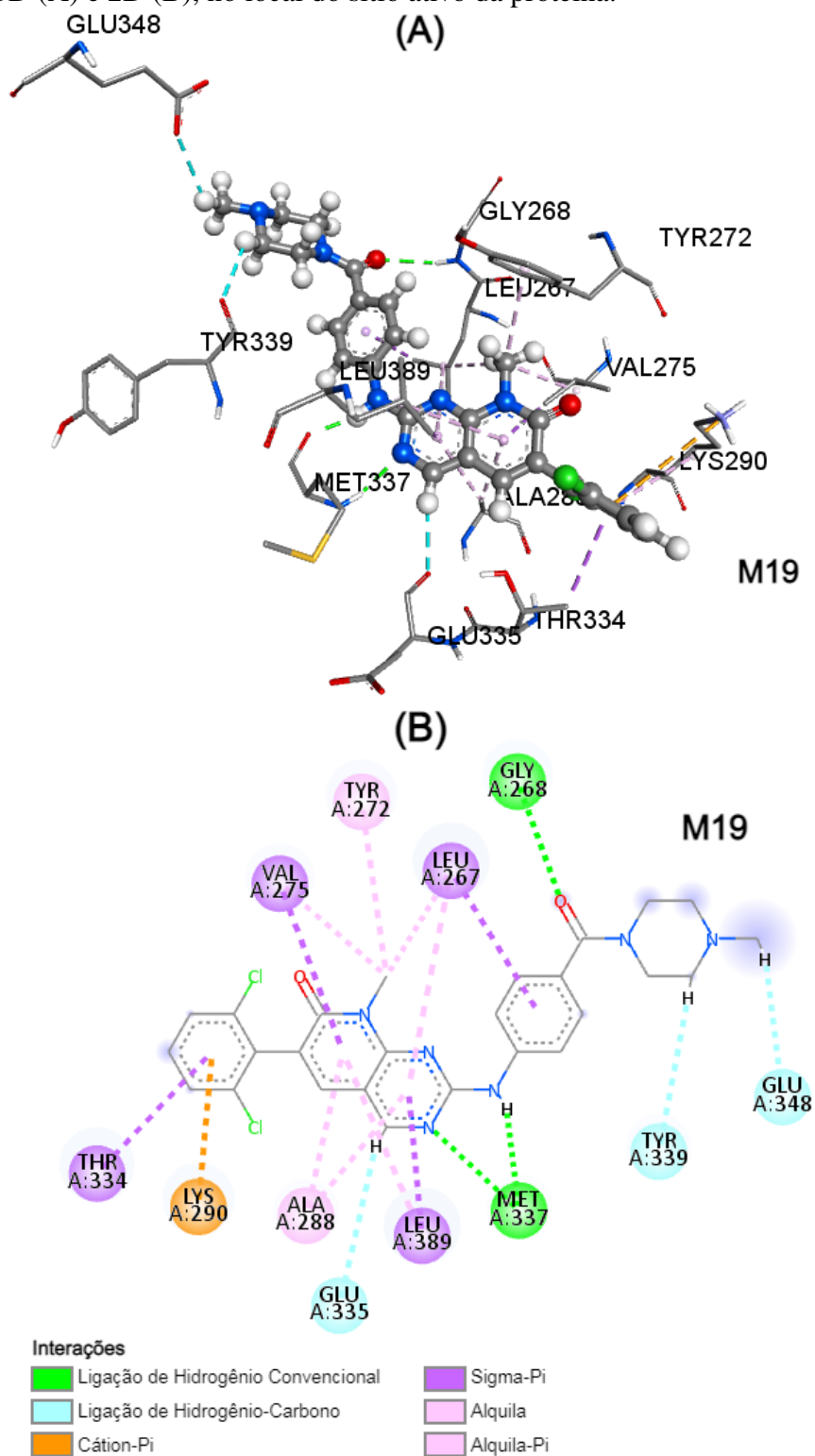
Com a substituição de 4-metilpiperazina-1-carbaldeído na posição R_4 , este substituinte apresentou uma ligação de hidrogênio forte e duas ligações de hidrogênio fracas com os resíduos de proteína, devido às extremidades polarizadas presentes neste grupo.

Visto que o complexo apresentou três ligações de hidrogênio fortes e três ligações de hidrogênio fracas, ele obteve uma energia de interação intermolecular no valor de $-53,48 \text{ kcal mol}^{-1}$. Consequentemente, este complexo apresentou um valor de IC_{50} obtido da literatura no valor de 3,6 nM, indicando num bom potencial de inibição, com relação ao complexo M01.

4.3.20 Complexo com o ligante IMB

O complexo com o ligante imatinibe calculado com o DockThor, no local do sítio ativo da proteína, apresentou quatro ligações de hidrogênio, duas interações sigma-pi, uma interação empilhamento-T, quatro interações alquila e uma interação alquila-pi, como é mostrado na Figura 4.22.

Figura 4.21: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M19 em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



Fonte: Autoria própria, 2022.

- Uma ligação do tipo hidrogênio-carbono (3,02 Å) entre um hidrogênio do anel pirimidina com um oxigênio do resíduo ASP344;
- Uma ligação do tipo hidrogênio-carbono (2,91 Å) entre a metila do anel piperazina com um oxigênio do resíduo GLU305;
- Uma ligação do tipo hidrogênio-carbono (2,87 Å) entre a metila do anel piperazina com um oxigênio do resíduo GLU305;
- Uma ligação do tipo hidrogênio-carbono (2,54 Å) entre um hidrogênio do anel piperazina com um oxigênio do resíduo THR334;
- Duas interações do tipo sigma-pi (anel metil-benzeno com resíduo LEU267, anel benzeno com resíduo LEU389);
- Uma interação do tipo Empilhamento-T (anel benzeno com resíduo TYR272);
- Quatro interação do tipo alquila (anel piperazina com os resíduos VAL275, ALA288, LYS290 e VAL318);
- Uma interação do tipo alquila-pi (anel benzeno com o resíduo ALA288).

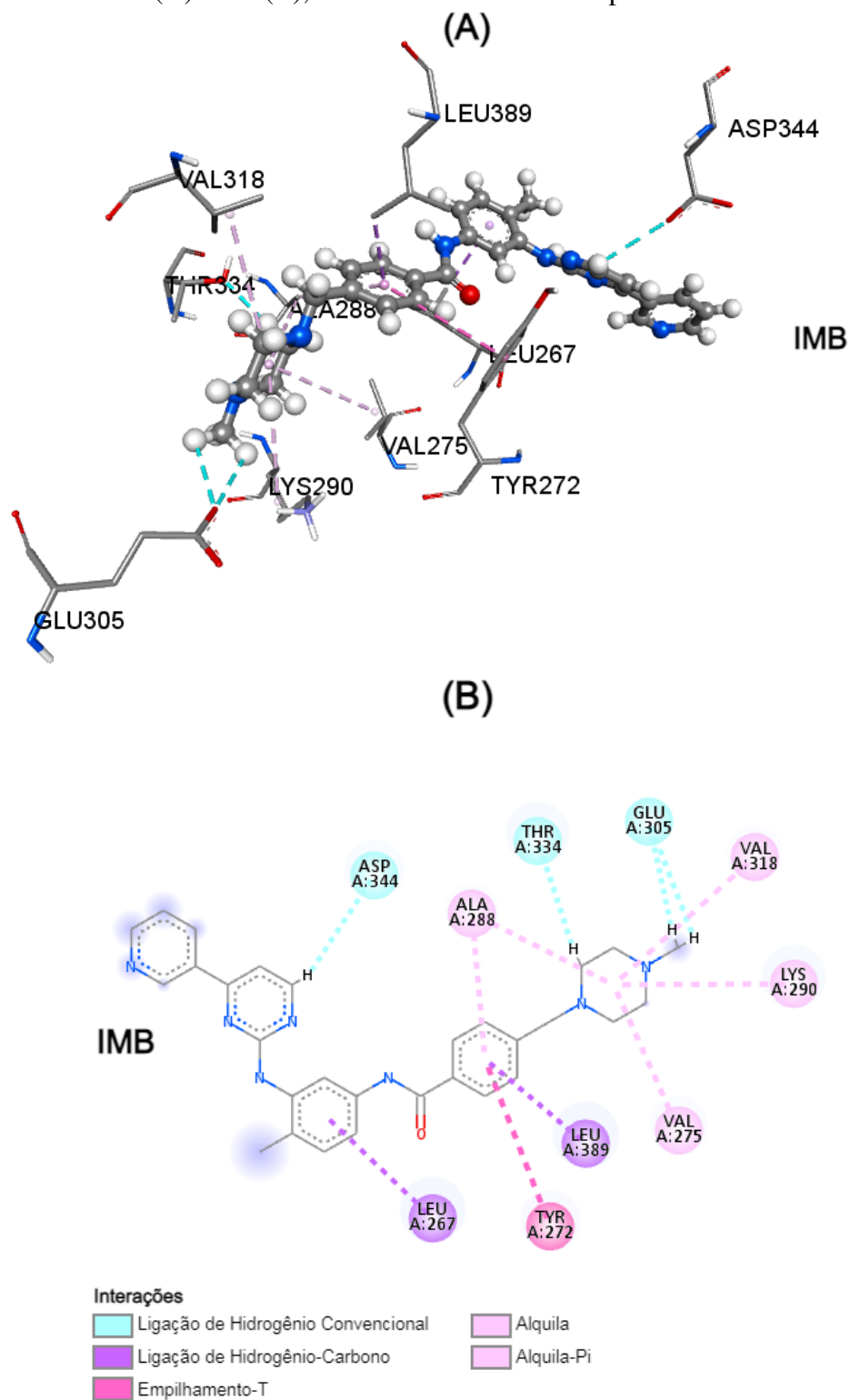
Uma vez que o complexo com o ligante imatinibe apresentou quatro ligações de hidrogênio fracas, ele obteve uma energia de interação intermolecular no valor de $-43,20 \text{ kcal mol}^{-1}$.

4.3.21 Complexo com o ligante DSB

O complexo com o ligante desatinibe calculado com o DockThor, no local do sítio ativo da proteína, apresentou duas ligações de hidrogênio, duas interações sigma-pi, uma interação enxofre-pi, seis interações alquila e sete interações alquila-pi, como é mostrado na Figura 4.23.

- Uma ligação de hidrogênio convencional (2,51 Å) entre o hidrogênio do grupo amina com o oxigênio do resíduo MET337;

Figura 4.22: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante imatinibe em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



Fonte: Autoria própria, 2022.

- Uma ligação do tipo hidrogênio-carbono (2,66 Å) entre um hidrogênio do anel piperazina com um oxigênio do resíduo THR338;
- Uma interação do tipo enxofre-pi (5,02 Å) entre o anel cloro-metilfenil com o enxofre do resíduo MET309;
- Duas interações do tipo sigma-pi (anel tiazol com resíduo LEU267, anel cloro-metilfenil com resíduo THR334);
- Seis interações do tipo alquila (cloro com os resíduos ALA288, VAL275 e LYS290, grupo metila com os resíduos ALA399, VAL318 e LEU389);
- Sete interações do tipo alquila-pi (grupo metila com resíduo PHE401, anel tiazol com os resíduos VAL275, ALA288 e LEU389, anel metilpirimidina com o resíduo LEU267, anel cloro-metilfenil com os resíduos LYS290 e VAL318).

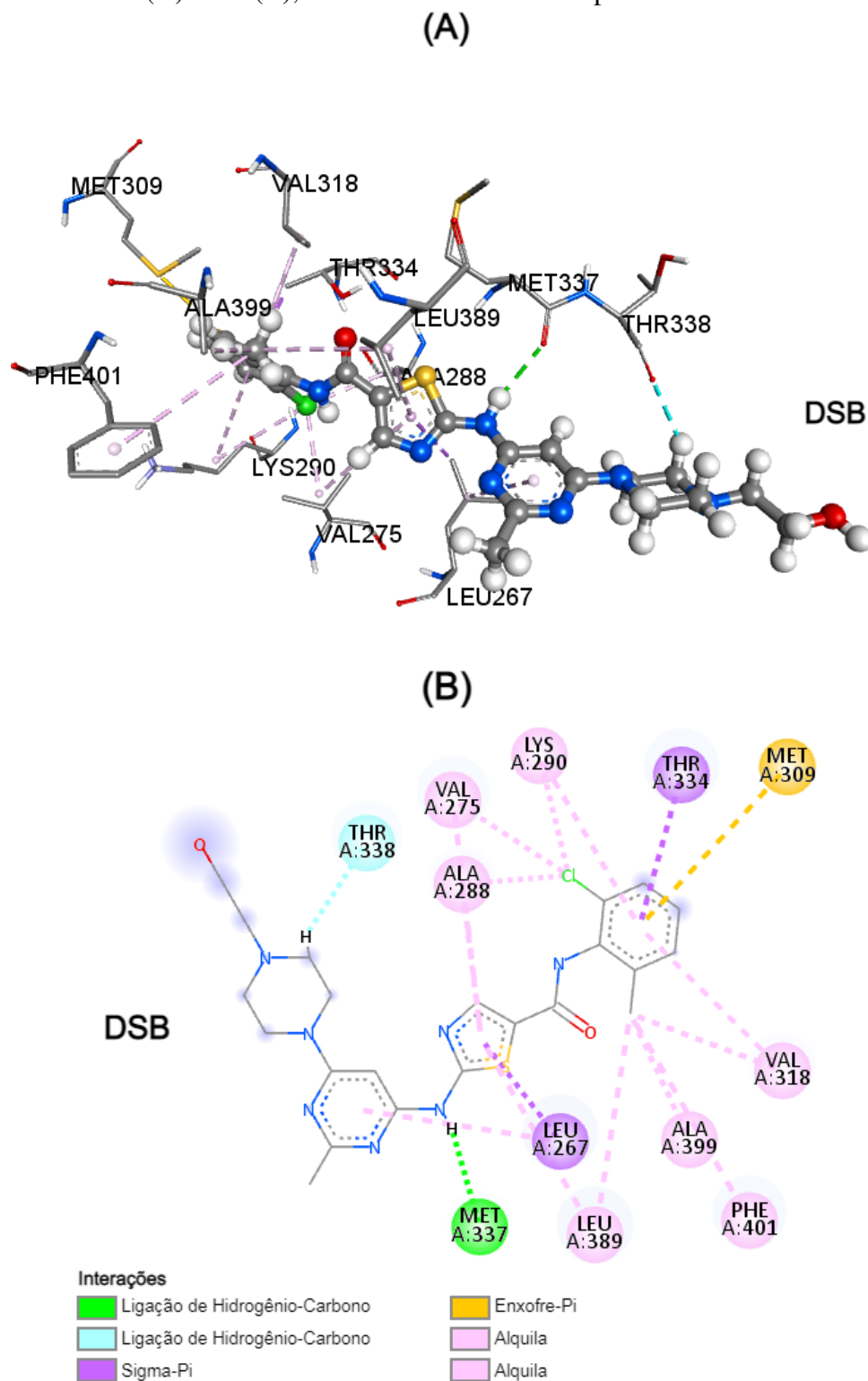
Uma vez que o complexo com o ligante desatinibe apresentou uma ligação de hidrogênio forte e uma ligação de hidrogênio fraca, ele obteve uma energia de interação intermolecular no valor de $-41,93 \text{ kcal mol}^{-1}$.

4.3.22 Discutindo as interações hidrofóbicas

De acordo com a análise das interações intermoleculares obtidas com o DockThor, observou-se que a maioria dos complexos de M01 até M19 apresentou interações hidrofóbicas do tipo sigma-pi, alquila e alquila-pi (ver Tabela 4.4) com os mesmos resíduos de proteína (LEU267, LEU389, VAL275, VAL318, ALA288 e TYR272), conforme Tabela 4.2. Logo, já era esperado que esses ligantes atuassem na mesma região do sítio ativo da proteína, pois essas moléculas são todas homólogas. Portanto, estes resíduos são fundamentais para o reconhecimento molecular no local do sítio ativo da proteína.

