

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS – UNIFAL / MG

JANAINA DE FÁTIMA CORSINI

**BIOINFORMÁTICA ESTRUTURAL APLICADA A BUSCA POR NOVOS
COMPOSTOS CONTRA OS ALVOS MOLECULARES p53- Y220C, MDM2, BIRC7,
EM CÂNCER**

ALFENAS – MG

2020

JANAINA DE FÁTIMA CORSINI

**BIOINFORMÁTICA ESTRUTURAL APLICADA A BUSCA POR NOVOS
COMPOSTOS CONTRA OS ALVOS MOLECULARES p53- Y220C, MDM2, BIRC7,
EM CÂNCER**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Alfenas, Área de concentração: Biologia Molecular.
Orientador: Prof. Dr. Nelson José Freitas da Silveira

Alfenas/MG

2020

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas

C826b Corsini, Janaina de Fátima.
Bioinformática estrutural aplicada a busca por novos compostos contra os alvos moleculares p53- Y220C, MDM2, BIRC7, em câncer/
Janaina de Fátima Corsini. – Alfenas/MG, 2020.
66f. : il. –

Orientador: Nelson José Freitas da Silveira.
Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Alfenas, 2020.
Bibliografia.

1. Proteína p53-Y220C. 2. Proteína MDM2. 3. Proteína BIRC7. 4. Apoptose. 5. Docking Molecular. I.Silveira, Nelson José de Freitas da.II. Título.

CDD 572.6

JANAINA DE FÁTIMA CORSINI

BIOINFORMÁTICA ESTRUTURAL APLICADA A BUSCA POR NOVOS COMPOSTOS CONTRA OS ALVOS MOLECULARES
p53- Y220C, MDM2, BIRC7, EM CÂNCER

A Banca examinadora abaixo-assinada aprova a Dissertação/Tese apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Biologia Celular, Molecular e Estrutural das doenças agudas e crônicas.

Aprovada em: 6 de março de 2020.

Prof. Dr. Nelson José Freitas da Silveira
Instituição: Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG

Prof. Dr. Ulises Maximiliano Mancini Villagra
Instituição: Universidade Nacional de La Plata - UNLP

Profa. Dra. Márcia Paranho Veloso
Instituição: Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG



Documento assinado eletronicamente por **Nelson José Freitas da Silveira, Professor do Magistério Superior**, em 06/03/2020, às 10:54, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Márcia Paranho Veloso, Professor do Magistério Superior**, em 06/03/2020, às 10:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ulises Maximiliano Mancini Villagra, Usuário Externo**, em 06/03/2020, às 11:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0269139** e o código CRC **E5EF846F**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL-MG e ao programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas – PPGCB, pela oportunidade que me foi oferecida de cursar o mestrado em Ciências Biológicas.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro – Código de Financiamento 001.

Agradeço ao Prof. Dr. Nelson José Freitas da Silveira pela orientação durante o desenvolvimento da dissertação.

RESUMO

Os avanços no conhecimento do genoma das células cancerígenas nos últimos anos têm impulsionado a pesquisa por novos agentes terapêuticos com propriedades farmacodinâmicas e farmacocinéticas otimizadas. O câncer apresenta alta incidência e mortalidade nos países do mundo todo. As terapias disponíveis ainda não são eficientes para tratar muitos tipos de câncer, principalmente quando se encontram em estágio avançado. Além disso, muitos tratamentos provocam uma série de efeitos colaterais debilitantes, que alteram a qualidade de vida das pessoas. A ocorrência de alterações nos alvos moleculares, P53-Y220C (*Cellular tumor antigen p53-y220c*), MDM2 (*E3 ubiquitin-protein ligase Mdm2*), BIRC7 (*Baculoviral IAP repeat-containing protein 7*), são importantes para o estabelecimento do câncer, pelo papel crucial que desempenham na regulação da via apoptótica. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo a identificação de potenciais ligantes para os alvos moleculares p53-Y220C, MDM2 e BIRC7, a partir de análises *in silico*. Por meio da técnica *docking* molecular foi possível calcular a energia de interação entre as moléculas ligantes e os respectivos alvos moleculares para a seleção de compostos que formem complexos mais estáveis, com menor energia de ligação durante o processo de interação. A técnica de bioisosterismo foi utilizada para gerar moléculas análogas aos ligantes estabelecidos como controle para os ensaios *docking* molecular a partir da seleção de grupos funcionais que apresentam interação menos favorável com seus respectivos alvos moleculares. Para o ligante código RZH derivado do indol, cristalizado com a proteína p53-y220C código pdb: 5AOI, foram selecionados os fragmentos moleculares N1 e N2 para substituição bioisostérica. Para o ligante G13 cristalizado com a proteína BIRC7, código pdb: 3F7I, foram selecionados os fragmentos moleculares N2, N7 e N23 para substituição bioisostérica. Para a proteína MDM2 foram selecionados ligantes da base de dados ZINC para os ensaios de *docking* molecular. De acordo com resultados obtidos durante os cálculos de *docking* molecular, os compostos Bio 011 N1 (-7,2 kcal.mol⁻¹), Bio 009 N1 (-7,0 kcal.mol⁻¹), Bio 004 N2 (-7,0 kcal.mol⁻¹), Bio 002 N2 (-6,9 kcal.mol⁻¹) Bio 003 N2 (-6,9 kcal.mol⁻¹) e Bio 003 N2 (-6,9 kcal.mol⁻¹) são candidatos promissores para restaurar a função da proteína p53 com a alteração Y220C. Os compostos ZINC49525064 (-7,9 kcal.mol⁻¹), ZINC49524869 (-7,9 kcal.mol⁻¹), ZINC37307305 (-7,9 kcal.mol⁻¹), ZINC37307202 (-7,9 kcal.mol⁻¹) são candidatos promissores para inibir a proteína MDM2. E os compostos BBio 003 (-9,7 kcal.mol⁻¹), BBio 001 (-9,5 kcal.mol⁻¹), BBio 002 (-8,1 kcal.mol⁻¹), BBio 007 (-8,1 kcal.mol⁻¹) BBio 008 (-7,9 kcal.mol⁻¹) são candidatos promissores inibir a proteína a proteína BIRC7. Todos os compostos identificados apresentaram parâmetros físicos químicos que respeitam as regras dos cinco de Lipinski (RO5) e podem ser administrados por via oral. Teoricamente essas substâncias podem contribuir para o desenvolvimento de novas pesquisas experimentais e ensaios clínicos.

Palavras chaves: proteína P53-y220C, protein MDM2, proteína Birc7, apoptose, *docking* molecular.

ABSTRACT

Advances in knowledge of the cancer cell genome in recent years have driven the search for new therapeutic agents with optimized pharmacodynamic and pharmacokinetic properties. Cancer has a high incidence and mortality in countries around the world. The therapies available are still not effective in treating many types of cancer, especially when they are in an advanced stage. In addition, many treatments cause a series of debilitating side effects that alter people's quality of life. The occurrence of changes in the molecular targets, P53-Y220C (Cellular tumor antigen p53-y220c), MDM2 (E3 ubiquitin-protein ligase Mdm2), BIRC7 (Baculoviral IAP repeat-containing protein 7), are important for the establishment of cancer, crucial role they play in regulating the apoptotic pathway. In this context, the present work aimed to identify potential ligands for the molecular targets p53-y220C, MDM2 and BIRC7, based on *in silico* analyzes. Through the molecular docking technique it was possible to calculate the interaction energy between the binding molecules and the respective molecular targets for the selection of compounds that form more stable complexes, with less binding energy during the interaction process. The bioisosterism technique was used to generate molecules analogous to the ligands established as a control for molecular docking assays from the selection of functional groups that present less favorable interaction with their respective molecular targets. For the ligand code RZH derived from indole, crystallized with the protein p53-y220C code pdb: 5AOI, the molecular fragments N1 and N2 were selected for bioisosteric substitution. For the G13 ligand crystallized with the BIRC7 protein, code pdb: 3F7I, the molecular fragments N2, N7 and N23 were selected for bioisosteric substitution. For the MDM2 protein, ligands were selected from the ZINC database for molecular docking assays. According to results obtained during molecular docking calculations, the compounds Bio 011 N1 ($-7.2 \text{ kcal.mol}^{-1}$), Bio 009 N1 ($-7.0 \text{ kcal.mol}^{-1}$), Bio 004 N2 ($-7.0 \text{ kcal.mol}^{-1}$), Bio 002 N2 ($-6.9 \text{ kcal.mol}^{-1}$) Bio 003 N2 ($-6.9 \text{ kcal.mol}^{-1}$) and Bio 003 N2 ($-6. \text{ kcal.mol}^{-1}$) are promising candidates for restoring the function of the p53 protein with the Y220C alteration. Compounds ZINC49525064 ($-7.9 \text{ kcal.mol}^{-1}$), ZINC49524869 ($-7.9 \text{ kcal.mol}^{-1}$), ZINC37307305 ($-7.9 \text{ kcal.mol}^{-1}$), ZINC37307202 ($-7.9 \text{ kcal.mol}^{-1}$) are promising candidates for inhibiting the MDM2 protein. And the compounds BBio 003 ($-9.7 \text{ kcal.mol}^{-1}$), BBio 001 ($-9.5 \text{ kcal.mol}^{-1}$), BBio 002 ($-8.1 \text{ kcal.mol}^{-1}$), BBio 007 ($-8.1 \text{ kcal.mol}^{-1}$) BBio 008 ($-7.9 \text{ kcal.mol}^{-1}$) are promising candidates to inhibit protein to BIRC7. All the compounds identified showed physical and chemical parameters that respect the rules of the five of Lipinski (RO5) and can be administered orally. Theoretically these substances may contribute to the development of new experimental research and clinical trials.

Keywords: protein P53-y220C, protein MDM2, protein Birc7, apoptosis, molecular docking.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	- Página para consulta do Banco de Dados de Proteína PDB (Protein Data Bank).....	12
Figura 2	- Regra do hidreto formulada por Grimm.....	15
Figura 3	- Exemplo de Bioisosterismo clássico de mesma valência e mesma equivalência anelar.....	17
Figura 4	- Exemplo de Bioisosterismo clássico monovalente.....	17
Figura 5	- Exemplo de Bioisosterismo não clássico do antagonista gonadotropinico.....	18
Figura 6	- Representação esquemática do docking molecular.....	19
Figura 7	- Esquema mostrando os domínios estruturais da proteína p53.....	27
Figura 8	- Esquema mostrando os domínios da proteína MDM2.....	29
Figura 9	- Esquema mostrando os domínios da proteína BIRC7.....	31
Figura 10	- Esquema geral das etapas executadas no presente trabalho.....	36
Figura 11	- Composto código pdb: RZH.....	37
Figura 12	- Composto derivado de chalcona (prenilchalcona -2e).....	37
Figura 13	- Composto código pdb G13.....	38
Figura 14	- Composto RZH com os fragmentos selecionados para substituição bioisostérica.....	41
Figura 15	- Visualização das poses dos cinco melhores resultados do docking e do controle juntamente com o diagrama das interações ente a proteína código pdb: 5AOI, os ligantes e o controle.....	43
Figura 16	- Visualização das poses dos quatro melhores resultados do docking e do controle juntamente com o diagrama das interações ente a proteína código pdb: 4HG7, os ligantes e o controle.....	48
Figura 17	- Composto G13 com os fragmentos selecionados para substituição bioisostérica.....	52
Figura 18	- Visualização das poses dos cinco melhores resultados do docking e do controle juntamente com o diagrama das interações ente a proteína código pdb: 37FI, os ligantes e o controle.....	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Bioisósteros Clássicos.....	16
Tabela 2	- Bioisosteros não clássicos.....	18
Tabela 3	- Cálculo das interações não ligantes entre os átomos do ligante RZH cristalizado no sítio ativo da proteína código:pdb:5AOI.....	40
Tabela 4	- Energia de ligação (kcal.mol ⁻¹) dos 6 melhores resultados do dockink e do controle.....	41
Tabela 5	- Cálculo das propriedades físico químicas dos 6 ligantes que obtiveram melhor energia de ineraçõ e do controle.....	42
Tabela 6	- Energia de ligação (kcal.mol ⁻¹) dos 4 melhores resultados do docking e do controle.....	47
Tabela 7	- Cálculo das propriedades físico químicas dos 4 ligantes que obtiveram melhor energia de interação e do controle.....	47
Tabela 8	- Cálculo das interações não ligantes entre os átomos do ligante G13 cristalizado no sitio ativo da proteína código pdb:.....	51
Tabela 9	- Energia de ligação (kcal.mol ⁻¹) dos 5 melhores resultados do dockink e do controle.....	53
Tabela 10	- Cálculo das propriedades físico químicas dos 5 ligantes que obtiveram melhor energia de ineração e do controle.....	53

LISTA DE ABREVIACOES

ASP	-Aspartato
BIRC7	- Baculoviral IAP repeat-containing protein 7
DNA	-Deoxyribonucleic acid
Gln	-Glutamina
Glu	-Glutamato
GLY	-Glicina
HBA	-Hydrogen Bond acceptors (Aceptores de ligação de Hidrogênio)
HBD	-Hydrogen Bond Donors (Doadores de ligação de Hidrogênio)
Kcal	-Quilocalorias
LEU	-Leucina
logP,	- Log calculado de P. Avalia lipofilicidade de um composto.
logS,	-Logaritmo da solubilidade de um composto
MDM2	- E3 ubiquitin-protein ligase Mdm2
OMS	-Organização mundial de Saúde
PDB	-Protein Data Bank (Banco de dados de proteínas)
p53-y220C	- Cellular tumor antigen p53-y220c
RMN	-Ressonância magnética nuclear;
TPSA	-Topological Polar Surface Area (rea de superfície polar Topológica)
Trp	-Triptofano
VAL	-Valina
ZIC	-Banco de dados de compostos disponíveis comercialmente

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	11
2.	REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1	Bioisosterismo	15
2.2	Docking Molecular	19
2.3	Considerações gerais sobre o Câncer.....	22
2.4	Apoptose	24
2.5	Proteína p53	26
2.6	Proteína MDM2	29
2.7	Proteína BIRC7	30
3.	OBJETIVOS	33
3.1	Geral	33
3.2	Específicos	33
3.2.1	Proteína p53-y220C.....	33
3.2.2	Proteína MDM2.....	33
3.2.3	Proteína BIRC7	33
4.	MATERIAI E MÉTODOS.....	35
4.1	Obtenções dos Ligantes	35
4.1.1	Proteína p53-y220C.....	36
4.1.2	Proteína MDM2.....	37
4.1.3	Proteína BIRC7	37
4.2	Docking Molecular	38
4.3	Visualização do resultado do docking e avaliação dos ligantes.....	39
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1	Proteína p53-Y220C	40
5.2	Proteína MDM2	46
5.3	Proteína BIRC7	50
6.	CONCLUSÃO.....	58
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59

1 INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade, sempre o homem buscou por recursos capazes de curar as doenças e aliviar as dores. Inicialmente os únicos meios terapêuticos disponíveis se baseavam no conhecimento popular de remédios advindos da natureza, principalmente os extraídos de plantas (NEWMAN; GRAGG; SNADER, 2000).

Entre o período de 1850 a 1945, com pouco conhecimento detalhado dos fundamentos biológicos das doenças, a pesquisa de novos agentes terapêuticos baseou-se em triagens aleatórias de substâncias. Nesse processo, todas as substâncias químicas disponíveis, sintetizadas ou extraídas de recursos naturais, passavam por testes *in vitro* e *in vivo* na tentativa de encontrar alguma que manifestasse o efeito biológico necessário. Muitas vezes, durante esses ensaios, acabavam descobrindo substâncias efetivas para o tratamento de uma doença, enquanto realizavam ensaios para outras (MALEBRA; ORSENICO, 2002).

Após 1945, com a expansão do desenvolvimento científico e tecnológico, técnicas mais complexas e precisas passaram a ser empregadas pelas indústrias farmacêuticas, pesquisadores acadêmicos e outros setores públicos e privados para a descoberta e aperfeiçoamento de novas moléculas com atividade biológica (KAUL, 1998).

Com a evolução do conhecimento da biologia molecular e celular e a conclusão do projeto genoma humano, a partir de 1970, foi possível obter informações sobre as vias moleculares responsáveis pela causa de muitas doenças. E por meio da descoberta dos receptores moleculares, estratégias baseadas em alvos moleculares, foram utilizadas para o descobrimento de novas substâncias terapêuticas (GERSHELL; ATKINS, 2003).

As metodologias virtuais “*in silico*”, que empregam recursos computacionais para a identificação de novas substâncias, também passaram a integrar o processo de desenvolvimento de medicamentos nas grandes indústrias farmacêuticas, por aumentarem a produtividade da tática de pesquisa e diminuírem o tempo e o custo durante as fases de desenvolvimento. A busca por novos compostos terapêuticos a partir do conhecimento da estrutura tridimensional (3D) do alvo molecular tornou-se uma das principais estratégias adotadas na fase de concepção do projeto de um novo fármaco com o surgimento e aprimoramento das técnicas de cristalografia de raios X, ressonância magnética nuclear (RMN) e modelagem por homologia (que utiliza programas computacionais e informações das seqüências primárias da proteína alvo contidas em banco de dados virtuais para determinação da estrutura 3D) (FELTS et al., 2014). Um grande número de arquivos contendo informações de estruturas 3D de proteínas alvos se encontra disponível no banco de dados de

proteínas (PDB) (<http://www.rcsb.org>) com acesso gratuito (Figura1) (BERMAN et al., 2014).

Figura 1 - Página para consulta do Banco de Dados de Proteína PDB (Protein Data Bank).

Fonte: Disponível em: <<https://www.rcsb.org/>>. Acesso em janeiro de 2020.

Nota: Foi criado em 1971 para disponibilizar e armazenar dados tridimensionais de estruturas biológicas. Atualmente possui 159.140 estruturas armazenadas.

Com uma quantidade cada vez maior de dados biológicos disponíveis, a análise *in silico* de interações entre os alvos moleculares (receptores) causadores das doenças e possíveis moléculas (ligantes) se tornou cada vez mais viável (LENGAUER; RAREY; 1996). A técnica de *docking* molecular que prevê a afinidade de um ligante acoplado no sítio ativo do receptor, bem como sua posição e orientação passou a ser amplamente empregada. Grandes bases de dados virtuais contendo um grande número de compostos disponíveis comercialmente ou por meio de síntese orgânica, podem ser testados contra o alvo molecular de interesse por meio de ensaios de *docking* molecular, para selecionar compostos que possuam melhor interação com a molécula alvo a fim de serem submetidos aos testes de atividade *in vitro*. Existem várias bibliotecas virtuais de compostos disponíveis para a pesquisa de ligantes, tais como: ZINC, BindingDB, PubChem, SuperNatural, ChEMBL (FELTES et al., 2014). A ZINC é preferencialmente utilizada para pesquisa de ligantes a serem utilizados em ensaios de *docking* molecular, por ser gratuita e ter mais de 20 milhões de

compostos comercialmente disponíveis com várias opções de busca em sua base de dados (STERLING; IRWIN, 2015).

Além das bases de dados públicas, novas substâncias terapêuticas também podem ser identificadas com técnicas de modificação molecular por meio de alterações em ligações, elementos ou grupos químicos de um composto-protótipo. O bioisosterismo se insere nos métodos de modificação molecular e pode ser útil para melhorar o perfil farmacocinético ou farmacodinâmico de um composto-protótipo. Com o seu emprego, moléculas mais benéficas em termos terapêuticos podem ser obtidas para o tratamento da doença de interesse (BARREIRO; FRAGA, 2008).

Para identificação de novos compostos terapêuticos promissores para o tratamento de uma doença, é necessário o conhecimento prévio dos mecanismos fisiológicos ou patológicos responsáveis pelo seu desenvolvimento. A partir daí, estratégias *in silico* mais adequadas poderão ser definidas com os dados disponíveis sobre a estrutura do alvo molecular selecionado e dos ligantes conhecidos. As moléculas identificadas na etapa inicial do projeto de desenvolvimento de um fármaco, posteriormente são adquiridas ou sintetizadas para que possam ser submetidas a testes *in vitro* e *in vivo* para avaliação da eficácia e segurança do composto selecionado. Aquele(s) que apresentarem potencial terapêutico e segurança poderão ser introduzidos nos testes de fases clínicas em humanos (FELTES et al., 2014).

O avanço no conhecimento do genoma das células cancerosas ao longo dos últimos anos permitiu o descobrimento de muitos alvos moleculares responsáveis pelo desenvolvimento do câncer. Isso tem impulsionado a pesquisa por novos candidatos a fármacos direcionados com propriedades otimizadas (SANTORO; CARLOMAGNO, 2013). O câncer apresenta alta incidência e mortalidade nos países do mundo todo, representando um grave problema de saúde pública. Devido a mudanças no estilo de vida, ao crescimento e envelhecimento da população, a incidência de novos casos e a mortalidade vêm aumentando nos últimos anos (JEMAL et al., 2014). Segundo a OMS, 2018, em cada 6 mortes ocorridas no mundo, aproximadamente uma é provocada por câncer. De acordo com as estimativas feitas pelo GLOBOCAN, em 2018 ocorreram aproximadamente 9,1 milhões de óbitos e apareceram aproximadamente 18,1 milhões de novos casos de câncer no mundo. Segundo a projeção feita pelo GLOBOCAN, o número de óbitos e novos casos devem seguir aumentando a cada ano, sendo esperados para 2040 aproximadamente 29,1 milhões de novos casos de câncer no mundo e 16 milhões de óbitos. No Brasil em 2018, ocorreram aproximadamente 243 mil óbitos e 559 mil novos casos de câncer. Assim como no mundo, há

estimativa que ocorra o aumento do número de óbitos e novos casos, sendo esperados 2040 aproximadamente 476 mil óbitos e 998 mil novos casos de câncer (IARC, 2018).

Os fármacos antineoplásicos representam uma das principais abordagens terapêuticas empregadas no tratamento do câncer. Na terapia atual se encontram disponíveis fármacos citotóxicos, que atuam destruindo tanto as células normais quanto as cancerígenas, e agentes seletivos que atuam em alvos moleculares específicos. Os agentes citotóxicos representam a primeira geração de substâncias desenvolvidas para tratar o câncer, porém apresentam uso limitado pelos efeitos adversos que colocam em risco a qualidade de vida dos pacientes. Os mais comuns incluem, perda de cabelo, mielosupressão, comprometimento da cicatrização, susceptibilidade maior as infecções, esterilidade, teratogenicidade, carcinogenicidade, náuseas e vômitos. Os fármacos desenvolvidos para atuar em alvos moleculares específicos provocam menos efeitos adversos, mas assim como os fármacos citotóxicos, podem apresentar eficácia limitada pela resistência intrínseca e adquirida das células malignas ao tratamento. Desta maneira ainda há necessidade de desenvolver novos agentes antineoplásicos com propriedades otimizadas que sejam capazes de superar as limitações da farmacoterapia atual (RANG et al., 2016).