Devido às interações hidrofóbicas se comportarem de forma semelhante com todos os complexos ligantes, interagindo somente com a porção homóloga dos mesmos, as diferenças entre essas interações para os derivados de PD166326, exerceram pouca influência

Figura 4.23: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante desatinibe em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



Fonte: Autoria própria, 2022.

no potencial de inibição de cada molécula.

Como não houveram interações hidrofóbicas nos grupos substituintes das posições R_3 e R_4 (com exceção do ligante M03), sugere-se que esse local do sítio ativo da proteína seja mais acessível ao solvente.

4.3.23 Discutindo as interações eletrostáticas com anéis aromáticos

O anel diclorofenil interagiu com o resíduo LYS290 em quase todos os complexos ligantes analisados. Como as moléculas são todas homólogas, já era esperado que elas atuassem na mesma região do sítio ativo da proteína.

Os complexos com os ligantes de M01 até M19 que apresentaram uma interação do tipo cátion-pi com o resíduo LYS290, obtiveram energia de ligação (score) mais favorável, como é mostrado na tabela 4.4. Por outro lado, os ligantes que realizaram interações do tipo ânion-pi com o resíduo ASP344, apresentaram energia de ligação menos favoráveis. Portanto, o resíduo LYS290 é fundamental para o reconhecimento molecular no local do sítio ativo.

4.3.24 Discutindo as ligações de hidrogênio

A análise das interações intermoleculares no local do sítio ativo da proteína foi baseada nos vários tipos de interações intermoleculares envolvidos. Devido à vantagem na força das ligações de hidrogênio (com relação às demais interações intermoleculares), elas exerceram maior influência para uma melhor interação do ligante no local do sítio ativo da proteína.

Analisando as interações intermoleculares obtidas no DockThor para os complexos de M01 até M19, percebeu-se que o anel pirimidina e o grupo amina da molécula dos ligantes apresentou ligações de hidrogênio apenas com o resíduo MET337, enquanto o hidrogênio da pirimidina apresentou ligações de hidrogênio somente com o resíduo GLU335.

Portanto, já era esperado que esses ligantes atuassem na mesma região do sítio ativo da proteína, pois essas moléculas são homólogas.

De acordo com a Tabela 4.2, os ligantes de M01 até M19 que interagiram com ambos os resíduos MET337 e GLU335, apresentaram energias de interação intermolecular mais favoráveis, enquanto os ligantes que não interagiram com ambos ou nenhum desses resíduos, apresentaram energias menos favoráveis. Portanto, os resíduos MET337 e GLU335 mostraram-se fundamentais no reconhecimento molecular do sítio ativo da proteína.

Analizando as ligações de hidrogênio (Tabela 4.3) de todos os complexos, de M01 até M19, juntamente com suas energias de interação intermolecular (ver Tabela 4.1), observou-se que os substituintes com a maior quantidade de extremidades polarizadas apresentaram uma quantidade maior de ligações de hidrogênio, obtendo energias de interação intermolecular mais favoráveis. Enquanto os grupos substituintes apolares não apresentaram ligações de hidrogênio, resultando em energias de interação intermolecular menos favoráveis.

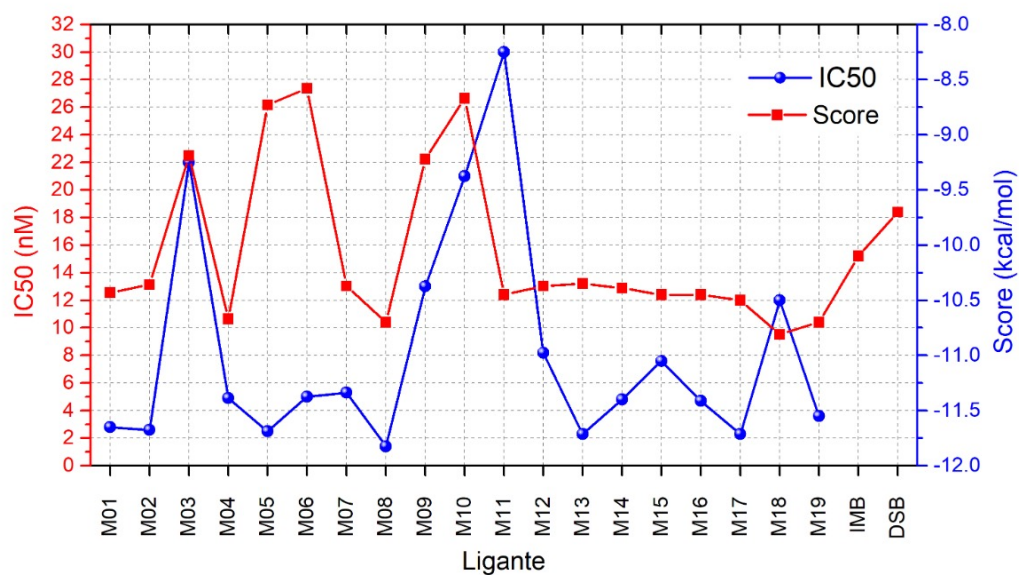
Todos os compostos moleculares analisados neste trabalho (com exceção dos ligantes M03, M05, M06, M09 e M10), apresentaram energias de interação intermolecular mais favoráveis que os inibidores imatinibe e desatinibe. Portanto, os resultados sugerem que a maior parte dos derivados de pirido[2,3-d]pirimidina-7-ona analisados neste trabalho, obtiveram melhor potencial de inibição para o Bcr-Abl tirosina quinase que os inibidores imatinibe e desatinibe.

Portanto, os resultados sugerem que os compostos moleculares M04, M08 e M17 obtiveram a melhor potência de inibição entre todos os derivados de pirido[2,3-d]pirimidina-7-ona, indicando que estes compostos são potenciais candidatos a medicamento para o tratamento da LMC.

Os resultados obtidos neste trabalho para os compostos com a melhor potência de inibição (ligante M04, M08 e M17) estão próximos dos resultados obtidos da literatura, que indicam a molécula M08 com a melhor potência de inibição entre os derivados de

pirido[2,3-d]pirimidina-7-ona, conforme é mostrado no gráfico da Figura 4.24.

Figura 4.24: Gráfico mostrando o comportamento dos valores de score e IC_{50} para todos os ligantes analisados.



Fonte: Autoria própria, 2022.

Tabela 4.2: Representação da quantidade por tipo de aminoácido, para cada ligante analisado por docking.

Ligante	Score	IC50	Principais aminoácidos por ligante																			
			ASN341	ASP344	MET337	GLU335	GLU348	GLU277	GLU305	GLY268	THR334	THR338	PHE336	TYR339	LYS290	ASP344	LEU267	LEU389	VAL275	VAL318	ALA288	TYR272
M01	-10,43	2,8	-	-	02	01	-	-	-	-	-	01	-	-	02	-	03	02	02	01	02	01
M02	-10,36	2,6	-	-	02	01	-	-	-	-	-	-	-	-	02	-	02	02	01	-	02	-
M03	-9,19	22	-	-	01	-	-	-	-	01	-	-	-	-	-	01	03	02	01	-	01	01
M04	-10,67	4,9	-	-	02	01	-	-	03	-	-	-	-	-	-	02	-	03	02	02	02	01
M05	-8,73	2,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	01	01	-	-	01	03	01	01	-	01	-
M06	-8,58	5	-	01	-	-	-	-	-	-	01	-	01	-	-	-	01	02	-	-	01	01
M07	-10,37	5,3	-	-	02	01	-	-	-	-	-	-	-	-	02	-	03	02	02	01	02	01
M08	-10,70	1,4	01	01	02	01	01	-	-	-	-	-	-	-	02	-	02	02	01	-	02	-
M09	-9,22	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	01	-	-	01	02	02	01	-	01	01
M10	-8,66	21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	01	-	-	01	03	01	01	-	01	01
M11	-10,45	30	-	-	02	01	-	-	-	-	-	-	-	-	02	-	03	02	02	01	02	01
M12	-10,37	8,2	-	01	02	-	-	-	-	-	01	-	-	-	02	-	03	02	02	01	02	02
M13	-10,35	2,3	-	-	02	01	-	-	-	-	-	-	-	-	02	-	03	02	02	-	02	01
M14	-10,39	4,8	-	-	02	01	-	-	-	01	-	-	-	-	02	-	03	02	02	-	02	01
M15	-10,44	7,6	-	-	02	01	-	-	-	01	-	-	-	-	02	-	03	02	02	01	02	01
M16	-10,45	4,7	-	-	02	01	-	-	-	-	-	-	01	-	02	-	03	02	02	01	02	01
M17	-10,50	2,3	01	02	02	01	-	-	-	-	01	-	-	-	02	-	02	02	01	-	02	-
M18	-10,81	12	-	01	02	01	-	-	-	01	-	-	-	-	02	-	03	02	02	01	02	01
M19	-10,70	3,6	-	-	02	01	01	-	-	01	01	-	-	01	02	-	03	02	02	-	02	01
IMB	-10,10	-	-	01	-	-	-	-	02	-	01	-	-	-	01	-	01	01	01	01	02	01
DSB	-9,70	-	-	-	01	-	-	-	-	-	01	01	-	-	02	-	02	02	02	02	02	-

*IMB=Imatinibe e **DSB=Desatinibe.

Tabela 4.3: Representação das ligações de hidrogênio, obtido com as melhores poses de docking no DockThor.

Ligante	Score	IC50	Ligações de hidrogênio (Å) por resíduo DockThor											
			MET337	THR338	THR334	GLY268	PHE336	ASP344	ASN341	GLU335	GLU277	GLU348	GLU305	TYR339
M01	−10,43	2,8	2,13 1,85	1,79	−	−	−	−	−	2,77	−	−	−	−
M02	−10,36	2,6	2,14 1,89	−	−	−	−	−	−	2,79	−	−	−	−
M03	−9,19	22	2,66	−	−	3,59	−	−	−	−	−	−	−	−
M04	−10,67	4,9	2,17 1,89	−	−	−	−	−	−	2,63	1,77 1,61 2,81	−	−	−
M05	−8,73	2,5	−	2,89	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
M06	−8,58	5	−	−	2,95	−	−	2,82	−	−	−	−	−	−
M07	−10,37	5,3	2,14 1,88	−	−	−	−	−	−	2,69	−	−	−	−
M08	−10,70	1,4	2,07 1,93	−	−	−	−	1,76	2,81	2,64	−	2,57	−	−
M09	−9,22	13	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
M10	−8,67	21	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
M11	−10,45	30	2,15 1,89	−	−	−	−	−	−	2,72	−	−	−	−
M12	−10,37	8,2	2,25 1,99	−	−	−	−	2,01	−	−	−	−	−	−
M13	−10,35	2,3	2,13 1,88	−	−	−	−	−	−	2,72	−	−	−	−
M14	−10,39	4,8	2,14 1,88	−	−	2,51	−	−	−	2,72	−	−	−	−
M15	−10,45	7,6	2,14 1,86	−	−	2,51	−	−	−	2,74	−	−	−	−
M16	−10,45	4,7	2,20 2,16	−	−	−	3,33	−	−	2,74	−	−	−	−
M17	−10,50	2,3	2,22 1,97	−	−	−	−	1,74 1,70	2,80	2,69	−	−	−	−
M18	−10,81	12	2,16 1,95	−	−	2,89	−	2,01	−	2,73	−	−	−	−
M19	−10,70	3,6	2,19 1,93	−	−	2,54	−	−	−	2,79	−	2,76	−	2,93
IMB	−10,10	−	−	−	2,54	−	−	3,02	−	−	−	−	2,91 2,87	−
DSB	−9,70	−	2,51	2,66	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

*IMB=Imatinibe e **DSB=Desatinibe.

Tabela 4.4: Representação da quantidade de interações intermoleculares de cada ligante, obtido por docking no DockThor.

Ligante	Score	IC50	Interações intermoleculares para cada ligante DockThor										
			Lig de H	Lig de H-C	Lig de H-Pi	Cátion-Pi	Ânion-Pi	Sigma-Pi	Alquila	Alquila-Pi	Emp Pi-Pi	Emp-T	Enxofre-Pi
M01	-10,43	2,8	03	01	—	01	—	04	02	06	—	—	—
M02	-10,36	2,6	02	01	—	01	—	02	—	06	—	—	—
M03	-9,19	22	01	01	—	—	01	01	02	05	—	—	—
M04	-10,67	4,9	04	02	—	01	—	03	02	06	—	—	—
M05	-8,73	2,5	—	01	—	—	01	02	01	05	—	—	—
M06	-8,58	5	01	01	—	—	01	03	—	01	01	01	—
M07	-10,37	5,3	02	01	—	01	—	04	02	06	—	—	—
M08	-10,70	1,4	05	01	—	01	—	02	—	06	—	—	—
M09	-9,22	13	—	—	—	—	01	02	01	05	—	01	—
M10	-8,67	21	—	—	—	—	01	01	01	05	—	01	—
M11	-10,45	30	02	01	—	01	—	03	02	07	—	—	—
M12	-10,37	8,2	03	—	—	01	—	04	02	07	—	01	—
M13	-10,35	2,3	02	01	—	01	—	02	02	07	—	—	—
M14	-10,39	4,8	03	01	—	01	—	03	02	06	—	—	—
M15	-10,45	7,6	03	01	—	01	—	02	02	08	—	—	—
M16	-10,45	4,7	02	01	01	01	—	04	02	06	—	—	—
M17	-10,50	2,3	05	01	—	01	—	03	—	06	—	—	—
M18	-10,81	12	04	01	—	01	—	02	02	08	—	—	—
M19	-10,70	3,6	03	03	—	01	—	04	02	06	—	—	—
IMB	-10,10	—	—	04	—	—	—	02	04	01	—	01	—
DSB	-9,70	—	01	01	—	—	—	02	06	07	—	—	01

*IMB=Imatinibe e **DSB=Desatinibe.

Capítulo 5

Conclusões e Perspectivas

Através da análise do RMSD por redocking, o DockThor conseguiu reproduzir a pose do ligante co-cristalizado com um nível de similaridade melhor que o AutoDock Vina, para o ligante M01.

Os resíduos de aminoácidos LEU267, LEU389, VAL275, VAL318, ALA288, TYR272, LYS290, MET337 e GLU335 mostraram-se fundamentais para o reconhecimento molecular no local do sítio ativo da proteína. Como as moléculas são todas homólogas, foi verificado que elas atuam na mesma região do sítio ativo da proteína.

Os grupos substituintes que possuem maior polaridade apresentaram uma quantidade maior de ligações de hidrogênio, obtendo energias de interação intermolecular mais favoráveis, enquanto os grupos substituintes apolares tiveram energias de interação intermolecular menos favoráveis.

O estudo de docking molecular com base na ferramenta DockThor, sugeriu que os compostos moleculares M04, M08 e M17 obtiveram a melhor potência de inibição entre todos os derivados de pirido[2,3-d]pirimidina-7-ona.

Os compostos moleculares com a melhor potência de inibição que foram identificados neste trabalho (ligantes M04, M08 e M17) estão de acordo com os resultados de IC₅₀ obtidos da literatura, que indicam a molécula M08 com a melhor potência de inibição entre os derivados de pirido[2,3-d]pirimidina-7-ona.

Com base nos estudos de docking molecular, este trabalho mostrou que os deriva-

dos do 2-(fenilamino)pirido[2,3-d]pirimidina-7-ona, são potentes inibidores do Bcr-Abl tirosina quinase, sendo potenciais candidatos ao tratamento da leucemia mieloide crônica.

Os resultados obtidos neste trabalho servem como base para o cálculo das energias de interação receptor-ligante através de métodos mais precisos, como os método quânticos, utilizando a estratégia MFCC, por exemplo.

Referências Bibliográficas

- [1] CâNCER, B. Instituto Nacional de. *ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer*. 2020. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/livro-abc-6-edicao-2020.pdf>> . Acesso em: 02 de maio de 2022.
- [2] CâNCER, B. Instituto Nacional de. *Manual de Bases Técnicas da Oncologia*. 2021. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/publicacoes/manuais/manual-de-bases-tecnicas-da-oncologia-sia-sus>> . Acesso em: 02 de maio de 2022.
- [3] BRAY, F. et al. Global cancer statistics 2018: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, Wiley Online Library, v. 68, n. 6, p. 394–424, 2018.
- [4] CâNCER, B. Instituto Nacional de. *Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil*. 2019. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/estimativa-2020-incidencia-de-cancer-no-brasil.pdf>> . Acesso em: 02 de maio de 2022.
- [5] SOSSELA, F. R.; ZOPPAS, B.; WEBER, L. Leucemia mieloide crônica: aspectos clínicos, diagnóstico e principais alterações observadas no hemograma. *RBAC*, v. 49, n. 2, p. 127–30, 2017.
- [6] SAÚDE, B. Ministério da. *Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Leucemia Mieloide Crônica do Adulto*. 2021. Disponível em: <http://conitec.gov.br/images/Relatorios/2021/20210310_Relatorio_Recomendacao_528_-PCDT_Leucemia_Mieloide_Cronica_-adulto.pdf> . Acesso em: 02 de maio de 2022.
- [7] BORTOLHEIRO, T. C.; CHIATTONE, C. S. Leucemia mielóide crônica: história natural e classificação. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, SciELO Brasil, v. 30, p. 3–7, 2008.
- [8] QUINTÁS-CARDAMA, A.; CORTES, J. E. Chronic myeloid leukemia: diagnosis and treatment. In: ELSEVIER. *Mayo Clinic Proceedings*. [S.l.], 2006. v. 81, n. 7, p. 973–988.
- [9] REN, R. Mechanisms of bcr–abl in the pathogenesis of chronic myelogenous leukaemia. *Nature Reviews Cancer*, Nature Publishing Group, v. 5, n. 3, p. 172–183, 2005.

- [10] WINSLOW, T. *Medical And Scientific Illustration*. 2007. Disponível em: <<https://www.teresewinslow.com/cellular-scientific/9vavdk7xuvvhib624d8sjknlrkd9in>>. Acesso em: 03 de junho de 2022.
- [11] AVILA, C. M.; ROMEIRO, N. C. Proteínas tirosinas quinases: Desafios do desenvolvimento de fármacos para a terapia do câncer. *Revista Virtual de Química*, v. 2, n. 1, p. 59–82, 2010.
- [12] XU, H.-I. et al. In silico identification of novel kinase inhibitors targeting wild-type and t315i mutant abl1 from fda-approved drugs. *Molecular BioSystems*, Royal Society of Chemistry, v. 10, n. 6, p. 1524–1537, 2014.
- [13] TALPAZ, M. et al. Dasatinib in imatinib-resistant philadelphia chromosome–positive leukemias. *New England Journal of Medicine*, Mass Medical Soc, v. 354, n. 24, p. 2531–2541, 2006.
- [14] ANTCZAK, C. et al. Structure–activity relationships of 6-(2, 6-dichlorophenyl)-8-methyl-2-(phenylamino) pyrido [2, 3-d] pyrimidin-7-ones: Toward selective abl inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, Elsevier, v. 19, n. 24, p. 6872–6876, 2009.
- [15] WOLFF, N. C. et al. Pd166326, a novel tyrosine kinase inhibitor, has greater antileukemic activity than imatinib mesylate in a murine model of chronic myeloid leukemia. *Blood*, American Society of Hematology, v. 105, n. 10, p. 3995–4003, 2005.
- [16] WISNIEWSKI, D. et al. Characterization of potent inhibitors of the bcr-abl and the c-kit receptor tyrosine kinases. *Cancer research*, AACR, v. 62, n. 15, p. 4244–4255, 2002.
- [17] WOLFF, N. C. et al. PD166326, a novel tyrosine kinase inhibitor, has greater antileukemic activity than imatinib mesylate in a murine model of chronic myeloid leukemia. *Blood*, v. 105, n. 10, p. 3995–4003, may 2005. ISSN 0006-4971. Disponível em: <<https://ashpublications.org/blood/article/105/10/3995/19923/PD166326-a-novel-tyrosine-kinase-inhibitor-has>>.
- [18] HEINRICH, N. K. b. lipkowitz, d. b. boyd (eds.): Reviews in computational chemistry, vch verlagsgesellschaft, weinheim, new york, 1990, isbn 3-527-27845-1, 419 seiten, preis: Dm 176,-. *Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie*, v. 96, n. 2, p. 224–224, 1992. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/bbpc.19920960228>>.
- [19] BARREIRO, E. J. et al. Modelagem molecular: uma ferramenta para o planejamento racional de fármacos em química medicinal. *Química nova*, SciELO Brasil, v. 20, p. 300–310, 1997.
- [20] HUGHES, J. P. et al. Principles of early drug discovery. *British journal of pharmacology*, Wiley Online Library, v. 162, n. 6, p. 1239–1249, 2011.

- [21] SANT, C. M. R. et al. Métodos de modelagem molecular para estudo e planejamento de compostos bioativos: Uma introdução. *Revista Virtual de Química*, v. 1, n. 1, p. 49–57, 2009.
- [22] HOSTAŠ, J.; ŘEZÁČ, J.; HOBZA, P. On the performance of the semiempirical quantum mechanical pm6 and pm7 methods for noncovalent interactions. *Chemical Physics Letters*, Elsevier, v. 568, p. 161–166, 2013.
- [23] LEVERENTZ, H. R.; QI, H. W.; TRUHLAR, D. G. Assessing the accuracy of density functional and semiempirical wave function methods for water nanoparticles: Comparing binding and relative energies of (h₂o) 16 and (h₂o) 17 to ccSD (t) results. *Journal of Chemical Theory and Computation*, ACS Publications, v. 9, n. 2, p. 995–1006, 2013.
- [24] LÓPEZ-VALLEJO, F. et al. Integrating virtual screening and combinatorial chemistry for accelerated drug discovery. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, Bentham Science Publishers, v. 14, n. 6, p. 475–487, 2011.
- [25] HALPERIN, I. et al. Principles of docking: An overview of search algorithms and a guide to scoring functions. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, Wiley Online Library, v. 47, n. 4, p. 409–443, 2002.
- [26] MENG, X.-Y. et al. Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. *Current computer-aided drug design*, Bentham Science Publishers, v. 7, n. 2, p. 146–157, 2011.
- [27] DIAS, R.; AZEVEDO, J. de; WALTER, F. Molecular docking algorithms. *Current drug targets*, Bentham Science Publishers, v. 9, n. 12, p. 1040–1047, 2008.
- [28] GUEDES, I. A.; PEREIRA, F. S.; DARDENNE, L. E. Empirical scoring functions for structure-based virtual screening: applications, critical aspects, and challenges. *Frontiers in pharmacology*, Frontiers, p. 1089, 2018.
- [29] VELÁZQUEZ-LIBERA, J. L. et al. Ligrmsd: a web server for automatic structure matching and rmsd calculations among identical and similar compounds in protein-ligand docking. *Bioinformatics*, Oxford University Press, v. 36, n. 9, p. 2912–2914, 2020.
- [30] GOHLKE, H.; HENDLICH, M.; KLEBE, G. Knowledge-based scoring function to predict protein-ligand interactions. *Journal of molecular biology*, Elsevier, v. 295, n. 2, p. 337–356, 2000.
- [31] MENA-ULECIA, K.; TIZNADO, W.; CABALLERO, J. Study of the differential activity of thrombin inhibitors using docking, qsar, molecular dynamics, and mm-gbsa. *PLoS One*, Public Library of Science San Francisco, CA USA, v. 10, n. 11, p. e0142774, 2015.
- [32] ALONSO, H.; BLIZNYUK, A. A.; GREASY, J. E. Combining docking and molecular dynamic simulations in drug design. *Medicinal research reviews*, Wiley Online Library, v. 26, n. 5, p. 531–568, 2006.

- [33] BROOIJMANS, N.; KUNTZ, I. D. Molecular recognition and docking algorithms. *Annual review of biophysics and biomolecular structure*, Annual Reviews 4139 El Camino Way, PO Box 10139, Palo Alto, CA 94303-0139, USA, v. 32, n. 1, p. 335–373, 2003.
- [34] FERREIRA, L. G. et al. Molecular docking and structure-based drug design strategies. *Molecules*, Multidisciplinary Digital Publishing Institute, v. 20, n. 7, p. 13384–13421, 2015.
- [35] KITCHEN, D. B. et al. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nature reviews Drug discovery*, Nature Publishing Group, v. 3, n. 11, p. 935–949, 2004.
- [36] GORELIK, B.; GOLDBLUM, A. High quality binding modes in docking ligands to proteins. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, Wiley Online Library, v. 71, n. 3, p. 1373–1386, 2008.
- [37] HUANG, S.-Y.; ZOU, X. Advances and challenges in protein-ligand docking. *International journal of molecular sciences*, Molecular Diversity Preservation International, v. 11, n. 8, p. 3016–3034, 2010.
- [38] EIBEN, A. E.; SMITH, J. E. et al. *Introduction to evolutionary computing*. [S.l.]: Springer, 2003. v. 53.
- [39] NOLA, A. D.; ROCCATANO, D.; BERENDSEN, H. J. Molecular dynamics simulation of the docking of substrates to proteins. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, Wiley Online Library, v. 19, n. 3, p. 174–182, 1994.
- [40] CHENG, T. et al. Structure-based virtual screening for drug discovery: a problem-centric review. *The AAPS journal*, Springer, v. 14, n. 1, p. 133–141, 2012.
- [41] SULIMOV, V. B.; KUTOV, D. C.; SULIMOV, A. V. Advances in docking. *Current Medicinal Chemistry*, Bentham Science Publishers, v. 26, n. 42, p. 7555–7580, 2019.
- [42] JAIN, A. N. Scoring functions for protein-ligand docking. *Current Protein and Peptide Science*, Bentham Science Publishers, v. 7, n. 5, p. 407–420, 2006.
- [43] VERLI, H. *Bioinformática: da biologia à flexibilidade molecular*. 1. ed. São Paulo: Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, 2014.
- [44] KROVAT, E.; STEINDL, T.; LANGER, T. Recent advances in docking and scoring. *Current computer-aided drug design*, Bentham Science Publishers, v. 1, n. 1, p. 93–102, 2005.
- [45] MURRAY, C. W.; AUTON, T. R.; ELDRIDGE, M. D. Empirical scoring functions. ii. the testing of an empirical scoring function for the prediction of ligand-receptor binding affinities and the use of bayesian regression to improve the quality of the model. *Journal of computer-aided molecular design*, Springer, v. 12, n. 5, p. 503–519, 1998.

- [46] 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*, Wiley Online Library, v. 31, n. 2, p. 455–461, 2010.
- [47] SANTOS, K. B. et al. Highly flexible ligand docking: benchmarking of the dockthor program on the leads-pep protein–peptide data set. *Journal of Chemical Information and Modeling*, ACS Publications, v. 60, n. 2, p. 667–683, 2020.
- [48] LI, Z. et al. Personal experience with four kinds of chemical structure drawing software: review on chemdraw, chemwindow, isis/draw, and chemsketch. *Journal of chemical information and computer sciences*, ACS Publications, v. 44, n. 5, p. 1886–1890, 2004.
- [49] HANWELL, M. D. et al. Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *Journal of cheminformatics*, BioMed Central, v. 4, n. 1, p. 1–17, 2012.
- [50] BERMAN, H. M. et al. The protein data bank. *Nucleic acids research*, Oxford University Press, v. 28, n. 1, p. 235–242, 2000.
- [51] PETTERSEN, E. F. et al. Ucsf chimera—a visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of computational chemistry*, Wiley Online Library, v. 25, n. 13, p. 1605–1612, 2004.
- [52] KIM, S. et al. Pubchem substance and compound databases. *Nucleic acids research*, Oxford University Press, v. 44, n. D1, p. D1202–D1213, 2016.
- [53] NAGAR, B. et al. Structural Basis for the Autoinhibition of c-Abl Tyrosine Kinase. *Cell*, v. 112, n. 6, p. 859–871, mar 2003. ISSN 00928674. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867403001946>>.

Apêndice A

ANEXOS

A.1 Interações intermoleculares obtidas no AutoDock Vina

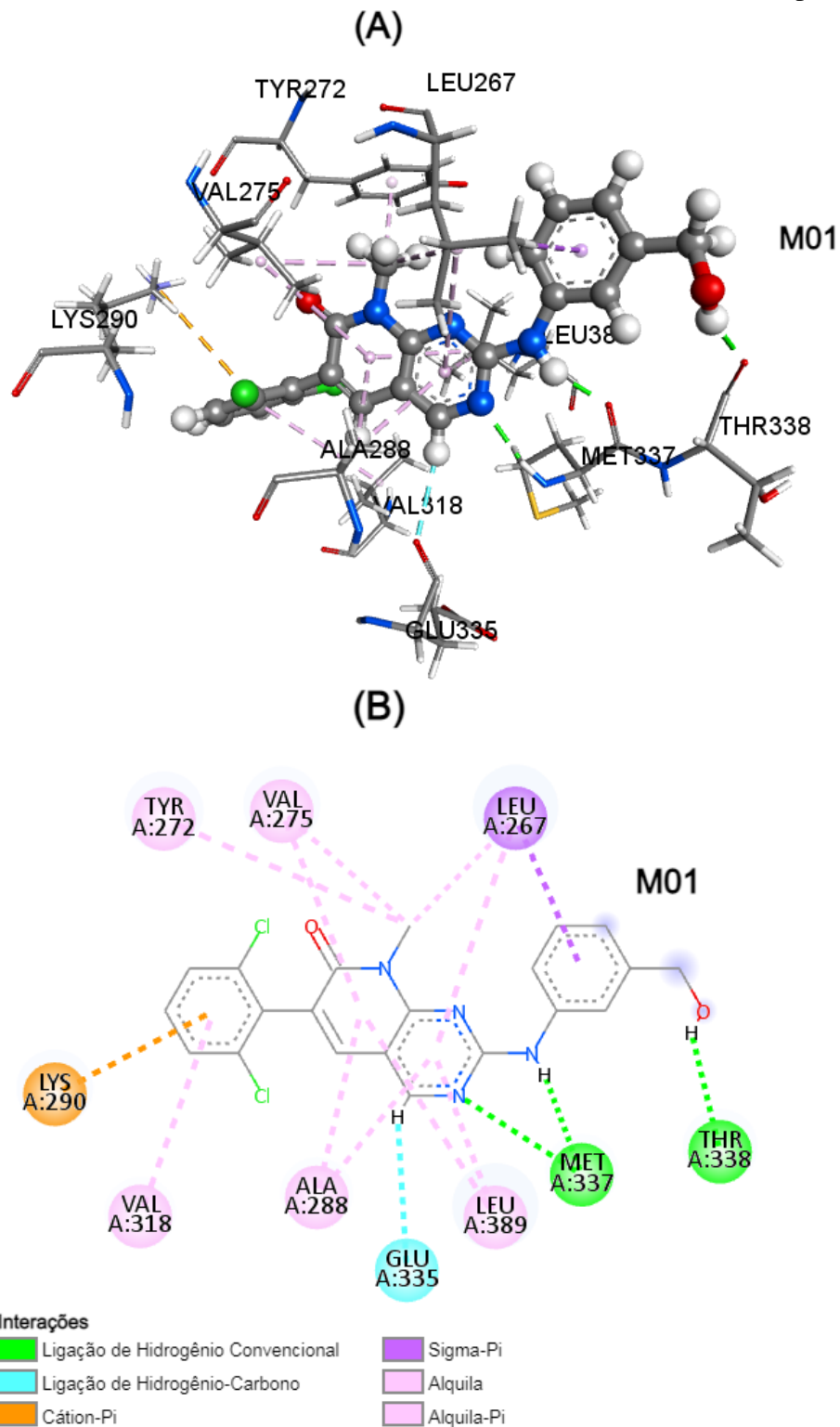
O estudo das interações intermoleculares no local do sítio ativo da proteína, que foi obtido no AutoDock Vina, foi desenvolvido no programa Discovery Studio, baseando-se na descrição dos diversos tipos de interações intermoleculares e nos resíduos de proteína que estão envolvidos. A partir desse estudo foi possível observar como acontece o reconhecimento molecular para cada ligante analisado, para compreender como ocorre a seletividade entre estes ligantes.