A proteína supressora de tumor p53 com alteração desempenha um papel importante no desenvolvimento do câncer por estar relacionado com a regulação da via apoptótica. Quando ocorre a falha no ponto de verificação da p53 em G1, células danificadas podem escapar da apoptose e proliferar, desencadeando o câncer. Cânceres com o nível da proteína MDM2 (*E3 ubiquitin-protein ligase Mdm2*) aumentados na célula, provocam alteração no estado funcional da p53. Terapias capazes de restaurar a função de p53 ou inibir MDM2 são alvo de pesquisas para tratar muitos tipos de cânceres (LODISH et al. 2014). Outras pesquisas também apontam a proteína BIRC7 (*Baculoviral IAP repeat-containing protein 7*), como alvo para o desenvolvimento de novos compostos terapêuticos (ALTIERI et. al.,2016). Os mecanismos de evasão da apoptose desenvolvidos pelas células cancerígenas são importantes para o desenvolvimento do câncer (LODISH et al., 2014).

Face ao exposto, o presente trabalho pretendeu identificar, por estudos *in silico*, potenciais ligantes para os alvos moleculares, P53-Y220C, MDM2 e BIRC7. Com análises adicionais, esses compostos poderão servir de base para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos para os tipos de câncer que aparecem alterados.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Serão descritas as bases teóricas para compreensão da metodologia de bioisosterismo e *docking* molecular, bem como aspectos relacionados ao câncer e aos alvos moleculares p53-y220C, MDM2, BIRC7 envolvidos com os mecanismos de escape das células neoplásicas da apoptose.

2.1 Bioisosterismo

A técnica de bioisosterismo é utilizada para realizar modificações estruturais em um composto-protótipo, a fim melhorar suas propriedades farmacocinéticas ou farmacodinâmicas. Baseia-se na substituição de um fragmento molecular por outro que apresente similaridade em volumes, formas, distribuições eletrônicas, propriedades físico-químicas e biológicas (BARREIRO; FRAGA, 2008).

O bioisosterismo se fundamentou na descoberta de substâncias isóteras por Langmuir em 1919. Esse pesquisador analisou o comportamento químico e a reatividade de substâncias bioativas e descobriu semelhanças de várias propriedades físico-químicas entre aquelas que possuíam o mesmo número de elétrons na camada de valência (LANGMUIR, 1919).

A partir do princípio de Langmuir, Grimm em 1925 formulou a Regra do Hidreto, no qual a ligação de um átomo de hidrogênio com um par de elétrons a um átomo formava-se um pseudoatomo isoeletrônico, que apresentava as mesmas propriedades físico químicas do átomo posterior da Tabela Periódica (Figura 2) (GRIMM, 1925).

Nº elétrons	6	7	8	9	10	11
	C	N	O	F	Ne	Na ⁺
	H ⁻ ↘	CH	NH	OH	FH	
		H ⁻ ↘	CH ₂	NH ₂	OH ₂	FH ₂ ⁺
			H ⁻ ↘	CH ₃	NH ₃	OH ₃ ⁺
				H ⁻ ↘	CH ₄	NH ₄ ⁺

Figura 2 - Regra do hidreto formulada por Grimm.
Fonte: ELIAS; OLIVEIRA; SILVEIRA (2018).

Em 1932, Erlenmeyer ampliou o conceito de isosterismo, definindo isósteros como átomos, moléculas ou íons que apresentam o mesmo número de elétrons na camada de valência. Em 1951, Friedman introduziu o termo bioisosterismo, para denominar os compostos que se encaixam na definição de isósteros e também apresentam o mesmo tipo de atividade biológica (FRIEDMAN,1951).

Em 1991, o bioisosterismo foi subdividido em clássico e não-clássico por Alfred Burger. O bioisosterismo clássico baseou-se na definição de Erlenmeyer e na regra de hidreto de Grimm, no qual os bioisósteros seriam átomos ou grupos que possuíssem camadas de valência semelhantes. E no bioisosterismo não-clássico a substituição deveria originar compostos com atividade biológica similar, sem a necessidade de obedecer às regras propostas em função da valência dos átomos. No bioisosterismo clássico se enquadram grupos monovalentes, divalentes, trivalentes, tetravalentes (Tabela 1) e anéis equivalentes (LIMA; BARREIRO, 2005).

Tabela 1- Bioisósteros Clássicos

Grupos e átomos de bioisósteros clássicos			
Monovalentes	Divalentes	Trivalentes	Tetravalentes
F,OH,NH ₂ ,CH ₃ ,OR,CL	-CH ₂ -	=CH-	=C=
SH,PH ₂ ,SiH ₃ ,SR	-O-	=N-	=Si=
Br	-S-	=P-	=N ⁺ =
I	-Se-	=As-	=P ⁺ =
	-Te	=Sb-	=As ⁺ =
			=Sb ⁺ =

Fonte: LIMA; BARREIRO (2005).

Os aminoácidos cisteína e serina são exemplos de bioisosteros clássicos de mesma valência, pela substituição do grupo sulfidríla do primeiro por uma hidroxila no segundo. E os aminoácidos tirosina e histidina são exemplos de bioisosteros clássicos de equivalência anelar (Figura 3) (LIMA; BARREIRO, 2005).

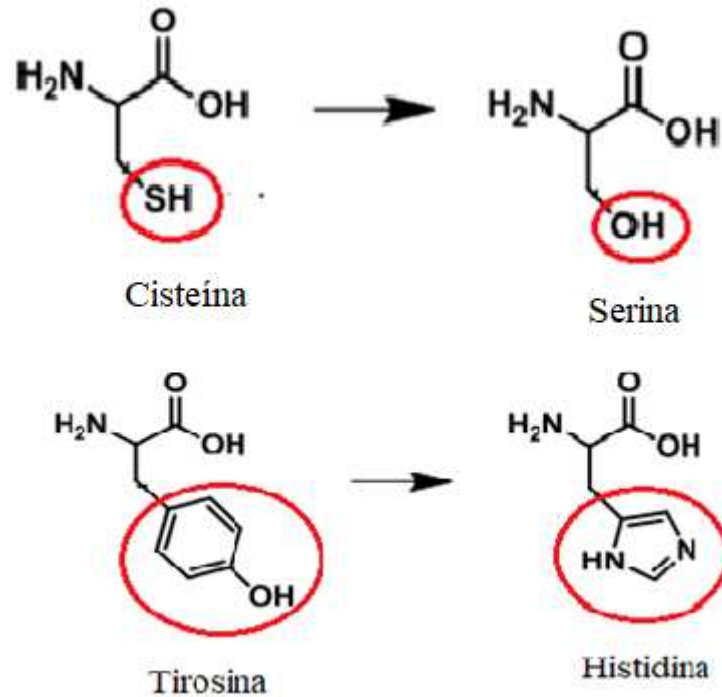


Figura 3 - Exemplo de Bioisosterismo clássico de mesma valência e mesma equivalência anelar.
Fonte: Adaptado de LIMA; BARREIRO (2005).

Outro exemplo de bioisosterismo clássico pode ser observado com o fármaco antineoplásico fluoruracila, análogo a base nitrogenada uracila. A substituição do átomo de hidrogênio na uracila por um átomo de flúor gera um composto menos reativo, bloqueando a síntese de DNA na célula tumoral (Figura 4) (PATANI; LAVOIE, 1996).

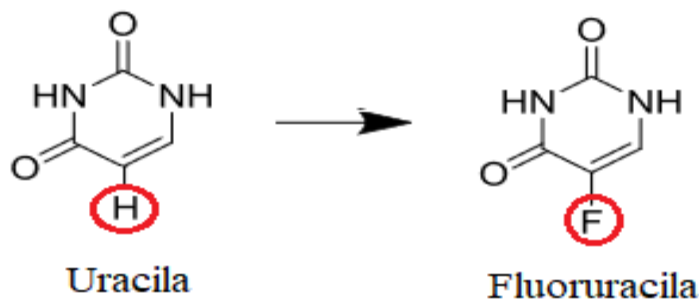


Figura 4 - Exemplo de Bioisosterismo clássico monovalente.
Fonte: Adaptado de PATANI; LAVOIE (1996)

No bioisosterismo não clássico incorporaram-se grupos funcionais com propriedades estruturais equivalentes, retro-isosterismo, bióforos isostéricos, anelação e retro-anelação, (Tabela 2) (LIMA; BARREIRO, 2005).

Tabela 2- Bioisosteros não clássicos.

Bioisósteros não clássicos						
-CO-	-COOH	-SO ₂ NH ₂	-H	-CONH-	-COOR-	-
-CO ₂ -	-SO ₃ H	-	-F	-NHCO-	-ROCO-	CONH ₂
-SO-	Tetrazol	PO(OH)NH ₂				-
-SO ₂ NR-	-SO ₂ NHR		-OH		Catecol	CSNH ₂
-CON-			-CH ₂ OH		-	
-CH(CN)-					benzimidazol	
R-S-R'	=N-	-NHCONH ₂				
(R-O-R')	-C(CN)=	-NH-CS-				-C ₅ H ₄ N
R-N(CN)-	-	NH ₂				-C ₄ H ₄ N
R'	halogênio					

Fonte: LIMA; BARREIRO (2005).

Um exemplo de bioisosterismo não clássico envolve a substituição do grupo fenólico do antagonista gonadotropinico pelo grupo metilsulfonamida que resulta no aumento de sua atividade, cerca de quatro vezes (Figura 5) (BARREIRO; FRAGA, 2008).

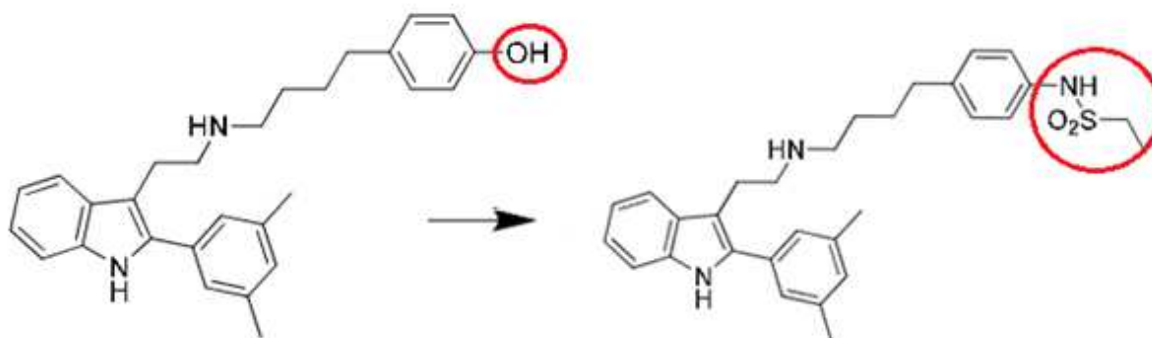


Figura 5- Exemplo de Bioisosterismo não-clássico do antagonista gonadotropinico.

Fonte: Adaptado de BARREIRO; FRAGA, (2008).

O programa MB-Isoster, desenvolvido no laboratório de Modelagem Molecular e Simulação Computacional da Universidade Federal de Alfenas, Minas Gerais, pode ser utilizado para aplicação da técnica de bioisoterismo *in silico*. Ao selecionar o fragmento molecular que se deseja modificar na estrutura de interesse, novas moléculas são geradas automaticamente por meio de uma consulta em uma base de dados contendo relações bioisosteras baseadas nos conceitos de bioisosterismo. As propriedades físico químicas dos bioisosteros, como o logP, logS, peso molecular, número de aceptores de ligação de hidrogênio (HBA), número de doadores de ligação de hidrogênio (HBD) e TPSA, são calculadas para avaliação das propriedades farmacocinéticas dos bioisosteros gerados. Outra função disponível permite realizar o *docking* molecular entre os bioisosteros gerados e o receptor de interesse, usando o programa AutoDock Vina. Com os resultados dos cálculos de *docking* molecular é possível avaliar a afinidade das moléculas bioisosteras por seus

respectivos alvos moleculares. Assim, com o auxílio do programa MB-Isoster, novos compostos com maior potência e menos efeitos colaterais podem ser desenhados a partir de compostos com atividades biológicas pré-definida (ELIAS; OLIVEIRA; SILVEIRA, 2018).

2.2 Docking Molecular

O *docking* molecular é uma técnica *in silico* empregada para analisar as conformações e as interações físico-químicas entre a estrutura tridimensional de um alvo molecular e um ligante acoplado no sítio de interação. Durante o processo diversas conformações do ligante são criadas no sítio ativo do receptor para selecionar o modo de interação alvo-ligante mais provável de acordo com a menor energia livre de cada conformação (FERREIRA et al., 2015). As interações entre as duas moléculas podem se dar por meio de ligações de hidrogênio, hidrofóbicas, eletrostáticas, Van der Waals ou possíveis ligações covalentes (FELTES et al., 2014). Na figura 6 se encontra uma representação esquemática de *docking* molecular.

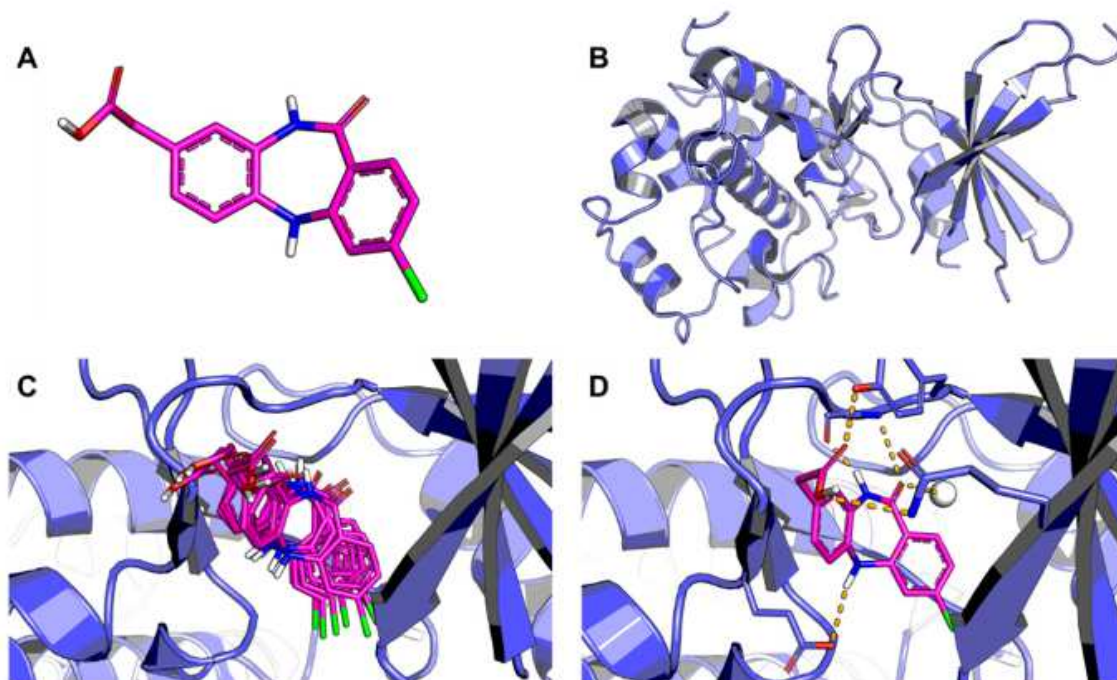


Figura 6 - Representação esquemática do docking molecular.

Fonte: Adaptado de FERREIRA et al (2015).

Nota:(A) Estrutura do ligante; (B) Estrutura tridimensional do alvo molecular; (C) Possíveis Poses do ligante acoplado no sítio ativo do alvo molecular; (D) Pose do ligante que apresenta melhor afinidade pelo alvo molecular. As ligações de hidrogeno estão indicadas com linhas tracejadas.

Para criar e analisar as conformações dos ligantes o método de *docking* molecular se baseia principalmente em um algoritmo de busca e uma função de pontuação (*score*). O algoritmo de busca realiza diversos movimentos na molécula do ligante para encontrar a posição mais estável. Esses movimentos podem ser rotacionais, translacionais e ainda conformacionais. E a função de pontuação (*score*) quantifica a energia de ligação envolvida nas diferentes tentativas de encaixe (FELTES et al., 2014).

A pesquisa realizada pelo algoritmo de busca se diferencia entre os diferentes métodos de *docking* molecular de acordo com o grau de flexibilidade adotado. Pelo menos três diferentes abordagens podem ser empregadas: (1) o alvo molecular é considerado rígido e o ligante apresenta apenas graus de liberdade translacional e rotacional; (2) o alvo molecular é rígido e o ligante apresenta todos os graus de liberdade (translacionais, rotacionais e conformacionais); (3) o alvo molecular é flexível ou parcialmente flexível e todos os graus de liberdade do ligante são considerados (GUEDES; MAGALHÃES; DARDENNE, 2014). Ao aumentar o grau de liberdade entre as moléculas, o procedimento se torna mais lento e o emprego de recursos computacionais mais sofisticados são necessários para a execução dos cálculos de *docking* molecular (COUPEZ; LEWIS, 2006).

Os métodos de busca dos programas de *docking* molecular podem empregar algoritmos sistemáticos, determinísticos ou estocásticos. São baseados em parâmetros e regras que permitem estudar a flexibilidade das estruturas moleculares envolvidas na execução do *docking* (FELTS et al. 2014). O algoritmos sistemáticos geralmente empregam a técnica de construção incremental que visa explorar todos os graus de liberdade do ligante. Nesse método, o ligante é dividido em pequenos fragmentos pela quebra das ligações rotacionais. O fragmento que apresenta melhor interação com o sítio ativo do alvo molecular serve como base para adição sequencial dos outros fragmentos até que a estrutura do ligante seja refeita com o modo de ligação mais provável (DIAS; AZEVEDO, 2008). Os algoritmos determinísticos utilizam com maior frequência o método de dinâmica molecular. Esse método se baseia nas equações de Newton que visam estudar os movimentos de cada átomo no sistema prevendo sua posição e velocidade em função do tempo. As forças exercidas em cada átomo são calculadas repetidamente e no final toda a trajetória do complexo ligante-alvo molecular pode ser verificada. Esse método é mais preciso ao considerar a flexibilidade do ligante e do alvo molecular, assim como ocorre no ambiente biológico natural (HOLLINGSWORTH; DROR, 2019). Os algoritmos estocásticos utilizam com maior frequência os métodos de Monte Carlo e genéticos. No métodos de Monte Carlo uma conformação inicial do ligante é gerada aleatoriamente e partir desta, outras vão sendo

geradas e testadas por meio de um critério de seleção baseado na energia de ligação. Se a conformação gerada possuir energia menor que a conformação anterior, serve como referência para geração de uma nova conformação. O procedimento prossegue até que a quantidade predefinida de conformações sejam geradas. Já os algoritmos genéticos se baseiam na teoria da evolução no qual varias conformações do ligante são geradas aleatoriamente. Assim uma pontuação é dada a cada conformação baseada na energia de ligação. Essas conformações vão sendo alteradas e aquelas que apresentam menor energia de ligação vão sendo selecionadas de maneira análoga a teoria da evolução de Darwin. O algoritmo genético Lamarckiano implementa o algoritmo genético tradicional junto com um algoritmo de busca local, onde conformações individuais buscam seu espaço conformacional local, buscam pela melhor pontuação e passam para as gerações posteriores (DIAS; AZEVEDO, 2008).

O programa AutoDock Vina, de código livre, vem sendo amplamente empregado nos laboratórios de pesquisa para realização dos cálculos de *docking* molecular. Considera o alvo como rígido e o ligante como flexível, podendo definir alguns resíduos de aminoácidos do alvo molecular como flexíveis. Ele utiliza todos os núcleos individuais do processador existentes nos computadores atuais para executar os cálculos de *docking* molecular. Por essa razão é cerca de duas vezes mais rápido que o programa Autodock4, o seu antecessor. Além disso é mais acessível ao usuário por dispensar a etapa de cálculo com o módulo AutoGrid, antes feita manualmente. Assim, é necessário apenas a estrutura tridimensional do alvo molecular e a estrutura do ligante para execução do procedimento (TROTT ; OLSON, 2010).

O programa AutoDock Vina realiza o calculo da energia livre de ligação com base no número de ligações rotativas, hidrofobicidade, ligações de hidrogênio e ligações estéricas no qual atribui um peso numérico para cada variável. As repulsões e um elevado número de ligações rotativas são responsáveis pelo aumento do valor da energia de ligação e as ligações estéricas favoráveis, as interações hidrofóbicas e as ligações de hidrogênio diminuem o valor da energia de ligação, contribuindo para aumentar a afinidade do ligante no sítio de interação do alvo molecular. A função de *scoring* do AutoDock Vina se baseia na seguinte fórmula (1) onde o valor de C é calculado por meio da soma feita com todos os pares de átomos que podem se mover um em relação aos outros. O programa busca pela pose do ligante com menor valor de c, ou seja, que possui maior afinidade pelo alvo molecular (TROTT ; OLSON, 2010).

$$c = \sum_{i < j} f_{titj} (r_{ij}) \quad (1)$$

Os compostos que possuem melhor afinidade pelo alvo molecular nos ensaios de docking molecular devem ser comercialmente disponíveis ou possivelmente sintetizados. Além disso, não podem ser substâncias inconsumíveis, que causam algum risco para a saúde. Assim poderão ser submetidos a ensaios *in vitro* e *in vivo*, dando procedimento ao processo de desenvolvimento racional de fármacos (FELTES et al., 2014).

2.3 Considerações gerais sobre o Câncer

O câncer compõe um grupo amplo de doenças caracterizadas pela proliferação descontrolada de células anormais que tendem a invadir tecidos e órgãos adjacentes. Sua origem se dá pelo acúmulo de alterações em genes envolvidos com o processo de proliferação celular e morte celular. O desenvolvimento dessas alterações está associado a fatores de riscos herdados (encontradas em células germinativas) ou adquiridos (encontradas em células somáticas). As alterações adquiridas são responsáveis pelo desenvolvimento da maioria dos casos de câncer (cerca de 80% a 90%). Ocorrem em consequência da exposição a carcinógenos ambientais, como energia radiante (raios ultravioleta, raios X, raios Y), produtos químicos (como por exemplo, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, aminas aromáticas, nitrosaminas, vários fármacos, compostos de ocorrência natural como dactinomicina, afatoxina B1) e alguns vírus (hepatite B, hepatite C, Herpevírus humano tipo 1, vírus do papiloma humano (alguns tipos), vírus da leucemia de células T humanas tipo 1). A predisposição hereditária associada a fatores de risco ambientais aumenta ainda mais a probabilidade de uma célula normal se transformar em uma célula cancerosa (RODEWEEL et al., 2014).