- O resultado do docking realizado no AutoDock Vina para o complexo com o ligante M01, no local do sítio ativo da proteína, apresentou quatro ligações de hidrogênio, uma interação cátion-pi, uma interação sigma-pi, duas interações alquila e oito interações alquila-pi, como é mostrado na Figura A.1.
- O complexo com o ligante M02 calculado com o AutoDock Vina, no local do sítio ativo da proteína, apresentou três ligações de hidrogênio, uma interação do tipo cátion-pi, uma interação do tipo sigma-pi e oito interações do tipo alquila-pi, como é mostrado na Figura A.2.
- O complexo com o ligante M03 calculado com o AutoDock Vina, apresentou três ligações de hidrogênio, uma interação cátion-pi e onze interações alquila-pi, como é mostrado na Figura A.3.

- O complexo com o ligante M04 apresentou sete ligações de hidrogênio, uma interação do tipo cátion-pi e dez interações do tipo alquila-pi, como é mostrado na Figura A.4.
- O complexo com o ligante M05 apresentou três ligações de hidrogênio, uma interação cátion-pi, uma interação sigma-pi e sete interações alquila-pi, como é mostrado na Figura A.5.
- O complexo com o ligante M06 apresentou quatro ligações de hidrogênio, uma interação cátion-pi, uma interação sigma-pi e sete interações alquila-pi, como é mostrado na Figura A.6.
- O complexo com o ligante M07 apresentou três ligações de hidrogênio, uma interação cátion-pi, uma interação sigma-pi e oito interações alquila-pi, como é mostrado na Figura A.7.
- O complexo com o ligante M08 apresentou cinco ligações de hidrogênio, uma interação cátion-pi, uma interação empilhamento-T, três interações alquila e dez interações alquila-pi, como é mostrado na Figura A.8.
- O complexo com o ligante M09 apresentou três ligações de hidrogênio, uma interação cátion-pi, uma interação sigma-pi, duas interações alquila e nove interações alquila-pi, como é mostrado na Figura A.9.
- O complexo com o ligante M10 apresentou três ligações de hidrogênio, uma interação cátion-pi, uma interação sigma-pi, duas interações alquila e nove interações alquila-pi, como é mostrado na Figura A.10.
- O complexo com o ligante M11 apresentou três ligações de hidrogênio, uma interação cátion-pi, uma interação sigma-pi, duas interações alquila e oito interações alquila-pi, como é mostrado na Figura A.11.
- O complexo com o ligante M12 apresentou duas ligações de hidrogênio, uma interação sigma-pi, uma interação enxofre-pi, uma interação empilhamento-T e sete interações alquila-pi, como é mostrado na Figura A.12.

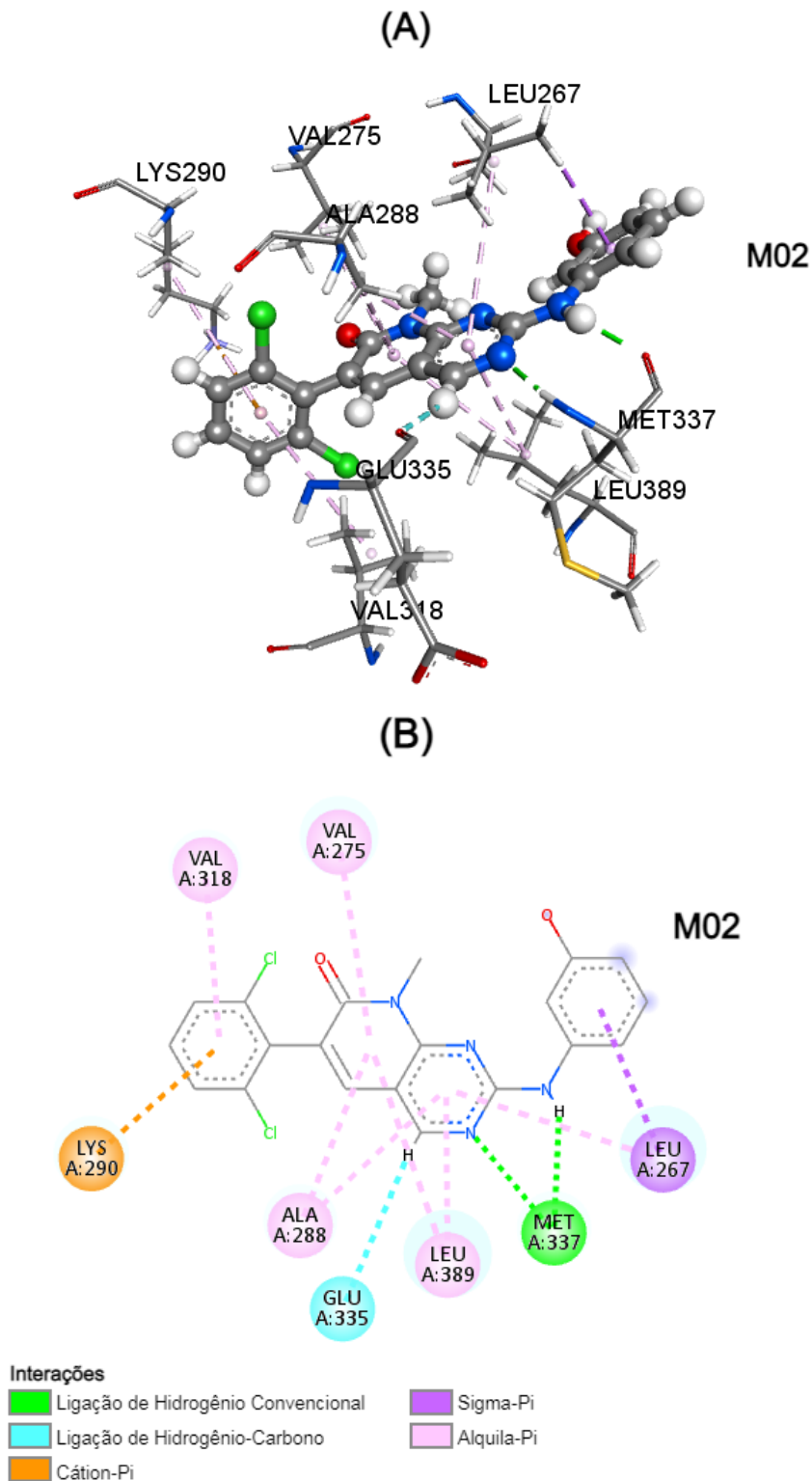
- O complexo com o ligante M13 apresentou três ligações de hidrogênio, uma interação cátion-pi e nove interações alquila-pi, como é mostrado na Figura A.13.
- O complexo com o ligante M14 apresentou duas ligações de hidrogênio, uma interação sigma-pi, uma interação enxofre-pi, uma interação empilhamento-T e sete interações alquila-pi, como é mostrado na Figura A.14.
- O complexo com o ligante M15 apresentou cinco ligações de hidrogênio, uma interação cátion-pi, uma interação sigma-pi e sete interações alquila-pi, como é mostrado na Figura A.15.
- O complexo com o ligante M16 apresentou seis ligações de hidrogênio, uma interação cátion-pi, uma interação sigma-pi, duas interações alquila e oito interações alquila-pi, como é mostrado na Figura A.16.
- O complexo com o ligante M17 apresentou duas ligações de hidrogênio, uma interação sigma-pi, uma interação enxofre-pi, uma interação empilhamento-T, quatro interações alquila e oito interações alquila-pi, como é mostrado na Figura A.17.
- O complexo com o ligante M18 apresentou seis ligações de hidrogênio, uma interação cátion-pi e dez interações alquila-pi, como é mostrado na Figura A.18.
- O complexo com o ligante M19 apresentou seis ligações de hidrogênio, uma interação cátion-pi, uma interação sigma-pi, duas interações alquila e dez interações alquila-pi, como é mostrado na Figura A.19.
- O complexo com o ligante Imatinibe apresentou uma ligação de hidrogênio, duas interações empilhamento-T, três interações alquila e quatro interações alquila-pi, como é mostrado na Figura A.20.
- O complexo com o ligante Desatinibe apresentou uma ligação de hidrogênio, uma interação cátion-pi, uma interação empilhamento-T, quatro interações alquila e sete interações alquila-pi, como é mostrado na Figura A.21.

Figura A.1: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M01, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



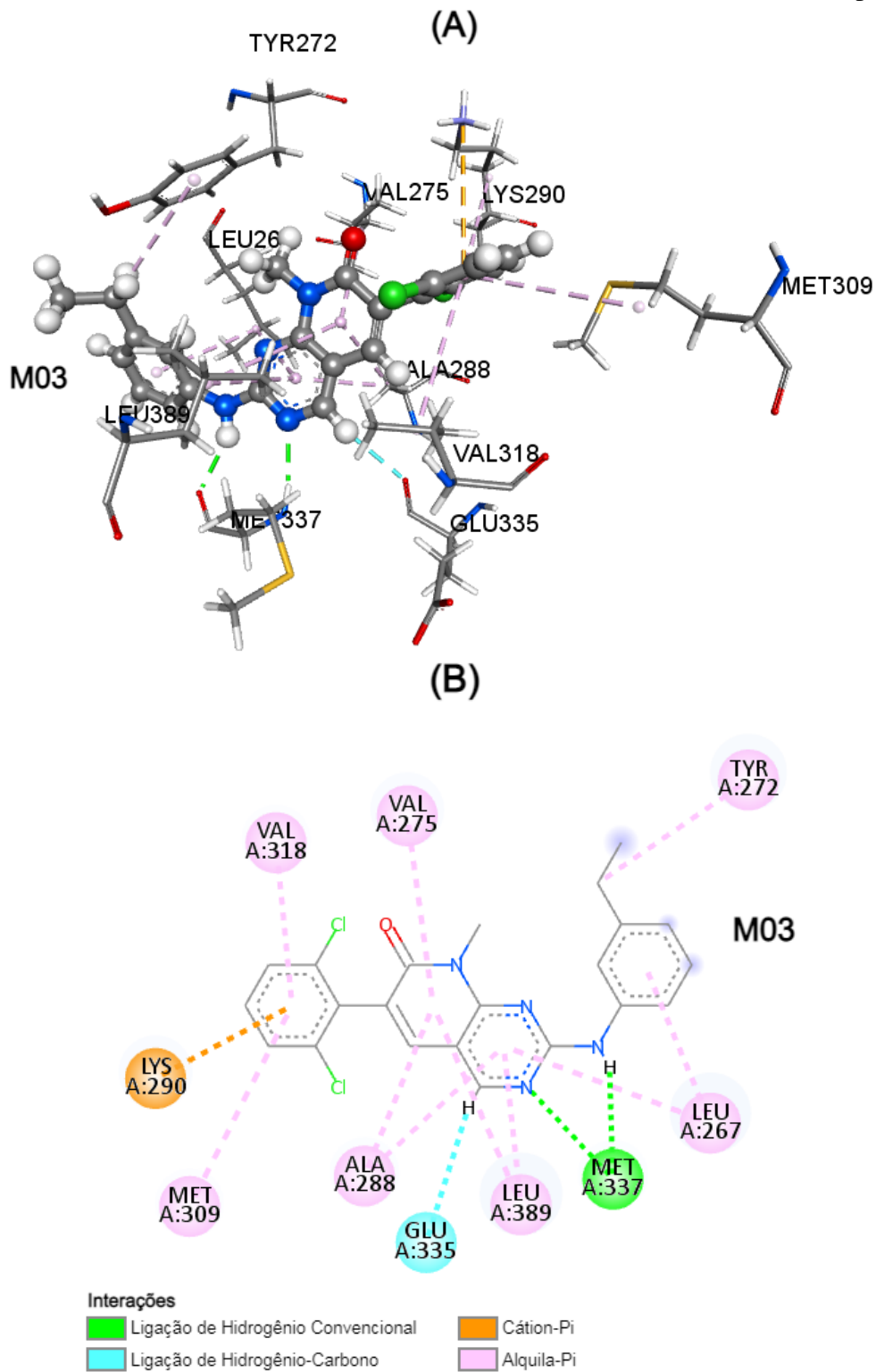
Fonte: Autoria própria, 2022.

Figura A.2: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M02, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



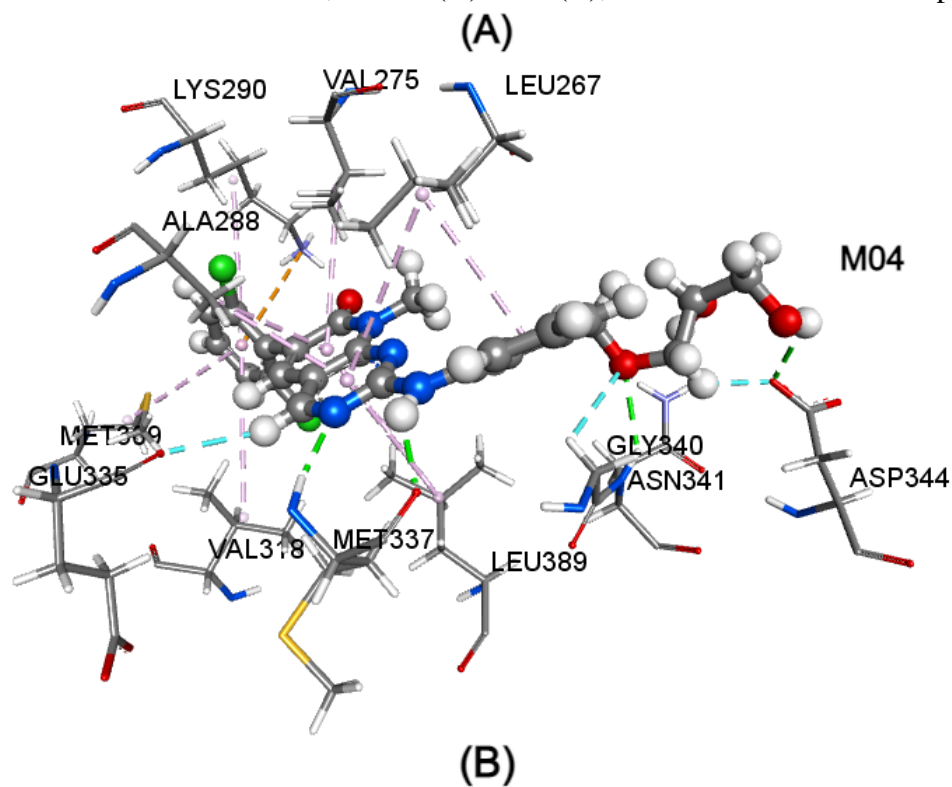
Fonte: Autoria própria, 2022.