A agressividade e o estabelecimento dos diversos tipos de câncer está associada a algumas características que as células anormais adquirem, tais como, autosuficiência em fatores de crescimento, insensibilidade a fatores inibidores de crescimento, potencial de replicação ilimitado, instabilidade do genoma, promoção da inflamação do tumor, reprogramação do metabolismo energético, evasão da resposta imunológica, invasão tecidual e metástase, angiogênese sustentada e evasão do programa de morte celular (apoptose) (HANAHAN; WEINBERG, 2011).

As terapias mais comuns usadas para tratar os diversos tipos de cânceres incluem a cirurgia, a radioterapia e quimioterapia. As formas de tratamento indicadas variam conforme o tipo e localização do câncer, o estágio da doença e o estado de saúde do paciente. Em alguns tipos, o tratamento é eficaz e o paciente consegue alcançar a cura. Em outros, o tratamento ocorre apenas para prolongar a vida e aliviar os sintomas, principalmente quando o câncer se encontra em estágio avançado (KOWASLKI et al., 2002).

Na quimioterapia tradicional são utilizados agentes citotóxicos capazes de atingir as células cancerosas e as normais. Isso provoca uma série de efeitos colaterais debilitantes que alteram a qualidade de vida das pessoas. Há casos em que os pacientes não resistem à toxicidade dos fármacos utilizados no tratamento e acabam morrendo ou ficando com seqüelas, quando esses efeitos tóxicos não são reconhecidos precocemente. Muitas vezes é necessário ajustar a dose ou interromper o tratamento com o fármaco utilizado, a fim de diminuir os sintomas indesejáveis e os danos a saúde do paciente (BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012).

Os pesquisadores vêm buscando alternativas de terapias mais seletivas e menos tóxicas para os diferentes tipos de câncer. Com o avanço no conhecimento da biologia das células cancerosas, novas classes de fármacos com alvos moleculares seletivos vêm sendo desenvolvidas (TSIMBERIDOU, 2015). Algumas já estão em uso, como os anticorpos monoclonais tumor-específicos, antagonistas de fatores de crescimento, inibidores de transdução de sinais, inibidores de proteossomas e inibidores da angiogênese (GOLAN et al., 2018). Mas segundo a Sociedade Americana de Oncologia (2016), esses fármacos são menos agressivos quando comparadas aos agentes citotóxicos, mas ainda são capazes de provocar uma série de efeitos colaterais.

Apesar dos notáveis avanços no tratamento do câncer, a resistência aos agentes citotóxicos e aos fármacos com alvos moleculares seletivos tem sido um problema para alcançar a cura (MIMEAULT; HAUKE; BATRA, 2008; KHAMISIPOUR et al., 2016). O melanoma maligno, o câncer de células renais e o câncer cerebral, por exemplo, apresentam resistência desde a primeira administração da droga (resistência primária), ou seja, não há eficácia terapêutica desde o início do tratamento. Mas também há casos como o câncer em que a resistência as drogas ocorrem após o início do tratamento pelos efeitos da droga (resistência adquirida). E a ineficácia ao tratamento medicamentoso acaba levando o paciente à morte em ambos os casos (KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014).

Na maioria das vezes não se aplica a monoterapia para o tratamento do câncer. Alguns fármacos são utilizados em combinação para melhorar a eficiência do tratamento, diminuir as

chances de resistência aos fármacos, aumentar a toxicidade para as células tumorais e diminuir a toxicidade geral (HOLOHAN et al., 2013). Mas em muitos casos nem mesmo a terapia combinada proporciona a cura do câncer pela falta de resposta ao tratamento (KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014; RANG et al., 2016; GOLAN et al., 2018).

A resistência a um fármaco ou mais pode estar relacionada à presença de mutações em genes responsáveis por codificar proteínas de membrana nas células malignas. Alterações nessas proteínas podem reduzir a concentração do fármaco no meio intracelular por evitar sua captação para o interior da célula ou aumentar a sua expulsão para o exterior (LONGLY; JOHNSTON, 2005; GOLAN et al., 2018). Além disso, podem ocorrer alterações que impeçam a interação de um fármaco com seu receptor ou que prejudiquem a expressão do receptor celular, por desvio de sua necessidade metabólica (GOLAN et al., 2018). A resistência a antineoplásicos também podem ser provocadas por mutações em genes responsáveis por codificar proteínas que controlam a apoptose. A maioria dos agentes citotóxicos agem danificando o DNA das células para serem levadas a apoptose. Cânceres que apresentam mutação em no gene Tp53, por exemplo, dificilmente respondem bem ao tratamento (LONGLY; JOHNSTON, 2005).

Tanto a resistência aos fármacos quanto a toxicidade, são limitações que precisam ser vencidas na terapia do câncer. Fármacos eficientes e seguros ainda continuam sendo um desafio para tratar diversos tipos de cânceres, mesmo com as grandes descobertas sobre a Biologia das células cancerosas e dos alvos moleculares envolvidos com o desenvolvimento da doença (GOLAN et al., 2018).

2.4 Apoptose

A apoptose é um forma de morte celular importante para a manutenção do equilíbrio no organismo, por destruir as células desnecessárias, envelhecidas ou alteradas, que trazem algum risco para a saúde (FERREIRA et al., 2010). A ocorrência de mutações em genes responsáveis por codificar proteínas antiapoptóticas ou promotoras da apoptose, pode acarretar o crescimento e divisão de células defeituosas (FISCHER; SCHULZE-OSTHOFF, 2005). A apoptose pode ser ativado por meio de duas vias diferentes, a via intrínseca e a via extrínseca. Ambas levam a ativação das caspases promotoras da apoptose (ABBAS et al., 2010).

A via intrínseca (mitocondrial) é principal via de morte celular de todas as células dos mamíferos (ABBAS et al., 2010). Quando a célula recebe sinais que comprometem a sua

integridade, como DNA lesado, algum tipo de estresse ou redução de fator de crescimento, ocorre à ativação de proteínas membros da família Bcl-2 como, por exemplo, a Bim, Bid, Bad, Puma, Noxa, Bik, Bmf e Hrk. Essas proteínas, também chamadas de proteínas BH3, por apresentarem o terceiro domínio homólogo a Bcl-2, ativam proteínas como BaX e BaK que se ligam na membrana externa da mitocôndria para que o citocromo c seja liberado no citosol. Outras proteínas que neutralizam inibidores endógenos da apoptose também são liberadas (FERNALD; KUROKAWA, 2013). Assim o citocromo c se liga a uma proteína adaptadora que promove a formação de uma estrutura protéica que se liga a sete moléculas de procaspase 9. Esta estrutura passa a ser chamada de apoptossomo e promove a ativação das procaspases. Em seguida vários membros da família de caspases são ativados para que ocorra a apoptose (ALBERTS et al., 2011).

A proteína Bcl2, juntamente com outros membros de sua família, como Bcl-x e Mcl-1, atuam inativando a via apoptótica. São proteínas que residem normalmente no citosol e impedem que proteínas apoptóticas como por exemplo, a BaX e a Bak, exerçam o seu papel (FERNALD; KUROKAWA, 2013). Outras proteínas, chamadas de IAPs também são responsáveis por impedir que a morte celular aconteça, pela inativação das caspases executoras da apoptose (SALEEM et al., 2013). A NAIP, a c-IAP1 (MIHB, HIAP-2, BIRC1), a c-IAP2 (HIAP-1, MIHC, API2, BIRC2), a XIAP (hILP, MIHA, ILP-1, BIRC3) a survivina (BIRC5), BRUCE (apollon), a ILP-2 e a Livina (ML-IAP, KIAP, BIRC7) já foram descritas como membros dessa família (FULDA; VUCIC, 2012; SALVESEN; DUCKETT, 2002). Todas possuem pelo menos um domínio BIR (Baculoviral Iap Repeats) responsável por interagir e inibir as caspases 3, 7 e 9, inativando a via apoptótica. O domínio RING presente nas proteínas c-IAP1, c-IAP2, XIAP e ML-IAP, apresenta atividade ubiquitina-ligase (VARFOLOMEEV; VUCIC, 2008; VAUX SILKE; 2005). As proteínas c-IAPs, XIAP e ILP2 possuem domínio central associado à ubiquitina (UBA) capaz de se ligar a monoubiquitina e a cadeias de poliubiquitinas (BLANKENSHIP et al., 2009; GYRD-HANSEN et al 2008).

Existem receptores da família de receptores TNF (Fatores de necrose Tumoral), como o TNF tipo I (TNFR1) e o Fas (CD95), que são responsáveis por desencadear a apoptose via extrínseca. Quando ocorre a ligação do receptor Fas com a proteína Fas-L, expressa principalmente em linfócitos T ativados, três ou mais moléculas de Fas se reúnem formando um sítio de ligação para outra proteína denominada FADD. O FADD liga-se à pró-caspase 8, promovendo a sua ativação. A caspase 8 ativada promove a ativação de outras pro-caspases,

provocando a morte da célula via extrínseca. Mas pode ocorrer também a ativação da proteína bid e desencadear a apoptose via intrínseca (ABBAS et al., 2010).

2.5 Proteína p53

A proteína supressora de tumor p53 é codificada pelo gene Tp53 situado no braço curto do cromossomo 17 (17 p13.1). Em 1979 foi descrita pela primeira vez como uma proteína nuclear capaz de formar um complexo com a proteína do antígeno T do vírus vacuolante símio 40 (SV40) (LANE; CRAWFORD; 1979). Por estar expressa na maior parte dos cânceres humanos, os pesquisadores acreditavam que estava relacionada com a transformação celular, por isso o gene Tp53 foi considerado por muito tempo um oncogene. A partir de 1980 com novos estudos verificou-se que existia formas selvagens do gene Tp53 e formas alteradas. E somente as formas selvagens eram capazes de impedir a transformação de uma célula normal em uma célula cancerígena, impedindo a proliferação celular de células com o DNA lesado, o que levou a ser classificada como supressora tumoral a partir de 1989 (ABBAS et al., 2010).

A proteína supressora de tumor p53 tem peso molecular de 53 kDa e possui 393 aminoácidos em sua estrutura. É constituída por quatro subunidades básicas idênticas compostas cada uma por um domínio amino terminal (N-terminal), um domínio central de ligação ao DNA e um domínio carboxi-terminal (C-terminal). O domínio amino terminal é constituído por um domínio de transativação (resíduos de aminoácidos 1-42) responsável pela ativação da atividade transcricional de outros genes e ligação com as proteínas MDM2 e MDM4 (homóloga a MDM2) e um domínio rico em prolina (resíduos de aminoácidos 61-94) envolvido na interação proteína-proteína e na função pro apoptótica da p53. O domínio central de ligação ao DNA (resíduos de aminoácidos 102-292) possibilita a ligação da p53 com seus genes alvos. O domínio carboxi-terminal é dividido por um domínio de tetramerização (resíduos de aminoácidos 324-355) envolvido na formação espacial da proteína que se une em tetrâmeros e um domínio regulatório (resíduos de aminoácidos 363-393) capaz de reconhecer danos ao DNA (Figura 7) (BAI; ZHU,2006; JOERGER; FERSHT, 2008).

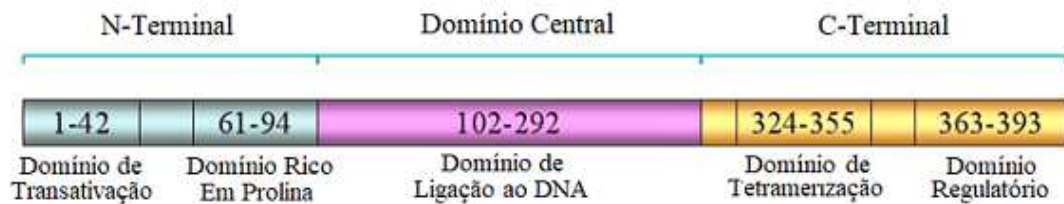


Figura 7- Esquema mostrando os domínios estruturais da proteína p53.

Fonte: Adaptado de BAI; ZHU (2006).

Nota: A proteína p53 possui três domínios funcionais: 1) Domínio Nterminal, 2) Domínio Central e 3) Domínio Cterminal. O domínio N-Terminal é subdividido no domínio de transativação e no domínio rico em prolina. O domínio C-terminal é subdividido em domínio de tetramerização e Domínio regulatório.

A proteína p53 é responsável pela checagem da integridade do genoma durante a progressão do ciclo celular. O ciclo celular é subdividido em duas etapas principais: a interfase e a mitose. A interfase se subdivide nas fases G_1 , S, G_2 . Na fase G_1 a célula se prepara para a síntese de DNA que ocorre na fase S, na fase G_2 a célula se prepara para entrar na fase M ou fase mitótica. Quando as células não estão se dividindo, estão completamente diferenciadas, se encontram na fase G_0 sendo denominadas quiescentes (MALUMBRES; BARBACID, 2001). Durante a passagem da fase G_1 para fase S e da fase G_2 para fase M a p53 é extremamente importante para supressão da replicação de células com DNA danificado (NAKAMURA; GOMYO; ROTH, 2002).

O ciclo celular é regulado principalmente pela ativação de proteínas quinases dependentes de ciclinas (CDKs) que fosforilam substratos essenciais para progressão do ciclo celular. A ativação dessas proteínas se dá pela interação com proteínas denominadas ciclinas. Os complexos CDK-ciclinas formados são responsáveis por conduzir as células pelo ciclo celular, contudo a cada fase diferentes ciclinas e quinases dependentes de ciclinas são expressas. As ciclinas D ativam as quinases CDK4 e CDK6 durante a fase G_1 . Essas quinases são responsáveis por fosforilar diferentes alvos incluindo a proteína retinoblastoma (RB). Esta por sua vez quando se encontra no estado hiperfosforilado se dissocia de proteínas membros da família E2F (fatores de transcrição) responsáveis pela ativação de genes necessários para a progressão da fase G_1 para fase S. Posteriormente a formação dos complexos E-CDK2 e A-CDK1 são essenciais para o início da síntese de DNA na fase S. E na transição da fase G_2 para fase M, a ciclina B ativa a quinase CDK1 (DUONIO; XIONG, 2013).

A proteína pRb, codificada pelo gene RB, exerce um papel cooperativo com a proteína p53 para verificar possíveis danos ao DNA. Quando o material genético das células são lesados por agentes químicos, efeitos de radiações ou erros de replicação, a p53 recebe um sinal de outras proteínas para ser fosforilada e se dissociar de MDM2. Seus níveis aumentam no interior do núcleo e as proteínas capazes de inibir ciclinas, são sintetizadas (por exemplo

p21, p27 e 57). Essas proteínas se ligam a RB, tornando-a hipofosforilada. Na forma hipofosforilada, ela se liga a fatores de transcrição da família E2F e forma o complexo pRB/E2F. Quando o complexo pRB/E2F se liga ao DNA, a histona desacetilase e a histona metiltransferase se associam a ele, há compactação da cromatina e a transcrição gênica é impedida. Conseqüentemente há interrupção do ciclo celular na fase G1 (ABBAS et al., 2010).

Se não for possível reparar o dano celular, as células são destinadas a apoptose, pois a p53 promove a ativação de proteínas pro apoptóticas, incluindo a bax e Bak. Caso contrário a p53 induz a produção de proteínas responsáveis pelo reparo do DNA, como por exemplo a GADD45. Se houver falha no reparo, a célula é levada a apoptose. Se o reparo for bem sucedido há progressão no ciclo celular, pois a p53 induz a transcrição de MDM2, responsável por destruí-la e manter seus níveis reduzidos na célula normal (LODISH et al., 2014). Com isso as cdks recebem estímulos de fatores de crescimento e fosforilam a pRb. Quando a pRB se encontra hiperfosforilada, o fator E2F é liberado para se ligar ao DNA e ativar a transcrição de genes que promovem a replicação do DNA (ABBAS et al., 2010).

A p53 normal também pode atuar ativando a transcrição de mir34, responsáveis por inibir a tradução de genes promotores do crescimento, como as ciclinas, levando as células a quiescência ou a senescência (TARASOV et al., 2007; BOMMER et al., 2007) ou de genes que codificam proteínas antiapoptóticas, como a Bcl-2, levando a célula a apoptose (BOMMER et al., 2007).

A forma mutante, com perda da função da p53 normal, é expressa em aproximadamente 50% dos cânceres e esta associada à baixa resposta terapêutica (SOUSSI; LOZANO, 2005). Cânceres que expressam p53 sem alterações, geralmente não apresentam resistência aos quimioterápicos, já que a maioria deles age danificando o DNA celular (GOLAN et al., 2018).

A maioria das mutações são adquiridas nas células somáticas e são do tipo *missense*, onde há a troca de um aminoácido por outro na cadeia polipeptídica. A forma mutante da p53 fica mais estável e se acumula na célula (OLIVIER; HOLLSTEIN; HAINAUT, 2010). A mutação Y220C da p53 é responsável pela incidência de aproximadamente 100.000 novos casos de câncer por ano (BAUD et al., 2018). A troca do aminoácido tirosina por cisteína, causa mudanças estruturais distantes do sítio de ligação do DNA, que prejudicam a sua função protetora (JOERGER; ANG; FERSHT, 2013).

A alteração p53- Y220C é promissora para o desenho de fármacos por formar uma cavidade na superfície da estrutura p53- Y220C, que pode ser estabilizada através da interação de pequenas moléculas (JOERGER; ANG; FERSHT, 2006).

2.6 Proteína MDM2

A MDM2 constitui uma das principais proteínas envolvidas na regulação das funções da p53. Em condições normais a p53 induz a transcrição do gene MDM2 que codifica a proteína MDM2, essencial para manter seus níveis reduzidos no interior da célula. Para isso, a proteína MDM2, liga-se ao domínio de transativação da p53 por meio de sua porção N-terminal e bloqueia sua atividade de transcrição. Além disso, também tem a função de promover sua degradação via proteossomo por seu domínio C-terminal com atividade ubiquitinina ligase E3 (Figura 8). Dessa forma é capaz de regular os níveis de p53 tanto por inativar seu sítio de transcrição quanto por promover sua degradação. Em condições patológicas, os níveis aumentados de MDM2 provocaram redução nos níveis de p53, promovendo o desenvolvimento do câncer (GUPTA et al., 2019).



Figura 8- Esquema mostrando os domínios da proteína MDM2.

Fonte: Adaptado de GUPTA et al (2019).

Nota: A proteína MDM2 contém 490 aminoácidos em sua estrutura. Possui um domínio de interação com a p53 que se liga ao domínio de transativação da p53 interferindo no seu mecanismo de transcrição. Possui o sinal de localização nuclear e exportação nuclear que estão associados ao transporte de MDM2 entre o núcleo e o citoplasma. O domínio ácido central do MDM2 responsável por aumentar a degradação da p53. O Domínio de ligação com zinco com função desconhecida. Domínio RING com atividade ubiquitinina ligase E3.

Alguns estudos sugerem que a proteína MDM2 também apresenta funções independentes da p53 ao interagir com proteínas que regulam o ciclo celular, a apoptose, diferenciação, estabilidade do genoma e a transcrição. A exemplo, podemos citar a ligação da proteína MDM2 com a p21, capaz de alterar o controle do ciclo celular (BOHLMAN; MANFREDI, 2014).

A proteína MDM2 aparece aumentada em uma taxa maior que 80% em lipossarcomas bem diferenciados, 20% em tumores de partes moles, 16% em osteossarcomas e 13% em carcinomas de esôfago (WEAVER et al.,2008 ; WEAVER et al.,2009).

Alguns inibidores de MDM2, estruturalmente distintos, já foram desenvolvidos e pelo menos sete já avançaram para ensaios clínicos em humanos. Muitas dessas substâncias causaram problemas gastrointestinais, hematológicos, quando utilizadas em monoterapia ou em combinação com agentes citotóxicos. E um simples ajuste de dose não foi suficiente para resolver o problema. Além disso, em alguns casos ,células tumorais adquiriram resistência ao

tratamento, quando a p53 normal sofreu mutação. Assim, novas drogas menos tóxicas e capazes de inibir MDM2, continuam sendo alvo de pesquisa na área do câncer (MAHFOUDHI et al., 2016.)

As chalconas e seus derivados são alvo de pesquisa para a descoberta de novos compostos anticancerígenos. Em alguns estudos, compostos derivados de chalconas foram capazes de impedir a ligação entre MDM2 e p53, ao se ligarem em MDM2. Um derivado de chalcona N9, chalcona-quinoxalina, demonstrou ter atividade anticancerígena *in vitro* e *in vivo* em células de glioma. N9 ativou a via apoptótica mitocondrial pela inibição da proteína MDM2 (LOCh-NECKEL et al., 2015). E (S-17) inibiu o crescimento de células de câncer gástrico por apoptose pela via mitocondrial (ZHANG et al., 2017). O 2-acetiltiofeno apresentou efeito citotóxico em ensaios com linhagens celulares de câncer de mama (FOGAÇA et al., 2017). O metoxifenil, produziu efeito citotóxico em linhagens celulares de câncer de ovário humano (SU et al., 2017). O composto 2e prenilchalcona, foi considerado o melhor ligante de MDM2 em ensaios *in vitro* com linhagens de células de câncer de cólon, de carcinoma hepatocelular hepático HepG2, adenocarcinoma de mama MCF-7 e melanoma maligno A375 (BRANDÃO et al., 2018).

As chalconas pertencem a classe dos flavonoídes e ocorrem naturalmente em plantas das famílias Leguminosae, Compositae e Moraceae (HARBORNE; WILLIAMS, 1995). Na dieta humana são consumidas em chás, vinho, frutas, raízes, verduras e grãos. Possuem propriedades antioxidante, citotóxica, anticâncer, antimicrobiana, antiprotozoária, antiúlcera, antihistamínica, antiinflamatória (FERREIRA et al., 2018), anti-HIV (HEENPRACHA, 2006), anti-obesidade (BINARI et al., 2011), hipnótica (CHO et al., 2011) e antiespasmódico (SATO et al., 2011). A estrutura básica das chalconas, 1,3-difenil-2-propen-1-ona, vem sendo variadamente substituída para o desenvolvimento de compostos com diversas atividades terapêuticas (KARTHIKEYAN et al., 2015).

2.7 Proteína BIRC7

A proteína BIRC7 pertence a família de proteínas inibidoras da apoptose (IAP). É composta por um único domínio BIR responsável por interagir com as caspases 3,7 e 9 e com a proteína mitocondrial SMAC/DIABLO e um domínio RING com atividade ubiquitina-ligase E3, com função de promover sua degradação de outras proteínas via proteossoma (Figura 9) (LIU et al., 2007).



Figura 9- Esquema mostrando os domínios da proteína BIRC7.

Fonte: Adaptado de LIU et al (2007).

Nota: A proteína BIRC7 possui 280 aminoácidos em sua estrutura, o domínio BIR (aminoácido 1–86) e o domínio RING (aminoácido 154–280).

Sua atividade antiapoptótica está relacionada com a inibição das caspases 3,7 e 9 e com sua atividade ubiquitina ligase E3, que promove a degradação via proteossoma da proteína mitocondrial, SMAC/DIABLO, principal antagonista das IAPs. Por ser um inibidor fraco de caspases, sua atividade antiapoptótica está mais associada a degradação da proteína SMAC/DIABLO. Assim quando os níveis da proteína BIRC7 estão aumentados, outros membros das IAPs, principalmente a XIAP, não são mais bloqueadas pela SMAC /DIABLO (YAN, 2011).

A proteína BIRC7 pode ser encontrada em duas isoformas: α e β . Elas compartilham o mesmo domínio BIR e RING e se diferem apenas pela presença de 18 aminoácidos na estrutura α , na região entre o domínio BIR e RING. As duas isoformas apresentam propriedades antiapoptóticas a diferentes estímulos (LIU et al., 2007)

Gazzaniga e colaboradores, 2003, ao correlacionar a presença das isoformas α e β nos tecidos tumorais de bexiga com o surgimento e episódios de recaída dos tumores demonstrou que apenas a isoforma α estava presente nos tumores com alto risco de recaída. Abd-Elrahman e colaboradores, 2009, por meio de um estudo em um modelo animal comparou o início do desenvolvimento dos tumores de células que apresentavam a isoforma α e β . Com seus resultados, demonstraram que desenvolvimento de tumores originados de células que expressam a isoforma β , eram inibidos pois a isoforma β era clivada e adquiria propriedades pro apoptóticas. Segundo LIU et al., 2007, a diferença na atividade biológica das duas isoformas pode estar associada a presença de aminoácidos fora domínio BIR e RING da estrutura da proteína.

Os níveis aumentados da proteína BIRC7 nos cânceres estão correlacionados com as formas mais agressivas da doença pela baixa resposta aos quimioterápicos e pelo tempo de sobrevivência reduzido. Seus níveis se encontram aumentados nos tumores e quase não são encontrados nos tecidos adultos normais, por isso representa um alvo promissor para o desenvolvimento de fármacos (YAN et al., 2011).

Os níveis da proteína BIRC7 aparecem aumentados nos cânceres das células renais (DURINCK et al., 2015), da bexiga e de cólon (DURINCK et al., 2015; MYUNG et al.,

2013), carcinoma hepatocelular (CHO et. al., 2015), câncer de pulmão (HARIU et. al., 2005) neuroblastoma (KIM et al., 2005) e carcinoma adrenocortical (ALTIERI et al., 2016). A super expressão de BIRC7 também esta relacionada a um pior prognóstico em osteosarcoma (SUN et al., 2018). Em Melanoma é superexpressa em metástases e esta relacionada com a resistência ao tratamento (ZHOU, et al., 2012). E foi associada com a recaída precoce do câncer de bexiga (GAZZANIGA et al., 2003). Em algumas linhagens celulares de melanoma e linfoma já foram detectados altos níveis da isforma α (LIU et al.,2007)

Compostos mais específicos para BIRC7 desempenhariam um papel importante no tratamento de cânceres que apresentam BIRC7 super expressa (TCHOGHANDJIAN et al., 2016).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

A partir do conhecimento das estruturas dos receptores dos alvos moleculares, p3-Y220C, MDM2, BIRC7, empregar técnicas *in silico* para identificação de novos compostos com atividade anticâncer.

3.2 Específicos

3.2.1 Proteína p53-Y220C

- Obter a estrutura 3D da proteína p53 com a alteração Y22C disponível no Banco de dados de proteínas (PDB);
- Obter moléculas bioisómeras por meio do programa MB-ISoster a partir do ligante derivado do indol, código pdb: RZH cristalizado com a proteína código pdb: 5AOI;
- Realizar ensaios de *docking* molecular com as moléculas bioisóteras geradas e identificar novos compostos com propriedades farmacodinâmicas melhoradas;
- Calcular as propriedades físico químicas dos compostos identificados e verificar se atendem as regras de Lipinski.

3.2.2 Proteína MDM2

- Obter a estrutura 3D da proteína MDM2 disponível no Banco de dados de proteínas (PDB);
- Realizar ensaios de *docking* molecular com derivados de chalconas comercialmente disponíveis na base de dados ZINC para identificar novos compostos inibidores de MDM2;
- Calcular as propriedades físico químicas dos compostos que apresentam melhor afinidade nos ensaios de *docking* molecular e verificar se atendem as regras de Lipinski.

3.2.3 Proteína BIRC7

- Obter a estrutura 3D da proteína BIRC7 disponível no Banco de dados de proteínas (PDB);
- Obter moléculas bioisóteras por meio do programa MB-ISoster a partir do ligante, código pdb: G13 cristalizado com a proteína BIRC7, código pdb: 3F7I.

- Realizar ensaios de *docking* molecular com as moléculas bioisómeras geradas e identificar novos compostos com propriedades farmacodinâmicas melhoradas;
- Calcular as propriedades físico químicas dos compostos identificados e verificar se atendem as regras de Lipinski;

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Para execução do trabalho, utilizou-se um computador pessoal "acer" com processador intel® i5, 4Gb de memória ram e HD de 500Gb, com sistema operacional linux "Ubuntu 18.04.1 LTS" e windows 10. No linux foram instalados os programas AutoDockTools (MORRIS et al. 2009), AutoDock Vina (TROTT; OLSON, 2010), OpenBabel (O'BOYLE et al. 2011), MB-Isoster (ELIAS; OLIVEIRA; SILVEIRA, 2018), UCSF Quimera 1.13.1 (PETTERSEN et al., 2004), LigPlot (WALLACE; LASKOWSKI; THORNTON, 1996). Inicialmente foi feita uma revisão sobre o câncer e os alvos moleculares envolvidos com os mecanismos de evasão da apoptose. Os alvos moleculares p53-Y220C, MDM2 e BIRC7 são importantes para desregular a via apoptótica e provocar o crescimento e divisão de células neoplásicas, por isso foram escolhidos para o desenvolvimento do presente trabalho. As estruturas 3D dos alvos moleculares foram obtidas por meio do Banco de dados de proteínas (PDB). Para o alvo molecular MDM2, os ligantes foram obtidos por meio da base de dados ZINC, por ter um grande número de moléculas derivadas de chalconas comercialmente disponíveis para realização dos ensaios de *docking* molecular. Para os alvos moleculares p53-Y220C e BIRC7, aplicou-se a técnica de bioisosterismo para obtenção de novos ligantes. A partir da obtenção dos ligantes de cada alvo molecular, ensaios de *donking* foram realizados com o programa AutodockVina (TROTT; OLSON, 2010). Para calcular as propriedades físicas química dos compostos selecionados, utilizou-se o programa MB-Isoster (ELIAS; OLIVEIRA; SILVEIRA, 2018). O programa UCSF Quimera (PETTERSEN et al., 2004) foi utilizado para visualizar os melhores resultados do *docking* armazenados nos arquivos *.pdbqt. O programa LigPlot (WALLACE; LASKOWSKI; THORNTON, 1996) foi utilizado gerar o diagrama das interações proteína-ligante. Utilizaram-se as regras de Lipinski para avaliar os melhores compostos resultantes do *docking* (LIPINSKI et al., 2001). Na figura 10 foram descritas as etapas executadas no presente trabalho.

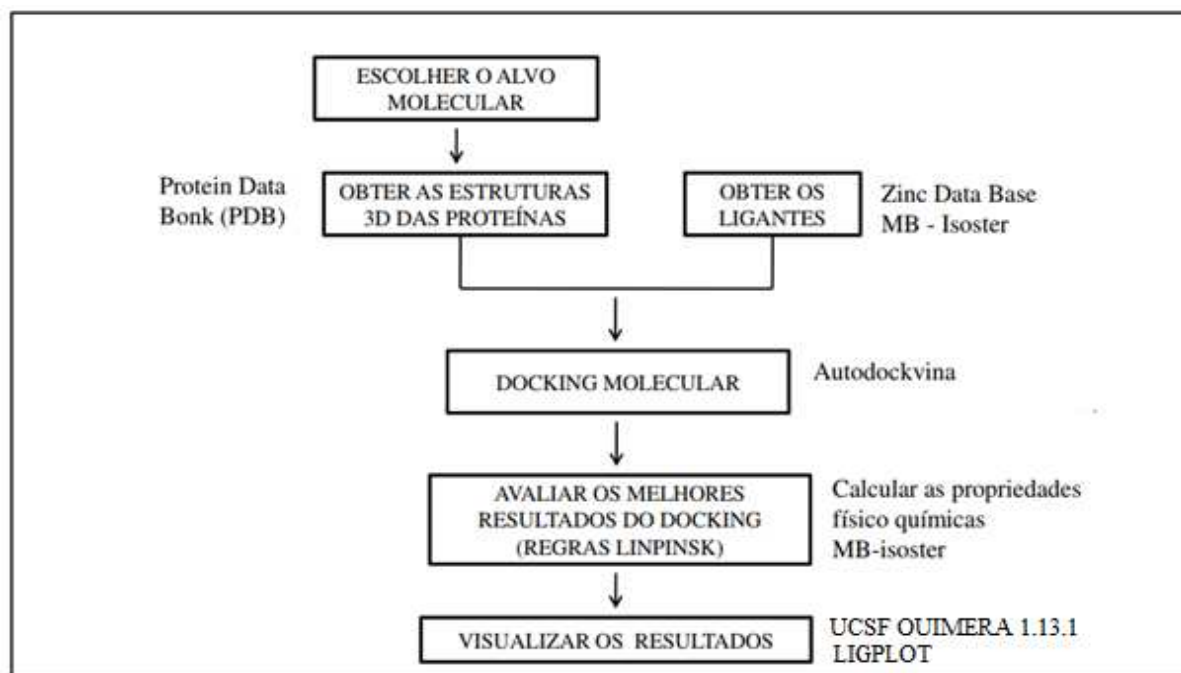


Figura 10- Esquema geral das etapas executadas no presente trabalho.
Fonte: Do autor.

4.1 Obtenções dos Ligantes

4.1.1 Proteína p53-y220C

Utilizou-se o ligante derivado do indol código pdb: RZH (2- (5-bromo-7-etil-2-metil-1h-indole-3-il) etano-1-amina) (Figura 11) cristalizado com a cavidade da superfície formada pelo mutante p53-Y220C, código pdb: 5AOI (JOERGER;ANG; FERSHT, 2006) como modelo para obter moléculas bioisosteras. As interações não ligantes (Van der Waals e eletrostáticas) entre os átomos do ligante e do sítio ativo do alvo molecular foram calculadas com programa MB-Isoster, para verificar os pontos de substituição bioisostérica do ligante que apresentam valores de energia potencial calculada mais elevada (ELIAS; OLIVEIRA; SILVEIRA, 2018).

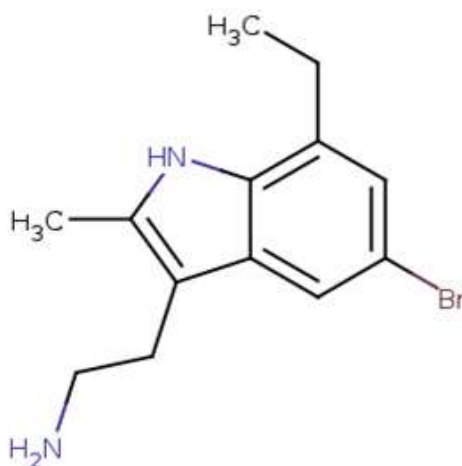


Figura 11- Composto código pdb: RZH.
Fonte: Adaptado de JOERGER; ANG; FERSHT (2006).

4.1.2 Proteína MDM2

Realizou-se uma busca na base de dados Zinc por compostos que possuem a estrutura básica das chalconas (1,3-difenil-2-propen-1-ona). Fez-se o download das moléculas no formato mol2. Utilizou-se o programa OpenBabel (O'BOYLE et al. 2011) para converter as moléculas para o formato pdbqt, necessário para os ensaios de docking.

Utilizou-se o componente derivado de chalcona (prenilchalcona-2e) capaz de inibir MDM2 em ensaios *in vitro* e *in silico*, para a comparação dos resultados do docking (Figura 12) (BRANDAO et al., 2018). Desenhou-se o derivado 2e de chalcona usado como controle para o *docking* no software ADC/ChemSketch.

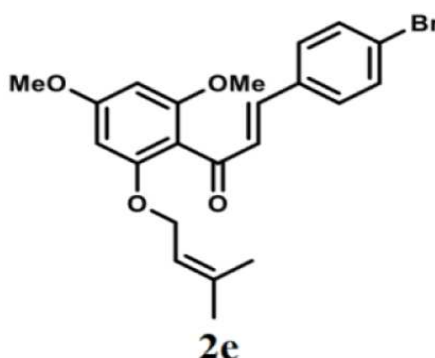


Figura 12- Composto derivado de chalcona (prenilchalcona -2e).
Fonte: BRANDAO et al (2018).

4.1.3 Proteína BIRC7

Utilizou-se o ligante código pdb: G13N-[(3aR,6S,6aS)-1-(N-metil-L-alanil-3-metil-L-valil) octa-hidrociclopenta [b] pirrol-6-il] naftaleno-1 carboxamida (Figura 13) cristalizado

com o domínio BIR da proteína BIRC7, código pdb: 3F7I (COHEN et al. 2009) como modelo para obter moléculas bioisosteras. As interações não ligantes (Van der Waals e eletrostáticas) foram computadas entre os átomos do ligante e do sítio ativo do alvo molecular foram calculadas com programa MB-Isoster, para verificar os pontos de substituição bioisostérica do ligante que apresentam valores de energia potencial calculada mais elevada (ELIAS; OLIVEIRA; SILVEIRA, 2018).

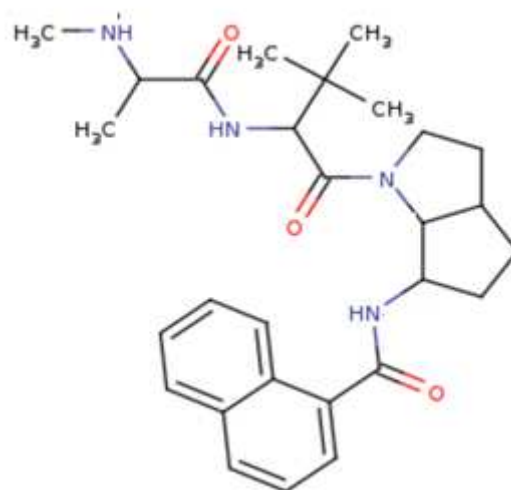


Figura 13- Composto código pdb G13.
Fonte: Adaptado de COHEN et al (2009)

4.2 Docking Molecular

Os ensaios de *docking* molecular foram realizados com programa AutoDockVina (TROTT; OLSON, 2010). A interface gráfica do AutoDockTools (ADT) foi utilizada para edição gráfica dos arquivos PDB das proteínas. As moléculas de água, os íons e os ligantes complexados no sítio ativo foram removidas das proteínas por interferirem no processo de docking. Posteriormente os arquivos foram salvos no formato *.pdbqt, executável no Vina.

O espaço de procura para o programa AutoDockVina realizar o acoplamento foi determinado a partir das coordenadas do ligante original complexado a proteína cristalizada. É nesse espaço cartesiano que o programa Vina realiza o acoplamento com o ligante em uma posição e conformação de menor energia de ligação. Os parâmetros do espaço de procura foram transcritas para um arquivo de texto, conf.txt.

O Arquivo VS01.bash da aplicação VSDK (BABA; AKAHO,2011), disponível em http://www.pharm.kobegakuin.ac.jp/~akaho/e_down_load.html, foi utilizado para realizar os cálculos de *docking* com a proteína MDM2 e os ligantes extraídos da base de dados ZINC. Se trata de um *script* que executa o programa AutoDockVina e realiza o cálculo de *docking*

molecular contra um alvo molecular e um número grande de ligantes. Além disso, os resultados são transcritos em uma tabela em ordem crescente de afinidade. Com os ligantes gerados a partir do programa MB-Isoster e os alvos moleculares p53-Y220C e BIRC7, utilizou-se a própria função de virtual screening do programa MB-Isoster para executar o programa AutoDockVina.

4.3 Visualizações do resultado do *docking* e avaliação dos ligantes

O programa UCSF Quimera (PETTERSEN et al., 2004) foi utilizado para visualizar as imagens das proteínas com os melhores resultados do *docking* armazenados nos arquivos *.pdbqt. O programa LigPlot (WALLACE; LASKOWSKI; THORNTON, 1996) foi utilizado gerar os diagramas das interações proteína-ligante.

O programa MB-isoster foi utilizado para realizar o cálculo das propriedades físico químicas (peso molecular, log calculado de (logP), número de doadores de ligação de hidrogênio (HBD), número de aceptores de ligação de hidrogênio (HBA), (logS), (TPSA)) dos melhores compostos resultantes do *docking*.

Utilizou-se as regras de Lipinski para avaliar os melhores compostos resultantes do *docking*. Tratam-se de parâmetros simples que avaliam as propriedades físico químicas de uma substância. São conhecidas também como "Regra dos 5", onde o peso molecular deve ser menor que 500, o logP deve ser menor que 5 e os aceptores de ligação de Hidrogênio menor que 10 (expressos como a soma de átomos de N e O) e doadores de ligação de hidrogênio menor 5 (expressos como a soma de grupamentos OH e NH). Se o composto violar apenas uma das regras, ainda pode apresentar adequada biodisponibilidade via oral quando for ingerido (LIPINSKI et al., 2001).

A área de superfície polar (PSA) dos ligantes também foi calculada para verificar a permeabilidade dos compostos nas membranas celulares. O valor de PSA deve ser menor ou igual a 140 \AA^2 para o composto ter uma boa permeabilidade celular (ERTL; ROHDE, SELZER, 2000).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Proteína p53-Y220C

O programa MB-isoster (ELIAS; OLIVEIRA; SILVEIRA, 2018) foi utilizado para calcular as interações não ligantes (van der Waals e eletrostáticas) entre os átomos do ligante RZH e o sítio ativo da proteína p53-Y220C código pdb: 5AOI. De acordo com os resultados obtidos (Tabela -3), foram selecionados os fragmentos moleculares N1e N2 (Figura 14) para substituição bioisostérica, por apresentarem energia potencial calculada mais elevada, que indicam interação menos favorável.

Tabela 3- Cálculo das interações não ligantes entre os átomos do ligante RZH cristalizado no sítio ativo da proteína código pdb: 5AOI. **(Continua)**

Átomo	Energia de van der Waals (Kcal.Mol ⁻¹)	Energia Eletrostática (Kcal.Mol ⁻¹)	Energia Total (Kcal.Mol ⁻¹)
N2	-0,681	304,723	304,041
N1	-0,381	157,125	156,744
C3	-0,706	52,884	52,179
C6	-1,040	46,742	45,702
C7	-1,130	45,424	44,294
C5	-1,261	41,974	40,713
BR	-2,718	33,093	30,374
H12	-0,006	0,000	-0,006
H6	-0,079	0,000	-0,079
H13	-0,088	0,000	-0,088
H3	-0,116	0,000	-0,116
H5	-0,117	0,000	-0,117
H7	-0,140	0,000	-0,140
H10	-0,169	0,000	-0,169
H15	-0,170	0,000	-0,170
H4	-0,192	0,000	-0,192
H11	-0,220	0,000	-0,220
H14	-0,284	0,000	-0,284
H16	-0,349	0,000	-0,349
C1	-1,113	0,000	-1,113
C13	-1,131	0,000	-1,131
C4	-0,670	-30,588	-31,259
C8	-1,011	-34,175	-35,186
C11	-1,027	-40,338	-41,365
H2	-0,056	-45,349	-45,405
C10	-0,521	-46,974	-47,495
H1	-0,149	-47,739	-47,888
C9	-0,579	-53,744	-54,323
C2	-0,994	-83,535	-84,529
C12	-0,707	-84,244	-84,952

Fonte:Do autor.

Tabela 3- Cálculo das interações não ligantes entre os átomos do ligante RZH cristalizado no sítio ativo da proteína código pdb: 5AOI. **(Conclusão)**

Átomo	Energia de van der Waals (Kcal.Mol ⁻¹)	Energia Eletrostática (Kcal.Mol ⁻¹)	Energia Total (Kcal.Mol ⁻¹)
H9	-0,039	-104,750	-104,789
H8	-0,070	-108,870	-108,941

Fonte: Do autor.

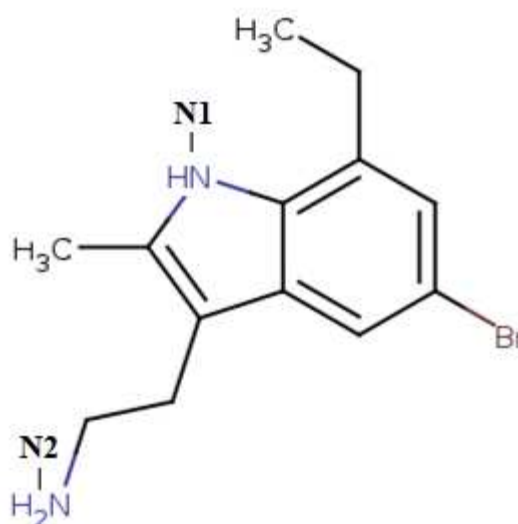


Figura 14- Composto RZH com os fragmentos selecionados para substituição bioisostérica.
Fonte: Adaptado de JOERGER et al (2013).

O programa MB-Isoster gerou 11 moléculas bioisosteras a partir da seleção dos fragmentos moleculares N1e N2. O *docking* molecular entre as moléculas geradas e o controle foi feito utilizando a funcionalidade de *Virtual screening* do programa MB-Isoster contra a proteína p53-y220C, código pdb: 5AOI. Em relação à energia de ligação (kcal.mol⁻¹) do controle (RZH), foram selecionados os seis melhores resultados do *docking*. As substituições dos grupos químicos feitas nas moléculas análogas com melhor afinidade podem ser verificadas na tabela (Tabela 4).

Tabela 4- Energia de ligação (kcal.mol⁻¹) dos 6 melhores resultados do *docking* e do controle.