Figura A.3: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M03, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



Fonte: Autoria própria, 2022.

Figura A.4: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M04, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.

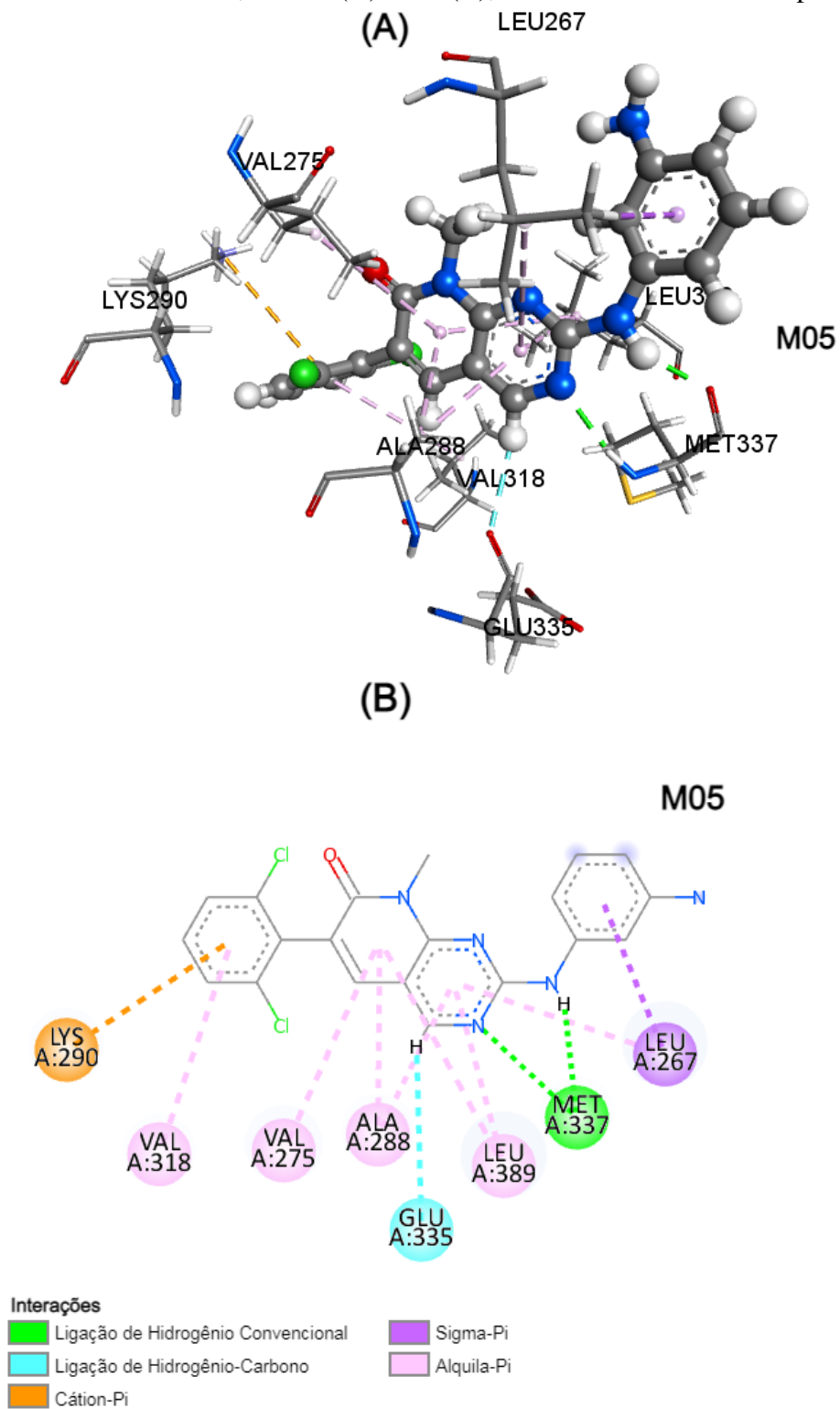


Interações

- | | |
|---|---|
| ■ Ligação de Hidrogênio Convencional | ■ Cátion-Pi |
| ■ Ligação de Hidrogênio-Carbono | ■ Alquila-Pi |

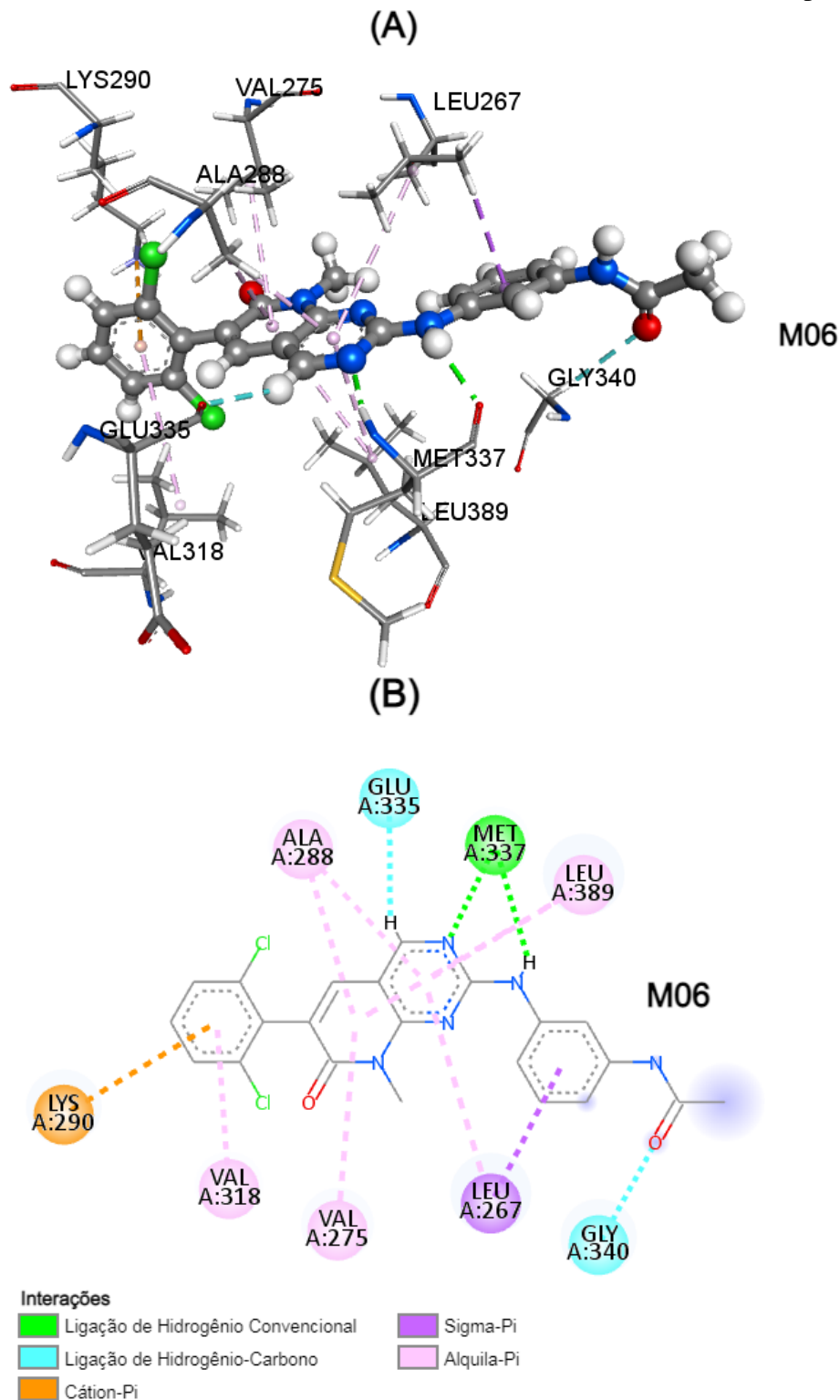
Fonte: Autoria própria, 2022.

Figura A.5: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M05, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



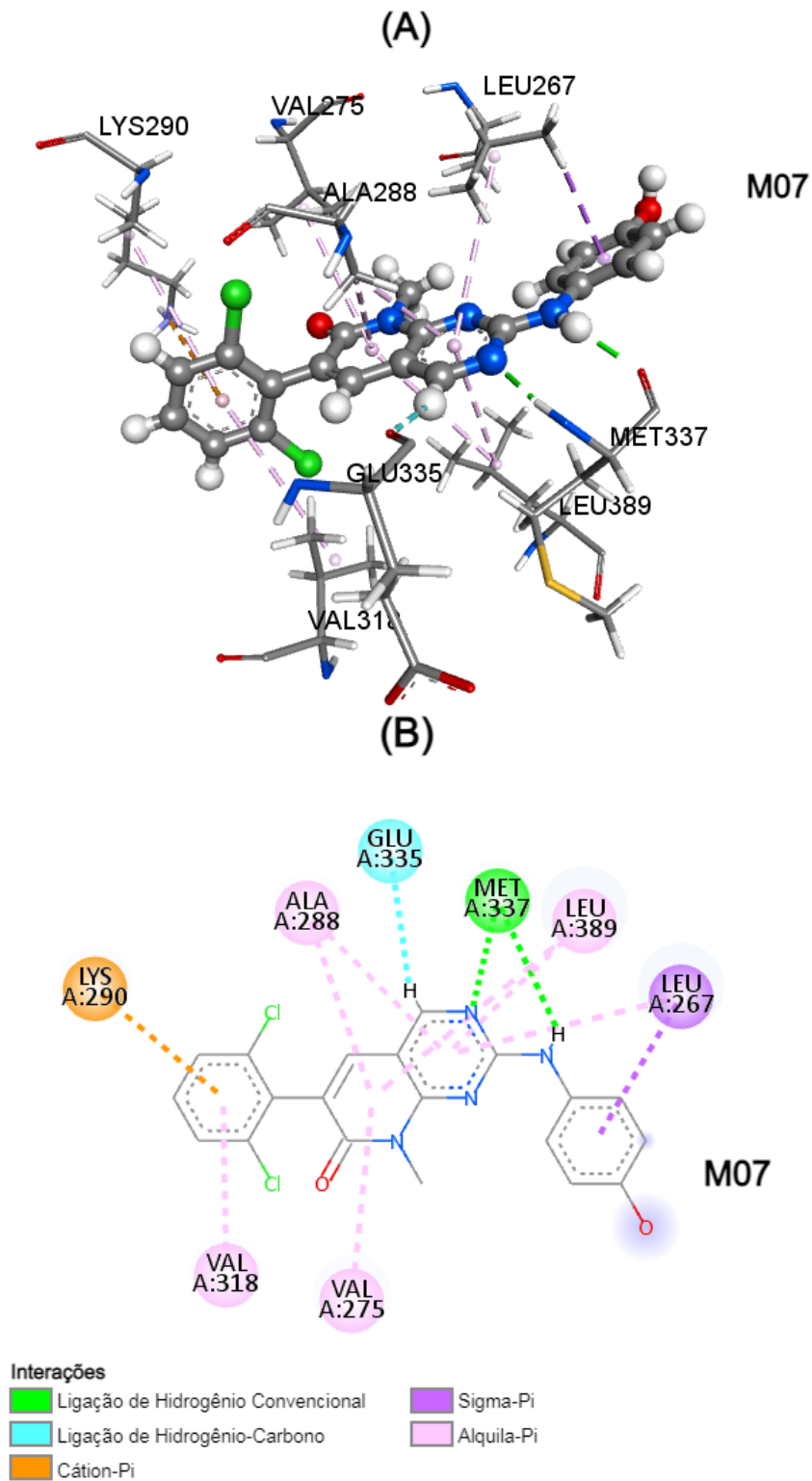
Fonte: Autoria própria, 2022.

Figura A.6: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M06, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



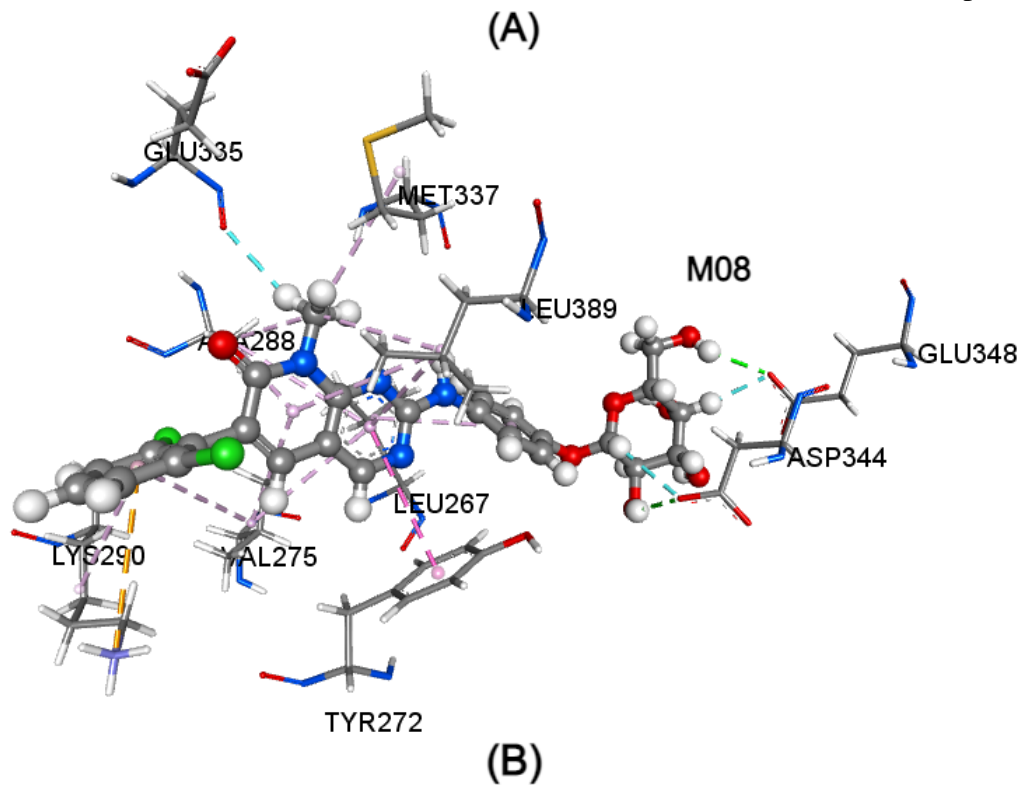
Fonte: Autoria própria, 2022.

Figura A.7: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M07, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



Fonte: Autoria própria, 2022.

Figura A.8: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M08, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.