Moléculas	Radicais	Vina (Kcal.mol)
Bio 011 N1	N1-CH ₂	-7,2
Bio 009 N1	N1-OH	-7,0
Bio 004 N2	N2-CH ₃	-7,0
Bio 002 N2	N2-F	-6,9
Bio 003 N2	N2-OH	-6,9
Bio 005 N2	N2-Cl	-6,9
RZH	-	-6,5

Fonte: Do autor.

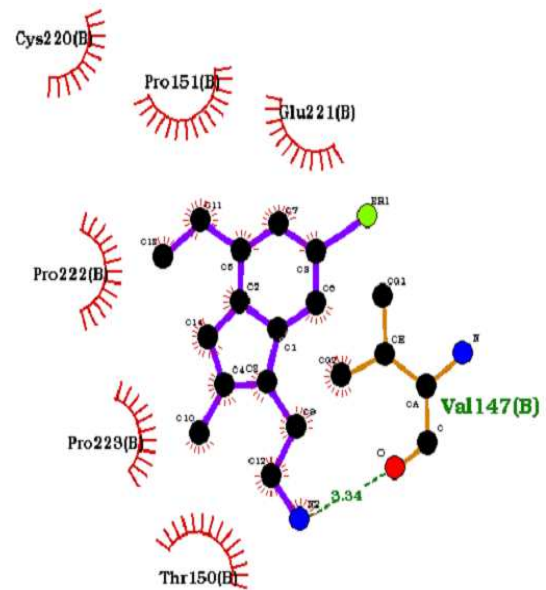
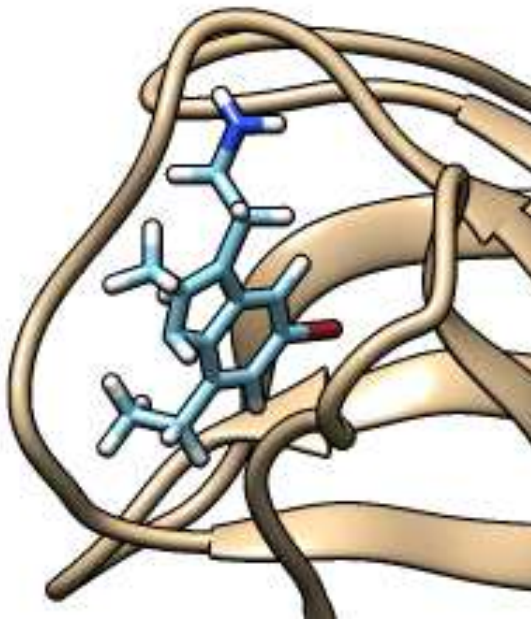
Realizou-se o cálculo das propriedades físico químicas (peso molecular, logP, HBD, HBA) e TPSA (Tabela-5) e verificou-se que o controle (RZH) e os ligantes selecionados se encontram em conformidade com as regras de Lipinski. Todos os compostos apresentam o valor de TPSA ideal, ou seja, menor que 140. Dentre eles, os compostos Bio 004 N2, Bio 002 N2, Bio 005 N2 apresentam melhor permeabilidade celular por apresentarem o menor valor de TPSA (12.03).

Tabela 5- Cálculo das propriedades físico químicas dos 6 ligantes que obtiveram melhor energia de interação e do controle.

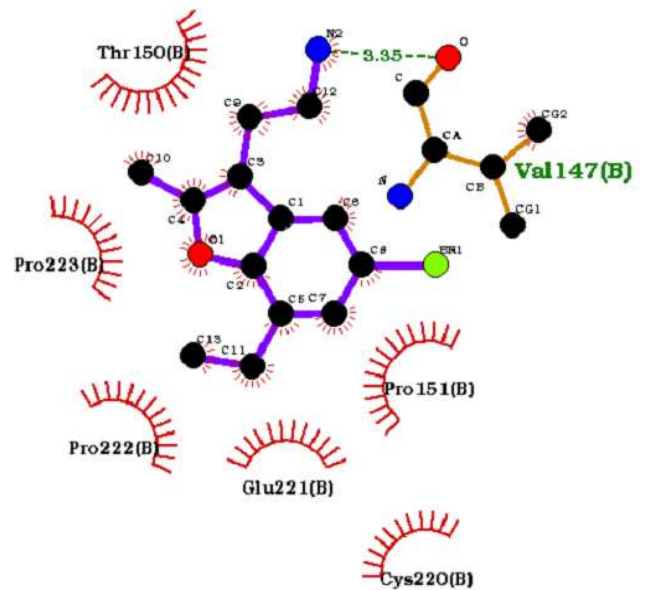
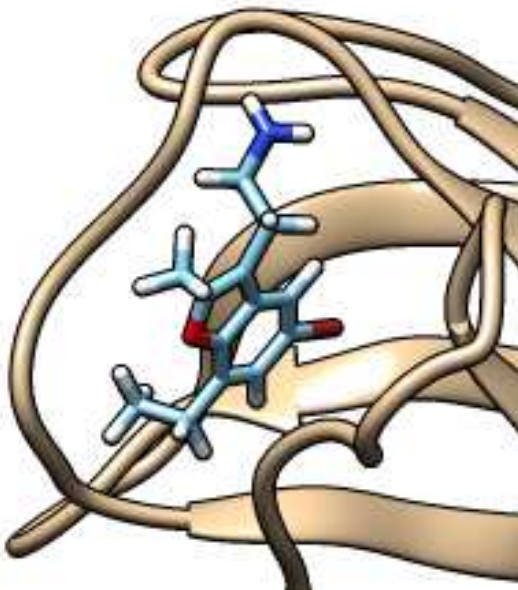
Moléculas	Radicais	Peso Molecular (g. mol ⁻¹)	logP	HBD	HBA	Violações de Linpinski	TPSA
Bio 011 N1	N1-CH ₂	280,19	2,82	2	2	0	26,02
Bio 009 N1	N1-OH	282,17	3,03	2	3	0	35,25
Bio 004 N2	N2-CH ₃	280,19	4,94	1	2	0	12,03
Bio 002 N2	N2-F	284,16	4,26	1	3	0	12,03
Bio 003 N2	N2-OH	282,16	3,24	2	3	0	32,26
Bio 005 N2	N2-Cl	300,61	4,53	1	3	0	12,03
RZH	-	281,19	2,98	3	3	0	38,05

Fonte: Do autor.

Na figura 15 se encontra a visualização das poses dos seis melhores resultados do docking e do controle, juntamente com o diagrama de suas interações. Por meio dos diagramas gerados pelo programa ligPlot, foi possível observar que as interações do controle RZH, foram mediadas por contatos hidrofóbicos e ligações de hidrogênio com os resíduos de aminoácidos Val 147 e Leu 145. Os bioisosteros Bio 011 N1, Bio 009 N1 e Bio 003 N2 apresentaram contatos hidrofóbicos e interações de hidrogênio com o resíduo de aminoácido Val 147. Os bioisosteros Bio 004 N2, Bio 002 N2, Bio 005 N2, apresentaram somente contatos hidrofóbicos.



Bio 011 N1



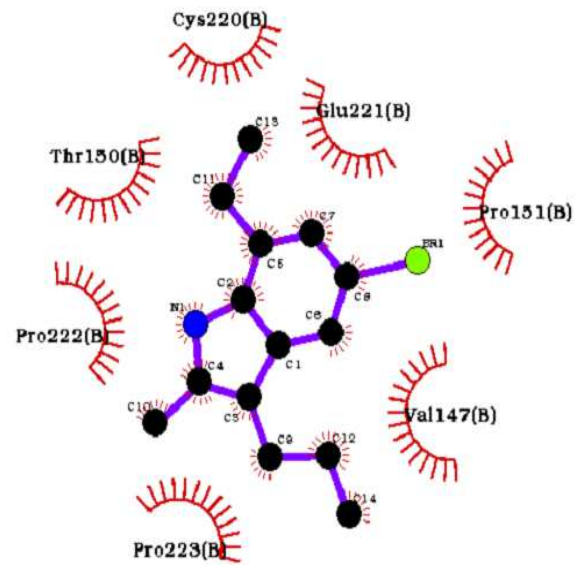
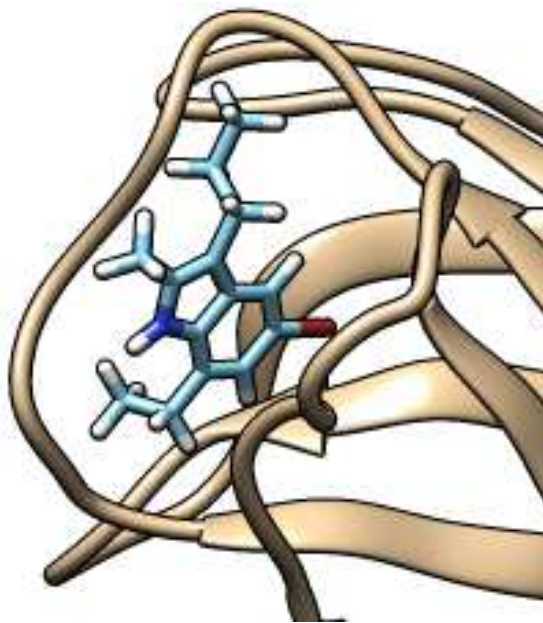
Bio 009 N1

Figura 15 - Visualização das poses dos cinco melhores resultados do docking e do controle juntamente com o diagrama das interações ente a proteína código pdb: 5AOI, os ligantes e o controle.

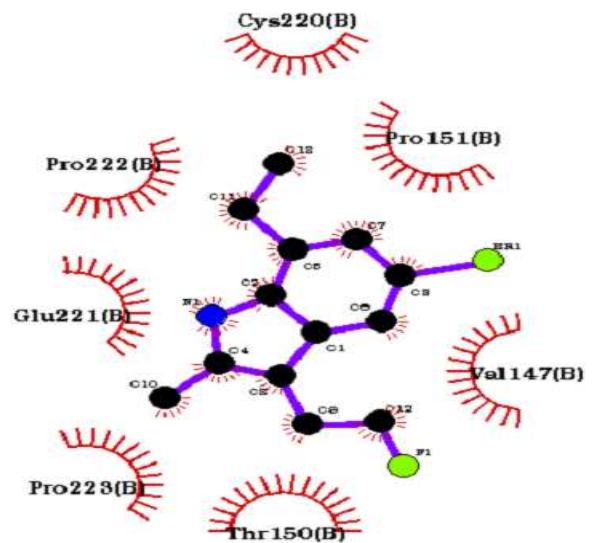
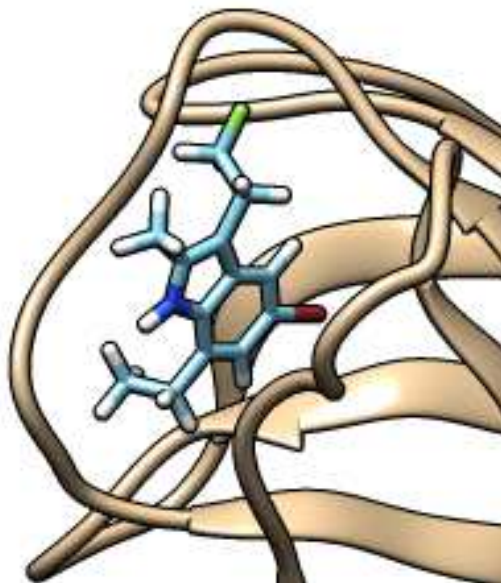
Fonte: Do autor.

Nota: No diagrama gerado pelo programa LigPlot, os semicírculos indicam os contatos hidrofóbicos entre resíduos da proteína e do ligante. As Linhas tracejadas representam ligações de hidrogênio.

Continua



Bio 004 N2



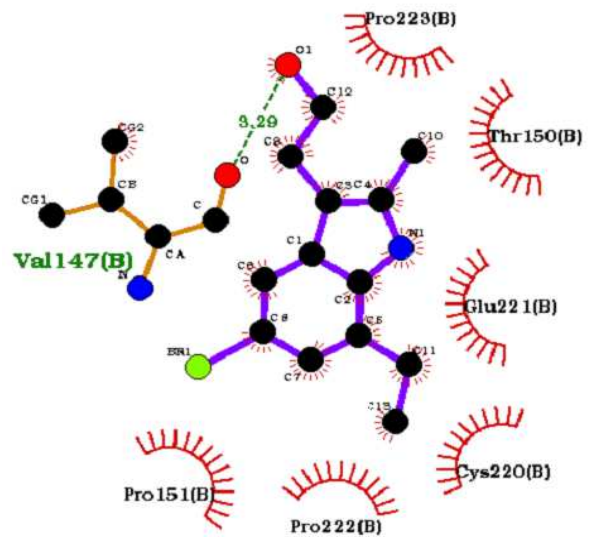
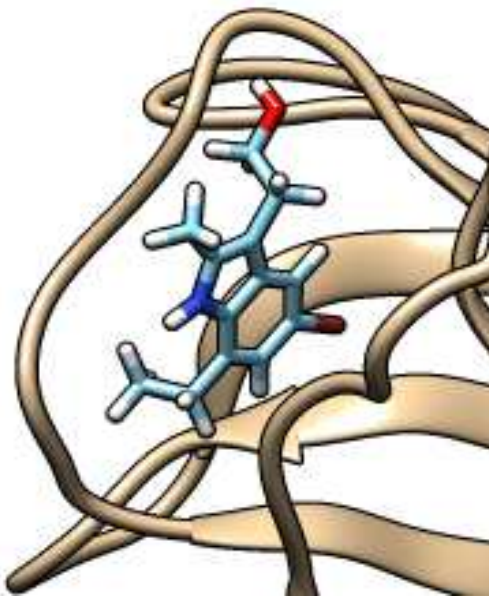
Bio 002 N2

Figura 15 - Visualização das poses dos cinco melhores resultados do docking e do controle juntamente com o diagrama das interações ente a proteína código pdb: 5AOI, os ligantes e o controle.

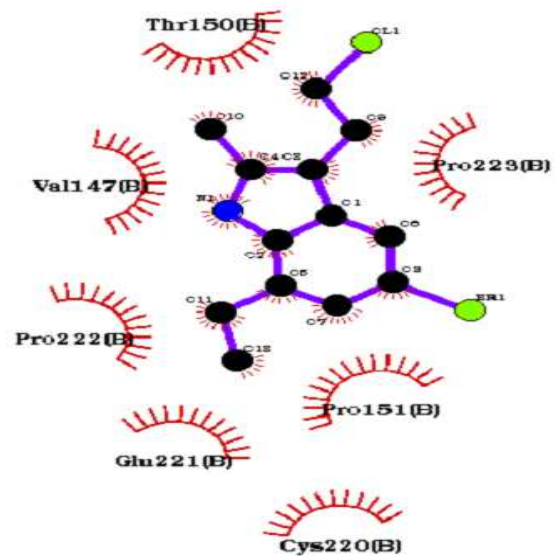
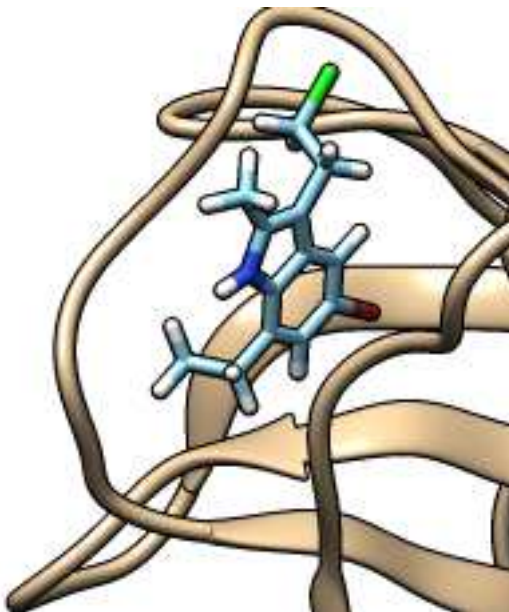
Fonte: Do autor.

Nota: No diagrama gerado pelo programa LigPlot, os semicírculos indicam os contatos hidrofóbicos entre resíduos da proteína e do ligante. As Linhas tracejadas representam ligações de hidrogênio.

Continua



Bio 003 N2



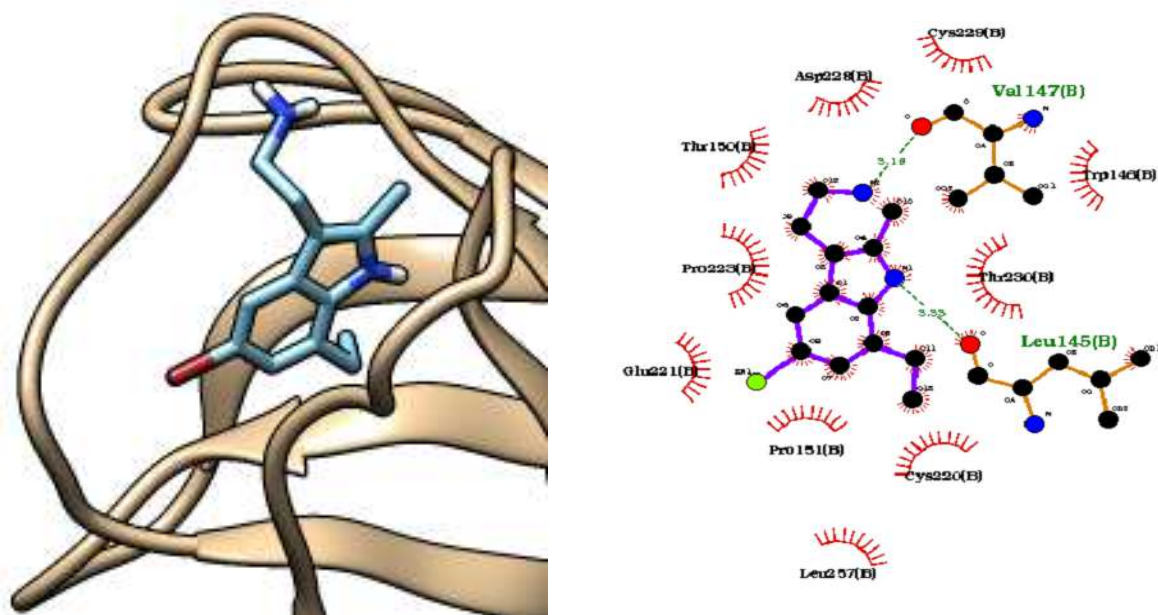
Bio 005 N2

Figura 15 - Visualização das poses dos cinco melhores resultados do docking e do controle juntamente com o diagrama das interações ente a proteína código pdb: 5AOI, os ligantes e o controle.

Fonte: Do autor.

Nota: No diagrama gerado pelo programa LigPlot, os semicírculos indicam os contatos hidrofóbicos entre resíduos da proteína e do ligante. Linhas tracejadas representam ligações de hidrogênio.

Continua



RZH

Figura 15 - Visualização das poses dos cinco melhores resultados do docking e do controle juntamente com o diagrama das interações ente a proteína código pdb: 5AOI, os ligantes e o controle.

Fonte: Do autor.

Nota: No diagrama gerado pelo programa LigPlot, os semicírculos indicam os contatos hidrofóbicos entre resíduos da proteína e do ligante. Linhas tracejadas representam ligações de hidrogênio.

Conclusão

5.2 Proteína MDM2

A busca na base de dados ZINC retornou 179 compostos e os arquivos de suas estruturas foram baixados no formato mol2. O programa OpenBabel (O'BOYLE et al. 2011), foi utilizado para converter os arquivos mol2 para o formato pdbqt. Realizou-se o docking molecular entre 179 compostos, o controle e a proteína MDM2 (código pdb: 4HG7). Em relação a energia de ativação (kcal/mol) do controle (2e), foram selecionados os quatro melhores resultados do docking (Tabela-6).

Realizou-se o cálculo das propriedades físico químicas (peso molecular, logP, HBD, HBA) e verificou-se que o controle(2e) e os ligantes se encontram em conformidade com as regras de Lipinski (Tabela-7). Todos os compostos apresentam o valor de TPSA ideal, ou seja, menor que 140. Dentre eles, os compostos ZINC49525064 e ZINC49524869, apresentam melhor permeabilidade celular por apresentar o menor valor de TPSA (17.70).

Tabela 6- Energia de ligação (kcal.mol^{-1}) dos 4 melhores resultados do docking e do controle

Moléculas	Vina (kcal.mol^{-1})
ZINC49525064	-7,9
ZINC49524869	-7,9
ZINC37307305	-7,9
ZINC37307202	-7,9
2e	-6.8

Fonte: Do autor.

Tabela 7- Cálculo das propriedades físico químicas dos 4 ligantes que obtiveram melhor energia de interação e do controle.

Moléculas	Peso Molecular (g.mol^{-1})	logP	HBD	HBA	Violações de Lipinski	TPSA
ZINC49525064	280,213	4,740	0	5	0	17,70
ZINC49524869	262,221	4,627	0	4	0	17,70
ZINC37307305	291,238	4,695	0	5	0	40,13
ZINC37307202	292,120	5,027	0	4	0	40,13
2e	408,116	3,545	0	5	0	40,70

Fonte: Do autor.

Na figura 16 se encontra a visualização das poses dos quatro melhores resultados do *docking* e do controle juntamente com o diagrama de suas interações. Por meio dos diagramas gerados pelo programa ligPlot foi possível observar que as interações do Controle-2e e dos ligantes ZINC49525064, ZINC49524869, ZINC37307305, ZINC37307202 foram mediadas por contatos hidrofóbicos.

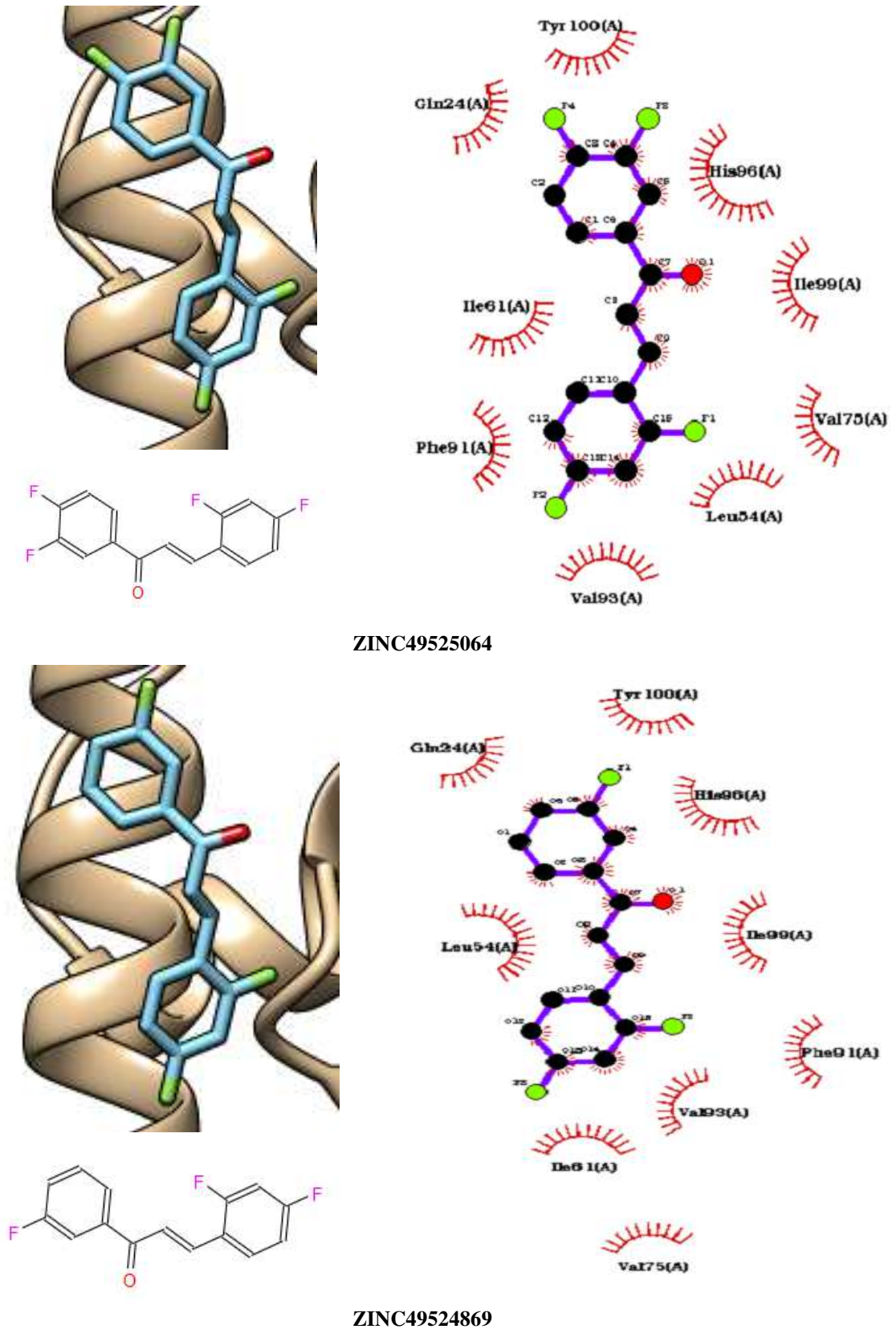
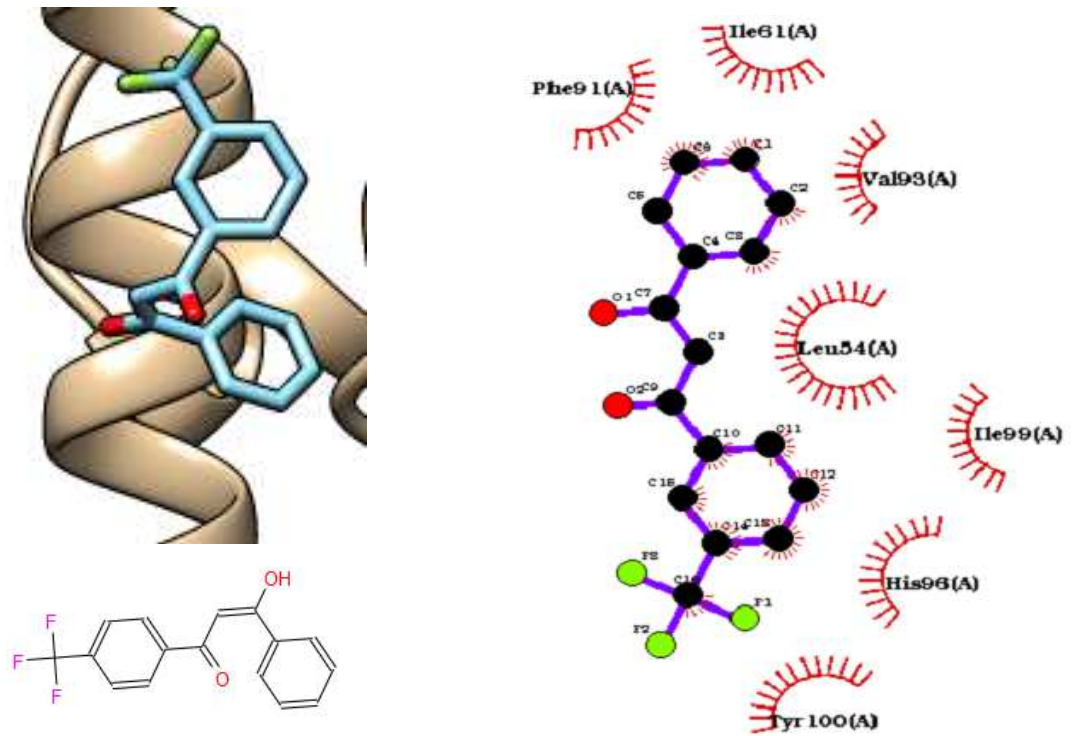


Figura 16 - Visualização das poses dos quatro melhores resultados do docking e do controle juntamente com o diagrama das interações ente a proteína código pdb: 4HG7, os ligantes e o controle.

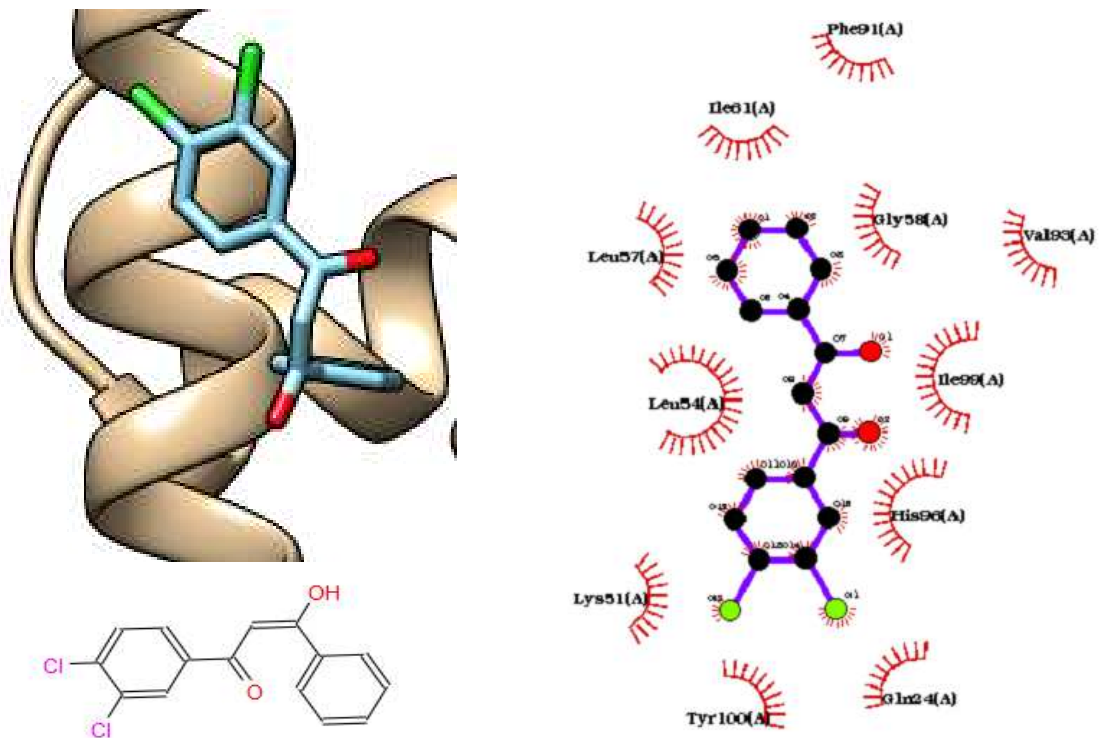
Fonte: Do autor.

Nota: No diagrama gerado pelo programa LigPlot, os semicírculos indicam os contatos hidrofóbicos entre resíduos da proteína e do ligante. Linhas tracejadas representam ligações de hidrogênio.

Continua



ZINC37307305



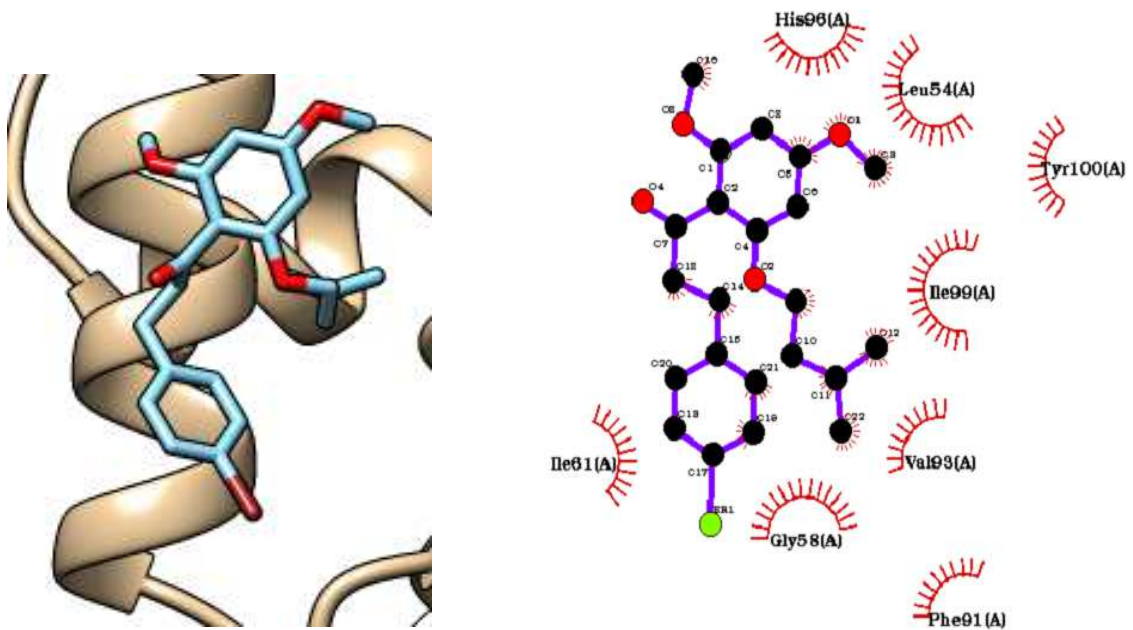
ZINC373072

Figura 16 - Visualização das poses dos quatro melhores resultados do docking e do controle juntamente com o diagrama das interações ente a proteína código pdb: 4HG7, os ligantes e o controle.

Fonte: Do autor.

Nota: No diagrama gerado pelo programa LigPlot, os semicírculos indicam os contatos hidrofóbicos entre resíduos da proteína e do ligante. Linhas tracejadas representam ligações de hidrogênio.

Continua



Controle 2E

Figura 16 - Visualização das poses dos quatro melhores resultados do docking e do controle juntamente com o diagrama das interações ente a proteína código pdb: 4HG7, os ligantes e o controle.

Fonte: Do autor.

Nota: No diagrama gerado pelo programa LigPlot, os semicírculos indicam os contatos hidrofóbicos entre resíduos da proteína e do ligante. Linhas tracejadas representam ligações de hidrogênio.

Conclusão

5.3 Proteína BIRC7

O programa MB-isoster (ELIAS; OLIVEIRA; SILVEIRA, 2018) foi utilizado para calcular as interações não ligantes (van der Waals e eletrostáticas) entre os átomos do ligante G13 e o sítio ativo da proteína BIRC7 código pdb: 3F7I. De acordo com os resultados obtidos (Tabela 8), foram selecionados os fragmentos moleculares N2, N7 e N23 (Figura 17) para substituição bioisostérica, por apresentarem energia potencial calculada mais elevada, que indicam interação menos favorável.

Tabela 8- Cálculo das interações não ligantes entre os átomos do ligante G13 cristalizado no sítio ativo da proteína código pdb: 3F7I

Átomo	Energia de van der Waals (Kcal.Mol ⁻¹)	Energia Eletrostática (Kcal.Mol ⁻¹)	Energia Total (Kcal.Mol ⁻¹)
N2	1,480	644,798	646,278
N7	-0,447	503,863	503,417
N23	-0,536	467,423	466,888
N15	-0,690	395,006	411,271
O14	-0,212	395,006	394,794
O6	-0,123	380,656	380,533
O25	1,078	366,066	367,144
C28	-0,767	106,846	107,353
C27	-0,767	106,846	106,078
C29	-1,004	104,659	103,656
C32	-0,484	92,630	92,146
C35	-0,322	89,570	89,248
C33	-0,261	85,040	84,778
C34	-0,205	83,837	83,632
H18	2,143	0,000	2,143
H10	2,101	0,000	2,101
H31	0,219	0,000	0,219
H33	0,116	0,000	0,116
H15	-0,022	0,000	-0,022
H14	-0,027	0,000	-0,027
H22	-0,032	0,000	-0,032
H12	-0,040	0,000	-0,040
H13	-0,043	0,000	-0,043
H37	-0,048	0,000	-0,048
H24	-0,059	0,000	-0,059
H27	-0,066	0,000	-0,066
H21	-0,070	0,000	-0,070
H28	-0,071	0,000	-0,071
H9	-0,090	0,000	-0,090
H16	-0,091	0,000	-0,091
H23	-0,099	0,000	-0,099
H29	-0,104	0,000	-0,104
H20	-0,107	0,000	-0,107
H25	-0,109	0,000	-0,109
H17	-0,121	0,000	-0,121
H36	-0,146	0,000	-0,146
C21	-0,153	0,000	-0,153
H38	-0,160	0,000	-0,160
H19	-0,178	0,000	-0,178
H11	-0,199	0,000	-0,199
C22	-0,212	0,000	-0,212
H32	-0,232	0,000	-0,232
H26	-0,246	0,000	-0,246
C12	-0,266	0,000	-0,266
C10	-0,325	0,000	-0,325
C9	-0,402	0,000	-0,402
H34	-0,539	0,000	-0,539
C17	-0,599	0,000	-0,599
C31	-0,604	0,000	-0,604
C11	-0,605	0,000	-0,605
C18	-0,664	0,000	-0,664

Fonte: Do autor.

Tabela 8- Cálculo das interações não ligantes entre os átomos do ligante G13 cristalizado no sítio ativo da proteína código pdb: 3F7I. **(Conclusão)**

Átomo	Energia de van der Waals (Kcal.Mol ⁻¹)	Energia Eletrostática (Kcal.Mol ⁻¹)	Energia Total (Kcal.Mol ⁻¹)
C30	-0,718	0,000	-0,718
C4	-1,726	0,000	-1,726
C26	-0,857	-58,115	-58,973
H6	-0,020	-77,966	-77,985
H7	-0,030	-79,658	-79,688
H5	-0,060	-87,265	-87,325
H4	-0,128	-92,567	-92,695
H3	-0,307	-104,622	-104,929
H1	1,229	-109,279	-108,050
H2	-0,360	-113,226	-113,586
C19	-0,538	-176,752	-177,290
C1	-0,791	-182,270	-183,062
C20	-0,396	-183,438	-183,834
C16	-0,503	-189,055	-189,558
C8	-0,757	-232,865	-233,622
C3	-1,261	-239,087	-240,349
H8	-0,116	-242,859	-242,975
H35	0,468	-270,644	-270,176
H30	-0,094	-271,365	-271,458
C24	-0,543	-353,650	-354,193
C13	-0,811	-372,129	-372,941
C5	-0,987	-392,487	-393,474

Fonte: Do autor.

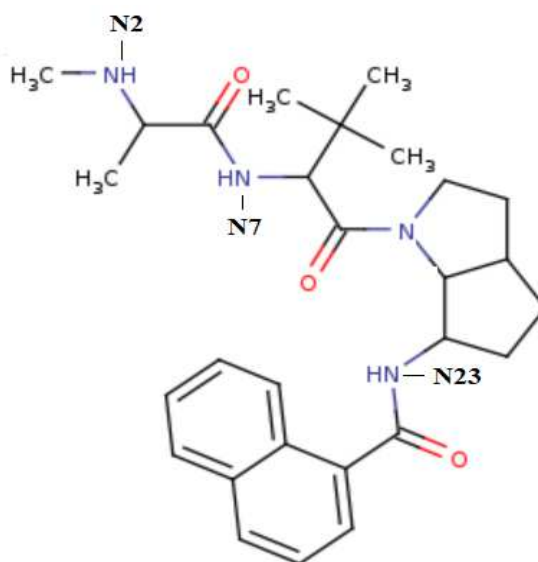


Figura 17 Composto G13 com os fragmentos selecionados para substituição biisostérica. Fonte: Adaptado de COHEN et al (2009)

O programa MB-Isoster gerou 9 moléculas bioisosteras a partir da seleção dos fragmentos N1, N2 e N23. O *docking* molecular entre as moléculas geradas e o controle foi feito utilizando a funcionalidade de *Virtual screening* do programa MB-Isoster contra a

proteína BIRC7, código pdb: 3F7I. Em relação à energia de ligação (kcal.mol^{-1}) do controle (G13), foram selecionados os cinco melhores resultados do *docking*. As substituições dos grupos químicos feitas nas moléculas análogas com melhor afinidade podem ser verificadas na tabela (Tabela -9).

Tabela 9- Energia de ligação (kcal.mol^{-1}) dos 5 melhores resultados do dockink e do controle.

Moléculas	Radicais	Vina (kcal.mol)
BBio 003	N2-CH ₂	-9,7
BBio 001	N2-O	-9,5
BBio 002	N2-S	-8,1
BBio 007	N23-O	-8,1
BBio 008	N23-S	-7,9
G13		-7,2

Fonte: Do autor.

Realizou-se o cálculo das propriedades físico químicas (peso molecular, logP, HBD, HBA) e TPSA (Tabela-10) e verificou-se que o controle (G13) e os ligantes selecionados se encontram em conformidade com as regras de Lipinski. Todos os compostos apresentam o valor de TPSA ideal, ou seja, menor que 140. Dentre eles, o composto BBio 003N2, apresenta melhor permeabilidade celular por apresentarem o menor valor de TPSA (78.51).

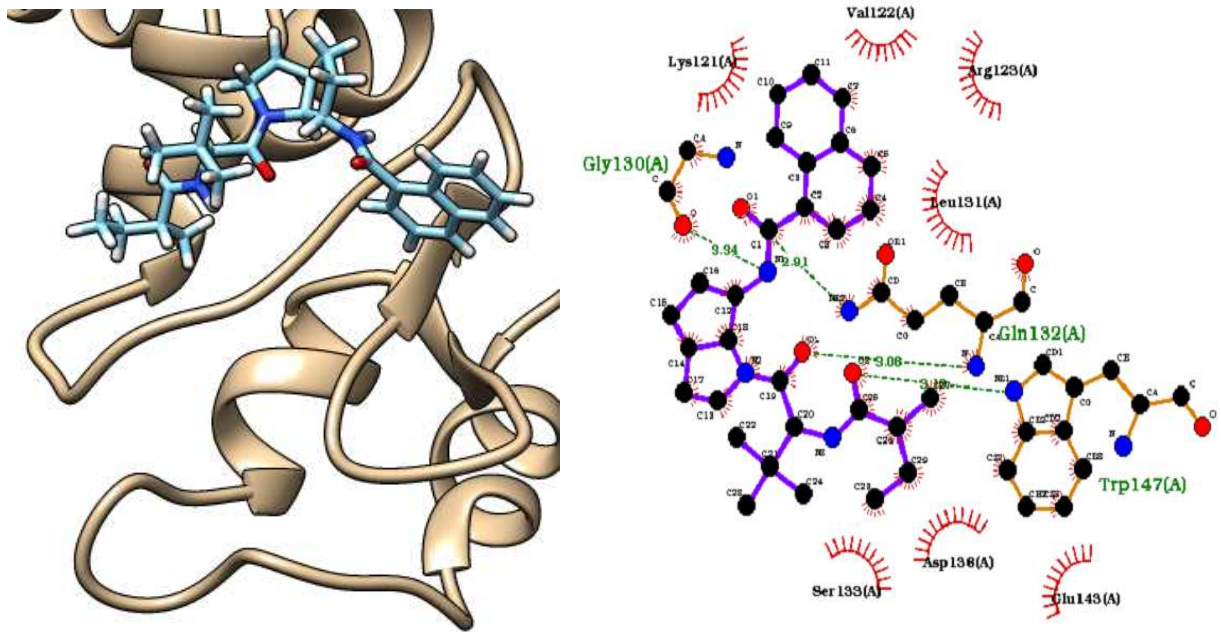
Tabela 10- Cálculo das propriedades físico químicas dos 5 ligantes que obtiveram melhor energia de interação e do controle G13

Moléculas	Radicais	Peso Molecular (g.mol^{-1})	logP	HBD	HBA	Violações de Lipinski	TPSA
BBio 003	N2-CH ₂	477,63	6,68	2	6	1	78,51
BBio 001	N2-O	479,60	5,14	2	7	1	87,74
BBio 002	N2-S	495,67	5,96	2	7	1	103,81
BBio 007	N23-O	479,60	3,03	2	7	0	87,74
BBio 008	N23-S	495,67	6,03	2	7	1	103,81
G13	-	478,00	4,87	3	7	0	90,00

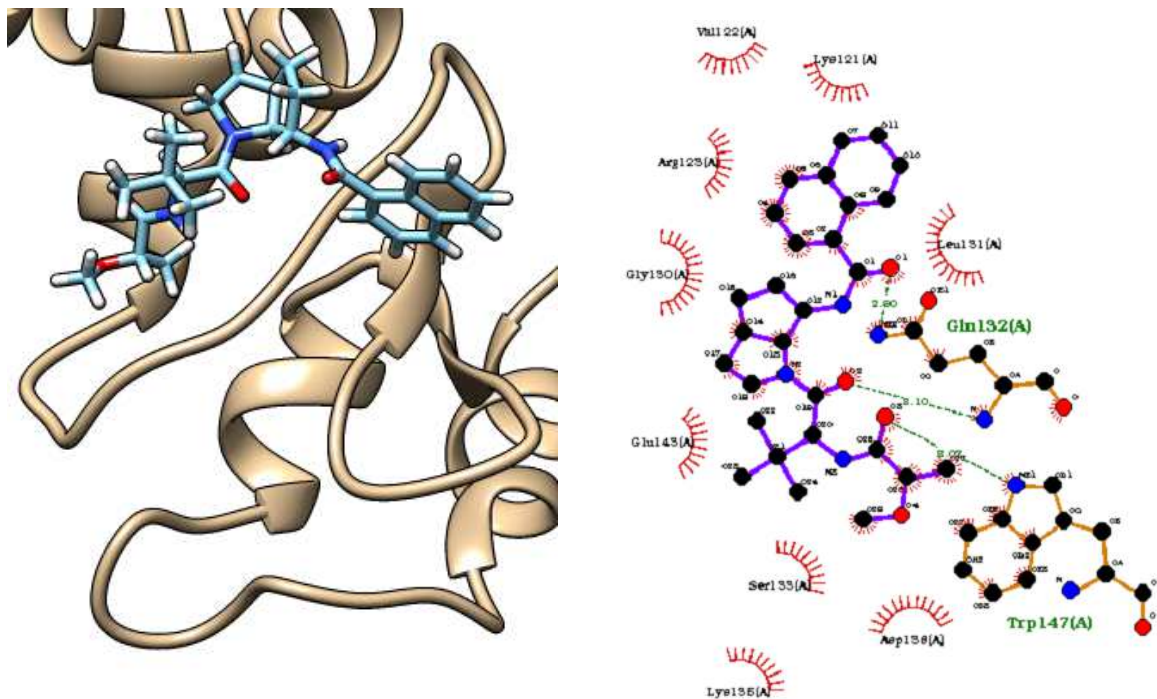
Fonte:Do autor.