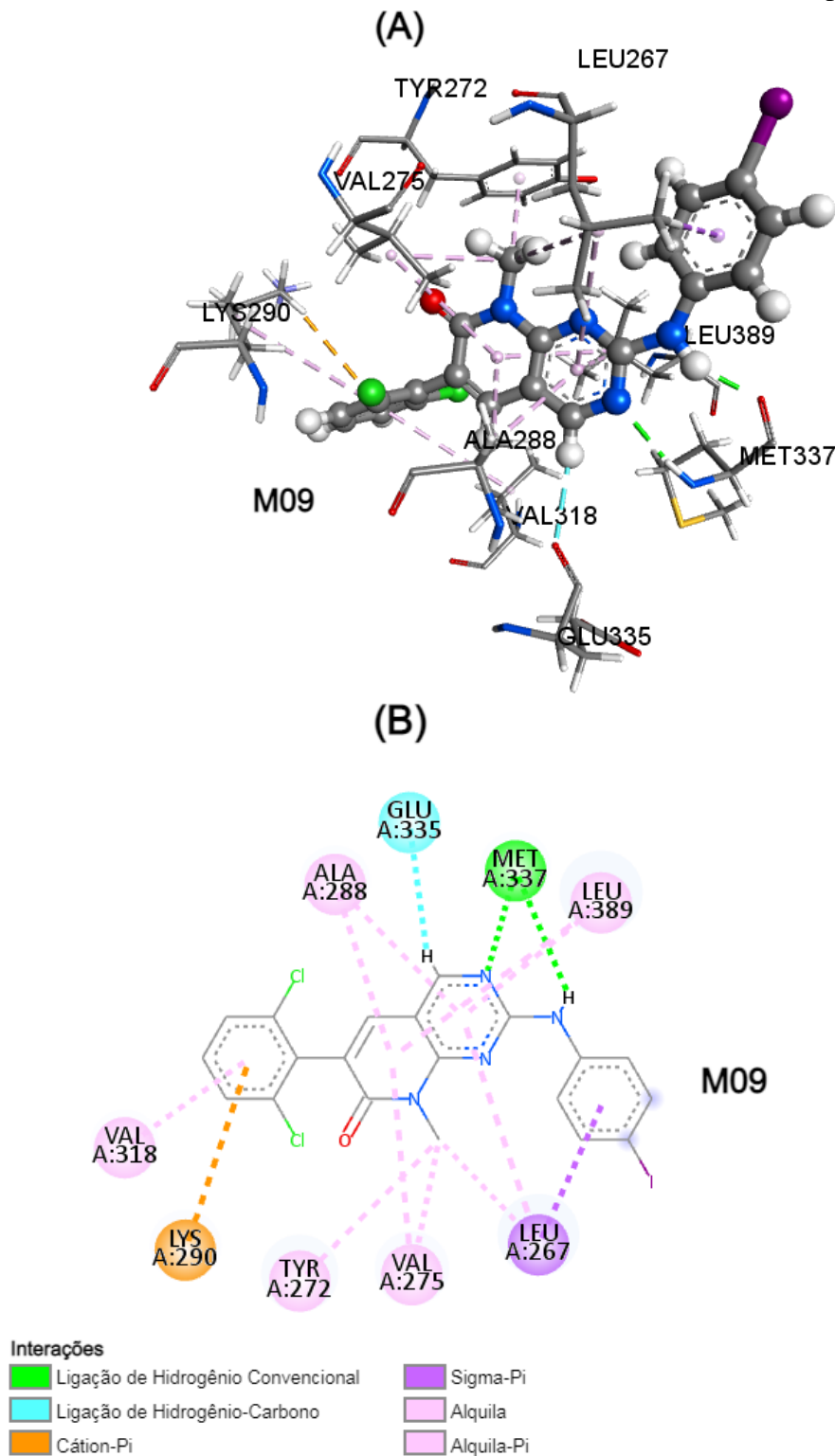


Interações

 Ligação de Hidrogênio Convencional	 Empilhamento-T
 Ligação de Hidrogênio-Carbono	 Alquila
 Cation-Pi	 Alquila-Pi

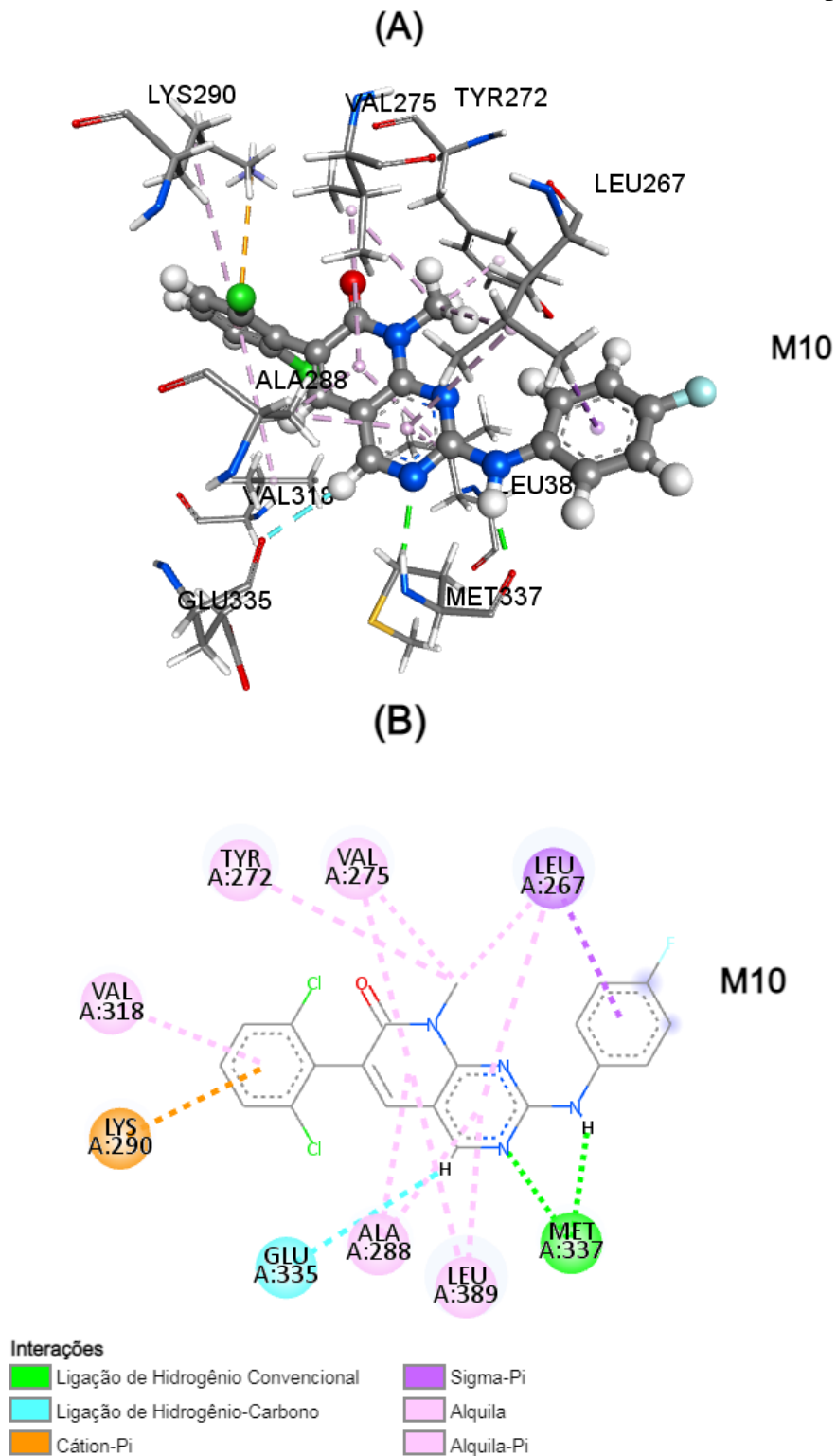
Fonte: Autoria própria, 2022.

Figura A.9: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M09, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



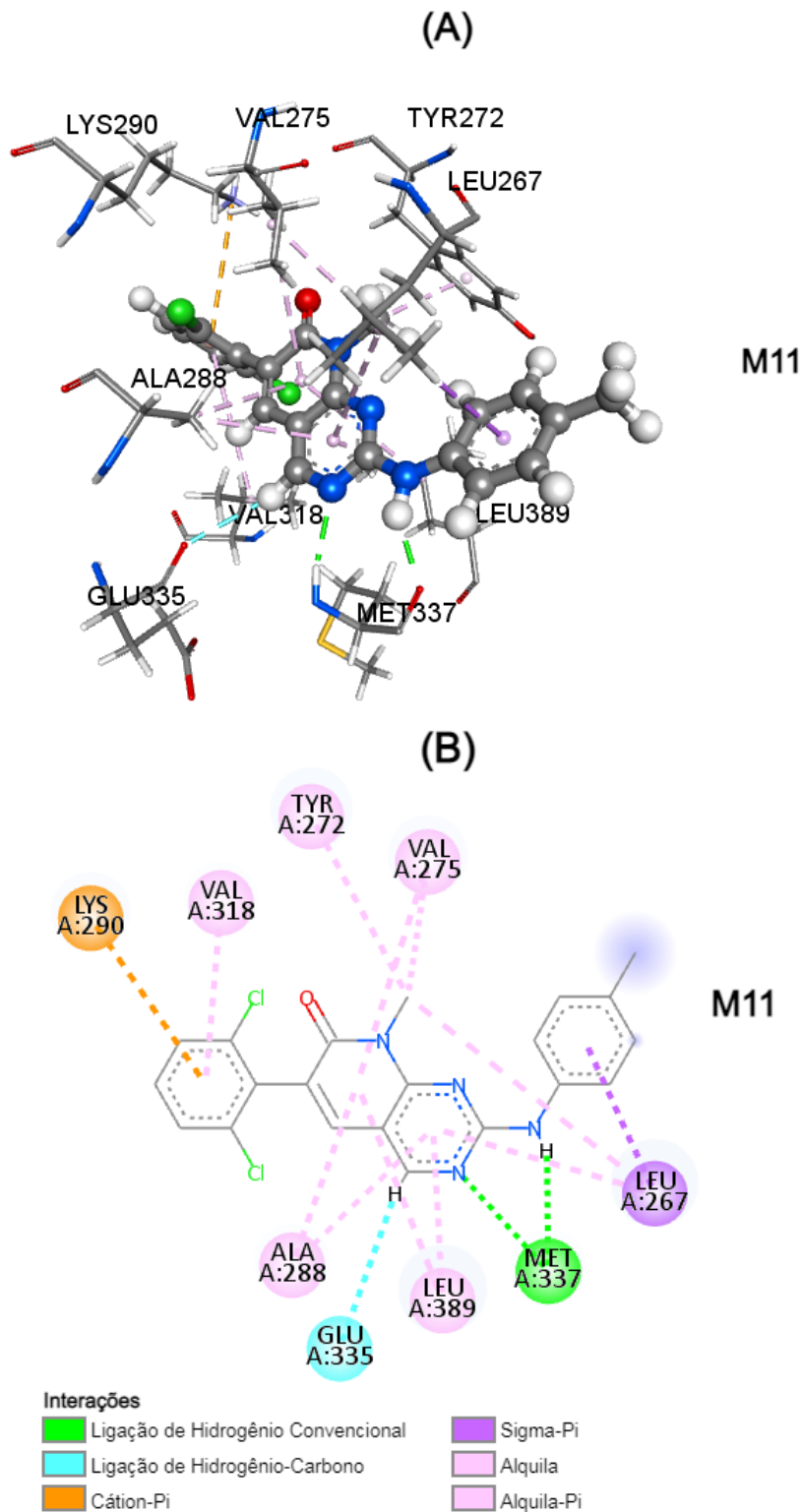
Fonte: Autoria própria, 2022.

Figura A.10: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M10, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



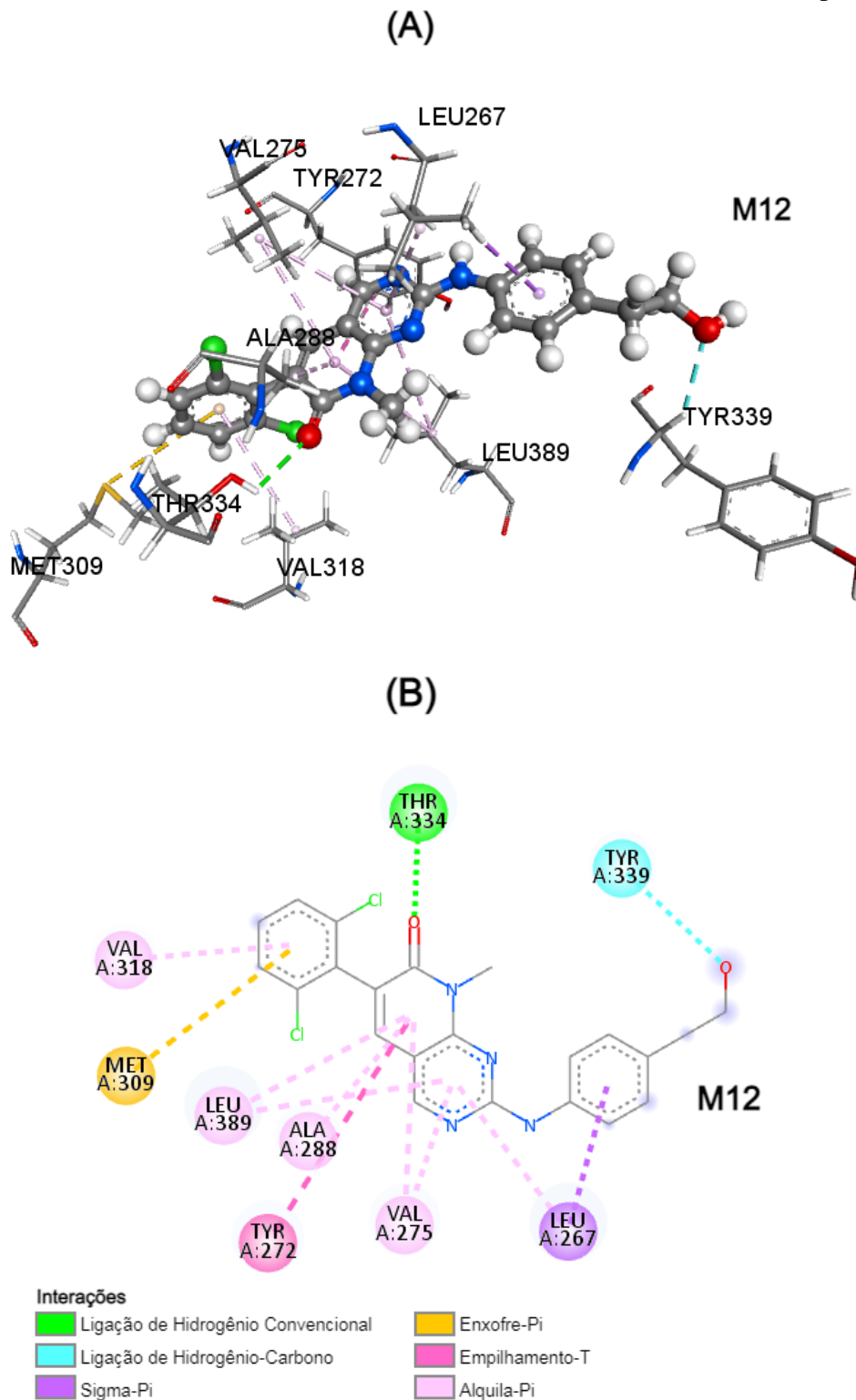
Fonte: Autoria própria, 2022.