Na figura 18 se encontra a visualização das poses dos cinco melhores resultados do *docking* e do controle juntamente com o diagrama de suas interações. Por meio dos diagramas gerados pelo programa ligPlot foi possível observar que as interações entre o controle foram mediadas por contatos hidrofóbicos e interações de hidrogênio com os resíduos de aminoácidos Gly130, Gln132 e Glu 143. O bioisostero BBio 003 apresenta contatos hidrofóbicos e interações de hidrogênio com os resíduos de aminoácidos Gly130, Gln132 e Trp147. O bioisostero BBio 001 apresenta contatos hidrofobicos e interações de

hidrogênio com os resíduos de aminoácidos Gln 132 e Try 147. O bioisostero BBio 002 apresenta contatos hidrofobios e interações de hidrogênio com o resíduo de aminoácido Gln 132. O BBio 007 apresenta contatos hidrofobicos e interações de hidrogênio com os resíduos de aminoácidos Gln132, Asp 138, Glu143 e Trp147. O BBio 008 apresenta somente contatos hidrofóbicos.



BBIO_003



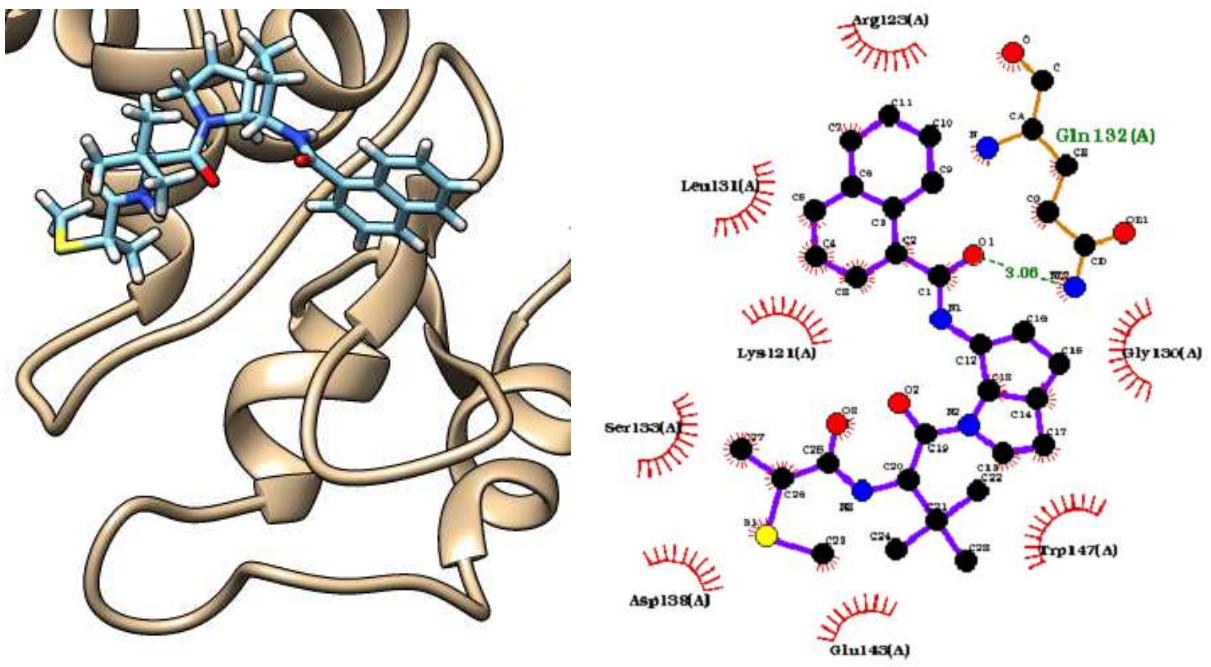
BBIO_001

Figura 18- Visualização das poses dos cinco melhores resultados do docking e do controle juntamente com o diagrama das interações ente a proteína código pdb: 37FI, os ligantes e o controle.

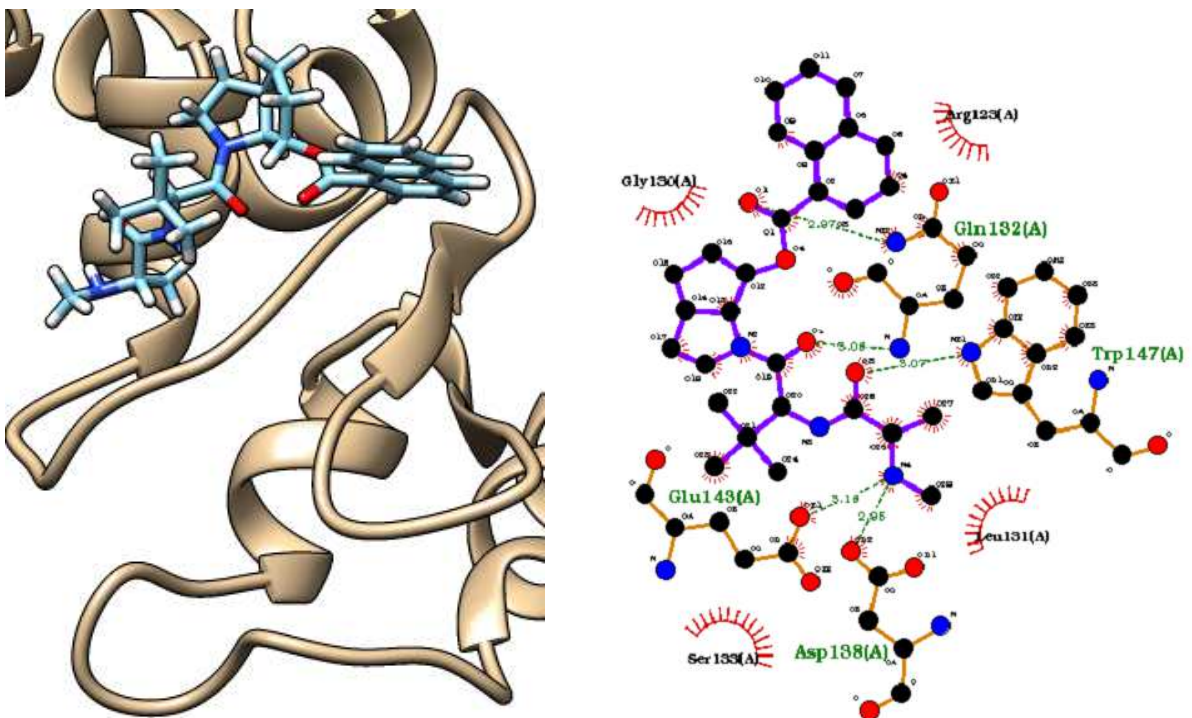
Fonte: Do autor.

Nota: No diagrama gerado pelo programa LigPlot, os semicírculos indicam os contatos hidrofóbicos entre resíduos da proteína e do ligante. Linhas tracejadas representam ligações de hidrogênio.

(Continua)



BBIO_002



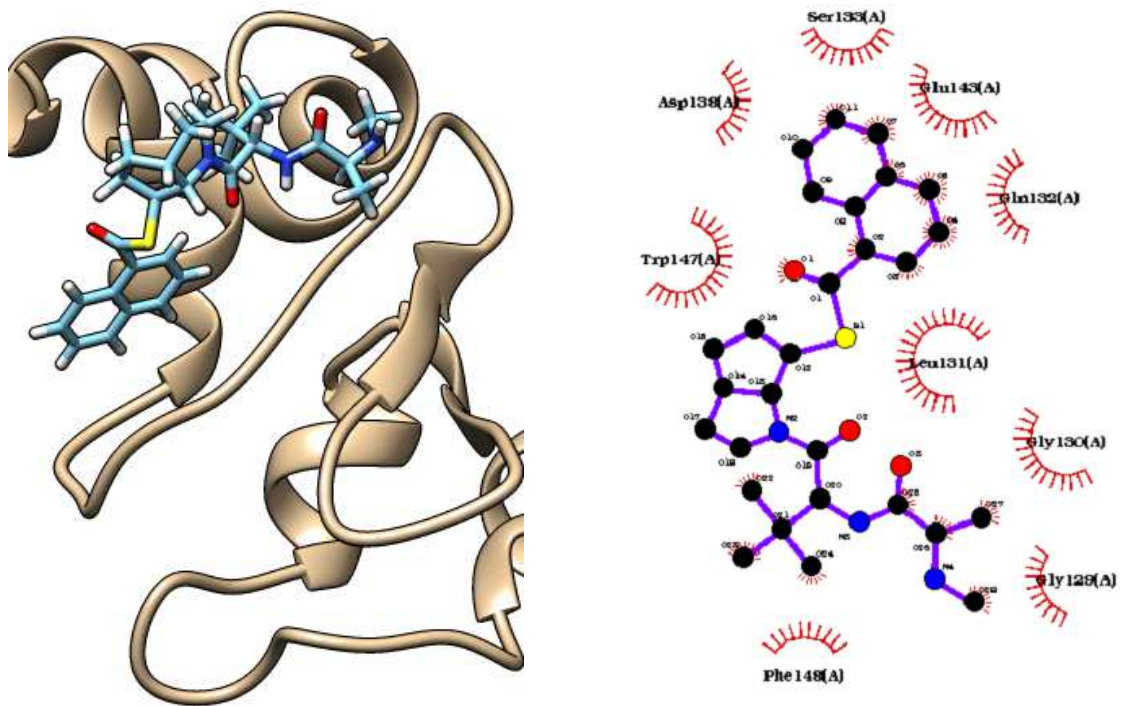
BBIO_007

Figura 18- Visualização das poses dos cinco melhores resultados do docking e do controle juntamente com o diagrama das interações ente a proteína código pdb: 37FI, os ligantes e o controle.

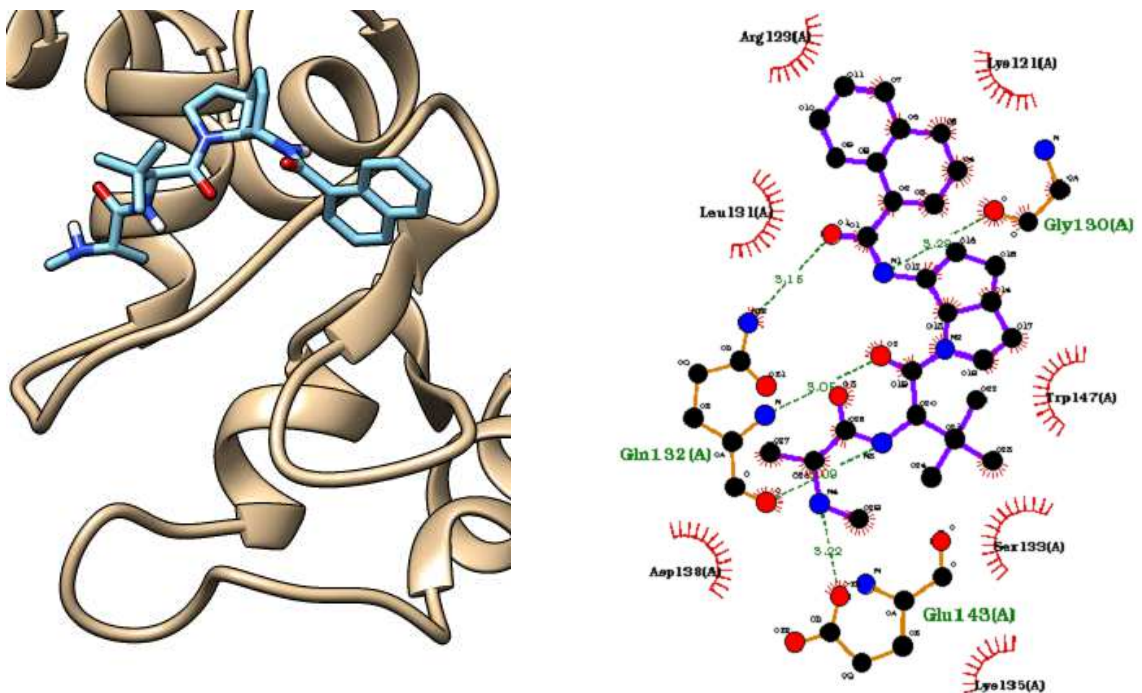
Fonte: Do autor.

Nota: No diagrama gerado pelo programa LigPlot, os semicírculos indicam os contatos hidrofóbicos entre resíduos da proteína e do ligante. Linhas tracejadas representam ligações de hidrogênio.

(Continua)



BBIO_008



CONTROL_G13

Figura 18- Visualização das poses dos cinco melhores resultados do docking e do controle juntamente com o diagrama das interações ente a proteína código pdb: 37FI, os ligantes e o controle.

Fonte: Do autor.

Nota: No diagrama gerado pelo programa LigPlot, os semicírculos indicam os contatos hidrofóbicos entre resíduos da proteína e do ligante. Linhas tracejadas representam ligações de hidrogênio.

(Conclusão)

6 CONCLUSÃO

Os melhores resultados do *docking* foram selecionados por meio do cálculo da energia de ligação durante o processo de interação entre os ligantes e o sítio ativo do alvo molecular. Aqueles compostos que necessitam de menor energia para que a interação ocorra, formam um complexo mais estável durante o processo de interação, ou seja, teoricamente possuem maior atividade biológica (FERREIRA et al., 2015). Assim, de acordo com resultados obtidos durante os cálculos de *docking* molecular, os compostos Bio 011 N1 (-7,2 kcal.mol⁻¹), Bio 009 N1 (-7,0 kcal.mol⁻¹), Bio 004 N2 (-7,0 kcal.mol⁻¹), Bio 002 N2 (-6,9 kcal.mol⁻¹) Bio 003 N2 (-6,9 kcal.mol⁻¹) e Bio 003 N2 (-6,9 kcal.mol⁻¹) são candidatos promissores para restaurar a função da proteína p53 com a alteração Y220C. A proteína p53 com alteração perde sua atividade supressora de tumor e ainda pode adquirir funções oncogênicas para promover a proliferação dos tumores (JOERGER;ANG; FERSHT, 2006). Esses compostos funcionariam apenas para alteração Y220C da p53 e não para outras. Os compostos ZINC49525064 (-7,9 kcal.mol⁻¹), ZINC49524869 (-7,9 kcal.mol⁻¹), ZINC37307305 (-7,9 kcal.mol⁻¹), ZINC37307202 (-7,9 kcal.mol⁻¹) são candidatos promissores para inibir a proteína MDM2 ao se ligarem ao seu domínio de interação com a p53. Esses compostos derivados de chalconas podem representar um ponto de partida para o desenvolvimento de novos fármacos para tratar cânceres com níveis elevados da proteína MDM2. E os compostos BBio 003 (-9,7 kcal.mol⁻¹), BBio 001 (-9,5 kcal.mol⁻¹), BBio 002 (-8,1 kcal.mol⁻¹), BBio 007 (-8,1 kcal.mol⁻¹) BBio 008 (-7,9 kcal.mol⁻¹) são candidatos promissores para inibir a proteína BIRC7 ao se ligarem ao seu domínio BIR. Esses compostos podem ser eficientes para tratar cânceres com níveis elevados da proteína BIRC7. Podem restaurar a via apoptótica e impedir o crescimento de células cancerígenas (LIU et al., 2007).

Todos os compostos identificados apresentaram parâmetros físico químicos que respeitam as regras dos cinco de Lipinski (RO5) e podem ser administrados por via oral. Teoricamente essas substâncias podem contribuir para o desenvolvimento de novas pesquisas experimentais e ensaios clínicos para o tratamento do câncer.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS, A. K.; FAUSTO, N.; ASTER, J. C. **Robbins e Cotran: Patologia - Bases patológicas das doenças**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.
- ABD-ELRAHMAN, I. ; HERSHKO, K.; NEUMAN, T.; NACHMIAS, B.; PERLMAN, R.; BEN-YEHUDA, D. The inhibitor of apoptosis protein Livin (ML-IAP) plays a dual role in tumorigenicity. **Cancer Res**, v. 69, n.13, p.5475–5480, jul.2009.
- ALBERTS, B.; BRAY, D.; HOPKIN, K.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. **Fundamentos da Biologia celular**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2011.
- ALTIERI, B. ; SBIERA, S. ; DELLA CASA, S. ; WEIGAND, I.; WILD, V.; STEINHAEUER, S.; FADDA, G.; KOCOT, A. ; BEKTESHI, M. ; MAMBRETTI, E.M. ; ROSENWALD, A.; PONTECORVI, A.; FASSNACHT, M. ; RONCHI, C. L. Livin/BIRC7 expression as malignancy marker in adrenocortical tumors. **Oncotarget**, v.8 , n.6, p.9323-9338, dec. 2016.
- BABA, N.; AKAHO, E. VSDK: Virtual screening of small molecules using AutoDock Vina on Windows platform. **Bioinformatics**, v.6, n.10, p.387-388, aug.2011.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química Medicinal: As bases moleculares da ação dos fármacos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008.
- BAUD, M. G. J. ;BAUER, M. R. ;VERDUCI, L. ; DINGLER, F. A. ; PATEL, K. J. ; HORIL ROY, D. ; FERSHT, A. R. Aminobenzothiazole derivatives stabilize the thermolabile p53 cancer mutant Y220C and show anticancer activity in p53-Y220C cell lines. **European journal of medicinal chemistry**, v.152, n.152, p.101–114. 2018.
- BAI, L. ; ZHU, W-G .p53: Structure, Function and Therapeutic Applications. **Journal of Cancer Molecules**, v.2, n.4,p.141-153, jan.2006.
- BERMAN, H. M. ; KLEYWEGT, G.J.; NAKAMURA, H. ; MARKLEY, J. L. The Protein Data Bank archive as an open data resource.**Journal of Computer-Aided Molecular Design**, p. 1009–1014, 2014.
- BINARI, R. B.; GUPTA, S.; MOHAN, C. G.; BHUTANI, K. K. Antiobesity and lipid lowering effects of Glycyrrhizachalcones: Experimental and computational studies. **Phytomedicine**. v.18, p.795–801, 2011.
- BLANKENSHIP, J. W.; VARFOLOMEEV, E.; GONCHAROV, T.; FEDOROVA, A. V.; KIRKPATRICK, D. S.; IZRAEL-TOMASEVIC, A.; VUCIC, D. Ubiquitin binding modulates IAP antagonist-stimulated proteasomal degradation of c-IAP1 and c-IAP2. **Biochem. J.**, v.417,n.1, p.149–160,jan.2009.
- BOHLMAN, S. MANFREDI, J. J. p53-Independent Effects of Mdm2. **Subcell Biochem**,v.85,p.235–246. dec.2014.
- BOMMER G.T. ; GERIN, I.; FENG, Y.; KACZOROWSKI, A. J.; KUICK, R.; LOVE R.E.; ZHAI Y.; GIORDANO T.J.; QIN, Z.S.; MOORE, B.B.; MACDOUGALD, O.A.; CHO, K.R. ; FEARON, E.R. p53-mediated activation of miRNA34 candidate tumor-suppressor genes. **Curr. Biol.**,v.17, n. 15, p.1298–1307, aug. 2007.

BRANDÃO, P., LOUREIRO, J. B., CARVALHO, S., HAMADOU, M. H., CRAVO, S., MOREIRA, J. Targeting the MDM2-p53 protein-protein interaction with prenylchalcones: Synthesis of a small library and evaluation of potential antitumor activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.156, p. 711–721. Augst,2018.

BRUNTON, L. L. ; CHABNER, B. A. ; KNOLLMANN, B. C. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilman**. 12. ed. Porto Alegre: AMGH, 2012.

BURGER,A. Isosterism and Bioisosterism in Drug Design. **Progresss in Drug Research**, Basel, v.37,p.287-371,1991.

CHEENPRACHA, S. Anti-HIV-1 protease activity of compounds from Boesenbergiapandurata. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v.14, p.1710-1714, 2006.

CHO, S.; KIM, S.; JIN, Z.; YANG, H.; HAN, D.; BAEK, N.I.; JO, J.; CHO, C.W.; PARK, J.H.; SHIMIZU, M.; JIN, Y.H. Isoliquiritigenin, a chalcone compound, is a positive allosteric modulator of GABA A receptors and showshypnotic effects. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v.413, p.637–64, 2011.

CHO, S. B. ; LEE, W. S.; PARK, Y.L., KIM, N.; OH, H.H.; KIM, M.Y.; OAK, C.Y.; CHUNG C.Y.; PARK, H.C.; KIM, J.S.; MYUNG, D.S.; KIM, S.H.;LEE, K.H.; CHOI, S.K.; JOO, Y.E. Livin is associated with the invasive and oncogenic phenotypes of human hepatocellular carcinoma cells. **Hepatology research.**, v.45, n.4, p.448–457, apr. 2015.

COUPEZ, B.;LEWIS, R. A. Docking and scoring--theoretically easy, practically impossible? **Current medicinal chemistry**, v.13,n.25, p.2995-3003, 2006.

COHEN F., ALICKE B., ELLIOTT L.O., FLYGARE J.A., GONCHAROV T., KETELTAS S.F., FRANKLIN M.C., FRANKOVITZ S., STEPHAN J.P., TSUI V., VUCIC D., WONG H., FAIRBROTHER W.J. Orally bioavailable antagonists of inhibitor of apoptosis proteins based on an azabicyclooctane scaffold. **J Med Chem.**,v. 52, n.6, p.1723-1730.mar.2009.