Figura A.11: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M11, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



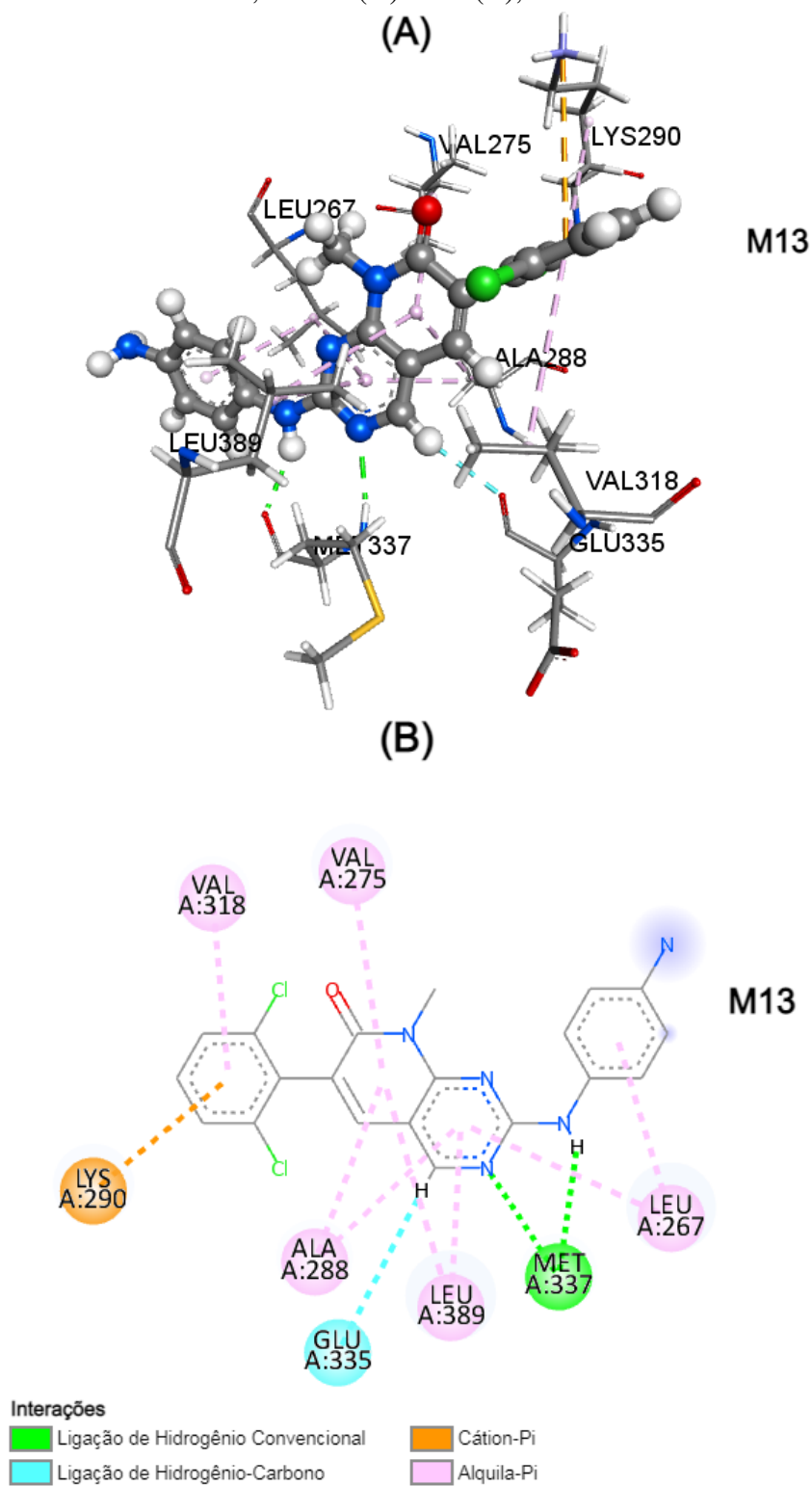
Fonte: Autoria própria, 2022.

Figura A.12: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M12, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



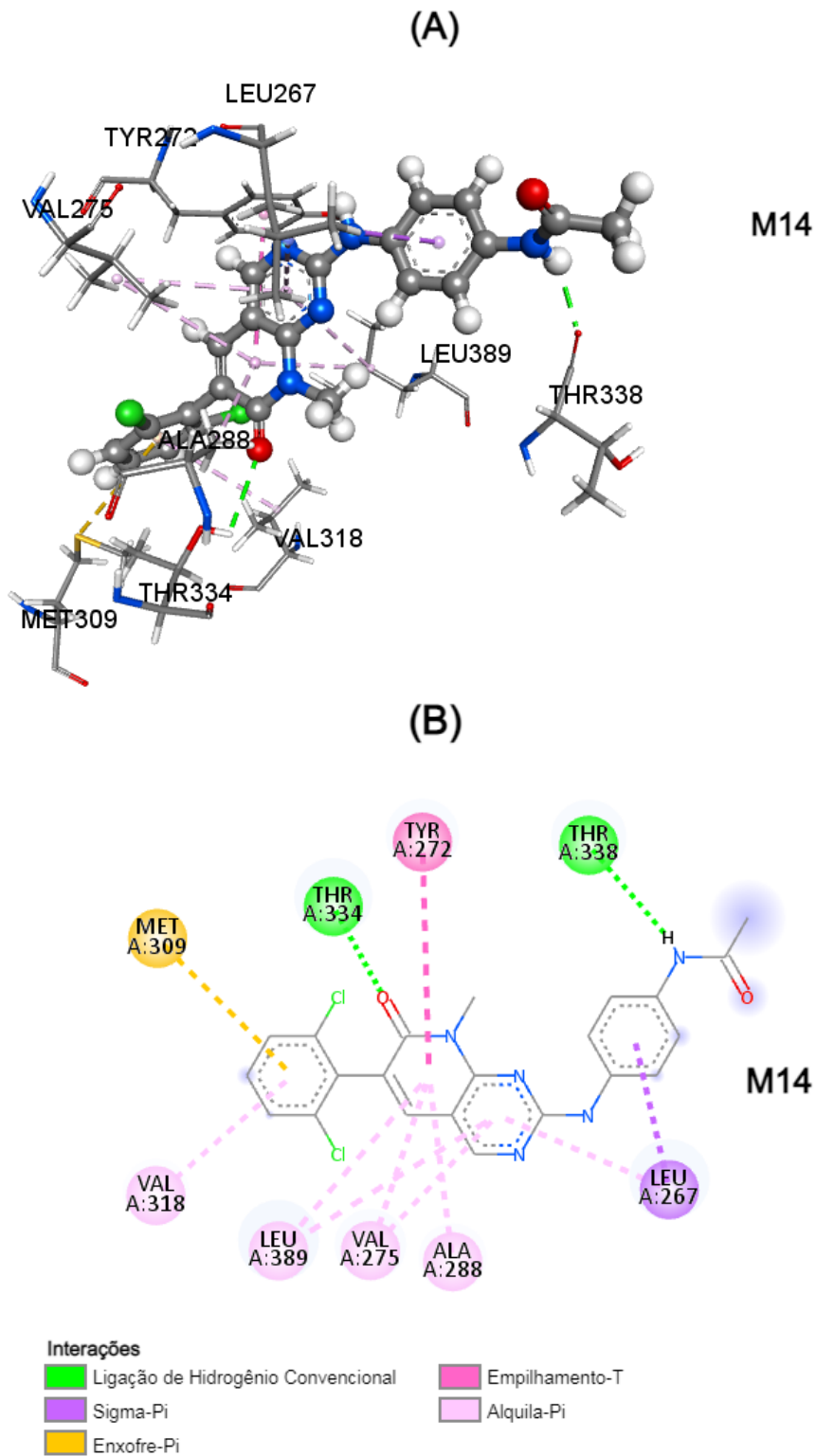
Fonte: Autoria própria, 2022.

Figura A.13: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M13, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



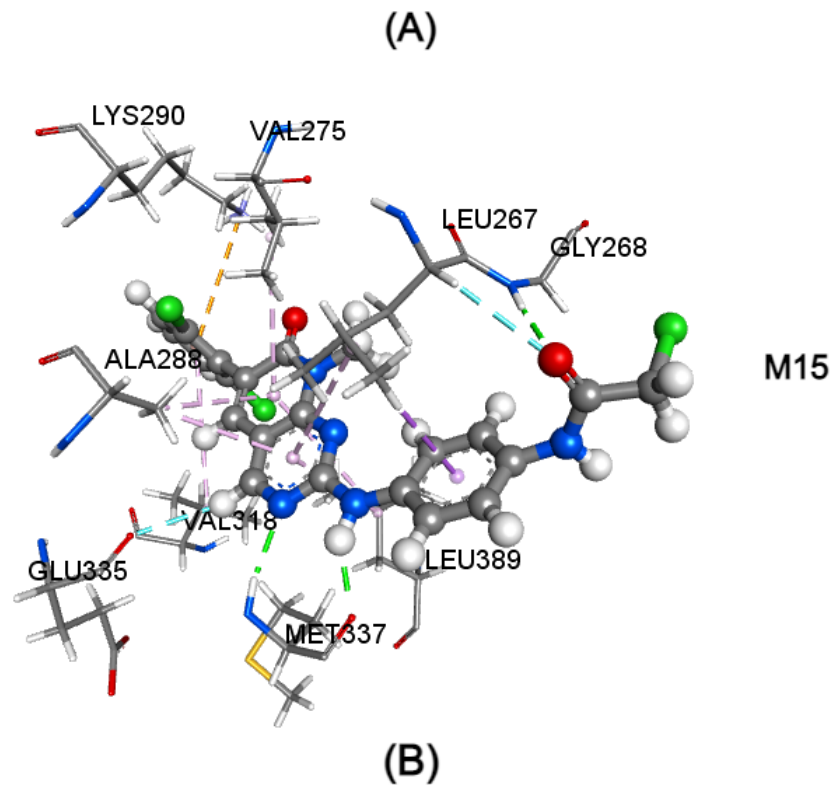
Fonte: Autoria própria, 2022.

Figura A.14: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M14, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



Fonte: Autoria própria, 2022.

Figura A.15: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M15, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.

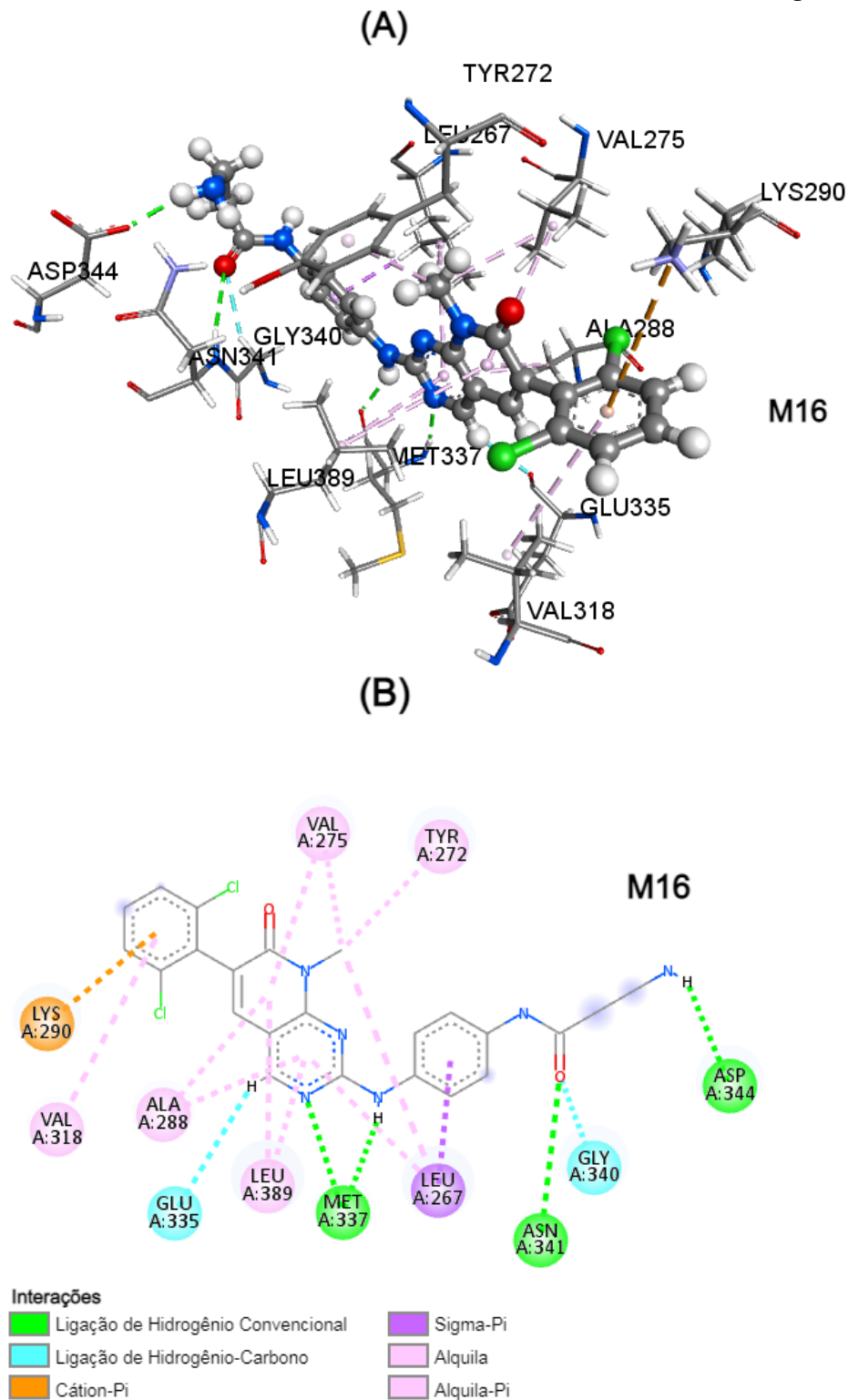


Interações

Ligação de Hidrogênio Convencional	Sigma-Pi
Ligação de Hidrogênio-Carbono	Alquila-Pi
Cation-Pi	

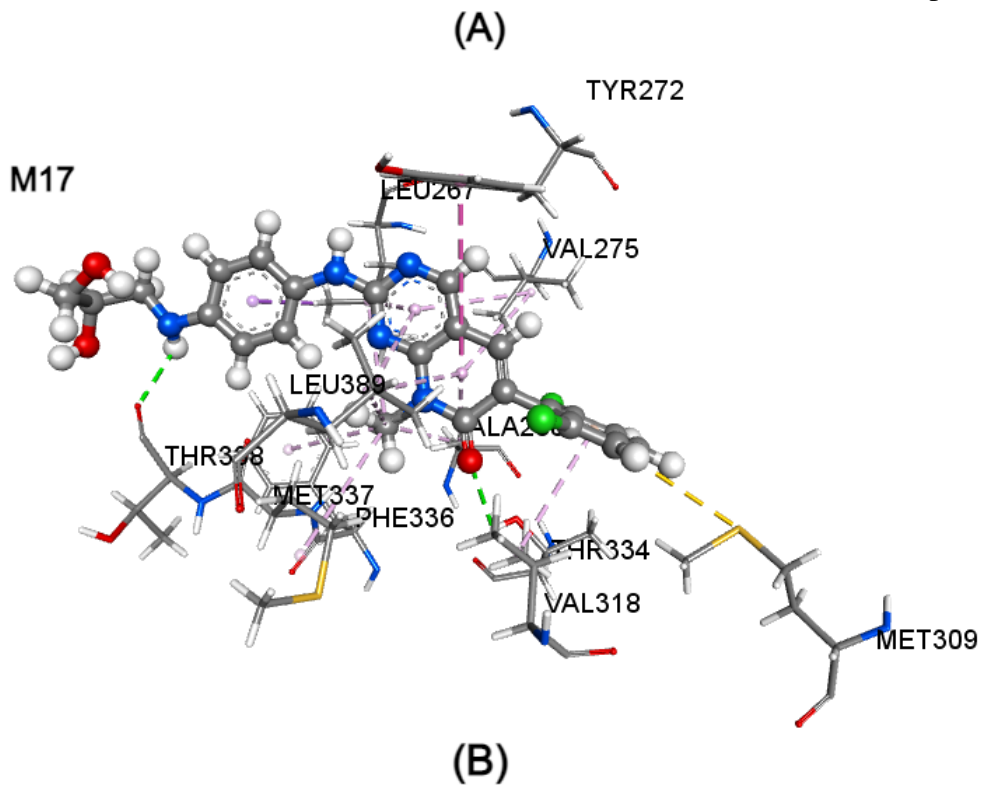
Fonte: Autoria própria, 2022.

Figura A.16: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M16, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



Fonte: Autoria própria, 2022.

Figura A.17: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M17, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.

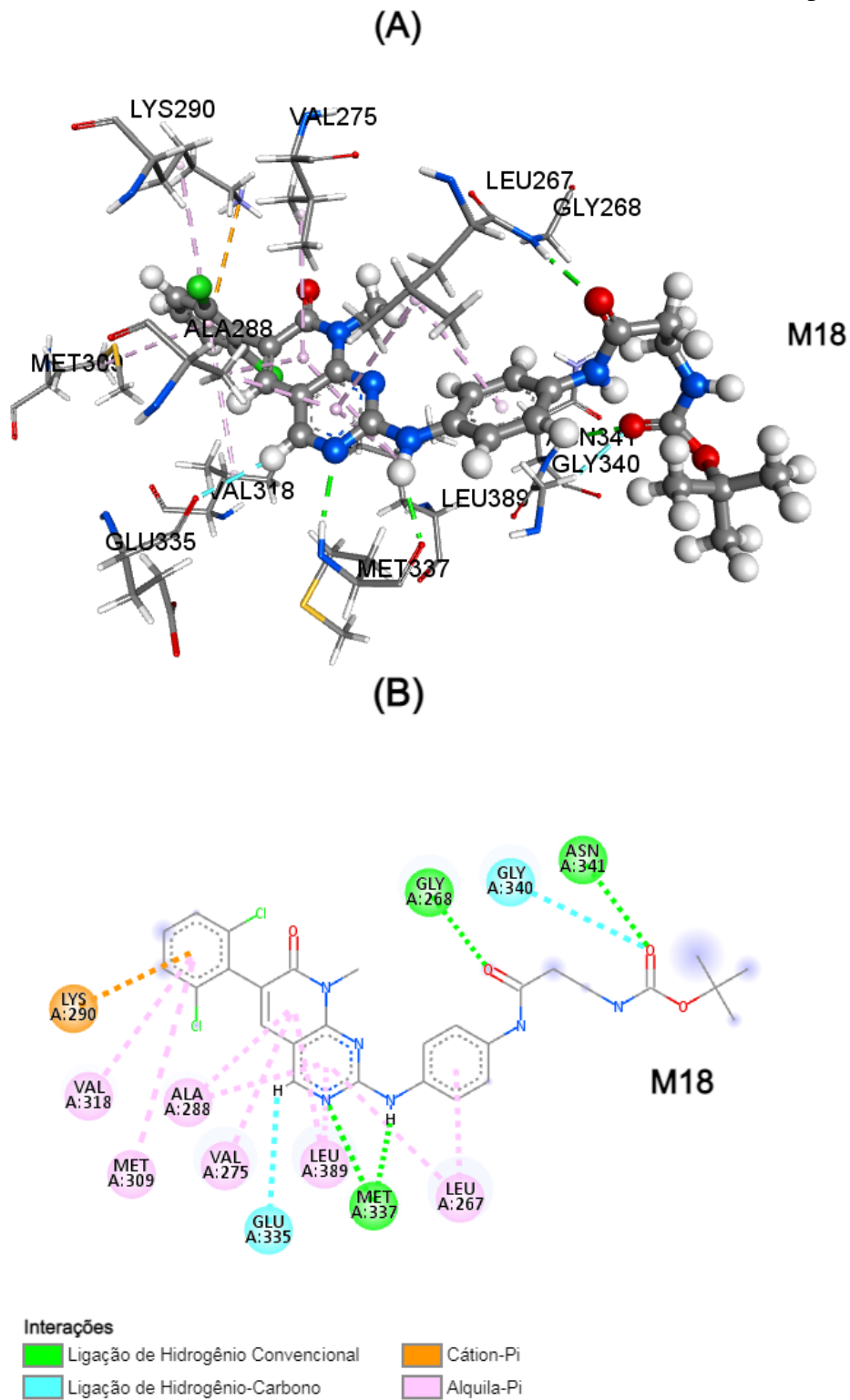


Interações

■ Ligação de Hidrogênio Convencional	■ Empilhamento-T
■ Sigma-Pi	■ Alquila
■ Enxofre-Pi	■ Alquila-Pi

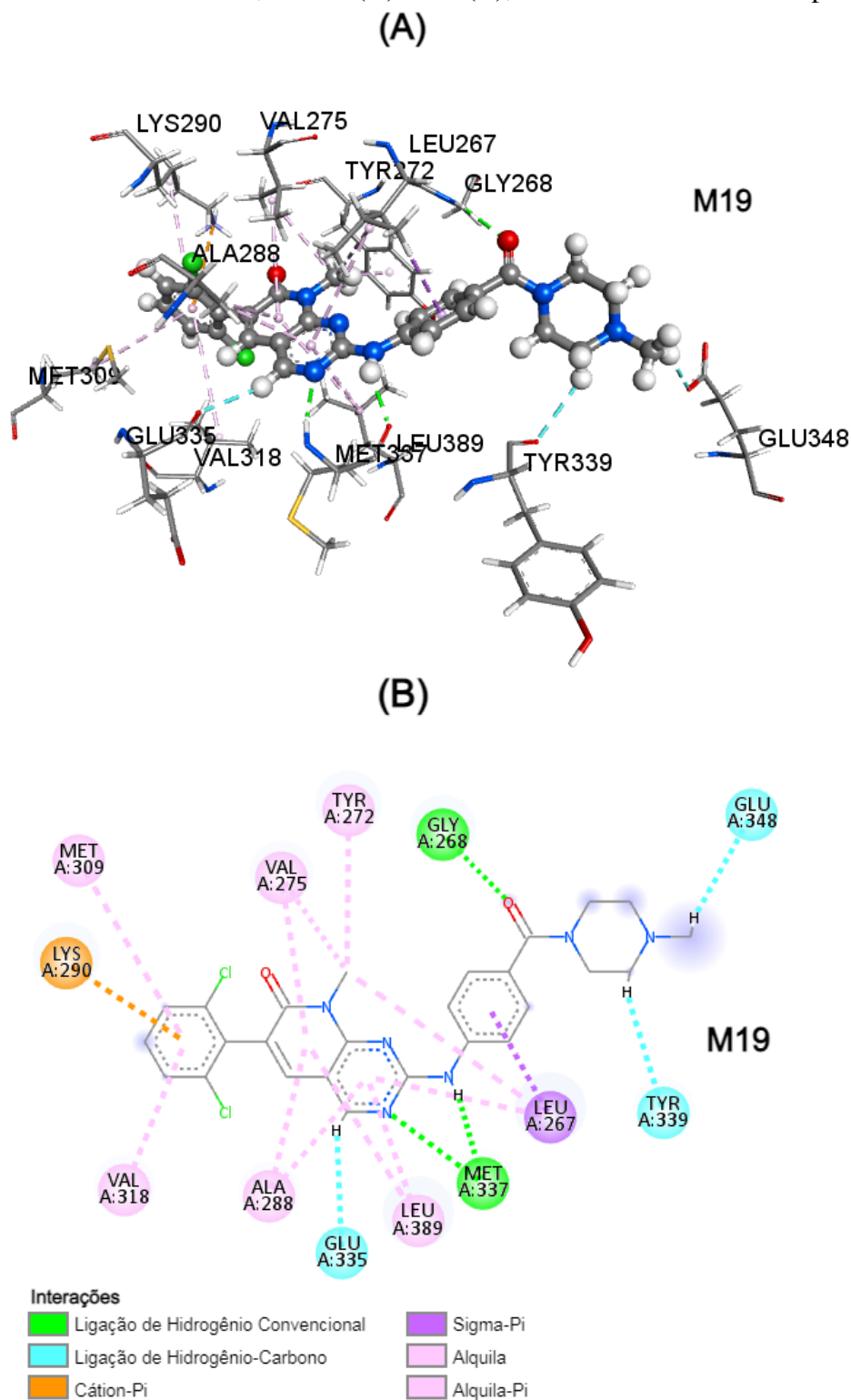
Fonte: Autoria própria, 2022.

Figura A.18: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M18, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



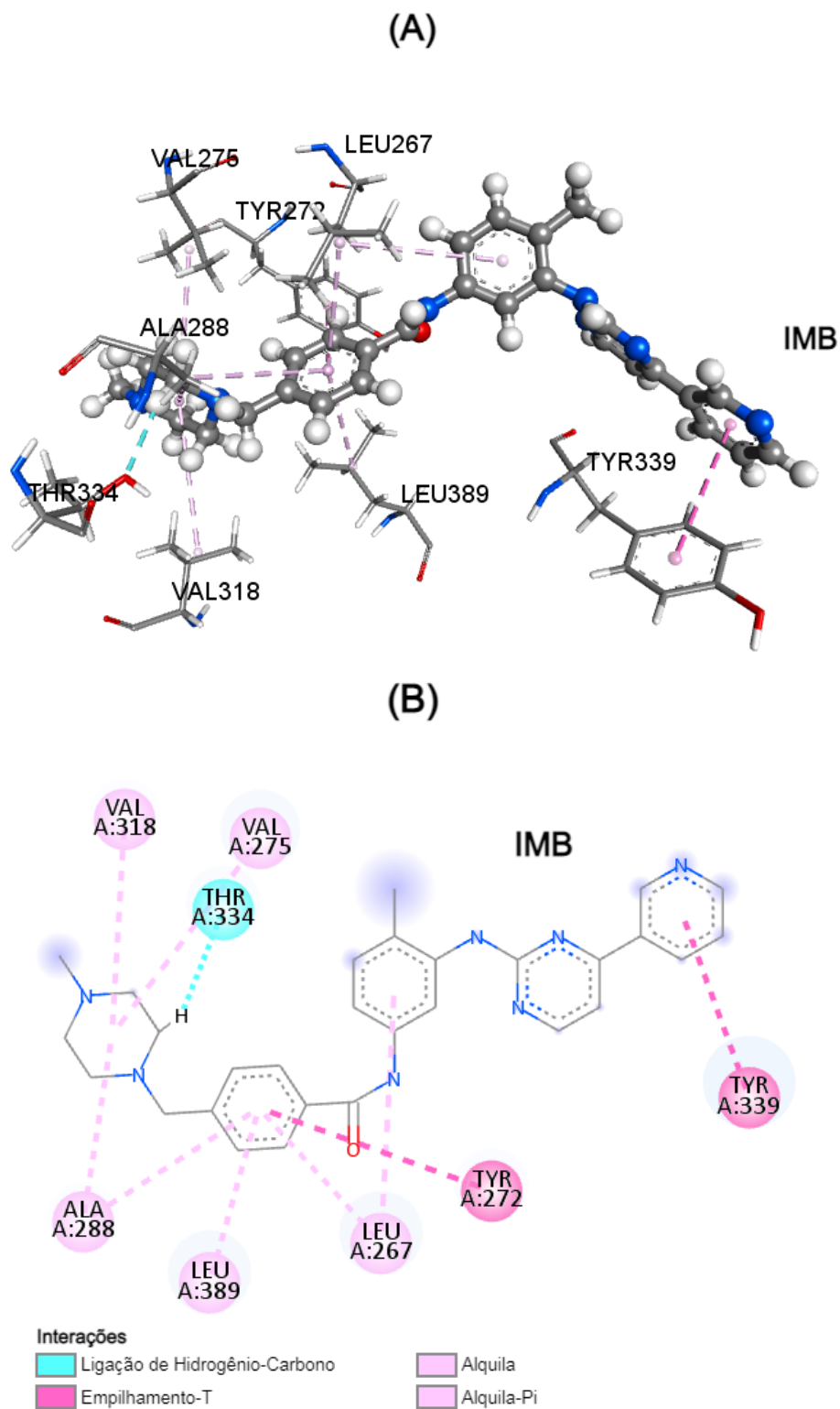
Fonte: Autoria própria, 2022.

Figura A.19: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante M19, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



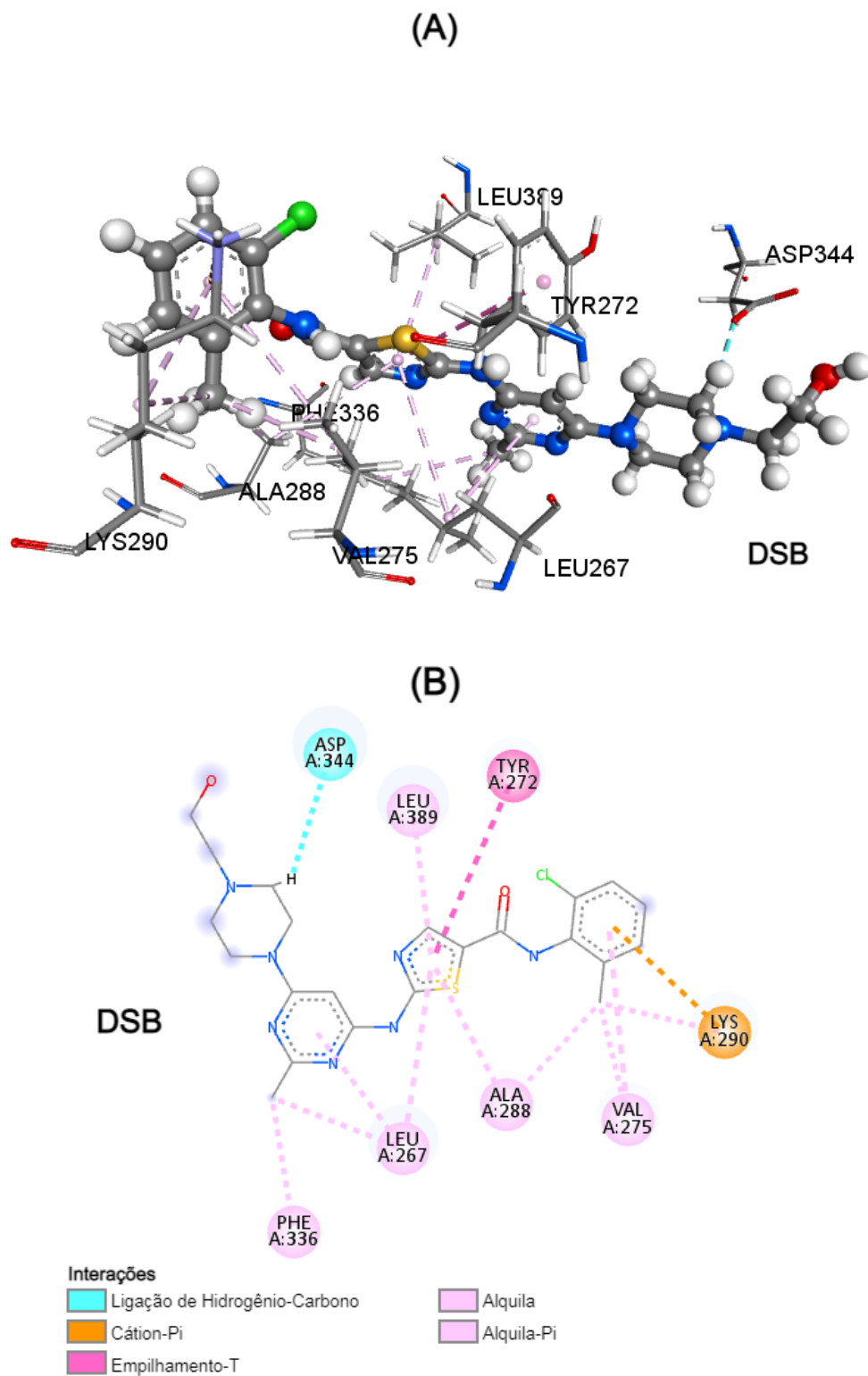
Fonte: Autoria própria, 2022.

Figura A.20: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante imatinibe, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



Fonte: Autoria própria, 2022.

Figura A.21: Representação das interações intermoleculares no complexo com o ligante desatinibe, obtido no AutoDock Vina, em 3D (A) e 2D (B), no local do sítio ativo da proteína.



Fonte: Autoria própria, 2022.