DIAS, R.; AZEVEDO, W. F. Jr. Molecular docking algorithms. **Curr. Drug Targets**, v.9, n.12, p.1040-1047,dec.2008.

DURINCK,S.; STAWISKI, E.W.; PAVÍA-JIMÉNEZ, A.; MODRUSAN, Z.; KAPUR, P. ;JAISWAL B. S.; ZHANG, N.; TOFFESSI-TCHEUYAP, V.; NGUYEN, T.T.; PAHUJA, K.B.; CHEN, Y.J.; SALEEM, S.; CHAUDHURI, S.; HELDENS, S.; JACKSON, M.; PENA-LLOPIS, S.; GUILLORY, J.; TOY, K. H.A. C; HARRIS, C.J.; HOLLOWAN, E.; HILL, H.M.; STINSON, J.; RIVERS, C.S.;JANAKIRAMAN, V.; WANG, W.; KINCH, L.N.;GRISHIN, N.V.; HAVERTY, P.M.;CHOW ,B.;GEHRING, J.S.;REEDER, J.;PAU, G.;WU, T.D.;MARGULIS, V.; LOTAN, Y. ; SAGALOWSKY, A.;PEDROSA, I.;DE SAUVAGE, F.J.; BRUGAROLAS, J.; SESHAGIRI,S. Spectrum of diverse genomic alterations define non-clear cell renal carcinoma subtypes. **Nature genetics**, v.47, n.1, p. 13-21, jan. 2015.

DURONIO, R.J; XIONG, Y. Signaling Pathways that Control Cell Proliferation. **Cold Spring Harbor Laboratory Press**, v. 5, n. 3, p.1-12, mar. 2013.

ELIAS, T. C. ; OLIVEIRA, H. C. B. ; SILVEIRA, N. J. F . MB-Isoster: A software for bioisosterism simulation. **Journal of Computational Chemistry**, v. 9999, p. 1-8, 2018.

ERTL, P.; ROHDE, B.; SELZER, P. Fast Calculation of Molecular Polar Surface Area as a Sum of Fragment-Based Contributions and Its Application to the Prediction of Drug Transport Properties. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, n. 20, p. 3714-3717, 2000.

ERLENMEYER, H.; LEO, M. Über Pseudoatome. **Helvetica Chimica Acta**, v.15, n.1,p. 1171–1186.1932.

FELTES, C. B. ; MAGALHÃES, C. S. ; STAATS, C. C.; JUNQUEIRA, D. M.; BONATTO,D.; YATES,E. A.; CUSTÓDIO,F. L.; SILVA, F. R.; MALUF, F. V.; OLIVA, G; ROCHA, G. K.; MORAIS, G. L.; NADER, H. B.; VERLI, H.; GUEDES, I. A.; TERSARIOL, I. L. S.; MUNIZ, J. R. C.; POLONI, J. F.; DARDENNE, L. E.; LIMA, L. M. T. R.; LIMA, M. A.; ALMEIDA, M.S.; CAPRILES, P. V.S. Z.; TREVIZANI, R.; GUIDO, R. V. C.; BRAUN, R. L.; MARGIS, R.; CORDEIRO, Y. **Bioinformática: da Biologia à Flexibilidade Molecular**.1.ed. São Paulo: Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular-SBBq, 2014.

FERNALD, K. ; KUROKAWA, M. Evading apoptosis in câncer. **Trends Cell Biology**, v.23, n.12, p.620-633, dec.2013.

FERREIRA, C. S.; MAGANHIN, C. C.; SIMÕES, R. S. S.; GIRÃO, M. J. B.C.G. ; BARACAT, E. C. ; SOARES-JR, J. M. Melatonina: modulador de morte celular. **Rev Assoc Med Bras**, v. 56, n.6, p. 715-718, aug.2010.

FERREIRA, L. G.; DOS SANTOS, R. N.; OLIVA, G.; ANDRICOPULO, A. A. Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies. **Molecules**, v.20, n.7, p.13384-13421, july.2015.

FERREIRA, M. K. A.; FONTENELLE, R. O. S.; MAGALHÃES, F. E. A.; BANDEIRA, P. N.; S.; MENEZES, J. E. S. A.; DOS SANTOS, H. Potencial Farmacológico de Chalconas: Uma Breve Revisão. **Rev. Virtual Quim**, 2018, v.10, n.5, p.1455-1473, nov.2018.

FISCHER, U.; SCHULZE-OSTHOFF, K. New approaches and therapeutics targeting apoptosis in disease.**Pharmacological Reviews**, v. 57, n.2, p.187-215. jun.2005.

FOGAÇA,T.B. ; MARTINS, R.M., BEGNINI, K.R. CARAPINA, C. RITTER, M., PEREIRA, C.M., SEIXAS, F.K. COLLARES,T.Apoptotic effect of chalcone derivatives of 2-acetylthiophene in human breast cancer cells. **Pharmacol Rep.**, v.69, n.1, p.156-161, feb.2017.

FRIEDMAN, H. L. Influence of Isosteric Replacements upon Biological Activity. **NASNRS**, Washington, v. 206, p. 295-358, 1951.

FULDA, S.; VUCIC, D. Targeting IAP proteins for therapeutic intervention in cancer. **Nature Reviews Drug Discovery**.,v.11, n.2, p.109–124. Feb.2012.

GAZZANIGA, P.; GRADILONE, A.; GIULIANI, L.; GANDINI, O.; SILVESTRI, I.; NOFRONI, I.; SACCANI,G.; FRATI, L.; AGLIANÒ, A. M. Expression and prognostic significance of LIVIN, SURVIVIN and other apoptosis-related genes in the progression of superficial bladder cancer. **Ann Oncol.**, v.14, n.1, p.85-90. jan. 2003.

GERSHELL, L. J. ; ATKINS, J. H . A brief history of novel drug discovery technologies. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 2, n.4, p.321–327, apr.2003.

GOLAN, D. E. ; TASHJIAN, J. R. A. H. ; ARMSTRONG, E. J. ; ARMSTRONG, A. W. **Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia**. 3.ed. Rio de Janeiro: Ganabara Koogan, 2018

GRIMM, H. G. Structure and size of the non-metallic hydrides. **Z. Electrochem**, Weinheim, v. 31, n. 9, p. 474-480, 1925.

GUEDES, I. A.;MAGALHÃES, C. S.; DARDENE,L. E. Receptor-ligand molecular docking. **Biophys Rev.**, v.6, n.1, p.75-87, mar.2014.

GUPTA, A.; SHAH, K.; OZA, M. J.; BEHL, T. Reactivation of p53 gene by MDM2 inhibitors: A novel therapy for cancer treatment. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 109, p.484–492. 2019.

GYRD-HANSEN, M. ; DARDING, M.; MIASARI,M.; SANTORO, M. M.; ZENDER, L.; XUE, W.; TENEV, T.; DA FONSECA, P.C.; ZVELEBIL, M.; BUJNICKI, J.M.; LOWE, S.; SILKE, J.; MEIER, P . IAPs contain an evolutionarily conserved ubiquitin-binding domain that regulates NF-κB as well as cell survival and oncogenesis. **Nature Cell Biol**, v.10, n.11, p.1309–1317,nov.2008.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. **Cell**, v.144, n.5, p.646–674, mar.2011.

HARBORNE,J. B.; WILLIAMS,C. A. Anthocyanins and other flavonoids.**Natural Product Report**,v.11,p430-467.dec.1994.

HARIU, H.; HIROHASHI, Y. ;TORIGOE, T.; ASANUMA, H.; HARIU, M. ; TAMURA, Y. ; AKETA K.; NABETA, C.; NAKANISHI, K.; KAMIGUCHI, K. ; MANO, Y.; KITAMURA, H.; KOBAYASHI J. ; TSUKAHARA, T. ; SHIJUBO, N.; SATO, N. Aberrant expression and potency as a cancer immunotherapy target of inhibitor of apoptosis protein family, Livin/ML-IAP in lung cancer. **Clinical cancer research**, v.11, n.1, p.1000–1009, feb. 2005.

HOLLINGSWORTH, S. A. DROR, R. O.Molecular Dynamics Simulation for All. **Neuron**, v.99, n.6, p.1129–1143, sept.2019.

HOLOHAN, C. ; VAN SCHAEYBROECK , S. ; LONGLEY D. B. ; JOHNSTON P. G. Cancer drug resistance:an evolving paradigm. **Nat Rev Cancer**,v. 13, n.10 , p.714–726, oct. 2013.

IARC.International Agency for Research on Cancer . Global Cancer Observatory .**Cancer Tomorrow.2018**.Disponivel em: <http://gco.iarc.fr/tomorrow/home>.Acesso em:21/12/2020.

JEMAL, A.; VINEIS, P. ; BRAY, F. TORRE, L.; FORMAN, D. O Atlas do Câncer. 2.ed. Atlanta: GA. **American Cancer Society**. 2014.

JOERGER, A. C.; ANG, H. C.; FERSHT, A. R. Structural basis for understanding oncogenic p53 mutations and designing rescue drugs. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.103, n.41, p.15056–15061. oct .2006.

JOERGER, A. C. ; FERSHT, A. R. Structural Biology of the Tumor Suppressor p53. Annual **Review of Biochemistry**, v.77,n.1, p.557–582. 2008.

JOERGER A.C.; BAUER M.R.; WILCKEN R.; BAUD M.G.; HARBRECHT H.; EXNER T.E.; BOECKLER F.M.; SPENCER J.; FERSHT A.R. Exploiting Transient Protein States for the Design of Small-Molecule Stabilizers of Mutant p53. **Nucleic Acids Res.**, v.41, n.12, p. 6034–6044. apr.2013.

KATZUNG, B. G.; MASTERS, S. B.; TREVOR, A. J. **Farmacologia Básica e Clínica**.12. ed. Porto Alegre: AMGH, 2014.

KARTHIKEYAN, C.; NARAYANA MOORTHY, N. S. H.; RAMASAMY, S.; VANAM, U.; MANIVANNAN, E.; KARUNAGARAN, D.TRIVEDI.Advances In Chalcones With Anticancer Activities. **Recent Patents On Anti-Cancer Drug Discovery**,v.10,n.1, p.97–115, july.2014.

KAUL, P.N. Drug discovery: past, present and future. **Progress in Drug Research**, v.50, p.9-105, 1998.

KHAMISPOUR, G.; JADIDI-NIARAGH, F.; JAHROMI A. S. ; ZANDI. K. ; HOJJAT-FARSANGI, M. Mechanisms of tumor cell resistance to the current targeted-therapy agents. **Tumor Biol.**, v. 37, n. 8, p.10021-10039, aug . 2016.

KIM, D. K.; ALVARADO, C.S.; ABRAMOWSKY, C. R.; GU, L.; ZHOU, M.; SOE, M. M. ; SULLIVAN, K.; GEORGE, B.; SCHEMANKEWITZ, E.; FINDLEY, H.W. Expression of inhibitor-of-apoptosis protein (IAP) livin by neuroblastoma cells: correlation with prognostic factors and outcome. **Pediatric and developmental pathology**, v.8, n.6, p.621–629, nov-dec.2005

KOWASLKI, L. P. ; ANELLI, A. ; SALVAJOLI, J. V. ; LOPES, L. F. **Manual de condutas diagnósticas e terapêuticas em oncologia**. 2.ed. São Paulo: Âmbito Editores Ltda, 2002.

LANE, D.P.; CRAWFORD, LV. T-antigen is bound to host protein in SV40-transformed cells. **Nature**, v.278, p.261-263.Mar.1979.

LANGMUIR, I. Isomorphism, isosterism and covalence. **Journal of the American Chemical Society, Washington**, v. 41, n. 10, p. 1543-1559, 1919.

LENGAUER, T.; RAREY, M. Computational methods for biomolecular docking. **Curr.Opin. Struct. Biol.**, v.6, n.3, p. 402–406, jun.1996.

LIMA, L.M.;BARREIRO, J.E. Bioisosterism: A Useful Strategy for Molecular Modification and Drug Design. **Curr. Med. Chem**, v. 12, n.1, p. 23-49, 2005.

LIPINSKI, C. A. et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Adv Drug Deliv Ver**, v. 46, n. 1. p.3-23. mar. 2001.

LIU, B. ; HAN, M.; WEN, J.K.; WANG, L. Livin/ML-IAP as a new target for cancer treatment. **Cancer**, v.250, n.2,p-168-176, jan.2007.

LOCh-NECKEL,G.; BICCA,M.A.; LEAL,O.C.; MASCARELLO,A.; SIQUEIRA,J.M.; CALIXTO, J. B. In vitro and in vivo anti-glioma activity of a chalcone-quinoxaline hybrid. **Eur J Med Chem**, v.27, n.90, p.93-100, nov, 2015.

LODISH, H.; BERK. A.; KAISER. C. A.; KRIEGER, M.; BRETSCHER, A.; PLOEGH, H; AMON, A.; SCOTT, M.P. **Biologia Celular e Molecular**. 7.ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

LONGLEY, D. B.; JOHNSTON, P. G. Molecular mechanisms of drug resistance. **J. Pathol.**, v. 205, n. 2 , p. 275–292, jan. 2005.

MALERBA, F.; ORSENIGO, L. Innovation and market structure in the dynamics of the pharmaceutical industry and biotechnology: towards a history friendly model. **Industrial and Corporate Change**, v.11, n.4, p.667-703, aug.2002.

MAHFOUDHI, E.; LORDIER, L.; MARTY, C.; PAN, J.;ROY, A.; ROY L.; RAMEAU P.; ABBES, S.; DEBILI, N.; RASLOVA, H.;CHANG, Y.; DEBUSSCHE, L.;VAINCHENKER, W. ; PLO, I. P53 activation inhibits all types of hematopoietic progenitors and all stages of megakaryopoiesis. **Oncotarget**, v.7, n.22, p.31980–31992, may.2016.

MALUMBRES, M.; BARBACID, M. Cell cycle, CDKs and cancer: a changing paradigm. **Nature Reviews Cancer**, v. 9, n. 3, p. 153-166, mar.2009.

MIMEAULT, M.; HAUKE, R. ; BATRA, S. K. Recent Advances on the Molecular Mechanisms Involved in the Drug Resistance of Cancer Cells and Novel Targeting Therapies. **Clin Pharmacol Ther**, v.3, n.5, p.673-69 , may.2008.

MORRIS, G. M. ; HUEY, R.; LINDSTROM, W.; SANNER, M. F.; BELEW, R. K.; GOODSSELL, D. S.; OLSON A. J. Autodock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility. **Journal of Computational Chemistry**, v. 16, p. 2785-2791, 2009.

RODEWEEL, V. W.; BENDER, D. A.; BOTHAN, K. M.; KENNELLY, P. J.; WEIL, P. A. **Bioquímica Ilustrada de Harper**. 29.ed. Porto Alegre: AMGH, 2014.

MYUNG, D. S.; PARK, Y.L.; CHUNG, C.Y.; PARK, H. C.; KIM, J. S.; CHO, S. B.; LEE, W. S.; LEE, K. H.; LEE, J. H., JOO, Y. E. Expression of Livin in colorectal cancer and its relationship to tumor cell behavior and prognosis. **PLoS one.**, v. 8, n.9, p. 732-762, sept .2013.

NAKAMURA, S.; GOMYO, Y.; ROTH, J. A. C-terminus of p53 is required for G(2) arrest. **Oncogene**, v.27, n.13, p.2102-2107, mar. 2002.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M.; SNADER, K. M. The influence of natural products upon drug discovery. **Natural Product Reports**, v.17, n.3 , p.215–234.jun.2000.

O'BOYLE, N.M.; BANCK, M. JAMES, C.A.; MORLEY, C.; VANDERMEERSCH, T.; HUTCHISON, G.R. Open Babel: An open chemical toolbox. **Journal of Cheminformatics**, v. 3, n. 33, p.1-14, oct. 2011.

OLIVIER, M.; HOLLSTEIN, M.; HAINAUT, P. Tp53 Mutations In Human Cancers: Origins, Consequences, And Clinical Use. **Cold Spring Harb Perspect Biol**. v.2, n.1, p-1-17. jan.2010 .

PATANI, G.A.; LAVOIE, E.J. Bioisosterism: arational approach in drug design. **Chem. Rev.**,v. 96, p. 3147-3176, 1996.

PETTERSEN, E.F.; GODDARD, T.D.; HUANG, C. C.; COUCH, G.S; GREENBLATT, D.M.; MENG, E.C.; FERRIN, T.E. UCSF Chimera-vizualization system for exploratory research and analysis. **J Comput Chem.**, v.25, n.13, p.1605-1612. oct.2004.

RANG, H. P.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J.; HENDERSON, G. Rang & Dale: **Farmacologia**. 8.ed. Rio de janeiro: Elsevier, 2016.

SALEEM, M.;QADIR, M. I. ;PERVEEN, N. ;AHMAD, B. ;SALEEM, U. ;IRSHAD, T. ;AHMAD, B. Inhibitors of Apoptotic Proteins: New Targets for Anticancer Therapy. **John Wiley & Sons A/S**, v. 2, n. 4, p.243-251, 2013.

SALVESEN, G. S.;DUCKETT, C. S. IAP proteins: blocking the road to death's door. **Nature Rev. Mol. Cell Biol.**, v., n. 3, p.401–410, jun.2002.

SANTORO, M.; CARLOMAGNO, F. Attacking cancer with molecularly targeted agents. **Current opinion in pharmacology**, v. 13, n. 4, p. 483–5, ago. 2013.

SATO, Y.; HE, J.-X.; NAGAI, H.; TANI, T.; AKAO, T. Isoliquiritigenin, one of the antispasmodic principles of Glycyrrhiza ularensis roots, acts in the lower part of intestine. **Biol. Pharm. Bull.**, v.30, p.145–149, 2007.

Sociedade Americana de Oncologia . **Side Effects of Targeted Cancer Therapy Drugs**. 2016. Disponível em: <https://www.cancer.org/treatment/treatments-and-side-effects/treatment-types/targeted-therapy/side-effects.html#references>. Acesso em: 20 abr. 2018.

SOUSSI, T.; LOZANO, G. p53 mutation heterogeneity in cancer. **Biochemical and Biophysical Research Communications, New York**, v. 331, n. 3, p. 834-842, jun. 2005.

STERLING, T.; IRWIN, J. J. ZINC 15 – Ligand Discovery for Everyone. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v.55, n.5, p.2324–2337. 2015.

SUN, K.; LIAO, Q.; CHEN, Z.; CHEN, T.; ZHANG, J. Expression of Livin and PIGF in human osteosarcoma is associated with tumor progression and clinical outcome. **Oncology letters.**, v.16,n.4, p.4953–4960, oct.2018.

SU Y. K. ; HUANG, W. C.; LEE,W. H.; BAMODU, O. A.; ZUCHA,M. A.; ASTUTI, I.; SUWITO,H; YEYH,C. T. ; LIN,C. M. Methoxyphenyl chalcone sensitizes aggressive epithelial cancer to cisplatin through apoptosis induction and cancer stem cell eradication. **Tumour Biol.**, v.39, n.5, p.1-12, may.2017.

TARASOV, V.; JUNG, P.; VERDOODT, B.; LODYGIN, D.; EPANCHINTSEV, A.; MENSSEN, A.; MEISTER, G.; HERMEKING, H. Differential regulation of microRNAs by p53 revealed by massively parallel sequencing: miR-34a is a p53 target that induces apoptosis and G1-arrest. **Cell Cycle.**, v.6, n.13, p.1586–1593, jul.2007.

TCHOGHANDJIAN, A. ; SOUBÉRIAN, A.;TABOURET, E.; COLIN, C.; DENICOLAÏ , E.;JIGUET-JIGLAIRE, C. ;EL-BATTARI, A.;VILLARD, C.;BAEZA-KALLEE, N. ;FIGARELLA-BRANGER, D. Inhibitor of apoptosis protein expression in glioblastomas and their in vitro and in vivo targeting by SMAC mimetic GDC-0152. **Cell Death Dis.**, v.7, n.8, p.1-10, aug.2016.

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

TSIMBERIDOU, A. M. Targeted therapy in câncer. **Cancer Chemother Pharmacol.** v. 76, n.6, p.1113-1132, dec. 2015.

VARFOLO MEEV, E.; VUCIC, D. (Un)expected roles of c-IAPs in apoptotic and NF-κB signaling pathways. **Cell Cycle.**, v.11, n.7, p.1511–1521, jun.2008.

VAUX, D. L.; SILKE, J. IAPs, RINGs and ubiquitylation. **Nature Rev. Mol. Cell Biol.**, v.6, n.4, p.287–297, apr.2005.

WALLACE, A. C.; LASKOWSKI, R. A.; THORNTON, J. M. LIGPLOT: a program to generate schematic diagrams of protein-ligand interactions. **Protein Engineering**, v. 8, p.127-134, 1996.

WEAVER, J.; DOWNS-KELLY, E.; GOLDBLUM, J.R.; TURNER, S.; KULKARNI, S.; TUBBS, R.R.; RUBIN B.P.; SKACEL, M. Fluorescence in situ hybridization for *MDM2* gene amplification as a diagnostic tool in lipomatous neoplasms. **Mod Pathol.**, v. 21, n.8, p.943–949, aug. 2008.

WEAVER, J.; GOLDBLUM, J.R.; TURNER, S.; TUBBS, R.R.; WANG,W.L.; LAZAR, A.J.; RUBIN, B.P. Detection of *MDM2* gene amplification or protein expression distinguishes sclerosing mesenteritis and retroperitoneal fibrosis from inflammatory well-differentiated liposarcoma. **Mod Pathol.**, v.22, n. 1, p.66–70, jan.2009.

YAN, B. Research progress on Livin protein: an inhibitor of apoptosis. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v.357, n.1-2, p. 39–45, nov. 2011.

ZHANG, S.; Li T; Zhang, L.;WANG, X.; Dong, H.; Li, L.; Fu, D.; Li, Y.; Zi X; Liu, H.M.; Zhang, Y.; XU, H.; JIN, C.Y.A novel chalcone derivative S17 induces apoptosis through ROS dependent DR5 up-regulation in gastric cancer cells. **SCI REP**, v.29. n.9873, p-.1-13, aug.2017.

ZHOU, J.; YUEN, N.K.; ZHAN, Q.; VELAZQUEZ, E. F.; MURPH, G. F.; GIOBBIE-HURDER, A. HODI F.; S.Immunity to the melanoma inhibitor of apoptosis protein (ML-IAP; livin) in patients with malignant melanoma. **Cancer Immunol Immunother**, v.61, n.5, p.655–665, may.2012.